บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 วิธีการวิจัย

3.1 การศึกษาและทดสอบกระบวนการอนุรักษ์และฟื้นฟูความหลากหลายทางชีวภาพแบบมีส่วนร่วม

3.1.1 ศึกษาและทดสอบกระบวนการอนุรักษ์และฟื้นฟูความหลากหลายทางชีวภาพแบบมีส่วนร่วม

วิธีการดำเนินงาน:

1) ประมวลองค์ความรู้เกี่ยวกับแนวปฏิบัติที่ดี เงื่อนไข ปัจจัยความสำเร็จ ของการพัฒนาชุมชนตัวอย่างด้านการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพจากการศึกษาในระยะที่ผ่านมา

2) คัดเลือกชุมชนในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง อย่างน้อย 3 แห่ง โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกดังนี้

2.1) ชุมชนมีความสนใจหรือมีความโดดเด่นด้านการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและความหลากหลายทางชีวภาพของท้องถิ่น

2.2) เป็นชุมชนที่เชื่อมโยงกับแผนพัฒนายกระดับพื้นที่ หรือพื้นที่นำร่องการศึกษานิเวศบริการของ สวพส.

3) ทดสอบกระบวนการอนุรักษ์และฟื้นฟูความหลากหลายทางชีวภาพแบบมีส่วนร่วม

3.1) ประเมินสถานภาพปัจจุบันด้านทรัพยากรธรรมชาติ การใช้ประโยชน์ และการบริหารจัดการของชุมชนเป้าหมายที่คัดเลือก ตามเกณฑ์การประเมินชุมชนตัวอย่างร่วมกับกลุ่มเป้าหมาย ครอบคลุมทั้ง เจ้าหน้าที่ สวพส. ผู้นำชุมชน ปราชญ์/ผู้รู้ด้านพืชท้องถิ่น กลุ่มสตรี เยาวชน รวมทั้งผู้แทนจากหน่วยงานด้านป่าไม้ในพื้นที่ โดยมีองค์ประกอบ 5 ด้าน ได้แก่

- ชุมชนมีป่าที่เป็นแหล่งอาหารที่มีความอุดมสมบูรณ์
- ชุมชนมีการขับเคลื่อนกิจกรรมการอนุรักษ์ ฟื้นฟู แหล่งอาหารและความหลากหลายทางชีวภาพอย่างต่อเนื่อง
- ชุมชนมีการใช้ประโยชน์จากพืชท้องถิ่นในครัวเรือน/มีรายได้
- ชุมชนมีการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ด้านการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ
- ชุมชนมีการดำเนินงานเพื่อปกป้องคุ้มครองพืชท้องถิ่นและความหลากหลายทางชีวภาพ

3.2) สำรวจฐานทรัพยากรธรรมชาติด้านพืชและเห็ดท้องถิ่น ในพื้นที่ครัวเรือน พื้นที่เกษตร และป่ารอบชุมชน รวมทั้งภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์

3.3) วางแผนการดำเนินงานร่วมกับชุมชนและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อกำหนดกิจกรรมยกระดับการพัฒนาของชุมชนด้านการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และคุ้มครองฐานทรัพยากรและความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญ เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

3.4) ปฏิบัติงานตามแผนของชุมชน

3.5) ติดตาม ประเมินผล และถอดบทเรียนร่วมกัน

4) ศึกษาช่องว่าง (GAP Analysis) ระหว่างก่อนและหลังเข้าร่วมการทดสอบ

5) ถอดบทเรียนและสรุปผลการทดสอบ

3.1.2 ศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชน

พื้นที่ดำเนินงาน :

1. โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางมะโอ อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

2. โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางแดงใน อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

วิธีการดำเนินงาน:

1) คัดเลือกชุมชนตัวอย่างด้านการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์พืชท้องถิ่นและความหลากหลายทางชีวภาพบนพื้นที่สูง (ชุมชนตัวอย่าง Food bank) ในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางมะโอและปางแดงใน อย่างน้อย 3 ชุมชน

2) ประเมินมูลค่าการใช้ประโยชน์จากป่าและความหลากหลายทางชีวภาพทางตรงด้านการเป็นแหล่งผลิต (Provisioning Services) ด้วยการระดมความคิดเห็นแบบมีส่วนร่วม และการสนทนากลุ่ม โดยกลุ่มตัวอย่าง คือ ตัวแทนครัวเรือนที่ใช้ประโยชน์จากป่าและความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนที่คัดเลือก พร้อมทั้งกำหนดขอบเขตพื้นที่ป่าที่ชุมชนมีส่วนร่วมในการดูแลรักษา

บันทึกข้อมูล

(1) ข้อมูลระดับชุมชน เช่น ชื่อชนิดและกลุ่มชนิดผลผลิตจากป่าที่ชุมชนได้ใช้ประโยชน์ ลำดับความสำคัญของผลผลิตจากป่า แผนที่แสดงตำแหน่งผลผลิตจากป่าในแต่ละชนิดที่สำคัญ ค่าตอบแทนแรงงานทั่วไปในท้องถิ่น

(2) ข้อมูลระดับกลุ่มผู้ใช้ประโยชน์ (กลุ่มเก็บสมุนไพร/กลุ่มเก็บหาผักป่า/กลุ่มอื่น) เช่น ชื่อชนิดผลผลิตจากป่าที่เจาะจงเฉพาะ (สมุนไพร/ผักป่า/อื่นๆ) ช่วงเวลาการเก็บหาแต่ละชนิดหรือชั่วโมงการทำงานจากการเก็บหาของป่าแต่ละชนิด สัดส่วนปริมาณการเก็บหาแต่ละชนิดและแต่ละเดือน ราคาผลผลิตจากป่าแต่ละชนิดในตลาดท้องถิ่นตามฤดูกาล หน่วยการวัดปริมาณการเก็บหาแต่ละชนิด วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้เก็บหาผลผลิตจากป่า จำนวนและรายชื่อผู้ใช้ประโยชน์หลัก/รองแต่ละกลุ่มและแต่ละชนิดผลผลิตจากป่า

3) วิเคราะห์และสรุปผลการประเมินผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชน

3.1.3 ศึกษาการกักเก็บคาร์บอนของเศษซากพืช (Litter) ในพื้นที่ป่าไม้ สำนักงานส่วนกลาง สวพส.

พื้นที่ดำเนินงาน:

พื้นที่ป่าไม้ สำนักงานส่วนกลาง สวพส.

วิธีดำเนินงาน:

1) วางแปลงทดลองขนาด 40x40 เมตร จำนวน 5 แปลง ให้กระจายในชั้นภูมิของความหนาแน่นของพืชพรรณ (FCD)

2) ทำการสำรวจพันธุ์ไม้ยืนต้นภายในแปลง บันทึกข้อมูลชนิดพันธุ์ ขนาดความโตของต้นไม้ โดยวัดที่ตำแหน่งความสูงจากพื้นดิน 1.3 เมตร หรือตรงบริเวณที่เหมาะสม ตามเงื่อนไขที่ระบุในคู่มืออ้างอิงการพัฒนาโครงการลดก๊าซเรือนกระจกภาคสมัครใจตามมาตรฐานของประเทศไทย สาขาป่าไม้และการเกษตร โดยจะทำการวัดไม้ใหญ่ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 4.5 เซนติเมตรขึ้นไป และความสูงของต้นไม้ในแปลงตัวอย่าง

3) วิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชนิดพันธุ์ไม้ที่ขึ้นเจริญและพันธุ์ไม้เด่นในพื้นที่

4) คำนวณปริมาณการกักเก็บคาร์บอนของต้นไม้ ดำเนินการตามเครื่องมือการคำนวณการกักเก็บคาร์บอนของต้นไม้ (T-VER-S-TOOL-01-01)

5) คำนวณการกักเก็บคาร์บอนของเศษซากพืช โดยใช้ค่าที่กำหนดให้ โดยเศษซากพืชที่เกิดขึ้นในโครงการต้องไม่มีการนำออกตลอดระยะเวลาดำเนินโครงการ ดำเนินการตามเครื่องมือการคำนวณการกักเก็บคาร์บอนของไม้ตายและเศษซากพืช (T-VER-S-TOOL-01-03)

$$C_{Litter} = C_{TT} \times DF_{LI}$$

เมื่อ C_{Litter} = ปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในเศษซากพืช (ตันคาร์บอนไดออกไซด์เทียบเท่า)

C_{TT} = ปริมาณการกักเก็บคาร์บอนของต้นไม้ (ตันคาร์บอนไดออกไซด์เทียบเท่า)

DF_{LI} = ค่าคงที่สำหรับคำนวณการกักเก็บคาร์บอนในเศษซากพืช

ค่าคงที่สำหรับการคำนวณการกักเก็บคาร์บอนในเศษซากพืช (DF_{LI}) สามารถหาได้จากค่าคงที่ที่แบ่งตามความสูงจากระดับน้ำทะเล และปริมาณน้ำฝน ดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 ค่าคงที่สำหรับการคำนวณการกักเก็บคาร์บอนในเศษซากพืช (DF_{LI})

Biome	Elevation (m.)	Precipitation (mm yr-1)	DF_{LI}
Tropical	<2,000	<1,000	0.04
Tropical	<2,000	1,000-1,600	0.01
Tropical	<2,000	>1,600	0.01
Tropical	>2,000	All	0.01
Temperate/boreal	All	All	0.04

ที่มา: AR-TOOL12: A/R Methodological tool: Estimation of carbon stocks and change in carbon stocks in dead wood and litter in A/R CDM project activities (Version 03.0)

6) ปลูกกล้าไม้เสริมในพื้นที่เพื่อเป็นการเพิ่มพูนการกักเก็บคาร์บอนในป่า โดยกล้าไม้ที่นำมาปลูกมีการคัดเลือกชนิดพันธุ์ไม้ที่เหมาะสมกับระบบนิเวศเดิมในพื้นที่

7) ติดตามการรอดตายและเก็บข้อมูลการเติบโตของต้นไม้ที่ปลูกเสริมในพื้นที่

8) สรุปผลการศึกษา

3.2 การศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์และการปลูกพืชท้องถิ่นและพืชสมุนไพรที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ

3.2.1 ศึกษาและพัฒนาแหล่งรวบรวมพันธุ์พืชท้องถิ่นและพืชสมุนไพรบนพื้นที่สูงเพื่อเก็บรักษาฐานพันธุกรรมและการใช้ประโยชน์

พื้นที่ดำเนินงาน:

1. โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงสบโขง อำเภออมก๋อย จังหวัดเชียงใหม่
2. โครงการเพื่อแก้ไขปัญหาความยากจนพื้นที่เฉพาะบ้านหนองเขียว อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน
3. สำนักงานโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงลุ่มน้ำน่าน อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน

วิธีการดำเนินงาน:

1) สำรวจและคัดเลือกพื้นที่ที่เหมาะสม สำหรับพัฒนาเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์พืชท้องถิ่น โดยอาจจะเป็นพื้นที่แปลงสาธิตของโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง พื้นที่สาธารณะของชุมชน หรือพื้นที่ป่ารอบชุมชน

2) วางแผนการดำเนินงานร่วมกับชุมชนและเจ้าหน้าที่ในพื้นที่ ดังนี้

2.1) จัดเตรียมพื้นที่

2.2) กำหนดชนิดพืช โดยเน้นกลุ่มพืชท้องถิ่นหายาก พืชท้องถิ่นที่มีความต้องการใช้ประโยชน์ และพืชท้องถิ่นอัตลักษณ์บนพื้นที่สูง

2.3) จัดเตรียมพันธุ์พืชท้องถิ่นโดยการเพาะขยายพันธุ์ภายในชุมชน หรือแลกเปลี่ยนพันธุกรรมพืชกับชุมชนอื่นๆ

2.4) ดำเนินการปลูกพืชที่กำหนด และดูแลรักษาอย่างต่อเนื่อง

3) ประเมิน และสรุปผล และถอดบทเรียนร่วมกัน

3.2.2 ศึกษาปัจจัยแวดล้อม เทคนิคการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณ รูปแบบการปลูกและการจัดการพืชท้องถิ่นและพืชสมุนไพร ที่หายาก/มีคุณค่าทางเศรษฐกิจของชุมชนบนพื้นที่สูง เพื่อการอนุรักษ์ ฟื้นฟู และใช้ประโยชน์ในชุมชนอย่างยั่งยืน

1) ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ตีนฮุ้งดอย โสมซานชี และหัวข้าวเย็น

1.1) ตีนฮุ้งดอย (*Paris polyphylla* Smith.)

1.1.1) การทดสอบปลูกด้วยเมล็ด

ร่วมกับเกษตรกรอย่างน้อย 10 ราย ในพื้นที่ดำเนินงาน 2 แห่ง:

- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่จริม อ.แม่จริม จ.น่าน
- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงขุนตื่นน้อย อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่

วิธีการดำเนินงาน:

(1) รวบรวมและเตรียมเมล็ดพันธุ์สำหรับใช้ปลูกทดสอบ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รวบรวมจากพื้นที่ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

(2) เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งที่ตีนฮุ้งดอยเจริญเติบโตและส่งวิเคราะห์คุณสมบัติดินบางประการ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อินทรียวัตถุ (OM) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) เป็นต้น

(3) วางแผนการทดสอบปลูกแบบ 2x3 Factorial in CRD ซ้ำละ 5 ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ

<u>ปัจจัย A</u> ทดสอบความเหมาะสมของคุณลักษณะของดิน 2 วิธี ได้แก่

- ดินธรรมชาติ (หน้าดิน) จากพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างตีนฮุ้งดอย
- วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยดินถุง พีทมอส และทราย อัตรา 2:1:1

<u>ปัจจัย B</u> สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ด 3 วิธี ได้แก่

- IBA ความเข้มข้น 100 mg/l. + ไซโตไคนิน (BA) 100 mg/l.
- GA ความเข้มข้น 100 mg/l. + IBA ความเข้มข้น 100 mg/l. + ไซโตไคนิน (BA) 100 mg/l.
- ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

(4) ปลูกทดสอบ

- ทดสอบในกะบะปลูก หรือในกระถางแล้วฝังดิน
- ปลูกภายใต้โรงเรือนทดสอบที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 80%
- ควบคุมความชื้น (50-70%) โดยคลุมแปลงด้วยฟางข้าว และให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ

(5) บันทึกปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(6) บันทึกอัตราการงอก

(7) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.1.2) การทดสอบปลูกด้วยเหง้า

ร่วมกับเกษตรกรในพื้นที่ดำเนินงาน:

- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงป่าแป๋ อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่
- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่จริม อ.แม่จริม จ.น่าน

วิธีการดำเนินงาน:

(1) วางแผนการทดสอบปลูกแบบ 2x3 Factorial in CRD ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ

ปัจจัย A ทดสอบความเหมาะสมของคุณลักษณะของดิน 3 วิธี ได้แก่

- ดินธรรมชาติ (หน้าดิน) จากพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างตีนฮุ้งดอย
- วัสดุปลูกประกอบด้วยดินถุงผสมพร้อมปลูก ปุ๋ยหมักปุ๋ยคอก ซากพืช(แหนแดง-ซากพืชตระกูลถั่ว) และแกลบดำ อัตรา 1:1:1:1
- วัสดุปลูกประกอบด้วยดินธรรมชาติ ปุ๋ยหมักปุ๋ยคอก ซากพืช(แหนแดง-ซากพืชตระกูลถั่ว) และแกลบดำ อัตรา 1:1:1:1

ปัจจัย B การใช้เชื้อไมคอร์ไรซา 2 วิธี ได้แก่

- ผสมเชื้อไมคอร์ไรซาชนิดเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ในดินหรือวัสดุปลูก เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มศักยภาพในการผลิต
- ไม่ผสมเชื้อไมคอร์ไรซาในดินหรือวัสดุปลูก

(2) ปลูกทดสอบโดย

- ใช้ต้นกล้าอายุ 1-2 ปี ที่มีขนาดเหง้าใกล้เคียงกัน
- ป้องกันโรคพืชด้วย ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคพืช พีพี-สเตร็บโต (สเตร็ปโตมัยซิส)
- ทดสอบในแปลง กะบะปลูก หรือในกระถางแล้วฝังดิน
- ปลูกภายใต้โรงเรือนทดสอบที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 80%
- ควบคุมความชื้น (50-70%) คลุมแปลงด้วยฟางข้าวและให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ

(3) บันทึกปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(4) บันทึกอัตราการรอดตาย

(5) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.1.3) ติดตามผล: การทดสอบปลูกด้วยเมล็ดตีนฮุ้งดอย ปี 2567 ณ บ้านสามหลัง ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยส้มป่อย

(1) ทดสอบ 2 ปัจจัย จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัวอย่าง คือ

ปัจจัย A การจัดการเมล็ดก่อนทดสอบ 4 วิธีการ คือ

- ฝนเมล็ด
- น้ำร้อน 50 °C
- แกะเปลือก
- Control (ไม่แกะเปลือก)

ปัจจัย B การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 4 วิธีการ คือ

- GA_3 ความเข้มข้น 50 mg/l.
- GA_3 ความเข้มข้น 100 mg/l.
- GA_3 ความเข้มข้น 100 mg/l. + IBA ความเข้มข้น 100 mg/l.
- Control (ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต)

(2) บันทึกอัตราการรอดตาย

(3) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.2) โสมซานซี

1.2.1) ศึกษาข้อมูลทางกายภาพและสภาพแวดล้อมของโสมซานซี สายพันธุ์ *Panax siamensis* J. Wen. ที่เจริญเติบโตในถิ่นอาศัย อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

วิธีการดำเนินงาน:

(1) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (Morphology) จากโครงสร้างภายนอก ได้แก่ ลำต้นเหนือดิน ใบ และดอก เพื่อบรรยายรายละเอียด (Description) ได้แก่ บันทึกลักษณะเชิงปริมาณ บันทึกลักษณะเชิงคุณภาพ

(2) ศึกษาและบันทึกสภาพแวดล้อมที่โสมซานซีเจริญเติบโต ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(3) เก็บตัวอย่างดินที่โสมซานซีเจริญเติบโตและวิเคราะห์คุณสมบัติดินบางประการ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อินทรียวัตถุ (OM) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) เป็นต้น

(4) ศึกษาวงจรการเจริญเติบโต บันทึกการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาการของลำต้นเหนือดิน ตั้งแต่พ้นการพักตัว เช่น การแทงหน่อ การเติบโตของต้นและใบ และการออกดอก เป็นต้น

1.2.2) ศึกษาการเพาะเมล็ด (Sexual propagation)

พื้นที่ดำเนินงาน:

โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางยาง อ.ปัว จ.น่าน

วิธีการดำเนินงาน:

(1) รวบรวมและเตรียมเมล็ดพันธุ์สำหรับทดสอบการเพาะขยายพันธุ์

(2) วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in CRD ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ

ปัจจัย A การจัดการเมล็ด 3 วิธี ได้แก่

- แช่กรดเข้มข้น นาน 30 นาที
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
- ชุดควบคุม

ปัจจัย B สารควบคุมการเจริญเติบโต 3 วิธี ได้แก่

- GA ความเข้มข้น 100 mg/l. + IBA ความเข้มข้น 100 mg/l.
- GA ความเข้มข้น 100 mg/l. + IBA ความเข้มข้น 100 mg/l. + ไซโตไคนิน (BA) 100 mg/l.
- ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

(3) ปลูกทดสอบโดย

- ทดสอบในแปลง กะบะปลูก หรือหรือในกระถางแล้วฝังดิน
- วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยดินถุง พีทมอส และทราย อัตรา 2:1:1
- ปลูกภายใต้โรงเรือนทดสอบที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 80%
- ควบคุมความชื้น (50-70%) โดยคลุมแปลงด้วยฟางข้าว และให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ

(4) บันทึกปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(5) บันทึกอัตราการงอก

(6) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.2.3) ศึกษาการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเหง้า

พื้นที่ดำเนินงาน:

ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยส้มป่อย อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

วิธีการดำเนินงาน:

(1) รวบรวมและเตรียมเหง้าพันธุ์สำหรับทดสอบการเพาะขยายพันธุ์

(2) วางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial in CRD ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ

ปัจจัย A ทดสอบความเหมาะสมของคุณลักษณะของดิน 2 วิธี ได้แก่

- ดินธรรมชาติ (หน้าดิน) จากพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างโสมซานซี
- วัสดุปลูกประกอบด้วยดินถุงผสมพร้อมปลูก ปุ๋ยหมักปุ๋ยคอก ซากพืช(แหนแดง-ซากพืชตระกูลถั่ว) และแกลบดำ อัตรา 1:1:1:1

ปัจจัย B การแบ่งเหง้า 2 วิธี ได้แก่

- แบ่งเหง้าตามขวาง
- แบ่งเหง้าตามแนวเฉียง

(3) ปลูกทดสอบโดย

- ทดสอบในแปลง กะบะปลูก หรือหรือในกระถางแล้วฝังดิน
- ปลูกภายใต้โรงเรือนทดสอบที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 80%
- ควบคุมความชื้น (50-70%) โดยคลุมแปลงด้วยฟางข้าว และให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ

(4) บันทึกปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(5) บันทึกอัตราการงอกและ/หรือผลการเจริญเติบโตของโสมซานซี เช่น ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวหัว เส้นผ่านศูนย์กลางหัว เป็นต้น

(6) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.1.3) ติดตามผล: การทดสอบปลูกด้วยเมล็ดโสมซานซี ปี 2567 ณ บ้านสามหลัง ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยส้มป่อย

(1) ทดสอบ 2 ปัจจัย จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง คือ

ปัจจัย A การจัดการเมล็ดก่อนทดสอบ 2 วิธีการ คือ

- น้ำร้อน 50 ^{o}C
- Control (ไม่แกะเปลือก)

ปัจจัย B การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 วิธีการ คือ

- GA_3 ความเข้มข้น 100 mg/l. + IBA ความเข้มข้น 100 mg/l.
- Control (ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต)

(2) บันทึกอัตราการรอดตาย

(3) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

1.3) หัวข้าวเย็น

1.3.1) คัดเลือกชุมชนและพื้นที่ระดับความสูงตั้งแต่ 300-1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง (เมตร MSL) ที่เหมาะสมกับทดสอบปลูกและการเจริญเติบโตของพืช

พื้นที่ดำเนินงาน:

- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงห้วยเป้า อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่
- โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางยาง อ.ปัว จ.น่าน

1.3.2) เก็บตัวอย่างดินและส่งวิเคราะห์วิเคราะห์คุณสมบัติดินบางประการ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อินทรียวัตถุ (OM) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) เป็นต้น

1.3.3) การทดสอบปลูกด้วยเหง้า

(1) วางแผนการทดสอบปลูกแบบ 2x3 Factorial in CRD ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำ

<u>ปัจจัย A</u> ชนิดพันธุ์หัวข้าวเย็น 3 ชนิด ได้แก่

- หัวข้าวเย็นสกุล *Smilax* เหง้าสีขาวเถาไม่มีหนาม
- หัวข้าวเย็นสกุล *Smilax* เหง้าขนาดใหญ่สีแดงใบยาวหลังใบหม่นเถาไม่มีหนาม
- หัวข้าวเย็นสกุล *Pygmaeopremna* เหง้าสีเหลือง (ไม้พุ่ม)

<u>ปัจจัย B</u> ทดสอบความเหมาะสมของคุณลักษณะของดิน 2 วิธี ได้แก่

- ดินธรรมชาติ (หน้าดิน) ใช้ดินจากพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างตีนฮุ้งดอยและโสมซานซี
- วัสดุปลูกประกอบด้วยดินถุงผสมพร้อมปลูก ปุ๋ยหมักปุ๋ยคอก ซากพืช(แหนแดง-ซากพืชตระกูลถั่ว) และแกลบดำ อัตรา 1:1:1:1

(2) ปลูกทดสอบโดย

- ปลูกในกระถาง ภายใต้โรงเรือนทดสอบที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 50%
- ควบคุมความชื้น (50-70%) และให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ

(3) บันทึกปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศ และความชื้นสัมพัทธ์

(4) บันทึกผลการเจริญเติบโตของหัวข้าวเย็น เช่น ความยาวหัว เส้นผ่านศูนย์กลางหัว เป็นต้น

(5) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลการทดสอบ

2) ศึกษาวิเคราะห์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น ของโสมซานชี (โดยคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

2.1) เตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาจากพื้นที่ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

นำตัวอย่างพืชมาทำการลดขนาด และสกัดด้วยวิธีการที่เหมาะสม

2.2) การทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

สารที่ใช้ทดสอบ

1. ตัวอย่างโสม
2. สารมาตรฐาน Gallic acid (GA), Trolox และ Ascorbic acid

สารเคมีที่ใช้

1. น้ำกลั่น
2. Folin ciocalteau reagent (Dilute 1:10 ด้วย de-ionized water)
3. Na_2CO_3 (Sodium carbonate 1M)

เครื่องมือที่ใช้ : Microplate reader Sp (220-1000 nm)

วิธีทำการทดลอง

การหา Total phenolic content

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin Ciocalteu reagent โดยการเติมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 12.5 ul ผสมเข้ากับ Folin Ciocalteu reagent ปริมาตร 125 ul ความเข้มข้น 1:10 (v/v) ที่เจือจางด้วย Distilled water และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 100 ul ความเข้มข้น 1 M ตั้ง incubate บน water bath อุณหภูมิ 45 °c เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟินอลิครวมทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิค (Gallic acid) ที่เตรียมได้จากความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 mg/L ในเมทานอลต่อน้ำ (50:50 v/v) เตรียม Stock solution ของสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 60 mg/ml รายงานผลเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด (Gallic acid equivalent, GAE)

2.3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยด้วยวิธี DPPH assay

สารเคมีที่ใช้

1. Absolute ethanol: ตัวทำละลาย DPPH
2. Microplate (96-well plate)

เครื่องมือที่ใช้ : Microplate reader Sp (220-1000 nm)

วิธีทำการทดลอง

1. เตรียม Stock DPPH solution ความเข้มข้น 2.4 mg/ml ด้วยตัวทำละลาย ethanol และเจือจางจนมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.9-1.0 ที่ความยาวคลื่น 520 nm

2. เตรียม Stock solution ของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml แล้วทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.008-0.1 mg/ml

3. ผสมสารละลายข้อ 1 ปริมาตร 180 µl กับ สารละลายข้อ 2 ปริมาตร 20 µl ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 520 nm

4. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้หลังการทำปฏิกิริยามาคำนวณ % Inhibition ตามสมการดังต่อไปนี้

โดย % inhibition = [(A control – A sample)/A control]×100

เมื่อ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS solution

At = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารมาตรฐาน หรือ ตัวอย่าง

5. นำค่า % Inhibition และ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ที่ได้มา plot graph เพื่อหาความสัมพันธ์

6. เตรียม Stock solution ของสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 60 mg/ml แล้วทำการวัดฤทธิ์ตามข้อ 3-5

7. คำนวณ และรายงานผลเป็น TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

2.4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS scavenging assay

สารเคมีที่ใช้

1. Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$)
2. Microplate (96-well plate)

เครื่องมือที่ใช้ : Microplate reader Sp (220-1000 nm)

วิธีทำการทดลอง

1. เตรียม Stock ABTS solution ด้วยสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mg/mL และ Potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mg/ml ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ 1 วัน และเจือจางจนมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.7-0.9 ที่ความยาวคลื่น 734 nm

2. เตรียม Stock solution ของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL แล้วทำการเจือจางให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-1.0 mg/ml

3. ผสมสารละลายข้อ 1 ปริมาตร 2,000 µl กับ สารละลายข้อ 2 ปริมาตร 20 µl ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 nm

4. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้หลังการทำปฏิกิริยามาคำนวณ % Inhibition ตามสมการดังต่อไปนี้

โดย % inhibition = [(A control – A sample)/A control]×100

เมื่อ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS solution

At = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารมาตรฐาน หรือ ตัวอย่าง

5. นำค่า % Inhibition และ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ที่ได้มา plot graph เพื่อหาความสัมพันธ์

6. เตรียม Stock solution ของสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 120 mg/ml แล้วทำการวัดฤทธิ์ตามข้อ 3-5 คำนวณ และรายงานผลเป็น TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

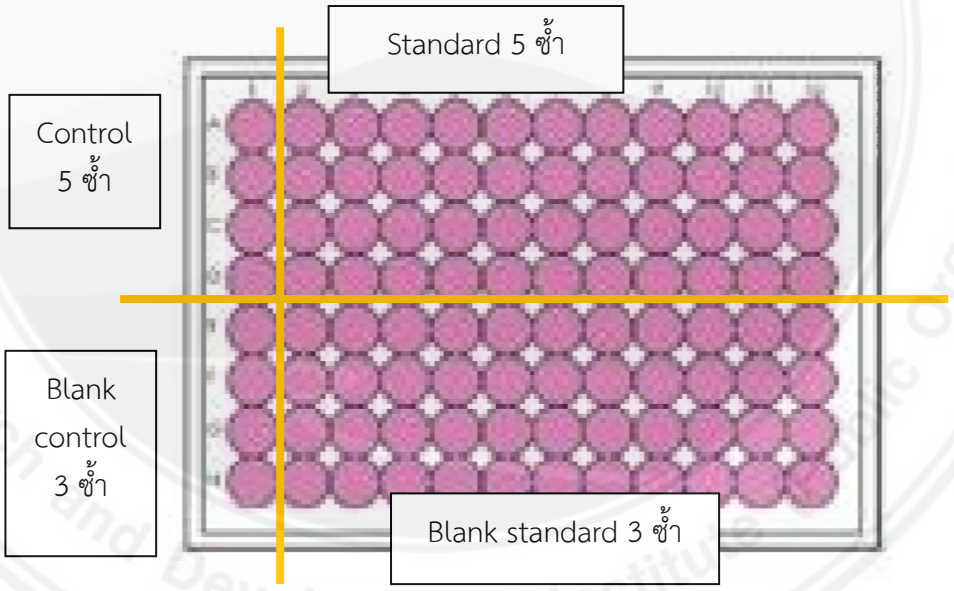
2.5) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Nitric Oxide

สารเคมีที่ใช้

1. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 M
2. สารละลาย sodium nitroprusside 20 mM
3. 2% phosphoric acid in DI water
4. 0.1% w/v NED in 2% phosphoric acid
5. 1% w/v sulfanilamide in 2% phosphoric acid
6. Griess reagent (0.1% NED กับ 1% sulfanilamide มาผสมกัน)
7. สารมาตรฐาน ascorbic acid
8. Microplate (96-well plate)

เครื่องมือที่ใช้ : Microplate reader Sp (220-1000 nm)

วิธีทำการทดลอง



หยอดใส่หลุมตามด้านบน โดยปริมาตรที่ใส่มีดังนี้

Control = sodium nitroprusside 75 µl + 20% DMSO in PBS 75 µl

Blank control = 20% DMSO in PBS 75 µl + PBS 75 µl + 2% phosphoric acid 75 µl

Standard = Standard 75 µl + sodium nitroprusside 75 µl

Blank standard = Standard 75 µl + PBS 75 µl + 2% phosphoric acid 75 µl

จากนั้นตั้งทิ้งไว้บน water bath แบบไม่กันแสงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และเติม Griess reagent ลงไปในหลุม control และ standard หลุมละ 75 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน โดย shaking ที่เครื่อง 400 rpm 60 วินาที จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 562 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

<u>คำนวณ % Inhibition</u>

$= (A_0\text{-}A_1/A_0) \times 100$

โดยที่ A_0 = absorbance ของ control (Control – Blank control)

A_1 = absorbance ของสารตัวอย่าง (Sample – Blank sample)

พลอตกราฟ, แกน y = %Inhibition, แกน x = ความเข้มข้น โดยเลือกใช้กราฟแบบ polynomial เตรียม Stock solution ของสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 60 mg/ml คำนวณ และรายงานผลเป็น Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity

2.5) การตรวจสอบปริมาณซาโปนินรวมด้วย Spectroscopic technique

เครื่องมือและอุปกรณ์

- หลอดทดลอง+Rack
- Water bath
- Spectrophotometer
- Micropipette
- Beaker
- Analytical balance
- Volumetric flask

สารเคมี

- สารมาตรฐาน Diosgenin
- 8% Vanillin in Ab.Ethanol
- perchloric
- glacial acetic acid
- Ab.Ethanol

การเตรียมตัวอย่างและสารละลาย

1. สารสกัด = ชั่งสารสกัด 20 mg ละลายด้วยตัวทำละลาย Ethanol 1 ml (20 mg/ml)

2. สารมาตรฐาน (Stock conc.1 mg/ml)

= ชั่ง Diosgenin 10 mg ละลายด้วย Ethanol แล้วปรับปริมาตรจนครบ 10 ml

เตรียม working std. ความเข้มข้น 5 – 100 ug/ml (ปริมาตร 1 ml)

Std.curve (mg/ml)	ดูดจาก Stock 1 mg/ml (ul)	Ab.Ethanol (ul)	หมายเหตุ
5	3	497	
10	5	495	
25	13	487	
50	25	475	
75	38	462	$C_1V_1 = C_2V_2$
100	50	450	
	ใช้ stock = 6.75 ml		

3. Reagent

- 8% Vanillin in Ab.Ethanol

= ชั่ง Vanillin 2 กรัม ละลายใน Ab.Ethanol แล้วปรับปริมาตรจนครบ 25 ml

ตารางทดสอบ

Control + Ethanol 50 ul + 8% Vanillin in Ab.Ethanol 200 ul + perchloric 800 ul + glacial acetic acid 5 ml	**Sample/std** + Sample 50 ul + 8% Vanillin in Ab.Ethanol 200 ul + perchloric 800 ul + glacial acetic acid 5 ml
Blank Control + Ethanol 50 ul + Ab.Ethanol 200 ul + Water 5.8 ml	**Blank Sample** + Sample 50 ul + Ab.Ethanol 200 ul + Water 5.8 ml

*ปริมาตรรวมต่อหลอด = 6,050 ul

วิธีการทดสอบ

1. ดูด(สารตัวอย่าง/std.) ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 50 ul ตามด้วย 8% Vanillin in Ab.Ethanol ปริมาตร 200 ul เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่อง Vortex เติม perchloric 800 ul และเขย่าผสมกันด้วยเครื่อง Vortex

2. นำไปทำปฏิริยาอุ่นใน Water bath อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 15 นาที

3. นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งประมาณ 30 วินาที

4. เติม glacial acetic acid ลงไป 5 ml และเขย่าด้วยเครื่อง Vortex

3. นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

4. คำนวนปริมาณซาโปนินรวม (mg DE/g) (Milligram of Diosgenin equivalent(DE)/gram dry weight)

3.3 การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดท้องถิ่นร่วมกับการปลูกป่าและไม้เศรษฐกิจ

3.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชนิดอาหารแข็งที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณหัวเชื้อ/รูปแบบหัวเชื้อเห็ดภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ

1) ศึกษาชนิดอาหารแข็งที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตีนแรด

พื้นที่ดำเนินการ:

ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

วิธีดำเนินงาน:

1.1) เตรียมดอกเห็ดสด/เส้นใยเห็ดสด จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตีนแรด ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง

1.2) เปรียบเทียบชนิดของอาหารแข็งที่แตกต่างกัน 8 ชนิด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) จำนวน 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 plates ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 Potato Dextrose Agar (PDA) (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 Potato Glucose Agar (PGA)
กรรมวิธีที่ 3 Potato Carrot Agar (PCA)
กรรมวิธีที่ 4 Malt Agar (MA)
กรรมวิธีที่ 5 Modified Melin-Norkrans Medium (MMN)
กรรมวิธีที่ 6 Malt Extract Agar (MEA)
กรรมวิธีที่ 7 Oat Meal Agar (OMA)
กรรมวิธีที่ 8 Yeast Extract Agar (YEA)

จากนั้นใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเส้นใยบริเวณขอบของโคโลนี จากข้อ 1.1) แล้วใช้เข็มเขี่ยวุ้นที่มีเส้นใยเห็ด จำนวน 1 ชิ้น วางตรงกลางของจานเพาะเชื้อ ขนาด 90x15 มิลลิเมตรของแต่ละกรรมวิธี เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง

1.3) เมื่อครบกำหนด วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย (เซนติเมตร) และบันทึกลักษณะของเส้นใยเห็ดบนอาหารแต่ละชนิดในแนวรัศมีทุก 7 วัน จนเส้นใยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวัดการเจริญของเส้นใยเห็ดตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และตรวจสอบความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ (- ไม่เจริญ, + หนาแน่นน้อย, ++ หนาแน่นปานกลาง และ +++ หนาแน่นมาก)

1.4) วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผลอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับเส้นใยเห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตีนแรด

1.5) วิเคราะห์ข้อมูลค่าความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) และสรุปผลอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับเส้นใยเห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตีนแรด

2) การศึกษาวัสดุเพาะเชื้อเห็ดเผาะ (เห็ดป่าไมคอร์ไรซา) ที่เหมาะสมสำหรับทำหัวเชื้อขยาย

พื้นที่ดำเนินการ :

ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

วิธีดำเนินงาน:

2.1) เตรียมเส้นใยเห็ดเผาะที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง 14 วัน สำหรับใช้ในการทดสอบวัสดุเพาะที่เหมาะสมสำหรับทำหัวเชื้อขยาย

2.2) เตรียมวัสดุเพาะเชื้อที่แตกต่างกัน 4 กรรมวิธี โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) จำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ดินร่วน (ชุดควบคุม) + Potato Dextrose Broth (PDB)

กรรมวิธีที่ 2 ดินร่วนผสมเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 1:2 + PDB

กรรมวิธีที่ 3 ดินร่วนผสมเพอร์ไลท์ อัตราส่วน 1:2 + PDB

กรรมวิธีที่ 4 ดินร่วนผสมเวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ อัตราส่วน 1:1:1 + PDB

นำวัสดุเพาะเชื้อแต่ละกรรมวิธีผสมให้เข้ากัน เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) เพื่อให้มีความชื้น 50-60% จากนั้นบรรจุในขวดโหลแก้ว ขนาด 24 ออนซ์ (720 ml.) อัดวัสดุให้แน่นพอสมควร ให้ระดับความสูงของวัสดุเพาะเลี้ยงเท่ากัน ปิดด้วยฝาเกลียวล็อค แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จึงเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ที่เลี้ยงไว้ในอาหารวุ้น PDA โดยการใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเส้นใยบริเวณขอบของโคโลนี จากข้อ 2.1) แล้วใช้เข็มเขี่ยวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดใส่ลงในขวดโหลแก้ว จำนวน 4 ชิ้นต่อขวด

2.3) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูลการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะในวัสดุเพาะแต่ละชนิด ทุกๆ 7 วัน จนกว่าเส้นใยจะเจริญเต็มขวด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และตรวจสอบความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดในวัสดุเพาะเชื้อ (- ไม่เจริญ, + หนาแน่นน้อย, ++ หนาแน่นปานกลาง และ +++ หนาแน่นมาก)

2.4) วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผลวัสดุเพาะที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อขยายของเส้นใยเห็ดเผาะ

3.3.2 ศึกษาและพัฒนาแปลงตัวอย่างการเพาะเห็ดป่าไมคอร์ไรซา ร่วมกับการปลูกป่า/ไม้เศรษฐกิจ

พื้นที่ดำเนินงาน:

1) โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงห้วยเป้า อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

2) โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางแดงใน อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

3) โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงวาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย

4) โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงโป่งคำ อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน

5) โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่จริม อำเภอแม่จริม จังหวัดน่าน

วิธีดำเนินงาน:

การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของการเพาะเห็ดป่าไมคอร์ไรซา ร่วมกับการปลูกพืช/ไม้เศรษฐกิจ **(แปลงใหม่)**

1) คัดเลือกพื้นที่สำหรับทำพื้นที่ต้นแบบในการเพาะเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 3 ชนิด (เห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตับเต่า) แบบจำลองธรรมชาติ อย่างน้อย 5 แห่ง ร่วมกับเกษตรกร ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และน่าน ร่วมกับเกษตรกรอย่างน้อย 15 ราย

2) คัดเลือกชนิดไม้ร่วมกับเกษตรกร ประกอบด้วย กลุ่มพืชท้องถิ่น กลุ่มไม้ผล/กาแฟ และไม้ป่ายืนต้น (ไม้มีค่า) สำหรับจัดทำแปลงต้นแบบการปลูกแบบผสมผสาน ร่วมกับการเพาะเห็ดป่าไมคอร์ไรซา

3) จัดเตรียมกล้าไม้ที่คัดเลือกไว้ และใส่เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา (โดยคัดเลือกรูปแบบชนิดหัวเชื้อขยายที่เหมาะสม จากข้อ 1) อย่างน้อย 2 ครั้ง ในระยะกล้า เพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อเห็ดเจริญติดที่ระบบรากของพืชอาศัยก่อนนำไปปลูก

3.1) เห็ดตับเต่า

- กลุ่มพืชท้องถิ่น เช่น น้อยหน่าเครือ ลิงลาว เชียงดา ผักกูด หว้า มะกอกน้ำ ชาอัสสัม มะนาว มะกรูด และผักหวานป่า เป็นต้น
- กลุ่มไม้ผลและกาแฟ เช่น อะโวคาโด ส้มโอ น้อยหน่า ขนุน และกาแฟ เป็นต้น
- กลุ่มไม้ป่ายืนต้น (ไม้มีค่า) เช่น หางนกยูงไทย เสี้ยว มะขามป้อม และหว้า เป็นต้น

3.2) เห็ดเผาะและเห็ดระโงก

- กลุ่มไม้ป่าเศรษฐกิจ/ไม้มีค่า เช่น ยางนา ยางเหียง ยางพลวง เต็ง รัง พะยอม กันเกรา และตะเคียน เป็นต้น

4) เก็บตัวอย่างดินในแปลงที่คัดเลือกเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีพื้นฐาน เช่น N P K อินทรีย์วัตถุ pH เป็นต้น

5) ปลูกกล้าไม้ที่ไม่ได้ใส่เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา (control) และมีการใส่เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา และลงในแปลงต้นแบบแต่ละแห่ง (โดยจำนวนต้นที่ปลูก ขึ้นอยู่กับชนิด และขนาดของพื้นที่)

6) การดูแลรักษาต้นไม้ในแปลงปลูก คุมโคนต้นไม้ในแปลงปลูกด้วยฟางข้าวหรือเศษใบไม้ที่มีในพื้นที่ มีการให้น้ำเพิ่มความชุ่มชื้นและกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ และกำจัดวัชพืช (งดเว้นการใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช)

7) เก็บข้อมูลปัจจัยแวดล้อม เช่น ความสูงของพื้นที่ คุณสมบัติของดินก่อนปลูก อุณหภูมิความชื้นเฉลี่ยในแปลงปลูก รวมทั้งเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของกล้าไม้แต่ละชนิด ทุกๆ 3 เดือน ประกอบด้วยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นที่ระดับคอรากชิดดิน (ความโต) ความสูง สี และความสมบูรณ์ของใบ รวมทั้งสุ่มเก็บรากพืชเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไมคอร์ไรซาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ หลังจากปลูกลงแปลงแล้ว 2 เดือน

8) วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผล

การเจริญเติบโตในแปลงปลูกเพื่อหาการติดเชื้อไมคอร์ไรซา **(แปลงเดิม)**

1) การเจริญเติบโตของพืช เมื่อนำไปปลูกในแปลง แบบจำลองธรรมชาติ ของกล้าไม้ที่ไม่ได้ใส่เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา (control) และมีการใส่เชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา อย่างน้อย 5 แห่ง ร่วมกับเกษตรกร ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และน่าน (เป็นการเก็บข้อมูลต่อเนื่องเพื่อเพิ่มมูลค่าในพื้นที่แปลงปลูกพืช เริ่มปลูกตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2565

2) เตรียมหัวเชื้อเห็ดป่าไมคอร์ไรซา 3 ชนิด (เห็ดเผาะ เห็ดระโงก และเห็ดตับเต่า) ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใส่เสริมในแปลงปลูกพืชท้องถิ่น ไม้ผล/กาแฟ และไม้ป่ายืนต้น (ไม้มีค่า)

3) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นที่ระดับคอรากชิดดิน (ความโต) ความสูง สี ความสมบูรณ์ของใบ และสุขภาพของพืช รวมทั้งสุ่มเก็บรากพืชเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไมคอร์ไรซาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

4) บันทึกการให้ผลผลิตดอกเห็ด และผลผลิตของพืชที่ปลูกในแปลงต้นแบบแต่ละแห่ง (ถ้ามี)

5) วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผล

3.4 การศึกษาแนวทางการยกระดับอาหารท้องถิ่นเพื่อสนับสนุนการท่องเที่ยวเชิงสร้างสรรค์

วิธีดำเนินงาน:

1) สำรวจและรวบรวมเมนูอาหารท้องถิ่นเด่น ในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงทั้ง 44 แห่ง โดยการใช้แบบสอบถาม/สัมภาษณ์จากเจ้าหน้าที่ในพื้นที่ ผู้นำชุมชน ผู้แทนในชุมชน หรือผู้ที่เกี่ยวข้อง อย่างน้อย 3 เมนูต่อแห่ง (นับซ้ำ)

2) คัดเลือกเมนูเด่นอย่างน้อย 20 เมนู

3) ประมวลและสังเคราะห์ข้อมูล

3.1) ศึกษาข้อมูลภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์จากพืชท้องถิ่น/พืชสมุนไพร/เห็ดท้องถิ่นสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบ/ส่วนประกอบในเมนูอาหารท้องถิ่น เช่น ชนิดพืช/วัตถุดิบหลักที่ใช้ วัฒนธรรมการปรุงอาหารจากวัตถุดิบและเครื่องเทศท้องถิ่น และช่วงเวลา/ฤดูกาลในการบริโภค เป็นต้น ร่วมกับผู้รู้ด้านอาหารท้องถิ่น โดยใช้วิธีการสัมภาษณ์เชิงลึก (In-depth interview) การสัมภาษณ์กลุ่ม (Focus group interview) และการสังเกตการณ์อย่างไม่มีส่วนร่วม (Non-participant observation) เช่น สังเกตการจัดเตรียมอาหารในกิจกรรมต่างๆ

3.2) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของชนิดพืชหลักที่เป็นใช้เป็นประกอบ ตลอดจนสรรพคุณทางยาและคุณประโยชน์ในการดูแลรักษาสุขภาพ โดยการตรวจสอบจากข้อมูลทุติยภูมิ รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้อง หรือการส่งตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญ

4) จัดทำร่าง “คู่มือเมนูอาหารจากพืชท้องถิ่นบนพื้นที่สูง”

5) คัดเลือกชุมชนในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงที่มีกิจกรรมการท่องเที่ยวเชิงสร้างสรรค์ (การท่องเที่ยวที่สนับสนุนให้นักท่องเที่ยวได้แลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ทางวัฒนธรรม สภาพแวดล้อม และคุณค่าทางสังคม อันเป็นลักษณะเฉพาะของพื้นที่ การท่องเที่ยวอย่างลึกซึ้ง ส่งผลให้เกิดความผูกพันระหว่างนักท่องเที่ยวและเจ้าของบ้าน (Hosts and Guests) ซึ่งจะช่วยรักษาความหลากหลายทางวัฒนธรรมให้สืบเนื่องต่อไป) อย่างน้อย 1 แห่ง

6) ศึกษาข้อมูลบริบทของชุมชน รูปแบบกิจกรรมที่สนับสนุนการท่องเที่ยวเชิงสร้างสรรค์ เมนูอาหารท้องถิ่นที่นำไปสู่การสร้างอัตลักษณ์การท่องเที่ยวของชุมชน รวมถึงวิเคราะห์โอกาสและแนวทางการยกระดับอาหารท้องถิ่นเพื่อสนับสนุนการท่องเที่ยวเชิงสร้างสรรค์ร่วมกับผู้รู้ด้านอาหารท้องถิ่น ผู้นำชุมชน ผู้แทนในชุมชน หรือผู้ที่เกี่ยวข้อง

7) ประมวลผล และสรุปผลการศึกษา

3.5 การสนับสนุนกิจกรรมการวิจัยและพัฒนาร่วมกับเครือข่ายความร่วมมือทางวิชาการด้านสมุนไพรและความหลากหลายทางชีวภาพ จำนวน 3 เครือข่าย ดังนี้

หน่วยงานเครือข่าย	ประเด็นความร่วมมือ
1. องค์การสวนพฤกษศาสตร์	การเพาะขยายพันธุ์ตีนฮุ้งดอยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการทดสอบปลูกในสภาพธรรมชาติ
2. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	การวิจัยและส่งเสริมการปลูกพืชเศรษฐกิจร่วมกับการเพาะเห็ดป่าไมคอร์ไรซากินได้
3. มหาวิทยาลัยการแพทย์แผนจีนยูนนาน	การศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์ การปลูก และการจัดการพืชสมุนไพรหายากและพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพทางด้านการตลาด (เช่น ตีนฮุ้งดอย โสมซานซี เร่วหอม ว่านไหมนา)