

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีวิจัย ได้ดำเนินการวิจัยเชิงปฏิบัติการโดยเน้นกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน (Participatory Action Research; PAR) ดังนี้

1. ศึกษาความหลากหลายของเห็ดและภูมิปัญญาในการจัดการและใช้ประโยชน์จากเห็ดท้องถิ่นในแต่ละชุมชน

(1.) ประเมินลักษณะการใช้ประโยชน์และมูลค่าจากเห็ดท้องถิ่นและอาหารจากเห็ดในชุมชน โดยการสังเกต สัมภาษณ์ และแบบสอบถาม

1.) การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างในการให้ข้อมูลแบบสอบถามประกอบการสัมภาษณ์เกี่ยวกับการจัดการและการใช้ประโยชน์จากเห็ดท้องถิ่น ประกอบด้วยกลุ่มผู้อาวุโสในชุมชน กลุ่มผู้รู้ในเรื่องเห็ดท้องถิ่น และกลุ่มชาวบ้านที่เก็บเห็ด

2.) ศึกษาสถานการณ์และการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์จากป่าในการเก็บหาเห็ดและการใช้ประโยชน์จากเห็ดในอดีตจนถึงปัจจุบัน

3.) ประเมินมูลค่าการใช้ประโยชน์จากเห็ดในแต่ละชุมชน

(2.) ศึกษาและรวบรวมองค์ความรู้และภูมิปัญญาในการจัดการและใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นแต่ละชุมชน

1.) ศึกษารวบรวมระเบียบ กติกา และกฎเกณฑ์ การใช้ประโยชน์เห็ดท้องถิ่น โดยการสัมภาษณ์และการสังเกตการณ์แบบมีส่วนร่วมกับชุมชน

2.) รวบรวมข้อมูลด้านภูมิปัญญาท้องถิ่น (ความรู้ ประสบการณ์ และความเชื่อ) เกี่ยวกับเห็ดท้องถิ่น จากกลุ่มตัวอย่างโดยการสัมภาษณ์ และแบบสอบถาม

(3.) ศึกษาและรวบรวมข้อมูลความหลากหลายของเห็ดท้องถิ่นที่สำรวจพบ

1.) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างของเห็ดที่พบในพื้นที่ป่ารอบชุมชน ด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย (simple random sampling)

2.) บันทึกข้อมูลทางสัณฐานของเห็ดที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า (macroscopic) เช่น ลักษณะสี ผิวดอกเห็ด รูปร่างของหมวกเห็ด วงแหวนรอบก้าน ลักษณะเส้นขนของหมวกและก้าน ขนาด สี และของเหลวที่ปรากฏเมื่อเกิดรอยฉีกขาด เป็นต้น

3.) ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic) เช่น สปอร์ (spores) เบสิดียม (basidium) การเรียงตัวของเนื้อเยื่อดอกเห็ด (trama) และเซลล์ที่เป็นหมัน (sterile cell) ได้แก่ cheilocystidium และ pleurocystidium เป็นต้น

4.) ทำพิมพ์สปอร์ (spore print) และเก็บชิ้นเนื้อเยื่อตัวอย่างเห็ดในสารละลาย CTAB buffer ที่อุณหภูมิ -20°C ถึง -80°C เพื่อนำมาวิเคราะห์ลำดับเบสหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของเห็ด (species)

5.) เก็บรักษาตัวอย่างเห็ดใน Alcohol 70%, 95% หรือ อบแห้งที่อุณหภูมิ 55°C

6.) นำตัวอย่างเนื้อเยื่อเห็ดจากข้อ 4.) มาทำการสกัด DNA และทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ LSU (Large ribosomal subunit gene) SSU (Small ribosomal subunit gene) และ ITS (Nuclear ribosomal internal transcribed spacer) ซึ่งมีขั้นตอนสำคัญ 3 ขั้นตอน คือ 1) ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเส้นใยหรือเนื้อเยื่อหรือสปอร์ของเห็ดก่อนนำไปสกัด DNA 2) ขั้นตอนการสกัด DNA และ 3) ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีนที่ต้องการด้วยวิธี PCR ซึ่งในครั้งนี้ได้ดำเนินการสกัด DNA จากเห็ดจำนวน 60 ตัวอย่าง เพื่อหาลำดับเบสของยีน ITS, LSU และ SSU จำนวน 108, 34 และ 10 ปฏิกริยา (reaction) ตามลำดับ ซึ่งรายละเอียดในแต่ละขั้นตอนมีดังนี้

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเส้นใยหรือเนื้อเยื่อหรือสปอร์ของเห็ดก่อนนำไปสกัด DNA

การเตรียมตัวอย่างเส้นใย

เพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารวุ้น ½ PDA บ่มไว้ให้เจริญจนเต็มจานอาหารที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 30°C ก่อนนำมาขูดเอาเส้นใยบนผิวอาหารโดยใช้ใบมีดผ่าตัดที่ปลอดเชื้อ (จุ่ม 95% แอลกอฮอล์แล้ว ล้างไฟ) นำเส้นใยที่ได้ไว้เก็บใส่หลอดทดลองพลาสติก ขนาด 1.5 ml (appendorf tube) เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20°C

การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดหรือสปอร์เห็ด

ผ่าหรือฉีกดอกเห็ดสดเป็น 2 ซีก ตัดเอาเนื้อเยื่อหรือสปอร์ของเห็ดโดยใช้ใบมีดผ่าตัดที่ปลอดเชื้อให้มีขนาดประมาณ 0.5 cm³ จำนวน 2-3 ชิ้น นำเนื้อเยื่อที่ได้ไว้เก็บใส่หลอดทดลองพลาสติก ขนาด 1.5 ml ก่อนนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20°C

ขั้นตอนการสกัด DNA ทำโดยใช้ชุด Kids NucleoSpin® Plant II มีขั้นตอนดังนี้

a) นำตัวอย่างเส้นใย หรือเนื้อเยื่อ หรือสปอร์เห็ด ที่เตรียมไว้ใน appendorf tube ขนาด 1.5 ml มาเติม Silicon dioxide หรือ Sea Sand ประมาณ 150 mg (ปลายช้อนชา) โดยวิธีปลอดเชื้อ จากนั้นเติม Buffer PL1 200 µl บดให้ละเอียดด้วยปลายตะเกียบพลาสติกที่เหลาปลายให้แหลมซึ่งแช่ส่วนปลายไว้ใน 95% Ethanol ก่อนนำมาใช้ ใช้เวลาบดนานประมาณ 5-10 นาทีหรือจนกว่าตัวอย่างจะละเอียดที่สุด แล้วเติม Buffer PL1 อีก 100 µl เนื่องจากตัวอย่างจากเห็ดมักมีปริมาณโปรตีนสูงจึงต้องเติม Proteinase K ความเข้มข้น 5-10 mg/ml ปริมาตร 10 µl เพื่อช่วยกำจัดโปรตีน และ/หรืออาจเติม RNase A เพื่อช่วยกำจัด RNA โดยใช้ RNase A ความเข้มข้น 10 mg/ml ปริมาตร 10 µl ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 30-60 นาที

b) เติม Chloroform 100 µl นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 13000 rpm นาน 15 นาที จากนั้นใช้ pipette ดูดเอาส่วนใสด้านบนไปใส่ใน appendorf tube อันใหม่

c) กรองตะกอนในสารละลายส่วนใสที่ได้ในข้อ b ด้วยชุดกรอง NucleoSpin® Filter (วงแหวนสีม่วง) โดยดูดส่วนใสที่เก็บไว้มาใส่ในชุดกรอง ก่อนนำไปทำให้สารละลายกรองผ่านแผ่นกรองด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 2 นาที จากนั้นดูดส่วนสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วใส่ใน appendorf tube อันใหม่ ส่วนชุดกรองก็ทิ้งไป

d) เติม Buffer PC 450 µl เพื่อให้ DNA จับติดกับแผ่นกรองดักจับ DNA ผสมให้เข้ากันด้วยการดูดขึ้นลงประมาณ 5 ครั้งหรืออาจผสมด้วยการใช้เครื่อง Vortex

e) ประกอบชุดกรองดักจับ DNA (วงแหวนสีเขียว) จากนั้นดูดสารละลายที่ผสมกันดีแล้วมาใส่ในชุดกรองนี้ แล้วทำให้สารละลายกรองผ่านแผ่นกรองด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 1 นาที จากนั้นเทสารละลายที่ผ่านการกรองทิ้งไป นำชุดกรองมาประกอบใหม่ด้วยหลอดเก็บสารอันเดิม

f) ล้างแผ่นกรองที่จับ DNA ไว้แล้ว ในข้อ e ด้วย Buffer PW1 400 μ l โดยหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 1 นาที เทสารละลายที่กรองผ่านทิ้งไป

g) ล้างแผ่นกรองที่จับ DNA ไว้แล้ว ในข้อ f ซ้ำอีกครั้งด้วย Buffer PW2 700 μ l โดยหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 1 นาที เทสารละลายที่กรองผ่านทิ้งไป

h) ล้างแผ่นกรองที่จับ DNA ไว้แล้ว ในข้อ g ครั้งที่สามด้วย Buffer PW2 200 μ l ซ้ำอีกครั้ง ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 2 นาที เทสารละลายที่กรองผ่านทิ้งไป

i) นำส่วนตัวกรองที่ล้างแผ่นกรองครั้งที่สามเสร็จแล้ว (ข้อ h) มาประกอบกับ appendorf tube ขนาด 1.5 ml อันใหม่ จากนั้นดูด Buffer PE 50 μ l (นำไปอุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 65°C ก่อนนำมาใช้) แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 65°C ประมาณ 5 นาที ก่อนนำมาเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 11000 rpm นาน 1 นาที เพื่อละลาย DNA ออกมาจากแผ่นกรอง

j) ทำซ้ำในข้อ i อีกรอบหนึ่ง ด้วยเก็บสารละลาย DNA ที่กรองผ่านแผ่นกรองไว้ใน appendorf tube ขนาด 1.5 ml อันเดิม

หมายเหตุ วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ เช่น Silicon dioxide หรือ Sea Sand, Pipette tips และ appendorf tube ขนาด 1.5 ml ที่จะนำมาใช้ให้ทำการฆ่าเชื้อด้วยการนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำมาใช้

ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ในบางส่วนของยีน ITS, LSU และ SSU

a) การเตรียมส่วนผสมหลักในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ในบางส่วนของยีน ITS, LSU และ SSU โดยแต่ละ reaction จะทำใน appendorf tube ขนาด 0.5 ml โดยสัดส่วนของสารแต่ละชนิดที่จะเติมลงไปเป็นดังนี้

	ปริมาตร (μ l)
2x PCR Master Mixed	25
10 pmol/L ของ Primer ITS4 หรือ LROR หรือ NS1	1
10 pmol/L ของ Primer ITS4 หรือ LROR หรือ NS1	1
Autoclaved, distilled water	22
DNA	1
รวม	50

นำ appendorf tube ที่เติมสารละลายต่างๆในข้อ 1 ไปทำปฏิกิริยาในเครื่อง PCR โดยตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้

Preheat	Polymerase Chain Reaction (ขั้นตอนนี้ทำ 35 รอบ)			Post Extension	เก็บรักษา
	Denature	Annealing	Extension		
ITS					
95.0°C	95.0°C	50.0°C	72.0°C	72.0°C	4.0°C
2 นาที	30 วินาที	30 วินาที	1 นาที	1 นาที	∞
LSU หรือ SSU					
95.0°C	95.0°C	60.0°C	72.0°C	72.0°C	4.0°C
2 นาที	30 วินาที	30 วินาที	1 นาที	1 นาที	∞

b) นำตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยา PCR ในข้อ b มาตรวจผลด้วยการ run ใน 0.8% Agarose gel หากมี band เกิดขึ้นแสดงว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ของยีนส์ตำแหน่งต่างๆ ได้สำเร็จ หากไม่มี band ใดๆเกิดขึ้นอาจต้องพิจารณาการเติมปริมาณ DNA หาก band ของ DNA ที่สกัดได้มีลักษณะค่อนข้างใหญ่และหนาควรทำการเจือจางสารละลาย DNA ในสัดส่วนที่เหมาะสมก่อนนำมาใช้เติมในการทำ PCR ในข้อ a

c) ทำการส่งตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยา PCR ไปตรวจวิเคราะห์หาลำดับเบส

d) วิเคราะห์ผลที่ได้จากการตรวจหาลำดับเบสโดยใช้โปรแกรม Phylogeny เช่น Bioedit, MEGA, PAUP เป็นต้น

7.) จำแนกชนิดของเห็ดท้องถิ่นตามกลุ่มการใช้ประโยชน์ (เห็ดสำหรับบริโภคเป็นอาหาร เห็ดที่มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร และเห็ดพิษ)

a) ตรวจสอบลักษณะทางอนุกรมวิธาน และระบุชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้คู่มือรูปวิธานของเห็ดต่างๆ ตามระบบของ Ainsworth *et al.* (1973) และเทียบรูปและคำบรรยายจากหนังสือต่างๆ เช่น ศศิธรและอาศยา (2549) ราชบัณฑิตยสถาน (2550) และ อนุวงศ์ และคณะ (2551) เป็นต้น

b) เปรียบเทียบลำดับเบสของตัวอย่างที่ได้จากพื้นที่กับตัวอย่างจากฐานข้อมูล (Gene Bank) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของเห็ด

c) จัดจำแนกเห็ดที่สำรวจพบตามกลุ่มการใช้ประโยชน์ ได้แก่ เห็ดสำหรับบริโภคเป็นอาหาร เห็ดที่มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร และเห็ดพิษ

d) ตรวจวิเคราะห์ความเป็นพิษและตรวจหาปริมาณสารสำคัญ

2. ศึกษาระบบนิเวศที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเห็ดท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ

(1.) ศึกษาสภาพนิเวศวิทยาของถิ่นอาศัยที่เหมาะสมกับเห็ดท้องถิ่นแต่ละชนิด

1.) บันทึกข้อมูลสภาพแวดล้อมทางนิเวศของพื้นที่ เช่น ประเภทของป่าไม้ ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิอากาศ ความเป็นกรด-ด่างของดิน และชนิดของต้นไม้ที่อยู่ใกล้เคียงกับบริเวณที่พบเห็ด พร้อมทั้งบันทึกพิกัดตำแหน่ง และความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางของพื้นที่ที่พบเห็ด

2.) บันทึกลักษณะการเจริญของดอกเห็ด เช่น เกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม อยู่ใกล้กัน หรือเกิดเป็นกระจุก วัสดุที่พบเห็ด พร้อมทั้งบันทึกภาพดอกเห็ดที่เจริญออกมา

(2.) ศึกษาและพัฒนาต่อยอดองค์ความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นในการจัดการระบบนิเวศเพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเห็ดท้องถิ่นในชุมชน

1.) การทดสอบการเพาะเห็ดกลุ่มมายคอร์ไรซา (เห็ดถอบ และเห็ดหำ)

a) กำหนดพื้นที่ทดสอบการเพาะขยายพันธุ์เห็ดร่วมกับพืชอาศัย ในพื้นที่โครงการขยายผลโครงการหลวงปางแดงใน ปางมะโอ และห้วยเขย่ง

b) ทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชในสภาพธรรมชาติ โดยแบ่งเป็น 4 รูปแบบ คือ แปลงที่ 1 ไม่ใส่เชื้อเห็ด แปลงที่ 2 กล้าไม้ที่ใส่เชื้อเห็ดแล้วนำไปปลูก แปลงที่ 3 ใส่เชื้อเห็ดแบบเส้นใย แปลงที่ 4 ใส่เชื้อเห็ดในรูปของสปอร์

c) ทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชในโรงเรือนเพาะชำ โดยใช้พืช 3 ชนิด ได้แก่ ต้นโสน ต้นแค และผักหวานบ้าน

d) ทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเห็ด บันทึกผลการทดลอง

2.) การทดสอบการเพาะเห็ดกลุ่มแซบโพรบ (เห็ดหัวลิง เห็ดขอนขาว เห็ดลมป่า เห็ดหูหนู)

a) กำหนดพื้นที่ทดสอบเพื่อวัดการเจริญของเส้นใยและทดสอบการเปิดดอก ในพื้นที่โครงการขยายผลโครงการหลวงปางมะโอ จ. เชียงใหม่ ปางยาง จ.น่าน และห้วยเขย่ง จ.กาญจนบุรี

b) วัดการเจริญของเส้นใยและบันทึกระยะเวลาในการเกิดดอกเห็ดในโรงเรือน

c) ทดสอบสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเห็ดโดยใช้วัสดุที่มีในชุมชน

d) บันทึกผลการทดลอง และบันทึกภาพ

3. ศึกษาวิธีการและเทคโนโลยีการเพาะขยายพันธุ์เห็ดท้องถิ่นที่มีศักยภาพสำหรับการบริโภคในครัวเรือน

(1.) ศึกษาและรวบรวมข้อมูลรูปแบบการจัดการและวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดต่าง ๆ สำหรับนำมาปรับใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดท้องถิ่นที่เหมาะสมในแต่ละชุมชน จากการทบทวนเอกสารต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง

(2.) ศึกษางานเกี่ยวกับการเพาะขยายพันธุ์ การผลิต และจำหน่ายเห็ด เพื่อแลกเปลี่ยนเรียนรู้และนำมาปรับใช้ในชุมชน

(3.) ศึกษาการเพาะขยายพันธุ์เห็ดท้องถิ่นในห้องปฏิบัติการและในชุมชนโดยกระบวนการมีส่วนร่วม

1.) เก็บรวบรวมตัวอย่างเห็ดกินได้ในแต่ละพื้นที่มาทำการจดบันทึกลักษณะและน้ำหนัก และนำไปแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยแยกเป็นกลุ่มแซบโพรบและพาราไซด์ และกลุ่มเห็ดที่ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน สังเกตลักษณะการเจริญของเส้นใยและทำการจดบันทึก

2.) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในวัสดุต่างๆ ที่มีในท้องถิ่น (ขอนไม้ ดินขุยไผ่ ปุ๋ยหมัก ใบไม้ กากกาแฟ กะลากาแฟ เปลือกข้าวโพด เปลือกถั่ว เป็นต้น) บันทึกการเจริญของเส้นใย และระยะเวลาการเกิดดอกเห็ดในพื้นที่

3.) คัดเลือกเห็ดอย่างน้อย 2 ชนิดจากแต่ละชุมชน และคัดเลือกชุมชนอย่างน้อยชุมชน 3 ชุมชน เพื่อทำการทดลองเพาะเห็ดท้องถิ่นโดยใช้วัสดุที่มีในชุมชนแบบอาศัยกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน

4.) จัดบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ตลอดจนขนาด ปริมาณดอกต่อหน่วย การผลิตและน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยของเห็ดในแต่ละชุมชน

4. ศึกษาและพัฒนาชุมชนต้นแบบที่สร้างรายได้จากการเพาะเลี้ยงหรือแปรรูปเห็ดท้องถิ่น

- (1) ศึกษาและรวบรวมข้อมูลด้านการตลาดของเห็ดท้องถิ่นที่มีศักยภาพ
- (2) ศึกษาแนวทางการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าของเห็ดท้องถิ่น ด้วยวิธีการทำแห้ง การดอง และการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค เช่น ข้าวเกรียบเห็ด แหนมเห็ด เห็ดทอดกรอบ เป็นต้น
- (3) จัดอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงและการจัดการเห็ดท้องถิ่นโดยกระบวนการมีส่วนร่วม

5. สรุปองค์ความรู้คืนสู่ท้องถิ่น

- (1) จัดทำสื่อสิ่งพิมพ์เพื่อเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับเห็ดท้องถิ่น
- (2) ตีพิมพ์บทความเผยแพร่องค์ความรู้ที่ได้

3.2 ระยะเวลาดำเนินการ

ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556

3.3 สถานที่ดำเนินการ

1. สถานที่ดำเนินการวิจัย: สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)
2. พื้นที่โครงการขยายผลโครงการหลวง
 - 1) โครงการขยายผลโครงการหลวงปางแดงใน อ. เชียงดาว จ. เชียงใหม่
 - 2) โครงการขยายผลโครงการหลวงปางมะโอ อ. เชียงดาว จ. เชียงใหม่
 - 3) โครงการขยายผลโครงการหลวงโหล่งขอด อ. พร้าว จ. เชียงใหม่
 - 4) โครงการขยายผลโครงการหลวงผาแดง อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่
 - 5) โครงการขยายผลโครงการหลวงปางยาง อ. ปัว จ. น่าน
 - 6) โครงการขยายผลโครงการหลวงน้ำเค็ม อ. นาหมื่น จ. น่าน
 - 7) โครงการขยายผลโครงการหลวงน้ำแขว่ง อ. นาหมื่น จ. น่าน
 - 8) โครงการขยายผลโครงการหลวงแม่สอง อ. ท่าสองยาง จ. ตาก
 - 9) โครงการขยายผลโครงการหลวงคลองลาน อ. คลองลาน จ. กำแพงเพชร
 - 10) โครงการขยายผลโครงการหลวงห้วยเขย่ง อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี

แผนการดำเนินงาน

[illegible]

[illegible]