รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ
2. **โครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีศักยภาพ
   กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตพืชสมุนไพรตามการใช้ประโยชน์
   กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตโกฐจุฬาลำพาเชิงการค้า
3. **ชื่อการทดลอง** การคัดเลือกพันธุ์โกฐจุฬาลำพา [1]
   Selection of Annual Wormwood (*Artemisia annua* L.)
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง จรัญ ดิษฐไชยวงศ์ สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

ผู้ร่วมงาน

มัลลิกา รักษ์ธรรม สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

เสงี่ยม แจ่มจำรูญ สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

สุภาภรณ์ สาชาติ สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน

ศรีสุดา โท้ทอง สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน

5. **บทคัดย่อ**

โกฐจุฬาลำพามีสารอาร์ทิมิซินินออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ปี 2554 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร คัดเลือกประชากรโกฐจุฬาลำพาตามความแตกต่างทางฟีโนไทป์ได้ 4 ลักษณะ ได้แก่ ฟีโนไทป์ 1 มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางสั้น ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ 2 มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ฟีโนไทป์ 3 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบยาว และฟีโนไทป์ 4 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น ปลูกประเมินผลผลิตเบื้องต้น 4 ฟีโนไทป์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ เก็บเกี่ยวผลผลิตกิ่งและใบบนลำต้นหลัก ระยะดอกตูมเต็มที่ พบว่า ทั้ง 4 ฟีโนไทป์ ในปี 2555 ให้ผลผลิตสดและแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในปี 2557 ฟีโนไทป์ 1 ให้ผลผลิตสดสูงสุด 7,363 กิโลกรัมต่อไร่ และฟีโนไทป์ 2 ให้ผลผลิตแห้งสูงสุด 4,816 กิโลกรัมต่อไร่ ค่าเฉลี่ย 2 ปี พบว่า ฟีโนไทป์ 2 ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ 0.54 ของน้ำหนักแห้ง จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR พบว่า โกฐจุฬาลำพาทั้ง 4 ฟีโนไทป์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ 67-79 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก: โกฐจุฬาลำพา ฟีโนไทป์ อาร์ทิมิซินิน

---

[1] รหัสการทดลอง 01-31-54-06-02-01-01-54

Abstract

Artemisia annua L. have artemisinin which is an active ingredient for anti malaria activities. In 2011, Phichit Agricultural Research and Development Center selected populations of *Artemisia annua* L. by using phenotype differences. Four phenotypes of *Artemisia annua* L. were selected. Phenotype 1: sparse bush, pinnately compound leaf, short rachis and short petiole. Phenotype 2: sparse bush, pinnately compound leaf and long rachis. Phenotype 3: dense bush, pinnately compound leaf, long rachis and long petiole. Phenotype 4: dense bush, pinnately compound leaf, long rachis and short petiole. In year 2012 and 2014, four phenotypes were evaluated in the field and randomized complete block design (RCBD) was used. Yields of branches and leaves on main stem were harvested at full flowering stage. Results showed that all phenotypes were not significantly different in fresh and dry yields in 2012. The differences of the yields of the four phenotypes were significantly different in 2014. Phenotype 1 gave the highest fresh yield of 7,363 kg/rai and phenotype 2 gave the highest dry yield of 4,816 kg/rai. Average 2 years, phenotype 2 gave the highest artemisinin of 0.54 g/100 g dry weight. The genetic diversity among four phenotypes of *A. annua* L. was investigated by using ISSR-Touchdown PCR technique. Results showed that the genetic relationship among four phenotypes of *A. annua* L. were 67-79% similar.

Keywords: *Artemisia annua* L., phenotype, artemisinin

6. คำนำ

โกฐจุฬาลำพา (annual wormwood, sweet wormwood) ชื่อจีนคือชิงเฮา (Xiang hao) พืชวงศ์ Compositae (Asteraceae) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Artemisia annua* L. (Diemer and Griffee, 2005; Qiang, 2006) ทุกส่วนเหนือดินของต้นทำให้แห้ง (dried aerial parts) ใช้เป็นยา ส่วนใบทำให้แห้ง (dried leaves) นำไปสกัดสารอาร์ทิมิซินิน (artemisinin) (Qiang, 2006) สารชนิดนี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย ไม่พบการดื้อยาจากการใช้สารจากพืชชนิดนี้ ยังขาดแคลนวัตถุดิบผลิตอาร์ทิมิซินิน การผลิตวัตถุดิบโกฐจุฬาลำพาเพื่อมีมูลค่าทางการค้านั้น มีปริมาณอาร์ทิมิซินินมากกว่าร้อยละ 0.6 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งยังค่อนข้างต่ำ (Diemer and Griffee, 2005) ปัจจุบันองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) จัดให้โรคมาลาเรีย (malaria) เป็นโรคที่มีปัญหาและมีความสำคัญเร่งด่วน 1 ใน 4 โรค ที่ต้องได้รับการแก้ไข (อานนท์, 2548) WHO แนะนำให้แพทย์ใช้อาร์ทิมิซินินร่วมกับการรักษารูปแบบอื่นๆ ในกรณีผู้ติดเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์ *Plasmodium*

falciparum ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่รุนแรง ทั้งนี้ เพื่อให้การกำจัดเชื้อปรสิตได้ผลสูงสุด และสนับสนุนการใช้ยาแบบมีองค์ประกอบรวม (multi-component drug) ประกอบด้วยอาร์ทิมิซินิน (artemisinin) ซึ่งเป็นสารประกอบเซสควิเทอร์ปีนแลคโตน (sesquiterpene lactone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Ferreira *et al*., 2010) ทั้งนี้สารทั้งสองชนิดมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันในการต่อต้านเชื้อมาลาเรียและมะเร็ง (Ferreira *et al*., 2010) ส่วนเหนือดินของโกฐจุฬาลำพา นอกจากมีอาร์ทิมิซินินแล้ว ยังมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หลายชนิด เช่น chrysoplenetin, casticin และ artemetin เป็นต้น (Baraldi *et al*., 2008) งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการใช้สารดังกล่าวจากพืชนี้ในการต่อต้านเชื้อมาลาเรีย และต้านมะเร็ง โรคมาลาเรียเป็นโรคติดต่อประจำถิ่นในประเทศเขตร้อนยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย แม้ว่าโรคนี้จะมีอัตราป่วยและอัตราตายลดลง ปัญหาสำคัญขณะนี้คือ การดื้อยาของเชื้อมาลาเรียตามแนวชายแดน ที่พบมากที่สุดคือ บริเวณชายแดนด้านไทย-พม่า และชายแดนไทย-กัมพูชา (พีรพรรณ, 2557) ส่วนไทย-มาเลเซีย พบเป็นบางจุด (อานนท์, 2548) จึงมีความจำเป็นต้องเร่งพัฒนายาต้านมาลาเรียเพื่อการรักษาและควบคุมการระบาดของโรคนี้ให้ดียิ่งขึ้น ในตำราจีนโบราณใช้สมุนไพรชนิดนี้สำหรับลดไข้และรักษาโรคมาลาเรีย ปัจจุบันประเทศไทยยังมีการนำเข้าโกฐจุฬาลำพา เพื่อใช้เป็นยาสำหรับลดไข้และรักษาโรคมาลาเรียจากประเทศจีน และเวียดนาม

โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชวันสั้น (short-day plant) (Jelodar *et al*., 2014) ออกออกเมื่อได้รับแสงไม่เกินค่าช่วงวันวิกฤต (critical day length) คือ 13.5 ชั่วโมงต่อวัน (Ferreira and Janick, 1996) สามารถออกดอกภายใน 2 สัปดาห์ หลังชักนำให้ได้รับแสงในสภาพวันสั้น (Qiang, 2006) ผสมข้ามตามธรรมชาติโดยลมและแมลง (Ferreira and Janick, 1996; Nurhayati and Gusmaini, 2013) ผลผลิตและคุณภาพขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมทางภูมิศาสตร์ ความสูง (altitude) ปริมาณฝนและลักษณะดิน (Qiang, 2006) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอาร์ทิมิซินินขึ้นอยู่กับพันธุ์ (cultivar) สภาพแวดล้อมทางภูมิศาสตร์ ช่วงเวลาเก็บเกี่ยว อุณหภูมิ และการให้ปุ๋ย (Delabays *et al*., 2001; Jelodar *et al*., 2014) การตรวจหาปริมาณอาร์ทิมิซินินจากความแตกต่างของลักษณะรูปใบ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกัน (Atchara, 1996) ใบแห้งของโกฐจุฬาลำพาต่างพันธุ์กัน ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 0.02-1.38 (Delabays *et al*., 2001) อาร์ทิมิซินินสะสมในขนต่อม (glandular trichrome) มีขนต่อมจำนวนมากในกลีบดอก (petal) และฐานรองดอกย่อย (receptacle floret) จึงทำให้ในดอก มีปริมาณอาร์ทิมิซินินมากกว่าในใบและลำต้น (Nurhayati and Gusmaini, 2013) ปัจจัยวิกฤติที่มีต่อปริมาณอาร์ทิมิซินินคือ ความยาวของช่วงวัน ในสภาพกลางวันยาวนานในเขตอบอุ่น (temperate) ซึ่งพื้นที่มีพิกัดละติจูด (latitude) สูง พืชนี้เจริญเติบโตตามปกติ และออกดอกในสภาพที่วันสั้น ให้ผลผลิตสูง แต่ถ้านำมาปลูกในเขตร้อน (tropic) ซึ่งพื้นที่มีพิกัดละติจูด (latitude) ต่ำ มีสภาพกลางวันสั้น พืชนี้จึงออกดอกเร็วกว่าปกติ ทำให้ผลผลิตลดลง แต่อย่างไรก็ตาม สามารถเพิ่มผลผลิตเมื่อปลูกในเขตร้อนได้ โดยการเลือกสายพันธุ์ออกดอกช้า และศึกษากาลอากาศ (weather) ก่อนปลูก (Jelodar *et al*., 2014) โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชผสมข้ามสูง

(highly cross pollinated) มีเคโมไทป์ (chemotype) ต่างกัน (Ferreira *et al*., 2010) มีความผันแปรของปริมาณอาร์ทิมิซินินในใบของต้นที่มาจากแหล่งกำเนิดต่างกัน (Delabays *et al*., 2001) ตำแหน่งใบต่างกันบนต้นเดียวกัน และฤดูปลูกต่างกัน (Diemer and Griffee, 2005) ต้นที่มีพันธุกรรมต่างกัน มาจากแหล่งกำเนิดต่างกัน ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกัน ความเข้มข้นของอาร์ทิมิซินินเป็นลักษณะทางปริมาณ เป็นอิทธิพลของยีนสะสมแบบบวก (additive gene) มีค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบแคบ (narrow-sense heritability) สูง ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านพันธุกรรมที่สามารถปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงได้ (Delabays *et al*., 2001) โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชผสมตัวเองไม่ได้ (self-incompatible) มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงคัดเลือกประชากรตามลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype) และจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม เพื่อให้ได้ลักษณะฟีโนไทป์ที่ให้ผลผลิตและสารอาร์ทิมิซินินสูงอย่างน้อย 1 ฟีโนไทป์

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

เมล็ดโกฐจุฬาลำพาจากแปลงเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี วัสดุการเกษตร เช่น ถาดเพาะ พีต (peat) ปูนขาว และปุ๋ยคอก เป็นต้น วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ สารเคมีต่างๆ ที่ใช้สกัดและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ใช้สกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอาร์ทิมิซินิน ครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องชั่ง และตู้อบพืช เป็นต้น

- วิธีการ

1. วิเคราะห์ดิน ปรับสภาพดินด้วยปูนขาว ตามผลวิเคราะห์ ให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 6-8 ซึ่งเหมาะสมสำหรับการเติบโตของพืชนี้ (Diemer and Griffee, 2005)
2. ปลูกประชากรโกฐจุฬาลำพาในแปลงขนาด 9 × 12 เมตร 4 แปลงๆ 108 ต้น ระยะปลูก 1 × 1 เมตร คัดเลือกต้นที่มีลักษณะเหมือนกันหรือใกล้เคียงกันแบ่งลักษณะเป็นฟีโนไทป์ ขยายพันธุ์โดยการตัดกิ่งปักชำ นำไปปลูกแยกแปลง แบบมีระยะห่าง (isolate) เก็บเมล็ดแยกฟีโนไทป์
3. ประเมินผลผลิตเบื้องต้น (preliminary yield evaluation) วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block: RCB) โกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ เป็นกรรมวิธี ทำ 5 ซ้ำ
4. นำตัวอย่างใบจากต้นโกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ๆ ละ 3 ต้น จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR ใช้วิธีการของศุจิรัตน์และคณะ (ศุจิรัตน์และคณะ, 2552)

การปลูกและดูแลรักษา

เตรียมแปลงปลูกขนาด 3 × 4 เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 75 เซนติเมตร ระหว่างแถว 0.5 เมตร เว้นทางเดินระหว่างแปลง 1 เมตร ขุดหลุมปลูกขนาด 25 × 25 × 25 เซนติเมตร รองก้นหลุมก่อนปลูก โดยใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 1 กิโลกรัมต่อหลุม เพาะเมล็ดในถาดหลุม ใช้พีตเป็นวัสดุเพาะ เมื่อกล้ามีใบจริง 5 ใบ ซึ่งมีอายุ 45 วัน ย้ายปลูกลงแปลง ปลูก 1 ต้นต่อหลุม ให้น้ำแบบฉีดฝอย ปริมาณน้ำที่ให้ สังเกตดินในแปลงเปียกชื้น จึงหยุดให้ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน ใส่ปุ๋ยคอกครั้งที่ 2 อัตรา 5 กิโลกรัมต่อต้น รอบทรงพุ่ม พรวนดิน และให้น้ำ

การเก็บเกี่ยว

ชะลอการให้น้ำระยะเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวผลผลิต ระยะดอกตูมเต็มที่ โดยตัดส่วนเหนือดินห่างจากโคนต้น 30 เซนติเมตร ใช้กรรไกรตัดกิ่งก้าน และใบสดบนลำต้นหลัก ชั่งน้ำหนักสด นำไปผึ่งแดดให้แห้ง มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 12 ชั่งน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

สุ่มตัวอย่างผลผลิตแห้งกิ่งก้านและใบส่วนที่จำหน่ายได้ 4 ฟีโนไทป์ๆ ละ 100 กรัม นำไปบดเป็นผง วิเคราะห์หาปริมาณอาร์ทิมิซินิน ใช้วิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบางและเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ (thin layer chromatography (TLC) - densitometry) (Koobkokkruad *et al.*, 2007)

การบันทึกข้อมูล

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนที่จำหน่ายได้ และปริมาณอาร์ทิมิซินิน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธี โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)

- **เวลาและสถานที่**

เริ่มต้น ปี 2554 สิ้นสุด ปี 2558

แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

ห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ปลูกคัดเลือกประชากรโกฐจุฬาลำพา 432 ต้น พบว่า คัดเลือกต้นตามความแตกต่างทางฟีโนไทป์ได้ 4 ลักษณะได้แก่

ฟีโนไทป์ 1 มีลักษณะทรงพุ่มบาง (sparse bush) ใบประกอบแบบขนนก (pinnately compound leaf) แกนกลาง (rachis) สั้น ก้านใบ (petiole; leaf stalk) สั้น คิดเป็นร้อยละ 6 ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ 2 มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น คิดเป็นร้อยละ 34 ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ 3 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น (dense bush) ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบยาว คิดเป็นร้อยละ 12 ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ 4 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น คิดเป็นร้อยละ 48 ของจำนวนต้นทั้งหมด

ประเมินเบื้องต้นโกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์

ผลผลิตสดพบว่า มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฟีโนไทป์กับปีที่ปลูก ปี 2555 ทั้ง 4 ฟีโนไทป์ ให้ผลผลิตสดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดตั้งแต่ 7,018-8,642 กิโลกรัมต่อไร่ และปี 2557 ฟีโนไทป์ 1 ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดสูงสุด 7,363 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ ฟีโนไทป์ 2 ซึ่งให้ผลผลิตสดรองลงมา 6,282 กิโลกรัมต่อไร่ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ 3 และฟีโนไทป์ 4 ซึ่งให้ผลผลิตสด 5,048 และ 5,736 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตาราง 1.1)

ตาราง 1.1 ผลผลิตสด (กก./ไร่) โกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2555 และ ปี 2557

ฟีโนไทป์	ปี 2555 [1/]	ปี 2557 [1/]
1	7,018 a	7,363 a
2	8,642 a	6,283 ab
3	7,060 a	5,048 b
4	7,699 a	5,736 b

CV = 17.3%

[1/] ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

ปลูกวันที่ 2 เมษายน 2555 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 9 ตุลาคม 2555

ผลผลิตแห้ง พบว่า ปี 2555 ทั้ง 4 ฟีโนไทป์ ให้ผลผลิตแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งตั้งแต่ 3,509-4,321 กิโลกรัมต่อไร่ และปี 2557 พบว่า ฟีโนไทป์ 2 ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งสูงสุด 4,816 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ 3 และ ฟีโนไทป์ 1 ซึ่งให้ผลผลิตแห้งรองลงมาคือ 4,113 และ 2,999 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตาราง 1.2)

ตาราง 1.2 ผลผลิตแห้ง (กก./ไร่) โกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2555 และ ปี 2557

ฟีโนไทป์	ปี 2555 [1/]	ปี 2557 [1/]
1	3,509 a	2,999 c
2	4,321 a	4,816 a
3	3,531 a	4,113 b
4	3,849 a	2,731 c
CV (%)	20.1	10.4

[1/] ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT
ปลูกวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2557 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 2 ตุลาคม 2557

ในปี 2557 ความสูงต้นระยะเก็บเกี่ยว พบว่า โกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ให้ค่าเฉลี่ยความสูงต้นตั้งแต่ 272-295 เซนติเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ให้ค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มตั้งแต่ 127-149 เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติ ฟีโนไทป์ 2 ให้ความกว้างทรงพุ่มสูงสุด 149 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ 1 ซึ่งให้ความกว้างทรงพุ่มรองลงมาคือ 132 เซนติเมตร (ตาราง 1.3)

ตาราง 1.3 ขนาดต้นของโกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2557

ฟีโนไทป์	ขนาดต้น (ซม.) [1/]	
	ความสูง	ความกว้างทรงพุ่ม
1	272 a	132 ab
2	278 a	149 a
3	295 a	127 b
4	288 a	127 b
CV (%)	6.5	8.3

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

ปริมาณอาร์ทิมิซินิน

ปี 2555 ทั้ง 4 ฟีโนไทป์ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ 0.32-0.66 ของน้ำหนักแห้ง และปี 2557 ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ 0.35-0.43 ของน้ำหนักแห้ง ค่าเฉลี่ยทั้ง 2 ปี ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ 0.34-0.54 ของน้ำหนักแห้ง ฟีโนไทป์ 2 ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ 0.54 ของน้ำหนักแห้ง (ตาราง 1.4)

ตาราง 1.4 ปริมาณอาร์ทิมิซินิน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) โกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2555 และ ปี 2557

ฟีโนไทป์	ปี 2555	ปี 2557	ค่าเฉลี่ย 2 ปี
1	0.32	0.35	0.34
2	0.65	0.43	0.54
3	0.60	0.43	0.52
4	0.66	0.45	0.53

มีรายงานว่า ปริมาณอาร์ทิมิซินินผันแปรตั้งแต่ร้อยละ 0.5-1.2 ปริมาณอาร์ทิมิซินินที่ลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 1 ของน้ำหนักแห้ง อาจจะเนื่องมาจากใบที่แห้งตายร่วงลงไปในดินก่อนเก็บเกี่ยว ซึ่งใบที่แห้งตายเป็นแหล่งสะสมอาร์ทิมิซินินถึงครึ่งหนึ่งของปริมาณอาร์ทิมิซินินทั้งหมด (Nurhayati and Gusmaini, 2013) และเป็นพืชที่มีเคโมไทป์ (chemotype) ต่างกัน (Ferreira *et al*., 2010)

- จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR

พบว่า มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.67-0.79 หรือ 67-79% (ภาพ 1) แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ที่ความใกล้ชิด 0.67 คือ กลุ่ม A และ B ภายใน 2 กลุ่มนี้ แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้อีก โดยไม่พบว่าตัวอย่างใดมีความคล้ายคลึงกันในระดับ 0.90 (หรือ 90%) มีเพียงตัวอย่างหมายเลข 4 และ 6 เท่านั้นที่มีความใกล้ชิดกันที่สุดคือ 0.79 (หรือ 79%) ซึ่งถูกคัดมาจากลักษณะฟีโนไทป์ที่ใกล้เคียงกัน

ตัวอย่างจากฟีโนไทป์เดียวกันที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่ 8 และ 9, 4 และ 6 ส่วนตัวอย่างอื่นพบว่า กระจัดกระจายอยู่ตามกลุ่มต่างๆ ไม่ตรงตามลักษณะฟีโนไทป์

จากผลตรวจจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR นี้ แสดงให้เห็นว่าลักษณะฟีโนไทป์ที่ใช้ในการแยกกลุ่มอาจเป็นลักษณะที่แปรปรวนตามสภาพแวดล้อม และตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบทุกตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมาก ดังนั้นในการคัดเลือกต้นที่จะนำไปใช้ขยายพันธุ์ จำเป็นต้องระบุต้นที่ต้องการเท่านั้น และการจัดแยกด้วยฟีโนไทป์จำเป็นต้องเพิ่มเติมลักษณะอื่นอีก เพื่อให้จัดกลุ่มได้ใกล้เคียงกันมากกว่านี้ จากการวิเคราะห์ผลผลิตจะเห็นได้ว่าทั้ง 4 ฟีโนไทป์ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากการจัดกลุ่มที่ไม่ถูกต้อง อาจต้องทำการวิเคราะห์ผลผลิตรายต้น และคัดเลือกตัวอย่างที่ให้ผลผลิตสูงสุด อย่างไรก็ตามหากวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ระดับ 0.70 (หรือ 70%) สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างได้ 4 กลุ่ม ดังนี้ คือ

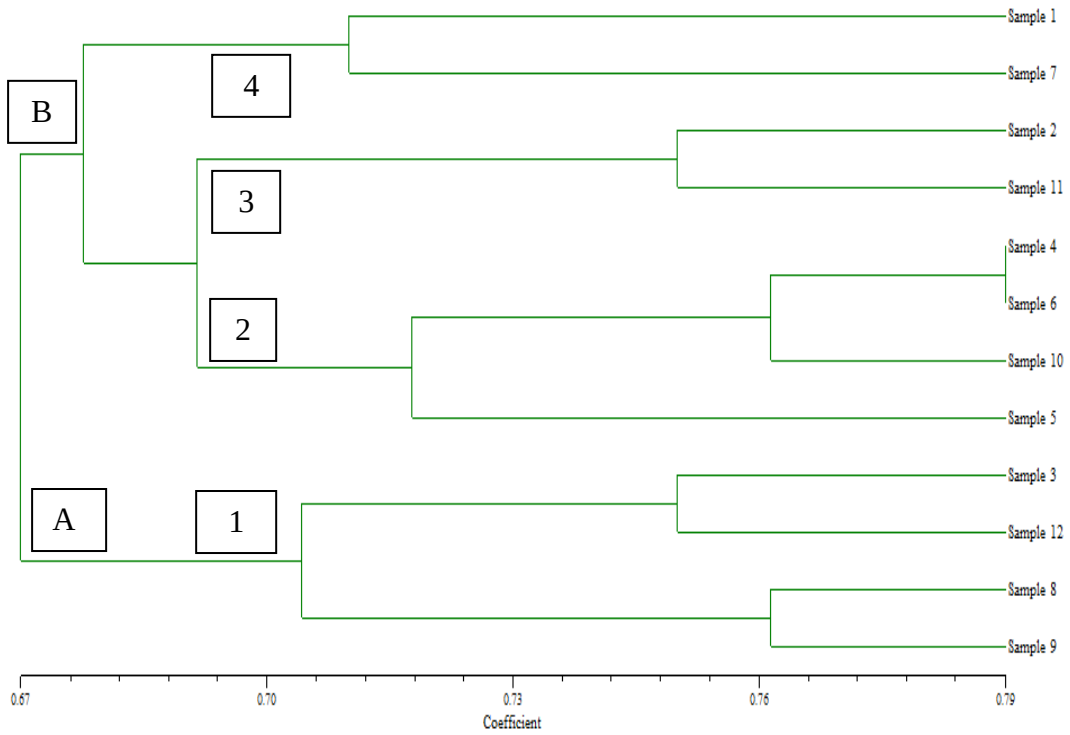
กลุ่ม 1 ประกอบด้วย ตัวอย่าง 8, 9 และ 3, 12

กลุ่ม 2 ประกอบด้วย ตัวอย่าง 5, 10, 4 และ 6

กลุ่ม 3 ประกอบด้วย ตัวอย่าง 2 และ 11

กลุ่ม 4 ประกอบด้วย ตัวอย่าง 1 และ 7

โดยกลุ่มตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันสูงระดับมากกว่า 0.76 (76%) ประกอบด้วย ตัวอย่าง 8, 9, 10, 4 และ 6 ซึ่งอาจนำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ผลผลิต



ภาพ 1 ผลการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของโกฐจุฬาลำพา 4 ฟีโนไทป์ๆ ละ 3 ต้น ด้วย ISSR-Touchdown PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ISSR จำนวน 29 ไพร์เมอร์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงตามวิธี Jaccard similarity และจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี

UPGMA ฟีโนไทป์ 1: Sample 1-3; ฟีโนไทป์ 2: Sample 4-6; ฟีโนไทป์ 3: Sample 7-9; ฟีโนไทป์ 4: Sample 10-12

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกโกฐจุฬาลำพาได้ 4 ฟีโนไทป์ได้แก่ ฟีโนไทป์ 1 มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบมีข้อถี่ ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ 2 มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบมีข้อห่าง ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ 3 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบมีข้อห่าง ก้านใบยาว และฟีโนไทป์ 4 มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบมีข้อห่าง ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ 1 ให้ผลผลิตสดสูงสุด 7,363 กิโลกรัมต่อไร่ ฟีโนไทป์ 2 ให้ผลผลิตแห้งสูงสุด 4,816 กิโลกรัมต่อไร่ และให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ 0.54 ของน้ำหนักแห้ง ทั้ง 4 ฟีโนไทป์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ 67-79%

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลความแตกต่างทางพันธุกรรมของโกฐจุฬาลำพา ใช้คัดแยกรายต้นด้วยลักษณะฟีโนไทป์อื่นเพิ่มเติม

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ช่วยรับวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม และรองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย ดีเอกนามกูล คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ช่วยรับวิเคราะห์สารสำคัญ

12. เอกสารอ้างอิง

พีรพรรณ ตันอารีย์. 2557. มาลาเรีย : โรคที่คนไทยควรทำความรู้จักให้ดี. ผลงานวิจัยสู่สังคม : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา: http://www.sc.mahidol.ac.th [18 กุมภาพันธ์ 2559].

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล วีรเดช โขนสันเทียะ รัชนี ขันธหัตถ์ เพียงเพ็ญ ศรวัต ประพิศ วองเทียม ศุภชัย สารกาญจน์ และ อัจฉรา ลิ่มศิลา. ฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมันสำปะหลังพันธุ์ไทย พันธุ์ลูกผสม และพันธุ์ต่างประเทศ. ผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2552. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 16-30.

อานนต์ บุณยรัตเวช. 2548. การกลับมาของไข้มาลาเรีย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.). แหล่งที่มา: http:/www.manager.co.th/Science/ViewNews [18 กุมภาพันธ์ 2559].

Atchara Tempeam. 1996. Determination of artemisin contents in *Artemisia annua* L. cultivated in Thailand. Thesis for Masterof Science (Pharmacy). Mahidol University, Bangkok. Available: http:/www.thaithesis.org/detail.php [February 18,

2016].

Baraldi, R., B. Isacchi, S. Predieri, G. Marconi, F. F. Vincieri and A. R. Bilia. 2008. Distribution of artemisinin and bioactive flavonoids from *Artemisia annua* L. during plant growth. *Biochemical Systematics and Ecology* 36 (5-6): 340-348.

Delabays, N., X. Simonnet and M. Gaudin. 2001. The Genetics of Artemisinin Content in *Artemisia annua* L. and the breeding of high yielding cultivars. *Current Medicinal Chemistry* 8: 1795-1801.

Diemer, P. and P. Griffee. 2005. *Artemisia annua*; the plant, production and processing and medicinal applications. *WHO and FAO*. 46 p.

Ferreira, J. F. S. and J. Janick, 1996. Distribution of Artimisinin in *Artemisia annua* L. In J. Janick (ed.), Progress in new crops. ASHS Press, Arlington. p. 579-584.

Ferreira, J. F. S., D. L. Luthria, T. Sasaki and A. Heyerick. 2010. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules* 15: 3135-3170.

Jelodar, N. B., A. Bhatt, K. Mohamed and C. L. Keng. 2014. New cultivation approaches of *Artemisia annua* L. for a sustainable production of the antimalarial drug artemisinin. *Journal of Medicinal Plant Research* 8 (10): 441-447.

Koobkokkruad, T., A. Chochail, C. Kerdmanee and W. De-eknamkul. 2007. TLC-densitometric analysis of Artemisinin for the rapid screening of high-producing plantlets of *Artemisia annua* L. *Phytochemical Analysis* 18: 229–234.

Nurhayati, H. and Gusmaini, 2013. Growth, yield and quality of four accession of *Artemisia annua* L. in two different agroclimates. Proceedings of AFHW. International Symposium on Agri-Foods Health and Wealth. August 5-8, 2013. Bangkok. p. 181-189.

Qiang, G. 2006. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. 58 p.

.....