รายงานแผนงานวิจัย

# การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช และจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม

# Conservation and Utilization of Plant ant Microbiological Biodiversity to Add Value and Innovation

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อผู้อำนวยการแผนงานวิจัย
ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
Khanitha Wongwathanarat

ปี พ.ศ. 2565

รายงานแผนงานวิจัย

# การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช และจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม

# Conservation and Utilization of Plant ant Microbiological Biodiversity to Add Value and Innovation

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อผู้อำนวยการแผนงานวิจัย
ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
Khanitha Wongwathanarat

ปี พ.ศ. 2565

## คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

กรมวิชาการเกษตรในฐานะเป็นหน่วยงานหลักที่สร้างประโยชน์จากความหลากหลายของทรัพยากรทางชีวภาพ เป็นหน่วยงานที่เป็นแหล่งเก็บรวบรวมและอนุรักษ์พืชและจุลินทรีย์ทางการเกษตรที่มีความหลากหลายของชนิดและสายพันธุ์จำนวนมาก และเล็งเห็นความสำคัญของการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ โดยมีการจัดตั้งธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ เพื่ออนุรักษ์และเก็บรักษาทรัพยากรพันธุกรรมไว้ให้ได้ยาวนานอันจะเป็นการป้องกันการเสื่อมพันธุกรรมหรือการสูญหายพันธุกรรมของพืช และนำมาใช้ประโยชน์ในการวิจัยและพัฒนาทั้งในการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้น พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตที่มีประสิทธิภาพ และแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรชีวภาพ ด้วยการสร้างนวัตกรรมใหม่ๆ ศึกษาหาสารสำคัญ เพื่อสร้างอาชีพจากฐานทรัพยากรชีวภาพ สร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชน และสามารถพึ่งพาตนเองได้

แผนงานการวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม มีเป้าหมายคือ เพิ่มศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช และฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ สร้างมูลค่าเพิ่มและนวัตกรรมจากฐานทรัพยากรชีวภาพ ลดต้นทุนการผลิต เกษตรกรและชุมชนมีรายได้เพิ่มขึ้น สามารถพึ่งพาตนเอง โดยแผนงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 3 แผนงานย่อย คือ แผนงานย่อยที่ 1 การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช ประกอบด้วย 4 โครงการวิจัย โดยการอนุรักษ์ เก็บรวบรวม ประมิน และจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค๊ดของเชื้อพันธุกรรมในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร และจัดทำเป็นฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ แผนงานย่อยที่ 2 พัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์ เพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ ประกอบด้วย 5 โครงการวิจัย มุ่งเน้นพัฒนากระบวนการผลิตที่นำเอาเชื้อพันธุกรรมที่รวบรวมในศูนย์รวมรวมเชื้อพันธุ์เห็ดและจุลินทรีย์มาคัดเลือก ปรับปรุงสายพันธุ์ และพัฒนาการผลิตเห็ด และจุลินทรีย์เพื่อมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ตลอดจนผลิตเครื่องจักรกลในการผลิตวัสดุเพาะเห็ด และแผนงานย่อยที่ 3 การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก ประกอบด้วย 2 โครงการวิจัย คือการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ และพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

รายงานแผนงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความร่วมมือจากผู้อำนวยการแผนงานวิจัยย่อย หัวหน้าโครงการวิจัย และทีมนักวิจัยทุกท่าน ที่ได้ร่วมกันจัดทำรายงาน ตลอดจนคณะกรรมการที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร คณะทำงานแผนงาน และคณะกรรมการวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ข้อเสนอแนะแก้ไขปรับปรุงต่างๆ ทางคณะผู้จัดทำขอขอบคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้ ทั้งนี้หากมีข้อผิดพลาดใดๆ หรือมีข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ในฐานะผู้อำนวยการแผนงานวิจัยการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ฯ ขอน้อมรับและยินดีปรับปรุงแก้ไขเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
ผู้อำนวยการแผนงานวิจัยการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ฯ

28 กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

**สารบัญ**

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .....5
ผู้วิจัย.....6
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....7
บทนำ.....9
แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 ..... 13
แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 ..... 38
แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 ..... 63
บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... 88
บรรณานุกรม ..... 100

กรมวิชาการเกษตร

## กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรมได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559-2562 และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563-2564

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่จัดสรรงบประมาณเพื่อสนับสนุนแผนงานวิจัยครั้งนี้ และคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิและผู้เชี่ยวชาญทุกท่าน ที่ได้เสียสละเวลาในการให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และแนวทางปรับปรุงแก้ไข จนสามารถดำเนินงานได้ตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณผู้อำนวยการแผนย่อย หัวหน้าโครงการวิจัย และทีมนักวิจัยทุกท่านซึ่งไม่อาจกล่าวนามได้หมด ที่ช่วยประสานงาน รวบรวม และจัดทำสรุปผลการทดลองของนักวิจัย ภายในแผนงานวิจัย ขอขอบคุณ ดร.ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์ และ ดร.อภิญญา วงศ์เปี้ย ที่ช่วยรวบรวม จัดพิมพ์และตรวจทานรายงานให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ บุคคลากรกองแผนงานและวิชาการ และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือและให้การสนับสนุนงานวิจัย ทั้งครุภัณฑ์ทางด้านวิทยาศาสตร์ และสาธารณูปโภคตลอดในการดำเนินการวิจัยจนลุล่วงด้วยดี

ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
ผู้อำนวยการแผนงานวิจัยการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ฯ
28 กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

## ผู้วิจัย

ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
นราทร สุขวิเสส
อัญชลี แก้วดวง
สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ
อัจฉราพรรณ ใจเจริญ
โกเมศ สัตยาวุธ
กฤษณ์ ลินวัฒนา
จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม
ชญานุช ตรีพันธ์
ทัศนาพร ทัศคร
ธีรวุฒิ ชุตินันทกุล
นริศรา สุวรรณ
นิภาพร บัวอิ่น
บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว
ประกาย อ่อนวิมล
ประสาน สืบสุข
พัชร ปิริยะวินิตร
ไพฑูรย์ บุปผาดา
มณทิรา ภูติวรนาถ
รัชฎาภรณ์ ทองเหม
วชิรญา อิ่มสบาย
วรารัตน์ ศรีประพัฒน์
วิลาวัณย์ ใคร่ครวญ
ไว อินต๊ะแก้ว
ศิริพร เต็งรัง
สมคิด ดำน้อย
สมนึก พรมแดง
สุกัลยา ศิริฟองนุกูล
สุธามาศ ณ น่าน
สุภาภรณ์ สาชาติ
สุรีย์รัตน์ รักเหลือ
อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์
อภิญญา สุราวุธ
อรทัย วงค์เมธา
อรุโณทัย ซาววา
อิศเรศ เทียนทัด

กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
ปาริฉัตร สังข์สะอาด
นันทินี ศรีจุมปา
สถิตย์พงศ์ รัตนคำ
ปาริชาติ อยู่แพทย์
กรกช จันทร
กาญจนา พฤษพันธ์
จิตรา กิตติโมรากุล
ชลลดา สามพันพวง
ธรากร มณีรัตน์
ธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์
นันทิการ์ เสนแก้ว
บุญชนะ วงศ์ชนะ
บุญร่วม คิดค้า
ประพิศ วองเทียม
ปิยะนุช มุสิกพงศ์
พัฒน์นรี รักษ์คิด
ภัทรียา สุทธิเชื้อนาค
มาลัยพร เชื้อบัณฑิต
รัตนาพร นรรัตน์
วรกิจ ห้องแซง
วินัย สมประสงค์
วิศรุต สันม่าแอ
ศศิธร วรปิติรังสี
ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์
สมคิด รัตนบุรี
สัจจะ ประสงค์ทรัพย์
สุดใจ ล้อเจริญ
สุปรียา ศุขเกษม
สุภาวดี ง้อเหรียญ
สุวลักษณ์ อะมะวัลย์
อนุ สุวรรณโฉม
อภิญญา วงศ์เปี้ย
อรรถพล รุกขพันธ์
อ้อยทิน ผลพานิช
อุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์

มัลลิกา แก้ววิเศษ
สุพินญา บุญมานพ
อนุสรณ์ วัฒนกุล
ภรณี สว่างศรี
กนกศักดิ์ ลอยเลิศ
กฤตยา เพชรผึ้ง
กุหลาบ คงทอง
จีรภา ปัญญาศิริ
ทวีพงษ์ ณ น่าน
ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์
นพวรรณ นิลสุวรรณ
นัยเนตร เจริญสันติ ทานากะ
บุญณิศา ฆังคมณี
บุญเรือนรัตน์ เพียรงาน
ประสพโชค ตันไทย
พยุงศักดิ์ รวยอารี
พิทยา วงษ์ช้าง
ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์
ยุราพร สหัสกุล
ลักษมี สุภัทรา
วราพร ไชยมมา
วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร
วุฒิพล จันทร์สระคู
ศิริกาญจน์ เพ็ชรศิริ
ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต
สมใจ โควสุรัตน์
สิรินาฏ น้อยพิทักษ์
สุทธินี เจริญคิด
สุปัน ไม้ดัดจันทร์
สุเมธ พากเพียร
เสาวณี เดชะคำภู
อนุวัฒน์ รัตนชัย
อมรรัตน์ เอื้อสลุง
อรวินทินี ชูศรี
อัสนี ส่งเสริม

กรมอุตสาหกรรมเกษตร

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | |
|---|---|
| สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ | Sodium hypochlorite, NaOCl |
| สารละลายเมอร์คิวลิกคลอไรด์ | Mercuric chloride, $HgCl_2$ |
| เบนซิลอะมิโนเพียวรีน | 6-Benzylaminopurine, BA |
| แนฟทาลีนแอซีติก | 1-Naphthaleneacetic acid, NAA |
| อาหารสูตรเอ็มเอส | Murashige and Skoog medium, MS medium |
| IAA | Indole-3-Acetic Acid |
| IBA | Indole-3-Butyric Acid |
| BA | 6-Benxylaninopurine |
| MS | Murashige and Skoog |
| กรดอินโดล-3-แอซีติก | Indole-3-acetic acid, IAA |
| กรดอินโดล-3-บิวทีริก | Indole-3-butyric acid, IBA |
| DCW | Dry cell weight |
| DPPH | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy |
| FAME | Fatty acid methyl ester |
| $IC_{50}$ | 50% Inhibitory Concentration |
| NaOCl | Sodium hypochlorite |
| NaCl | Sodium chloride |
| PHB | Poly-β-hydroxybutyrate |
| PVA | Poly vinyl alcohol หรือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ |
| SDS | Sodium dodecyl sulphate |
| SFE | Supercritical fluid extraction |
| TLC | Thin layer chromatography |
| TPE | Total polysaccharides extract |
| TS | Tensile strength |
| mg/100g | มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม |
| rpm | รอบต่อนาที |
| ug/ml | microgram per milliliter |
| w/v | weight per volume |
| w/w | weight per weight |
| v/w/w | volume per weight per weight |
| %wt. | percent by weight |
| $^{o}C$ | องศาเซลเซียส |
| มก./ก. | มิลลิกรัมต่อกรัม |
| มก./กก. | มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม |

กรมวิชาการเกษตร

| | |
|---|---|
| BG-11 (NFree) | สูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 ที่ไม่มีการเติมธาตุอาหารไนโตรเจน |
| *E. coli* | *Escherichia coli* |
| IPTG | Isopropyl-β-D-thiogalactoside |
| cDNA | complementary deoxyribonucleic acid |
| CDS | coding sequence |
| DMSO | dimethylsulfoxide |
| DNA | deoxyribonucleic acid |
| DW | distrilled water |
| LB | Luria-Bertani |
| MDA | Malondialdehyde |
| MS | Murashige & Stoog |
| PAGE | poly-acrylamide gel electrophoresis |
| PCR | polymerase chain reaction |
| PEG | polyethylene glycol |
| Tween20 | polyoxyethylene(20) |
| %wb | ความชื้นมาตรฐานเปียก |
| BE | ประสิทธิภาพทางชีววิทยา (Biological Efficiency) |

กรมวิชาการเกษตร

## บทนำ

ประเทศไทยมีข้อได้เปรียบในเรื่องความหลากหลายทางชีวภาพ โดยทรัพยากรชีวภาพได้ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อพัฒนาเป็นสินค้าผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรมมาตลอด โดยเฉพาะพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์สปา รวมทั้งมีจุลินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในทางการเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร สิ่งแวดล้อม และพลังงานเช่นกัน อย่างไรก็ตามที่ผ่านมาผู้ที่นำทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นไปใช้โดยส่วนใหญ่มาจากประเทศที่พัฒนาแล้วในยุโรปและอเมริกา ซึ่งได้เข้ามาสำรวจและคัดเลือกทรัพยากรพันธุกรรมและภูมิปัญญาท้องถิ่นของประเทศกำลังพัฒนา เพื่อนำมาไปใช้ประโยชน์และต่อยอดเชิงพาณิชย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริษัทขนาดใหญ่ในธุรกิจยารักษาโรค เครื่องสำอาง หรือสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น สิ่งที่พัฒนาขึ้นมาจะถูกถือว่าเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่อาจได้รับความคุ้มครองทางทรัพย์สินทางปัญญา ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์และสินค้าที่ได้รับการปรับปรุงดัดแปลงนั้น กลายเป็นผลิตผลทางปัญญาที่เป็นทรัพย์ส่วนบุคคลของผู้พัฒนา ซึ่งบุคคลอื่นใดจะนำไปใช้สอยหาประโยชน์โดยไม่ได้รับความยินยอมจากผู้เป็นเจ้าของไม่ได้

ทรัพยากรพันธุกรรมนั้นจะเกิดมูลค่าอย่างมหาศาล ถ้ามีการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน แต่ประเด็นที่สำคัญที่สุดคือ ต้องมีการจัดเก็บ รวบรวม และจัดทำเป็นฐานข้อมูลอย่างเป็นระบบ ต้องรู้จักการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมให้คงความมีชีวิตเพื่อไม่ให้สูญหาย พร้อมกับมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานที่เป็นรากฐานสำคัญของการบริหารจัดการทรัพยากรพันธุกรรมที่ทรงคุณค่าของประเทศอย่างมีประสิทธิภาพ นำไปสู่การเป็นพื้นฐานในการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ ประเด็นหลักที่สำคัญที่สุดของเรื่องนี้จึงอยู่ที่ข้อมูลและระบบฐานข้อมูลที่พร้อมจะแสดงความเป็นเจ้าของ หลักฐานที่จะแสดงตัวตนของทรัพยากรพันธุกรรม ฐานข้อมูลที่พร้อมจะให้เจ้าหน้าที่ทรัพย์สินทางปัญญาใช้ตรวจสอบ ฐานข้อมูลที่มีการระบุการใช้ประโยชน์ของทรัพยากรพันธุกรรมนั้นๆ และฐานข้อมูลทางชีวโมเลกุลที่พร้อมจะให้ตรวจสอบเปรียบเทียบ

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกสินค้าเกษตรและอาหารที่สำคัญของโลก แต่ส่วนใหญ่เป็นการผลิตเพื่อส่งออกในรูปวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์ขั้นต้นที่มีมูลค่าเพิ่มไม่มาก และมักประสบปัญหาราคาผันผวนตามปริมาณผลผลิตและความต้องการของตลาด แต่ขณะเดียวกันประเทศไทยนำเข้าสารเคมี วัสดุและพลังงานรวมกันเป็นมูลค่ามากกว่า 2 ล้านล้านบาทต่อปี หากต้องการบรรลุเป้าหมายหลุดพ้นจากการเป็นประเทศรายได้ปานกลาง และเพิ่มความสามารถในการแข่งขัน ประเทศไทยจำเป็นต้องพัฒนาเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีอยู่ปรับเปลี่ยนไปสู่ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง โดยเฉพาะในกลุ่มอุตสาหกรรมฐานชีวภาพในด้านต่างๆ เช่น อาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ พลังงาน วัสดุชีวภาพ สารเคมี และยา ที่มีแนวโน้มความต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาความพร้อมของประเทศไทย พบว่าไทยมีความพร้อมของวัตถุดิบทางการเกษตรในการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

กรมวิชาการเกษตรในฐานะเป็นหน่วยงานหลักที่สร้างประโยชน์จากความหลากหลายของทรัพยากรทางชีวภาพ เป็นหน่วยงานที่เป็นแหล่งเก็บรวบรวมและอนุรักษ์พืชและจุลินทรีย์ทางการเกษตรที่มีความหลากหลายของชนิดและสายพันธุ์จำนวนมาก และเล็งเห็นความสำคัญของการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ โดยมีการจัดตั้งธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ เพื่ออนุรักษ์และเก็บรักษาทรัพยากรพันธุกรรมไว้ให้ได้ยาวนานอันจะเป็นการป้องกันการเสื่อมพันธุกรรม

กรมวิชาการเกษตร

หรือการสูญหายพันธุกรรมของพืช และนำมาใช้ประโยชน์ในการวิจัยและพัฒนาทั้งในการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้น โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีเข้าสู่เทคโนโลยีการผลิตที่มีประสิทธิภาพ และแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ และพัฒนาเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรชีวภาพ ด้วยการสร้างนวัตกรรมใหม่ๆ ศึกษาหาสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อสร้างอาชีพจากฐานทรัพยากรชีวภาพและมีรายได้เพิ่มขึ้น สร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชนและสามารถพึ่งพาตนเองได้

**วัตถุประสงค์**

1. เพิ่มศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช และฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์
2. สร้างมูลค่าเพิ่มและนวัตกรรมจากฐานทรัพยากรชีวภาพและลดต้นทุนการผลิต เพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน
3. เกษตรกรและชุมชนมีรายได้เพิ่มขึ้น สามารถพึ่งพาตนเอง จากการผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงจากฐานทรัพยากรชีวภาพ

**กรอบแนวคิดของแผนงาน และความเชื่อมโยงของแผนงานย่อยภายใต้แผนงาน**

แผนงานวิจัย ประกอบด้วย 3 แผนงานย่อย มีกลุ่มต้นน้ำ 2 แผนงานย่อย ได้แก่กลุ่มที่ 1 เพื่อสร้างฐานทรัพยากรพืชและจุลินทรีย์ให้มั่นคง มี 1 แผนงานย่อย คือ การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช มี 4 โครงการวิจัย ดำเนินการโดยกลุ่มวิจัยธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นหน่วยงานหลักที่ทำหน้าที่อนุรักษ์และเก็บรวบรวมเชื้อพันธุกรรมในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร โดยมีหน่วยงานเครือข่ายจากสถาบันวิจัยพืชสวน พืชไร่ และ ศูนย์สถานีวิจัยเครือข่ายทั่วประทศไทยของกรมวิชาการเกษตร จัดทำเป็นฐานข้อมูลเชื่อมโยงกับคลังข้อมูลทรัพยากรชีวภาพแห่งของประเทศไทย

กลุ่มต้นน้ำ กลุ่มที่ 2 พัฒนากระบวนการผลิต ที่นำเอาเชื้อพันธุกรรมที่รวบรวมในศูนย์รวมรวมเชื้อพันธุ์เห็ดและจุลินทรีย์มาคัดเลือกและพัฒนาการผลิต มี 1 แผนงานย่อย คือ พัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์ เพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ ที่ดำเนินการในปี 2564 มี 3 โครงการวิจัย คือโครงการวิจัยการพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดซิปินสูง ดำเนินการโดยศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ซึ่งได้มีการรวบรวมพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองอยู่แล้ว จะนำมาเพิ่มมูลค่าโดยการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีสารคอร์เดซิปินสูง และปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมท้องถิ่นรวมทั้งเทคโนโลยีการเพาะให้ได้สารสำคัญสูง โดยมีหน่วยงานเครือข่ายที่ทำร่วมกันคือกลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่า มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และมหาวิทยาลัยราชมงคลล้านนา ทำวิจัยตามที่หน่วยงานชำนาญและเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์พร้อม หลังจากนั้นจึงถ่ายทอดองค์ความรู้ และห้องปฏิบัติการต้นแบบในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยการอบรมเกษตรกรและชุมชน กลุ่มจังหวัดเชียงราย และภาคเหนือ สำหรับการผลิตเอ็นไซม์และสารสำคัญจากจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืช สารเร่งการเจริญเติบโต และทนต่อสภาวะเครียดของพืช ดำเนินการโดยกลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่มีนักวิจัยที่เชี่ยวชาญและเครื่องมือ

กรมวิชาการเกษตร

กลุ่มที่ 3 กลุ่มกลางน้ำ เพื่อเพิ่มมูลค่าจากฐานทรัพยากรชีวภาพ มี 1 แผนงานย่อย คือ การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก ทีดำเนินการในปี 2564 มี 2 โครงการวิจัย โครงการวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ และโครงการวิจัยวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดำเนินการโดยนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญของกองวิจัยและพัฒนาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตรที่จะแปรรูปพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เวชสำอาง และอุตสาหกรรมอื่นๆ เป็นต้น โดยมี บจก.อุดมศักดิ์ฟาร์มเซ็นเตอร์แอนด์เซอร์วิสและบจก. เบล เอ็นเอ็นบริลเลียน ประสงค์จะรับการถ่ายทอดเทคโนโลยี

กรมวิชาการเกษตร

## แผนภาพกรอบแนวความคิดแสดงการบริหารจัดการแผนงาน (แผนการเชื่อมโยงชุดโครงการในแผนงาน) ความเชื่อมโยงของแผนงาน

**<u>เป้าหมายที่ O2.7</u>:** ใช้ความรู้ การวิจัยและนวัตกรรม เพื่อจัดการกับปัญหาท้าทายเร่งด่วนสำคัญของประเทศในด้าน ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม การเกษตร และบรรลุเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืน

**แผนงาน: วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม**

| ต้นน้ำ | | กลางน้ำ |
|---|---|---|
| สร้างฐานทรัพยากรชีวภาพให้มั่นคง | พัฒนากระบวนการผลิต | เพิ่มมูลค่า |
| **แผนงานย่อยที่ 1 การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช** | **แผนงานย่อยที่ 2 พัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์ เพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์** | **แผนงานย่อยที่ 3 การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก** |
| - โครงการวิจัยที่ 1 การรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช (59-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 2 การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช (59-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 3 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช (62-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 4 ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ (61-64) | - โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดปินสูง (63-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 2 วิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจ(62-63)<br>- โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ(62-63)<br>- โครงการวิจัยที่ 4 วิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ (62-62)<br>- โครงการวิจัยที่ 5 การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมศัตรูพืช (62-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 6 การผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (62-64) | - โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ (62-64)<br>- โครงการวิจัยที่ 2 วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก (59-64) |
| **<u>ผลลัพธ์</u>**<br>1. ได้เชื้อพันธุกรรมพืชที่มีความหลากหลายทางชีวภาพเก็บรักษาไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร<br>2. ได้ฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของพืชเศรษฐกิจ และพืชท้องถิ่น เพื่อใช้ประโยชน์และคุ้มครองพันธุ์พืช | **<u>ผลลัพธ์</u>**<br>1. ได้สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าจากการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ให้มีสารสำคัญสูง รวมทั้งเทคโนโลยีการผลิต<br>2. ได้สายพันธุ์เห็ดคัดเลือก ที่ให้ผลผลิตและคุณภาพดี<br>3. เทคโนโลยีการผลิตเห็ดที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับท้องถิ่น<br>4. ผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากจุลินทรีย์: เอนไซม์ควบคุมกำจัดแมลงและโรคพืช และ เร่งการเจริญเติบโต | **<u>ผลลัพธ์</u>**<br>ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยี<br>1. ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเครื่องสำอางจากเห็ดฟาง (ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำ, โปรตีนคอนเซนเทรทผง, เครื่องดื่มโปรตีนสกัด, ซุปเห็ดผงเสริมโปรตีนสกัด, โลชั่นบำรุงผิว, ลิปบาล์ม, ครีมอาบน้ำ)<br>2. นวัตกรรมจากสาหร่ายขนาดเล็ก: สีผงในอุตสาหกรรมอาหาร, ไบโอดีเซล, พลาสติกชีวภาพ ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเครื่องสำอาง<br>3. เครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ |

**ผลผลิต :** (1) ได้แหล่งเชื้อพันธุกรรมพืชและองค์ความรู้ เพื่อใช้ประโยชน์ต่อยอดเชิงพาณิชย์ ปรับปรุงพันธุ์ และเป็นหลักฐานแสดงความเป็นเจ้าของทรัพยากรชีวภาพ (2) เกษตรกร/ชุมชน/ผู้ประกอบการ/ผู้ที่สนใจนำองค์ความรู้และนวัตกรรมจากโครงการ จำนวนอย่างน้อย 20 ต้นแบบไปพัฒนาต่อยอดเป็นธุรกิจชีวภาพใหม่ และสร้างเครือข่ายเพื่อขยายผล

**ความสำเร็จของแผนงาน :**
1. เพิ่มศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ ในการเก็บรักษาความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมเพื่อนำไปสู่ National Biobank และฐานข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ และคุ้มครองพันธุ์พืช
2. ส่งเสริมให้เกิดธุรกิจชีวภาพสมัยใหม่ด้วยการพัฒนาต่อยอดจากฐานทรัพยากรชีวภาพ โดยการถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมสู่การใช้ประโยชน์ สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเกษตรกร ชุมชน ธุรกิจ และอุตสาหกรรม
3. เกษตรกรและชุมชนมีรายได้เพิ่มขึ้น สามารถพึ่งพาตนเอง จากการผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงจากฐานทรัพยากรชีวภาพ

กรมวิชาการเกษตร

**แผนงานวิจัยย่อยที่ 1**

การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช

Conservation of Plant Genetic Resources Biodiversity

**ชื่อผู้วิจัย (คณะผู้วิจัย)**

กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์, สุพินญา บุญมานพ, ปาริฉัตร สังข์สะอาด, อัญชลี แก้วดวง

Kunyaporn Pipithsangchan, Suphinya Bunmanop, Parichart Sangkasa-ad, Anchalee Kaewdoung

**คำสำคัญ**

ดาวอินคา ความแข็งแรง เมล็ดพันธุ์บวบหอม ความชื้นของเมล็ด การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง การอนุรักษ์ การใช้ประโยชน์ ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช เมล็ดเชื้อพันธุ์งา ปริมาณน้ำมันในเมล็ดงา กรดไขมัน กรดโอเลอิค กรดลิโนเลอิค ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ อายุการเก็บรักษา ความมีชีวิต เปอร์เซ็นต์ความงอก พืชสกุลผักโขม มันสาคู การขยายพันธุ์ สภาพปลอดเชื้อ การชะลอการเจริญเติบโต มันขี้หนู การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชสกุลขิง ระย่อมน้อย

**Key words**

*Plukenetia volubilis*, *Sacha inchi*, seed vigor, sponge gourd, seed moisture content, cryopreservation, conservation, utilization, Genebank, *Sesamum indicum*, lipid content, fatty acids, oleic acid, linoleic acid, antioxidant capacity, seed longevity, viability, germination, *Amaranthus*, storage arrowroot, micropropagation, regeneration, *in vitro*, slow growth, *Plectranthus rotundifolius*, tissue culture, *Zingiber*, *Rauvolfia serpentina*

**บทคัดย่อ**

การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชเป็นประเด็นสำคัญระดับโลก องค์การสหประชาชาติจัดทำเป้าหมายเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน (SDG) ในข้อ 2 ขจัดความหิวโหยบรรลุความมั่นคงทางอาหาร 2.5 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ ธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตรจึงได้ดำเนินงานแผนงานวิจัยย่อยการอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช ประกอบด้วยโครงการภายใต้แผนงานวิจัยย่อย 4 โครงการ ได้แก่ โครงการวิจัยที่ 1 การรวบรวมและประเมินสภาพทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช ประกอบด้วย 8 การทดลอง โดยได้ดำเนินการ ปี 2559-2564 ในพืชสกุลมะระ มะเขือ บวบ ผักกวางตุ้ง พริก พิกัดเทียน แตงเทศ ผักกาดโขม สำหรับโครงการวิจัยที่ 2 การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช ประกอบด้วย 7 การทดลอง ดำเนินการในปี 2559-2564 เพื่อศึกษาสารสำคัญในพืช 7 ชนิด คือ กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุลฟาซิโอลัส หนอนตายหยาก ท้าวยายม่อม สมุนไพรจิงจูฉ่าย และพลูคาว และชักนำสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อ โครงการวิจัยที่ 3 โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช ดำเนินการปี 2562-2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืช เมล็ดดาวอินคา บวมหอม งา และผักโขม ภายใต้อุณหภูมิต่างๆ เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ ดำเนินการใน 5 พืช ได้แก่ มันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย

กรมวิชาการเกษตร

โดยแบ่งเป็น 2 กิจกรรม เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดและเทคนิคการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ สำหรับโครงการที่ 4 ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ ดำเนินการในปี 2561-2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและรวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพของพันธุ์พืชสวน พันธุ์พืชไร่ และพันธุ์พืชท้องถิ่นของไทย และศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชโดยศึกษาในพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ 12 พืช ได้แก่ ทุเรียน เงาะ บัว กล้วยไม้ พริก มันสำปะหลัง ถั่วเหลือง พืชวงศ์ศิลา ปัญจขันธ์ ปลาไหลเผือก หนอนตายหยาก และสะตอ โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างของแปลงรวบรวมพันธุ์ของหน่วยงานที่สังกัดกรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกของเกษตรกร และพื้นที่ป่าทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยและใช้เทคนิคด้านดีเอ็นเอบาร์โค้ดของยีนหลายตำแหน่งบนบริเวณคลอโรพลาสต์และนิวเคลียสเพื่อสร้างความสัมพันธ์ของพืชทั้ง 12 กลุ่ม ผลการศึกษาสามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุกรรมของพืชทั้ง 12 กลุ่ม ไว้ในรูปแบบดีเอ็นเออ้างอิงได้จำนวน 578 ตัวอย่างโดยพบว่า ยีนตำแหน่ง ITS เหมาะสมจะใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการจำแนกกลุ่มพันธุ์ของพันธุ์พืชได้มากที่สุดถึง 9 กลุ่มพืช รองลงมา คือ *rbcL*, *matK* และ *trnH-psbA* ได้ 7, 6 และ 4 กลุ่มพืช ตามลำดับ ส่วน *DuBc04*, *rpoC*, *rpl32-trnL*, *trnL-trnF, accD*, *petD*, *psbB* และ *ycf3* แสดงผลการจำแนกทางพันธุกรรมได้เฉพาะบางพืช ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากพันธุ์พืชทั้ง 12 กลุ่มพืช จำนวน 1,683 ข้อมูล ได้บันทึกไว้บนระบบข้อมูลสากลของ NCBI สามารถสืบค้นข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของพืชเชื่อมโยงพรรณไม้แห้งอ้างอิงที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชระดับชาติ จำนวน 516 ตัวอย่าง บันทึกข้อมูล 12 พืชที่ได้จากงานวิจัยนี้จำนวน 424 ข้อมูลพืช เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับสนับสนุนวางแผนการปรับปรุงพันธุ์และการบังคับใช้กฎหมาย การเข้าถึง และการแบ่งปันผลประโยชน์จากการใช้ทรัพยากรพันธุกรรมพืชของประเทศไทยต่อไป


Abstracts

The importance of plant conservation would be highly concerned for the global level. The United Nations created 17 Sustainable Development Goals (SDG). For SDG 2 – zero hunger, DOA genebank of Thailand was established in 2002 to achieve the goal. The research project plan **"Conservation of Plant Genetic Resources Biodiversity"** consists of 4 sub projects 1) Collection and Morphological Characterization of Plant Germplasm (8 experiments; 2016-2021). There were 8 plants, namely bitter gourd eggplant, luffa, flowering white cabbage, Capsicum, Pi-gad-tein (Thai traditional pharmacopoeia), melon and amaranth. The 2nd sub project 2.) Evaluation and Utilization of Plant Germplasm (7 experiments, 2016-2021) were studied the active substances in 7 plants, namely White Kawo Kaua, soybean, bean (*Phaseolus spp.*), *Stemona sp.*, *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. (arrowroot) , *Artemisia lactiflora* (white mugwort) and *Houttuynia cordata Thunb* (Plu Kao). The 3rd sub project 3) Research and Development of technique on Plant Genetic Resources Conservation (8 experiments, 2019-2021) were conducted. This sub project aimed to study appropriate seed conservation techniques for plant germplasm as the follows: (1) *Plukenetia volubilis* L., (2) *Luffa aegyptiaca*, (3) *Sesamum indicum* L., (4) *Amaranthus spp*. (5) *Maranta arundinacea* L., (6) *Plectranthus rotundifolius*, (7) *Zingiber tenuiscapus*, (8) *Zingiber citriodorum*, and (9) *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz in DOA genebank, Thailand. For the 4th sub-project 4) Biodiversity and DNA Barcoding of Economically Efficient Groups (12


กรมวิชาการเกษตร

experiments, 2018-2021) which aimed to survey and collect 12 economically potential plants for studying DNA barcodes and the genetic relationship of collected plants, namely durian, rambutan, lotus, orchid, chili, cussava, soybean, *Aquifoliaceae jiaogulan*, *Eurycoma spp*., *Stemona spp*. and *Parkia speciosa*. Using DNA barcode Techniques of multiple genes to construct the genetic relationship of each plant using phylogenetic methods of Bayesian inference, Maximum Likelihood, Maximum Parsimony, Neighbor Joining and Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean. The DNA of 578 samples obtained from this study were collected as DNA references. The ITS gene was found to be the best DNA barcode to classify the relationship within each group of 9 plants, followed by *rbcL, matK and trnH-psbA* at 7, 6 and 4 plants, respectively. The rest of *DuBc04, rpoC, rpl32-trnL, trnL-trnF, accD, petD, psbB and ycf3* showed genetic classification only in some plants. The nucleotide sequence data of 1,683 samples obtained from this study were recorded on the NCBI database. This information is considered as a new genetic data of Thai economically potential plants. The sequences data submitted to NCBI referred to the botanical information of 516 herbarium specimens registered in the national herbarium. The numbers of 424 biodiversity data of those 12 plant groups could support plant breeding plan, law enforcement, access and benefit sharing from Thailand's use of plant genetic resources.

## บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยถูกจัดอันดับให้อยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงสุด 8 อันดับแรกของโลก กรมวิชาการเกษตรเล็งเห็นความสำคัญของการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช จึงได้มีการจัดตั้ง "ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช" โดยเก็บรักษาในรูปเมล็ดพันธุ์ (seed bank) ปัจจุบันอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืชจำนวนมากกว่า 32,997 ตัวอย่างพันธุ์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพืชเศรษฐกิจและพืชอาหาร พันธุ์พืชไร่และไม้ดอกและอนุรักษ์พืชป่า พืชสายพันธุ์ใหม่ พืชหายาก และพืชสมุนไพรหลากหลายชนิดด้วย โดยชุดโครงการวิจัยนี้มีโครงการวิจัยทั้งหมด 4 โครงการ ได้แก่ 1. โครงการการรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช (2559-2564) เป็นการเพิ่มความหลากหลายของพันธุกรรมแล้ว และเป็นการลดความเสี่ยงต่อการสูญหายของพันธุกรรมพืช และสามารถที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้เมื่อต้องการ หรือใช้ในการพัฒนาพันธุ์พืชต่อไป 2. โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช (ปี 2559-2564) ศึกษาสารสำคัญต่างๆ ในพืช ที่มีประโยชน์ต่อยอดในอนาคต หน่วยงานต่างๆ ที่มีงานด้านอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชรวมทั้งธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร สำหรับข้อมูลการประเมินคุณค่าเชื้อพันธุ์พืชสามารถจัดทำฐานข้อมูลและข้อมูลการประเมินสารสำคัญของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อนุรักษ์ไว้รวมถึงในสภาพแปลงปลูก 3. โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช (ปี 2562-2564) เป็นการศึกษาต่อยอดจากโครงการวิจัยเทคโนโลยีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร โดยเพิ่มเติมพืชที่ศึกษาและระยะเวลา วิธีการเก็บรักษาให้เหมาะสม มีคุณภาพ ลดต้นทุน ให้คงความมีชีวิต มีอัตราการงอกสูง และมีความแข็งแรงมากขึ้นสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น เพื่ออนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 4. โครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ (โครงการวิจัยต่อเนื่อง ปี 2561-2564) การศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานของพรรณไม้ในประเทศไทยเพื่อเป็นฐานข้อมูลพืชของประเทศกลับยังไม่ครบ

กรมวิชาการเกษตร

สมบูรณ์ การศึกษาด้านความหลากหลายทางชีวภาพของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานพืชทั้งในระดับพื้นฐานและระดับการใช้เทคนิคขั้นสูงด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุลโดยการสร้างระบบ DNA barcode ถือเป็นงานพื้นฐานสำคัญของประเทศที่ต้องดำเนินการอย่างเร่งด่วน เพื่อการระบุชนิดที่ถูกต้อง เก็บรวบรวมและรักษาเชื้อพันธุกรรมที่มีอย่างเหมาะสม ซึ่งจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์ ตลอดจนการรักษาทรัพยากรพันธุกรรมพืชของประเทศไทย เพื่อนำไปปรับใช้ ขยายผลหรือต่อยอดได้อย่างกว้างขวางต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเก็บรวบรวม ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลมะระ มะเขือ พืชสกุลบวบ ผักกาดกวางตุ้ง พริก แตงเทศ พืชสมุนไพร “พิกัดเทียน” และผักโขม เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

2. เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับเก็บรักษาในสภาพเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา งา บวบหอม และผักโขม ภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆ เพื่อการจัดการงานด้านการอนุรักษ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ พืชมันสาคู มันขี้หนูขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย

3. ศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ (ปริมาณพฤกษเคมี) : พิวรารินในหัวกวาวเครือขาว ฟาซิโอลามิน ของถั่วในสกุลฟาซิโอลัส สารสำคัญ/สารอัลคาลอยด์ จากรากต้นหนอนตายหยาก ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย โปรตีนจากหัวเท้ายายม่อม และสารสำคัญในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพรจิงจูฉ่าย ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุพืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต ตลอดจนศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพรจิงจูฉ่าย และการใช้สาร methyl jasmonate และ salicylic acid เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณสาร quercitrin และ rutin ในพลูคาว

4. เพื่อสำรวจ รวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพ จัดเก็บเชื้อพันธุกรรม ศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด และจัดทำฐานข้อมูลประกอบด้วย ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด ข้อมูลพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัย ของพันธุ์พืชสวน (ทุเรียน เงาะ บัว พริก กล้วยไม้)

ขอบเขตการศึกษา

1. โครงการการรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช ศึกษารวบรวมแหล่งพันธุกรรม ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ด้านสัณฐานวิทยา โดยอาศัยองค์ความรู้ด้านอนุกรมวิธาน รวมถึงความรู้ด้านเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ การประเมินสารสำคัญ และคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ เพื่อการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุ์พืชสกุลมะระ มะเขือ พืชสกุลบวบ ผักกาดกวางตุ้ง พริก แตงเทศ พืชสมุนไพร “พิกัดเทียน”และผักโขมไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อจัดทำฐานข้อมูลธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปโดยบันทึกข้อมูลลักษณะตาม Descriptor ของพืชชนิดนั้นๆ

2. โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช เนื่องด้วยข้อมูลบางส่วนยังไม่มีการประเมินสารสำคัญในพืชที่จัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชเพื่อเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และการใช้สิ่งกระตุ้นในการเพิ่มสารทุติยภูมิในพืช ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาพืชกวาวเครือขาว ถั่วสกุล Phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม จิงจูฉ่าย และพลูคาว และสามารถประยุกต์ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิในระดับอุตสาหกรรม ด้านผลิตภัณฑ์อาหาร ตลาดเครื่องสำอางจากสมุนไพร ทางด้านเภสัชกรรม และคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นของประชากรในประเทศ

กรมวิชาการเกษตร

3. โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ดาวอินคา บวบหอม งา และผักโขม โดยอาศัยพื้นฐานด้านเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ เพื่อการอนุรักษ์ภายใต้ระบบการจัดเก็บเมล็ดพันธุ์ปัจจุบันของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลางและระยะยาวตลอดจนวิธีการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) และศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาพืชในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ มันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ให้คงความมีชีวิตอยู่ได้ยาวนานและเพิ่มโอกาสในการนำไปพัฒนาสำหรับใช้ประโยชน์ต่อไป

4. โครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ จัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสวน (ทุเรียน เงาะ บัว พริก กล้วยไม้) พืชไร่ (มันสำปะหลัง ถั่วเหลือง) และพืชท้องถิ่น (พืชวงศ์ศิลาปัญจขันธ์ ปลาไหลเผือกหนอนตายหยาก และสะตอ) โดยมีการจัดทำตัวอย่างอ้างอิงงานวิจัย (Voucher specimen) เพื่อเก็บรักษาไว้เป็นฐานข้อมูลในรูปพรรณไม้แห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพและตัวอย่างดีเอ็นเออ้างอิงเก็บรักษาไว้ในธนาคารดีเอ็นเอของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะนำยีนในส่วนของคลอโรพลาสต์และนิวเคลียส มาใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ศึกษาแนวทางการจำแนกชนิดหรือสายพันธุ์ รวมถึงทดสอบประสิทธิภาพความจำเพาะของดีเอ็นเอบาร์โค้ดต่อชนิดหรือสายพันธุ์พืช นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปลงทะเบียนในฐานข้อมูล NCBI เพื่อนำหมายเลข accession มาประกอบในการจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชต่อไป

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

**โครงการวิจัยที่ 1 การรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช (ปี 2559-2564)**

1. <u>การเก็บรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืช</u>

รวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชสกุลมะระ มะเขือ บวบ ผักกาดกวางตุ้ง พริก พืชสมุนไพร “พิกัดเทียน” แตงเทศ และผักโขม อย่างน้อยชนิดละ 30-50 ตัวอย่าง โดยการรวบรวมศึกษาข้อมูล และทำการรวบรวมเชื้อพันธุ์ ข้อมูลเบื้องต้นของพืช ปลูกเพื่อขยายเมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิด คัดเลือกพันธุ์พืชชนิดละ 15-30 ตัวอย่าง เพื่อทำการปลูกประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช

2. <u>การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช</u>

ปลูกประเมินและจดบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาพืชสกุลมะระ มะเขือ บวบ ผักกาดกวางตุ้ง พริก พืชสมุนไพร “พิกัดเทียน” แตงเทศ และผักโขม โดยบันทึกลักษณะต่างๆ ตามแบบบันทึกลักษณะ (Descriptor) ที่ดัดแปลงจาก Descriptor ของพืชแต่ละชนิด จัดจำแนกชนิดและพันธุ์พืช พร้อมจัดทำพันธุ์ไม้อ้างอิง นำเมล็ดเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และคัดเลือกพืชบางชนิด ได้แก่ ผักกาดกวางตุ้ง พริก และผักโขม นำวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญ

สถานที่ดำเนินงาน สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน และศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

กรมวิชาการเกษตร

**โครงการวิจัยที่ 2 การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช (ปี 2559-2564)**

กวาวเครือขาว : ขยายพันธุ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อแล้วลงปลูกในแปลง วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและตรวจสอบหาปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาว

ถั่วเหลือง : นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกฟื้นฟูจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สแกนด้วย Near Infrared Spectroscopy (NIR) ที่ความยาวคลื่น 800-2,500 nm เพื่อหาปริมาณไอโซฟลาโวน (isoflavones) ในเมล็ดถั่วเหลือง จากนั้นนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวนในห้องปฏิบัติการ สร้างสมการถดถอยเชิงเส้นด้วยเทคนิค partial least square regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler แล้วนำสมการที่ได้ไปทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนกับกลุ่มถั่วเหลืองตัวอย่างเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสมการ

ถั่วสกุลฟาซิโอลัส : คัดเลือกถั่วในสกุลฟาซิโอลัสที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชจำนวน 17 สายพันธุ์ ปลูกเพิ่มปริมาณเมล็ดพันธุ์และประเมินลักษณะประจำพันธุ์โดยใช้หลักเกณฑ์ของ IPGRI ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์เชิงสุขภาพ ณ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อเปรียบเทียบปริมาณพฤกษเคมีในเมล็ดถั่วพันธุ์ต่างๆ

หนอนตายหยาก : สำรวจและรวบรวมหนอนตายหยากจากแหล่งต่างๆ เพื่อศึกษาสารทุติยภูมิ/สารสำคัญที่สกัดได้จากรากของหนอนตายหยาก และเพาะเลี้ยงหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

เท้ายายม่อม : นำหัวเท้ายายม่อมที่เก็บรวบรวมจากแหล่งพันธุ์ธรรมชาติ 6 จังหวัด (จันทบุรี กาฬสินธุ์ ฉะเชิงเทรา อุบลราชธานี พังงา และตรัง) มาปลูกในแปลงโดยวางแผนการทดลองแบบ CBD จำนวน 6 กรรมวิธี มี 4 ซ้ำ เก็บเกี่ยวหัวเท้ายายม่อมอายุ 8 เดือน แล้วแปรรูปแป้งเท้ายายม่อมก่อนส่งวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแป้งต้านทานการย่อยตามวิธีการของ AOAC (2002)

จิงจูฉ่าย : ฟอกฆ่าเชื้อที่ข้อและยอดจิงจูฉ่ายแล้วเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นศึกษาผลของ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ชักนำให้เกิดยอด นำต้นจิงจูฉ่ายออกปลูกในโรงเรือน และศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการได้รับกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) ต่อการเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวม (total terpenoids) และกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ในจิงจูฉ่าย

พลูคาว : ศึกษาฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาวแล้วทดสอบประสิทธิภาพของ BA ในการชักนำให้เกิดยอด รวมถึงศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิตริน (quercitrin) และรูติน (rutin) ในต้นพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ

สถานที่ทำการวิจัย : สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี หน่วยวิเคราะห์วิจัยพฤกษเคมี ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และสถาบันโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล

**โครงการวิจัยที่ 3 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช (ปี 2562-2564)**

<u>กิจกรรมที่ 1</u> เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช

- เก็บรวบรวมเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชจากแหล่งต่างๆจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ดาวอินคา (จากแปลงเกษตรกร จ.ประจวบคีรีขันธ์) บวมหอม (จาก อ.ถลาง จ.ภูเก็ต อ.นาแก จ. นครพนม และ อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว) งา (จากศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี) และผักโขม (จากแหล่งกระจายพันธุ์ธรรมชาติและแปลงเกษตรกร จ.นครปฐม)

กรมวิชาการเกษตร

- นำเข้ากระบวนการจัดการเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ทำความสะอาด ลดความชื้น ทดสอบความชื้นระดับต่างๆ ทดสอบความชื้นก่อนบรรจุ การบรรจุในขวด PET และซองอลูมิเนียมฟอยด์สำหรับเก็บที่อุณหภูมิ 5°C และ -10°C ตามลำดับ

- เก็บรักษาเมล็ดดาวอินคา บวบหอม และผักโขมในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) และระยะยาว (-10°C) และเก็บรักษาเมล็ดบวบหอมและงาในสภาพเยือกแข็ง

- การนำออกมาทดสอบความงอก ความชื้น ความมีชีวิต และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ภายหลังจากเก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ สำหรับงาเพิ่มการตรวจวัดปริมาณน้ำมันในเมล็ดงาและทดสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะประจำพันธุ์

กิจกรรมที่ 2 เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ

- สำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชจากแหล่งปลูกธรรมชาติจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มันสาคู (จาก จ.ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี และศรีสะเกษ) มันขี้หนู (จาก อ.รือเสาะ จ.นราธิวาส) ขิงพระพุทธบาท (จาก อ.แม่สอด จ.ตาก) ตะไคร้พราน (จาก อ.เวียงแหง จ.เชียงใหม่) และ ระย่อมน้อย (จาก อ.เมืองปาน จ.ลำปาง และ อ.แม่ระมาด จ.ตาก) จากนั้นจึงอนุบาลขยายต้นพืชในโรงเรือน

- นำเข้ากระบวนการของห้องปฏิบัติการสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อ ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดยอดการชักนำให้เกิดราก และศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโต

**โครงการวิจัยที่ 4 ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ (โครงการวิจัยต่อเนื่อง ปี 2561-2564)**

1. การเก็บตัวอย่างพืชและจัดทำตัวอย่างอ้างอิง

สำรวจรวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทยของพันธุ์พืชสวนจำนวน 5 พืช ประกอบด้วย ทุเรียน เงาะ บัว พริก กล้วยไม้ พันธุ์พืชไร่จำนวน 2 พืช (มันสำปะหลังและถั่วเหลือง) พันธุ์พืชท้องถิ่นจำนวน 5 พืช (พืชวงศ์ศิลา ปัญจขันธ์ ปลาไหลเผือก หนอนตายหยาก และสะตอ) จากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ และแปลงรวบรวมพันธุกรรม ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จัดทำพรรณไม้แห้งอ้างอิงเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ และใช้ศึกษาดีเอ็นเอของพืช รวมถึงเก็บเป็นดีเอ็นเออ้างอิงไว้ในธนาคารดีเอ็นเอในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

2. ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช

สกัดดีเอ็นเอจากชิ้นส่วนใบพืชและคัดเลือกไพรเมอร์ที่จำเพาะกับดีเอ็นเอมาตรฐานบริเวณคลอโรพลาสต์และนิวเคลียส แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Bioedit หรืออื่นๆ วิเคราะห์ความเหมือนด้วยโปรแกรม Blast (basic local alignment search tool) เพื่อตรวจสอบความปนเปื้อนของดีเอ็นเอจากเว็บไซต์ https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี Bayesian Inference, Maximum Likelihood, Maximum Parsimony, Neighbor Joining และ Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean ทดสอบประสิทธิภาพคู่ไพรเมอร์ของยีนเป้าหมาย จากนั้นจึงลงทะเบียนเก็บข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่มีประสิทธิภาพไว้บนฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อนำหมายเลข GenBank accession มาอ้างอิงในการจัดทำฐานข้อมูลชีวโมเลกุลของพืชแต่ละชนิด

กรมวิชาการเกษตร

3. จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพและข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช

บันทึกข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์พืชสวน พันธุ์พืชไร่ และพันธุ์พืชท้องถิ่น ทั้ง 12 พืช ตามรูปแบบการบันทึกข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ ชื่อท้องถิ่น ชื่อวงศ์ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การกระจายพันธุ์ แหล่งที่พบตัวอย่างในงานวิจัย ข้อมูลเชิงนิเวศวิทยา ลักษณะเด่นของพืช การขยายพันธุ์ ช่วงเวลาออกดอก-ติดผล การนำไปใช้ประโยชน์ ตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืช ข้อมูลดีเอ็นเออ้างอิงบนฐานข้อมูลที่ตรวจสอบได้ (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) ภาพประกอบ และเอกสารอ้างอิง

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

**โครงการวิจัยที่ 1 การรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช**

**พืชสกุลมะระ (*Momordica* spp.)** : สามารถรวบรวมพืชสกุลมะระจากแหล่งต่างๆ ทั้งแหล่งธรรมชาติ แปลงปลูกของเกษตรกร ตลาด และศูนย์วิจัยต่างๆ ได้ทั้งหมด 64 ตัวอย่าง โดยเป็นมะระขี้นก 36 ตัวอย่าง มะระจีน 6 ตัวอย่าง ฟักข้าว 14 ตัวอย่าง และผักแมะ 8 ตัวอย่าง รวมถึงพืชในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) อีก 4 ตัวอย่าง ได้แก่ มะนอยป่า ขี้กา กระดอม และกระดึง จากนั้นปลูกขยายเพิ่มจำนวนเมล็ดเชื้อพันธุ์มะระขี้นกเพื่อใช้สำหรับปลูกประเมินเชื้อพันธุ์ มะระขี้นกเป็นพืชผสมข้ามจึงทำให้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง (Knott and Deanon, 1967) (Walters and Decker-Walters, 1988) (Bharathi *et al*., 2012) แม้ปลูกตัวอย่างเดียวกันโดยใช้เมล็ดที่ได้จากต้นเดียวกันก็สามารถให้ผลผลิตที่มีความแตกต่างกันได้ จึงได้ผสมตัวเองในแต่ละตัวอย่าง 3 ครั้งเพื่อเป็นการลดความแปรปรวนดังกล่าวก่อนปลูกเพื่อประเมินเชื้อพันธุ์ ดำเนินการปลูกและประเมินลักษณะสัณฐานวิทยา จำนวน 15 ตัวอย่าง ใช้แบบบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาโดยดัดแปลงจาก Descriptor for Bitter Gourd ของ IBPGR (1983) รวม 59 ลักษณะ

พืชสกุลมะระที่ได้จากการรวบรวมในการทดลองนี้สามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิด (species) ได้แก่ *M. charantia* L. (มะระขี้นกและมะระจีน) *M. cochinchinensis* (Lour.) Spreng. (ฟักข้าว) และ *M. subangulata* Blume (ผักแมะ) รายงานของ Siemonsma และ Kasem Piluek (1994) จากการประเมินลักษณะสัณฐานวิทยามะระขี้นกโดยใช้แบบบันทึกลักษณะต่างๆ โดยดัดแปลงจาก Descriptor for Bitter Gourd ของ IBPGR (1983) ร่วมกับการศึกษาค้นคว้าจากรายงานของ Reyes และคณะ (1993) และรายงานของ Santisuk และ Larsen (2008) ซึ่งสามารถจัดแบ่งกลุ่มมะระขี้นกในการทดลองนี้ได้เป็น 3 ขนาด คือ กลุ่มผลที่มีขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก ซึ่งเมล็ดของผลขนาดกลางและใหญ่มีความงอก 100% และมีจำนวนวันในการงอกครั้งแรก 5 วันหลังเพาะ ในขณะที่เมล็ดของผลขนาดเล็กมีความงอกอยู่ในช่วง 65-79% และมีจำนวนวันในการงอกครั้งแรกอยู่ในช่วง 5-7 วัน แสดงให้เห็นว่าเมล็ดของผลขนาดกลางและใหญ่มีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดของผลขนาดเล็ก

นำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของมะระขี้นกทั้ง 15 ตัวอย่าง ที่ผ่านการประเมินลักษณะสัณฐานวิทยาไปเก็บรักษาที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ กรมวิชาการเกษตร (Bangkok Herbarium, BK)

**พืชสกุลมะเขือ (*Solanum* spp.)** : สามารถรวบรวมพืชสกุลมะเขือได้ทั้งหมด 86 ตัวอย่าง โดยแบ่งออกเป็น 3 ชนิด (species) ได้แก่ *S. aethiopocum* L., *S. aculeatissimum* Jacq. และ *S. melongena* L. ผลการปลูกขยายพันธุ์ *S. melongena* L. 50 ตัวอย่าง สามารถแบ่งมะเขือตามลักษณะของผลผลิตได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ มะเขือผลสั้น และมะเขือผลยาว โดยเป็นมะเขือเปราะลักษณะผลสั้นรูปทรงกลมคิดเป็น 46% ของตัวอย่างที่ปลูกขยาย

กรมวิชาการเกษตร

การปลูกประเมินมะเขือผลสั้นจำนวน 17 ตัวอย่าง โดยประเมินลักษณะสัณฐานวิทยาจำนวน 30 ลักษณะที่ดัดแปลงจาก Descriptors for Eggplant ของ IBPGR สามารถแบ่งมะเขือได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ 1) มะเขือเปราะผลทรงกลม ขนาดผลใหญ่เหมือนผลมะนาว เนื้อกรอบ จำนวน 9 ตัวอย่าง 2) มะเขือเปราะผลทรงกลม ขนาดผลเล็กเหมือนไข่มุก ต้นเตี้ย ใช้เวลาสั้นในการออกดอกติดผล เนื้อกรอบ จำนวน 3 ตัวอย่าง 3) มะเขือไข่เต่า ผลรี เปลือกมัน มีรสหวานกรอบ จำนวน 3 ตัวอย่าง และ 4) มะเขือจานผลทรงกลมแป้น มีร่องหยัก เปลือกบางเนื้อนุ่ม จำนวน 2 ตัวอย่าง

มะเขือที่ให้น้ำหนักผลผลิตสูงสุด 5 อันดับแรก (2,938.54-2,377.19 กรัมต่อต้น) ได้แก่ มะเขือเปราะม่วง (S35) มะเขือลาย (S43) มะเขือลาย/มะเขือคางกบ (S41) มะเขือเปราะพันธุ์พิจิตร 1 (DOAVG 00007) และมะเขือเปราะพันธุ์ลายรี (S28) สำหรับมะเขือที่ให้ปริมาณผลผลิตมากกว่า 150 ผลต่อต้น มี 4 ตัวอย่าง ได้แก่ มะเขือกรอบพันธุ์เวียดนาม (S42) มะเขือขาวกรอบพันธุ์ขาวพวง (S18) มะเขือตอแหล (S71) และมะเขือเปราะพันธุ์ลายรี (S28) ซึ่งมะเขือทั้ง 4 ตัวอย่างเป็นมะเขือที่มีดอกเป็นช่อปริมาณดอกมากกว่า 3 ดอกต่อช่อ

นำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของมะเขือจำนวน 17 ตัวอย่าง ที่ผ่านการประเมินลักษณะสัณฐานวิทยาไปเก็บรักษาที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ กรมวิชาการเกษตร

**พืชสกุลบวบ (*Luffa* spp.)** : สามารถรวบรวมพืชสกุลบวบได้ทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกบวบหอม 13 ตัวอย่างและบวบเหลี่ยม 5 ตัวอย่างมาปลูกประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 5 ระยะ (ต้นกล้า เจริญเติบโตด้านลำต้น ออกดอก ติดผลและเก็บเกี่ยว และระยะเมล็ดพันธุ์) รวมทั้งหมด 25 ลักษณะ ซึ่งพบว่าบวบหอมส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงผลเป็นทรงไข่เรียวยาว (elongate slim) ร่องสันผลตื้น น้ำหนักผลเฉลี่ย 269.662 กรัม และจำนวนผลต่อต้นเฉลี่ย 23 ผล ผลระยะผลอ่อนมีรสหวาน ดอกเป็นแบบ monoecious สีกลีบดอกอยู่ในกลุ่ม yellow group เมล็ดมีสีดำ น้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ยอยู่ที่ 9.771 กรัม สำหรับบวบเหลี่ยมส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงผลเป็นรูปกระบอง (club-shaped) ดอกและสีดอกอยู่ในกลุ่มเดียวกับบวบหอม เมล็ดสีดำรูปไข่และมีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ยอยู่ที่ 14.035 กรัม การใช้ประโยชน์พืชสกุลบวบทั้งบวบหอมและบวบเหลี่ยมของไทยมีความคล้ายคลึงกับของต่างประเทศโดยบริโภคผลอ่อนเป็นอาหาร ขณะที่ผลแก่มักใช้เป็นใยขัดผิวหรือใยทำความสะอาด (Russell and Cohn, 2012)

**ผักกาดกวางตุ้ง** : สามารถรวบรวมพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งจากแหล่งปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ อ.ทุ่งหัวช้าง จ.ลำพูน อ.ปัว จ.น่าน และบริษัทผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งได้ทั้งหมด 53 พันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ใบ 25 พันธุ์ และพันธุ์ดอก 28 พันธุ์ ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาในแปลงปลูกที่ ศวพ.น่านระยะปลูก 50x50 ซม. ส่วนที่เก็บเมล็ดพันธุ์จะนำไปปลูกในโรงเรือนตาข่ายเพื่อป้องกันการผสมข้าม โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) 53 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ต้น จากนั้นประเมินลักษณะสัณฐานวิทยาของผักกาดกวางตุ้งจำนวน 15 ลักษณะ เนื่องจากผักกาดกวางตุ้งเป็นพืชผสมข้าม เป็นผลให้มีความแปรปรวนของพันธุ์สูง จึงต้องปลูกซ้ำในแปลงทดสอบเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคงที่ และจากการส่งตัวอย่างผักกาดกวางตุ้งจำนวน 20 ตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่าผักกาดกวางตุ้งบางชนิดมีเบต้าแคโรทีน โพแทสเซียม หรือโปรตีนสูง ซึ่งพันธุ์เหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

**เชื้อพันธุกรรมพริก (*Capsicum* spp.)** : สามารถรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพริกได้ทั้งหมด 84 ตัวอย่างพันธุ์ นำไปปลูกเพื่อประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 47 ตัวอย่างพันธุ์ เริ่มจากเตรียมแปลงปลูกขนาด 3 x 6 เมตร ใส่ปุ๋ยคอก 800 กก.ต่อไร่ และปูนโดโลไมล์ 200 กก.ต่อไร่ นำต้น

กรมวิชาการเกษตร

กล้าพริกอายุ 1 เดือนมาปลูกในแปลงที่ได้เตรียมไว้จำนวน 28 ต้นต่อแปลงย่อย และดูแลรักษาตามลักษณะของเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP) ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 60 ลักษณะ และเก็บเกี่ยวผลผลิตเพื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปจัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้ยังวิเคราะห์สารแคปไซซิน (capsaicin) ในผลพริกเพื่อใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกเชื้อพันธุกรรมพริกสำหรับต่อยอดการใช้ประโยชน์ต่อไป

**พิกัดเทียน** : สามารถรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชสมุนไพรพิกัดเทียนได้ทั้งหมด 127 ตัวอย่าง พิกัดเทียนบางชนิดเป็นชนิดเดียวกันแต่มีชื่อเรียกต่างกัน เช่น เทียนขมและเทียนลวด บางชนิดเป็นพืชต่างชนิดกันแต่ใช้ชื่อเดียวกัน เช่น เทียนตาตั๊กแตน แต่เทียนตาตั๊กแตน (*Heracleum barmanicum* Kurz) ไม่ได้ใช้ในตำรับยาไทย แต่ใช้เป็นพืชเครื่องเทศ พบได้ในแถบภาคเหนือ เมื่อนำพิกัดเทียนที่รวบรวมมาจำแนกความแตกต่างตามลักษณะสัณฐานของเมล็ดพันธุ์ สามารถจำแนกได้ 12 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตั๊กแตน เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนแดง เทียนดำ เทียนเยาวพาณี เทียนเกล็ดหอย เทียนลวด เทียนสัตตบุษย์ เทียนตากบ เทียนขม และเทียนแกลบ

จากการเปรียบเทียบพิกัดเทียนที่รวบรวมได้กับพิกัดเทียนที่ปรากฏในตำราหรือคู่มือทางด้านเภสัชกรรมแผนไทย (คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 5 คณาเภสัช ของ รศ.ดร.ชยันต์ พิเชียรสุนทร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ ศ.พิเศษ ดร.วิเชียร จีรวงส์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) พบว่าการใช้เทียนต่างๆ ในยาไทยนั้น แพทย์แผนไทยแบ่งออกเป็น 13 ชนิด 4 พิกัด (ชยันต์ และวิเชียร, 2547) ดังนี้

- พิกัดเทียนทั้ง 5 ได้แก่ เทียนตาตั๊กแตน เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนแดง และเทียนดำ
- พิกัดเทียนทั้ง 7 ได้แก่ เทียนทั้ง 5 โดยมีเทียนเยาวพาณีและเทียนสัตตบุษย์เพิ่มเข้ามา
- พิกัดเทียนทั้ง 9 ได้แก่ เทียนทั้ง 7 โดยมีเทียนตากบและเทียนเกล็ดหอยเพิ่มเข้ามา
- พิกัดเทียนพิเศษ มี 4 อย่าง ได้แก่ เทียนขม เทียนลวด เทียนแกลบ และเทียนชะมด

พิกัดเทียนที่มีการใช้ตรงกันตามที่ปรากฏในคู่มือเภสัชกรรมแผนไทยมีจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตั๊กแตน เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนแดง เทียนดำ เทียนเยาวพาณี เทียนเกล็ดหอย และเทียนลวด ส่วนพิกัดเทียนที่ไม่ตรงกันกับที่เคยรายงานในคู่มือเภสัชกรรมแผนไทยมี 4 ชนิด ได้แก่ เทียนสัตตบุษย์ เทียนตากบ เทียนขม และเทียนแกลบ แสดงให้เห็นว่าการใช้พืชสมุนไพรพิกัดเทียนในบางชนิดยังทีความสับสนกันอยู่มาก เนื่องจากพืชที่เป็นแหล่งที่มาของเทียนมีความคล้ายคลึงกันจนแยกไม่ออก อย่างไรก็ตามในการศึกษาสมุนไพรพิกัดเทียนนี้ ไม่พบพื้นที่ศึกษาใดกล่าวถึงเทียนชะมด (*Abelmoschus moschatus* Medik subsp. *moschatus*)

**เชื้อพันธุกรรมแตงเทศ** : จากการรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมแตงเทศ ได้สายพันธุ์แท้จำนวน 15 สายพันธุ์ โดยเก็บข้อมูลตามแบบ IPGRI Drescriptors For Melon และได้สรุปแบบการเก็บข้อมูลของพันธุ์ดังนี้คือ บารมี (F3) เบอร์ 1 จำนวน 14 ต้น, พันธุ์บารมี (F3) เบอร์ 2 จำนวน 13 ต้น, พันธุ์ Mangificenza (F3) เบอร์ 2 จำนวน 64 ต้น และพันธุ์ Mangificenza (F3) เบอร์ 74 จำนวน 61 ต้น พบว่าการปลูกแตงเทศโดยการผสมกลับ (black cross) เพื่อให้ได้พันธุ์แท้ (pure line) โดยในแต่ละสายต้นได้ทำการปลูกประมาณ 3-5 ครั้งจนได้สายต้นที่นิ่งที่เรียกว่าพันธุ์แท้ โดยได้เก็บลักษณะประจำพันธุ์ตามแบบ IPGRI Drescriptors For Melon ซึ่งได้สายพันธุ์แท้จำนวน 15 สายพันธุ์ พันธุ์ผิวเรียบที่เก็บรวบรวมจำนวน 34 พันธุ์ พันธุ์ Net melon ที่เก็บรวบรวม จำนวน 12 พันธุ์ และพันธุ์ Rock melon ที่เก็บรวบรวมจำนวน 16 พันธุ์

กรมวิชาการเกษตร

**พืชสกุลผักโขม (*Amaranthus* spp.)** : สามารถรวบรวมพืชสกุลผักโขมได้ทั้งหมด 217 ตัวอย่างพันธุ์ จากนั้นได้คัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อการบริโภคจำนวน 30 ตัวอย่าง มาประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการใช้ประโยชน์ของผักโขมเพื่อการบริโภค โดยพบว่าเบอร์ N6128 มีความสูงมากที่สุด (168 ซม.) เบอร์ N6151 มีความสูงน้อยที่สุด (59.33 ซม.) เบอร์ N6128 มีใบมากที่สุด (44 ใบต่อต้น) เบอร์ N610 และ N6151 มีใบน้อยที่สุด (20.67 ใบต่อต้น) เบอร์ N6153มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด (3.09 กรัม) เบอร์ N6156 มีโปรตีนต่ำสุด (1.79 กรัม) เบอร์ N6129 ให้ผลผลิตสูงสุด (3,351 กรัมต่อ 4 ตร.ม.) เบอร์ N6179 ให้ผลผลิตน้อยที่สุด (1,055 กรัมต่อ 4 ตร.ม.) จะเห็นว่าพันธุ์ที่ดีมีปริมาณผลผลิตมากสุดและมีปริมาณโปตีนปานกลางคือเบอร์ N6129 และ N6131 ซึ่งมีใบและลำต้นสีเขียว ลำต้นตั้งตรงและแตกกิ่งก้านไม่มีหนาม ทั้งสองเบอร์มีโปรตีน 2.55 และ 2.78 กรัมตามลำดับ และพันธุ์ที่น่าสนใจอีกพันธุ์คือเบอร์ N6153 ซึ่งมีโปรตีนสูงที่สุด มีใบและลำต้นสีเขียวปนแดง ลำต้นตั้งตรงและแตกกิ่งก้าน ไม่มีหนามและผลผลิตเท่ากับ 2,188 กรัมต่อ 4 ตร.ม.

การคัดเลือกสายพันธุ์ผักโขมเพื่อการบริโภคนั้น จะคัดเลือกจากความหลากหลายของสายพันธุ์สอดคล้องกับ Grubben (1993) ซึ่งจำแนกผักโขมที่ได้เป็น *A. tricolor* และ *A. dubius* ซึ่งส่วนใหญ่ใช้สำหรับรับประทาน ในปี 2016 Lavernee และคณะได้ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผักโขม 18 ตัวอย่างตามหลัก IBPGR สามารถแบ่งผักโขมได้ 4 สปีชีส์ คือ A. *spinosus,* A. *gracilis*, *A. hybridus* และ *A. tricolor* พบว่าในจำนวน 30 ตัวอย่างพันธุ์ที่คัดได้มีลักษณะดีเด่นหลายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง รวมทั้งมีคุณค่าทางโภชนาการด้านโปรตีนสูง ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ผักโขมต่อไปในอนาคต

**โครงการวิจัยที่ 2 การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช**

**กวาวเครือขาว** : ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของหัวกวาวเครือขาวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 9 และ 12 เดือน พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรต (61.22 และ 71.82 กรัม) ไขมัน (0.93 และ 1.21 กรัม) โปรตีน (9.67 และ 5.84 กรัม) ความชื้น (14.91 และ 10.81 กรัม) และเถ้า (13.06-11.25 กรัม) ไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นปริมาณใยอาหารทั้งหมด (18.72 และ 9.08 กรัม) เมื่อเทียบต่อกวาวเครือขาวแห้ง 100 กรัม อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มไอโซฟลาโวนพบว่าหัวกวาวเครือขาวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 9 เดือนมีปริมาณ puerarin, daidzein และ genistein สูงสุด (80.66, 24.15 และ 0.26 มก. ต่อกวาวเครือขาวแห้ง 100 กรัมตามลำดับ) เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของสมุนไพรคือปริมาณสารสำคัญซึ่งมักมีผลมาจากกรรมพันธุ์ ระยะเวลาการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อมและช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว จากข้อมูลการวิจัยอายุการเก็บเกี่ยวน่าจะมีผลต่อปริมาณสารสำคัญของกวาวเครือขาว แต่เนื่องจากอายุที่น้อยเกินไปจึงทำให้ไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณของ puerain และ daidzein ของกวาวเครือขาวอายุ 9 เดือนที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยนี้ มีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างจากแหล่งต่างๆ ใน จ.เชียงราย (ปราโมทย์และคณะ, 2548) แต่ปริมาณ genistein มีปริมาณใกล้เคียงกัน จึงเป็นไปได้ว่าความแตกต่างของพื้นที่ก็มีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่แตกต่างกันด้วยซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป จากข้อมูลนี้จะสามารถสนับสนุนการเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพสำหรับการสกัดเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ได้ในอนาคต

**ถั่วเหลือง** : ผลการวิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ดถั่วเหลืองจำนวน 200 ตัวอย่างด้วยเทคนิค NIR ความยาวคลื่น 800-2,500 nm และผลการวิเคราะห์ไอโซฟลาโวนในห้องปฏิบัติการสามารถสร้างสมการสำหรับการทำนายปริมาณสารกลุ่มไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองได้ทั้งหมด 7 สมการ

กรมวิชาการเกษตร

ได้แก่ สมการของ daidzin, daidzein, glycitin, glycitein, genistin, genistein และ total isoflavone เมื่อปรับค่าสมการแล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ดถั่วเหลืองจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณไอโซฟลาโวนทั้ง 7 ชนิดที่ทำนายได้จากสมการและที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% จึงสรุปได้ว่าเทคนิค NIR สามารถทำนายปริมาณสารไอโซฟลาโวนในเมล็ดถั่วเหลืองได้โดยที่ไม่จำเป็นต้องทำลายตัวอย่างเมล็ดพันธุ์

**ถั่วสกุลฟาซิโอลัส** : ได้ข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วสกุลฟาซิโอลัสทั้งหมด 17 ตัวอย่างพันธุ์จากการประเมินทั้งหมด 30 ลักษณะ สำหรับเก็บเป็นฐานข้อมูลเพื่อคัดเลือกพันธุ์นำไปใช้ในทางการค้าและเพิ่มมูลค่าในตัวผลิตผลทางการเกษตร จากนั้นคัดเลือกเมล็ดพันธุ์จำนวน 10 ตัวอย่างพันธุ์ไปวิเคราะห์พฤกษเคมีฟาซิโอลามิน (phaseolamin) ซึ่งเป็นสารที่มีศักยภาพลดระดับน้ำตาลในเลือดผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4 ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดจากถั่วทั้ง 10 ตัวอย่างพันธุ์สามารถยับยั้งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดได้ กล่าวคือสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า–อะไมเลสได้ 13-31% ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/mL โดยถั่ว TML 92 (2) และถั่วนิ้วนางแดงสามารถยับยั้งได้สูงสุด ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า–กลูโคซิเดสได้ 6-60% ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/mL โดยถั่วเหลือง สจ.5 และ ชม.60 สามารถยับยั้งได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่น และยับยั้งเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4 ได้ 12-52% ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/mL โดยถั่วเขียวชัยนาท 4 ชัยนาท 84-1 และถั่วบอย สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่น แสดงให้เห็นว่าถั่วสกุลฟาซิโอลัสมีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์เชิงสุขภาพเพื่อลดความเสี่ยงในการเป็นโรคอ้วนและเบาหวานได้

**หนอนตายหยาก** : สามารถจำแนกหนอนตายหยากได้ 5 ชนิด (species) แต่อีก 1 ชนิดไม่สามารถจำแนกได้ ได้แก่ *Stemona curtisii* Craib., *S. collinsiae* Craib., *S. tuberosa* Lour., *S. rupestris* Inthachub., *S. pierrei* Gagnep และ *Stemona* sp. (unknown) สารที่พบเป็นองค์ประกอบหลักในรากหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* และ *S. rupestris* คือ stemoncurtisine โดยรากหนอนตายหยาก *S. rupestris* จาก อ.เขาวง จ.กาฬสินธุ์ ให้ปริมาณสาร stemocurtisine สูงที่สุด (1.68% w/w) รองลงมาคือรากหนอนตายหยาก *S. curtisii* จาก อ.ประทิว จ.ชุมพร (1.15% w/w) สำหรับสาร stemofoline พบในรากหนอนตายหยากชนิด *S. curtisii* และ *S. collinsiae* โดยพบเป็นองค์ประกอบหลักใน *S. collinsiae* ซึ่งรากหนอนตายหยากจาก อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี ให้ปริมาณสาร stemofoline สูงที่สุด (1.65% w/w) อย่างไรก็ตามหนอนตายหยากชนิด *S. tuberosa*, *S. pierrei* และ *Stemona* sp. (unknown) ไม่พบสาร stemocurtisine และ stemofoline

เมื่อนำหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อพบว่า *S. tuberosa* และ *S. collinsiae* สามารถเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้สำเร็จ โดย *S. tuberosa* สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด (3 ยอดต่อชิ้น) บนอาหารสูตร MS + BA ความเข้มข้น 6 และ 8 mg/L ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Montri และคณะ (2006) ที่สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด (4.4 ยอดต่อชิ้น) ใน *S. curtisii* ที่เพาะเลี้ยงด้วย MS + BA 20 µM แต่ยังไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ สำหรับ *S. collinsiae* สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด (3 ยอดต่อชิ้น) บนอาหารสูตร MS + TDZ 2 mg/L และสามารถชักนำให้เกิดรากได้บนอาหารสูตร MS+ 3%sucrose + NAA 1 mg/L + thiamine 1 mg/L คิดเป็นร้อยละ 71.23

กรมวิชาการเกษตร

**เท้ายายม่อม** : ผลการเจริญเติบโตของเท้ายายม่อมที่อายุ 5 เดือนหลังปลูกโดยทั้ง 6 กรรมวิธี พบว่ามีจำนวนก้านใบ 1-6 ก้านต่อหัว มีความยาวก้านใบอยู่ 11-86 ซม. จำนวนก้านช่อดอก 1 ก้านต่อหัวโดยมีความยาวก้านช่อดอก 94-167 ซม. เท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดมีสีและความยาวของก้านใบที่แตกต่างกัน โดยเท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรี จ.อุบลราชธานี จ.ตรัง และ จ.พังงา มีความยาวกว่าเท้ายายม่อมจาก จ.กาฬสินธุ์ และ จ.ฉะเชิงเทรา สำหรับน้ำหนักผลผลิตหัวพบว่าเท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดให้ผลผลิตหัวมีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรีมีน้ำหนักหัวสูงสุด (416.88 กรัม) แต่ไม่แตกต่างกับหัวจาก จ.ฉะเชิงเทรา (411.88 กรัม) ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปจากจากทั้ง 6 จังหวัดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเท้ายายม่อมจาก จ.อุบลราชธานีให้ปริมาณแป้งสูงสุด รองลงมาคือ จ.จันทบุรี (220.37 และ 202.37 กรัมต่อน้ำหนักสด 1 กก. ตามลำดับ) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่าแป้งเท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดพบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรต 87.48-88.67 กรัม ไขมัน 0.01-0.68 กรัม โปรตีนน้อยกว่า 0.10 กรัม ความชื้น 11.18-13.26 กรัม เถ้า 0.07-0.11 กรัม และใยอาหาร 0.25-1.60 กรัมเมื่อเทียบต่อแป้งเท้ายายม่อม 100 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาภรณ์และคณะ (2546ก) ที่พบว่าแป้งเท้ายายม่อมมีคาร์โบไฮเดรต 89.12 กรัมและใยอาหาร 0.59 กรัม

**จิงจูฉ่าย** : การกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 0.1 และ 0.5 mM ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมเท่ากับ 23.05 และ 22.13 mg/100g หลังจากกระตุ้น 1 วัน ส่วนการกระตุ้นด้วย กรดซาลิไซลิก 1, 3 และ 5 mM ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมลดลงหลังจากกระตุ้น 1 วัน และเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 22.58, 19.47 และ 19.87 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน สำหรับจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมได้ต่ำสุด 11.55 mg/100g การกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 0.1 mM (23.05 mg/100g คิดเป็น 2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ) แต่สามารถผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมได้สูงกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติในทุกความเข้มข้น การกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 0.1 และ 0.5 mM ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ 6.0 และ 6.6 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน และใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลา 5 วัน และสูงกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น 4.7 mg/100g ส่วนการกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 1, 3 และ 5 mM นั้น ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตกรดแอสคอร์บิกลดลงหลังจากกระตุ้น 1 วัน และเพิ่มสูงขึ้น 5.6, 5.2 และ 5.4 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน ยกเว้นการกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 3 mM มีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากกระตุ้น 5 วัน สำหรับต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ สามารถผลิตกรดแอสคอร์บิกได้ต่ำสุดคือ 4.7 mg/100g ในภาพรวมการกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิก 0.5 mM (6.6 mg/100g คิดเป็น 2.2 เท่าของจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ) แต่สามารถผลิตกรดแอสคอร์บิกได้สูงกว่าจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติในทุกความเข้มข้น

การใช้ BA ที่ความเข้มข้นต่ำชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ความเข้มข้นสูงในพืชทั้งในต้นพรมมิและจิงจูฉ่าย เช่นเดียวกับกรดซาลิไซลิกความเข้มข้นต่ำมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นสารทุติยภูมิได้มากกว่ากรดซาลิไซลิกความเข้มข้นสูง แต่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมก็ต่างกันออกไปตามชนิดพืช ทั้งนี้การสร้างเทอร์พีนอยด์รวมจากต้นจิงจูฉ่ายโดยใช้กรดซาลิไซลิกความเข้มข้นที่เหมาะสมต่างจากในเจตมูลเพลิงแดง และการผลิตกรดแอสคอร์บิกในจิงจูฉ่าย ดังนั้นในการใช้ชนิดสิ่งกระตุ้นและความเข้มข้นที่เหมาะสม ควรศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญหลังจากกระตุ้นด้วย เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดและคุ้มค่ากับการลงทุนในแต่ละครั้งที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

**พลูคาว** : การเพาะเลี้ยงข้อพลูคาวก้านม่วงและพลูคาวใบเขียวในสภาพปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 และ 85% ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงบน MS + BA 1

กรมวิชาการเกษตร

mg/L มีผลทำให้ได้ยอดจำนวนมากที่สุด และพบว่าการชักนำในสูตรอาหาร MS + salicylic acid 0.50 mM ในพลูคาวก้านม่วง ผลิตสารเคอร์ซิตรินและรูตินสูงที่สุด (6.46±1.08 และ 0.59±0.08 mg/L ตามลำดับ) และในพลูคาวก้านเขียว ผลิตสารเคอร์ซิตรินและรูตินสูงที่สุด (ไม่สามารถตรวจพบสารได้ และ 2.14±0.30 mg/L ตามลำดับ) สำหรับเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อต้นพลูคาวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือการใช้เอทานอล 95% เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15% เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยไฮเตอร์ 5% เป็นเวลา 5 นาที และสูตรอาหาร MS + BA 1 mg/L เป็นสูตรอาหารที่ชักนำพลูคาวเกิดยอดจำนวนมากได้ดีที่สุด นอกจากนี้กรดซาลิไซลิก 0.50 mM เป็นสารกระตุ้นที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิตรินและรูตินในต้นพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อได้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการที่กรดซาลิไซลิกสามารถกระตุ้นให้พืชมีการสะสมสารเคอร์ซิติน (quercetin) ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์มากเพิ่มขึ้น

**โครงการวิจัยที่ 3 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช**

**กิจกรรมที่ 1 เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช**

**ดาวอินคา** : สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ดาวอินคาให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานควรลดความชื้นของเมล็ดให้เหลือ 6% หรือต่ำกว่าก่อนการเก็บรักษาและเก็บไว้ในห้องอุณหภูมิ 5°C มีความงอกมากกว่า 50% สามารถอยู่ได้นานถึง 28 เดือน และสำหรับห้อง -10°C โดยลดความชื้นเมล็ดให้เหลือ 6 และ 4% มีความงอกเท่ากับ 63 และ 69% นานถึง 28 เดือน เพื่อรักษาคุณภาพของเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

**บวบหอม** : เมื่อลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ให้มีระดับความชื้นที่ 8, 6 และ 4% พบว่าระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่างในสภาพเยือกแข็ง ได้แก่ ระดับความชื้นในช่วง 6-8% เมื่อนำบวบหอมทั้ง 3 ชนิด ไปปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่าบวบหอมยาวและบวบหอมสั้นมีการเจริญเติบโตได้ดีทุกระยะ ขณะที่บวบหอมป่าเจริญเติบโตดีในระดับกล้าเท่านั้น

**งา** : พบว่างาทุกพันธุ์ ได้แก่ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงอุบลราชธานี 1 และงาแดงอุบลราชธานี 2 พบงาทุกพันธุ์ดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิต ความแข็งแรง และปริมาณน้ำมันงา โดยสามารถเก็บรักษาเมล็ดในสภาพเยือกแข็งได้แต่ควรลดความชื้นอยู่ที่ 6% หรือต่ำกว่า เพื่อให้เมล็ดคงมีความมีชีวิตได้นานสูงสุด

**ผักโขม** : ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิห้องเมล็ดผักโขมมีความชื้นเริ่มต้น 10% สามารถเก็บได้ถึง 18 เดือน ยังคงมีความงอก 82% และหากลดความชื้นเมล็ดให้เหลือ 8, 6 และ 4% สามารถเก็บได้นานถึง 18 เดือน มีความงอก 83, 86 และ 87% ตามลำดับ หากเก็บในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) พบว่าเมล็ดพันธุ์มีความงอก 88% ทุกระดับความชื้น และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) และความชื้นในเมล็ด 10, 8, 6 และ 4% สามารถเก็บได้นานถึง 18 เดือน มีความงอก 88, 89, 90 และ 90% ตามลำดับ ฉะนั้นการเก็บรักษาเมล็ดผักโขมควรศึกษาระยะเวลาการเก็บให้นานกว่านี้ เพราะความชื้นในเมล็ดผักโขมเริ่มต้น 10% ที่อุณหภูมิห้อง ยังมีความงอกสูงถึง 82% ในการเก็บรักษาระยะเวลา 18 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

**กิจกรรมที่ 2 เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ**

เทคนิคการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดยอดและราก และเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของเชื้อพันธุกรรมมันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย แสดงดังตาราง

| พืช | ชิ้นส่วน | วิธีฟอกฆ่าเชื้อ | วิธีการชักนำให้เกิดยอดและราก | การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ |
|---|---|---|---|---|
| มันสาคู | ตาที่เหง้า (rhizome bud) | ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ จำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 20% นาน 15 นาที และคลอรอกซ์ความเข้มข้น 25% นาน 5 นาที พบหน่อต้นสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อและเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS คิดเป็น 16.7% | - ชักนำการเกิดยอดโดยการเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 6.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด<br>- ชักนำการเกิดรากพบว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนช่วยชักนำการเกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และพบการแตกรากฝอยได้ดีกว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน | เลี้ยงมันสาคูบนอาหาร ½MS สามารถเลี้ยงได้นาน 5 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหาร |
| มันขี้หนู | ยอดและข้อ | ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นฟอกด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวางบนอาหารสูตรสังเคราะห์ หลังจากนั้น 7 วัน ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน ด้วยคลอรอกซ์ 5% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง มีการรอดชีวิต 38% | - การชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 mg/L (MS)<br>- การชักนำให้เกิดยอดมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + IAA 1 mg/L + BA 3 mg/L | การชะลอการเจริญเติบโตมันขี้หนูบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS + mannitol 10 mg/L ได้เป็นระยะเวลา 6 เดือน และเมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/L + BA 3 mg/L ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ สามารถเจริญเติบโตได้ |
| ขิงพระพุทธบาท | rhizome bud | ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 15 นาที และ 15% นาน 10 นาที | MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3 mg/L ชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 20.9 ยอด/ชิ้นส่วน | ½ MS หรือ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 g/L สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานมากกว่า 8 เดือน |
| ตะไคร้พราน | rhizome bud | ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 15 นาที และ 15% นาน 10 นาที | MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3 mg/L ร่วมกับ NAA ความเข้มเข้น 1 mg/L ชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 9 ยอด/ชิ้นส่วน | ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 g/L สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานมากกว่า 8 เดือน |

กรมวิชาการเกษตร

| พืช | ชิ้นส่วน | วิธีฟอกฆ่าเชื้อ | วิธีการชักนำให้เกิดยอดและราก | การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ |
|---|---|---|---|---|
| ระย่อมน้อย | ยอดที่แตกใหม่ | ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 15% นาน 10 นาที | MS+IAA 0.1 mg/L + BA 3 mg/L โดยชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 12.6 ยอด/ชิ้นส่วน | นำอาหารสูตรดังกล่าวมาเติม Paclolbutrazol (PBZ) และ inositol ที่พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้นานถึง 4 เดือน |

องค์ความรู้ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากโครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชจำนวน 9 ชนิดพืช แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1) เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชจำนวน 9 ชนิดพืช ได้แก่ เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคาและผักโขมในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดบวบหอม (บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า) และงาในสภาพเยือกแข็ง เทคนิคการขยายพันธุ์มันสาคูและมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ เทคนิคการอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อ

2) ข้อมูลการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชจำนวน 9 ชนิดพืช ได้แก่ ข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคาและผักโขมในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดบวบหอมในสภาพเยือกแข็ง ข้อมูลปริมาณน้ำมันของเมล็ดพันธุ์งาหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ข้อมูลการขยายพันธุ์มันสาคูและมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ ข้อมูลการอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อ

องค์ความรู้เหล่านี้จะนำไปจัดทำคู่มือเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช และเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช รวมถึงเป็นข้อมูลประกอบการศึกษาต่อยอดสู่การสร้างผลิตภัณฑ์จากความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อพันธุกรรมพืชต่อไป

**โครงการวิจัยที่ 4 ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ**

**กิจกรรมที่ 1 ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสวน**

**ทุเรียน (*Durio* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 169 ตัวอย่างพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรจังหวัดจันทบุรี และศูนย์วิจัยพัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก (ห้วยสะพานหิน) และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 120 ตัวอย่าง ซึ่งทุเรียนที่เก็บรวบรวมได้สามารถจำแนกออกเป็น 6 กลุ่มตามลักษณะสัณฐานวิทยา ได้แก่ กลุ่มกบ กลุ่มกำปั่น กลุ่มลวง กลุ่มก้านยาว กลุ่มทองย้อย และกลุ่มเบ็ดเตล็ด ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 5 ยีน (*rbc*L, *mat*K, *rpo*, *ITS1* และ *ITS2*) พบว่ายีน *mat*K สามารถจำแนกทุเรียนพันธุ์ชาเรียน (*D. mansoni* Bakh.) และทุเรียนนก (*D. griffithii* Bakh.) ซึ่งเป็นทุเรียนต่างชนิด (species) กันออกจากกันได้ แต่ไม่สามารถจำแนกพันธุ์ที่เป็นชนิดเดียวกันได้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* L.) จึงพัฒนาดีเอ็นเอบาร์โค้ดด้วยเทคนิค GBS ได้ 4 ยีน (*DuBc01*, *DuBc02*, *DuBc03* และ *DuBc04*) ซึ่งพบว่า *DuBc04* มีศักยภาพดีกว่ายีนอื่น โดยสามารถจัดกลุ่มทุเรียนภายในกลุ่มเดียวกันได้ เช่น กบตาโห้และกบชายน้ำซึ่งอยู่ในกลุ่มกบ และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม เช่น อีลีบและสีทองซึ่งอยู่กลุ่มเบ็ดเตล็ดอาจมีความสัมพันธ์กับกบสีนวลที่อยู่ในกลุ่มกบเป็นต้น อย่างไรก็ตามยีน *DuBc04* ยังไม่สามารถจำแนกความสัมพันธ์ได้อย่างถูกต้องตามที่ได้มีการจัดกลุ่มตามลักษณะสัณฐาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากทุเรียนเป็นพืชผสมข้ามตามธรรมชาติ จึงทำให้เกิด

กรมวิชาการเกษตร

ความหลากหลายทั้งทางลักษณะสัณฐานของใบและผลค่อนข้างมาก จึงต้องมีการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานที่มีอยู่เดิมให้ละเอียดมากขึ้น รวมถึงใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดมากกว่าหนึ่งบริเวณร่วมกันเพื่อเพิ่มความแม่นยำในการหาความสัมพันธ์ระหว่างทุเรียนแต่ละสายพันธุ์

**เงาะ (*Nephelium* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 36 ตัวอย่างพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรีและศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 36 ตัวอย่าง ซึ่งเงาะที่เก็บรวบรวมได้มีลักษณะสัณฐานที่แตกต่างกันทั้งใบและผล สามารถจัดกลุ่มได้เป็นเงาะพันธุ์พื้นเมือง เงาะลูกผสม เงาะพันธุ์ต่างสปีชีส์ และเงาะที่ไม่ระบุว่าเป็นพันธุ์ใด ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากคลอโรพลาสต์ 6 ยีน (*rbc*LA, *rbc*L, *mat*K, *psb*A, *rpoC* และ *trn*L) และจากนิวเคลียส 1 ยีน (*ITS*) พบว่ายีน *rbc*LA, *rbc*L, *psb*A และ *trn*L สามารถจำแนกเงาะขนสั้นลูกใหญ่ (*N. rumboutan-ake*) และเงาะป่า (*Nephelium* sp.) ออกจากเงาะพันธุ์อื่นๆ ได้ แต่ไม่สามารถแยกพันธุ์ขนสั้นลูกเล็ก (*N. mutabile*) และคอแลน (*N. hypoleucom*) ได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังไม่สามารถจำแนกพันธุ์เงาะส่วนใหญ่ที่อยู่ในสปีชีส์ *N. lappaceum* ได้ สอดคล้องกับรายงานของเจนจิราและคณะ (2558) ที่พบว่ายีน *rcb*L ไม่สามารถศึกษาความหลากหลายของเงาะในระดับสปีชีส์ได้ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สามารถจำแนกความสัมพันธ์ของพันธุ์เงาะได้ดีขึ้นโดยใช้เทคนิคทางโมเลกุลอื่นๆ เช่น GBS เป็นต้น

**บัว (*Nymphaea* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 162 ตัวอย่างพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ โดยแบ่งเป็นบัวสาย (*N. lotus*) 52 ตัวอย่างพันธุ์และบัวหลวง (*N. nucifera*) 110 ตัวอย่างพันธุ์ เนื่องจากประสบกับปัญหาโรคและแมลงที่ทำลายต้นบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ จึงสามารถจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเพียง 20 ตัวอย่าง (บัวสายและบัวหลวงอย่างละ 10 ตัวอย่าง) ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์สากลที่นิยมใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดจำนวน 4 ยีน (*rpoC1*, *rbc*L, *mat*K และ *ITS*) กับตัวอย่างบัวที่คัดเลือก 34 ตัวอย่างพันธุ์ (บัวสาย 10 ตัวอย่างและบัวหลวง 24 ตัวอย่าง) พบว่าทั้ง 4 ยีนสามารถจำแนกบัวสายและบัวหลวงออกจากกันได้ จากนั้นจึงเลือกยีน *ITS* และ *rpoC1* ซึ่งมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดมาจัดจำแนกตัวอย่างบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ทั้งหมด 162 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบว่าทั้งสองยีนสามารถจำแนกบัวสายและบัวหลวงออกจากกันได้อย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าการใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานเพียงบริเวณเดียวไม่สามารถระบุชนิดพืชได้แม่นยำเท่ากับการใช้มากกว่าหนึ่งบริเวณ ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ในศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวได้ทั่วโลกจากฐานข้อมูล NCBI อีกทั้งสามารถใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกพันธุ์ ระบุชนิด และอนุรักษ์พันธุกรรมตัวอย่างบัวที่เก็บรักษาไว้ของกรมวิชาการเกษตร รวมถึงใช้เป็นแนวทางการปรับปรุงพันธุ์บัวให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

**กล้วยไม้สมุนไพร** : สามารถเก็บรวบรวมกล้วยไม้ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรได้ 40 ชนิดจาก 5 จังหวัด (มุกดาหาร อุบลราชธานี บุรีรัมย์ ตราด และจันทบุรี) และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 40 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์แผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) จากดีเอ็นเอบาร์โค้ดจำนวน 4 ยีน (*mat*K, *rbc*L, *trn*H-*psb*A, และ *ITS*) พบว่าสามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้ที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 7 กลุ่ม โดยที่กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ไอยเรศใบช้าง เอื้องสายมรกต เอื้องตะขาบ เอื้องจำปา เอื้องสายน้ำเขียว เอื้องคำตาดำ เพชรหึง เข็มเหลือง และเอื้องหนวดพราหมณ์; กลุ่มที่ 2 ได้แก่ เหลืองจันทบูร เอื้องโมก สิงโตสมอหิน สิงโตใบพัดแดง เอื้องสายม่วง มัจฉานุ เอื้องสายคำปอน กุหลาบแม่เมย; กลุ่มที่ 3 ได้แก่ กุหลาบกระบี่ เอื้องเทียน หางกระรอก กุหลาบน่าน ตอติเล เอื้องสายหลวง สิงโตนักกล้าม มัจฉานุชมพู เอื้องสายน้ำผึ้ง และเอื้องทอง; กลุ่มที่ 4 ได้แก่ ช้างกระ เข็มแสด

กรมวิชาการเกษตร

เข็มแดง และเข็มม่วง; กลุ่มที่ 5 ได้แก่ เอื้องสายแส้พระอินทร์ และเอื้องมะลิ; กลุ่มที่ 6 ได้แก่ เขาพระวิหาร เดลิไอขาว; และกลุ่มที่ 7 ได้แก่ เอื้องแปรงสีฟัน และเอื้องช้างน้าว

**พริก (*Capsicum* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 84 ตัวอย่างพันธุ์จากแหล่งต่างๆ ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย และจัดเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์รวมถึงจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 84 ตัวอย่าง ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 3 ยีน (*ITS*, *rbc*L, และ *trn*H-*psb*A) พบว่ายีนตำแหน่ง *ITS* สามารถแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพริกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยพริก *C. chinense* และ *C. frutescens* กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยพริก *C. annuum* และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยพริก *C. baccatum* นอกจากนี้ตำแหน่ง *ITS* มีความแปรผันทางพันธุกรรมที่สูงกว่ายีนตำแหน่งอื่นๆ จึงได้นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของพริกจำนวน 49 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาความหลากหลายทางพันธุกรรม (haplotype diversity) ของพริก ซึ่งพบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 20 haplotypes โดยกลุ่มพริกบางช้างมีความแปรผันทางพันธุกรรมที่มีความหลากหลายสูงถึง 5 haplotypes อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่ายังไม่มีดีเอ็นเอบาร์โค้ดใด (*ITS*, *rbc*L และ *trn*H-*psb*A) ที่สามารถใช้จำแนกพริก *C. chinense* และ *C. frutescens* ออกจากกันได้ จึงควรมีการศึกษาต่อยอดเพื่อพัฒนาดีเอ็นบาร์โค้ดในตำแหน่ง *ITS* ให้มีความจำเพาะกับพริกมากขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและอัตราความสำเร็จในการใช้ระบุชนิดและสายพันธุ์ได้

**กิจกรรมที่ 2 ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชไร่**

**มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*)** : สามารถเก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 187 ตัวอย่างพันธุ์ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มสำหรับทดสอบประสิทธิภาพของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 17 ตัวอย่างพันธุ์ (พันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร พันธุ์จากความร่วมมือกับ สวทช. พันธุ์ที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ และพันธุ์พื้นเมือง) และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 17 ตัวอย่าง 2) กลุ่มสำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม 120 ตัวอย่างพันธุ์ (อนุรักษ์ไว้ ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง) และ 3) กลุ่มที่ต้องการทดสอบระบุพันธุ์ 50 ตัวอย่าง (เก็บรวบรวมจาก อ.น้ำพอง และ อ.บ้านไผ่ จ.ขอนแก่น) ผลการประเมินประสิทธิภาพไพรเมอร์สากลของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 29 คู่ไพรเมอร์ พบว่าคู่ไพรเมอร์ของยีน *rbc*L, *trn*H-*psb*A, *mat*K และ *ITS2* ผ่านเกณฑ์การประเมินความเป็นสากล จึงนำยีนทั้ง 4 ตำแหน่งมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง 120 ตัวอย่างที่อนุรักษ์ไว้ในศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ผลการวิเคราะห์พบว่ายีน *ITS2* มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถจัดจำแนกมันสำปะหลังออกเป็น 6 กลุ่ม และสามารถแยกพันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50 ออกจากกันได้ จึงใช้ยีน *ITS2* มาตรวจสอบมันสำปะหลัง 50 ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกในจังหวัดขอนแก่น ผลการประเมินลักษณะสัณฐานพบว่ามันสำปะหลัง 40 และ 10 ตัวอย่างมีลักษณะประจำพันธุ์เด่นที่ปรากฏตรงกับพันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50 ตามลำดับ ขณะที่ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS2* มีความเหมือนกัน 100% กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของพันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50 ที่เก็บไว้ในฐานข้อมูล GenBank แสดงให้เห็นว่ายีน *ITS2* สามารถใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับระบุพันธุ์ของมันสำปะหลัง 2 พันธุ์นี้ได้ อย่างไรก็ตามควรใช้ร่วมกับยีนตำแหน่งอื่นเพื่อเพิ่มความผันแปรและเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

**ถั่วเหลือง (*Glycine max*)** : สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 40 สายพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 40 ตัวอย่าง ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ดจำนวน 3 ยีน (*ITS*, *rbc*L และ *rpoC1*) พบว่ายีนตำแหน่ง

กรมวิชาการเกษตร

*rbc*L และ *rpoC1* สามารถจำแนกถั่วเหลืองสายพันธุ์ขอนแก่น (Khon Kaen) ออกจากสายพันธุ์อื่นๆ ได้ ซึ่งสายพันธุ์ขอนแก่นเป็นพันธุ์ท้องถิ่นของ จ.สระบุรี ที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เหมาะสำหรับการปลูกในฤดูแล้งที่มีการให้น้ำชลประทาน และได้รับการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตรในปี 2547 (อ้อยทินและรัชนี, 2558) ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองผลผลิตสูงสำหรับปลูกในฤดูแล้งได้ ในขณะที่ยีน *ITS* ไม่สามารถแยกถั่วเหลืองทั้ง 40 สายพันธุ์ออกจากกันได้ ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ยีนที่มีตำแหน่งจำเพาะควบคู่กับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเออื่นเพื่อเพิ่มการจำแนกสายพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

**กิจกรรมที่ 3 ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชท้องถิ่น**

**พืชวงศ์ศิลา (Aquifoliaceae)** : สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชได้ 19 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่เก็บรวบรวมจากหลายจังหวัดในประเทศไทย 13 ตัวอย่าง (จัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิง 13 ตัวอย่าง) และตัวอย่างจากพรรณไม้แห้งที่เก็บรักษาเป็นพรรณไม้อ้างอิงไว้ในหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช 6 ตัวอย่าง ผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชวงศ์ศิลาในประเทศไทยโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด 4 ตำแหน่งยีน (*mat*K, *rpl*32-*trn*L, *trn*L-*trn*F และ *ITS*) ได้ฐานข้อมูลดีเอ็นเอในการยืนยันความหลากหลายของชนิดพืชวงศ์ศิลาในประเทศไทยทั้งสิ้น 54 ข้อมูล ซึ่งเป็นข้อมูลดีเอ็นเอของพืชวงศ์ศิลาที่มีการศึกษาเป็นครั้งแรกในประเทศไทยจำนวน 14 ชนิด ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชด้วยข้อมูลดีเอ็นเอช่วยยืนยันความถูกต้องในการระบุชื่อพืชและจำแนกพืชออกเป็นกลุ่ม สอดคล้องกับการจำแนกด้วยข้อมูลทางสัณฐาน 3 Subgenus (Subg.) และ 5 Section (Sect.) ได้แก่ 1) Subg. *Aquifolium* Sect. *Aquifolium*, 2) Subg. *Byronia* (มี 3 Sect. คือ *Byronia, Lioprinus* และ *Paltoria*) และ 3) Subg. *Prinos* Sect. *Micrococca* อย่างไรก็ตามพบการจำแนกกลุ่มด้วยข้อมูลดีเอ็นเอไม่สอดคล้องกับการจำแนกกลุ่มด้วยข้อมูลทางสัณฐานในพืชบางชนิด ตัวอย่างเช่น *I. denticulata* และ *I. embelioides* จึงควรศึกษาทบทวนข้อมูลดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชที่ยังไม่มีความชัดเจนในการจำแนกกลุ่มจากงานวิจัยนี้เพิ่มเติมอีกครั้ง เพื่อให้ข้อมูลความหลากหลายของชนิดพืชวงศ์ศิลามีความสมบูรณ์มากขึ้น

**ปัญจขันธ์ (*Gynostemma* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมได้ 20 ตัวอย่างพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 20 ตัวอย่าง เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดของยีน *accD, petD, psbB* และ *ycf3* วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ พบว่าสามารถแยกกลุ่มพันธุ์ของปัญจขันธ์ออกได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มด้วยลักษณะสัณฐานของเมล็ด พืชสกุลปัญจขันธ์ที่แสดงตำแหน่งร่วมกันบนแผนภูมิความสัมพันธ์และมีลักษณะสัณฐานเหมือนกับปัญจขันธ์ 20 พันธุ์ คือ *G. burmanicum*, *G. laxum*, *G. longipes*, *G. pentaphyllum* และ *G. simplicifolium* ซึ่งสถานะในระดับชนิด (species) ของพืชเหล่านี้ได้รับการยอมรับในการศึกษาพรรณพฤกษชาติของประเทศจีน ในขณะที่ในเขตพรรณพฤกษชาติของไทยและประเทศในเขต Malesiana รวมถึงอินเดีย ยอมรับเพียง *G. pentaphyllum* ที่มีสถานะในระดับชนิด ส่วนอีก 4 ชนิดให้ถูกยุบรวมเป็นชื่อพ้องอยู่ภายใต้ชนิดดังกล่าว ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ สนับสนุนและยืนยันการยอมรับชื่อชนิด *G. pentaphyllum* เป็นชื่อที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของปัญจขันธ์พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ลูกผสมของไทย 19 พันธุ์ รวมทั้ง

กรมอุทยานแห่งชาติ

พันธุ์จีนที่ใช้ศึกษาเปรียบเทียบอีก 1 พันธุ์ โดยข้อมูลดีเอ็นเอของปัญจขันธ์ที่ศึกษาได้ถูกบันทึกไว้บนฐานข้อมูล GenBank, NCBI สำหรับใช้ประกอบการระบุยืนยันชื่อปัญจขันธ์ในประเทศไทย

**ปลาไหลเผือก (*Eurycoma* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมได้ 63 ตัวอย่างจากพื้นที่เขตภูมิศาสตร์พืชพรรณ 5 เขตรวม 18 จังหวัด โดยเป็นปลาไหลเผือก (*E. longifolia* Jack.) 59 ตัวอย่าง และปลาไหลเผือกน้อย (*E. harmandiana* Pierre.) 4 ตัวอย่าง และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 43 ตัวอย่าง ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 3 ยีน (*rbc*L, *rpoC* และ *ITS*) พบว่ายีนตำแหน่ง *ITS* สามารถจำแนกปลาไหลเผือกชนิด *E. longifolia* และ *E. harmandiana* ออกจากกันได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า *E. longifolia* แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยแยกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มของปลาไหลเผือกที่กระจายพันธุ์ในเขตภาคตะวันออก (3 ตัวอย่าง) และเขตภาคใต้ (10 ตัวอย่าง) อย่างไรก็ตามควรมีการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาไหลเผือกที่กระจายพันธุ์ในเขตภูมิศาสตร์พืชพรรณเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจัดจำแนกปลาไหลเผือกชนิด *E. longifolia* ให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

**หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.)** : สามารถเก็บรวบรวมได้ 92 ตัวอย่างจาก 11 แห่งทั่วภูมิภาคของประเทศไทย และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 40 ตัวอย่าง โดยสามารถจำแนกได้ 6 สปีชีส์ ได้แก่ *S. curtisii* Craib., *S. collinsiae* Craib., *S. tuberosa* Lour., *S. rupestris* Inthachub., *S. pierrei* Gagnep. และ *S. phyllantha* Gagnep. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 5 ยีน (*ITS5*, *trn*L-*trn*F, *psb*A-*trn*H, *mat*K และ *rbc*L) พบว่ายีนตำแหน่ง *mat*K สามารถจำแนกชนิด *S. curtisii*, *S. rupestris* และ *S. pierrei* ออกจากกันได้ ส่วนตำแหน่ง *rbc*L สามารถจำแนกชนิด *S. tuberosa* และ *S. phyllantha* ออกจากกันได้ ถึงแม้ว่ายีนทั้งสองสามารถจัดจำแนกพืชสกุลหนอนตายหยากได้บางชนิด แต่ค่าความเชื่อมั่นยังอยู่ในระดับต่ำ แสดงให้เห็นว่าไม่ควรใช้เพียงดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพียงยีนเดียวในการจัดจำแนก มีรายงานวิจัยยืนยันว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mat*K ร่วมกันกับยีน *rbc*L สามารถแยกกล้วยไม้สิงโตกลอกตาได้ในระดับสกุล (Siripiyasing *et al.*, 2012) จึงควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นและแม่นยำในการตรวจสอบระบุชนิดของพืชสกุลหนอนตายหยาก

**สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)** : สามารถเก็บรวบรวมได้ 16 ตัวอย่างพันธุ์จากแหล่งปลูกต่างๆ ในภาคใต้ที่รวบรวมไว้ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง ซึ่งประกอบด้วยสะตอดาน 2 ตัวอย่าง และสะตอข้าว 14 ตัวอย่าง และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงได้ 16 ตัวอย่าง ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์มาตรฐานของดีเอ็นเอบาร์โค้ด 4 ยีน (*rbc*L, *mat*K, *ITS* และ *Trn*H-*psb*A) พบว่ายีนตำแหน่ง *mat*K และ *ITS* สามารถจัดจำแนกสะตอได้เป็น 4 กลุ่ม แต่ยังไม่สามารถแยกสะตอข้าวและสะตอดานออกจากกันได้ จึงควรนำเทคนิคอื่นๆ เช่นเทคนิค GBS มาใช้ในการจัดจำแนกพันธุ์สะตอต่อไป

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

**โครงการวิจัยที่ 1 การรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช**

สามารถรวบรวมความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมพืชในประเทศไทย และประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อพันธุกรรมพืชจำนวน 8 กลุ่มพืช ดังนี้

1. พืชสกุลมะระ (*Momordica* spp.) : สามารถเก็บรวบรวมได้ 64 ตัวอย่าง และจัดกลุ่มได้ 3 ชนิด (species) ได้แก่ *M. charantia* (มะระขี้นก 36 ตัวอย่าง และมะระจีน 6 ตัวอย่าง) *M.*

กรมวิชาการเกษตร

*cochinchinensis* (ฟักข้าว 14 ตัวอย่าง) และ *M. subangulata* (ผักแมะ 8 ตัวอย่าง) ผลการประเมินสัณฐานวิทยาของมะระขี้นก 15 ตัวอย่างรวมทั้งหมด 59 ลักษณะ สามารถแบ่งกลุ่มมะระขี้นกตามขนาดผลได้ 3 ขนาด ได้แก่ กลุ่มผลที่มีขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก

2. พืชสกุลมะเขือ (*Solanum* spp.) : สามารถเก็บรวบรวมได้ 86 ตัวอย่าง และจัดกลุ่มได้ 3 ชนิด ได้แก่ *S. aethiopocum*, *S. aculeatissimum* และ *S. melongena* ผลการประเมินสัณฐานวิทยาของมะเขือชนิด *S. melongena* 17 ตัวอย่างรวมทั้งหมด 30 ลักษณะ สามารถแบ่งกลุ่มมะเขือได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ 1) มะเขือเปราะผลทรงกลม ขนาดผลใหญ่เหมือนผลมะนาว เนื้อกรอบ 2) มะเขือเปราะผลทรงกลม ขนาดผลเล็กเหมือนไข่มุก ต้นเตี้ย เนื้อกรอบ 3) มะเขือไข่เต่า ผลรี เปลือกมัน มีรสหวานกรอบ และ 4) มะเขือจานผลทรงกลมแป้น มีร่องหยัก เปลือกบางเนื้อนุ่ม

3. พืชสกุลบวบ (*Luffa* spp.) : สามารถเก็บรวบรวมได้ 60 ตัวอย่าง และจัดกลุ่มได้ 2 ชนิด ได้แก่ *L. aegyptiaca* (บวบหอม) และ *L. acutangula* (บวบเหลี่ยม) ผลการประเมินสัณฐานวิทยาของบวบหอม 13 ตัวอย่างและบวบเหลี่ยม 5 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 25 ลักษณะ พบว่าบวบหอมส่วนใหญ่มีทรงผลเป็นทรงไข่เรียวยาว ในขณะที่บวบเหลี่ยมส่วนใหญ่มีทรงผลเป็นรูปกระบอง โดยบวบหอมมีน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยน้อยกว่าบวบเหลี่ยม (9.77 และ 14.04 กรัมต่อ 100 เมล็ดตามลำดับ)

4. ผักกาดกวางตุ้ง : สามารถเก็บรวบรวมได้ 53 พันธุ์ ประกอบด้วยพันธุ์ใบ 25 พันธุ์ และพันธุ์ดอก 28 พันธุ์ ผลการประเมินสัณฐานวิทยาของผักกาดกวางตุ้งจำนวน 15 ลักษณะ พบว่ามีความแปรปรวนของพันธุ์สูง ผลวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่าผักกาดกวางตุ้งบางชนิดมีเบต้าแคโรทีน โพแทสเซียม หรือโปรตีนสูง

5. เชื้อพันธุกรรมพริก (*Capsicum* spp.) : สามารถเก็บรวบรวมได้ 84 พันธุ์ คัดเลือกพริกจำนวน 47 ตัวอย่างพันธุ์ และประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งหมด 60 ลักษณะ

6. พิกัดเทียน : สามารถเก็บรวบรวมได้ 127 ตัวอย่าง และจัดจำแนกตามลักษณะสัณฐานของเมล็ดพันธุ์ได้ 12 ชนิด โดยเป็นพิกัดเทียนที่ปรากฏตรงตามคู่มือเภสัชกรรมแผนไทย 8 ชนิด (เทียนตาตั๊กแตน เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนแดง เทียนดำ เทียนเยาวพาณี เทียนเกล็ดหอย และเทียนลวด) และเป็นชนิดไม่ตรงกับที่เคยรายงานในคู่มือเภสัชกรรมแผนไทย 4 ชนิด (เทียนสัตตบุษย์ เทียนตากบ เทียนขม และเทียนแกลบ)

7. เชื้อพันธุกรรมแตงเทศ : ปลูกประเมินโดยการผสมกลับ (black cross) 3-5 ครั้ง จนได้พันธุ์แท้ (pure Line) จำนวน 15 สายพันธุ์ พันธุ์ผิวเรียบที่เก็บรวบรวมจำนวน 34 พันธุ์ พันธุ์ Net melon ที่เก็บรวบรวม จำนวน 12 พันธุ์ และพันธุ์ Rock melon ที่เก็บรวบรวมจำนวน 16 พันธุ์

8. พืชสกุลผักโขม (*Amaranthus* spp.) : สามารถเก็บรวบรวมได้ 217 ตัวอย่าง ผลการประเมินสัณฐานวิทยาของผักโขมที่คัดเลือกเพื่อการบริโภคจำนวน 30 ตัวอย่างรวมถึงวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าเบอร์ N6129 มีปริมาณผลผลิตมากสูงสุดขณะที่มีปริมาณโปรตีนปานกลาง (3,351 กรัมต่อ 4 ตร.ม. และ 2.55 กรัมตามลำดับ) ส่วนเบอร์ N6153 ซึ่งมีโปรตีนสูงสุด (3.09 กรัม)

**ข้อเสนอแนะ** : ควรดำเนินการเพิ่มเติมทั้งการรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชและการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อเพิ่มชนิดและปริมาณความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมและข้อมูลพืชสำหรับการจัดทำฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืชเพื่อการเข้าถึงและใช้ประโยชน์ การวิเคราะห์สารสำคัญและประเมินคุณค่าทางโภชนาการ เพื่อคัดเลือกพันธุ์หรือลักษณะที่ดีมีสารสำคัญสูงไปต่อยอดสู่การใช้ประโยชน์ทั้งการปรับปรุงพันธุ์และสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าและมูลค่าจากฐานความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมพืชของประเทศไทย รวมถึงการส่งเสริมให้เกษตรกรเก็บรักษาพันธุ์พื้นเมือง/ท้องถิ่น

กรมวิชาการเกษตร

เพื่อเป็นฐานพันธุกรรมสำหรับใช้ประโยชน์ในชุมชน และเป็นรากฐานเพื่อการใช้ประโยชน์ในอนาคตได้โดยพึ่งพาตนเองอย่างยั่งยืน

**โครงการวิจัยที่ 2 การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช**

สามารถวิเคราะห์ปริมาณพฤกษเคมี คุณค่าโภชนาการ และระบุสูตรอาหารสำหรับเพิ่มปริมาณพฤกษเคมี เพื่อประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมพืชจำนวน 7 ชนิด ดังนี้

1. กวาวเครือขาว (*P. candollei*) : หัวกวาวเครือขาวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 9 และ 12 เดือนมีปริมาณสารอาหาร (คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน) ไม่แตกต่างกันยกเว้นใยอาหาร กวาวเครือขาวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 9 เดือนมีปริมาณ puerarin, daidzein และ genistein สูงสุด (80.66, 24.15 และ 0.26 มก. ต่อกวาวเครือขาวแห้ง 100 กรัมตามลำดับ)

2. ถั่วเหลือง (*G. max*) : เทคนิค NIR สามารถทำนายปริมาณสารกลุ่มไอโซฟลาโวน 6 ชนิด (daidzin, daidzein, glycitin, glycitein, genistin และ genistein) และ total isoflavone ในเมล็ดถั่วเหลืองได้ โดยไอโซฟลาโวนที่ทำนายได้จากสมการและที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

3. ถั่วสกุลฟาซิโอลัส (*Phaseolus* spp.) : สารสกัดจากถั่วทั้ง 10 ตัวอย่างพันธุ์ซึ่งมีพฤกษเคมีฟาซิโอลามินเป็นองค์ประกอบสามารถยับยั้งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยถั่วนิ้วนางแดง ถั่วเขียว (ชัยนาท 4 และ 84-1) และถั่วบอย สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงกว่าถั่วสกุลฟาซิโอลัสชนิดอื่น

4. หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) : สารแอลคาลอยด์ stemocurtisine พบในรากของ *S. curtisii* และ *S. rupestris* โดยชนิดหลังให้ปริมาณสูงสุด (1.68% w/w) ส่วน stemofoline พบในรากของ *S. curtisii* และ *S. collinsiae* โดยชนิดหลังให้ปริมาณสูงสุด (1.65% w/w) นอกจากนี้ *S. tuberosa* และ *S. collinsiae* สามารถเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดยอดใน *S. tuberosa* คือ MS + BA 6 และ 8 mg/L และสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดยอดและรากใน *S. collinsiae* คือ MS + TDZ 2 mg/L และ MS + 3% sucrose + NAA 1 mg/L + thiamine 1 mg/L ตามลำดับ

5. เท้ายายม่อม (*T. leontopetaloides*) : ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปจากจากทั้ง 6 จังหวัดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเท้ายายม่อมจาก จ.อุบลราชธานีให้ปริมาณแป้งสูงสุด (220.37 กรัม) และพบว่าแป้งเท้ายายม่อมทั้ง 6 จังหวัดมีคาร์โบไฮเดรต 87.48-88.67 กรัม ไขมัน 0.01-0.68 กรัม โปรตีนน้อยกว่า 0.10 กรัม ความชื้น 11.18-13.26 กรัม เถ้า 0.07-0.11 กรัม และใยอาหาร 0.25-1.60 กรัมเมื่อเทียบต่อแป้งเท้ายายม่อม 100 กรัม

6. จิงจูฉ่าย (*A. lactiflora*) : สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดยอดคือ MS ที่ไม่เติม BA และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100% เมื่อนำออกปลูกในโรงเรือน นอกจากนี้เมื่อเติมกรดซาลิไซลิก 0.1 mM และ 0.5 mM สามารถกระตุ้นการผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมสูงสุด 3.05 mg/100g (2 เท่าของการปลูกในสภาพธรรมชาติ) และการผลิตกรดแอสคอร์บิกสูงสุด 6.6 mg/100g (2.2 เท่าของการปลูกในสภาพธรรมชาติ) ตามลำดับ

7. พลูคาว (*H. cordata*) : สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดยอดคือ MS + BA 1 mg/L นอกจากนี้เมื่อเติมกรดซาลิไซลิก 0.5 mM สามารถกระตุ้นการผลิตสารเคอร์ซิตรินและรูติน

กรมวิชาการเกษตร

สูงสุดในพลูคาวก้านม่วงเท่ากับ 6.46±1.08 และ 0.59±0.08 mg/L ตามลำดับ ส่วนพลูคาวก้านเขียวไม่สามารถตรวจพบเคอร์ซิตรินแต่พบรูตินสูงสุดเท่ากับ 2.14±0.30 mg/L

**ข้อเสนอแนะ** : กวาวเครือขาวควรศึกษาเพิ่มเติมเรื่องระยะเก็บเกี่ยวที่มีผลต่อสาร puerarin daidzein และ genistein เทคนิค NIR ที่ใช้สร้างสมการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองควรประยุกต์ใช้ในการทำนายปริมาณพฤกษเคมีในเมล็ดพันธุ์อื่น ถั่วสกุลฟาซิโอลัสลัสและหนอนตายหยากอาจวิเคราะห์พฤกษเคมีและสารทุติยภูมิอื่นเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนศักยภาพของพืช สำหรับปริมาณแป้งที่วิเคราะห์ได้ในเท้ายายม่อมควรนำไปวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้ควรต่อยอดศึกษาสารกระตุ้นในจิงจูฉ่ายและพลูคาวรวมถึงการควบคุมปริมาณพฤกษเคมีเป้าหมายให้ได้ตามมาตรฐานการแพทย์และการค้า องค์ความรู้และเทคนิคที่ได้จากการวิจัยเชื้อพันธุกรรมพืชทั้ง 7 ชนิดเหล่านี้จะเป็นแนวทางในการสร้างผลิตภัณฑ์เชิงสุขภาพ (เช่น สารสกัดจากถั่วสกุลฟาซิโอลัส แป้งต้านทานการย่อยจากเท้ายายม่อม) และยารักษาโรค (เช่น สารทุติยภูมิและพฤกษเคมีจากหนอนตายหยาก จิงจูฉ่าย และพลูคาว) ต่อไปในอนาคต

**โครงการวิจัยที่ 3 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช**

ได้เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช 9 ชนิด ในสภาพเมล็ดพันธุ์หรือสภาพปลอดเชื้อ ดังนี้

<u>การอนุรักษ์ในสภาพเมล็ดเชื้อพันธุ์</u>

1. ดาวอินคา (*P. volubilis*) : ลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 6% และ 4-6% จะสามารถเก็บรักษาเมล็ดได้นาน 28 เดือนที่อุณหภูมิ 5°C และ -10°C ตามลำดับ โดยยังคงความชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

2. บวบหอม (*Luffa* spp.) : ลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าให้มีระดับความชื้นที่ 6-8% จะสามารถเก็บรักษาเมล็ดในสภาพเยือกแข็งได้นาน 180 วัน เมื่อนำเมล็ดมาปลูกพบว่าบวบหอมยาวและบวบหอมสั้นสามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตได้ดี

3. งา (*S. indicum*) : ลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 6% จะสามารถเก็บรักษาเมล็ดในสภาพเยือกแข็งได้นาน 30 วัน เมื่อนำมาเมล็ดงามาปลูกพบว่าสามารถเจริญเติบโตได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะประจำพันธุ์

4. ผักโขม (*Amaranthus* spp.) : ลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 4-10% จะสามารถเก็บรักษาเมล็ดได้นาน 18 เดือนที่อุณหภูมิ 5°C และ -10°C โดยยังคงความชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

<u>การอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ</u>

1. มันสาคู (*M. arundinaceae*) : อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 6.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด ส่วน MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนสามารถชักนำการเกิดรากสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร ½MS สามารถชะลอการเติบโตได้นาน 5 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

2. มันขี้หนู (*P. rotundifolius*) : อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA 1 mg/L และ BA 3 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด ส่วน MS ที่เติมฮอร์โมน IBA 2 mg/L สามารถชักนำการเกิดรากสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร ¼MS ที่เติมน้ำตาลแมนนิทอล 10 g/L สามารถชะลอการเติบโตได้นาน 6 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

กรมวิชาการเกษตร

3. ขิงพระพุทธบาท (*Z. tenuiscapus*) : อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร ½MS หรือ ¼MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 g/L สามารถชะลอการเติบโตได้นาน 8 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

4. ตะไคร้พราน (*Z. citriodorum*) : อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 mg/L และ NAA 1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 g/L สามารถชะลอการเติบโตได้นาน 8 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

5. ระย่อมน้อย (*R. serpentina*) : อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA 0.1 mg/L และ BA 3 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด นอกจากนี้เมื่อนำอาหารสูตรดังกล่าวมาเติม Paclolbutrazol (PBZ) และ inositol พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้นาน 4 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

**ข้อเสนอแนะ** : เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเมล็ดพันธุ์และสภาพปลอดเชื้อรวมถึงข้อมูลพืชทั้ง 9 ชนิดที่ได้จากโครงการวิจัยนี้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาต่อยอดในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชและสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชอื่นที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามควรมีการพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์ในสภาพเมล็ดพันธุ์ โดยปรับเปลี่ยนช่วงการลดความชื้นและยืดเวลาการเก็บรักษาให้นานขึ้น รวมถึงการปรับวิธีฟอกฆ่าเชื้อ พัฒนาสูตรอาหารและฮอร์โมน เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานยิ่งขึ้น

**โครงการวิจัยที่ 4 ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ**

สามารถเก็บรวบรวมพันธุ์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชสวน พืชไร่ และพืชท้องถิ่น ได้ฐานข้อมูลตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิง ดีเอ็นเออ้างอิง และลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBI รวมถึงสามารถระบุยีนที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืช ดังนี้

<u>กลุ่มพืชสวน</u>

1. ทุเรียน (*Durio* spp.) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 169 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *mat*K สามารถจำแนกทุเรียนพันธุ์ชาเรียน (*D. mansoni*) และทุเรียนนก (*D. griffithii*) ออกจากกันได้ ส่วนยีน *DuBc04* มีแนวโน้มแยกพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มทุเรียนบ้าน (*D. zibethinus* L.) ออกจากกันได้

2. เงาะ (*Nephelium* spp.) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 36 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *rbc*LA, *rbc*L, *psb*A และ *trn*L สามารถจำแนกเงาะขนสั้นลูกใหญ่ (*N. rumboutan-ake*) และเงาะป่า (*Nephelium* sp.) ออกจากเงาะพันธุ์อื่นๆ ได้

3. บัว (*Nymphaea* spp.) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 162 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *ITS* และ *rpoC1* จำแนกบัวสาย (*N. lotus*) และบัวหลวง (*N. nucifera*) ออกจากกันได้อย่างชัดเจน

4. กล้วยไม้สมุนไพร : เก็บรวบรวมได้ 40 ชนิด โดยยีน *mat*K, *rbc*L, *trn*H-*psb*A, และ *ITS* สามารถจัดจำแนกกลุ่มกล้วยไม้ที่เก็บรวบรวมออกเป็น 7 กลุ่ม

5. พริก (*Capsicum* spp.) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 84 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *ITS* สามารถจัดจำแนกพริกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 *C. chinense* และ *C. frutescens* กลุ่มที่ 2 *C. annuum* และกลุ่มที่ 3 *C. baccatum*

กรมวิชาการเกษตร

กลุ่มพืชไร่

1. มันสำปะหลัง (*M. esculenta*) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 187 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *ITS2* สามารถจัดจำแนกมันสำปะหลังออกเป็น 6 กลุ่ม และนำไปใช้ตรวจสอบ/ระบุพันธุ์ที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกได้ซึ่งปรากฏว่าเป็นพันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50

2. ถั่วเหลือง (*G. max*) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 40 สายพันธุ์ โดยยีน *rbc*L และ *rpoC1* สามารถจำแนกถั่วเหลืองสายพันธุ์ขอนแก่นออกจากสายพันธุ์อื่นๆ ได้

กลุ่มพืชท้องถิ่น

1. พืชวงศ์ศิลา (Aquifoliaceae) : เก็บรวบรวมพืชได้ 19 ตัวอย่าง โดยยีน *mat*K, *rpl*32-*trn*L, *trn*L-*trn*F และ *ITS* สามารถจัดจำแนกพืชวงศ์นี้ออกเป็น 3 subgenus และ 5 section

2. ปัญจขันธ์ (*Gynostemma* spp.) : เก็บรวบรวมพืชได้ 20 ตัวอย่าง โดยยีน *accD*, *petD*, *psbB* และ *ycf3* สามารถจัดจำแนกปัญจขันธ์ออกเป็น 3 กลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มด้วยลักษณะสัณฐานของเมล็ด

3. ปลาไหลเผือก (*Eurycoma* spp.) : เก็บรวบรวมพืชได้ 63 ตัวอย่าง โดยยีน *ITS* สามารถจำแนกชนิด *E. longifolia* และ *E. harmandiana* ออกจากกันได้อย่างชัดเจน

4. หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) : เก็บรวบรวมพืชได้ 92 ตัวอย่าง โดยยีน *mat*K สามารถจำแนกชนิด *S. curtisii*, *S. rupestris* และ *S. pierrei* ออกจากกันได้ ส่วนยีน *rbc*L สามารถจำแนกชนิด *S. tuberosa* และ *S. phyllantha* ออกจากกันได้

5. สะตอ (*P. speciosa*) : เก็บรวบรวมพันธุ์ได้ 16 ตัวอย่างพันธุ์ โดยยีน *mat*K และ *ITS* สามารถจัดจำแนกสะตอได้เป็น 4 กลุ่ม แต่ยังไม่สามารถแยกสะตอข้าวและสะตอดานออกจากกันได้

**ข้อเสนอแนะ** : ตำแหน่งยีนที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดส่วนใหญ่สามารถจัดจำแนกพืชต่างชนิดกันได้แต่มักไม่สามารถจำแนกพืชชนิด (species) เดียวกันได้ นอกจากนี้การใช้ยีนเพียงตำแหน่งเดียวอาจมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอต่อการจำแนกพันธุ์พืช เนื่องจากตำแหน่งดังกล่าวอาจมีความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ต่ำ และลำดับดีเอ็นเอของตำแหน่งนั้นมีขนาดเล็กมาก (genome size) เมื่อเทียบกับขนาดของจีโนมพืช ดังนั้นจึงควรเพิ่มตำแหน่งยีนที่มีความผันแปรสูง หรือศึกษาพืชทั้งจีโนม รวมทั้งการวิเคราะห์พืชด้วยเทคนิคใหม่ เช่น GBS เพื่อช่วยยืนยันความแตกต่างของพันธุ์พืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจเหล่านี้ได้

กรมวิชาการเกษตร

**แผนงานวิจัยย่อยที่ 2**

# การพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์เพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

# The development of mushroom and microorganism production efficiencies for commercial benefit

ชื่อผู้วิจัย (คณะผู้วิจัย)

มัลลิกา แก้ววิเศษ, นันทินี ศรีจุมปา, อนุสรณ์ วัฒนกุล, สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ, สถิตย์พงศ์ รัตนคำ, ภรณี สว่างศรี, อัจฉราพรรณ ใจเจริญ, ทัศนาพร ทัศคร, สุธามาศ ณ น่าน, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว, อรุโณทัย ซาววา, รัชฎาภรณ์ ทองเหม, รัตนาพร นรรัตน์, ธรากร มณีรัตน์, สุทธินี เจริญคิด, กรกช จันทร, จิตรา กิตติโมรากุล, วราพร ไชยมมา, ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์, อภิญญา สุราวุธ, นพวรรณ นิลสุวรรณ, ไว อินต๊ะแก้ว, ลักษมี สุภัทรา, นันทิการ์ เสนแก้ว, ประสพโชค ตันไทย, บุญณิศา ฆังคมณี, พยุงศักดิ์ รวยอารี, อิศเรศ เทียนทัด, วรารัตน์ ศรีประพัฒน์, จีรภา ปัญญาศิริ, นัยเนตร เจริญสันติ ทานากะ, สุภาวดี ง้อเหรียญ, ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต

**คำสำคัญ**

เห็ดถั่งเช่าสีทอง, คอร์เดเซปิน, เห็ดกระดุม, เห็ดฟาง, เห็ดเป๋าฮื้อเห็ด, ขอนขาวลูกผสม ,การเพาะเห็ด; เห็ดภูฏาน, เห็ดตีนแรด, เห็ดเผาะ, เห็ดฟาง, เห็ดต่งฝน, เห็ดร่างแห, เห็ดเยื่อไผ่,ซีลีเนียม, การเพาะเห็ดแบบก้อนยาว; เครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาว; เกลียวอัด; กิ่งไม้หั่นย่อย เอ็นไซม์, จุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช, ไคติเนส, ไคติน, ราไฟธอพธอร่า, โรครากเน่าโคนเน่า, เพคติเนส,กรด 5-อะมิโนลีวูลินิค เมลาโทนิน เอแอลเอ ซินเทส รีคอมบิแนนท์ แบคทีเรียอีโคไล การแสดงออกของยีน จุลินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การต้านทานความเครียดแอลฟาอะไมเลส, การผลิตเอธานอล, เทคโนโลยีโปรตีนรีคอมบิแนนท์

**Key words**

*Cordyceps militaris*, Cordycepin, Button mushroom , Agaricus bisporus, Straw Mushroom, Volvariella volvacea, Abalone Mushroom, Pleurotus cystidiosus, Lentinus squarrosulus *Pleurotus* sp., *Macrocybe crassa*, *Astreaeus hygrometricus*, *Volvariella volvacea*, *Lentinus giganteus, Dictyophora indusiata, Phallus atrovolvatus*, *Phallus merulinus*, *Phallus echinovolvata*, Bamboo mushroom, selenium, Mushrooms Cultivation Mushrooms Cultivation in Long Bagging; Long Mushroom Bagging Machine; Screw Press; Shredded Branch enzyme, Microorgaism for pest control, chitinase, chitin, Phytopthora, root rot and tuber rot disease, pectinase alpha amylase, cassava-based ethanol production, recombinant protein technology

กรมวิทยาศาสตร์

บทคัดย่อ

การพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์เพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ ได้ทำการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้สารคอร์เดเซปินสูง โดยพบว่าผลผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยง สูตรอาหาร และได้มีการขยายผลงานวิจัย ด้านเทคโนโลยีการผลิตถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูงผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการและการฝึกอบรมออนไลน์ ในการพัฒนาเห็ดที่มีศักยภาพทางการค้าและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยทำการรวบรวมสายพันธุ์ คัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่เหมาะสมตามความต้องการของตลาดในเห็ดกระดุม เห็ดฟาง เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดขอนขาว และทดสอบผลผลิตของเห็ดทั้ง 4 ชนิดในฟาร์มของเกษตรกร เพื่อให้ได้สายพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตรสำหรับการบริการเชื้อพันธุ์ รูปทรงของดอกดี ในการพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ ได้ศึกษาการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (ซีลีเนียม) ในเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด ศึกษาเทคนิคการเพาะเห็ดเผาะโดยใช้ต้นกล้ายางนาเป็นพืชอาศัยในเรือนทดลองและแปลงทดลอง การศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแหที่เหมาะสมกับภาคใต้และจำแนกสายพันธุ์เห็ดร่างแหโดยใช้สัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุลในเขตพื้นที่ภาคใต้ ศึกษาการใช้กากเมล็ดกาแฟเพื่อผลิตเชื้อเห็ดฟางเพื่อเป็นวัสดุทดแทนในการทำเชื้อเห็ดฟางสำหรับเกษตรกรบนที่สูงที่ปลูกกาแฟอาราบิก้า ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อการเจริญของเห็ดต่งฝนโดยการเพิ่มปุ๋ยอินทรีย์ในดินกลบในอัตราส่วนที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีการวิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้เพื่อใช้กิ่งไม้หั่นย่อยเพาะเห็ดแบบก้อนยาวทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่มีราคาสูงขึ้น เพื่อลดต้นการผลิตจากวัสดุเพาะเห็ดและแรงงานในการอัดก้อน โดยสร้างต้นแบบเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ เมื่อเทียบกับเครื่องที่นำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นเครื่องต้นแบบสามารถลดต้นทุนการผลิตในส่วนของเครื่องมืออัดก้อนได้ โดยเครื่องต้นแบบมีราคาประมาณ 75,000 บาท ในด้านจุลินทรีย์มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ไคติเนสเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก ได้ทำการทดลองผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสจากเชื้อราเมตาไรเซียมและบิววาเลีย พบว่าทั้งเมตาไรเซียมและบิววาเลียสามารถผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสได้ โดยไคติเนสจากเมตาไรเซียมจะมีประสิทธิภาพมากกว่าในการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่าขนาดและน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผักจากวิธีควบคุมจะมีขนาดลำตัวที่ใหญ่กว่าและน้ำหนักมากกว่าหนอนกระทู้ผักที่ได้รับไคติเนส พบว่าหนอนที่ได้รับเอ็นไซม์ไคติเนสจะมีเปอร์เซนต์การตายสูงกว่าวิธีควบคุม วิธีที่มีประสิทธิภาพดีคือเอ็นไซม์ที่ผลิตจากเชื้อเมตาไรเซียม ที่เตรียมเชื้อโดยการเขย่า 3 วัน โดยมีความเข้มข้นของไคติน 1 และ 2 % จะให้ค่าไม่ต่างกัน ส่วนการทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในภาคสนามได้ทำการทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในแปลงคะน้าโดยทดสอบเปรียบเทียบกับการใช้สารฆ่าแมลง Emamectin และผลิตภัณฑ์ NPV พบว่าสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาเป็น NPV และไคติเนส ซึ่งไคติเนสให้ผลไม่ต่างจาก NPV ในการใช้เอ็นไซม์เพื่อควบคุมโรคพืชได้มีการศึกษาการสร้างเอ็นไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และเพคติเนส จากเชื้อราไตรโคเดอร์มาแล้วนำเอ็นไซม์เซลลูเลสมาทดสอบกับเชื้อไฟทอปธอรา พบว่าเอ็นไซม์มีประสิทธิภาพต่อเชื้อรา สารชีวภาพอื่นๆที่ทำการศึกษาคือกรด 5-อะมิโนลีวูลินิค (ALA) และเมลาโทนิน เป็นสารชีวภาพที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยทำการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกจากรีคอมบิแนนท์ *E. coli* ในระบบถังหมักขนาด 50 ลิตร ผลิตเมลาโทนินโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพทำการสังเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เมลาโทนิน และทดสอบประสิทธิภาพของสารเมลาโทนิน และพบว่าการให้สารเมลาโทนินที่ความเข้มข้นเดียวกันโดยการฉีดพ่นทางใบและรดที่โคนต้น สามารถลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นจากการขาดน้ำของใบมะเขือเทศในสภาพโรงเรือนได้ และมีการศึกษากรรมวิธีผลิตและแยกบริสุทธิ์เอนไซม์อะไมเลส พบว่าสามารถผลิตรีคอมบิแนนท์แอลฟาอะไมเลส ที่สามารถย่อยแป้งได้

กรมวิชาการเกษตร

Abstact

The development of mushroom and microbial production was studied for commercial. The production technology of Cordyceps golden mushroom was studied to obtain high cordasepin content. It was found that yield and active ingredient content in golden cordyceps mushrooms depended on many factors such as cultivar, culture method, and formula. The research result expanded on the technology of producing golden cordyceps to achieve high cordacepin through workshops and online training.The commercial potential and economic importance was developed by collecting species, selection of suitable mushroom species according to market demand in button mushrooms, straw mushrooms, abalone mushrooms and Hed Khon Khao and testing the yields of all 4 types of mushrooms on farmers' farms to obtain the rcommended species of the Department of Agriculture for the germplasm service good shape of flowers. To develop potential mushroom cultivation, antioxidants (selenium) were increased in Bhutanese mushrooms and rhododendrons. Study on the cultivation technique of poached mushrooms by using rubber seedlings as living plants in the experimental house and on the experimental plot. A study of the technology of culturing nettle mushrooms suitable for the southern region and identifying the nettle mushroom species using morphology and iomolecular techniques in the southern region. Study on the use of coffee bean waste to produce straw mushroom culture as a substitute material for straw mushroom inoculation for farmers in upland growing Arabica coffee. To study the influence of organic fertilizers on the growth of rain forest mushrooms by adding organic fertilizers to the soil cover in the appropriate ratio. In addition, there is also research and development of equipment for producing long lumps of mushroom growing material with screw press from branches for shredding branches for growing long lumps of mushrooms. Replaces the expensive rubber wood sawdust To reduce the cost of production from mushroom cultivation material and briquette labor By creating a prototype of a tool for producing long lumps of mushroom cultivation material with a screw pressed from a branch compared to machines imported from abroad. Therefore, the prototype can reduce the production cost of briquetting tools. The prototype cost about 75,000 baht. For microbial control, the utilization of enzyme chitinase was studied for the control of cutworms. An experiment was conducted to produce enzyme chitinase from Metarizium and Buvalia. It was found that both metarisium and buvalia were able to produce enzyme chitinase. Metarizium chitinase was more effective in the cutworm test. It was found that the average size and weight of cutworms from the control method were larger in body size and weight than those treated with chitinase. It was found that worms treated with chitinase enzyme had a higher percentage of mortality than the control method. An effective method is an enzyme produced by metauricium. The inoculum was prepared by shaking for 3 days with concentrations of chitin of 1 and

2% gave no different values. As for the enzyme chitinase in the field, the enzyme chitinase was tested in the kale plots by comparing it with Emamectin and the NPV product and found that the insecticide was the second most effective. to NPV and chitinase, which chitinase has the same effect as NPV. In the use of enzymes to control plant diseases, the generation of cellulase, amylase and pectinase enzymes was studied. from *Trichoderma*. The cellulase enzyme was then tested on phytopthora tinder. The enzyme was found to be effective against fungi. The other biological substance studied was acid (5-aminolevulinic acid; ALA) and melatonin are biological substances that can be used in agriculture to promote plant growth by producing acid 5-aminolevulinic acid from recombinant E. coli in a 50 liter fermentation tank system. Melatonin is produced using biotechnology to synthesize genes involved in melatonin synthesis and test the effectiveness of melatonin and found that the melatonin at the same concentration by foliar spray and watering at the base of the plant It can reduce the oxidative stress from dehydration of tomato leaves in greenhouse conditions and the process of producing and purifying the amylase enzyme was studied that found to be able to produce recombinant alpha amylase that can digest starch.

**บทนำ**

ประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ เห็ด แม้กระทั่งสิ่งมีชีวิตเล็กๆ อย่างจุลินทรีย์ ปัจจุบันจึงมีการศึกษา คิดค้น และพัฒนาสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์กับมนุษย์ในด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร การเกษตร สิ่งแวดล้อม และพลังงานอย่างแพร่หลาย การนำเทคโนโลยีชีวภาพซึ่งเป็นเทคนิคขั้นสูงมาช่วยในการพัฒนากระบวนการผลิตสารสำคัญทางชีวภาพ เช่น การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ การโคลนยีน ตัดต่อยีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์หรือสารสำคัญ ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในวงการแพทย์ โดยส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโปรตีน เพื่อนำสารสำคัญเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านการเกษตร โดยเฉพาะการทำเกษตรอินทรีย์ และยังเป็นแนวทางในการหาสารทดแทนสารเคมีเกษตรเพื่อลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม

เห็ดที่มีศักยภาพเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรทำการเพาะเลี้ยงมีหลายชนิด เช่น เห็ดถั่งเช่าสีทอง มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ คอร์เดเซปิน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้แก่ ยับยั้งการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีสารยับยั้งการเหนี่ยวนำให้เม็ดเลือดแดงแตก และการย่อยสลายไขมัน ในประเทศไทยเริ่มมีการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองมานานเกือบ 10 ปี และได้เผยแพร่วิธีการเพาะเลี้ยง ทำให้มีผู้ผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพกันหลายราย อย่างไรก็ตามการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองยังพบปัญหาสำคัญ ได้แก่ ความแปรปรวนทางด้านสายพันธุ์และวิธีการผลิตที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลต่อผลผลิต ลักษณะรูปร่างของดอกเห็ด ตลอดจนปริมาณคอร์เดเซปินสารสำคัญในถั่งเช่าสีทอง การศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งได้แก่ วัสดุเพาะเช่นแหล่งคาร์บอนจากข้าวชนิดต่างๆและธัญพืชบางชนิด โปรตีนจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งผลของไฟแอลอีดีสีต่างๆ ที่มีต่อผลผลิตและสารสำคัญในถั่งเช่าสีทอง และความเป็นไปได้ในการผลิตถั่งเช่าในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ จะทำให้ได้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตถั่งเช่าคุณภาพ สำหรับเผยแพร่แก่ผู้สนใจต่อไป ซึ่งการพัฒนากระบวนการผลิตถั่ง

กรมวิชาการเกษตร

เช่าสีทองเชิงพาณิชย์ สามารถต่อยอดและถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่กลุ่มเกษตรกร หรือผู้ที่สนใจต้องการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อการค้า

กรมวิชาการเกษตรมีเห็ดที่เก็บในหน่วยรวบรวมเชื้อพันธุกรรมเห็ดหลายชนิด ที่ควรนำมาศึกษาเพิ่มเติม นำมาเพาะทดสอบเพื่อประเมินผลผลิตและคุณภาพ รวมทั้งการไปเก็บรวบรวมสายพันธุ์ใหม่ๆเพิ่มเติม เพื่อหาสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดีเพื่อใช้เป็นพันธุ์แนะนำแก่เกษตรกรต่อไป เช่น เห็ดฟาง เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดขอนขาว และยังมีเห็ดอื่นอีกในธรรมชาติที่ควรศึกษา เช่น เห็ดร่างแห หรือ เห็ดเยื่อไผ่ ที่พบว่ามีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูง เห็ดเผาะที่อยู่ในป่าที่มีราคาแพงและเป็นที่นิยมนำมารับประทาน นอกจากสายพันธุ์เห็ดแล้วการพัฒนาการเพาะเห็ดเป็นอีกปัจจัยที่จะก่อให้เกิดความสำเร็จด้านการเพาะเลี้ยงเห็ด ซึ่งมีเป้าหมายให้ได้ผลผลิตสูง มีลักษณะและคุณภาพตรงตามความต้องการของแต่ละตลาด เหมาะสมกับพื้นที่หรือฤดูกาล สามารถลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง หรือเพิ่มทั้งคุณค่าและมูลค่าให้กับผลผลิตได้ จึงได้มีการศึกษาการเพิ่มคุณค่าเห็ดโดยเพาะเลี้ยงด้วยการเสริมแร่ธาตุบางตัวที่จำเป็นต่อมนุษย์หรือสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ซีลีเนียมในอาหารเพาะเลี้ยง

การศึกษาด้านการเพาะเห็ดจะมีขั้นตอนการใช้เชื้อเพาะ ส่วนมากทำมาจากวัสดุทางเกษตรหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่นการเพาะเห็ดฟาง เชื้อที่ใช้ในการเพาะเพื่อให้เกิดดอกเห็ด ทำมาจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลายชนิด ได้แก่ ขี้ฝ้าย ไส้นุ่น เปลือกบัว เปลือกถั่วเขียว หรือเปลือกถั่วเหลือง มูลม้าแห้ง ซึ่งในปัจจุบันนับว่าเป็นวัสดุที่หายากและมีราคาค่อนข้างแพง โดยเฉพาะอย่างยิ่งขี้ฝ้ายและเปลือกบัวที่ต้องมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ มีทดลองใช้กากเมล็ดกาแฟเป็นวัสดุเพาะเห็ดฟางโดยใช้เทคนิคการเพาะในตะกร้า พบว่าให้ผลผลิตดีมาก เส้นใยเห็ดฟางเจริญได้ดีมากในกากเมล็ดกาแฟ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้กากเมล็ดกาแฟนี้เป็นวัสดุทำเชื้อเห็ดฟางทดแทนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอื่นที่หายากเหล่านั้น นอกจากขั้นตอนการใช้เชื้อเพาะแล้ว ในการเพาะเห็ดยังมีขั้นตอนการเปิดดอกเห็ดที่มีความสำคัญและในบางเห็ดก็มีความเฉพาะเจาะจงทั้งวิธีการและรูปแบบจึงจำเป็นต้องศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการเพาะด้วย เห็ดพื้นเมือง เช่น เห็ดต่งฝนสามารถรับประทานได้ จัดอยู่ในสกุลใกล้เคียงกับเห็ดหอม และอยู่ในสกุลเดียวกับเห็ดกระด้าง ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จัดเป็นเห็ดที่มีรสชาติดี และมีคุณสมบัติทางยา ในอดีตถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค เช่น บำรุงเลือด หัวใจ แผลพุพอง มะเร็ง จึงควรที่จะศึกษาข้อมูลเพิ่ม ทางด้านอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อการเจริญของเห็ดต่งฝน เพื่อพัฒนาวิธีการเพาะเห็ดต่งฝนให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจตัวใหม่ในอนาคต การเพาะเห็ดได้มีการศึกษานำเอาวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาใช้เพาะเห็ดทดแทนการใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพารา เช่น การเพาะเห็ดนางรมภูฏานแบบถุง โดยนำใบไม้และกิ่งไม้ที่ร่วงหล่นเป็นวัตถุดิบ การใช้ไมยราบยักษ์ในการเพาะเห็ดขอนขาว พบว่า ไมยราบยักษ์หั่นย่อยสามารถใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดได้ดี น่าจะใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราได้ และยังมีการการวิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ โดยนำเครื่องอัดวัสดุเพาะเห็ดจากเศษเปลือกฝักข้าวโพดแบบก้อนยาว มาปรับปรุงและพัฒนาให้สามารถใช้ในการอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนยาวจากกิ่งไม้ได้ ซึ่งสามารถช่วยแก้ไขปัญหาข้อจำกัดของวัสดุที่ใช้เพาะเห็ดและการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวดังกล่าว เป็นการต่อยอดงานวิจัย สามารถลดต้นทุนการผลิต เช่น วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดและแรงงานคน เป็นต้น และส่งผลให้การเพาะเห็ดในประเทศมีการพัฒนาและก้าวหน้าขึ้น เกษตรกรสามารถเลือกวัสดุที่มีในท้องถิ่นมาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ด รวมถึงลดการเผาทำลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้ด้วย

กรมวิชาการเกษตร

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ปัจจุบันจึงมีการศึกษา พัฒนา การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง หรือผ่านกระบวนการเพื่อให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์ก่อนนำไปใช้ประโยชน์ จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า มีการศึกษาการใช้เอ็นไซม์เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชทั้งแมลงและเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น ไคติเนส เซลลูเลส อะไมเลส และกลูคาเนส อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์เหล่านี้ ยังต้องมีการศึกษาและทดสอบโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง เช่น การปรับเปลี่ยนวัสดุที่ใช้เพื่อให้ลดต้นทุนในการผลิตหรือพัฒนาวิธีการเพื่อทำให้มีการผลิตได้มากขึ้น การพัฒนากระบวนการผลิตเอ็นไซม์และสารชีวภาพจากจุลินทรีย์ให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อการนำไปใช้ในสภาพไร่นาได้ รวมทั้งมีเทคนิคหรือกระบวนการในการผลิตสารต่างๆที่เป็นประโยชน์ในทางการเกษตรให้มีศักยภาพทั้งในเชิงวิชาการและเชิงพาณิชย์เพื่อการนำสารเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์อย่างเต็มประสิทธิภาพในอนาคต และยังมีนำผลผลิตจากจุลินทรีย์ไปใช้ในอุตสาหกรรม โดยการผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์อะไมเลสจากจุลินทรีย์ เนื่องจากเลี้ยงง่ายความต้องการอาหารไม่ซับซ้อน สะดวกในการเก็บเชื้อได้นานโดยไม่ต้องถ่ายเชื้อบ่อยและเป็นแหล่งเอนไซม์ที่มีปริมาณไม่จำกัด

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ที่สามารถนำไปใช้ในการควบคุมและกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น กรด 5-อะมิโนลีวูลินิค (5-aminolevulinic acid; ALA) และ เมลาโทนิน เป็นสารที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างแพร่หลาย สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร อาทิ เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ทดแทนสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและการสร้างรงควัตถุ นอกจากนี้หากใช้ในปริมาณความเข้มข้นสูงยังสามารถใช้ทดแทนสารกำจัดวัชพืชและสารกำจัดแมลงได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ เพิ่มความต้านทานของพืชต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ เช่น การขาดน้ำ ความร้อน ดินเค็ม เป็นต้น จึงนับเป็นสารชีวภาพทางเลือกเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรของเกษตรกรในระบบการผลิตเกษตรอินทรีย์ หรือเกษตรปลอดสารพิษ เป็นทางเลือกหนึ่งในการพัฒนากระบวนการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรแบบยั่งยืน เพื่อลดต้นทุนการผลิตให้กับเกษตรกร ลดปัญหาการใช้สารเคมีเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อการผลิตอาหารที่ปลอดภัยให้สามารถสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคและช่วยฟื้นฟู บำรุง รักษาสิ่งแวดล้อมให้คงอยู่ในสภาพที่สมดุลตลอดไป ดังนั้น หากสามารถพัฒนาการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิค และสารเมลาโทนินได้ในปริมาณมากและรวดเร็วยิ่งขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทย ทั้งยังเป็นการผลักดันและต่อยอดงานวิจัยของหน่วยงานไปสู่การพัฒนาสารทางเลือกใหม่ ลดการใช้สารเคมี เป็นแนวทางในการส่งเสริมสารชีวภาพทางเลือกที่มีความปลอดภัยสูงเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีเกษตรซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม และส่งเสริมระบบการเกษตรไทยให้มีความยั่งยืน

## ระเบียบวิธีการวิจัย

**<u>โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดปินสูง</u>**

**กิจกรรมที่** 1 การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง

**การทดลองที่ 1.1** การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ

1) รวบรวมเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งผลิตภายในประเทศ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแต่ละสายพันธุ์ด้วยกล้องถ่ายภาพ

2) นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีลักษณะดี ไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์
3) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารวุ้น PDA และการให้ผลผลิตของเห็ดแต่ละสายพันธุ์
4) เมื่อเส้นใยเจริญเต็มอาหาร นำไปวางใต้แสงไฟความเข้ม 600 - 1000 ลักซ์ 12 ชั่วโมง/วันเพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์
5) คัดเลือกเห็ดสายพันธุ์ที่มีศักยภาพอย่างน้อย 3 สายพันธุ์ ที่มีสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนซึ่งวิเคราะห์จากดอกเห็ดอบแห้งบดผงละเอียด
6) เก็บรักษาเชื้อเห็ดสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกไว้ด้วยวิธีการที่เหมาะสม สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสมในขั้นตอนต่อไป

**การทดลองที่1.2** การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
1. รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตต่างๆในประเทศได้จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
2. เพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองแต่ละสายพันธุ์ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง
3. สกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

**การทดลองที่ 1.3** การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง
1. รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งต่างๆอย่างน้อย 7 สายพันธุ์ คัดเลือกมา 2 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและสารคอร์เดเซปินสูง และคัดแยกเส้นในนิวเคลียสเดี่ยวสายพันธุ์ละ 10 เส้นใย นิวเคลียสเดี่ยวและผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยว (Mono-mono crossing) โดยจับทีละคู่แบบพบกันหมด
2. นำลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองมาเลี้ยงบนข้าวที่หุงด้วย MMN โดยเลี้ยงในที่มืด 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส จากนั้นกระตุ้นให้สร้างสโตรมาโดยการให้แสงไฟที่ความเข้มแสง 700 – 1,000 ลักซ์ วันละ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์
3. ประเมินผลผลิตและปริมาณคอร์เดเซปินของลูกผสมที่ได้ เพื่อเลือกลูกผสมที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูงสำหรับใช้เป็นสายพันธุ์แนะนำแก่เกษตรกรต่อไป

**กิจกรรมที่ 2 เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง**

**การทดลองที่ 2.1** ศึกษาชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง
1.วางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ (จำนวน 10 ขวด/ซ้ำ) โดยกรรมวิธี คือ ชนิดธัญพืช ได้แก่ 1. ข้าวกล้องหอมมะลิ 2. ข้าวขาวหอมมะลิ 3. ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 4. ข้าวขาวเสาไห้ 5. ข้าวญี่ปุ่น 6. ข้าว กข 43 และ 7. ลูกเดือย
2.ทำการเพาะเลี้ยงเห็ดโดยใช้ธัญพืชชนิดต่างๆ
3.บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและวิเคราะห์ปริมาณคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในผลผลิต

**การทดลองที่ 2.2** สูตรอาหารชนิดต่างๆต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง
1.วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ประกอบด้วย
สูตรที่ 1 น้ำตาลทรายแดง 10 กรัม เปปโตน 10 กรัม ดีเกลือ 0.5 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 4 เม็ด/น้ำ 1 ลิตร
สูตรที่ 2 กลูโคส 7.5 กรัม เปปโตน 3.75 กรัม ผงดักแด้ 7.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 0.75 กรัม ดีเกลือ 0.38 กรัม / น้ำ 1 ลิตร
สูตรที่ 3 น้ำตาลทรายแดง 30 กรัม ยีสต์ 7.5 กรัม ไข่ไก่ 7.5 กรัม นมสด 75 กรัม นมผง 11.25 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 15 เม็ด / น้ำ 1 ลิตร
สูตรที่ 4 เปปโตน 10.2 กรัม ผงดักแด้ 25.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 1.125 กรัม ดีเกลือ 0.9 กรัม/น้ำ 1 ลิตร

กรมวิชาการเกษตร

สูตรที่ 5 control สูตรอาหาร MMN (Modified Melin Norkran medium)

2. บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองบนสูตรอาหารแต่ละชนิด วิเคราะห์สารคอร์เดเซปินในผลผลิตของแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

**การทดลองที่ 2.3** อิทธิพลของแสงต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.วางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ (20 ขวดทดลอง/กรรมวิธี) โดยกรรมวิธีคือ แสงจากหลอด LED ที่มีสีต่างๆกัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง

2. เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA

3. เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว Potato dextrose broth (PDB)

4. เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็งโดยใช้ข้าวหอมมะลิที่เติมด้วยอาหาร Modified Melin Norkans medium (MMN)

5. ปลูกเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็งโดยนำเชื้อบริสุทธ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว PDB มาเทลงในขวดเพาะเลี้ยง ขวดละประมาณ 5 มล. โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อ ใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

6. บ่มเส้นใยโดยนำขวดเพาะเลี้ยงไปวางในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มวัสดุ

7. กระตุ้นการสร้าง stroma (ดอกเห็ด) โดยนำขวดเพาะเลี้ยงไปวางใต้แสงไฟ LED สีต่างๆตามกรรมวิธีที่กำหนด ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

8. เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อเลี้ยงเชื้อครบ 8 สัปดาห์ โดยการนำทั้งวัสดุเพาะและดอกเห็ดออกจากขวด บันทึกจำนวนดอกเห็ด/ขวด ขนาดของดอกเห็ดโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง (วัดตรงกึ่งกลางดอกเห็ด) และความยาวของดอกเห็ด บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะเลี้ยงของแต่ละกรรมวิธี

9. วัดสีของดอกเห็ดด้วยเครื่องวัดสียี่ห้อ FRU Model WR-18 ซึ่งใช้ระบบสี CIE L*a*b* (CIEAB) โดยระบบสี CIEAB

**การทดลองที่ 2.4** เปรียบเทียบการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ

- การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง บ่มเชื้อและกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงราย

- เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเมล็ดธัญพืชและสูตรอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.1 และ 2.2 จากกิจกรรมที่ 2 ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ศวส.ชร(ดอยตุง) และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย (วาวี)

- บ่มเชื้อในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ตามสภาพธรรมชาติ ในสภาพที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำไปวางใต้แสงไฟวันละ 12 ชั่วโมงเพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส

**กิจกรรมที่ 3 การขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง**

**1.1 การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ** หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. จัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ (on site) หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ. เชียงราย เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2564

2. จัดฝึกอบรม หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2564

กรมวิชาการเกษตร

**<u>โครงการวิจัยที่ 2 วิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจ</u>**

**การทดลองที่ 1 การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดกระดุมที่ให้ผลผลิตและคุณภาพสูงเพื่อการค้า**

ปีที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญทางเส้นใยของสายพันธุ์เห็ดกระดุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) และประเมินผลผลิตเบื้องต้นของเห็ดกระดุมแต่ละสายพันธุ์โดยการเพาะในตะกร้า

ปีที่ 2 นำสายพันธุ์เห็ดกระดุมที่ได้รับการประเมินเบื้องต้นว่าให้ผลผลิตดี มาเพาะประเมินผลผลิตบนชั้นในเรือนทดลอง โดยมีวิธีการเตรียมฟางหมักเหมือนปีที่1 แต่ละล็อคบนชั้นบรรจุฟางหมัก 50 ก.ก.

**การทดลองที่ 2 การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่เหมาะสมต่อการเพาะในสภาพอุณหภูมิต่ำ**

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางในระดับห้องปฏิบัติการ ดำเนินการปี 2560

1. ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมเห็ดฟางจากธรรมชาติช่วงที่อากาศค่อนข้างเย็นตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ถึง กุมภาพันธุ์

2.เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ด โดยนำเชื้อเห็ดฟางที่ได้ ไปเลี้ยงบนอาหารพีดีเอ

ขั้นตอนที่ 2 ประเมินผลผลิต ดำเนินการปี 2561-2562

2.1 การเพาะเห็ดในตะกร้า

2.2การเพาะเห็ดแบบกองเตี้ย

2.3 เลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่ให้ผลผลิตปี2561 นำไปเพาะในปี 2562

**การทดลองที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพตรงความต้องการของตลาด**

1. การทดสอบประสิทธิภาพการสร้างตุ่มดอกของเชื้อพันธุ์เห็ดฟางที่เก็บรวบรวมไว้ในหน่วยรวบรวมเชื้อพันธุกรรมเห็ด

2. ศึกษาช่วงอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อพันธุ์เห็ดฟางที่คัดเลือกมาได้ ในระดับห้องปฏิบัติการ

**การทดลองที่ 4 การคัดเลือกและประเมินสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อเพื่อการใช้ประโยชน์**

1.รวบรวมสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเป็นเชื้อพันธุ์ที่รวบรวมไว้ของกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์จากต่างประเทศ คือ ไต้หวัน และสายพันธุ์ที่รวบรวมจากแหล่งเพาะเห็ดเป๋าฮื้อในปัจจุบันหรือพบในสภาพธรรมชาติ และเตรียมเชื้อบริสุทธิ์

2. ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา

3. การเพาะเปรียบเทียบลักษณะดอกและผลผลิตของสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อในภาคกลาง

**การทดลองที่ 5 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่**

1. รวบรวมสายพันธุ์เห็ดขอนขาว จากกลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด ฟาร์มเกษตรกร และธรรมชาติ ทั้งในรูปแบบของเส้นใยเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ และดอกเห็ด อย่างน้อย 10 สายพันธุ์

2. ทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาวที่อุณหภูมิต่างๆ

3. เพาะทดสอบความสามารถในการออกดอกและผลผลิตของเห็ดขอนขาว

4. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาว

**การทดลองที่ 6 ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดฟางพันธุ์ดีในฟาร์มเกษตรกร**

วางแผนการทดลองแบบ RCBD กรรมวิธีคือเชื้อพันธุ์เห็ดฟางที่นำมาทดสอบให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพตรงความต้องการของตลาด จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ Vvol016 Vvol035 Vvol070 Vvol092 และเห็ดฟางเชื้อพันธุ์เห็ดบริการของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ ฟาง-2 (เชื้อพันธุ์เปรียบเทียบ) ดำเนินการทดสอบกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ในฟาร์มเกษตรกร 2 แห่ง คือ 1. โรงเรือนของเกษตรกรในอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี โดยในปีที่ 1 ใช้ฟางข้าวและขี้ฝ้ายเป็นวัสดุเพาะ

กรมวิชาการเกษตร

และปีที่ 2 ใช้ทะลายปาล์มน้ำมันเปล่าเป็นวัสดุเพาะ และ 2. โรงเรือนของเกษตรกรในอำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี ใช้กากถั่วเขียวและฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะ สำหรับเห็ดฟางเป็นเห็ดที่สามารถเจริญได้บนเศษวัสดุทางการเกษตรหลายชนิด ในการเพาะทดสอบกับโรงเรือนของเกษตรกรทั้ง 2 แห่ง จึงมีความแตกต่างกันด้านสภาพภูมิอากาศและวัสดุเพาะที่ใช้

**การทดลองที่ 7 ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์ดีในฟาร์มเกษตรกร**

การเพาะทดสอบผลผลิตเห็ดเป๋าฮื้อในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตรและในฟาร์มเกษตรกรโดยทำการเพาะทดสอบในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตร 1 แห่ง และเพาะทดสอบในฟาร์มเกษตรกร 2 แห่ง คือ จ.นนทบุรี และ จังหวัดระยอง โดยในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตร และ ฟาร์มเกษตรกร จ.นนทบุรี เพาะทดสอบ 3 รอบการผลิต ส่วนในฟาร์มเกษตรกร จ.ระยอง เพาะทดสอบ 2 รอบการผลิต

**การทดลองที่ 8 ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดขอนขาวลูกผสมในฟาร์มเกษตรกร**

1. การเตรียมเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ โดยเตรียมเชื้อเห็ดขอนขาวลูกผสมที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์จากการทดลองในปี 2561 ที่ให้ผลผลิตสูงและลักษณะที่ดี 10 สายพันธุ์
2. การเตรียมเชื้อเห็ดขยาย
3. เพาะทดสอบการให้ผลผลิตของเห็ดขอนขาวลูกผสมและเห็ดขอนขาวสายพันธุ์เปรียบเทียบ L3 ในฟาร์มเกษตรกร อ. เมือง และ อ.สตึก จังหวัดบุรีรัมย์ อ. เมือง จังหวัดศรีสะเกษ และในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ

**<u>โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ</u>**

**การทดลองที่ 1. การเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (ซีลีเนียม) ในเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด**

1.ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด
2.การวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในเส้นใยเห็ด
3. ศึกษาการเพิ่มซีลีเนียมในดอกเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรดสายพันธุ์บริการชนิดละ 2 สายพันธุ์

**การทดลองที่ 2. การศึกษาเทคนิคการเพาะเห็ดเผาะ**

1. วางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ มี 2 ต้นทดลองต่อซ้ำ ใช้ต้นยางนาสำหรับการศึกษา เพื่อทดสอบการปลูกเชื้อเห็ดเผาะด้วยหัวเชื้อ (inoculum) แบบต่าง ๆ เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพ
2. การเก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์
3. การปลูกเชื้อเห็ดเผาะด้วยหัวเชื้อ (inoculum) แบบต่าง ๆ
4. ศึกษาการเข้าอาศัยในรากของพืชอาศัย
5. ศึกษาการสร้างดอกเห็ดของพืชอาศัยที่ได้รับการปลูกเชื้อในสภาพแปลง โดยปลูกยางนาเพื่อใช้เป็นพื้นที่ทดลอง แล้วนำเชื้อเห็ดเผาะที่ได้จากการเลี้ยงขยายบนอาหารสังเคราะห์นำไปปลูกเชื้อลงบนต้นยางนาและติดตามการสร้างดอกเห็ดเผาะในแปลงทดลอง

**การทดลองที่ 3. การจำแนกสายพันธุ์เห็ดร่างแหโดยใช้สัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล**

1. รวบรวม และศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของเห็ดร่างแหไอโซเลทต่างๆ
2. การจำแนกเห็ดร่างแหด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

**การทดลองที่ 4. การศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแหที่เหมาะสมกับภาคใต้**

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดร่างแห
2. ศึกษาการเพาะเห็ดร่างแห

กรมวิชาการเกษตร

3. วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

4. การขยายผลงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์

**การทดลองที่ 5. การใช้กากเมล็ดกาแฟเพื่อผลิตเชื้อเห็ดฟาง**

1. วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางเส้นใยและผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะด้วยเชื้อเห็ดฟางที่เตรียมจากวัสดุต่างๆ

2. หมักวัสดุชนิดต่างๆเพื่อเตรียมเชื้อเห็ดฟางตามกรรมวิธีที่กำหนด

3. เตรียมการใช้กากเมล็ดกาแฟทำเชื้อเห็ดฟาง

4. ทดสอบผลผลิตของเห็ดฟางที่เตรียมจากเชื้อกรรมวิธีต่างๆ

**การทดลองที่ 6. อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อการเจริญของเห็ดต่งฝน**

1. ส่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในห้องปฏิบัติการ

2. เตรียมเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ในอาหารวุ้นพีดีเอ และนำไปขยายเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างที่บรรจุในขวดแก้ว ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปนเปื้อนแล้ว บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง นำไปใช้เป็นเชื้อเพาะ

3. เปรียบเทียบผลผลิตของเห็ดต่งฝนในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิ โดยการเพาะทดสอบ เตรียมก้อนเชื้อบ่มก้อนเชื้อไว้ในโรงเรือนสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิจนเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ และกลบดิน ก้อนเชื้อตามกรรมวิธีที่กำหนด เปรียบเทียบผลผลิต

**<u>โครงการวิจัยที่ 4 วิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้</u>**

1.ทดสอบการหั่นย่อยกิ่งไม้ด้วยเครื่องหั่นย่อยซากกิ่งไม้ผลที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบ/นาที

2.ทดสอบการใช้งานของเครื่องหั่นย่อยซากกิ่งไม้ผล โดยเก็บข้อมูลความสามารถในการหั่น ย่อย

3.ทดสอบการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยการใช้แรงงานคนจากกิ่งไม้หั่นย่อย

4.ทดสอบการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ด

5.ออกแบบและสร้างต้นแบบเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้

6.ทดสอบการใช้งาน การเพาะเห็ด

**<u>โครงการที่ 5 การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมศัตรูพืช</u>**

**กิจกรรมที่ 1 เอ็นไซม์ควบคุมแมลง**

**การทดลองที่ 1.1 การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ไคติเนสเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก**

1. การศึกษาการผลิตเอ็นไซม์ไคติเนส

1.1 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 2 ปัจจัย 4 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 1) เชื้อรา 3 ไอโซเลต ได้แก่ เมตาไรเซียม 2 ไอโซเลต บิววาเรีย 1 ไอโซเลต

ปัจจัยที่ 2) ไคตินที่จำหน่ายเป็นการค้า 2 ชนิด ไคติน A และ ไคติน B

1.2 การเตรียมเชื้อราที่สามารถผลิตเอ็นไซม์ไคติเนส

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของไคติเนสกับหนอนกระทู้ผัก

2. การศึกษารูปแบบสารเอ็นไซม์ไคติเนสเพื่อใช้ประโยชน์ในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก

1. เตรียมเอ็นไซม์ในรูปผง โดยทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-drying)

2. ผสมผงเอ็นไซม์กับสารปรุงแต่ง (additive) Aluminium silicate และ Kaoline เพื่อให้เอ็นไซม์มีประสิทธิภาพในการคงตัว

3. ทำการทดสอบเอ็นไซม์รูปแบบต่างๆ กับหนอนกระทู้ผักวัยสอง

กรมวิชาการเกษตร

**การทดลองที่ 1.2 การทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในภาคสนาม**

1. การทดสอบความคงทนของเอ็นไซม์ไคติเนส โดยเก็บรักษาเอนไซม์ที่อุณหภูมิห้องกับในตู้เย็นที่ช่วงระยะเวลา 0, 1, 3, 6 เดือน นำเอ็นไซม์ที่เก็บไว้ตามกรรมวิธีต่างๆ ไปทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก

2. ทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในแปลง โดยทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในแปลงคะน้า เปรียบเทียบกับเชื้อ NPV และสารกำจัดแมลง Emamectin benzoate บันทึก%ความเสียหายของคะน้าหลังการทดลอง

**<u>กิจกรรมที่ 2 การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายที่มีประโยชน์จากเชื้อราไตรโคเดอร์มาเพื่อใช้ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า</u>**

**การทดลองที่ 2.1 การคัดเลือก และจำแนกชนิดของเอนไซม์จากรา *Trichoderma* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช**

1.การคัดเลือก *Trichoderma* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชจำนวน 30 ไอโซเลต

2. ทดสอบความสามารถการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา Trichoderma

3. การจำแนกชนิดของเอนไซม์ที่เชื้อรา Trichoderma สามารถสร้างได้

**การทดลองที่ 2.2 การผลิตเอนไซม์ในอาหารเหลวระดับขวดเขย่า (Flask-Culture technique) ในรูปแบบผงหรือเม็ดแห้ง**

2.1 การผลิตเอนไซม์ในอาหารเหลวระดับขวดเขย่า โดยนำชิ้นวุ้นเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลตที่ดีที่สุดมาผลิตเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และเพคติเนส โดยผลิตเอนไซม์ในรูปแบบผงหรือเม็ดแห้ง

**การทดลองที่ 2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการกระตุ้นความต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคที่เกิดจาก *Phytophthora* ของพริก**

3.1การทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการกระตุ้นความต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคที่เกิดจาก *Phytophthora* ของพริกในระดับโรงเรือนทดลอง โดยรดต้นพริกใส่เชื้อ *Phytopthora* ด้วยเอนไซม์ที่ผลิตได้หรือด้วยเอนไซม์ตามความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ศึกษา บันทึกจำนวนต้นพริกที่เกิดอาการโรค

**<u>โครงการที่ 6 การผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช</u>**

**กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาการผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**

**การทดลอง1.1 การผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก โดยรีคอมบิแนนท์ *E. coli***

1.การตรวจสอบการปรากฏของยีน *hem A* จากเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียเจ้าบ้าน (***E. coli***) ที่ได้รับการถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน *hem A*

2.การศึกษาการชักนำการผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ ALA synthase (ALAS) ใน *E. coli*

3. การศึกษากระบวนการผลิตกรดอะมิโนลีวูลินิค (5-aminolevulinic acid; ALA) จากรีคอมบิแนนท์ *E. coli*

4. การศึกษากระบวนการผลิตกรดอะมิโนลีวูลินิค (ALA) ในระบบถังหมักขนาดเล็ก

**การทดลองที่ 1.2 การศึกษาประสิทธิภาพของกรด 5-อะมิโนลีวูลินิคเพื่อการประยุกต์ใช้ทางการเกษตร**

1.การเตรียมการผลิตกรดอะมิโนลีวูลินิค (ALA)

2.การเตรียมสารละลายกรดอะมิโนลีวูลินิคให้มีความเข้มข้นขึ้น

3.การศึกษาคุณสมบัติของกรดอะมิโนลีวูลินิค (ALA) ในการนำไปใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

4.การเตรียมรูปแบบผลิตภัณฑ์สาร ALA ในรูปแบบต่างๆ และการศึกษาประสิทธิภาพความคงตัวของสาร

**กิจกรรมที่ 2 การผลิตและการใช้ประโยชน์ของสารเมลาโทนินจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม**

กรมวิชาการเกษตร

**การทดลองที่ 2.1 การผลิตสารเมลาโทนินจากจุลินทรีย์เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของพืช**

1.การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเมลาโทนินจากพืชและจุลินทรีย์

2.การถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เมลาโทนินเข้าสู่ยีสต์และการชักนำการแสดงออกของเอนไซม์

3.การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเลี้ยงยีสต์เพื่อการผลิตเมลาโทนิน และคัดเลือกยีสต์

4.การเลี้ยงยีสต์ในระดับถังเลี้ยงขนาดเล็ก และวิเคราะห์ปริมาณสารเมลาโทนินที่ผลิตได้จากยีสต์ที่ได้รับการถ่ายยีน

**การทดลองที่ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมลาโทนินเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาพ แวดล้อมที่ไม่เหมาะสม**

1. การเพิ่มอัตราการงอกของพืชภายใต้สภาพดินเค็ม
2. การเพิ่มความต้านทานสภาวะแล้งของมะเขือเทศในช่วงติดดอก โดยวิธีพ่นสารละลายเมลาโทนินทุก 3 วัน

**<u>โครงการวิจัยที่ 7 การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในกระบวนการย่อยแป้งเชิงพาณิชย์</u>**

**การทดลองที่ 1 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและการสกัดบริสุทธิ์**

1. การนำพลาสมิดลูกผสมของยีนแอลฟาอะไมเลสและยีนกลูโคอะไมเลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์โดยวิธี LiAc/single-stranded carrier DNA/PEG method

2. การเชื่อมต่อยีนแอลฟาอะไมเลสเข้ากับเวคเตอร์ของแบคทีเรียและตรวจสอบการแสดงออกของยีน

## ผลการวิจัย

**<u>โครงการวิจัยที่ 1การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง</u>**

1. การรวบรวม เปรียบเทียบลักษณะและประเมินผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งรวบรวมจากแหล่งผลิตภายในประเทศจำนวน 11 สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและสารสำคัญสูง ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และ CM2 ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์

2. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดในเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าการทดสอบไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ กับตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B โดยมีเห็ดหอมเป็นตัวอย่าง Out of group พบว่า คู่ไพร์เมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R สามารถให้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ มีประสิทธิภาพในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด ผลความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่ารหัส O ใช้บ่งชี้ลักษณะพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างรหัส O ได้

3. การสร้างลูกผสมโดยนำพ่อแม่พันธุ์ไปคัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวและจับคู่ผสมแบบสปอร์เดี่ยว ลูกผสมสายพันธุ์คัดเลือกที่ผ่านการประเมินผลผลิตจำนวน 22 คู่ผสม นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ พบว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมจากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและที่มีสารคอร์เดเซปินสูง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4

4. เปรียบเทียบการใช้ธัญพืช 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าว กข. 43 และลูกเดือย พบว่าลูกเดือยเป็นธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิต และสารคอร์เดเซปินสูงที่สุด ในขณะที่การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยข้าว กข.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

43 ซึ่งมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวชนิดอื่นทั่วไป ส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตต่ำไปด้วย เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นอาหารที่เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสามารถนำไปใช้นั้นมีต่ำกว่าข้าวชนิดอื่น

5. การเปรียบเทียบสูตรอาหาร 5 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด เท่ากับ 17.25 และ 7.88 กรัม/กิโลกรัม แต่ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 2.39 กรัม/ขวด เมื่อคิดต้นทุนการผลิตต่อขวด พบว่า สูตรอาหารที่ 5 มีราคาต้นทุนต่อขวดน้อยที่สุด คือ 4.718 บาท/ขวด ส่วนสูตรอาหารที่ 4 มีราคาต้นทุนต่อขวดมากที่สุด คือ 6.248 บาท/ขวด การวิเคราะห์ค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) พบว่า สูตรอาหารที่ 5 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ และสูตรอาหารที่ 2 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตน้อยที่สุด เท่ากับ 72.01 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสูตรอาหารที่ 5 จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้เนื่องจากมีต้นการผลิตที่ต่ำประกอบกับมีค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด

6. การศึกษาแสงจากหลอดแอลอีดีสีต่างๆมีผลต่อผลผลิตและปริมาณสาระสำคัญในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าแสงสีแดงและสีเหลือง ไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีเขียวมีน้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดต่อขวดสูงที่สุดโดยมีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 68% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงสีขาว เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์มีปริมาณคอร์เดเซปินสูงที่สุด รองลงมาคือดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว แสงสีม่วง และ แสงสีขาวตามลำดับ การผลิตอะดีโนซีนสูงที่สุดได้จากดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์ แต่ภายใต้แสงสีชมพูจะผลิตอะดีโนซีนน้อยที่สุด ในภาพรวมพบว่าการให้แสงสีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิตและสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูงกว่าแสงสีอื่น

7. จากการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในแต่ละเดือนของปีงบประมาณ 2563 - 2564 พบว่าในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิที่ศวพ.กส.เชียงราย (วาวี) ที่ความสูง 1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเลและที่โครงการพัฒนาดอยตุง (920 เมตร จากระดับน้ำทะเล) สามารถเพาะได้มีประสิทธิภาพ ดังนั้นบนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตร ขึ้นไปสามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์ และลดต้นทุนการผลิตได้ 2,533 บาทต่อรอบการผลิต (60 วัน)

8. ได้ขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองให้เกษตรกร และผู้สนใจโดยการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 30 คน และจัดฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting จำนวน 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมรวม 27 คน

**<u>โครงการวิจัยที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจ</u>**

1. การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดกระดุมที่ให้ผลผลิตและคุณภาพสูงเพื่อการค้าจากการประเมินผลผลิตและคุณลักษณะของเห็ดกระดุม 19 สายพันธุ์ โดยในปีที่ 1 ประเมินผลผลิตโดยการเพาะในตะกร้า สามารถคัดเลือกพันธุ์เห็ดกระดุมที่มีผลผลิตมากกว่า 1 กิโลกรัม/ตะกร้าได้ 8 สายพันธุ์ ได้แก่ เบอร์ 5 8 9 11 13 14 18 และ 19 ซึ่งได้นำมาทดสอบผลผลิตโดยการเพาะบนชั้นในโรงเรือนในปีที่ 2 พบว่ามี 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและค่าประสิทธิภาพการผลิตสูงคือเบอร์ 14 19 18 8 และ 11 ตามลำดับ โดยเบอร์ 8 11 และ 14 เป็น 3 สายพันธุ์ที่มีน้ำหนักต่อดอกต่ำกว่า 30 กรัม/ดอก แต่เบอร์ 18 และ 19 มีขนาดดอกใหญ่ที่มีน้ำหนักต่อดอกมากกว่า 30 กรัม/ดอก

2. การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่เหมาะสมต่อการเพาะในสภาพอุณหภูมิต่ำ ผลการเพาะเห็ดฟางที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ สามารถเก็บผลผลิตทั้งเพาะในตะกร้า และกองเตี้ย

กรมวิชาการเกษตร

3. การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพตรงความต้องการของตลาด พบว่าเห็ดฟาง 15 สายพันธุ์ ได้แก่ Vvol002 (พันธุ์แนะนำกรมวิชาการเกษตร เบอร์ 2), Vvol006, Vvol011 (พันธุ์แนะนำกรมวิชาการเกษตร เบอร์ 7), Vvol014, Vvol016 (พันธุ์แนะนำกรมวิชาการเกษตร เบอร์ 9), Vvol029, Vvol030, Vvol031, Vvol035, Vvol038, Vcol055, Vvol065, Vvol070, Vvol075 และ Vvol092 สามารถเกิดดอกเห็ดได้เมื่อทดสอบเลี้ยงบนวัสดุหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดฟางทั้ง 15 สายพันธุ์ มากที่สุดคือ ช่วงอุณหภูมิ 35°C

4. การคัดเลือกและประเมินสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อเพื่อการใช้ประโยชน์ ได้รวบรวมสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อได้ทั้งหมด จำนวน 17 สายพันธุ์ โดยเป็นสายพันธุ์ที่เก็บอนุรักษ์ไว้ในหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมเห็ด กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร จำนวน 13 สายพันธุ์ และที่รวบรวมเพิ่มเติม จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่จะนำไปเพาะทดสอบในฟาร์มเกษตรจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ No.1 No.4 และ No.10 ซึ่งให้ผลผลิตสูงที่สุด และ สายพันธุ์ No.14 และ No.16 ซึ่งให้ผลผลิตรองลงมา แต่มีลักษณะของดอกเห็ดที่มีคุณภาพ ตรงตามความต้องการของตลาด

5. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ ได้รวบรวมสายพันธุ์ขอนขาวจากแหล่งต่างๆ ทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 25 30 และ 35°C พบว่าส่วนใหญ่เห็ดขอนขาวเจริญได้ที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 และ 35 °C ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและผลผลิตของเห็ดขอนขาวทั้ง 31 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับเห็ดขอนขาวสายพันธุ์ L3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้บริการของกรมวิชาการเกษตร เพื่อคัดเลือกเห็ดสายพันธุ์ที่มีลักษณะดีโดยใช้เกณฑ์ 1) ความสามารถในการให้ผลผลิต 2) การออกดอกเร็วและออกดอกพร้อมกัน 3) ระยะเวลาการบ่มเส้นใยในถุงอาหารเพาะ พบว่า เห็ดขอนขาว 6 สายพันธุ์ ได้แก่ L9 L18 L19 L21 L25 และ L28 มีลักษณะบางอย่างดีกว่าและมีบางลักษณะที่ไม่แตกต่างจากเห็ดสายพันธุ์เปรียบเทียบ จึงนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ พบว่ามี 20 คู่ผสมที่เข้าคู่กันได้ ผลการเพาะทดสอบมีเห็ดขอนขาวลูกผสม 10 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสม่ำเสมอและมีลักษณะดอกปกติ ได้แก่ L3xSL9-5 L3xSL18-3 L3xSL18-8 L3xSL21-13 L3xSL25-26 L3xSL25-31 L3xSL28-1 L3xSL28-2 L3xSL28-14 และ L3xSL28-16

6. ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดฟางพันธุ์ดีในฟาร์มเกษตรกร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดฟางจำนวน 4 สายพันธุ์ (Vvol016 Vvol035 Vvol070 และ Vvol092) เปรียบเทียบกับ เห็ดฟาง-2 เชื้อพันธุ์เห็ดบริการของกรมวิชาการเกษตร ในฟาร์มเกษตรกร 2 แห่ง พบว่า 1. โรงเรือนของเกษตรกรในอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี เพาะทดสอบเป็นระยะเวลา 2 ปี 4 รอบการผลิต โดยปีที่ 1 (2562) เกษตรกรใช้ฟางข้าวและขี้ฝ้ายเป็นวัสดุเพาะจำนวน 2 รอบการผลิต เห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol035 สามารถให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อแปลงเพาะ 1 ตารางเมตร สูงที่สุดที่ 1,582.03 - 2,988.29 กรัม และในปีที่ 2 (2563) เกษตรกรใช้ทะลายปาล์มน้ำมันเปล่าจำนวน 2 รอบการผลิต โดยผลการทดลองพบว่า เห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol035 ยังสามารถให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อแปลงเพาะ 1 ตารางเมตร สูงที่สุดที่ 2,812.50 - 3,847.65 กรัม 2. โรงเรือนของเกษตรกรในอำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี เพาะทดสอบเป็นระยะเวลา 2 ปี 3 รอบการผลิต เกษตรกรใช้ฟางข้าวและกากถั่วเขียวเป็นวัสดุเพาะทั้ง 3 รอบการผลิต โดยพบว่า เห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol035 สามารถให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อแปลงเพาะ 1 ตารางเมตร สูงที่สุดที่ 492.19 - 703.13 กรัม

7. ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์ดีในฟาร์มเกษตรกร

กรมวิชาการเกษตร

การศึกษาเพาะทดสอบผลผลิตเห็ดเป๋าฮื้อ จำนวน 6 สายพันธุ์ ในฟาร์มเกษตร จำนวน 2 แห่ง และในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตร พบว่า 1)สายพันธุ์ No.3(Control) จากการเพาะที่ จ. ระยอง และให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 65.67 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ กรุงเทพมหานคร ซึ่งในภาพรวมให้ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ แต่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อยังมีความต้องการที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเป็นที่ต้องการของตลาด และลักษณะของดอก ความแน่นของเนื้อดอก ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นาน 2)สายพันธุ์ No.1 จากการเพาะที่ กรุงเทพมหานคร และให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 97.73 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ จ. ระยอง ซึ่งในภาพรวมให้ผลผลิตสูง เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อไม่นิยมที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเข้มมากจนถึงสีดำ ดอกเห็ดกรอบ แตกหักง่าย จึงไม่เป็นที่ต้องการของตลาด แต่รสชาติอร่อย 3)สายพันธุ์ No.4 ให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 86.30 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ จ. ระยอง ซึ่งในภาพรวมให้ผลผลิตปานกลางเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อไม่นิยมที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเข้มมากจนถึงสีดำ จึงไม่เป็นที่ต้องการของตลาด 4)สายพันธุ์ No.10 ให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 94.04 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ จ. ระยอง ซึ่งในภาพรวมให้ผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ แต่ให้ผลผลิตสูงขึ้นปานกลางเมื่อเพาะที่ จังหวัดระยอง เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อไม่นิยมที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเข้มมากจนถึงสีดำ จึงไม่เป็นที่ต้องการของตลาด 5)สายพันธุ์ No.14 จากการเพาะที่ จ. ระยอง และให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 72.98 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ กรุงเทพมหานคร ซึ่งในภาพรวมให้ผลผลิตต่ำจนถึงปานกลางเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อมีความต้องการที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเป็นที่ต้องการของตลาด และลักษณะของดอก ความแน่นของเนื้อดอก ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นาน 6)สายพันธุ์ No.16 ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 255.68 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ จ. ระยอง และให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 106.91 กรัม/ถุง จากการเพาะที่ กรุงเทพมหานคร โดยรวมให้ผลผลิตปานกลาง เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ แต่ให้ผลผลิตสูงมากเมื่อเพาะที่ จังหวัดระยอง เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเป๋าฮื้อมีความต้องการที่จะเพาะสายพันธุ์นี้ เนื่องด้วยสีดอกเป็นที่ต้องการของตลาด

8. ศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดขอนขาวลูกผสมในฟาร์มเกษตรกร

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดขอนขาวลูกผสมในฟาร์มเกษตรกร โดยเพาะทดสอบเห็ดขอนขาวลูกผสม 10 สายพันธุ์ ได้แก่ L3×SL9-5, L3×SL18-3, L3×SL18-8, L3×SL21-13, L3×SL25-26, L3×SL25-31, L3×SL28-1, L3×SL28-2, L3×SL28-14 และ L3×SL28-16 ในถุงอาหารเพาะขี้เลื่อย 800 กรัม เปรียบเทียบผลผลิตกับเห็ดขอนขาว L3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้บริการของกรมวิชาการเกษตรในฟาร์มเกษตรกร อ. เมือง และ อ.สตึก จ.บุรีรัมย์ และโรงเรือนของกรมวิชาการเกษตร 3 แห่ง 3 รอบการผลิต เก็บผลผลิต 2 เดือนหลังเปิดดอก พบว่ามีเห็ดขอนขาวลูกผสม 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและสม่ำเสมอ ได้แก่ L3×SL28-14, L3×SL21-13, L3×SL28-16, L3×SL18-8 และ L3×SL25-31

**<u>โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ</u>**

1. การเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (ซีลีเนียม) ในเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด

การเพิ่มซีลีเนียมในดอกเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรดสายพันธุ์บริการชนิดละ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อเห็ดภูฏาน 2 และเชื้อเห็ดภูฏาน 3 และ เชื้อเห็ดตีนแรด 1 และเชื้อเห็ดตีนแรด 2 พบว่าการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารพีดีเอสำเร็จรูปผสมและไม่ได้ผสมด้วยซีลีเนียม โดยวัดการเจริญของเส้นใยและน้ำหนักเส้นใยเห็ด เส้นใยสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมซีลีเนียมชนิด Sodium selenate ในความเข้มข้นที่สูงกว่าชนิด Sodium selenite และ ชนิด Selenium dioxide และยังพบว่าความเข้มข้นของ

กรมวิชาการเกษตร

ซีลีเนียมที่ใช้ไม่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยเจริญบนอาหารที่ใช้เป็นตัวควบคุม และการผสมซีลีเนียมระดับความเข้มข้นสูง มีผลลดอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดด้วย

2. การศึกษาเทคนิคการเพาะเห็ดเผาะ พบว่าเชื้อบริสุทธิ์เห็ดเผาะที่แยกได้จากดอกเห็ดแต่ละไอโซเลทมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อต่อเชื้อในอาหารสังเคราะห์ไปหลายครั้งเชื้อบางไอโซเลทจะหยุดชะงักการเจริญเติบโต และการปลูกเชื้อเห็ดเผาะแก่พืชอาศัยสามารถใช้เชื้อ 3 แบบ คือ เชื้อจากดอกเห็ด และเส้นใยที่เลี้ยงในอาหารเหลว potado dextrose broth และ soil inoculum หัวเชื้อทั้ง 3 แบบ ทำให้เกิดมัยคอร์ไรซีกับรากยางนาได้

3. การจำแนกสายพันธุ์เห็ดร่างแหโดยใช้สัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล จากผลการรวบรวม เห็ดร่างแหที่บริโภคได้จากธรรมชาติในเขตภาคใต้ของประเทศไทย สามารถรวบรวบตัวอย่างเห็ดร่างแหได้ 2 สายพันธุ์ คือ เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว และ เห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาว รวม 11 ไอโซเลท เมื่อนำมาจำแนกทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจำแนกเห็ดร่างแหด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล ด้วยวิธีศึกษาลำดับเบสบริเวณ ITS สรุปได้ว่า เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาวจำแนกได้เป็น 2 ชนิดคือ Phallus atrovolvatus Kreisel & Calong และ Phallus merulinus ( Berk) โดยเห็ดร่างแหกระโปรงสั้น สายพันธุ์ Phallus atrovolvatus สามารถแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 2 ประชากรตามสภาพแวดล้อม และระบบนิเวศที่แตกต่างกัน ทำให้มีความผันแปรทางพันธุกรรมแตกต่างกัน

4. การศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแหที่เหมาะสมกับภาคใต้ โดยรวบรวมสายพันธุ์เห็ดร่างแหชนิดที่บริโภคได้ ในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างได้ จำนวน 9 สายพันธุ์ จำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว (Phallus atrovolvatus และ P. merulinus ) และเห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาว (P. echinovolvata) ศึกษาเทคโนโลยีการเพาะได้แก่ การผลิตเชื้อขยาย การผลิตเชื้อเพาะและวัสดุเพาะเพื่อการเกิดดอก เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว ของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร (K1-BIRDO) และเห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาวพันธุ์การค้า (K9-Commercial) พบว่า เห็ดหลินจือเป็นวัสดุผลิตเชื้อขยายที่ดี ทำให้เส้นใยเจริญได้ดี มีความหนาและใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อน้อย ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเชื้อเพาะ คือสูตรที่ 1 ที่มีส่วนผสมของขี้เลื่อยไม้ยางพารา:รำละเอียด:ปูนขาว:ดีเกลือ:ยิปซัมอัตรา 90:5:1:2:2 โดยน้ำหนัก ทำให้ใช้เวลาบ่มเชื้อเฉลี่ยเพียง 32.63 วัน โดยเห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาวไอโซเลท K8 ให้ปริมาณผลผลิตเฉลี่ยสูง 794.33 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการ และกลุ่มสารสำคัญซึ่งมีประโยชน์ต่อผู้บริโภค ได้แก่ กลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ กลุ่มสารสำคัญที่มีส่วนช่วยกระบวนการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ และสมอง ไม่มีพิษต่อผู้บริโภค

5.การใช้กากเมล็ดกาแฟเพื่อผลิตเชื้อเห็ดฟาง สามารถทำได้ แต่มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าการผสมด้วยวัสดุอื่นเช่น ขี้ฝ้ายหรือเศษต้นถั่วเหลือง จากการสังเกตพบว่าการนำเอากากเมล็ดกาแฟล้วนบรรจุในถุงพลาสติกเพื่อทำหัวเชื้อเหมือนวัสดุอื่น เชื้อเห็ดฟางเจริญได้ไม่ดี แต่ถ้าบรรจุในขวดแก้ว เชื้อเห็ดฟางเจริญได้ดีกว่า การเพาะเห็ดฟางด้วยเชื้อที่ทำจากกากเมล็ดกาแฟล้วนให้ผลผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับวัสดุจากผู้ผลิตเชื้อเห็ดฟางจำหน่าย

6. อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อการเจริญของเห็ดต่งฝน จากการเปรียบเทียบผลผลิตที่มีการ casing เห็ดต่งฝนโดยใช้ดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วนต่างกัน (0 – 25 %) พบว่าเห็ดต่งฝนให้ผลผลิตได้ดีในการ casing โดยใช้ดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ 20 % โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 68.85 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 23.74 และพบว่าการใช้ดินร่วนผสมปุ๋ย

กรมวิชาการเกษตร

อินทรีย์ 25 % ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 65.31 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 22.52 และพบว่าการใช้ดินร่วน casing เพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 32.71 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 11.28 ในระยะเวลาเก็บเกี่ยว 120 วัน

**<u>โครงการวิจัยที่ 4 วิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้</u>**

1. การทดสอบการหั่นย่อยกิ่งไม้ด้วยเครื่องหั่นย่อยซากกิ่งไม้ผล พบว่า เครื่อง หั่นย่อยซากกิ่งไม้ผลสามารถหั่นย่อยกิ่งไม้จากการตัดแต่งต้นลำไย ต้นมะม่วงและต้นกระถินได้ดี ที่ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 30 มิลลิเมตร

2. การทดสอบการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาว ด้วยเครื่องอัดวัสดุเพาะเห็ดจาก เศษเปลือกฝักข้าวโพดแบบก้อนยาว จากกิ่งไม้หั่นย่อย พบว่า มีเศษ วัสดุเพาะเห็ดจะอัดติดแน่นตรงปลายท่อที่บีบเรียวลงทำให้เครื่องไม่สามารถอัดวัสดุเพาะเห็ดออกมาตามท่อได้

3. จากการทดสอบการทำงานเบื้องต้นของเครื่องต้นแบบ ในการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวจากกิ่งไม้หั่นย่อยพบว่า เครื่องต้นแบบสามารถอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนยาวได้ดี

4. จากการทดสอบการทำงานของเครื่องต้นแบบ ร่วมกับโครงการวิจัยและพัฒนาการเกษตรกรรมที่สูงของมูลนิธิชัยพัฒนา อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จ.เชียงราย โดยทดสอบการอัดก้อนวัสดุเพาะเห็ดแบบ ก้อนยาว จากกิ่งไม้หั่นย่อยและขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผสมแล้วตามสูตร พบว่า เครื่องต้นแบบสามารถอัดก้อนเพาะเห็ดได้ดี

5. จากการทดสอบเก็บข้อมูลต้นทุนในการเพาะเห็ดจากกิ่งไม้หั่นย่อยและขี้เลื่อยยางพารา พบว่า ต้นทุนในการเพาะเห็ดแบบก้อนยาวมีราคา 10.64 และ 12.40 บาท/ก้อน ตามลำดับ และต้นทุนในการเพาะเห็ดแบบก้อนสั้นมีราคา 4.04 และ 4.64 บาท/ก้อน ตามลำดับ ซึ่งใน การอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนยาวและก้อนสั้นจากกิ่งไม้หั่นย่อย

**<u>โครงการวิจัยที่ 5 การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมศัตรูพืช</u>**

1. การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ไคติเนสเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก สามารถผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสได้จากทั้งเชื้อเมตาไรเซียมและบิววาเลีย การผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสจากเชื้อราเมตาไรเซียม โดยใช้ไคติน ที่ความเข้มข้น **1** เปอร์เซ็นต์ เข้าเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ **180 rpm** อุณหภูมิ **30** องศาเซลเซียส **3** วัน เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในการทดลอง ผลการทดสอบพบว่าหนอนกระทู้ผักที่ได้รับเอ็นไซม์ไคติเนสจะกินอาหารลดลง น้ำหนักตัวลดลง จากการวิเคราะห์ทางสถิติจะพบว่าน้ำหนักตัวหนอน ขนาดตัวหนอนที่ได้รับไคติเนสจะน้อยกว่าหนอนที่ไม่ได้รับไคติเนส ไคติเนสที่อยู่ในรูปของเหลวเข้าเครื่อง **Freeze dryer** ให้แห้ง แล้วผสมผงเอ็นไซม์กับสารปรุงแต่ง (**additive**) เพื่อให้เอ็นไซม์มีประสิทธิภาพในการคงตัว พบว่า **Aluminium silicate** และ **Kaoline** มีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ผักเมื่อนำไปผสมกับเอ็นไซม์ไคติเนส

**2.**การทดสอบเอ็นไซม์ไคติเนสในภาคสนาม ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเอ็นไซม์ไคติเนสที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปค่า **activity** ของเอ็นไซม์จะลดลงไปทั้งที่เก็บในตู้เย็นและอุณหภูมิห้อง การทดสอบประสิทธิภาพของไคติเนสต่อหนอนกระทู้ผักในแปลงผักคะน้า โดยทดสอบเปรียบเทียบกับ NPV ที่ใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และสารฆ่าแมลง Emamectin benzoate ผลการทดสอบพบว่าสารฆ่าแมลงให้ประสิทธิภาพ

กรมวิชาการเกษตร

ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักดีที่สุดโดยที่ให้ค่าไม่ต่างจากวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปล่อยหนอน ส่วนไคติเนสให้ผลไม่ต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์ NPV ในการควบคุมแมลง

**3.**การคัดเลือกไอโซเลทเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย จากการทดสอบการแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากตัวอย่างดินและเห็ด จำนวน **30** ตัวอย่าง โดยวิธี **soil dilution plate** บนอาหารพีดีเอ สามารถได้ราไตรโคเดอร์มาจำนวนทั้งสิ้น **29** ไอโซเลท (สาเหตุจากเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเพื่อศึกษาการสร้างเอนไซม์ พบว่าไอโซเลท **TC29** ไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไปได้) ส่วนไอโซเลทอื่นๆ ลักษณะเชื้อรามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เส้นใยสีขาวสปอร์มีสีเขียวเข้มเต็มขอบ เส้นใยฟูเจริญเป็นวงกว้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ ทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราทุกไอโซเลทที่สามารถเจริญเติบโตในวุ้นอาหารจำเพาะเพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อเซลลูโลส (CMC) เอนไซม์อะไมเลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแป้ง (star agar) และ เอนไซม์เพคติเนสบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพคติน (Czapek-Dox) พบว่า ราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์ทั้งสามชนิดได้ โดย ไอโซเลท TC14, TC1 และ TC22 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูเลส เพคติเนสและอะไมเลส ได้สูงสุดตามลำดับ โดยได้ค่าเฉลี่ยการสร้างวงใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเอนไซม์ที่ 21.20, 7.73 และ 5.00 ตามลำดับ

4. พบว่า Tc14 มีความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุด และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthorq* sp. ดีที่สุด โดยไอโซเลทเชื้อราไอโซเลท TC14 เมื่อนำไปทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ชนิดผง โดยวิธี freeze dried พบว่า สามารถผลิตเป็นผงเอ็นไซม์ได้ในปริมาณที่มากกว่าเอ็นไซม์อะไมเลส และเอ็นไซม์เพคติเนส ด้วยเช่นกัน

5.การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไฟทอปธอราในใบพริก (*Capsicum annuum* L.) ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสไอโซเลท TC14 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง 3 วัน และ 5 วัน ในเบื้องต้น ในเบื้องต้นเราสังเกตพบรอยโรคปรากฏที่ผิวใบพริกในทุกกรรมวิธี

**<u>โครงการวิจัยที่ 6 การผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช</u>**

1.การพัฒนากระบวนการผลิตกรด **5-**อะมิโนลีวูลินิก (ALA) จากการทดสอบชักนำการทำงานของยีน hem A ด้วย IPTG ที่ความเข้มข้น 1 mM และ 3 mM ทำให้สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ALA synthase และเมื่อเติมสารตั้งต้น 30 mM Glycine + 10 mM Succinic Acid และเลี้ยงเซลล์ต่อจนครบ 24 ชั่วโมง พบว่า สามารถชักนำการผลิตกรด **5-**อะมิโนลีวูลินิก ได้ดีที่สุด

2.การผลิตกรดอะมิโนลีวูลินิค (ALA) ในระบบถังหมัก (BIOFLO 2000 Fermenter) และถังหมักขนาด **50** ลิตร เมื่อกระตุ้นการทำงานของยีนด้วยสาร 1 mM IPTG นาน 6 ชั่วโมง แล้วจึงทำการชักนำการผลิตสาร ALA ด้วยสารตั้งต้นปฏิกิริยา 30mM Glycine และ 10 mM Succinic Acid เลี้ยงเพิ่มปริมาณเซลล์ โดยมีอัตราการกวนด้วยความเร็ว **130** รอบ/นาที และมีการอัดอากาศเป็นระยะ จนครบเวลานาน 24 ชั่วโมง (ตั้งแต่เติมสาร IPTG) แล้วจึงนำสารละลาย ALA ที่ผลิตได้ไปกรองผ่าน filter membrane ขนาด **0.2** ไมโครเมตร เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร ALA พบว่า การผลิตในระบบถังหมัก สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสาร ALA ได้ในปริมาณสูงถึง 615.928 uM

**3**.การศึกษาคุณสมบัติของกรดอะมิโนลีวูลินิค ในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช เมื่อนำไปการทดสอบกลไกการทำลายของชั้น membrane ของพืช ทั้งในสภาวะกล่องควบคุมความชื้น (**moist**

กรมวิชาการเกษตร

**chamber)** และ การทดสอบในกระถาง สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงของ **cell membrane** เกิดรอยไหม้ที่ใบมีรอยแผลสีน้ำตาล เนื้อใบมีสีซีด ใบเหี่ยวเฉาเกิดการสูญเสียน้ำและตายในที่สุด

**4**.การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเมลาโทนิน OsSNAT และยีน OsCOMT จาก cDNA ของข้าว พบว่า สามารถโคลนยีน OsSNAT ที่มีขนาด 1,073 bp ได้โดยใช้เทคนิค PCR โดยยีนมีความคล้ายคลึงกับยีน serotonin N-acetyltransferase (SNAT1) ของ Oryza sativa Japonica (Accession No. XM_015782401) ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนยีน OsCOMT สามารถเพิ่มชิ้นส่วนยีนที่มีขนาดประมาณ 1,100 bp

**5**.ผลการทดสอบการแสดงออกของโปรตีน AANAT และ OsCOMT แบบหยาบ พบว่าเมื่อชักนำการแสดงออกของโปรตีนด้วยสาร Isopropyl-β-D-thiogalactoside (IPTG) มีแถบโปรตีนที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอยู่ที่ขนาดประมาณ 40 kDa ซึ่งคาดว่าเป็นโปรตีน OsCOMT และพบแถบโปรตีนที่มีขนาดต่ำกว่า 25 kDa ซึ่งคาดว่าเป็นโปรตีน AANAT

**6**.การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเลี้ยง *E. coli* เพื่อการผลิตเมลาโทนิน เมื่อให้อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าการแสดงออกของโปรตีน OsCOMT ที่อุณหภูมิ 37 และ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณมากกว่าที่ **30** องศาเซลเซียส แต่ไม่มีความแตกต่างชัดเจนระหว่างที่อุณหภูมิ 37 และ 40 องศาเซลเซียส ส่วนโปรตีน AANAT นั้นพบว่า มีการแสดงออกในปริมาณไล่เลี่ยกันทุกระดับอุณหภูมิ เมื่อศึกษาปัจจัยความเข้มข้นของ Isopropyl-β-D-thiogalactoside (IPTG) ต่อปริมาณการแสดงออกของโปรตีนทั้ง **2** ตัว พบว่าความเข้มข้นของ **IPTG** ที่ 0.1, 1 และ 3 mM สามารถชักนำการแสดงออกของโปรตีน OsCOMT ได้ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น ปัจจัยที่เหมาะสมในการเลี้ยง *E. coli* เพื่อชักนำการผลิตเมลาโทนิน คือ ระดับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ IPTG ที่ 0.1 mM

**7**.การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมลาโทนินบริสุทธิ์ในการเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดแตงร้านภายใต้สภาพดินเค็ม โดยการจำลองสภาพดินเค็มด้วยการใช้สารละลายเกลือ พบว่า ระดับความเค็มของสารละลาย NaCl 50 mM (เกลือประมาณ 0.3%) ยับยั้งการงอกของเมล็ดที่ 24 ชั่วโมงได้มากกว่า 50% พบว่าสารเมลาโทนินบริสุทธิ์ไม่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดแตงภายใต้สภาพเค็มอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อวัดความยาวของลำต้นแตงร้านในสภาพมืด พบว่า สารเมลาโทนินบริสุทธิ์ที่ 100 µM ช่วยเพิ่มความยาวของลำต้นแตงอย่างมีนัยสำคัญ

**<u>โครงการวิจัยที่ 7 การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในกระบวนการย่อยแป้งเชิงพาณิชย์</u>**

โคลนยีนแอลฟาอะไมเลสเข้ากับ pQE80L เพื่อผลิตรีคอมบิแนนท์แอลฟาอะไมเลสในเซลล์แบคทีเรีย ชักนำการหลั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีกิจกรรม (activity) การย่อยแป้งสูงกว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส การผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรีย สามารถใช้ 1 mM Lactose แทน IPTG กระตุ้นให้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ ผลิตรีคอมบิแนนท์แอลฟาอะไมเลสขนาดประมาณ 70 กิโลดาลตัน สกัดบริสุทธิ์ได้เอนไซม์ 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 5 U/ml ที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและ pH 7.5 และที่สภาวะอุณหภูมิ 70 และ 90 องศาเซลเซียส, pH7.5 ยังคงมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในการย่อยแป้งที่ใกล้เคียงกับที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมแป้งต่างๆ เนื่องจากในกระบวนการทำให้น้ำแป้งเหลว (liquefaction) นั้น จะต้องใช้เอนไซม์อะไมเลสช่วยย่อยแป้งในอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง

กรมวิชาการเกษตร

## อภิปรายผล

การพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ด ได้ดำเนินการทดสอบในโรงเรือนของเกษตรกร เช่น เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดขอนขาว ทำให้ทราบปัญหาและความต้องการที่แท้จริงของเกษตรกร ส่วนการศึกษาด้านวัสดุเพาะ เครื่องอัดก้อนเห็ด จะช่วยพัฒนาการเพาะเห็ดจากเกษตรกรรายย่อย ต่อยอดไปสู่ระดับอุตสาหกรรมได้

การนำสารที่ผลิตจากจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ทั้งด้านควบคุมศัตรูพืช สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ส่งเสริมการเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ยังอยู่ในช่วงพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อยอดเพื่อให้พัฒนาในเชิงพาณิชย์ต่อไป

## สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

**<u>โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง</u>**

1. ประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์เพื่อคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่ให้ผลผลิตและสารสำคัญสูงได้ 5 สายพันธุ์ คือ CR1 CR3 CR5 CM1 CM2 ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สร้างลูกผสม โดยวิธีคัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และจับคู่ผสมแบบพบกันหมด คัดเลือกลูกผสมที่ผ่านการประเมิน ได้ 22 คู่ผสม วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญพบว่า ลูกผสมที่ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง 2 สายพันธุ์คือ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR3-4

2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท เพื่อใช้ประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์สายพันธุ์ พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน ITS-UM ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่าสีทองตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน V9 ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในการจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม

3. เปรียบเทียบการใช้ธัญพืช 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าวขาวกข. 43 และลูกเดือย พบว่าลูกเดือยเป็นธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิต และสารคอร์เดเซปินสูงที่สุด

4. การเปรียบเทียบสูตรอาหาร 5 สูตร พบว่า สูตรที่ 5 คืออาหาร MMN (Modified Melin Norkran medium) ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้เนื่องจากต้นทุนการผลิตต่ำ และวิธีการเตรียมไม่ยุ่งยาก อย่างไรก็ตามควรประยุกต์ใช้สูตรอาหารที่ 5 ร่วมกับสูตรอาหารสูตรที่ 1 (น้ำตาลทรายแดง 10 กรัม เปบโตน 10 กรัม ดีเกลือ 0.5 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 4 เม็ด / น้ำ 1 ลิตร) เนื่องจากสูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนสูง

5. พบว่าการให้แสง LED สีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิต และสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในระดับดีกว่าแสงสีอื่น

6. ในการเปรียบเทียบการผลิตถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าบนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตร ขึ้นไปสามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์ สามารถลดต้นทุนเรื่องพลังงานไฟฟ้าได้ 2,533 บาท/รอบการผลิต (60 วัน)

กรมวิชาการเกษตร

7. การขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองให้เกษตรกรและผู้สนใจ โดยการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 30 คน และจัดฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting จำนวน 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมรวม 27 คน

**ข้อเสนอแนะ** ควรมีการวิจัยเพิ่มเติมในประเด็นดังต่อไปนี้

1.ศึกษาผลการวิจัยเชิงทดลองทางคลินิค (clinical trials) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของถั่งเช่าสีทองในการป้องกันรักษาโรคต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าและคุณค่าของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.ควรศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดถั่งเช่าเพื่อไม่ให้มีการกลายพันธุ์

3. ทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ในฟาร์มเกษตรกร

**<u>โครงการวิจัยที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจ</u>**

1.จากการประเมินผลผลิตและคุณลักษณะของเห็ดกระดุม 19 สายพันธุ์ พบว่าเห็ดกระดุมสายพันธุ์เบอร์ 8 เบอร์ 11 เบอร์ 14 และ เบอร์ 18 เป็นสายพันธุ์ที่น่าจะได้นำไปทดสอบผลผลิตโดยเกษตรกรผู้เพาะเห็ดกระดุมเพื่อประเมินความพึงพอใจและใช้ประโยชน์ต่อไป

2.การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางที่เหมาะสมต่อการเพาะในสภาพอุณหภูมิต่ำ โดยทำการเปรียบเทียบสายพันธุ์เห็ดฟางที่ได้จากเห็ดฟาง 16 สายพันธุ์ พบว่า เห็ดฟางสายพันธุ์ VP-11 เป็นสายพันธุ์ที่น่าจะได้นำไปทดสอบผลผลิตโดยเกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟางเพื่อประเมินความพึงพอใจในช่วงอุณหภูมิต่ำและใช้ประโยชน์ต่อไป

3.จากการศึกษาเชื้อพันธุ์เห็ดฟาง 69 สายพันธุ์ ที่เก็บรักษาไว้ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และนำไปเพาะทดสอบในฟาร์มเกษตรกร 2 แห่ง พบว่าเกษตรกรมีความพึงพอใจในทั้งสายพันธุ์ Vvol035 ที่เหมาะสำหรับจำหน่ายให้กับพ่อค้าคนกลางซึ่งให้น้ำหนักผลผลิตสูง และสายพันธุ์ Vvol070 ที่เกษตรกรมีความพึงพอใจในการเก็บเพื่อจำหน่ายให้ผู้บริโภคโดยตรง ดังนั้นเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol035 จึงเป็นสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการนำไปผลิตเป็นแม่เชื้อพันธุ์เห็ดบริสุทธิ์เพื่อให้บริการแก่เกษตรกรหรือผู้ที่สนใจ สามารถผลิตเห็ดฟางให้มีคุณภาพ เพาะสร้างรายได้ เหมาะสมต่อสภาพพื้นที่ และสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปได้ในอนาคต

4.การรวบรวมสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อทั้งหมด จำนวน 17 สายพันธุ์ และนำไปเพาะในฟาร์มเกษตร จำนวน 2 แห่ง และในโรงเรือนเพาะเห็ดของกรมวิชาการเกษตร พบว่าเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์ No.14 และ No.16 ซึ่งมีลักษณะสีดอกตรงตามความต้องการของตลาด และให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ No.3 (เป๋าฮื้อ-3) จะเป็นทางเลือกในการใช้สายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อให้กับเกษตรกรเพิ่มขึ้น ทั้งนี้หากมีการพัฒนาสายพันธุ์ต่อไป เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีขึ้นหรือมีลักษณะดอกที่ดีขึ้น ก็จะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดในอนาคต

5.การรวบรวมสายพันธุ์ขอนขาวจากแหล่งต่างๆทั้งในรูปแบบของเชื้อเห็ด(เส้นใยเห็ด)และดอกเห็ดจากธรรมชาติ จำนวน 35 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกและนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ พบว่าเห็ดขอนขาวลูกผสม L3×SL28-14 เป็นเห็ดที่มีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นสายพันธุ์เพื่อให้บริการแก่เกษตรกรต่อไป แต่อาจจะต้องติดตามและเพาะทดสอบอีกในรุ่นต่อๆไปในภายหลัง เพื่อดูความแปรปรวนทางพันธุกรรมและการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมของเห็ดลูกผสม

**<u>โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ</u>**

1. การเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (ซีลีเนียม) ในเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด ได้ความเข้มข้นของซีลีเนียมชนิด Sodium selenite ($Na_2SeO_3$) ที่เหมาะสมผสมอาหารเลี้ยงเชื้อในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรดทดลองทุกสายพันธุ์อัตราเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Sodium

กรมวิชาการเกษตร

selenate ($Na_2SeO_4$) อัตราเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อเห็ดภูฏาน 2 และ เห็ดตีนแรด 2 ส่วนเชื้อเห็ดภูฏาน 3 และ เห็ดตีนแรด 1 อัตราเท่ากับ 75 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ความเข้มข้นของซีลีเนียมชนิด Sodium selenite ที่เหมาะสมสำหรับผสมวัสดุเพาะขี้เลื่อยเพาะเห็ดภูฏาน 2 เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมวัสดุเพาะ เห็ดภูฏาน 3 เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมวัสดุเพาะ

2. การศึกษาเทคนิคการเพาะเห็ดเผาะ โดยรวบรวมเห็ดเผาะจากป่าเต็งรังในเขตจังหวัดเชียงราย พะเยา เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน และอุตรดิตถ์ นำเห็ดเผาะมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ทดสอบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดเผาะที่เก็บตั้งแต่ปี 2560 – 2563 พบว่าเชื้อเห็ดเผาะแต่ละไอโซเลท มีอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีลักษณะการเจริญทางเส้นใยต่างกัน การติดเชื้อ (infection) ของเชื้อเห็ดเผาะบนรากต้นยางนาจากแปลงที่ได้รับการปลูกเชื้อคิดเป็นร้อยละ 91.3 ของรากที่สุ่มตรวจ และปริมาณเส้นใยที่พบค่อนข้างหนาแน่น เส้นใยที่พบส่วนมากจะเป็นexternal hyphae และพบลักษณะ clamp connection สำหรับรากของต้นยางนาจากแปลงที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อพบ รากมีเส้นใยเชื้อราติดอยู่คิดเป็น 14.7 % ของรากที่นำมาตรวจ และมีปริมาณเส้นใยเพียงเล็กน้อย ติดตามการสร้างดอกเห็ดเผาะในแปลงยางนาที่ได้รับการปลูกเชื้อเมื่อปี 2561 แต่ยังไม่พบการเกิดดอกเห็ดเผาะในแปลงทดลอง

3. การศึกษาเห็ดร่างแหได้ตัวอย่างเห็ดร่างแหแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์รวม 11 ไอโซเลท และมีข้อมูลการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยตาเปล่าและด้วยเทคนิคชีวโมเลกุลโดยศึกษาลำดับเบสบริเวณ ITS 1 และ ITS 4 พบตัวอย่างเป็น เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว 2 ชนิดคือ *Phallus atrovolvatus* จำนวน 8 ไอโซเลท และ *Phallus merulinus* จำนวน 1 ไอโซเลท เห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาว *Phallus echinovolvata* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้ศึกษาเทคโนโลยีการเพาะได้แก่ การผลิตเชื้อขยาย การผลิตเชื้อเพาะ และวัสดุเพาะเพื่อการเกิดดอก เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาวของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร และเห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาวพันธุ์การค้า พบว่า เห็ดหลินจือเป็นวัสดุผลิตเชื้อขยายที่ดี ทำให้เส้นใยเจริญได้ดี มีความหนาและใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อน้อย ผลวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบ กลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงกลุ่มสารสำคัญที่มีส่วนช่วยกระบวนการทำงานของสมองด้านการเรียนรู้และการจดจำ และผลทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง ไม่มีความเป็นพิษ และมีความปลอดภัยในการนำมาบริโภค

5. กากเมล็ดกาแฟสามารถใช้เป็นวัสดุทดแทนในการทำเชื้อเห็ดฟาง โดยผสมกับวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอื่นที่หมักแล้ว (หมักเศษต้นถั่วเหลืองกับขี้ฝ้ายสัดส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก) สัดส่วน 3 : 1, 1 : 1 หรือ 1 : 3 โดยปริมาตร ใช้เป็นวัสดุทำเชื้อเห็ดฟางได้ดีและจะช่วยลดต้นทุนค่าเชื้อเห็ดลงได้ หากในพื้นที่ที่ไม่มีวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอื่นที่จะใช้ผสมกับกากเมล็ดกาแฟ สามารถใช้กากเมล็ดกาแฟล้วนทำเชื้อเห็ดฟางได้ ซึ่งใช้เป็นเชื้อเพาะในการเพาะแบบตะกร้าและเพาะแบบกองเตี้ยให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติกับวัสดุจากผู้ผลิตเชื้อเห็ดฟางจำหน่าย ผู้สนใจที่มีกากเมล็ดกาแฟในพื้นที่สามารถนำผลงานวิจัยไปปรับใช้ได้

6. การ casing ในการเพาะเห็ดต่งฝนระยะเวลาเก็บเกี่ยว 120 วัน การใช้ดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ 20 % ให้ผลผลิตได้ดีเฉลี่ย 68.85 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 23.74 รวมทั้งการใช้ดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ 25 % ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 65.31 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 22.52 และ

กรมวิชาการเกษตร

พบว่าการใช้ดินร่วน casing เพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 32.71 กรัม/ถุง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ (%B.E.) 11.28

**<u>โครงการวิจัยที่ 4 วิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้</u>**

ข้อมูลการใช้งานของเครื่องหั่นย่อยซากกิ่งไม้ผล พบว่า มีความสามารถในการหั่นย่อยเฉลี่ย 230.98 กิโลกรัม/ชั่วโมง และอัตราสิ้นเปลืองน้ำมันเชื้อเพลิงเฉลี่ย 1.69 ลิตร/ชั่วโมง เครื่องต้นแบบประกอบด้วย 7 ส่วนหลักคือ 1)โครงสร้างส่วนฐาน 2)ท่อเกลียวอัด 3)เพลาเกลียวอัด 4)ชุดกระบอกอัด 5)ช่องป้อน 6)ชุดต้นกำลัง และ 7)ระบบควบคุม การทำงาน ทดสอบการใช้งานของเครื่องต้นแบบและการเพาะเห็ดร่วมกับโครงการวิจัยและ พัฒนาการเกษตรกรรมที่สูงของมูลนิธิชัยพัฒนา อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ โดยอัดก้อนเพาะเห็ดจากกิ่งไม้หั่น ย่อยกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผสมแล้ว พบว่าเครื่องต้นแบบสามารถอัดก้อนเพาะเห็ดได้ดี มีความสามารถในการอัดก้อนสูงกว่า 14 เท่าเมื่อเทียบกับการใช้แรงงานคน แต่ในการเพาะเห็ดแบบก้อนยาวควรมีการกำจัดเชื้อราที่ปนเปื้อนจากวัสดุเพาะเห็ดและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเห็ดให้ดีก่อนนำมาใช้เพาะเห็ด เพื่อลดความเสียหายจากเชื้อราปนเปื้อน

**<u>โครงการวิจัยที่ 5 การใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมศัตรูพืช</u>**

1.ในการทดสอบการใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ไคติเนสเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก การผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสโดยใช้เชื้อราเมตาไรเซียม ใส่โดยใช้ไคติน ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เข้าเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 rpm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 3 วัน เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก ผลการทดสอบพบว่าหนอนกระทู้ผักที่ได้รับเอ็นไซม์ไคติเนสจะกินอาหารลดลง น้ำหนักตัวลดลง

2. การทดสอบไคติเนสในภาคสนาม โดยทดสอบในแปลงคะน้าพบว่าไคติเนสมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก การทดสอบเปรียบเทียบกับ NPV ที่ใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักและสารฆ่าแมลง Emamectin benzoate ผลการทดสอบพบว่าสารฆ่าแมลงให้ประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักดีที่สุดโดยที่ให้ค่าไม่ต่างจากวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปล่อยหนอน ส่วนไคติเนสให้ผลไม่ต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์ NPV ในการควบคุมแมลง

3.การคัดเลือกไอโซเลทเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย จากการทดสอบการแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากตัวอย่างดินและเห็ด สามารถได้ราไตรโคเดอร์มาจำนวนทั้งสิ้น 29 ไอโซเลท พบว่าราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์ทั้งสามชนิด คือ เซลลูโลส อะไมเลส และเพคติเนสได้

4.การศึกษาการใช้เอ็นไซม์เซลลูเลสเชื้อรา *Trichoderma* sp.ไอโซเลท Tc14 แบ่งตามระดับความเข้มข้นของสารที่ 1 3 และ 5 กรัมต่อลิตร มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytopthora* sp. ซึ่งคัดแยกได้จากผลมะเขือเทศ และเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose (PDA) เพื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า เอ็นไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *T*richoderma sp. ไอโซเลท TC14 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค *Phytopthora* sp. ของพริก ได้ดีในสภาพโรงเรือนทดลอง ที่หลังการทดลอง 10 วัน พบเปอร์เซ็นต์โรคลำต้นไหม้เท่ากับ 10.07 และ 15.72 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร

**<u>โครงการวิจัยที่ 6การผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช</u>**

1.การสังเคราะห์กรด 5-อะมิโนลีวูลินิกจากรีคอมบิแนนท์ *E. coli* ที่สร้างจากรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอซึ่งมียีน *hem* A ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการผลิตเอนไซม์ 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS) แล้วเชื่อมต่อเข้าสู่เวคเตอร์พาหะ พบว่า สามารถผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก ได้ อย่างไรก็ตาม สภาวะปัจจัยของอุณหภูมิก็มีผลต่อการสังเคราะห์กรด 5-อะมิโนลีวูลินิก โดยรีคอมบิแนนท์ *E. coli* สามารถผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกได้ดีที่สุด ในช่วงอุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส และสภาวะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสม คือ pH 6-7 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณการสังเคราะห์กรดอะมิโนลีวูลินิค สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตได้ในปริมาณสูง สามารถขยายการผลิตในระบบถังหมัก และพัฒนาผลิตภัณฑ์รูปแบบผงแห้ง โดยอาศัยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying) และ Spray drying เพื่อให้สารที่ผลิตได้มีความเข้มข้นมากยิ่งขึ้นและสามารถเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ -20 และ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 10 เดือน โดยมีอัตราการลดลงของปริมาณสาร ALA ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ อันจะเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดการผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2.การใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนลีวูลินิคด้านการเกษตร มีแนวโน้มสามารถยับยั้งการเจริญของวัชพืชบางชนิด เช่น บาหยา ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ และหญ้ายาง มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ cell membrane เกิดรอยไหม้ที่ใบมีรอยแผลสีน้ำตาล เนื้อใบมีสีซีด ใบเหี่ยวเฉาเกิดการสูญเสียน้ำและตายในที่สุด สำหรับหนอนกระทู้ศัตรูพืช มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ภายใน 7 วัน โดยหนอนจะมีลักษณะเฉื่อย ชา กินอาหารได้น้อยลง และอ่อนปวกเปียกเนื่องจากมีการสูญเสียน้ำในร่างกาย

3.การผลิตเมลาโทนิน จากผลการดำเนินงานวิจัย ชิ้นส่วนยีน *AANAT* และยีน *OsCOMT* ที่อยู่ในเวกเตอร์ pETDuet-1 เมื่อนำมาทดสอบการแสดงออกใน *E. coli* ได้โปรตีนที่สามารถสังเคราะห์เมลาโทนินจากสารเริ่มต้นเซโรโทนิน แต่เมื่อนำ *E. coli* ที่ได้รับการถ่ายฝากยีนซึ่งอยู่ในเวกเตอร์ pETDuet-1 มาศึกษาปัจจัยภายนอกเพื่อใช้ในการผลิตสารเมลาโทนิน พบว่าปัจจัยเหล่านี้ไม่มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน AANAT และปริมาณโปรตีน AANAT อยู่ในระดับต่ำกว่าที่คาดหมาย นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่าสารเมลาโทนินมีความอ่อนไหวต่อแสงและไม่คงรูปในสภาพสารละลายน้ำ ดังนั้น จำเป็นต้องศึกษาวิธีการเก็บรักษา และรูปแบบผลิตภัณฑ์สารเมลาโทนินเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรต่อไปในอนาคต

**<u>โครงการวิจัยที่ 7 การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในกระบวนการย่อยแป้งเชิงพาณิชย์</u>**

เอนไซม์กลูโคอะไมเลสไม่เหมาะสำหรับการผลิตในระบบแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นยีนที่ได้จากเชื้อรา *Aspergillus niger* ซึ่งเป็นเซลล์แบบยูคารีโอท (Eukaryotic cell) จึงทำการโคลนยีนแอลฟาอะไมเลสเพื่อนำเข้าเวคเตอร์ของแบคทีเรีย (expression vector) และสกัดรีคอมบิแนนท์เอนไซม์อะไมเลสค่อนข้างบริสุทธิ์ มีปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเซลล์แบคทีเรีย 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 5 U/ml ที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและ pH 7.5 การผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรียใช้สาร IPTG ในการกระตุ้นให้เกิดการผลิตเอนไซม์ขึ้น หากต้องการผลิตในปริมาณมาก สามารถใช้ Lactose ซึ่งมีราคาถูกกว่า กระตุ้นให้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้เช่นกัน ซึ่งจะทำให้ลดต้นทุนของการผลิตเอนไซม์ได้

กรมวิชาการเกษตร

**แผนงานวิจัยย่อยที่ 3**

# การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก
# Research and Development of Products from Mushrooms and Microalgae

นราทร สุขวิเสส, ปาริชาติ อยู่แพทย์, สุรีย์รัตน์ รักเหลือ, จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม, อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์, วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร, ศิริพร เต็งรัง, กนกศักดิ์ ลอยเลิศ, โกเมศ สัตยาวุธ, สุปรียา ศุขเกษม และ วุฒิพล จันทร์สระคู

**คำสำคัญ**

ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง เห็ดฟาง ลดโซเดียม การสกัดโปรตีน โปรตีนคอนเซนเทรท TPP สารสกัดจากเห็ดฟาง โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง โลชั่นเห็ด สาหร่ายขนาดเล็ก การเพาะเลี้ยง แคโรทีนอยด์ ไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ ไบโอพอลิเมอร์ เครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะยิ่งยวด การเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงแบบเปิด

แอสตาแซนธิน สีผงคลอโรฟิลล์ สีผงแคโรทีนอยด์ สีผงไฟโคบิลิน สารให้ความคงตัว ใยอาหาร ซุป ข้าวโพด

พาสต้า ไขมัน ไบโอดีเซล เมทิลเอสเตอร์ พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ สตาร์ช

**Keywords**

straw mushroom soy sauce, straw mushroom, salt reduction, straw mushroom, protein extraction, protein concentrates, TPP, Straw mushroom extracted, Hydrolyzed straw mushroom protein, Mushroom lotion Microalgae, Carotenoid, Lipid, Polysaccharides, Biopolymer,

$CO_2$ supercritical fluid extraction Microalgae, Cultivation, Open raceway pond, Astaxanthin, , Chlorophyll powder, Carotenoid powder, Phycobilin powder, Stabilizer, Fiber, Corn soup, Pasta, Lipid, Biodiesel, Methyl ester, Poly-β-hydroxybutyrate, Polyvinyl alcohol, Starch

กรมวิชาการเกษตร

**บทคัดย่อ**

การวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟางและสาหร่ายขนาดเล็ก ในการนำมาพัฒนาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง โดยเห็ดฟางที่ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด แต่ยังคงมีคุณสมบัติด้านโภชนาการและเภสัชวิทยา เช่น โปรตีน ใยอาหารสูง อีกทั้งมีวิตามินและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด สามารถนำมาพัฒนาต่อยอดได้ ผลการทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง จากอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง: ถั่วเหลือง: แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:30:30 นำไปหมักในน้ำเกลือเป็นเวลา 3 เดือน ได้ซอสที่มีปริมาณโซเดียมร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก นำไปศึกษาวิธีการลดโซเดียม พบว่า วิธีการลดโซเดียมที่เหมาะสมคือการใช้กลิ่นซอสถั่วเหลืองเพิ่มการรับรู้รสเค็ม โดยปริมาณกลิ่นซอสซอสถั่วเหลืองร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำที่ได้

มีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือ วิธีละลายด้วยกรดและวิธี Three-phase partitioning (TPP) พบว่า วิธี TPP เป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง โดยโปรตีนสกัดที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดโดยสามารถทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองได้ร้อยละ 50 ซึ่งผู้บริโภคให้การยอมรับร้อยละ 79.54 การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง พบว่า การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีร้อยละ 30.07 และการย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด คือ มีค่า IC50 = 1.72 ± 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำโปรตีนไฮโดรไลเซททั้ง 2 กรรมวิธีมาใช้ร่วมกันผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทที่เหมาะสมคือร้อยละ 0.5 อายุการเก็บรักษา 3 ปี โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพ ทดสอบการยอมรับกับผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคร้อยละ 80 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ การศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ เพื่อผลิตสารสำคัญที่แตกต่างกันดังนี้ สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้แก่ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) และสายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้แก่ *Coelastrum* sp. (A052) สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้แก่ *Botryococcus* sp. (CM01-4) และ *Desmodesmus* sp. (KK20) และสายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้แก่ *Nostoc* sp. (Sm6-3) ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มีดังนี้ การสกัดสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ได้สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ ที่มีสารแอสตาแซนทินสูง สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และสารสกัดที่มีสารไลโคปีนเป็นองค์ประกอบสามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า การผลิตสีผงเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 3 สารสีได้แก่ สารสีคลอโรฟิลล์ (เขียว) และสารสีไฟโคบิลิน (ฟ้า) จากสาหร่าย A052 และสารสีแคโรทีนอยด์ (ส้ม) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้วิธีการสกัดสารสีจากเซลล์สาหร่ายและการทำแห้งแบบพ่นฝอย จนได้สีผงแต่ละชนิดที่มีปริมาณสารคลอโรฟิลล์ 38.75 มก./100 ก. สารแคโรทีนอยด์ 19.39 มก./100 ก. และสารไฟโคบิลิน 36.96 มก./100 ก. ตามลำดับ การผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่าย A052 ได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเพื่อเพิ่มความข้นหนืด และใยอาหารที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 3 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า ทำให้มีปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้น 0.84 ปอร์เซ็นต์ การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ที่ได้วิธีการสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอะซีโตน หลังทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นได้ไบโอดีเซลที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยาโดยตรงจากชีวมวลสาหร่ายสด การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย Sm6-3 พบว่าการใช้ชีวมวลสาหร่ายหลังการพรีทรีตเมนต์ สามารถใช้เป็นส่วนผสมหลักร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 30-40 และสตาร์ชร้อยละ 20 ในการขึ้นรูปเป็นแผ่นพลาสติกชีวภาพที่สามารถพับและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้


## Abstract

Research and development on the utilization of active substances from straw mushrooms and microalgae to develop new food products and cosmetics. Straw mushrooms are not in demand in the market but still have nutritional and pharmacological

properties such as protein, high fiber, and many vitamins and bioactive compounds. The results shown that to develop low-sodium straw mushroom soy sauce, the appropriated ratio between dried straw mushrooms: soybeans: rice flours are 40:30:30. After finishing, brine fermentation process for 3 months, it contained 18% of NaCl. Flavor enhancer, 1.5% soy sauce flavor, was more effective way for reducing salt content in mushroom soy sauce. The reduced-salt mushroom soy sauce using flavor enhancer contained 11.85% of NaCl. In addition, the production of protein concentrates from straw mushroom using acid-soluble extraction and Three-phase partitioning (TPP) method, it was found that TPP was more effective method. The protein concentrates contained 55.54% of protein. It could replace soy protein in protein drink for 50% and 79.54% of consumers accepted the product. The straw mushroom extract and application in cosmetics, the method for hydrolyzed protein when digested the straw mushrooms at 4 hours, it obtained the antioxidant activity at 30.07% which was higher than vitamin C. In addition, at 3 hours digestion of closed cap straw mushroom, the hydrolyzed straw mushroom protein had the highest inhibition of tyrosinase, $IC_{50}$ = 1.72 ± 0.31 mg/ml. Then applied in the skin lotion products at 0.5% of hydrolyzed straw mushroom protein. Moreover, after the accelerated storage test, it was found that, the shelf-life was 3 years with 80% of consumer acceptance. Six species of microalgae were studied to produce active substances. The bioactive substances form *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) and *Coelastrum* sp. (SK-KhY6), polysaccharides from *Coelastrum* sp. (A052), lipid from *Botryococcus* sp. (CM01-4) and *Desmodesmus* sp. (KK20) and biopolymer from *Nostoc* sp. (Sm6-3). The extraction of SK-QSGMF6 and SK-KhY6 by SFE technique, then apply of carotenoid extract with high astaxanthin was added in skin care serum products. Carotenoid extract with lycopene was used as an ingredient in mask sheet. Production of powder paints for use in the food industry total of 3 pigments were studied: chlorophyll (green) and phycobilin (blue) from A052, carotenoid (orange) from SK-QSGMF6. The study of methods for extracting pigments from microalgae and spray drying were obtained. Until the color of each type of powder containing chlorophyll 38.75 mg/100g, carotenoid 19.39 mg/100g and phycobilin 36.96 mg/100g, respectively. Results of the study on extraction of polysaccharides and dietary fibers from A052 were obtained that could be used as ingredients in corn soup products to increase the viscosity by 1.5%. Total fiber that could be used as an ingredient in pasta products was 3 %percent, resulting in a 0.84% increase in fiber content. Results of a study on biodiesel production from lipid of CM01-4 and KK20 obtained by acetone solvent extraction. The reaction of lipid to produce biodiesel with 80% purity, which is higher than the reaction from wet microalgae biomass. The production of bioplastics from Sm6-3 showed that wet biomass was pretreated using the main ingredient in mixing with 30-40% polyvinyl alcohol and 20% starch to form a bio-plastic sheet. It can be folded, molded and heat sealed to make a planting bag.

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

## บทนำ

ยุทธศาสตร์ประเทศไทยในการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน (Growth & Competitiveness) เพื่อให้หลุดพ้นจากการเป็นประเทศรายได้ปานกลาง มีกลยุทธ์ที่สำคัญคือการสร้างมูลค่าของสินค้าเกษตร เพื่อเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบทางการเกษตร เพราะเป็นแหล่งสร้างรายได้หลัก และการจ้างงานขนาดใหญ่ของประเทศไทย ด้วยการนำวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรมมาใช้ในการสร้างมูลค่าเพิ่มของวัตถุดิบทางการเกษตรสู่เชิงพาณิชย์ โดยเกษตรกรที่มีศักยภาพและสภาพพื้นที่ด้านการเกษตรของประเทศไทยในแต่ละภูมิภาคก็มีผลต่อการส่งเสริมการเกษตรที่แตกต่างกัน ซึ่งในแผนงานวิจัยย่อยนี้จึงได้ทำการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟางและสาหร่ายขนาดเล็ก ด้านการเพาะเลี้ยงและการสกัดสารสำคัญเพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์สำหรับกลุ่มเกษตรกร รวมทั้งผู้ประกอบการที่สนใจนำไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ลดการนำเข้าวัตถุดิบที่มีราคาสูงจากต่างประเทศได้

เห็ดฟางมีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ เพราะมีปริมาณการผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งของประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 80 ของผลผลิตเห็ดทั้งหมด คุณลักษณะของเห็ดฟางนั้นสามารถเจริญเติบโตได้ต่อเนื่องหลังจากการเก็บเกี่ยว ทำให้ดอกเห็ดมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเน่าเสียได้ง่ายกว่าผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ซึ่งอายุของเห็ดฟางระยะดอกตูมเมื่อเก็บรักษาที่สภาพบรรยากาศทั่วไป (อุณหภูมิประมาณ 34-35 °C) จะสั้นเพียง 1-2 วัน ก็จะเริ่มบาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องแปรรูปเห็ดฟางสดหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์เพื่อสร้างมูลค่าให้แก่เห็ดฟาง เนื่องจากเห็ดฟางนั้นคุณสมบัติรสชาติที่เด่นชัด คือ รสอูมามิซึ่งเป็นรสชาติของกลูตาเมตอิสระ หนึ่งในกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน โดยเห็ดฟางของไทยนั้นมีปริมาณกรดกลูตามิกสูงถึง 429 มิลลิกรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง และที่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่สารสำคัญที่ให้รสอูมามิในเห็ดฟางจะเพิ่มขึ้นสูงขึ้นเกือบ 3 เท่าของระยะเริ่มต้น (Yokotsuka, 2006) ดังนั้นเห็ดฟางจึงเหมาะสมในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตเครื่องปรุงรสอาหาร เช่น ซอสปรุงรสที่เน้นรสชาติของอูมามิ นอกจากนี้ควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสให้มีปริมาณโซเดียมต่ำ ทั้งวิธีทางกายภาพและวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัสมาใช้ในการลดปริมาณโซเดียมในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำที่ไม่กระทบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านรสเค็มของผลิตภัณฑ์ นอกจากรสชาติที่ดีของเห็ดฟางแล้ว เห็ดฟางยังเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน ทรีโอนีน ไลซีน เวลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน ฟีนิวอะลานีน ทริปโรเฟน และอาร์จีนีน (สุนันท์ พงษ์สามารถ, 2529) จึงเป็นแนวทางในศึกษาวิธีการผลิตโปรตีนสกัดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ เพราะโดยเห็ดฟางมีสารองค์ประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสซิเนสไฮยาลูโรนิเดส คอลลาจิเนส และอิลาสเทส นอกจากนี้ยังสามารถต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลินทรีย์ คุณสมบัติเหล่านี้จะช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ผิวหนังรวมไปถึงความสามารถป้องกันรังสียูวีได้เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ที่มีลักษณะเซลล์เดียวหรือกลุ่มโคโลนี สามารถสร้างอาหารได้เองโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไปแต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วกว่า และสามารถเจริญได้ในทุกพื้นที่ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม โครงสร้างภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก มีอาหารสะสมเป็นสารประกอบในรูปแบบต่างๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตซึ่งจะอยู่ในรูปของพอลิแซ็กคาร์ไรด์หรือแป้ง ไขมันหรือน้ำมันในรูปของไตรกลีเซอไรด์ รวมทั้งมีสารสีหรือรงควัตถุ (Pigment) เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอโรฟิลด์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลินเป็นต้น มีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ และใยอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารพฤกษเคมีใน

กลุ่มของโพลีฟีนอลโทโคฟีรอล สารแคโรทีนอยด์ ยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านการป้องกันการเกิดโรคและการช่วยดูแลผิวพรรณอีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูงๆ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสำคัญต่างๆ มาใช้ประโยชน์ อีกทั้งการเพิ่มศักยภาพด้านผลผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กให้สูงมากขึ้นยังสามารถนำไปใช้เป็นวัตถดิบในอุตสาหกรรมพลังงานทดแทนและผลิตพลาสติกชีวภาพได้ เพราะสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมไขมันไว้ค่อนข้างสูง ยกตัวอย่างเช่น สาหร่าย *B. braunii* (Chisti, 2007) และยังมีสาหร่ายขนาดเล็กอีกชนิดที่รู้จักกันในชื่อ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรียนั้น สามารถสะสมสารบางชนิดในกลุ่มพอลิเมอร์ชีวภาพไว้ภายในเซลล์ชั้นใน ที่สามารถสกัดนำมาใช้ประโยชน์ได้ ยกตัวอย่างเช่น poly-3-hydroxybutyrate (PHB) (ศิริวิมลและวสุ, 2555) โดยคุณสมบัติที่สำคัญของ PHB คือมีความสามารถทนความร้อนได้สูงไม่ละลายน้ำและสามารถย่อยสลายได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาการผลิตชีวมวลเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ พลังงานทดแทน และพลาสติกชีวภาพ เพื่อผลักดันให้มีการประโยชน์สารสำคัญที่ได้จากสาหร่ายอีกทางหนึ่ง

ดังนั้นในแผนงานวิจัยจึงได้แบ่งเป็นโครงการวิจัยย่อยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางและการวิจัยและพัฒนาการผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อสกัดสารสำคัญที่มีประโยชน์เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันดังนี้

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางในเชิงพาณิชย์ โดยผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร พร้อมทั้งศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สร้างความหลากหลายในการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟาง

2. การศึกษาวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยการพัฒนาต้นแบบเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับขยายขนาดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสี แคโรทีนอยด์ กรดไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ และพอลิเมอร์ชีวภาพ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นเทคโนโลยีที่ง่ายและเหมาะสม ตลอดจนต้องมีการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายให้มีศักยภาพในการเจริญเติบโตที่ดี และมีการสะสมสารชนิดต่างๆ ที่ต้องการในระดับที่สูงขึ้น

**ขอบเขตการศึกษา**

1. พัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ การสกัดโปรตีนจากเห็ดฟาง และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน และเครื่องสำอาง โดยใช้เห็ดในระยะเจริญเติบโตเต็มที่เป็นวัตถุดิบ ศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ทดสอบความชอบของผู้บริโภคเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม และสูตรทางการค้า ศึกษาการสกัดสารสกัดเห็ดฟาง โดยศึกษาเปรียบเทียบเห็ดฟางและกากเห็ดฟางที่สกัดโปรตีนแล้ว ในระยะดอกตูมและระยะดอกบาน สภาวะของเวลา และตัวทำละลาย ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดเห็ดฟางที่ได้ และนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารสกัดเห็ดฟาง

2. จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจนได้เซลล์บริสุทธิ์ ศึกษาสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ โดยศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด สามารถนำผลผลิตไปศึกษาวิธีการสกัดสารและประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้แก่ ศึกษาวิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์และสารพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอาง ศึกษาการสกัดไขมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย

กรมวิทยาศาสตร์

## ระเบียบวิธีการวิจัย

### 1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์

### 1.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

1.1.1 ศึกษาสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสม

ศึกษาการอบแห้งเห็ดฟางจาก 2 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มเกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟาง และจากตลาดสด โดยศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาในการอบแห้งเห็ดฟาง ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C และเวลาในการอบแห้ง 4 ระดับ ได้แก่ 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง ได้กรรมวิธีทั้งหมด 24 กรรมวิธี นำแต่ละกรรมวิธีที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ และค่าคุณภาพทางเคมี

คัดเลือกเห็ดฟางอบแห้งที่มีปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิสูงที่สุด และมีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ปริมาณน้ำอิสระ ไม่เกิน 0.6 เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เห็ดฟางอบแห้งที่ได้สามารถเก็บรักษาได้นาน โดยเชื้อราและยีสต์ที่ทนแห้งไม่สามารถเจริญได้ (วลัยรัตน์, 2549) นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสในข้อต่อไป

1.1.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง ถั่วเหลือง และแป้งข้าวเจ้าในการผลิตซอสปรุงรส

1) ศึกษาส่วนประกอบหลัก 3 ชนิดในสูตรการผลิตซอสปรุงรส ได้แก่ เห็ดฟางอบแห้งในระดับร้อยละ 30-50 ถั่วเหลืองร้อยละ 30-50 และแป้งข้าวเจ้าในระดับร้อยละ 20-30 มีสูตรควบคุมคือ เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 0 :75:25 โดยวางแผนการทดลองแบบผสม (Mixture design) ได้สูตรการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางรวม 8 กรรมวิธี

2) นำสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองมาผลิตซอสปรุงรสโดยกรรมวิธีการผลิต ด้วยเชื้อราชนิด *A. oryzae* โดยสังเกตจากสปอร์ที่มีสีเขียวแกมเหลืองคลุมทั่ววัตถุดิบ เรียกว่า โคจิ แล้วนำไปหมักต่อในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 3 เดือน นำซอสปรุงรสดิบไปทำการพาสเจอร์ไรส์จนได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ศึกษาค่าคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling test 9 points และความพอดีด้วยวิธี Just about right โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกไม่สมบูรณ์ทำการทดลองทั้งหมด 4 รอบ คัดเลือกสูตรที่ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมและการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด เพื่อใช้ในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง และนำมาเป็นสูตรควบคุม สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำต่อไป

1.1.3 ศึกษากรรมวิธีการลดโซเดียมในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส 2 วิธี ดังนี้

1) วิธีการตกผลึก

2) วิธีการใช้กลิ่นช่วยเสริมรสเค็ม โดยศึกษาระดับการเติมกลิ่นซอสถั่วเหลืองที่เหมาะสม 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 โดยใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 9 คน ทำการประเมินความเข้มของรสเค็มและรสอูมามิของตัวอย่างซอสปรุงรสโดยใช้หลักการของการทดสอบเชิงพรรณนา โดยใช้สเกลเส้นตรงความยาว 15 เซนติเมตร ที่มีคะแนน 0 – 15 (ไม่มี-มากที่สุด) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายตัวแปร จากนั้นนำซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำจากทั้ง 2 กรรมวิธี วัดค่าคุณภาพทางกายภาพและทางเคมี ทำ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาประเมินความแตกต่างโดยวิเคราะห์ t-test และศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการประเมินการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อสิ่งทดลองทั้ง 2 สูตรเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมและสูตรทางการค้า นำข้อมูลมาประเมินความแตกต่างโดย

กรมวิทยาศาสตร์

วิเคราะห์ความแปรปรวน และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

1.1.4 การคำนวณต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

คำนวณต้นทุนผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำจากราคาของวัตถุดิบตามวิธีของวิทยาลัยการจัดการ (2548)

**1.2 การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีน**

1.2.1 การเตรียมเห็ดฟางอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบลมร้อน

คัดเลือกเห็ดฟางระยะดอกบานและอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ศึกษาปริมาณร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและเถ้า ทำ 3 ซ้ำ

1.2.2 ศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากเห็ดฟางเพื่อให้ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง

เปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนจากเห็ดฟาง 2 วิธี ดังนี้

1) วิธีละลายด้วยกรด ดัดแปลงจากกันยารัตน์ (2545) นำเห็ดฟางอบแห้งมาปั่นละเอียด เติมตัวทำละลาย 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง ล้างด้วยน้ำเย็นจนกระทั่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง สกัดต่อด้วยกรดอะซิติก 0.54 โมลาร์ อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองของเหลว และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm อุณหภูมิ 4°C นำสารละลายใสไปตกตะกอนโปรตีนโดยโซเดียมคลอไรด์ จนกระทั่งได้ความเข้มข้นสุดท้าย 3 โมลาร์ ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เก็บตะกอนที่ได้ นำไปละลายด้วยกรดอะซิตริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 เท่าของปริมาณตะกอนและทำการ dialysis ในกรดอะซิตริก 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 40 เท่าของตะกอน เป็นเวลา 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นทำการ dialysis ในน้ำกลั่นจนกระทั่งค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง นำตะกอนที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

2) วิธี Three-phase partitioning (TPP) ดัดแปลงจาก Suphat and Saroat (2015) นำตัวอย่างเห็ดอบแห้งแช่น้ำในอัตราส่วน 1:9 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คั้นของเหลวผ่านผ้าขาวบาง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 rpm นำสารละลายตัวอย่างผสมกับเทอร์ท-บิวทานอล ในอัตราส่วน 1:2 เติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ละลายส่วนผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นำตัวอย่างไปเขย่าแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นำตะกอนโปรตีนจากชั้นกลางไปทำ dialysis เพื่อกำจัดเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตออก ก่อนนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่ได้จากทั้ง 2 วิธีมาศึกษาคุณภาพของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง ดังนี้ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณความชื้น การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ทำ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาประเมินความแตกต่างด้วยวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ t-test เพื่อคัดเลือกวิธีการสกัดโปรตีนที่ให้ร้อยละผลผลิต ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณกรดอะมิโนสูง เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ได้แก่ ความสามารถในการละลายน้ำการเกิดฟอง (ดัดแปลงจาก Shahidi *et al.,* 1995) และการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ดัดแปลงจาก Pearce and Kinsella, 1978)

1.2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์อาหาร

ประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง ดังนี้

1) การคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหาร เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

กรมวิทยาศาสตร์

ผลิตเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหารจากสูตรพื้นฐานที่แตกต่างกัน 2 สูตร (ตารางที่ 1) จากนั้นทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ แบบ 9-Points Hedonic scale คัดเลือกสูตรพื้นฐานที่มีคะแนนความชอบมากที่สุด สูตรพื้นฐานที่คัดเลือกได้จะนำมาใช้ในการผลิตเครื่องดื่มโปรตีนสกัดต้นแบบ

**ตารางที่ 1** สูตรพื้นฐานการผลิตเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัด

| ส่วนผสม | สูตรที่ 1 (ร้อยละ) | สูตรที่ 2 (ร้อยละ) |
|---|---|---|
| โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง | 12.10 | 14.00 |
| ธัญญาหารรวม | 34.72 | 56.77 |
| น้ำตาลทราย | 9.40 | 5.30 |
| ครีมเทียม (transfat free) | 12.48 | 7.23 |
| นมผงขาดมันเนย | 10.00 | - |
| มอลโตเด็กซ์ตริน | 20.00 | 16.70 |
| กลิ่นวนิลา | 1.30 | - |

2) ศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีน

สูตรการผลิตเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหารที่คัดเลือกได้ตามข้อ 1) นำมาทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในสูตรการผลิตด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง 4 ระดับ ได้แก่ ทดแทนที่ระดับร้อยละ 100, 75, 50 และ 25 นำไปทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ แบบ 9-Points Hedonic scale และความพอดี Just about right scale

3) ศึกษาค่าคุณภาพของเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางได้แก่ ค่าสี คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

**1.3 การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง**

1.3.1 การเตรียมเห็ดฟาง

เตรียมเห็ดฟางทั้ง 2 ระยะ ได้แก่ ระยะดอกตูม และระยะดอกบาน อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60-70°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำเห็ดฟางแห้งมาบดแล้วไปวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตที่ได้ ปริมาณความชื้น ค่าปริมาณน้ำอิสระ ค่าสี องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด

1.3.2 การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากตัวอย่างเห็ดฟาง 2 ชนิด คือ ที่ระยะดอกตูม และระยะดอกบาน ที่ระยะเวลาการสกัดด้วยเอนไซม์ 2 3 4 5 ชั่วโมง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ค่าคุณภาพ และปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด คัดเลือกกรรมวิธีการย่อยที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด ไปประยุกต์ใช้ในโลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟาง

1.3.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ โลชั่นบำรุงผิว

1) นำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่ผ่านการคัดเลือกจากกรรมวิธีที่ดีที่สุดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว และทดสอบความคงตัวแบบ ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์ (มอก. เอส 15-2561) ซึ่งจะได้ความคงตัวตลอดอายุเครื่องสำอาง โดยปกติปริมาณ 3 ปี ทำการบันทึกผล สี การแยกชั้น ค่าความเป็นกรดด่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร

2) ทดสอบเพื่อคัดเลือกความชอบด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 25 คน ด้วยวิธี 7 point hedonic scale เพื่อคัดเลือกกรรมวิธีที่ชื่นชอบที่สุด

3) วิเคราะห์สารปนเปื้อนและค่าจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตาม มอก. เอส 15-2561

1.3.4 คำนวณต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง

**2. การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก**

**กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง**

**1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ**

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ

เพาะขยายหัวเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์จากหลอดอาหารแข็งทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6, A052, CM01-4, KK20, BR52-1 และ Sm6-3 จากนั้นทดสอบการสะสมสารสำคัญ ดังนี้

1) การสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในเซลล์สาหร่ายจากการวิเคราะห์หาค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยวิธี DPPH assay (Kim and Lee, 2002)

2) การสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย ทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายเพื่อดูลักษณะวงใส (capsule) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และยืนยันผลด้วยวิธีการย้อมสีไนโกรซินกับเซลล์สาหร่าย

3) การสะสมไขมันที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายทดลองสกัดน้ำมันด้วยวิธี In-situ acidic transesterification จากเซลล์สาหร่ายแบบเปียก (wet microalgae biomass) (Liu *et al.*, 2008)

4) การสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่าย ด้วยสีซูดาน แบล็ค บี (Burdon, 1946) ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยหาเม็ดสีน้ำเงินเข้มหรือจุดดำภายในเซลล์

5) ระบุชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้จากข้อ 1-4

1.1.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

นำหัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกไว้ มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ Modified Chu-13 BG-11 (BG-11 NFree, สำหรับสาหร่าย SM6-3) BBM และ C-Medium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตทุก 2 วัน (ยุวดีและฉมาภรณ์, 2546) จนเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง

1.1.3 การศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ มาศึกษาอิทธิพลในการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์ โดยการกระตุ้นด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายจากการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี เป็นเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างทุก 5 วัน เพื่อหาปริมาณสารสำคัญชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์

**1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด**

1.2.1 การออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด (ดัดแปลงจาก Karthikeyan et al., 2016)

1.2.2 พัฒนาการใช้ปุ๋ยแทนสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1) การหาอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีต่อน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 มาศึกษาการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-8 และ 15-15-15 และอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/100 และ1/500 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี เก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน และเปรียบเทียบการเจริญเติบโต

2) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก

เปรียบเทียบปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 โดยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 และ 15-15-15 และอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ จำนวน 3 กรรมวิธี และเปรียบเทียบปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย Sm6-3 ได้แก่ 15-15-15 12-6-30 12-24-12 และ 8-24-24 โดยใช้อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกไว้ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

1.2.3 การทดสอบขยายผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อขยายขนาดแบบบ่อเปิด

1) เติมน้ำประปาลงในบ่อเพาะเลี้ยงปริมาตร 500 ลิตร และเติมอาหารปุ๋ยเคมีและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.2.2

2) เติมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร

3) หลังครบกำหนดตามจำนวนวันในการเพาะเลี้ยงของแต่ละสายพันธุ์แล้ว เติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นตามผลจากข้อ 1.1.3 (0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์)

4) หลังครบอายุการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก

**กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก**

**2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

2.1.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

เพาะเลี้ยงสายหร่ายขนาดเล็ก SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยอาหารสูตรปุ๋ย 16-8-8

2.1.2 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยเทคนิค SFE ที่ความดัน 3 ระดับ ได้แก่ 300 400 และ 500 บาร์และอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 40 50 และ 60°C โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 3x3 Factorial in Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีววิทยาหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง โดยใช้ Kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

2.1.4 ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

นำสารสกัดสาหร่ายจากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดได้ ละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 2% โดยน้ำหนัก จากนั้นผสมตัวอย่างในเซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานที่ขายทั่วไป โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังตารางที่ 2 และมีกรรมวิธีที่ 1 เป็นกรรมวิธีควบคุม และวิเคราะห์สมบัติเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด ความคงตัว ทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส และศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

**ตารางที่ 2** ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานและสูตรประยุกต์เพิ่มสารสกัดจากสาหร่าย

กรมวิชาการเกษตร

| กรรมวิธี | รหัสตัวอย่าง | ส่วนผสมที่ 1 (%) (สารสกัด 2%wt. ในน้ำมันหอมระเหยคาโมมาย) | ส่วนผสมที่ 2 | | | | ทวีน 80 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | HEC | กลีเซอรีน (%) | ไกลเดนท์ (%) | น้ำ (%) | |
| 1 | Serum base | 0 | 1.2 | 3 | 0.5 | 95.3 | 0 |
| 2 | H0.6T2 | 1 | 0.6 | 3 | 0.5 | 92.9 | 2 |
| 3 | H0.6T4 | 1 | 0.6 | 3 | 0.5 | 90.9 | 4 |
| 4 | H0.8T2 | 1 | 0.8 | 3 | 0.5 | 92.7 | 2 |
| 5 | H0.8T4 | 1 | 0.8 | 3 | 0.5 | 90.7 | 4 |
| 6 | H1.0T2 | 1 | 1.0 | 3 | 0.5 | 92.5 | 2 |
| 7 | H1.0T4 | 1 | 1.0 | 3 | 0.5 | 90.5 | 4 |
| 8 | H1.2T2 | 1 | 1.2 | 3 | 0.5 | 92.3 | 2 |
| 9 | H1.2T4 | 1 | 1.2 | 3 | 0.5 | 90.3 | 4 |

2) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

i. เตรียมสารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6 ละลายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบความเข้มข้น 5%

ii. เตรียมเนื้อเจลสำหรับแผ่นมาส์กหน้าจากเบสเจลว่านหางจระเข้มาปรับปรุงสูตร โดยแปรปริมาณของเบสเจลว่านหางจระเข้และปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังตารางที่ 3

iii. ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส และศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

**ตารางที่ 3** ส่วนผสมในการเตรียมเนื้อเจลสำหรับทำแผ่นมาร์กหน้าในแต่ละกรรมวิธี

| กรรมวิธีที่ | กลีเซอรีน (%) | วิตามินอี (%) | เบสว่านหางจระเข้ (%) | ปริมาณสารสกัดในน้ำมันหอมระเหย (%) | กรดมาลิก (%) | น้ำกลั่น (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 2 | 80 | 0.3 | 0.4 | 12.3 |
| 2 | 5 | 2 | 80 | 0.6 | 0.4 | 12 |
| 3 | 5 | 2 | 90 | 0.3 | 0.4 | 2.3 |
| 4 | 5 | 2 | 90 | 0.6 | 0.4 | 2 |

**1.3 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**

1.3.1 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเขียว (สารสี chlorophyll)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเขียว (chlorophyll) จากสาหร่าย A052 ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 0-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 11 กรรมวิธี เพื่อเลือกความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากสารสกัดเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินอัตราส่วน สารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130°C

3) ตรวจคุณภาพของสีผงและศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 4 กรรมวิธี เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ

4) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4 %วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 5 กรรมวิธี และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

กรมวิชาการเกษตร

1.3.2 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเหลือง (สารสี carotenoid)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเหลือง (carotenoid) จากสาหร่ายขนาดเล็ก SK-QSGMF6 ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 6 กรรมวิธี เพื่อเลือกความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสม

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากสารสกัดเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินอัตราส่วน สารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) จากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130°C

3) ตรวจคุณภาพของสีผงและศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 3 กรรมวิธี เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ

4) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4%วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

1.3.3 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีฟ้า (สารสี phycobilin)

1) ศึกษาการสกัดสารสีฟ้า (phycobilin) จากสาหร่าย A052 ด้วยวิธีทางกายภาพด้วยการนำเซลล์สาหร่ายผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 แยกเก็บสารละลายส่วนใสสีน้ำเงินวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ (สุริยาและคณะ, 2543)

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยผสมสารสกัดกับมอลโตเด็กซ์ทริน 3 ระดับคือ 10 20 และ 30% โดยน้ำหนัก วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 3 กรรมวิธี นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 110°C (Purnamayati et al., 2017) และตรวจคุณภาพของสีผง

3) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4%วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 5 กรรมวิธี และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

**1.4 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

1.4.1 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก มีขั้นตอนดังนี้

1) นำสาหร่ายขนาดเล็ก A052 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารปุ๋ย 16-8-8 (ผลจากข้อ 2. กิจกรรมที่ 1) ปั่นผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 95% ในอัตราส่วน 1:2 (w/w) จะได้ส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

2) นำ AIS ที่ได้มาสกัดด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิ 70°C โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี กำหนดปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 คือ อัตราส่วน AIS: น้ำ 2 ระดับ คือ 1:1 และ 1:1.5 (w/v) และปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการสกัด 2 ระดับ คือ 50 และ 70 นาที

3) นำสารสกัดที่ได้ไประเหยน้ำออก และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) ทำการบดให้ละเอียดจะได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในรูปของแห้ง หาปริมาณผลผลิต (Yield) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้

1.4.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ปริมาณความชื้น คาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC (2005)

2) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีของ Dubois *et al*. (1956)

3) ปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ด้วยวิธีของ Melton and Smith (2001)

1.4.3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ความหนืด ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)

2) ความแข็งแรงของเจล (gel strength) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) โดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์และความเป็นกรด-ด่าง (pH)

1.4.4 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดปริมาณ 0 0.5 1 และ 1.5% เปรียบเทียบกับสารให้ความหนืดทางการค้าคือแซนแทนกัม ปริมาณ 0.5 1 และ 1.5% วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 7 กรรมวิธี จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพทางด้านความคงตัวโดยวัดการแยกชั้น (percent serum loss, SL) ตามวิธีของ Hardeep *et al.* (2002) และความข้นหนืดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดทุก 30 วัน เป็นระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน

1.4.5 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กและผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหาร

1) นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ในอัตราส่วน 1:2 (w/w) ที่อุณหภูมิ 65°C กวนส่วนผสมด้วยใบพัดกวนที่ความเร็ว 400 rpm เวลา 45 นาที แยกส่วนเอทานอลออกและวางทิ้งให้เอทานอลระเหยจนหมดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65°C เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสารสกัดแห้งแล้วบดให้ละเอียด

2) วิเคราะห์คุณสมบัติของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กได้แก่ ปริมาณกากใย (crude fiber) ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) โดยวิธี AOAC Official Method (AOAC, 2000)

3) ผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กปริมาณ 0 1 2 และ 3% เปรียบเทียบกับใยอาหารจากบุกปริมาณ 1 2 และ 3% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 7 กรรมวิธี จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์พาสต้าโดยวิธี AOAC Official Method (AOAC, 2000)

**1.5 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด**

1.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

เพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยอาหารสูตร Modified Chu-13 และ ปุ๋ย 16-8-8 (ผลจากข้อ 2. กิจกรรมที่ 1)

1.5.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

1.5.2.1 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่าย

1) ศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายสดและแห้ง ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เมทานอล อะซิโตน และเฮกเซน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ

2) นำไขมันที่ได้มาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันกับเมทานอล 25% และโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 1% เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60°C เวลา 60 นาที

3) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ จากนั้นดูดสารละลายส่วนที่เป็นไบโอดีเซล (FAME) ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

1.5.2.2 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายสด ดัดแปลงจากวิธีของ Panida (2015)

1) นำชีวมวลสาหร่ายสดมาสกัดน้ำมันด้วยวิธี acidic transesterification กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:3 (w/v) และใช้กรดซัลฟูริค 10% เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 75°C เวลา 1 ชั่วโมง

2) ทำการกรองและนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50°C

3) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ รอบ จากนั้นดูดสารละลายส่วนที่เป็นไบโอดีเซล (FAME) ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

**1.6 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

1.6.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

กรมวิชาการเกษตร

เพาะขยายหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ด้วยอาหารสูตร BG-11 (NFree) (สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม) หรือปุ๋ยเคมี 8-24-24 (ผลจากข้อ 2. กิจกรรมที่ 1)

1.6.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพออกจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

นำผลิตผลเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลาย SDS 0.5% และ NaOCl 6% จากนั้นสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพตามวิธีการของ Marinho-Soriano (2001) และนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ และสารสกัดที่ได้ไปศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์ชีวภาพ

1.6.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ในการทดสอบการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มด้วยสารก่อฟิล์มชนิดต่างๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) สตาร์ช แป้งมันสำปะหลัง และกลีเซอรอล (ประยูร และคณะ, 2558) เพื่อหาสารก่อฟิล์มที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม โดยเติมสารก่อฟิล์มแต่ละชนิด 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

1.6.4 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่าย

ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเซลล์ชีวมวลสาหร่ายกับสารพลาสติไซเซอร์ (สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และสตาร์ช) ปริมาณตามกรรมวิธี โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 12 กรรมวิธี กรรมวิธีที่ 1 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{2.4}S_{0.6}$), กรรมวิธีที่ 2 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{2.4}S_{1.2}$), กรรมวิธีที่ 3 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.0}S_{0.6}$), กรรมวิธีที่ 4 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.0}S_{1.2}$), กรรมวิธีที่ 5 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.6}S_{0.6}$), กรรมวิธีที่ 6 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.6}S_{1.2}$), กรรมวิธีที่ 7 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{4.2}S_{0.6}$), กรรมวิธีที่ 8 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.2}$), กรรมวิธีที่ 9 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$), กรรมวิธีที่ 10 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.8}S_{1.2}$), กรรมวิธีที่ 11 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$) และ กรรมวิธีที่ 12 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 2.4 กรัม ($AP_{4.2}S_{2.4}$) นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ ได้แก่ ความหนา ความชื้น การละลายน้ำ ตามวิธีของ Su *et al.* (2010) และ Tongdeesoontorn *et al.* (2011) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ ตามวิธีของ กนกศักดิ์ และคณะ (2556)

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์

### 1.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

1.1.1 สภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสม

ผลการศึกษาค่าคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเห็ดฟางอบแห้งจาก 24 กรรมวิธี พบว่าเห็ดฟางดอกบานมีปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิในการผลิตซอสปรุงรส นั่นคือ กรดกลูตามิก (6,707-6,974 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และกรดแอสพาร์ติก (2,613-2,865 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) การอบแห้งอุณหภูมิ 60°C ระยะเวล 8 ชั่วโมง ตัวอย่างจะมีปริมาณความชื้นร้อยละ 4.21-6.39 ซึ่งต่ำกว่าร้อยละ 10 ปริมาณน้ำอิสระมีค่าอยู่ระหว่าง 0.23-0.39 ซึ่งต่ำกว่า 0.6

โดยผลที่ได้สามารถป้องกันการเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ (สมชาติ, 2540) โดยที่อุณหภูมิต่ำและเวลาในการอบแห้งสั้นมีผลทำให้ปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกสูงกว่าการใช้อุณหภูมิสูงเวลานาน เนื่องจากโปรตีนในอาหารอาจสูญเสียโครงสร้างในระหว่างการทำแห้งได้จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในภาวะที่ได้รับความร้อนสูงทำให้เกิดครอสลิงระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนบางชนิด ทำให้สูญเสียโครงสร้างไป จึงทำให้ปริมาณกรดอะมิโนลดลง (รัชนี, 2535) จากเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางระยะดอกบานที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีปริมาณความชื้น ปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วงที่ต้องการ อีกทั้งมีปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกสูงที่สุด

1.1.2 อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง ถั่วเหลือง และแป้งข้าวเจ้าในการผลิตซอสปรุงรส

ผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า สิ่งทดลองและสูตรควบคุมไม่แตกต่างกัน ขณะที่ความเข้มของสีซอสผู้ทดสอบชอบสูตรควบคุมน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบที่ผู้ทดสอบประเมินต่อสิ่งทดลอง พบว่า สิ่งทดลองที่ 2 (อัตราส่วนระหว่างเห็ดฟาง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า คือ 40:30:30) ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบมากกว่าสิ่งทดลองอื่น และเมื่อประเมินความพอดีในแต่ละคุณลักษณะจากอัตราส่วน พบว่า การเพิ่มเห็ดฟางส่งผลให้คะแนนความชอบโดยรวม สี และกลิ่นรสเพิ่มมากขึ้น ขณะที่การเพิ่มถั่วเหลืองส่งผลให้คะแนนความชอบโดยรวม สี และกลิ่นรสมีคะแนนลดลง เนื่องจากเห็ดฟางมีรสชาติที่เด่นชัดจากสารสำคัญที่ให้รสอูมามิ คือ กรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติก โดย Tsai *et al*. (2007) รายงานว่าเห็ดฟางในระยะดอกบานมีปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิในเห็ดฟางเพิ่มขึ้นสูงขึ้นเกือบ 3 เท่าของระยะเริ่มต้น ดังนั้นสิ่งทดลองที่ใช้ปริมาณเห็ดฟางสูงมีผลทำให้รสชาติของซอสปรุงรสที่ได้ดีกว่าสิ่งทดลองที่ใช้เห็ดฟางในปริมาณน้อย และกระบวนการหมักที่ใช้วัตถุดิบที่อุดมไปด้วยโปรตีนดังเช่นเห็ดฟางมาผสมเกลือแล้วทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ *A. oryzae* ซึ่งจะสร้างเอนไซม์โปรติเอสในระหว่างการหมักและทำหน้าที่ย่อยโปรตีนที่อยู่ในเห็ดฟางจนได้เป็นกรดอะมิโน ไนโตรเจนที่อยู่ในกรดอะมิโนนี้จะส่งผลต่อกลิ่นรสของซอสที่หมักได้ (วิเชียร, 2526)

1.1.3 กรรมวิธีการลดโซเดียมในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง ได้ผลการทดลองดังนี้

1) วิธีการตกผลึก เป็นวิธีในการลดความเข้มข้นของสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ จากผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้ซอสปรุงรส 600 มิลลิลิตรและต้มเพื่อลดปริมาตรลงเหลือ 420 มิลลิลิตร สามารถตกผลึกเกลือได้ทั้งสิ้น 66.28 กรัม มีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 14.50 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสูตรควบคุมคิดเป็นร้อยละ 19.44 มีปริมาณน้ำอิสระ เท่ากับ 0.83 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.21 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 12.48 มีกรดอะมิโนที่ให้รสอูมามิ ได้แก่ กรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตามิก เท่ากับ 967.8 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 1,433.2 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ

2) วิธีใช้กลิ่นเสริมรสเค็ม พบว่า กลิ่นซอสถั่วเหลืองสามารถเพิ่มระดับการรับรู้รสเค็มของผู้บริโภคได้ โดยการเพิ่มกลิ่นซอสถั่วเหลืองร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ2.0 จะส่งผลให้ระดับการรับรู้รสเค็มเพิ่มขึ้นเท่ากับ 9.91, 9.97, 10.42, 10.79 และ10.98 ตามลำดับ ทั้งนี้เกิดขึ้นจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างการรับรู้กลิ่นและการรับรู้รส (odour-taste interaction) เป็น cross-modal perception (Narisa *et al*. 2011 and Lawrence *et al*. 2011) โดยปริมาณที่เหมาะสม คือ ร้อยละ1.5 โดยน้ำหนัก ทำให้ระดับการรับรู้รสเค็มของผู้ทดสอบเพิ่มขึ้น 10.79 และมีรสอูมามิเท่ากับ 3.41 ซึ่งน้อยกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรควบคุมที่ระดับ 11.04 ขณะที่รสอูมามิมีค่าเท่ากับ 3.40 ขณะที่สูตรทางการค้ามีระดับรสเค็มเท่ากับ 11.21 และรสอูมามิเท่ากับ 4.08 ซึ่งมากกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำและสูตรควบคุม โดยซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำด้วยวิธีใช้กลิ่น

เสริมรสเค็มมีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก ซึ่งต่ำกว่าสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้วิธีการตกผลึกร้อยละ 34.16 และ 18.27 ตามลำดับ นำซอสปรุงรสที่ได้จากทั้งสองกรรมวิธีไปทดสอบความชอบและการยอมรับเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า พบว่า ผู้ทดสอบชอบตัวอย่างซอสปรุงรสทั้งสามตัวอย่างแตกต่างกัน โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบโดยรวมสูตรทางการค้ามากที่สุด (7.47) รองลงมาคือซอสปรุงรสที่ใช้กลิ่นเสริมรสเค็ม (6.33) และซอสปรุงรสที่ใช้วิธีตกผลึก (5.41) ตามลำดับ เมื่อประเมินการยอมรับพบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับซอสปรุงรสสูตรทางการค้ามากที่สุด รองลงมาคือ ซอสปรุงรสให้วิธีเสริมรสเค็มและวิธีตกผลึก โดยร้อยละการยอมรับ เท่ากับ 92.36, 80.14 และ 78.15 ตามลำดับ ทั้งนี้เพราะสูตรทางการค้ามีการปรุงแต่งทั้งรสชาติและกลิ่นแล้ว

1.1.4 การคำนวณต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 39.17 บาทต่อ 100 กรัม ซึ่งมีราคาสูงกว่าสูตรควบคุมที่มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 35.61 ต่อ 100 มิลลิลิตร เนื่องจากสูตรโซเดียมต่ำมีต้นทุนเพิ่มขึ้นจากกลิ่นซอสถั่วเหลือง

**1.2 การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีน**

1.2.1 การเตรียมเห็ดฟางอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบลมร้อน

เห็ดฟางอบแห้งที่ได้ มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.52 ปริมาณความชื้นร้อยละ 6.40 โปรตีนร้อยละ 33.10 ไขมันร้อยละ 2.57 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 52.99 และเถ้าร้อยละ 9.17 จากค่าคุณภาพดังกล่าวจะเห็นว่าเห็ดฟางอบแห้งเป็นแหล่งที่ดีในการนำมาสกัดโปรตีน เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 33.10 ต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม สอดคล้องกับสุนันท์ (2529) ซึ่งรายงานว่าเห็ดเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน

1.2.2 การสกัดโปรตีนจากเห็ดฟางเพื่อให้ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง

จากการสกัดแยกโปรตีนจากเห็ดฟางอบแห้งด้วยวิธีละลายด้วยกรดและวิธี TPP พบว่าโปรตีนสกัดจากทั้งสองวิธีมีร้อยละผลผลิตและค่าสีแตกต่างกัน โดยโปรตีนที่สกัดด้วยวิธี TPP มีผลผลิตร้อยละ 18.20 ขณะที่โปรตีนสกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีผลผลิตร้อยละ 5.16 ทั้งนี้ปริมาณผลผลิตของโปรตีนผงจากวิธีละลายด้วยกรดน้อยกว่าวิธี TPP อาจเกิดจากการสูญเสียโปรตีนบางส่วนในขั้นตอนการผลิต (Mune *et al.*, 2011) นำโปรตีนผงที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีไปวัดปริมาณโปรตีนชนิดและปริมาณกรดอะมิโน พบว่า โปรตีนผงที่สกัดได้จากวิธี TPP มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 ซึ่งเป็นปริมาณโปรตีนที่สูงในระดับโปรตีนเข้มข้น ขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 43.11 ซึ่งอยู่ในระดับโปรตีนเข้มข้นเช่นกัน เมื่อวัดชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด พบว่า โปรตีนที่สกัดด้วยวิธี TPP มีปริมาณกรดกลูตามิก อะลานีน กรดแอสพาร์ติก วาลีน ทรีโอนีน และซีรีนสูง โดยมีค่าเท่ากับ 8,125.3 4,047.9 4,041.6 3,527.6 3,320.3 และ 3,240.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีปริมาณกรดอะมิโนเกือบทุกชนิดน้อยกว่าวิธี TPP ยกเว้น กรดกลูตามิกและฟีนิลอะลานีนที่มีปริมาณสูงกว่าวิธี TPP เล็กน้อย โดยมีปริมาณ 8,930.4 และ 1,896.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้น วิธี TPP จึงมีความเหมาะสมมากกว่าวิธีละลายด้วยกรดในการนำมาสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง

1.2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์อาหาร

1) ผลการคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหาร เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ พบว่า สูตรที่ 1 มีคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวม ความข้นหนืด รสชาติโดยรวม และเนื้อสัมผัสภายในปากมากกว่าสูตรที่ 2 โดยมีค่าความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง (7.13) เนื่องจากสูตรที่ 1 มีการใช้ครีมเทียม นมผง มอลโตเด็กทรินซ์และน้ำตาลทรายสูงกว่าสูตรที่ 2 จึงทำ

กรมวิทยาศาสตร์

ให้เนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์มีความหวานมันมากกว่า นอกจากนี้ยังมีการแต่งกลิ่นซึ่งส่งผลดีต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงเลือกสูตรที่ 1 เป็นสูตรพื้นฐานในการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนผสมธัญญาหารต้นแบบ เพื่อใช้ในการศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีนต่อไป

2) ผลการศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีน โดยนำสูตรพื้นฐานสูตรที่ 1 ซึ่งมีโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองร้อยละ 12.10 มาทดแทนด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง 4 ระดับ ได้แก่ ทดแทนที่ระดับร้อยละ 100, 75, 50 และ25 ผลการทดสอบ พบว่า ผู้ทดสอบชอบให้คะแนนความชอบโดยรวมเครื่องดื่มโปรตีนที่ทดแทนด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางร้อยละ 25 และ 50 มากที่สุด เนื่องจากโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางจะไปส่งผลต่อความชอบในคุณลักษณะด้านความเข้มของสี กลิ่นรสโดยรวม ความข้นหนืด และรสหวานของผลิตภัณฑ์ เมื่อประเมินการยอมรับ พบว่า ผู้ทดสอบยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ทดแทนที่ระดับร้อยละ 25 และ 50 เท่ากับร้อยละ 82.67 และ 79.54 ตามลำดับ ดังนั้น การใช้โปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในเครื่องดื่มควรใช้ที่ระดับการทดแทนร้อยละ 50

3) ศึกษาค่าคุณภาพของเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง

ผลการวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ เคมี และคุณค่าทางโภชนาการ พบว่า เครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางมีสีเหลืองอ่อน และมีลักษณะขุ่น มีความเป็นกรดเล็กน้อยเท่ากับ 6.73 มีรสชาติหวาน โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 15.10 เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ร้อยละต่อน้ำหนัก 100 กรัม) พบว่า มีพลังงานทั้งหมด 410.50 กิโลแคลอรี่ พลังงานจากไขมัน 29.90 กิโลแคลอรี่ โปรตีน 5.30 กรัม ไขมัน 2.85 กรัม คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 83.44 กรัม น้ำตาล 80.19 กรัม ใยอาหาร 3.25 กรัม โซเดียม 80 มิลลิกรัม แคลเซียม 76.21 มิลลิกรัม วิตามินบี1 2.37 มิลลิกรัม วิตามินบี2 8.19 มิลลิกรัม เหล็ก 1.15 มิลลิกรัม

**1.3 การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง**

1.3.1 การเตรียมเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งปั่นละเอียด

ให้ปริมาณและค่าคุณภาพด้านสี ปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระใกล้เคียงกัน

1.3.2 การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

จากการทดลองย่อยเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งปั่นละเอียดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทมีความชื้นสูงขึ้นเมื่อเทียบกับเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งปั่นละเอียดเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทถูกตัดพันธะให้สั้นลง จึงสามารถดูดความชื้นกลับได้เร็ว (เกียรติศักดิ์, 2557) สำหรับค่าปริมาณน้ำอิสระ พบว่า การย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลาการย่อย 2 ชั่วโมง มีค่าปริมาณน้ำอิสระน้อยที่สุด สำหรับการย่อยในกรรมวิธีอื่น ๆปริมาณน้ำอิสระมีค่าไม่แตกต่างกัน สีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางมีสีออกน้ำตาลแดงคล้ำ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการย่อย เนื่องจากเห็ดฟางอบแห้งปั่นละเอียดยังคงมีน้ำตาลรีดิวซ์ อยู่จึงถูกออกซิไดซ์เป็นสารมีสี โดยมีน้ำ ความร้อน และระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Qinchun *et al*., 2016) สำหรับค่าร้อยละผลได้มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย โดยกรรมวิธีที่ 3 คือเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง มีค่าร้อยละผลได้สูงสุด เมื่อมองในภาพรวมจะเห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง มีสมบัติทางกายภาพแตกต่างไปจากเห็ดฟางอบแห้งปั่นละเอียด ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง พบว่า กรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นสูงมากคือ กรดกลูตามิก โดยเฉพาะในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบาน และมีแนวโน้มจะสูงขึ้นอีกเมื่อมีระยะเวลาในการย่อยนานขึ้น แต่เมื่อถึงระยะเวลาย่อยหนึ่งจะมีจำนวนลดลง สำหรับเห็ดฟางดอกตูมกรดอะมิโนมี

ความสำคัญสำหรับผิว เช่น กรดกลูตามิก ไกลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างกลูต้าไธโอน ไกลซีน โพลีน อะลานีน กรดกลูตามิก ซีรีน เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างคอลลาเจน ยังยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ไฮยาลูโรนิเดส คอลลาจิเนส และอิลาสเทส ซึ่งช่วยคงความอ่อนเยาว์และคงโครงสร้างผิว รักษาความชุ่มชื้นและเสริมสร้างความยืดหยุ่นแก่ผิว ไกลซีนช่วยในการปกป้องเนื้อเยื่อและเพิ่มอัตราการฟื้นฟูผิว อาจีนีน พบว่ามีหน้าที่เพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการรักษาบาดแผลให้หายเร็วขึ้น (wound-healing) (Gianfranco, 2008) จากคุณสมบัติของปริมาณกรดอะมิโนที่มีความสำคัญกับผิวพรรณ กรรมวิธีที่ 2 6 และ 7 คือ กรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยเห็ดฟางดอกตูม ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เห็ดฟางดอกบาน ที่ระยะเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ มีปริมาณกรดอะมิโนสำคัญสำหรับผิวพรรณที่ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ

ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากการย่อยเห็ดฟางดอกบานที่เวลา 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด แต่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำ ขณะที่การย่อยเห็ดฟางดอกตูมให้เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูง เมื่อวิเคราะห์ทั้ง 3 ปัจจัยร่วมกับกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์อัลคาเลสโดยใช้เห็ดฟางดอกตูมระยะเวลา 3 ชั่วโมง ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดทั้งต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.3.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

นำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1:1 มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว พบว่า การผลิตโลชั่นตามกรรมวิธีที่ 1-3 ยังมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในค่ามาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 จากการทดสอบความคงตัวที่สภาะเร่ง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ผ่านการทดสอบที่สภาวะเร่งเพียงกรรมวิธีเดียว โดยผลิตภัณฑ์โลชั่นยังคงมีความคงตัวเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพด้วยสภาวะเร่ง ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีที่ 1 ในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ผลการทดสอบพบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางผู้บริโภคชอบสี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอะหนะ กลิ่นหลังทา ความชุ่มชื่นหลังทา และผู้บริโภคร้อยละ 80 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่พบผู้แพ้หรือมีผื่นแดงขึ้น ผลการทดสอบหาสารปนเปื้อนและจุลินทรีย์เป็นไปตามที่มาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 ผลการคำนวณต้นทุนการผลิต พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางปริมาณ 250 กรัม มีต้นทุนวัตถุดิบ 54.28 บาท

**2. การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก**

**กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง**

**1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ**

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ เพื่อนำไปศึกษาสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง

1) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6 และ CM01-4 โดยผลการวิเคราะห์ค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.60, 9.63,

13.78 และ 5.00 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6

2) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย พบว่ามีเพียงสาหร่าย A052 มีลักษณะของวงใสอยู่รอบเซลล์ในปริมาณสูง จึงคัดเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาขั้นต่อไป

3) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมไขมันได้แก่ CM01-4 KK20 และ BR52-1 จากผลเทคนิค TLC พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 มีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน FAME จากข้อมูลดังกล่าวจึงคัดเลือกสาหร่าย CM01-4 เป็นตัวแทนในการศึกษาขั้นต่อไป

4) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมพอลิเมอร์ชีวภาพ Sm6-3 โดยหลังการย้อมด้วยสีซูดานแบล็กบี พบว่าภายในเซลล์มีเม็ดสีน้ำเงินเข้มหรือสีดำภายในเซลล์

5) ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Coelastrella sp*. สาหร่าย SK-KhY6 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Coelastrum sp*. สาหร่าย A052 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *C. microporum* สาหร่าย CM01-4 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Botryococcus* sp. สาหร่าย KK20 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Desmodesmus* sp. และ สายพันธ์สุดท้ายสาหร่าย Sm6-3 ที่มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Nostoc* sp.

1.1.2 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน 4 สูตร ได้แก่ Modified chu 13, BG-11, BBM และ C medium พบว่า สูตรอาหาร Modified Chu 13 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 สูตรอาหาร BG-11 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 และ พบว่า A052 และสูตรอาหาร BG-11 (NFree) เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SM6-3 ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 25 9 15 และ 15 วัน ตามลำดับ

1.1.3 อิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์

ผลการชักนำด้วยการเติม NaCl ในวันที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดแล้วหรือเข้าสู่ช่วงแรกของระยะพักตัว ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ ในน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์สะสมสูงสุด 2.62 และ 2.86 มก./ก. ตามลำดับ และสาหร่าย A052 มีการสะสมพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด 6.51 %wt. หลังเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย CM01-4 มีการสะสมไขมันได้สูงสุด 39 %wt. และที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.1 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SM6-3 มีการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพสูงสุด 1.62 %wt. ของชีวมวลสาหร่ายสด

**1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด**

1.2.1 รูปแบบบ่อเพาะเลี้ยงขยายขนาดแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ (Raceway pond) ประกอบด้วยใบพัดมอเตอร์ (paddle wheel) ที่มีความเร็วรอบในการหมุน 30-50 rpm และการเคลือบไฟเบอร์กลาสที่ผิวบ่อด้านในพร้อมทั้งติดตั้งวัสดุคลุมบ่อชนิดโปร่งแสง

1.2.2 การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1) ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 ด้วยปุ๋ย 16-8-8 และ 15-15-15 และอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/100 และ 1/500 พบว่า สาหร่าย SK-QSGMF6 เจริญเติบโตได้ดีในอาหารปุ๋ย 16-8-8 ส่วนสาหร่าย CM01-4 เจริญเติบโตได้ดีในอาหารปุ๋ย 15-15-15 จากอัตราการใช้ปุ๋ย

กรมวิชาการเกษตร

ต่อน้ำเลี้ยง 1/500 จึงเลือกอัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 ของปุ๋ยทั้ง 2 สูตร เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้ปุ๋ยเคมีสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่นต่อไป

2) ผลการเพาะเลี้ยงกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 พบว่า ปุ๋ย 16-8-8 ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 11 และ 17 วัน ตามลำดับ

3) ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SM6-3 พบว่าปุ๋ย 8-24-24 ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 15 วัน

1.2.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาดแบบบ่อเปิด

จากการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดขนาด 500 ลิตร โดยตลอดระยะเวลาในการศึกษาในครั้งนี้ มีปริมาณความเข้มของแสงแดดอยู่ในช่วง 10-17 klx และอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28-37 องศาเซลเซียส เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายระหว่างสูตรมาตรฐานและปุ๋ยเคมีสูตรที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยง ดังนี้ 1. ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 และ 1.75 กรัมต่อลิตร ตาลำดับ สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด 5.20 และ 4.28 มก./ก. 2. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย A052 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.69 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุด 3.97%wt. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15 ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.05 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดไขมันได้สูงสุด 5.65%wt. 3. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 8-24-24 ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.22 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพได้ 0.33 %wt ของสาหร่ายสด

**กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก**

**2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

2.1.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 แบบบ่อเปิด ด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 และการชักนำด้วย NaCl 0.3 โมลาร์ มีอัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 และ 1.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังอบแห้ง ได้ชีวมวลสาหร่ายแห้งสีเขียวเข้มออกน้ำตาล

2.1.2 การผลิตสารสำคัญที่มีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการสกัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค SFE ที่อุณหภูมิ 60°C ที่ความดัน 500 บาร์ จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้สารสกัดสูงสุด 5.20 มก./ก. ของสาหร่ายแห้ง ซึ่งสารสกัดมีปริมาณแอสตาแซนธินสูงสุดเท่ากับ 265.77 มก./กก. ของสารสกัด คิดเป็น 0.027% หรือ 1.052 มก./ก. ของสาหร่ายแห้ง

ผลการสกัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค SFE ที่อุณหภูมิ 60°C ที่ความดัน 500 บาร์ จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้สารสกัดสูงสุด 5.20 มก./ก. ของสาหร่ายแห้ง ซึ่งสารสกัดมีปริมาณซีแซนธินสูงสุดเท่ากับ 266.37 มก./กก. ของสารสกัด และแอสตราแซนธิน สูงสุดเท่ากับ 137.22 มก./กก. ของสารสกัด นอกจากนี้ยังพบไลโคปีน ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่สำคัญด้วย

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ผลการฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 มีค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $IC_{50}$ เท่ากับ 0.01035 และ 0.01364 มก./ลิตร และสารสกัดจากสาหร่าย ซึ่งมีค่าสูงกว่าวิตามินซีที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.02315 มก./ลิตร

2) ผลของฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 16.706 มก./มล. ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่ากรดโคจิก (สารมาตรฐาน) ที่มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.187 มก./มล.

2.1.4 การนำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1) การประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

กรมวิชาการเกษตร

ผลการใช้สารสกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้า ได้ลักษณะเซรั่มบำรุงผิวเป็นของเหลวสีเหลืองอ่อน ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.09 – 5.29 ซึ่งเหมาะกับผิวหนัง (กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย, 2551) เมื่อทดสอบความคงตัว และความชอบด้านประสาทสัมผัสด้วย 7-point hedonic scale ได้แก่ สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียว กลิ่นหลังทา และความชุ่มชื่นหลังทาโดยผู้ทดสอบจำนวน 27 คน พบว่ามีผู้ทดสอบเลือกกรรมวิธีที่ 8 (สูตร H1.2T2) เป็นที่ชื่นชอบมากที่สุดจำนวน 63%

2) การประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

ผลการใช้สารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6 ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า เนื้อเจลมาส์กหน้าที่ได้มีสีเหลืองสว่าง ผลการทดสอบเนื้อเจลสามารถซึมเข้าสู่แผ่นมาส์กหน้าได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ที่มีส่วนประกอบของเบสว่านหางจระเข้มากที่สุด การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน พบว่าผู้ทดสอบชอบกรรมวิธีที่ 3 มากที่สุดคิดเป็นจำนวน 40%

**2.2 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**

2.2.1 การผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ (สีเขียว) จากสาหร่ายขนาดเล็ก A052

จากการสกัดสาหร่าย A052 ด้วยเอทานอลเข้มข้น 10-95% พบว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% สารสกัดมีปริมาณสารมากที่สุดคือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 53.211 ug/g และปริมาณคลอโรฟิลล์บี 21.346 ug/g หลังทำการระเหยสารสกัดจนเข้มข้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในสารสกัด 5.43 mg/ml ผสมกับมอลโตเด็กซ์ทรินและน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยได้สีผงที่มีสีเขียวอ่อน ได้ผลผลิตสีผง (yield) 15.72% หลังทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการเก็บรักษาสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 4 และ 6 เดือน ค่าสีมีความแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น (Sharma, 2003) สีผงมีความชื้นเพิ่มขึ้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ของสีผงมีค่าลดลง ผลการทดสอบสีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ม.ป.ป.) การประยุกต์ใช้สีผงคลอโรฟิลล์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้น และปริมาณสารคลอโรฟิลล์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 4% มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 13.72 mg/100 g

2.2.2 การผลิตสีผงแคโรทีนอยด์ (สีเหลือง) จากสาหร่ายขนาดเล็ก SK-QSGMF6

จากการสกัดสาหร่าย SK-QSGMF6 ด้วยเอทานอลเข้มข้น 60-95% พบว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% สารสกัดมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด 6.93 ug/ml หลังทำการระเหยสารสกัดจนเข้มข้นมีปริมาณแคโรทีนอยด์ของสารสกัด 43.19 ug/ml ผสมกับมอลโตเด็กซ์ทรินและน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยได้สีผงสีเหลืองอ่อน ได้ผลผลิตสีผง (yield) 15.88% ทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 4 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ผงที่อายุเก็บรักษา 2 เดือน มีค่าสีไม่แตกต่างกับสีผงเริ่มต้น แต่ที่อายุ 4 เดือน มีค่าสีแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ของสีผงมีค่าลดลงเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น สีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และสีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด การประยุกต์ใช้สีผงแคโรทีนอยด์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้น และปริมาณแคโรทีนอยด์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 4% มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 102.08 mg/100 g

2.2.3 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็ก (สีฟ้า phycobilin)

จากการสกัดสาหร่าย A052 ด้วยการแช่แข็ง -20°Cน้ำ พบว่าได้สารสกัดสีฟ้า มีปริมาณไฟโคบิลิน 1.24 ug/ml หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ได้สีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีปริมาณสารไฟโคบิลิน 36.96 mg/100 g สีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และสีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด การใช้สีผงไฟโคบิลินในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้น และปริมาณแคโรทีนอยด์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 4% มีปริมาณไฟโคบิลินสูงสุดเท่ากับ 1.65 mg/100 g

**2.3 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

2.3.1 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก A052 ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % เพื่อกำจัดรงควัตถุและไขมันต่างๆ จะได้ของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (AIS, alcohol insoluble solid) นำ AIS มาสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก ด้วยน้ำที่อัตราส่วน AIS : น้ำ (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:1.5 ให้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 3.97 %wt.วิธีการนี้สอดคล้องกับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก ของ นพรัตน์ และคณะ (2553) เนื่องจากน้ำตาลอิสระที่มีอยู่ในสาหร่ายสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าเอทานอล

2.3.2 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก ได้ผลดังนี้

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณความชื้น 7.59 % คาร์โบไฮเดรต 87.50 % ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 82.19 และมีปริมาณกรดยูโรนิคซึ่งเป็นโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ 5.82 %

2.3.3 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความหนืดและความแข็งแรงของเจล จากปัจจัยของความเข้มข้นและความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์มีผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้นของสารละลาย 2.0 %w/v ค่าความหนืดสูงสุด 16.4 cPs และความแข็งแรงของเจลสูงสุด 0.129 N เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์สามารถจับกับน้ำได้มากขึ้นทำให้ปริมาณน้ำอิสระลดลง ผลของค่า pH ช่วง 4.5-75 พบว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ถ้า pH มีค่าเท่ากับ 4.5 จะทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลสูงสุดเท่ากับ 14.6 cPs และ 0.125 N และมีค่าลงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจนถึง 7.5 เนื่องจากในสภาวะที่เป็นด่าง $[OH]^-$ จะไปลดพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้การขยายตัวระหว่างโมเลกุลเกิดได้น้อยลง (จิตรา และคณะ, 2550)

2.3.4 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

ผลการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เรียบเทียบกับแซนแทนกัม (สารทางการค้า) ในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพด โดยวิเคราะห์ค่าความข้นหนืดและการแยกชั้น พบว่าการเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และแซนแทนกัม มีผลทำให้ค่าความข้นหนืดของซุปเพิ่มขึ้นและการแยกชั้นลดลง โดยการเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณ 1.5% มีค่าความข้นหนืดเท่ากับ 11,840.56 g และการแยกชั้นเท่ากับ 9.53% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเติมแซนแทนกัม 1.0% ดังนั้นจึงเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการแนะนำใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้ ผลการตรวจวิเคราะห์ซุปข้าวโพดที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าซุปข้าวโพดที่เติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.5% มีค่าความข้นหนืดลดลง

กรมวิทยาศาสตร์

9.36% และมีค่าการแยกชั้นเพิ่มขึ้น 11.84% ใกล้เคียงกับซุปข้าวโพดที่เติมแซนแทนกัม 1.0% ที่มีค่าความข้นหนืดลดลง 4.87% และมีค่าการแยกชั้นเพิ่มขึ้น 5.44%

2.3.5 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กและผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหาร

การสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95% ได้ใยอาหารที่มีสีน้ำตาล มีปริมาณผลได้เท่ากับ 89.35% มีปริมาณใยอาหารรวม 82.16% ของน้ำหนักแห้ง ผลการนำใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กเติมในเส้นพาสต้าเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้าคือ บุก โดยปริมาณที่เหมาะสมของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กในเส้นพาสต้า คือ 3% เมื่อเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้า คือ บุก พบว่าผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากบุก 3% ที่มีปริมาณใยอาหารรวม 1.05% ของน้ำหนักแห้ง

**2.4 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด**

2.4.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก CM01-4 และ KK20 ด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) และปุ๋ยเคมี 15-15-15 ได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย CM01-4 1.85 และ 1.16 กรัมต่อลิตร สาหร่าย KK20 ได้ 1.95 และ 1.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากปริมาณชีวมวลสาหร่ายที่ได้จึงใช้ชีวมวลสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) ในการศึกษาวิธีการสกัดและผลิตไบโอดีเซล

2.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

1) วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง

ผลการสกัดไขมันน้ำมันด้วยตัวทำละลายจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง CM01-4 และ KK20 พบว่า อะซีโตนสามารถสกัดได้ไขมันจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง ได้ปริมาณสูงสุดที่ 0.1034 และ 0.0942 g/g ของชีวมวลแห้ง ตามลำดับ จากไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลแห้งหลังทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นกับเมทานอล และใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้น้ำมันหลังการล้างน้ำเพื่อทำความสะอาด 53.10% มีเปอร์เซ็นต์เมทิลเอสเตอร์ (FAME) ประมาณ 80%

2) วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายเปียก

ผลการทำปฏิกิริยา acidic transesterification ของชีวมวลสาหร่ายสด CM01-4 และ KK20 กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:3 โดยใช้กรดซัลฟิวริก 10 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าหลังการทำปฏิกิริยาและนำส่วนของเหลวมาระเหยเมทานอลออกเหลือปริมาณสารสกัด 29.17 % และ 28.08 % ตามลำดับ เป็นของเหลวสีดำ ผลการทดสอบสารสกัดเพื่อหาเมทิลเอสเทอร์ด้วยแผ่น TLC ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 มีค่าใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FAME และผลวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ FAME ได้เท่ากับ 40.52% จากผลทดสอบค่าความบริสุทธิ์ที่ได้มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพของไบโอดีเซลที่ควรมีค่า FAME มากกว่า 96.5%

**2.5 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก**

2.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ด้วยสูตรอาหาร BG-11 (N-Free) (เกรดการค้า) และปุ๋ย 8-24-24 ได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.54 และ 1.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2.5.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย

ศูนย์วิทยทรัพยากร

หลังการพรีทรีตเมนต์ชีวมวลสาหร่ายสดที่ด้วยสารละลาย SDS 0.5% และนำไปสกัดขั้นต้นด้วยสารละลาย NaOCl 6 % ได้ปริมาณชีวมวลสาหร่ายคงเหลือ 6.13 และ 10.50 % ตามลำดับ หลังการสกัดบริสุทธิ์ด้วยคลอโรฟอร์มได้สารสกัดสูงสุด 0.029 และ 0.012 % ตามลำดับ จากปริมาณสารสกัดพอลิเมอร์ที่ได้น้อยมาก จึงใช้ชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ขั้นต้นเป็นส่วนผสมหลักเพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพต่อไป

2.5.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่าย

ผลการเตรียมแผ่นฟิล์มจากชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านกระบวนการสกัดได้แผ่นฟิล์มมีลักษณะแข็งเปราะและฉีกขาดง่าย ทำให้ต้องมีการผสมสารก่อฟิล์ม ได้สารก่อฟิล์มที่เหมาะสมคือ PVA ที่แผ่นฟิล์มมีความสมบูรณ์และสามารถลอกออกจากเพลตที่ใช้ขึ้นรูปได้ แต่แผ่นฟิล์มที่ได้ค่อนข้างบาง จึงแปรปริมาณของ PVA เพิ่มขึ้นในอัตราส่วนร้อยละ 20 30 และ 40 พบว่าแผ่นฟิล์มเกิดการย่นจนหลุดออกจากแบบขึ้นรูปแผ่น และแผ่นฟิล์มมีความแข็งกรอบและขาดความยืดหยุ่น จึงปรับใช้ชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วย SDS 0.5 % เพียงขั้นตอนเดียวผสมกับสาร PVA ร้อยละ 20 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 5 พบว่าแผ่นฟิล์มสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเรียบ ไม่หดย่น จึงแปรปริมาณของ PVA และแป้งสตาร์ชเพิ่มเติม เพื่อให้ได้แผ่นฟิล์มที่ยืดหยุ่นและมีความเหนียวมากขึ้น

2.5.4 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่ายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และสตาร์ช

จากการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มสาหร่าย พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ดี มีความยืดหยุ่น แกะออกจากแผ่นอะคริลิคได้ง่าย มีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีของเซลล์สาหร่าย โดยผลทดสอบของแผ่นฟิล์มสาหร่ายมีดังนี้ ความหนาของฟิล์มอยู่ในช่วง 0.05-0.13 มม. โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณส่วนผสมเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{4.2}S_{2.4}$ มีค่าความหนาของฟิล์มสูงสุด ค่าความชื้นของฟิล์มอยู่ในช่วง 5.63-7.97% มีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{2.4}S_{0.6}$ และลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA เพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการต้านทานน้ำ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของพลาสติกชีวภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ (Bourtoom *et al.,* 2008) ผลการทดลองพบว่าฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำอยู่ในช่วง 0.25-4.62% โดยมีค่าสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของสาร PVA กับแป้งสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{3.0}S_{0.6}$ มีค่าความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุดแสดงให้เห็นว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของ PVA และแป้งสตาร์ชต่อเซลล์สาหร่ายแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดแรงกระทำกัน คุณสมบัติเชิงกล เป็นค่าที่แสดงถึงความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของของฟิล์มซึ่งหากมีค่าสูงก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ดี ซึ่งผลการทดสอบความต้านทานแรงดึงขาด (TS) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 88.95-172.86 kF/cm$^2$ โดยมีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{3.6}S_{1.2}$ จากนั้นค่า TS จะลดลงเมื่อปริมาณ PVA มากกว่าร้อยละ 30 เปอร์เซ็นต์การยืดตัว (Elongation; E) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 1.78-19.59% โดยแผ่นฟิล์มสาหร่ายสามารถยืดตัวได้สูงสุดในสูตร $AP_{4.8}S_{1.2}$ หรือเมื่อเพิ่มปริมาณสาร PVA เพิ่มขึ้นที่ร้อยละ 40 ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสาร PVA ในการเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์มมากขึ้น ส่วนการเพิ่มปริมาณแป้งนั้นจะทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งมากขึ้นเกิดการยืดตัวน้อยลง สอดคล้องกับค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม คือแผ่นฟิล์มมีค่า TS มากขึ้นเมื่อเปรียบกับแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณสาร PVA เท่ากัน อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR) อีกคุณสมบัติที่สำคัญของแผ่นฟิล์มที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้โดยผลการทดลอง พบว่า ค่า WVTR ของแผ่นฟิล์มสาหร่ายอยู่ในช่วง 1,664-2,063 g/m$^2$/ โดยในสูตร $AP_{2.4}S_{1.2}$ ที่มีแป้งร้อยละ 10 กับ PVA ร้อยละ 20 มีค่า WVTR สูงสุด และมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีส่วนผสมของ PVA ร้อยละ 40 ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของสาร PVA ที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) จึงละลายน้ำได้ส่งผลให้ค่า

กรมวิทยาศาสตร์

WVTR ลดลงผลการนำแผ่นฟิล์มสาหร่ายมาทดสอบการพับเป็นถุงเพาะชำและทำการซีลด้วยเครื่องซีลถุง พบว่ามี 8 สูตร ที่สามารถพับและซีลเป็นถุงเพาะชำได้ คือสูตร $AP_{3.6}S_{0.6}$, $AP_{3.6}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{0.6}$, $AP_{4.2}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{1.8}$, $AP_{4.8}S_{1.2}$, $AP_{4.8}S_{1.8}$ และ $AP_{4.8}S_{2.4}$ ที่เติมสาร PVA ร้อยละ 30 35 และ 40 หลังการทดสอบอัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติ พบว่าหลังการทดสอบ 7 วัน อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มอยู่ในช่วง 15.13-30.51% โดยสูตร $AP_{4.2}S_{0.6}$ มีการสูญเสียน้ำหนักของแผ่นฟิล์มน้อยที่สุดและเมื่อเพิ่มปริมาณของ PVA และแป้งมากขึ้น อัตราการย่อยสลายก็จะมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ

**สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ**

โครงการวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเพิ่มมูลค่าให้แก่เห็ดฟางเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางสู่เชิงพาณิชย์ โดยศึกษาการนำเห็ดฟางระยะดอกบานซึ่งเป็นระยะที่ขายไม่ได้ราคามาเป็นวัตถุดิบหลักในการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ องค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปถ่ายทอดให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกเห็ดฟางและ ผู้ประกอบการที่สนใจ สามารถสร้างธุรกิจทางการเกษตรจากเห็ดฟางได้ เพื่อยกระดับมาตรฐานคุณภาพชีวิตของเกษตรกรไทย สร้างอาชีพให้แก่คนไทยและสร้างรายได้ให้แก่ประเทศต่อไป โดยการทดลองภายใต้โครงการวิจัยนี้ประกอบด้วย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีนและการผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เทคโนโลยีและผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ได้จากโครงการวิจัยนี้เป็นเทคโนโลยีที่ไม่ซับซ้อน ปลอดภัย ราคาไม่แพง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ได้กำลังเป็นที่ต้องการของตลาด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสโซเดียมต่ำ ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากพืช ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้ความสนใจจากกระแสรักสุขภาพ รวมถึงกระแสการลดบริโภคเนื้อสัตว์ กระแสลดโลกร้อนจากการทำปศุสัตว์และโรคระบาดจากสัตว์ ล้วนช่วยส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์จากโครงการวิจัยสามารถประสบความสำเร็จในตลาดได้ อีกทั้งยังมีเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมธรรมชาติจากเห็ดฟาง ซึ่งกระแสเครื่องสำอางผสมสารสกัดจากธรรมชาติกำลังได้รับความนิยมอย่างสูงจากผู้บริโภคเช่นกัน

โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก มีวัตถุประสงค์เพื่อ จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก จนได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ ได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ ในการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่เหมาะสมแบบบ่อเปิดระดับขยายขนาด จนสามารถนำผลผลิตไปศึกษาวิธีการสกัดสารและประยุกต์ใช้ศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก และนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับเป็นอาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอางที่ได้จากการศึกษาวิจัยฉบับนี้เช่น ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวและแผ่นมาร์กหน้าที่ผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก สีผงสำหรับผสมอาหาร (สีเขียว สีส้ม และสีฟ้า) ผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าผสมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก รวมทั้งการผลิตไบโอดีเซลสำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิง และพลาสติกชีวภาพจากวัตถุดิบที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กในรูปแบบถุงเพาะชำ จากข้อมูลผลการวิจัยการแปรรูปเห็ดฟางและการผลิตสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก จนได้เทคโนโลยีด้านการแปรรูปเห็ดฟางเพื่อลดการสูญเสียของผลผลิต และเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อเปิด เพื่อถ่ายทอดให้กับกลุ่มเกษตรกรหรือผู้ประกอบการที่มีศักยภาพนำไปพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์ โดยเฉพาะเกษตรกรผู้ปลูกเห็ดฟางสามารถมีรายได้เพิ่มและสม่ำเสมอมากขึ้นจากการขายผลผลิตเห็ดฟางเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและ

กรมวิชาการเกษตร

เครื่องสำอาง ส่วนผู้ประกอบการที่สนใจการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ก็สามารถนำองค์ความรู้ด้านการเพาะเลี้ยงและการสกัดสารสำคัญไปพัฒนาต่อยอดผลิตนวัตกรรมใหม่ๆ ได้

## บทสรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุปผลการวิจัยของแผนงานวิจัย

**<u>แผนงานย่อยที่ 1 การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช</u>**

**1.1 โครงการรวบรวมและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุกรรมพืช** (2559-2564)

1.1.1 ได้เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืชรวมทั้งสิ้น 712 ตัวอย่าง โดยเก็บรวบรวมพืชสกุลมะระ (*Momordica* spp.) จากแหล่งต่างๆ ของไทย 68 ตัวอย่าง มะเขือ (*S. melongena)* 86 ตัวอย่าง พืชสกุลบวบ *(Luffa* spp.) จำนวนทั้งหมด 60 ตัวอย่าง ผักกาดกวางตุ้ง จำนวน 53 ตัวอย่าง ประกอบด้วยพันธุ์ใบ 25 พันธุ์ และพันธุ์ดอก 28 พันธุ์ รวบรวมพันธุ์พริก (*Capsicum* spp.) จำนวน 84 ตัวอย่างพันธุ์พืชสมุนไพรพิกัดเทียนสามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างและข้อมูลจำนวน 127 ตัวอย่าง แตงเทศในประเทศไทยทำการรวบรวมจำนวน 62 สายพันธุ์ และได้สายพันธุ์แท้จำนวน 15 สายพันธุ์ เพื่อเก็บเมล็ดเข้าธนาคารเชื้อพันธุ์กรมวิชาการเกษตร รวบรวมพันธุ์พืชสกุลผักโขม (*Amaranthus* spp.) ในประเทศไทยได้ทั้งหมด 217 ตัวอย่างพันธุ์ นำตัวอย่างเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จำนวน 50 ตัวอย่างพันธุ์

1.2.2 ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการใช้ประโยชน์ของพันธุกรรมพืช เพื่อจัดทำฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในการเข้าถึงและการใช้ประโยชน์ ได้แก่

- สกุลมะระ ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยารวม 59 ลักษณะ 15 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มมะระขี้นกได้เป็น 3 ขนาด คือ ขนาดเล็กจำนวน 7 ตัวอย่าง ขนาดกลางจำนวน 7 ตัวอย่าง และขนาดใหญ่ 1 ตัวอย่าง ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ
- มะเขือผลสั้น จำนวน 17 ตัวอย่าง ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา 30 ลักษณะ สามารถแบ่งมะเขือได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ ได้แก่ ผลเป็นทรงกลม ขนาดผลใหญ่, ผลเป็นทรงกลม ขนาดผลเล็ก, ผลเป็นทรงรี และมะเขือจาน
- พืชสกุลบวบ จำนวน 18 ตัวอย่าง 25 ลักษณะ แบ่งเป็น บวบหอม 13 ตัวอย่าง และบวบเหลี่ยม 5 ตัวอย่าง โดยในบวบหอมสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผลยาว ผลยาวปานกลาง และผลสั้น บวบเหลี่ยมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ บวบเหลี่ยมไร้หนามและบวบเหลี่ยมมีหนาม
- ผักกาดกวางตุ้ง พันธุ์ใบ 25 พันธุ์ และพันธุ์ดอก 28 พันธุ์ ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา 15 ลักษณะ และข้อมูลประจำพันธุ์เบื้องต้นของผักกาดกวางตุ้งพันธุ์ใบ 9 ลักษณะ และพันธุ์ดอก 16 ลักษณะ
- การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาพริกจำนวน 47 ตัวอย่างพันธุ์ ได้ข้อมูลการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งสิ้น จำนวน 60 ลักษณะ
- พืชสมุนไพรพิกัดเทียนสามารถระบุชนิดได้จำนวน 12 ชนิด พบว่าพืชสมุนไพรพิกัดเทียนจำนวน 8 ชนิด มีบันทึกแล้วในคู่มือ ขณะที่อีก 4 ชนิดมีความแตกต่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- พันธุ์แตงเทศที่จะสามารถพัฒนาไปเป็นสายพันธุ์ที่ดีได้แก่ Net Melon จำนวน 5 สายพันธุ์ Rock Melon 3 สายพันธุ์ แตงเทศผิวเรียบ 7 สายพันธุ์ ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 23 ลักษณะ และข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์แตงเทศโดยแบ่งตามลักษณะดังนี้ Net Melon จำนวน 12 สายพันธุ์ Rock Melon จำนวน 16 สายพันธุ์ และแตงเทศผิวเรียบ จำนวน 34 สายพันธุ์ และได้สายพันธุ์แท้จำนวน 15 สายพันธุ์ เพื่อเก็บเมล็ดเข้าธนาคารเชื้อพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการใช้ประโยชน์ของพันธุกรรมพืชสกุลผักโขม จำนวน 30 ตัวอย่างพันธุ์ ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา รวม 9 ลักษณะ พร้อมคุณค่าทางโภชนาการด้านโปรตีน

**1.2 โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช** (2559-2564)

1.2.1 ได้ปริมาณพิวรารินจากหัวกวาวเครือขาวที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน เพื่อขยายผลในทางเภสัชกรรม

1.2.2 ได้ข้อมูลของปริมาณสาร phaseolamin ในถั่วสกุล Phaseolus และข้อมูลของถั่วสกุล phaseolus เก็บไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

1.2.3 ได้ข้อมูลปริมาณสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ จากรากของหนอนตายหยากแต่ละชนิดที่ได้อนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชไว้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ควบคู่ไปกับการอนุรักษ์หนอนตายหยากไม่ให้สูญหายไปจากประเทศไทย

1.2.4 ได้ข้อมูลการเปรียบเทียบ ปริมาณ แป้งต้านทานการย่อย และโปรตีน ของเท้ายายม่อมที่ได้จากต่างสถานที่

1.2.5 ได้สูตรอาหารที่เติมสิ่งกระตุ้น (Salicylic acid) ในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสารสำคัญ และได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่ม เทอร์ปีนนอยด์และปริมาณวิตามินซี (โดยใช้เทคนิค HPLC) ของตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบการใช้สารกระตุ้น

1.2.6 ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้พลูคาวที่มีคุณภาพ โดยมีสารเคอร์ซิตินและรูตินในปริมาณสูงขึ้น ปราศจากการปนเปื้อนสารพิษและสิ่งเจือปน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพในการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรพลูคาวให้มีสารสำคัญสม่ำเสมอและมีปริมาณมากเพียงพอที่จะนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

**1.3 โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช** (2562-2564)

1.3.1 ได้เทคนิคที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมกับชนิดพืชในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในรูปแบบเมล็ดได้แก่ ดาวอินคา บวบหอม และงา

1.3.2 ได้เทคนิคการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก และเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของมันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย โดยรวบรวมเชื้อพันธุ์จากแหล่งต่างๆ ปลูกขยายในสภาพโรงเรือน และนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เพื่ออนุรักษ์ให้คงมีความมีชีวิต และนำไปพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

**1.4 โครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ** (2561-2564)

1.4.1 เก็บรวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพของพันธุ์พืชสวน จำนวน 5 พืช ได้แก่ ทุเรียน, เงาะ, บัว, กล้วยไม้สมุนไพร และพริก ได้ตัวอย่างพันธุ์พืชจำนวน 169, 36, 34, 40 และ 84 ตัวอย่าง ตามลำดับ;พันธุ์พืชไร่ จำนวน 2 พืช ได้แก่ มันสำปะหลัง และถั่วเหลือง ได้ตัวอย่างพันธุ์พืช จำนวน 17 และ 40 ตัวอย่าง ตามลำดับ; และพืชท้องถิ่น จำนวน 5 พืช ได้แก่ พืชวงศ์ศิลา ปัญจขันธ์ ปลาไหลเผือก หนอนตายหยาก และสะตอ ได้ตัวอย่างพันธุ์พืชจำนวน 19, 20, 63, 40 และ 16ตัวอย่าง ตามลำดับ พร้อมจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงของทุเรียน, เงาะ, บัว, พริก, มันสำปะหลัง, ถั่วเหลือง, พืชวงศ์ศิลา, ปัญจขันธ์, ปลาไหลเผือก, หนอนตายหยาก และสะตอ ได้จำนวน 120, 24, 20, 40, 84, 17, 73, 19, 20, 43, 40 และ 16 ตัวอย่าง ตามลำดับ

1.4.2 ได้ข้อมูลและลำดับ นิวคลีโอไทด์ เพื่อทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด และฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่เชื่อมโยงกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พร้อมทั้งข้อมูลเชิงวิชาการ ลักษณะเด่น และการนำไปใช้ประโยชน์ในงานด้านอนุกรมวิธานพืช ได้แก่พันธุ์ทุเรียน; พันธุ์เงาะ; พันธุ์บัว พันธุ์กล้วยไม้สมุนไพร; พันธุ์พริก; พันธุ์มันสำปะหลัง; พันธุ์ถั่วเหลือง; พืชวงศ์ศิลา; พันธุ์ปัญจขันธ์; พืชสกุลปลาไหลเผือก; พืชสกุลหนอนตายหยาก และพันธุ์สะตอ

1.4.3 ได้ดีเอ็นเออ้างอิงเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ได้แก่ทุเรียนได้ 145 ตัวอย่าง, เงาะ 34 ตัวอย่าง, บัว 162 ตัวอย่าง, กล้วยไม้ 39 ตัวอย่าง, พริก 84 ตัวอย่าง, มันสำปะหลัง 17 ตัวอย่าง, ถั่วเหลือง 40 ตัวอย่าง, พืชวงศ์ศิลา 19 ตัวอย่าง,พันธุ์ปัญจขันธ์ 20 ตัวอย่าง, พืชสกุลปลาไหลเผือก 63 ตัวอย่าง, พืชสกุลหนอนตายหยาก 35 ตัวอย่าง และสะตอ 16 ตัวอย่าง และเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ 2 พืช คือ พริก 84 ตัวอย่าง และถั่วเหลือง 59 ตัวอย่าง

1.4.5 จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของทุเรียนได้ 145 ข้อมูลพันธุ์พืช, เงาะได้ 34 ข้อมูลพันธุ์พืช, บัวได้ 34 ข้อมูลพันธุ์พืช, กล้วยไม้สมุนไพรได้ 39 ข้อมูลพันธุ์พืช, พริกได้ 71 ข้อมูลพันธุ์พืช, มันสำปะหลังได้17 ข้อมูลพันธุ์พืช, ถั่วเหลืองได้ 40 ข้อมูลพันธุ์พืช, พืชวงศ์ศิลาได้ 14 ข้อมูลชนิดพืช, ปัญจขันธ์ได้ 20 ข้อมูลพันธุ์พืช, พืชสกุลปลาไหลเผือกได้ 2 ข้อมูลชนิดพืช, พืชสกุลหนอนตายหยากได้ 6 ข้อมูลชนิดพืช และสะตอได้ 2 ข้อมูลพันธุ์พืช;และฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของทุเรียนได้ 270 ข้อมูล, เงาะได้ 187 ข้อมูล, บัวได้ 392 ข้อมูล, กล้วยไม้สมุนไพรได้ 80 ข้อมูล, พริกได้ 217 ข้อมูล, มันสำปะหลังได้68 ข้อมูล, ถั่วเหลืองได้ 120 ข้อมูล, พืชวงศ์ศิลาได้ 54 ข้อมูล, ปัญจขันธ์ได้ 78 ข้อมูล, พืชสกุลปลาไหลเผือกได้ 82 ข้อมูล, พืชสกุลหนอนตายหยากได้ 51 ข้อมูล และสะตอได้ 64 ข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

**<u>แผนงานย่อยที่ 2 พัฒนาประสิทธิภาพการผลิตเห็ดและจุลินทรีย์ เพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์</u>**

**2.1 โครงการวิจัยการพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง** (2563-2564)

1. ได้สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง จากแหล่งผลิตในประเทศไทยจำนวน 11 สายพันธุ์ คัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและสารสำคัญสูง ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และ CM2 ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์

2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในการจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม

3. ได้เห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมจากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและที่มีสารคอร์เดเซปินสูง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4 โดยนำพ่อแม่พันธุ์ไปคัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และจับคู่ผสมแบบสปอร์เดี่ยว ลูกผสมสายพันธุ์คัดเลือกที่ผ่านการประเมินผลผลิตจำนวน 22 คู่ผสม นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมจากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและที่มีสารคอร์เดเซปินสูง จำนวน 2 สายพันธุ์ดังกล่าว

4. ได้เทคโนโลยีการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยพบว่าลูกเดือยเป็นธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูงที่สุด และ เปรียบเทียบสูตรอาหาร 5 สูตร พบว่าสูตรที่ 5 เพิ่มรายละเอียดให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ อย่างไรก็ตามควรประยุกต์ใช้สูตรอาหารที่ 5 ร่วมกับสูตรอาหารที่ 1 เนื่องจากสูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูง นอกจากนี้การให้แสง LED สีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิตและสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในระดับดีกว่าแสงสีอื่น

5. เปรียบเทียบการผลิตถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าบนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตรขึ้นไป สามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์

6. ได้ขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองให้เกษตรกรและผู้สนใจโดยการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 30 คน และจัดฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting จำนวน 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรม 27 คน

**2.2 โครงการวิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจ** (2559-2563)

ได้สายพันธุ์เห็ดคัดเลือกสามารถเป็นทางเลือกในการใช้เชื้อพันธุ์เห็ดที่มีประสิทธิภาพให้ผลผลิตสูง หลากหลายและตรงความต้องการ สามารถสร้างรายได้จากการเพาะเห็ดให้สูงขึ้น จากการใช้เชื้อพันธุ์เห็ดที่เหมาะสม จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดกระดุม เห็ดฟาง เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดขอนขาว จากเชื้อพันธุ์เห็ดที่เก็บรักษาไว้หรือการรวบรวมเพิ่มเติม หรือผสมพันธุ์โดยวิธีการใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ผสมเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีคุณลักษณะและคุณภาพดีกว่าสายพันธุ์เดิมเหมาะสมกับฤดูกาลหรือสภาพแวดล้อมภายในท้องถิ่น ขณะเดียวกันเป็นการตรวจสอบความคงที่ของ

กรมวิชาการเกษตร

สายพันธุ์แนะนำเดิมของกรมวิชาการเกษตร ซึ่งสายพันธุ์เห็ดแต่ละชนิดที่ผ่านการปรับปรุงหรือคัดเลือก และเพาะทดสอบในระบบโรงเรือนทดลองแล้ว จะนำไปขยายผลหรือทดสอบการเพาะและให้ผลผลิตในสภาพโรงเรือนเพาะของฟาร์มเกษตรกรต่อไป

**2.3 โครงการวิจัยการพัฒนาการเพาะเห็ดที่มีศักยภาพ** (2559-2563)

ได้เทคโนโลยีการเพาะเห็ดต่างๆ ช่วยเพิ่มมูลค่าของเห็ดที่ผลิตได้หรือช่วยลดต้นทุนในการผลิตเห็ดชนิดนั้นๆ ได้แก่

- การเพาะเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด ด้วยการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (ซีลีเนียม) ในเส้นใยและดอกเห็ดภูฏานและเห็ดตีนแรด ซึ่งจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและมูลค่าแก่เห็ด
- การเพาะเห็ดเผาะโดยใช้ต้นกล้ายางนาเป็นพืชอาศัย ในเรือนทดลองและแปลงทดลอง
- การรวบรวมและเก็บรักษาสายพันธุ์ของเห็ดร่างแหในเขตพื้นที่ภาคใต้ จัดจำแนกสายพันธุ์ พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแหจากวัสดุการเกษตรที่เหมาะสมในเขตพื้นที่ภาคใต้
- การเพาะเห็ดฟาง โดยใช้กากเมล็ดกาแฟเป็นวัสดุทดแทนในการทำเชื้อเห็ดฟางสำหรับเกษตรกรบนที่สูงที่ปลูกกาแฟอาราบิก้า
- การเพาะเห็ดต่งฝนที่ให้ผลผลิตสูง โดยการเพิ่มปุ๋ยอินทรีย์ในดินกลบในอัตราส่วนที่เหมาะสม

**2.4 โครงการวิจัยวิจัยและพัฒนาเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้** (2562-2562)

ได้ต้นแบบเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ สามารถอัดก้อนเพาะเห็ดได้ดี มีความสามารถในการอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนยาวเฉลี่ย 213.84 และ 203.96 ก้อน/ชั่วโมง ตามลำดับ และมีความสามารถในการอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนสั้น 310.13 และ 302.03 ก้อน/ชั่วโมง ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการทำงานสูงกว่า 80% และมีความสามารถในการอัดก้อนเพาะเห็ดแบบก้อนยาวสูงกว่า 14 เท่า เมื่อเทียบกับการใช้แรงงานคน จากการทดสอบการเพาะเห็ดพบว่า เส้นใยเห็ดสามารถเดินและเจริญเต็มก้อนใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบจากลักษณะก้อนเพาะเห็ดและวัสดุเพาะเห็ด และการเพาะเห็ดแบบก้อนยาวให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าการเพาะเห็ดแบบก้อนสั้น แต่ประสิทธิภาพทางชีววิทยามีค่าใกล้เคียงกัน แต่ต้องระวังในการนึ่งฆ่าเชื้อก้อนเห็ดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน นั้นหมายความว่ากิ่งไม้หั่นย่อยสามารถใช้ทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราในการเพาะเห็ดได้ ซึ่งต้นทุนในการเพาะเห็ดลดลงมากกว่า 10% และต้นทุนของเครื่องต้นแบบมีราคาถูกกว่า 80% เมื่อเทียบกับเครื่องที่นำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นเครื่องต้นแบบสามารถลดต้นทุนการผลิตในส่วนของเครื่องมืออัดก้อนได้ โดยเครื่องต้นแบบมีราคาประมาณ 75,000 บาท

**2.5 โครงการวิจัยการใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมศัตรูพืช** (2562-2564)

1.ได้ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิตเอ็นไซม์ไคติเนสจากเชื้อราเมตาไรเซียม เพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และทดสอบในแปลงคะน้าพบว่าไคติเนสมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก การทดสอบเปรียบเทียบกับ NPV ที่ใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และสารฆ่าแมลง Emamectin benzoate ผลการทดสอบพบว่าสารฆ่าแมลงให้ประสิทธิภาพในการควบคุม

กรมวิชาการเกษตร

หนอนกระทู้ผักดีที่สุดโดยที่ให้ค่าไม่ต่างจากวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปล่อยหนอน ส่วนไคติเนสให้ผลไม่ต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์ NPV ในการควบคุมแมลง

2. ได้ไอโซเลทเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจำนวนทั้งสิ้น 29 ไอโซเลท พบว่าราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์ทั้งสามชนิด คือ เซลลูโลส อะไมเลส และเพคติเนสได้

3. ได้ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสเชื้อรา *Trichoderma* sp.ไอโซเลท TC14 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค *Phytopthora* sp. ของพริก ได้ดีในสภาพโรงเรือนทดลอง

**2.6 โครงการวิจัยการผลิตสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช** (2562-2564)

1. ได้ต้นแบบเทคโนโลยีในการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก (ALA) จากรีคอมบิแนนท์ *E. coli* โดยสามารถผลิตได้รีคอมบิแนนท์โปรตีนขนาดประมาณ 45 กิโลดาลตัน ทำให้สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์กรดอะมิโนลีวูลินิคได้ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตลอดกระบวนการผลิตโดยการใช้ชนิดของสารตั้งต้น 30 mM Glycine และ 10 mM Succinic Acid เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารในปริมาณสูง ทำให้สามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตกรดอะมิโนลีวูลินิคจากรีคอมบิแนนท์ *E. coli* ในระดับ lab scale และถังหมักขนาด 50 ลิตร ได้ในปริมาณสูง แนวทางการประยุกต์ใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร การใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำกว่า 1 mM สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช การใช้กรด 5-อะมิโนลีวูลินิค ความเข้มข้นสูงกว่า 2 mM มีผลต่อทำลายเซลล์เมมเบรนของวัชพืช (บาหยา ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ และหญ้ายาง) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ cell membrane ทำให้เกิดรอยไหม้ที่ใบมีรอยแผลสีน้ำตาล เนื้อใบมีสีซีด ใบเหี่ยวเฉาเกิดการสูญเสียน้ำและตายในที่สุด และส่งผลต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้

2. ได้ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิตสารเมลาโทนินจากจุลินทรีย์ (*E. coli*) ดัดแปลงพันธุกรรมและได้ข้อมูลปัจจัยที่เหมาะสมได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารชักนำและสารตั้งต้น ในการผลิตเมลาโทนินด้วย *E. coli* นอกจากนี้การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมลาโทนิน ได้ข้อมูลความเข้มข้นที่เหมาะสมและกระบวนการให้สารเมลาโทนินเพื่อเพิ่มความต้านทานดินเค็มของเมล็ดแตงร้านและความต้านทานแล้งของมะเขือเทศ

**<u>แผนงานย่อยที่ 3 การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก</u>**

**3.1 โครงการวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์** (2562-2564)

3.1.1 ได้สภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟาง โดยเห็ดฟางอบแห้งที่ได้มีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่ต้องการสูง มีปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานโดยเชื้อราและยีสต์ที่ทนแห้งไม่สามารถเจริญได้

3.1.2 ได้กระบวนการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำที่เหมาะสม โดยสามารถกำหนดอัตราส่วนที่เหมาะสมของเห็ดฟางอบแห้ง: ถั่วเหลือง: แป้งข้าวเจ้า จากนั้นหมักด้วยน้ำเกลือเป็นเวลา 3 เดือน และนำไปศึกษากรรมวิธีการลดโซเดียมในซอสปรุงรสจากเห็ดฟางที่ได้

กรมวิชาการเกษตร

พบว่า การลดโซเดียมโดยการใช้กลิ่นเสริมรสเค็มเป็นวิธีที่เหมาะสมในการลดโซเดียมในซอสปรุงรสจากเห็ดฟางมากกว่าวิธีลดโซเดียมด้วยการตกผลึก

3.1.3 ได้กระบวนการสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม โดยพบว่าวิธี Three-phrase partitioning (TPP) เป็นวิธีที่เหมาะสมมากกว่าวิธีละลายด้วยกรด ได้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางที่มีชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนอย่างน้อย 15 ชนิด และได้คุณสมบัติของโปรตีนตีนที่สกัดได้ คือ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน จากนั้นนำไปพัฒนาเป็นเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

3.1.4 ได้กระบวนการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยเห็ดฟางอบแห้ง และระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อย ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีปริมาณกรดอะมิโนสูง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูง นำโปรตีนไฮโดรเซทที่ได้ไปพัฒนาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์โลชันเพื่อบำรุงผิว พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชันที่ได้เป็นไปตามมาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 เรื่อง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร สามารถเก็บรักษาได้ 3 ปีโดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและผลิตภัณฑ์ที่ได้ได้รับการยอมจากผู้บริโภค

**3.2 โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก** (2559-2564)

1. ได้สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ โดยการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่
   - สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์คือ SK-QSGMF6 และ SK-KhY6
   - สายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้คือ A052
   - สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้คือ CM01-4 และ KK20
   - สายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้คือ Sm6-3
2. ได้เทคโนโลยีภาคสนามในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด
3. ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก จำนวน 7 ต้นแบบ ได้แก่
   3.1 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก
   3.2 แผ่นมาร์กหน้า ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก
   3.3. ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบการผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ สีผงแคโรทีนอยด์ และสีผงไฟโคบิลิน
   3.4 ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบผลิตภัณฑ์ซุปที่ใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความหนืด
   3.5 ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหาร
   3.6 ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลจากไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

3.7 ได้เทคโนโลยีการผลิต และต้นแบบผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

4. ได้กระบวนการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค SFE

**ข้อเสนอแนะ** (เชิงการนำไปใช้ประโยชน์ โดยบอกผลลัพธ์ (outcome) ที่มีผลกระทบในทางกว้างที่นำผลผลิตไปใช้ หรือนำไปวิจัยต่อ)

**1. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์**

**ด้านเศรษฐกิจ**

1. สร้างมูลค่าเพิ่มที่สามารถผลิตได้ภายในประเทศเพื่อให้มีผลิตภัณฑ์ตัวใหม่นำไปแข่งขันทางการตลาดสู่ตลาดโลก ได้แก่

1.1 นวัตกรรมจากสาหร่ายขนาดเล็ก : สีผงในอุตสาหกรรมอาหาร, ไบโอดีเซล, พลาสติกชีวภาพ ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเครื่องสำอาง

1.2 พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางชนิดใหม่ จากเห็ดฟางที่ตกเกรด และล้นตลาด

1.3 ปรับปรุงและคัดเลือกสายพันธุ์เห็ด และเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมกับท้องถิ่นเพื่อให้ได้ผลผลิตและคุณภาพดี มีสารสำคัญสูง

2. เกษตรกรมีรายได้สุทธิมากขึ้นจากการมีสายพันธุ์เห็ด และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดที่ให้ผลผลิตสูงคุณภาพดี และเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

3. ผู้ประกอบการแปรรูปได้รับกำไรสุทธิจากการแปรรูปสาหร่ายขนาดเล็ก และเห็ดฟาง

**ด้านสังคม**

.1. ส่งเสริมให้เกษตรกร/ชุมชนมีการรวมกลุ่ม เพื่อสร้างรายได้ในการผลิตเห็ดและแปรรูปผลิตภัณฑ์เห็ด โดยอาศัยวัสดุเพาะเห็ดในท้องถิ่นของตน ทำให้ชุมชนเข้มแข็ง สามารถพึ่งพาตนเองได้

2. กลุ่มเกษตรกรหรือสหกรณ์การเกษตร โดยเฉพาะในพื้นที่ดินเค็มที่ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากพื้นที่นั้น สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเป็นการสร้างงานและสร้างอาชีพใหม่ของเกษตรกรได้ รวมทั้งผู้ประกอบการและผู้ที่สนใจนำไปพัฒนาหรือต่อยอดผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็กในเชิงพาณิชย์

**ด้านสิ่งแวดล้อม**

1. ลดขยะให้กับชุมชน โดยใช้วัสดุทางเกษตรหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรของแต่ละท้องถิ่น เป็นอาหารทำเชื้อเพาะและวัสดุเพาะเลี้ยงในการผลิตดอกเห็ด

2. นำเห็ดฟางที่ตกเกรดแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเครื่องสำอางจากเห็ดฟาง ลดการเกิดขยะจากเห็ดฟางตกเกรด ล้นตลาด และยังเป็นการสร้างมูลค่าให้แก่เห็ดฟาง

กรมวิชาการเกษตร

**ด้านวิชาการ**

สนับสนุนองค์ความรู้ความมั่นคงทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่จะนำมาซึ่งการใช้ประโยชน์ในพืชอาหารเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ได้แก่

1. ได้เชื้อพันธุกรรมพืชที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสามารถ นำมาใช้ประโยชน์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มและใช้เป็นฐานข้อมูล ทางสัณฐานวิทยา ด้านสารสำคัญของพืชเศรษฐกิจ พืชสมุนไพร และพืชท้องถิ่น เพื่อการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ สู่นวัตกรรม สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับชุมชน

2. ได้ฐานข้อมูลพันธุกรรมของพืชสวน พืชไร่ และพืชท้องถิ่น เพื่อเชื่อมโยงกับคลังข้อมูลทรัพยากรชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

**ด้านนโยบาย**

ได้ข้อมูลสนับสนุนด้านความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์นำไปใช้ประโยชน์ ตามอนุสัญญาว่าด้วยความหลากหลายทางชีวภาพ (Conservation on Biological Diversity) ซึ่งเป็นปฏิญญาสากลของโลก มีเป้าหมาย 3 เป้าหมาย คือ การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน และการแบ่งปันการใช้ประโยชน์อย่างเท่าเทียมกัน และสอดคล้องกับนโยบายประเทศ นโยบายกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ นโยบายตามยุทธศาสตร์การวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศอีกด้วย

**กลุ่มเป้าหมายที่นำผลงานไปใช้ประโยชน์**

1. ภาคเอกชน ได้แก่ ผู้ประกอบการขายเชื้อพันธุ์เห็ด ผู้ประกอบการแปรรูปอาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรม

2. ภาคเกษตรกร ได้แก่ เกษตรกรผู้เพาะเห็ด และเกษตรกรเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

3. ภาครัฐ ได้แก่ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

4. ภาคการศึกษา ได้แก่ นักวิชาการ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา

**ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย**

นักวิชาการ และนักวิจัย นำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ โดยพัฒนาเป็นระดับภาคสนาม ได้แก่

1. การผลิตเอนไซม์ไคติเนสในรูปผงแห้ง เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
2. การผลิตเอ็นไซม์จากเชื้อไตรโครเดอร์มาในรูปผงแห้ง เพื่อใช้ควบคุมโรคพืช
3. การผลิตกรดอะมิโนลิวูลินิค (ALA) ในรูปแบบผงแห้ง
4. การผลิตสารสกัดเมลาโทนินอย่างหยาบที่ผลิตได้จาก *E. coli*
5. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและชักนำให้สร้างสารสำคัญสูง ได้แก่ พลูคาวผลิตสารเคอร์ซิตินและรูติเพิ่มขึ้น และจิงจูฉ่ายกระตุ้นการเพิ่มจำนวนต้นอย่างรวดเร็วและกระตุ้นการผลิตสารสำคัญในปริมาณสูงได้

ศูนย์วิชาการเกษตร

**2. ผลงานวิจัยที่เกิดขึ้นจริงหลังจากเสร็จสิ้นโครงการมีการขับเคลื่อนและขยายผลดังนี้**

**ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome)**

**ผลงานวิจัย**

**1. การศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแหที่เหมาะสมกับภาคใต้**

เห็ดร่างแห หรือเห็ดเยื่อไผ่ เดิมมีการนำเข้าเห็ดร่างแหชนิดอบแห้งจากจีน เฉลี่ยปีละไม่ต่ำกว่า 6,500 ตัน คิดเป็นมูลค่าการนำเข้าไม่ต่ำกว่า 1,500 ล้านบาท แต่กลับตรวจพบปริมาณสารตกค้างเกินค่ามาตรฐานที่อนุญาตให้มีการบริโภค งานวิจัยนี้ ได้สายพันธุ์เห็ดร่างแหสายพันธุ์ไทยพบในภาคใต้ และ เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดร่างแหพื้นที่ภาคใต้ โดยได้มีการเผยแพร่สายพันธุ์เห็ดร่างแหและเทคโนโลยีการเพาะ ดังนี้

**1. การจัดนิทรรศการ แปลงสาธิต** ในวันที่ 16 มกราคม 2562 ได้ถวายรายงานการจัดนิทรรศการ และแปลงสาธิตการเพาะเห็ดร่างแหสายพันธุ์ไทย แด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา เจ้าฟ้ามหาจักรี สินธร มหาวชิราลงกรณวรราชภักดี สิริกิจการิณี พิรยพัฒนรัฐสีมาคุณากรปิยชาติ สยามบรมราชกุมารี ณ โครงการฟาร์มตัวอย่างในสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ พระบรมราชชนนีพันปีหลวง อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา

**2. การจัดทำแปลงเรียนรู้** เพื่อให้เกษตรกรได้เห็นแนวทางการปฏิบัติ เรียนรู้ และนำวิธีการเพาะเห็ดร่างแห ไปประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมตามความต้องการ ดำเนินการ 2 ศูนย์ คือศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสงขลา และโครงการฟาร์มตัวอย่างในสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ พระบรมราชชนนีพันปีหลวง อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา

**3. การจัดทำแปลงขยายผล** ร่วมกับวิสาหากิจชุมชนสวนลุงวร อ.ควนเนียง จ.สงขลา เพื่อให้เกษตรกร สามารถประยุกต์ใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ ในการเพาะเห็ดร่างแหเพื่อบริโภคในครัวเรือนและเป็นรายได้เสริม ในช่วงเดือนธันวาคม 2562 – กุมภาพันธ์ 2563 ได้ผลผลิตเฉลี่ย 5 – 7 กิโลกรัม ราคาขายกิโลกรัมละ 500 บาท ซึ่งทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากอาชีพหลักเฉลี่ย 2,500-3,500 บาทต่อแปลงเพาะ โดยมีต้นทุนการผลิต 850 บาท/แปลงเพาะ และได้พัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดร่างแห ดังนี้

3.1. ผลิตภัณฑ์ทางด้านอาหาร (เห็ดร่างแหชนิดสด เห็ดร่างแหชนิดแห้ง) ซึ่งปัจจุบันนำไปจำหน่าย โดยวิสาหกิจชุมชน สวนลุงวร อ.ควนเนียง จ.สงขลา

3.2. ผลิตภัณฑ์ทางด้านเวชสำอางจากการนำเมือกของเห็ดร่างแห ซึ่งมีสารสำคัญ ได้แก่ คอลลาเจน และเอนไซม์ tyrosinase มีส่วนช่วยกระตุ้นให้เซลล์ใต้ผิวหนังของร่างกายยับยั้งการผลิตเม็ดสี และคอลลาเจน เพิ่มความแข็งแรงให้แก่ผิวหนัง โดยผู้ประกอบการ**ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชื่อการค้า Candy Keeta (เลขที่จดแจ้ง 10-1-5968736)** นำเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแห ไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มปริมาณของเมือกเห็ดร่างแห

**2. การคัดเลือกและประเมินสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อเพื่อการใช้ประโยชน์ และศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์ดีในฟาร์มเกษตรกร**

คัดเลือกสายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อที่ให้ผลผลิตและลักษณะที่ดี พบว่าเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์เป๋าฮื้อ-4 (No.14) ซึ่งมีลักษณะที่ดีตรงกับความต้องการของตลาด และให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เป๋าฮื้อ-3 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่แนะนำของกรมวิชาการเกษตรและให้บริการแก่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดก่อนหน้านี้ โดยใช้เห็ดเป๋าฮื้อ-4 (No.14) มาเป็นทางเลือกให้เกษตรกรนำไปเพาะ ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เดิม ประมาณ 7.31–88.33 กรัม/ถุง โดยทั่วไปเกษตรกรที่เพาะเห็ดเป๋าฮื้อเพื่อผลิตดอกจำหน่ายจะเพาะเห็ดอย่าง

กรมวิชาการเกษตร

น้อย 2,000 ก้อน/โรงเรือน ดังนั้นหากเกษตรกรใช้สายพันธุ์เห็ดเป๋าฮื้อ-4 จะสามารถเพิ่มผลผลิตได้ 14.62–176.66 กิโลกรัม/โรงเรือน/รอบการผลิต โดยราคาจำหน่ายเห็ดเป๋าฮื้อประมาณ 80 บาท/กิโลกรัม ส่งผลให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นประมาณ 1,170 – 14,130 บาท/โรงเรือน/รอบการผลิต เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์เดิม(เป๋าฮื้อ-3)

ผู้ใช้ประโยชน์จากงานวิจัย

ขยายผลการใช้ประโยชน์โดยใช้เห็ดเป๋าฮื้อ-4 (No.14) สู่แปลงเกษตรกรต้นแบบ จำนวน 10 ราย ดังนี้

1) คุณพงษ์ศักดิ์ ละไมพิศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง 282 แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ

2) คุณฐิติรัตน์ พ่วงโพธิ์ทอง ฟาร์มเห็ดโพธิ์ทอง 88 หมู่ 8 ต.บางบัวทอง อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี

3) คุณบุผา ฑาวุธ 625/2 ม.15 ต.คลองน้ำไหล อ.คลองลาน จ.กำแพงเพชร

4) คุณนงลักษณ์ นาคะเสถียร กรีนนรีวิลล่า 444/72 ม.6 ต.หนองอ้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

5) คุณมนต์นรินทร์ เรืองจิตต์ 748 ม.12 ต.แม่เมาะ อ.แม่เมาะ จ.ลำปาง

6) คุณมนู จงเจียมจิตต์ 44/17 ม.3 ต.สำนักท้อน อ.บ้านฉาง จ.ระยอง

7) คุณพิรญาณ์ จันทร์เขียว ศูนย์การศึกษาพัฒนาห้วยฮ้องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ต.ป่าเมียง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่

8) คุณกาญจนากร รอดแป้น 41 ม.2 ต.สร้อยฟ้า อ.โพธาราม จ.ราชบุรี

9) คุณประยุทธ์ ดวงวงค์ ฟาร์มเห็ดวารี 328 ม.7 ต.พนานิคม อ.นิคมพัฒนา จ.ระยอง

10) คุณปราโมทย์ ไทยทัตกุล 70 ม.1 ต.ท่าตะคร้อ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี

**3. <u>การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ และศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพ ของเห็ดขอนขาวลูกผสมในฟาร์มเกษตรกร</u>**

เห็ดขอนขาวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่ได้เป็นสายพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์ (Hybridization) ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เดิมเฉลี่ย 18.11 - 24.60 กรัม/ถุง โดยทั่วไปเกษตรกรที่เพาะเห็ดขอนขาวเพื่อผลิตดอกจำหน่ายจะเพาะเห็ดอย่างน้อย 2,000 ก้อน/โรงเรือน ดังนั้นหากเกษตรกรใช้สายพันธุ์เห็ดลูกผสมจะสามารถเพิ่มผลผลิตได้ 36.22 - 49.19 กิโลกรัม/โรงเรือน/รอบการผลิต โดยราคาจำหน่ายเห็ดขอนขาว 100 บาท/กิโลกรัม ส่งผลให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น 3,622 – 4,919 บาท/โรงเรือน/รอบการผลิต เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดขอนขาวสายพันธุ์เดิม

มีเกษตรกรที่ร่วมศึกษาประสิทธิภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดขอนขาวลูกผสมในฟาร์มเกษตรกร อ.เมือง และ อ. สตึก จ. บุรีรัมย์ ได้แก่ นายวีรยุทธ ปัตตายะโส และ นายณรงค์ฤทธิ์ เชิญรัมย์ ใช้สายพันธุ์เห็ดขอนขาวลูกผสม

**<u>ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact)</u>**

1. เกษตรกรและชุมชนมีรายได้เพิ่มขึ้น สามารถพึ่งพาตนเอง จากการเพาะเห็ดเป็นอาชีพหนึ่งที่จะส่งเสริมให้เกษตรกรและชุมชนเกิดรายได้ เนื่องจากใช้เงินลงทุนไม่มาก ใช้พื้นที่น้อย มีกรรมวิธีการเพาะไม่ยุ่งยาก ให้ผลตอบแทนเร็ว ประเทศไทยส่งออกเห็ดสด/เห็ดแช่เย็น คิดเป็นมูลค่า 129.03 ล้านบาท ส่งออกเห็ดแปรรูป คิดเป็นมูลค่า 416.4 ล้านบาท โดยเกษตรกรและชุมชน มีสายพันธุ์เห็ดที่ให้ผลผลิตสูงและมีลักษณะตรงความต้องการของตลาด พร้อมทั้งเทคโนโลยีการเพาะเห็ด ได้แก่ สายพันธุ์เห็ดร่างแห เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดขอนขาวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่

กรมวิชาการเกษตร

2. วิสาหากิจชุมชนสวนลุงวร อ.ควนเนียง จ.สงขลา สร้างมูลค่าเพิ่มให้เกษตรกร สามารถประยุกต์ใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ ในการเพาะเห็ดร่างแหพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดร่างแห ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ทางด้านอาหาร และผลิตภัณฑ์ทางด้านเวชสำอาง

3. ส่งเสริมให้เกิดธุรกิจชีวภาพด้วยการพัฒนาต่อยอดจากฐานทรัพยากรชีวภาพ โดยผู้ประกอบการ**ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชื่อการค้า Candy Keeta (เลขที่จดแจ้ง 10-1-5968736)** นำเทคโนโลยีการเพาะเห็ดร่างแห ไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มปริมาณของเมือกเห็ดร่างแห

4. ลดการนำเข้า และพึ่งพาตนเอง ได้แก่ การมีเห็ดร่างแหสายพันธุ์ไทย เห็ดเป๋าฮื้อสายพันธุ์คัดเลือก ลดการนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งมีการปนเปื้อนสูงเกินมาตรฐานของผู้บริโภค และมีต้นแบบเครื่องมือผลิตวัสดุเพาะเห็ดแบบก้อนยาวด้วยเกลียวอัดจากกิ่งไม้ ซึ่งสามารถลดต้นทุน และแรงงาน

5. เพิ่มศักยภาพของศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดกรมวิชาการเกษตร ในการเก็บรักษาความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรม และให้บริการเชื้อพันธุ์เห็ดให้กับเกษตรกร และใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

## บรรณานุกรม


กนกศักดิ์ ลอยเลิศ และ ศิริพร เต็งรัง. 2556. การเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพจากแป้งของพืชที่มีศักยภาพ. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2556. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 312-328.

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.

กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย. 2551. ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสาร Alpha hydroxyl acids (AHAs). กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพ.

กัญจนา ดีวิเศษ. 2542. ผักพื้นบ้านภาคกลาง. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพฯ 280 หน้า.

กันยารัตน์ เรียวกลาง, สุเมธ ตันตระเธียรและเกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2545. การสกัดโปรตีนจากข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.

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

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์. 208-220.

กุลภักดิ์ สรวมนาม. 2546. การประเมินพันธุ์ผักโขม 25 ตัวอย่าง. ปัญหาพิเศษ : ปริญญาตรีภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 15 หน้า.

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

เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ และ บูรฉัตร ศรีทองแท้. 2557. การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. ว.วิทย. มข.(2557) 42(2). 274-288.

คณะอนุกรรมการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ. 2556. *คู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำรับโรงพยาบาล จากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2555*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 164 หน้า

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. เทคโนโลยีของเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 210 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร กรุงเทพฯ. 9 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร. กรุงเทพฯ.

จิตรา สิงห์ทอง สุเวทย์ นิงสานนท์ และ Steve W. Cui. 2550. การศึกษาการสกัดองค์ประกอบและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดใบย่านาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

ชยันต์ พิเชียรสุนทร และ วิเชียร จีรวงศ์. 2547. *คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 5 คณาเภสัช*. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ. 351 หน้า.

ชานิ (นามแฝง). 2556. การปลูกสาคู. *นานาสาระเกษตร* สืบค้นจาก: http://nanasarakaset.blogspot .com/2013/04/blog-post.html. [20 เมษายน 2560].

ฎายิน ทัศนเสถียร. 2543. คุณสมบัติและการนำไปใช้ประโยชน์ของแป้งมันขี้หนู. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธนากร วงษศา หนึ่งฤทัย จักรศรี และอนุพันธ์ กงบังเกิด. 2564. ผลของความเข้มข้นสูตรอาหารร่วมกับน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาหน่ออ่อนกล้วยไข่กำแพงเพชรในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิยาลัยราชภัฏอุดรธานี*. 9(2) : 139-151.

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

ธิดารัตน์ ทองแผ่ ทัศนี ขาวเนียม และ สมปอง เตชะโต. (2558). ผลของสูตรอาหารและสภาพวางเลี้ยงต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Pisifera). *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*. 2(2): 41-45.

นพรัตน์ มะเห, ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล และอุไรวรรณ วัฒนกล. 2553. การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

นุชจรี สิงห์พันธ์ และ สุรีภรณ์ ยอดดี. 2563. การเจริญเติบโตของมันจาวพร้าวในสภาพทำเทียมความเข้มข้นของแมนนิทอลแตกต่างกัน. วารสารนเรศวรพะเยา 13(1) : 21-25.

บัวหลวง จ้อยปอย มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และภาณี ทองพำนัก. 2542. เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมที่สำคัญของพืชผัก และไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด.

บัวหลวง จ้อยปอย, ประเทือง ดอนสมไพร, มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และภาณี ทองพำนัก. 2542. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว -196 องศาเซลเซียส. หน้า 240-241. ในรวมบทคัดย่อผลงานวิจัยของคณาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาไทยในระหว่างปี 2540-2542. สำนักงานปลัดกระทรวงทบวงมหาวิทยาลัย.

ประยูร เอ็นมาก ศิริพร เต็งรัง โกเมศ สัตยาวุธ ศุภมาศ กลิ่นขจร และกนกศักดิ์ ลอยเลิศ. 2558. การผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพจากจุลินทรีย์. หน้า 637-651. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2558. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ปรัชญา คงทวีเลิศ. 2560. มหัศจรรย์งาดำ. แหล่งที่มา:, 8 มิถุนายน 2560.

ปราณี แสนวงศ์. 2550. วิธีการทำลายการพักตัวของเมล็ดพันธุ์บวบหอม. แหล่งที่มา: www.agri.ubu.ac.th/ masterstu/docs/20080430-Pranee.doc, 15 มิ.ย. 2560

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, สถาบันบัญฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ สุนทร ดุริยะประพันธ์ ทักษิณ อาชวาคม สายันต์ ตันพานิช ชลธิชา นิวาส ประกฤติ และปรียานันท์ ศรสูงเนิน. 2544. *PROSEA ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 9 พืชที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช้เมล็ด*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ. 299 หน้า.

พืชเกษตร.คอม เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย. 2557. ต้นสาคู/สาคูไทย/ปาล์มสาคู/สาคูพุทธรักษา ประโยชน์และสรรพคุณต้นสาคู. *พืชผัก/สมุนไพร*. สืบคนจาก: http://puechkaset.com/ต้นสาคู/. [25 เมษายน 2560].

เพ็ญศิริ วงษ์อาท. 2558. ถั่วดาวอินคา ปลูก 1 ไร่ ได้ 1 แสน. วารสารเศรษฐกิจการเกษตร. ปีที่ 61 ฉบับที่ 706. 60 น.

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

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย, ศิริพร ซึงสนธิพร และ กาญจนา พฤกษพันธ์ .2556. สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae (Seed Morphology of Amaranthaceae Weed). รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๖ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. น. 2083-2105.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จอยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2540ก. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. รายงานวิจัยเบื้องต้น โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี งานเก็บรักษาพันธุกรรมพืช กิจกรรมปลูกรักษา. ธันวาคม 2540.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จอยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2540ข. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมวิชาการครั้งที่ 14 เรื่องเทคนิคและวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จอยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วเหลืองฝักสดภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ณ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช จ.นนทบุรี.

ภาณี เตมีศักดิ์, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง ผันแปร และประเทือง ดอนสมไพร. 2542. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์และคัพภะพืชผักในสภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 10 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จอยปอย และ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2543. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชพื้นบานในระยะยาวนานภายใตสภาพเย็นยิ่งยวด. ในการประชุมวิชาการเมล็ดพันธุแหงชาติ ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร

ภาณี ทองพำนัก ประเทือง ดอนสมไพร มานะชัย ทองบุญรอด เนตรชนก นุ้ยสี รุ่งอาสาพหะ พัฒนธารา บัวหลวง พันแปร และสุดใจ ล้อเจริญ. 2549. ธนาคารพันธุกรรมพืช 50 ปี แห่งการวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคบรรยาย หน้า 167 - 172)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. กรุงเทพฯ. 2540. 28 หน้า

มอก เอส 15-2561.2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

เมฆ จันทร์ประยูร. 2541. *ผักสวนครัว*. โรงพิมพ์ไททรรศน์, กรุงเทพฯ. 144 หน้า.

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

ยุวดี พีรพรพิศาล และ ฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร. 2546. คู่มือปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 5. เชียงใหม่. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รังสฤษฎ์ดิ์ กาวีต๊ะ. (2541). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า.

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

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. 2535. เคมีอาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรามคำแหง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

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

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

วลัยรัตน์ จันทรปานนท์. 2549. หลักการแปรรูปผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร. ใน: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต.

วสันต์ กฤษฎารักษ์. 2544. *การปลูกผัก*. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น: นนทบุรี. 224 หน้า.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ และ เสาวรี ตังสกุล. 2544. การเปลี่ยนแปลงความชื้นและความงอกในระหว่างเก็บรักษาของเมล็ดงา 3 พันธุ์ ภายใต้สภาพความชื้นสัมพัทธ์ 4 ระดับ. หน้า 250-263. ใน : รายงานการประชุมวิชาการ งา ทานตะวัน ละหุ่ง และคำฝอยแห่งชาติ ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538. สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2542. เทคโนโลยีเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชไร่. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร โสมนะพันธุ์ และเสาวณี สุริยาภณานนท์. 2541. *สมุนไพรในสวนครัว*. เมดิคัลมีเดีย, กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

วันดี รังสีวิจิตรประภา, ไชยวัฒน์ ไชยสุต, จินตนา นภาพร, นัทที พัชราวนิช และจารุวรรณ ธนวิรุฬห์. มปป. การพัฒนาสารสกัดถั่วเหลืองบรรจุแคปซูลและการกำหนดขนาดรับประทาน สืบค้นจาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/north/research_soybean/research_soybean39.pdf [3 พฤษภาคม 2557]

วัลลภ สันติประชา. 2550. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. สงขลา: ภาควิชาพืชสาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2542. พิมพ์ครั้งที่ 5. *พจนานุกรมสมุนไพรไทย.* โรงพิมพ์อักษรพิทยา, กรุงเทพฯ. 880 หน้า.

วิทยาลัยการจัดการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2548. ธุรกิจเบเกอรี่. สืบค้นจาก: http://intranet.dip.go.th. [ก.พ. 2564].

วิทิต วัณนาวิบูล. 2552. หมอชาวบ้าน. *บวบหอม*. แหล่งที่มา: http://www.doctor.or.th/taxonomy/ term/4270, 4 ก.ย. 2552

วินัย สมประสงค์. 2550. *ความหลากหลายของพืชพื้นเมืองในประเทศไทย ชุดที่1 พืชสกุลมะเขือ*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย: กรุงเทพฯ. 50 หน้า.

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

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

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

ศัลยา คงสมบูรณ์เวช. 2547. เซซามินกับสุขภาพ. วารสารโภชนบำบัด. 15(2). 98-105.

ศิริวิมล สุขสวัสดิ์ และ วสุ ปฐมอารีย์. 2555. บทบาทของแบคทีเรียต่อพลาสติกชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 28(2): 285-304.

สนธิชัย จันทร์เปรม. 2548 การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว ในการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3. ณ อาคารประชุม 2 ศูนย์อนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ คลองไผ่. นครราชสีมา, 20-22 ตุลาคม พ.ศ. 2548 : 384-389.

สมชาติ โสภณรณฤทธิ์. (2540). การอบแห้งเมล็ดพืชและอาหารบางประเภท (พิมพ์ครั้งที่7). กรุงเทพฯ:

สาวิตรี ณ นคร และรุจิพร จาระพงศ์. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (ออนไลน์ 18 มีนาคม 2541) สืบค้นจาก: http://www.doea.go.th/LIBRARY/html/detail/Seed/MainSeed.html. [ส.ค.2562]

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ม.ป.ป. ข้อกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานสำหรับสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์. สืบค้นจาก: http://www.fda.moph.go.th/sites/food/FoodAdditives/Extract-from-the-Plant-or-Animal.pdf [ม.ค. 2565].

กรมวิชาการเกษตร

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี 2558. สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th/main.php?filename=journal_all [เม.ย. 2560].

สุชาดา บุญญูเลิศนิรันตร์. 2542. เอกสารประกอบการสอนวิชา 03-43-302 พืชน้ำมัน (oil crop). สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล กระทรวงศึกษาธิการ. ลำปาง. 211 น.

สุนันท์ พงษ์สามารถ. 2529. รายงานวิจัยเรื่อง การสำรวจคุณภาพของโปรตีนในเห็ด. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. สืบค้นจาก: https://dric.nrct.go.th/index.php?/Search/35010. [เม.ย. 2562].

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. การประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช 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.

สุมิตรา จันทร์เงา. 2556. หวนคืนสู่วัยเยาว์ กับ “สาคูวิลาส”. คนรักผัก. *มติชนเทคโนโลยีชาวบ้าน* 26(563) : 78.

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

สุริยา สาสนรักกิจ และคณะ. 2543. การผลิตสารสีธรรมชาติจากสาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

ไสว พงษ์เก่า และโสภณ สินธุประมา. 2523. สาคู. *ใน*: *สารนุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว*. เล่มที่ 5 เรื่องที่ 5 พืชหัว.: 177-181.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และ วีระชน ยานะฝั่น. 2005. ผลของแสง น้ำตาล และสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการชักนำการเกิดเหง้าจิ๋วของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. *NU Science Journal* 2(1): 73-86.

อภิชาต ศรีสะอาด และ จันทรา อู่สุวรรณ. 2556. *แนวทาง...และแบบการเพาะปลูกสารพัดมะเขือทำเงิน*. พิมพ์ครั้งที่ 1. นาคา อินเตอร์มีเดียว: กรุงเทพมหานคร. 104 หน้า.

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

อรดี สหวัชรินทร์. 2539. *หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ . 73 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

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

อุดมวิทย์ ไวทยการ กัญญารัตน์ จำปาทอง และเถลิงศักดิ์ วีระวุฒิ. 2557. ดาวอินคาพืชมหัสจรรย์สุดยอดโภชนาการ ใน จดหมายข่าวผลิใบ ปีที่ 11 เดือนพฤศจิกายน 2557

Abdelmageed, A.H.A., Q.Z. Faridah, F.M.A. Norhana, A.A. Julia and A.K. Midhzar. 2011. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(18): 4465-4469.

Adebisi, M.A., J.A. Ola, D.A.C. Zkintabi and O. Daniel. 2008. Storage life sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds under humid tropical conditions. Seed Science and Technology. 36: 379-387.

Alla, B. and M. Nina. 2012. Seed Cryopreservation of Some Medicinal Legumes. Jounal of Botany.V.2012, Article ID 186891, 7 p.

Amanda Ávila Cardoso, Amana de Magalhães Matos Obolari, Eduardo Euclydes de Lima e Borges, Cristiane Jovelina da Silva and Haroldo Silva Rodrigues. 2015. Environmental factors on seed germination, seedling survival and initial growth of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *J. Seed Sci*. [online]. 2015, vol.37, n.2, pp.111-116.

Andini R., Yoshida S., Yoshida Y., Ohsawa R.O. 2013, Amaranthus genetic resources in Indonesia: Morphological and protein content assessment in comparison with worldwide amaranths. Gen. Resour. Crop Evol. Retrieved October 10 2020, from: http://link.springer.com/ content/pdf/10.1007%2Fs10722-013-9979-y.pdf

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.

Antonieta NS. 2002 Tropical seed species responses to liquid nitrogen exposure. Braz J. Plant Physiol. 14(2) May/Aug.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis of AOAC International. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Virginia.

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Gaithersburgs, MD: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. 2005. In Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. A.O.A.C. Inc. Arlington, Virginia, USA.

AVRDC. 2004. AVRDC Report 2003. AVRDC Publication Number 04-599. Shanhua, Taiwan: AVRDC-The World Vegetable Center. 194 pp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

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.

Bartolini J.S., Hampton J.G. 1989. GRAIN AMARANTH· SEED DEVELOPMENT, YIELD AND QUALITY. Proceedings Agronomy Society NZ, Seed Technology Centre Massey University Palmerston North. 55-61.

Berjak P. and Pammenter N. W. 2008. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective. Ann. Bot.-London 101, p. 213–228.

Bewly, J.D. and M. Black.1978. Physiology and Biochemistry of seed in relation to Germination Springer-Verlag. New York. 306 p.

Bharathi, L.K., A.D. Munshi, T.K. Behera, J.K. Vinod Joseph, K.V. Bhat, A.B. Das and A.S. Sidhu. 2012. Production and preliminary characterization of novel inter-specific hybrids derived from Momordica species. Current Science 103:178–186.

Bhat, K.L. 2011. *Brinjal (Solanum melongena Linn.)*. Daya Publishing House: New Delhi, 209 p.

Borchani C., S. Besbes, C. H. Blecker and H. Attia. 2010. Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Sesame Seed, Sesame Paste, and Olive Oils. Journal of Agriculture, Science and Technology. 12: 585-596.

Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 30(1):149-165.

Bourtoom, T. and Chinan M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. LWT-Food Science and Technology. 41:1633-1641.

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

Burdon, K.L. 1946. Fatty Material in Bacteria and Fungi Revealed by Staining Dried, Fixed Slide Preparations. *Journal of Bacteriology*. 52:665-678.

Cardoso A.A., Obolari A.M.M, Silva C.J. and Rodrigues H.S. 2015. Environmental factors on seed germination, seedling survival and initial growth of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of Seed Science*, v.37, n.2, p.111-116

Casiraghi M., Labra M., Ferri E., Galimberti A. and Mattia DF. 2010. DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. Briefings in Bioinformatics 11: 440-453.

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.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Charoensub, R. and S. Phansiri. 2004. *In vitro* conservation of rose coloured leadwort: Effect of mannitol on growth plantlets. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 38: 97-102.

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.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advance*. 25:294-306.

Chmielarz, P. 2009. Cryopreservation of dormant European ash (Fraxinus excelsior) orthodox seeds. Tree Physiology. 29(10): 1279-1285.

Chmielarz, P. 2010. Cryopreservation of conditionally dormant orthodox seeds of Betula pendula. Acta Physiol Plant. 32: 591-596.

Christine, S. and L.K. Chan. 2007. Micropropagation of *Curcuma zedoaria* Roscoe and *Zingiber zerumbet* Smith. 2007. *Biotechnology*. 6(4): 555-560.

Clark, D.C.and L.N. Bass, 1975, Effect of storage Conditions packaginge materials and moisture content on longevity of crimson clover seed. Crop.Sci. 15(4): 577-580.

Coelho, S. V. B., Rosa, S. D. V. F. and Fernandes, J. S. 2017. Seed Sci. & Technol., 45, 3, 1-12. Retrieved January 19, 2022, from https://doi.org/10.15258/sst.2017.45.3.15

Copeland, L. O and McDonald, M. D. 1995. Seed longevity and deterioration. *Seed Science and Technology* (3): 191-219

Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 1985. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Company. Minnosota. 369P.

Daquinta M., Brown, K., Teixeira da Silva, J.A. and F. Sagarra. 2009. In vitro propagation of arrowroot (*Maranta arundinacea* L.). *International Journal of Plant Developmental Biology*. 3(1): 15-17.

David Morton Webb. 1985. Seed germination and seedling emergence in *Amaranthus* spp. thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Agronomy. Montana State University, Retrieved October 19 2020, from: http://scholarworks.montana.edu/xmlui/bitstream/handle/1/6292/31762100209194.pdf?sequence=1.

Delouche, JC. And C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging technique for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science. and Technology. 1:427-452.

Denise C.L., S.D. Alek and M.C. Juliana. 2014. Physiological quality of sesame seeds during storage. Artigo Cientifico. 45: 138-145.

Divakaran, M., K.N. Babu and K.V. Peter. 2006. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Scientia Horticulturae*. 110: 175-180.

Doijode, S.D. 2001. *Seed Storage of Horticultural Crops*. Food Products Press. An Imprint of The Haworth Press, Inc.: New York. 339 p.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry.* 28:350-356.

Dussert, S., Charbrillange, N., Engelmann, F., Anthony, F. and Hamon, S. 1997. Cryopreservation of coffee (Coffea Arabica L.) seeds: Importance of the precooling temperature. *Cryo-Letters* (18): 269-276

Ebert, A. W., Drummond, E. B. M., Giovannini, P. and Zonneveld, M. V. 2021. A Global Conservation Strategy for Crops in the Cucurbitaceae Family. Global Crop Diversity Trust. Bonn. Germany. 147 p.

Ebrahim, M.K.H. and I.A. Ibrahim. 2000. Influence of medium solidification and pH value on *in vitro* propagation of *Maranta leuconeura* cv. *Kerchoviana*. *Scientia Horticulturae* 86: 211-221.

Elleuch M., S. Besbes, O. Roiseux, C. Blecker and H. Attia. 2007. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. Food Chem .103(2): 641-650.

Ellis R.H., Hong T.D. and Roberts E.H. 1985. Handbook of seed Technology for Genebanks. vol.1 Principle and Methodology. Internation Board for Plant Genetic Resources, Rome. 210 p.

Engelmann F. 1997. Present Development and Use of *in vitro* Culture Techniques for the Conservation of Plant Genetic Resources. *Acta Hort*. 447: 471-475.

Engelmann, F. 2000. Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources. *Cryopreservation of tropical plant germplasm: current research progress and application*. JIRCAS: Tsukuba: 8-20

Enyiukwu, D.N., A.N. Awurum and J.A. Nwaneri. 2014. Potentials of Hausa Potato (*Solenoste mon rotundifolius* Poir.) J.K. Morton and Management of its Tuber Rot in Nigeria.Greener Journal of Agronomy, Forestry and Horticulture. 2(2) : 27-37.

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

Fanali C., Dugo, L., Cacciola, F., Beccaria, M., Grasso S., Dachà M., Dugo P. and MondelloL., 2011. Chemical characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *J. Agric. Food Chem*. 59: 13043–13049.

FAO/IPGRI. 1994. Genebank standards. FAO and IPGRI, Rome, Italy

FAOSTAT. 2017. Food and Agriculture Data. Retrieved April 20, 2017, from http://www.fao.org/ faostat/en/#data/QC

Fausto,H.C., P.Daniel,A. Adrain, and C.Z. luis. 2014. Chemical Composit, Oxidative Stability and Antioxidant Capapcity of Oil Extraction From Roasted Seed of Sacha-Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) *J. Agri. Food chem*. 62(22) 5191-5197.

Ferrari, M.P.S., D. Antoniazzi, A.B. Nascimento, L.F. Franz, C.S. Bezerra and H.M. Magalhaes. 2016. Evaluation of new protocols to *Curcuma longa* micropropagation: a medicinal and ornamental specie. *Journal of Medicinal Plants Research*. 10(25) : 367-376.

Follegatti-romero L.A., Piantino C.R., Grimaldi R. and Cabral F.A. 2009. upercritical CO2 extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia Volubilis* L.) *seeds. Journal of Supercritical Fluids*. 49(3): 323-329.

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.

Gallagher E., Gormley T.R., and Arendt E.K. 2003. Recent advance in the formulation of gluten-free cereal-base product. Yrends in food Science &Technology. 15(3-4): 143-152.

Geetha, S.P. 2002. *In vitro* technology for genetic conservation of some genera of Zingiberaceae. Ph.D. Thesis, University of Calicut, Kerala, India.

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

George, E.F., M.A. Hall and G.J. De-Klerk. 2008. Plant propagation by tissue culture. 3rd Edition. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 503 p.

Gianfranco Secchi. 2008. Role of protein in cosmetics. Article in Clinics in Dermatology.

Gimplinger D.M., Dobos G, Schönlechner R., Kaul H.-P. 2007. Yield and quality of grain amaranth (*Amaranthus* sp.) in Eastern Austria. PLANT SOIL ENVIRON. 53, 2007 (3): 105–112

Global AgriSystems. 2010. Dehulled and roasted sesame seed oil processing unit. Retrieved April 8, 2017, from http://www.mpstateagro.nic.in

Gogus Ugur and Smit Chris, 2010. n-3 Omega fatty acids: a review of current Knowledge. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 417–436.

Gomathy, V., M. Anbazhagan and K. Arumugam. 2014. *In vitro* propagation of *Curcuma longa* (Turmeric). *International Journal of Research in Plant Science*. 4(1) : 30-33.

Gonzalez-Benito, M. E., Carvalho, J. M. F. and Perez, C. 1997. Effect of dessication and cryopreservation on the germination of embryonic axes and seeds of cotton. Retrieved January 20, 2022, from https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44658 /1/Effect-of-desiccation-and-cryopreservation-on-the-germination.pdf

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

กรมวิชาการเกษตร

Grubben G.J.H.. 1993. *Amaranthus* L. *In.* Plant Resources of South-East Asia (PROSEA) No. 8. Vegetables. J.S. Siemonsma and Kasem Piluek (Editors). Pudoc Scientific Publishers, Wageningen. Netherlands. 82-86 pp.

Grubben, G.J.H. 1993. Amaranthus, Plants Resources of South East Asia 8 (Vegetable). Pudoc Scientific Publisher Wageningen. *In J*.S. Siemonsma and K. Piluek (ed.). pp. 82-86

Gutierrez L.F., Rosada, L.M., Jiménez, A., 2011. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Journal of Grasas Y Aceites*. 62(1):76-83.

Hamaker B. R., Valles C., Gilman R., Hardmeier R. M., Clark D., Garcia H. H., Gonzales A. E., Kohlstad I., Castro M., Valdivia R., Rodriguez T., and Lescano M., 1992. Amino acid and fatty acid profiles of the inca peanut (*Plukenetia volubilis*). Cereal Chemic, V. 69, P. 461-463.

Haque, S.K.M. and B. Ghosh. 2018. Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe - An aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae Family. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 21(2) : 147-153.

Hardeep Singh Gujral, Abhishek Sharma and Narpinder Singh. 2002. Effect of Hyprocolloids, storage temperature, and duration on the consistency of tomato ketchup. *International Journal of Food Properties*. 5(1):179–191.

Harrington J.F. and J.E. Douglas. 1970. Seed Storage and packing, 221 p.

Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. Seed Biology. 3: 145-246.

Hassan, N. A. and S.A. Bekheet. 2008. Mid-term Storage and Genetic Stability of Strawberry Tissue Cultures. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 4(5): 505-511

Hatice, G. and T. Ece. 2006. Change in peroxidase activities and soluble protein in strawberry varieties under salt-stress. Physilogiae Plantarum. 28: 109-116.

Hu, C.Y. and P.J. Wang. (1983). Meristem, Shoot tip and bud culture. In Envans, D.A., Sharp, W.R., Ammiratto, P.V. and Y. Yamada (Editor). Handbook of Plant Cell Culture Vol.1 (177-227). New York: Macmillan.

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.

IBPGR. 1983. Genetic Resources of Cucurbit. IBPGR secretariat, Rome, Italy. 8 p.

Iida, K., Kaewsorn, P. and S. Wongchaochant. 2020. Slow growth culture media for in vitro short-term storage of *Globba adhaerens* Gagnep. Proceeding of 58th Kasetsart University Annual Conference: Plant, Animals, Veterinary Medicine, Fisheries, Agricultural Extension and Home Economics, Bangkok, February 5-7, 2020: 223-230.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Isshiki, S., H. Okubo, N. Oda and K. Fujieda. 1994. Isozume variation in eggplant (*Solanum melongena* L.). J. Japan. Sci. Hort. Sci. 63(1): 115-120. Cited Hara, H. 1944. Taxonomic study of valuable plants I. Eggplant. *Shigenkagaku Kenkyusho Ihou*. 7 : 63-69. (In Japanese)

ISTA. 2014. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association, Switzerland.

Jianfang C., M. Rongyin, L. Lingzhi and D. Yiying. 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. Retrieved April 23, 2017, from http://www.bioversityinter national.org

Jianfung C., M. Rongyin L. Lingzhi and D. Yiying. 1998. Optimum moisture Contents of Seeds Stored at Ambient temperatures. CABI, USA.

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.

Jo, E.A., R.K. Tewari, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 96: 307–315.

Joshi, V. and S.K. Jadhav. 2013. Effect of temperature and media supplements on slow growth conservation of medicinal plant *Spilanthes acmella*. *Botanica Serbica* 37(2): 155-160.

Kadereit G., Borsch T., Weising K. and Freitag H., 2003. Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *Int. J. Plant Sci.* 164(6): 959-986.

Kambaska, K.B. and S. Santilata. 2009. Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv- Suprava and Suruchi. *Journal of Agricultural Technology*. 5(2) : 271-280.

Karthikeyan D., Muthukumaran M. and Balakumar B.S. 2016. Mass Cultivation of Microalgae in Open Raceway Pond for Biomass and Biochemicals Production. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 3(2):247-260.

Kaul H. P., Aufhammer W., Laible B., Nalborczyk E., Pirog S. and Wasiak, K.. 1996. The suitability of amaranth genotypes for grain and fodder use in Central Europe. Die Bodenkultur. 47(3): 173-181.

Kaviani, B., Abiadi, D. H., Torkashvand, A. M. and Hoor, S. S. 2009. Cryopreservation of seeds of lily [*Lilium Iedebourii* (Baker) Bioss]: Use of sucrose and dehydration. African Journal of Biotechnology Vol. 8 (16):3809-3810

Kholina, A. B. and Voronkova, N. M. 2012. Seed cryopreservation of some medicinal legumes. *Journal of Botany.* 2012: 7p

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Kim, D. O. and C. Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics. Current protocols Food Analytical Chemistry. R.E. Wrolsted, New York.

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.

Knott, J.R. Deanon. 1967. Vegetable Production in southeast Asia. University of Philippines Press, Philippines. 366 p.

Kochuthressia, K.P., S.J. Britto, L.J.M. Raj, M.O. Jaseentha and S.R. Senthilkumar. 2010. Efficient regeneration of *Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum. plantlets from rhizome bud explants. *Int. Res. J. Plant Sci*. 1(2) : 43-47.

Kress, W. J. and D. L. Erickson. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* sequences. Journal of Plant Research 109: 21-27.

Kulkarni, V.M. and T. R. Ganapathi. 2009. A simple procedure for slow growth maintenance of banana (*Musa* spp.) embryogenic cell suspension cultures at low temperature. *Current Science* 96(10): 1372-1377.

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.

Lambardi, M., Benelli, C. and De Carlo, A. 2005. Cryopreservation as a tool for the long-term conservation of woody plant germplasm: development of the technology at the CRN/IVALSA institute of Florence. *The Role of Biotechnology*: 181-182

Lavernee S. Gueco , Teresita Borromeo, Constacio De Guzman. 2016. Diversity in the morphology of Amaranth (Amaranthus sp.) germplasm Collection in the Philippines. Asian Journal of Agriculture and Food Sciences (ISSN: 2321) Volume 04 – Issue 02 April 2016

Lawrence, G., Salles, C., Palicki, O., Septier, C., Busch, J., and Thomas-Danguin, T. 2011. Using cross-modal interactions to counterbalance salt reduction in solid foods. *International Dairy Journal.* 21(2):103-110.

Lee J.Y., Y.S. Lee and E.O. Choe. 2008. Effects of sesamal, sesamin and sesamolin extracted from roasted sesame oil on the thermal oxidation of methyllinoleate. Food SciTecnol. 42:1871-1875.

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.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

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.

Liu, Z. Y., G. C. Wang and B. C. Zhou. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology.* 99(11): 4717-4722.

Makus D.J. and D.R.Davis. 1984. A mid-summer crop for fresh Green or canning; vegetable amaranth. Aek. Farm Res. 33:10.

Maria, E. G., Julita, M. F., and Cesar, P. 1997. Effect of dessication and cryopreservation on the germination of embryonic axes and seeds of cotton.

Marinho-Soriano E. 2001. Agar Polysaccharides from *Gracilaria* Species (Rhodophyta,

Martin, K.P. and A.K. Pradeep. 2003. Simple strategy for the *in vitro* conservation of *Ipsea malabarica* an endemic and endangered orchid of the Western Ghats of Kerala, India. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 74: 197-200.

Maundu P., Achigan-Dako E, and Morimoto Y., 2009. Biodiversity of African vegetables. *In: Lichtfouse*, E., Hamelin, M., Nararrete, M. and Debaeke, P. (Eds.): Sustainable Agriculture volume 2. London. EDP Sciences. Ch. III.

McDonald MB. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science Tecnology.27: 177-237.

Melton, L.D. and B.G. Smith. 2001. Determination of the uronic acid content of plant cell walls using a colorimetric assay, pp. E3.3.1-E3.3.4. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith and P. Sporns, eds. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Merrill E.D. 1936. On the Application of the Binomial *Amaranthus viridis* Linnaeus. American Journal of Botany. Vol. 23, No. 9 (Nov., 1936), pp. 609-612.

Miachir, J.I., V.L.M. Romani, A.F.C. Amaral, M.O. Mello, O.J. Crocomo and M. Melo. 2004. Micropropagation and callogenesis of *Curcuma zedoaria* Roscoe. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*. 61(4) : 427-432.

*Mitahato Education and Development Fund. n.d. Arrow root (Marantha arundinacea) framing manual. Nurturing The Roots of Change In Rural Kenya* Available Source: http://www. mitahatoedf.com /library/crop-production/.../1-arrow-root-farming. [20 April 2017]

Mlakar, S.G., Turinek M., Jakop M., Bavec M. and Bavec F.. 2010. Grain amaranth as an alternative and perspective crop in temperate climate. Journal of Geography 5: 135-145.

Montalvo-Peniche, M. del C., L.G. Iglesias-Andreu, J.O. Mijangos-Cortés, S.L. Nahuat-Dzib, F. Barahona-Pérez, A. Canto-Flick and N. Santan-Buzzy. 2007. *In vitro* germplasm conservation of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *HortScience* 42(5): 1247-1252.

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.

Moraes, R. M., Nery, F. C., Pinto, A. C. C., Paiva, R., Correa da Silva,. D. P., Paiva, P. D., and Barbosa, S. 2019. Conservation of Hibiscus acetosella germplasm by seed cryopreservation. Australian Journal of Crop Science: 372 – 378.

Mune, M. A. M., Minka, S. R., Lape, I. and Etoa, F. 2011. Nutritional potential of Bambara bean protein concentrate. *Journal of Nutrition.* 10:112-119.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15: 473-497.

Narisa, N., Beno, N., Septier, C., Salles, C., and Thomas-Danguin, T. 2011. Cross-modal interactions between taste and smell: odour-induced saltiness enhancement depends on salt level. *Food Quality and Preference*. 22(7):678-682.

Naujeer, H.B. 2009. *Morphological diversity in eggplant (Solanum melongena L.), their related species and wild types conserved at the National gene bank in Mauritius*. Master's thesis. International Master Programme at the Swedish Biodiversity Centre. CBM Swedish Biodiversity Centre No.57. 74 p.

Nguyen Thi Thanh Xuan. 2002. Evaluation of adaptation and consumer preference for amaranth. *In:* 2001 Training Report. ARC-AVRDC, Kasetsart University, Kamphaengsaen, Thailand

Nirmal B.K., S.P. Geetha, D. Minoo, P.N. Ravindran and K.V. Peter. 1999. *In vitro* conservation of germplasm. *In:* Ghosh, S.P. (ed.) Biotechnology and Its Application in Horticulture. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 106–129.

Nongmaithem, M.S., A.C. Lukram, P.D. Yendrembam, R.C.S. Wahengbam and B.S. Heigrujam. 2014. Micropropagation-an *in vitro* technique for the conservation of *Alpinia galangal*. *Advance in Applied Science Res*earch 5(3): 259-263.

Normah, M.N., M. Barbara and Y. Xiaoling. 1994. Seed Storage and Cryoexposure Behavior in Hazelnut (*Corylus avellana* L. *cv. Barcelona*). Cryo-Letters. 15: 315-322.

Norman J. C.. 1992. Tropical vegetable crops. Arthur H. Stockwell Limited, Infracombe Great Britain. 252 pp.

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.

กรมวิทยาศาสตร์

Pan, M.J. and J. van Staden. (1998). The use of charcoal in in vitro culture – *A review. Plant Growth Regulation*. 26: 155 – 163.

Panida Rattanapoltee. 2015. Upstream to downstream process for biodiesel production from extracted microalgae oil. Thesis for the degree of doctor of philosophy. Khon Kean University: Khon Kean.

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.

Pearce, K. and Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 26:716-723.

Perez, G., GB. Felix and M. Elena. 2008. Seed Cryopreservation of Halimium and Helianthemum Species. Cryo-Letters. 29(4): 271-276.

Peter, K.V., P.N. Ravindran, K.N. Babu, B. Sasikumar, D. Minoo, S.P. Geetha and K. Rajalakshmi. 2002. *Establishing in vitro conservatory of spices germplasm*. ICAR Project Report, Indian Institute of Spices Research, Calicut, Kerala India, p. 131.

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.

Prabhakaran, K.P. 2013. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger: The Invaluable Medicinal Spice Crop*. Elsevier.Press. Amsterdam. 544 p.

Preece, J.E. and E.G. Sutter. (1991). Acclimatization of mrcropropagated plants to the greenhouse and field. (pp. 71-93). In Debergh, P.C. and R.H. Zimmerman (Editor). Micropropagation. (484 p.) Netherlands: Springer Netherlands and Kluwer Academic Publishers.

processed by spray drying metho using different inlet temperature. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 116 (2018) 012076.

Puechkaset (นามแฝง). (2560). ต้นสาคู/สาคูไทย/ปาล์มสาคู/สาคูพุทธรักษา ประโยชน์และสรรพคุณต้นสาคู. สืบค้นจาก: URL. https://puechkaset.com/ต้นสาคู/. [18 พฤษภาคม 2564]

Purnamayati, L., E.N. Dewi and R.A. Kurniasih. 2017. Phycocyanin stability in microcapsules

Qinchun, R., A.K. Kamdar and T.P. Labuza. 2016. Storage stability of food protein hydrolysate; A review. *Critical review in Food Science and Nitrition.* 56(7): 1169-1192.

Qun, S., Jim-hua, W. and Bao-qi, S., 2007, Advances on Seed Vigour Physiological and Genetic Mechanisms. Agricultural Sciences in China,6: 1060-1066.

กรมวิชาการเกษตร

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.

Reuzeau, C., D. Goffner and G. Cavalie. 1992. Relations between protein composition and germination capacity of sunflower seeds. Seed Sci & Technol. 2:223-230.

Reyes, M.E.C., B.H. Gildemacher and G.J. Jansen. 1993. *Momordica* L. In: Siemonsma, J.S. & Kasem Piluek (Editors). Plant Resources of South-East Asia No 8. Vegetables. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, Netherlands. pp. 206–210.

Rikiishi, K., Matsuura, T., Ikeda, Y. and M. Maekawa. (2015). Light Inhibition of shoot regeneration is regulated by endogenous abscisic acid level in Calli derived from Immature barley embryos. *PLOS ONE*. 10(12): 1-16.

Ritland, C.E., K. Ritland and N.A. Straus. 1993. Variation in the ribosomal internal transcribed spacer (ITS1 and ITS2) among eight taxa of the *Mimulusguttatus* species complex. Molecular biology and evolution 10(6): 1273-1288.

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.

Rogers, S.O. and A.J. 1987.Bendich.Heritability and variability in ribosome RNA genes of *Viciafaba*. Genetics 117: 287-295.

Rolfs. P.H. 1919. Eggplant. p. 1101-1104. *In:* L.H. Bailey (ed.). *The standard cyclopedia of horticulture* volume 2. 3th edition. Macmillan company: London. p. 603-1200.

Royal Botany Gardens. 2008. Seed Information Database. Retrieved, April 20, 2017, from http://www. kew.org/science-conservation/research-data/resources/databases

Rozali S.E., Rashid, K.A., and R.M. Taha. 2014. Micropropagation of an exotic ornamental plant, *Calathea crotalifera*, for production of high quality plantlets. *The Scientific World Journal* 2014: 1-12.

RSA. 2010. Amaranthus. Production guideline. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries. Republic of South Africa. 24 pp.

Rudrappa U. 2009. Arrowroot nutrition facts. *Nutrition-and-You* Available Source: http://www.nutrition- and-you.com/arrowroot.html. 20 เมษายน 2560.

SABA (pseud.). 2016. 15 best benefits of arrowroot for skin, hair and health. *StyleCraze* Available Source: http://www.stylecraze.com/articles/benefits-of-arrowroot-for-skin-hair-and-health/#gref. [20 April 2017]

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.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Safwan, I.I. and U.A. Mohammed. 2016. Review on the Nutritional Value, Cultivation and Utilization Potential of Some Minor and Under-Utilized Indigenous Root and Tuber Crops in Nigeria. International Journal of Advanced Research 4(3) : 1298-1303.

Sahavacharin, O. n.d. Kasetsart Journal (Natural Science) (Thailand). *Tissue culture for conservation of perennial crops*. Available source: http://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2008/ A0806 172155107343.pdf [September 11, 2019].

Santisuk, T. and K. Larsen. 2008. Cucurbitaceae**.** *Flora of Thailand* 9 (4): 411-546.

Scaramuzzi, F. and G. Apollonio. 1997. Micropropagation of *Ctenanthe lubbersiana* Eichl. and *Maranta leuconeura* Morren var. *Tricolor*. pp. 85-95. *In*: Bajaj. Y.P.S. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 40 Hight-Tech and Micropropagation VI*. Springer: Berlin Germany. 397 p.

Segura-Nieto M., Barba de la Rosa A. P. and Paredes-Lopez. 1994. Biochemistry of Amaranth Proteins. *In:* Amaranth: Biology, Chemistry and Technology. Paredes- Lopez O. (Ed.), pp. 76-106.

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.

Shahidi, F., Han, X. Q. and Synowiecki, J. 1995. Production and Characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus Villosus*). *Food Chemistry.* 53:285-293.

Sharma, G. 2003. Digital color imaging. CRC Press, New York.

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.

Siddique, N.A., M.A. Bari, N. Kharn, M. Rahman, M.H. Rahman and S. Huda. 2003. Plant regeneration from nodal segments derived callus in *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br (Anantamul) an endangered medicinal plant in Bangladesh. *Journal of Biological Sciences.* 3: 1158-1163.

Siemonsma, J.S. and Kasem Piluek. 1994. *In Plant Resources of South-East Asia No.8 (vegetables).* Pudoc scientific publisher wageningen.The Netherlands. 412 pp.

Simin, W. 2006. *In vitro* propagation of *Maranta arundinacea* and *M. leuconcura* var. *erythroneura*. *Journal of Sichuan Normal University, Natural Science*. 2006-2

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.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Souza, D.C., Costa, P.A., Silva, L.F.L., Guerra, T.S., Resenda, L.V. and J. Pereira. 2019. Productivity of rhzaomes and starch quantification in cultures of different vegetative propagules of arrowroot. *Journal of Agricultural Science*. 11(5): 419-425.

Stallknecht, G. F and Schulz-Schaeffer, J. R. 1993, Amaranth rediscovered. *In Janick*, J and Simon, J. E. (Eds), New crops. Wiley, New York. pp 211-218.

Stanwood ,PC. and LN. Bass. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. Seed Science and Technology. 9: 423-437.

Stanwood, PC. And S. Sowa. 1995. Evaluation of onion (Allium cepa L.) seed after 10 years of storage at 5, -18 and -196 degree. Crop Science. 35 : 852-856.

Su, J.F., Huang, Z., Yuan, X.Y., Wang, X.Y. and Li, M. 2010. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. Carbohydrate Polymers. 79:145-153.

Sugri, I., F. Kusi, R.A.L. Kanton, S.K. Nutsugah and M. Zakaria. 2013. Sustaining Frafra potato (*Solenostemon rotundifolius* Poir.) in the food chain; current opportunities in Ghana. Journal of Plant Sciences. 1(4) : 68-75.

Suphat Phongthai and Saroat Rawdkuen. 2015. Preparation of rice bran protein isolates using three-phase partitioning and its properties. *Food and Applied Bioscience Journal* 3(2):137–149.

Tan, P.V. 2016. Micropropagation of Curcuma sp., a threatened medicinal plant. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 7: 418-427.

Theilade, I. 1999. A Synopsis of the *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand. *Nordic Journal of Botany*. 19(4): 389-410.

Tongdeesoontorn, W., Mauer, L.J., Wongruong, S., Sriburi, P. and Rachtanapun, P. 2011. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. Chemistry Central Journal. 5:6. Retrieved September 1, 2013, from http://journal.chemistrycentral.com/content/pdf/1752-153X-5-6.pdf.

Touchell, DH. and KW. Dixon. 1993. Cryopreservation of seed of western Australian native species. Biodiversity & Conservation. 2(6) : 594-602.

Triboun, P., K. Larsen and P. Chantaranothai. 2014. A Key to the Genus *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand with descriptions of 10 new taxa. *Thai Journal of Botany.* 6(1): 53-77.

Tsai, S. Y., Wu, T. P., Huang, S. J., and Mau, J. L. 2007. Nonvolatile taste components of Agaricus bisporus harvested at different stages of maturity. *Food Chemistry.* 103:1457-14564.

Vanisse, F.S., F.S. Juliana, G.S. Fabiano, C.C. Rafael, C.B. Adriene and A.S Vania. 2012. Cryopreservation of Quina Seed (*Strychnos pseudoquina* A. st.Hil). International Research Journal of Biotechnology. 3(4): 55-60.

Villalobos, A., Arguedas, M., Escalante, D., Martínez, J., Zevallos, B. E., Cejas, I., Yabor, L., Martínez-Montero, M. E., Sershen, Lorenzo, J. C. 20019. Cryopreservation of sorghum seeds modifies germination and seedling growth but not field performance of adult plants: *Journal of Applied Botany and Food Quality*: 92, 94 – 99. Retrieved January 20, 2022, from file:///C:/Users/ACER-35/Downloads/liddyhalm,+Layout+Editor,+Art13_ 10970 _Lorenzo% 20(2).pdf

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.

Wahyurini, E. and Susilowati. 2020. In vitro shoot induction of Garut (*Maranta arundinace*) with the addition of 2,4D and benzyl adenine. *AGRIVET* 26: 43-49.

Walters, T.W. and Decker-Walters D.S. 1988. Balsam pear (*Momordica charantia*, Cucurbitaceae). Economic Botany 42: 286–8.

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.

Wilson, D.O. and M.B. McDonald. 1986. The lipid peroxidation model of seed ageing. Seed Sci.& Technol. 14:296-300.

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

Wu Z. and P. Raven 2000. Flagellariaceae through Marantaceae**.** *Flora of China* 24: 382.

Yokotsuka, T. 2006. Soy sauce biochemistry. *Advances in Food and Nutritional Research* 30:195-329.

Yun-peng, D., L. Wen-yuan, Z. Ming-fang, H Heng-bin and J. Gui-xia. 2012. The establishment of a slow-growth conservation system *in vitro* for two wild lily species. *African Journal of Biotechnology* 11(8): 1981-1990.

Yusuf, N.A., M.M. Suffian Annuar and N. Khalid. 2011. Rapid micropropagation of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Kulturpfl. (a valuable medicinal plant) from shoot bud explants. *African Journal of Biotechnology*. 10(7) : 1194-1199.

Zaccheria, F., Psaro, R., Ravasio, N., Bondioli, P., 2012. Standardization of vegetableoils composition to be used as oleochemistry feedstock through a selective hydrogenation process. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 114: 24–30.

Zadorozhna, O.A., M.V. Gerasimov, T.P., Shiyanova and Avilova, T.O. (2014). Oilseed storage under controlled conditions. Storage Genetic Resources. 15, 132-142.

Zang, B.Z., Fu, J.R. and S.Y., Zee. 1990. Studies on cryopreservation of seeds of crops and vegetables. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni. 29(3): 115-121.

กรมวิทยาศาสตร์

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

Zheleznov A.V., Solonenko L.P. and Zheleznova N.B. 1997. Seed proteins of the wild and the cultivated Amaranthus species. Euphytica. pp. 177–182.

Zuleta, E.C., Rios, L.A., Benjumea, P.N., 2012. Oxidative stability and cold flow behavior of palm, sacha-inchi, jatropha and castor oil biodiesel blends. Fuel Process.Technol. 102: 96–101.

กรมวิชาการเกษตร