วิธีดำเนินการวิจัย

๑. การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

๑.๑ การเตรียมตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างของพืช จำนวน ๘ ชนิด ได้แก่ ผักฮ้วน ผักเชียงดา ย่านาง ตำลึง ถั่วพู ฟักข้าว ผักหวานบ้าน และผักหวานป่า โดยเลือกเก็บเฉพาะใบที่ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป ชั่งผักแต่ละชนิด น้ำหนัก เท่ากับ ๑๐๐๐ g นำมาล้างด้วยน้ำเปล่าซ้ำหลายๆ ครั้งให้สะอาดและนำมาตากลมให้แห้งหลังจากนั้นนำมาอบในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ ๖๐°C เป็นเวลา ๔๘ ชั่วโมง เมื่อตัวอย่างของพืชแห้งดีแล้วนำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้งและนำมาบดให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นไฟฟ้า หลังจากนั้นเก็บผงพืชไว้ในขวดที่สะอาดและแห้งสนิทสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

๑.๒ การเตรียมสารสกัดพืช

ทำการชั่งน้ำหนักของผงพืชแต่ละชนิด น้ำหนัก เท่ากับ ๑๐๐ g มาสกัดด้วยน้ำหรือเอทานอล ปริมาตร เท่ากับ ๕๐๐ ml ทำการสกัดเป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาระเหยให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศ (rotary evaporater) จนแห้งและเก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชาสำหรับทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ภาพที่ ๑. การเตรียมตัวอย่างพืชและการบดให้เป็นผง

ภาพที่ ๒. การสกัดพืชด้วยเอทานอล

๑.๓ การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการยับยั้งจุลินทรีย์ (test microorganisms) จำนวน ๒๔ ชนิด

๑.๓.๑ การทดสอบกับแบคทีเรีย จำนวน ๑๖ ชนิด ได้แก่

๑. *Serratia marcescens*

๒. *Enterococcus faecalis* (ATCC ๒๙๒๑๙)

๓. *Staphylococcus aureus* (ATCC ๒๙๒๑๓)

๔. *Pseudomonas fluorescens*

๕. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC ๒๗๘๕๙)

๖. *Klebsiella pneumoniae* (ESBL+)

๗. *Enterobacter aerogenes*

๘. *Micrococcus luteus*

๙. *Samonella* sp. Group D

๑๐. *Escherichia coli* (ATCC ๓๕๒๑๘)

๑๑. *Salmonella typhi*

๑๒. *Escherichia coli* (O๑๕๗)

๑๓. *Proteus mirabilis*

๑๔. *Bacillus cereus*

๑๕. *Proteus valgaris*

๑๖. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

๑.๓.๒ การทดสอบกับ ยีสต์ จำนวน ๒ ชนิด ได้แก่

๑. *Candida albicans*

๒. *Cryptococcus neoformans*

แบคทีเรียเหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากงานปฏิบัติการกลางและชันสูตรโรค (Central Diagnostic) หน่วยปฏิบัติการจุลชีววิทยา (Microbiology Laboratory) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

๑.๓.๓ การทดสอบกับเชื้อรา จำนวน ๖ ชนิด ได้แก่

๑. *Alternaria solani*

๒. *Aspergillus flavus*

๓. *Colletotrichum musae*

๔. *Penicillium digitatum*

๕. *Penicillium expansum*

๖. *Fusarium solani*

๑.๔ การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทดสอบ

๑.๔.๑ การเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียแต่ละชนิดมาขีดลงบนอาหาร Nutrient Agar (NA) นำมาบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗°C เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว หลังจากนั้นใช้ลูปเขี่ยโคโลนีเดี่ยว จำนวน ๔-๕ โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยงที่มีอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) ปริมาตร ๕ ml นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบซ้าย-ขวา (reciprocal shaker) เป็นเวลา ๑๖ ชั่วโมง เมื่ออาหารเพาะเลี้ยงขุ่นแล้วนำอาหาร NB มาเติมเพื่อปรับระดับความขุ่นให้เท่ากับ ๐.๕ ของ McFarland Standard ซึ่งเทียบเท่ากับการอ่านค่าจาก spectrophotometer ที่มีความยาวคลื่น เท่ากับ ๖๒๕ nm ให้มีค่าของความดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง ๐.๐๘-๐.๑๐ ซึ่งเท่ากับมีจำนวนของแบคทีเรียประมาณ $๑๐^{-๕}$ CFU/ml

๑.๔.๒ การเพาะเลี้ยงยีสต์

นำโคโลนีของยีสต์มาขีดลงบนอาหาร Sabouraud Agar (SBA) และนำมาบ่มที่อุณหภูมิ ๓๐°C เป็นเวลา ๔๘ ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้ลูปเขี่ยโคโลนีเดี่ยว จำนวน ๒-๓ โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหาร Sabouraud Broth (SBB) ปริมาตร ๕ ml และนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบซ้าย-ขวา เป็นเวลา ๑๖ ชั่วโมง ทำการปรับความขุ่นด้วยอาหารให้มีความขุ่นของยีสต์เทียบเท่ากับ ๐.๕ McFarland Standard

๑.๔.๓ การเพาะเลี้ยงเชื้อรา

นำเชื้อราแต่ละชนิด ได้แก่ *Alternaria solani, Aspergillus flavus, Colletotrichum musae, Penicillium digitatum, Penicillium expansum* และ *Fusarium solani* มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา ๗ วัน ที่อุณหภูมิ ๓๐ $^{\circ}$C

๑.๕ การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion assay

ชั่งสารสกัดของพืชแต่ละชนิด (crude extract) น้ำหนัก เท่ากับ ๕๐ mg แล้วนำมาละลายด้วยเอทานอลปริมาตร เท่ากับ ๑ ml ทำให้มีความเข้มข้นเท่ากับ ๕๐ mg/ml

เก็บในอุณหภูมิ 4°C

ยาปฏิชีวนะ streptomycin ที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก (positive control)

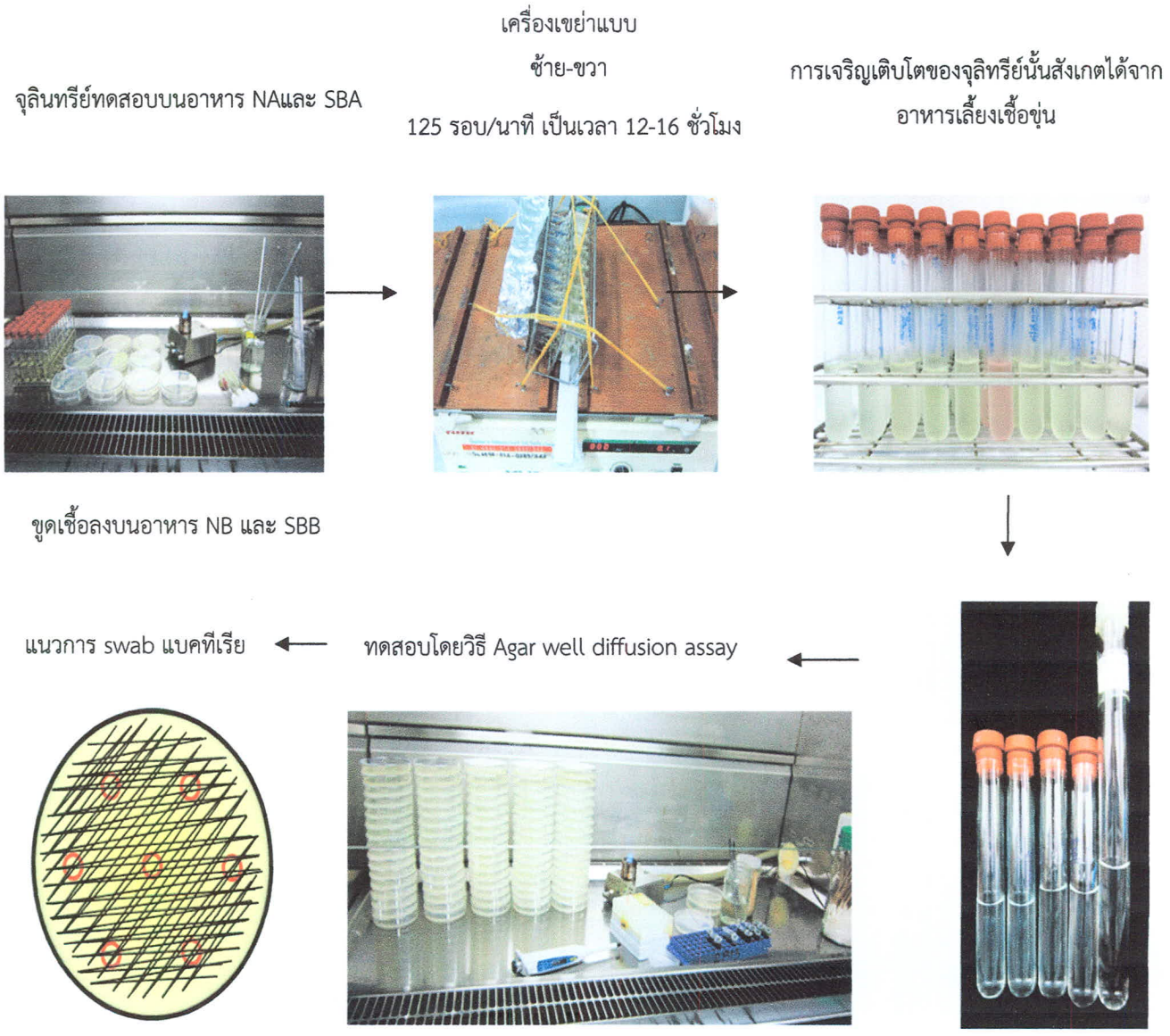
ชั่งตัวอย่างมา 50mg ละลายด้วยเอทานอล 1ml จนมีความเข้มข้นเท่ากับ 50mg/ml

ภาพที่ ๓. การเตรียมสารสกัดจากพืชด้วยสารละลายเอทานอล

๑.๕.๑ การทดสอบกับแบคทีเรียหรือยีสต์

ทำการ swab เชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อยีสต์โดยใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มลงในหลอดอาหารที่เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ไว้ บิดสำลีพอหมาดๆแล้วนำมาเกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหารแข็งให้ทั่ว (NA) การป้ายเชื้อนั้นป้ายให้อยู่ในลักษณะ ๓ ทิศทางและพักไว้เป็นเวลาประมาณ ๕ นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารแห้ง หลังจากนั้นใช้ cork borer ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ ๖ mm นำมาลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อแล้วจึงนำมาเจาะลงบนอาหารแข็งที่ swab ด้วยจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำชิ้นวุ้นที่เจาะออกและทำการปิเปตสารสกัดของพืชแต่ละชนิด โดยใช้ปริมาตรเท่ากับ ๔๐ µl มาหยดลงในหลุมอาหารที่เจาะไว้และพักทิ้งไว้เป็นเวลา ๓๐ นาที เพื่อให้สารสกัดนั้นแพร่เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗$^{\circ}$C สำหรับทดสอบแบคทีเรีย และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๐$^{\circ}$C สำหรับยีสต์ เป็นเวลา ๔๘ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (inhibition zone) ที่เกิดจากการที่สารสกัดนั้นสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยเปรียบเทียบกับวงใสที่เกิดจากยับยั้งจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะ Streptomycin sulfate (๕๐ mg/ml) ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมบวก

(positive control) และ อาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย (NB) หรืออาหารเพาะเลี้ยงยีสต์ (SBA) ที่ใช้เป็นตัวควบคุมลบ (negative control) การทดลองครั้งทำทั้งหมด จำนวน ๓ ซ้ำ



ภาพที่ ๔. การเตรียมจุลินทรีย์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด

๑.๕.๒ การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

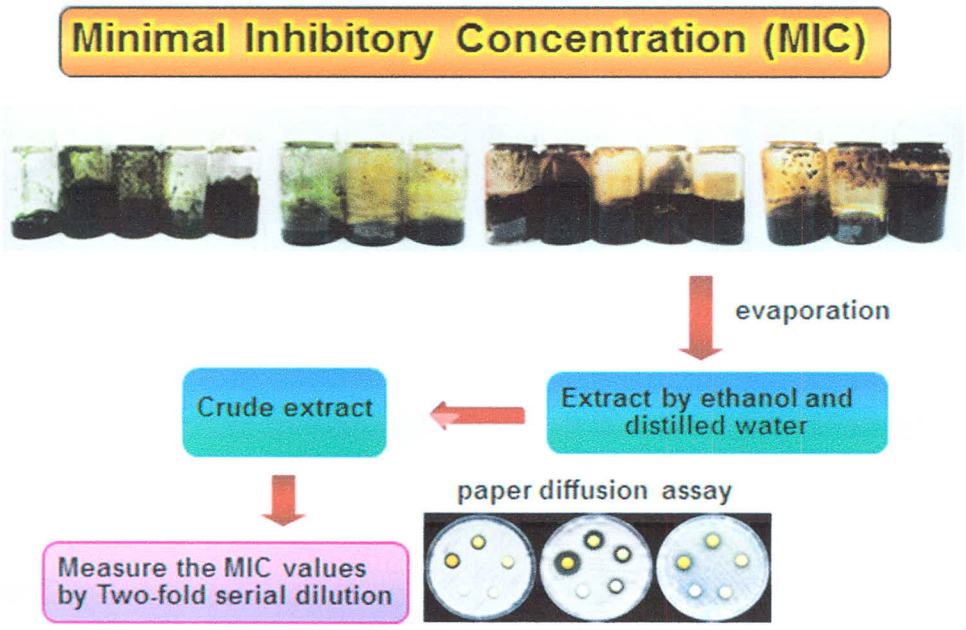
หลังจากที่เพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ ๓๐°C เป็นเวลา ๗ วัน ใช้ cork borer ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ ๐.๕ เซนติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราและนำมาวางลงบนอาหาร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๐°C เป็นเวลา ๓ วัน หลังจากนั้นนำ paper disc ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด ๖ mm จุ่มสารสกัดของพืชแต่ละชนิดแล้วนำมาวางบนอาหารที่เพาะเลี้ยงเชื้อราไว้ นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ ๓๐°C เป็นเวลา ๒-๔ วัน หลังจากนั้นนำมาวัดขนาดของวงใสที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Ducan's multiple rang และใช้โปรแกรม SPSS version ๑๗

๑.๖ การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

คัดเลือกสารสกัดของพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้สูงสุดและสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดมาหาค่า MIC (minimal inhibitory concentration) โดยเริ่มจากการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและนำมาเกลี่ยให้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารNA และ SBA ทำการพักทิ้งไว้ประมาณ ๕ นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารนั้นแห้ง หลังจากนั้นทำการเตรียมสารสกัดของพืชโดยการชั่งสารสกัดจากพืช น้ำหนัก ๕๐ mg แล้วนำมาละลายด้วยเอทานอล ปริมาตร ๑ ml ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดมีค่าเท่ากับ ๕๐ mg/ml จากนั้นนำมาเจือจางลงด้วยวิธี two-fold dilution ให้ได้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันและดูดสารสกัดปริมาตร เท่ากับ ๕๐ µL และนำมาหยดลงบน paper disc แล้วปล่อยไว้ให้แห้ง (air dry) หลังจากนั้นนำ paper disc มาวางลงบนอาหารที่ swab ด้วยจุลินทรีย์ทดสอบ สำหรับแบคทีเรีย นำมาบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗°C เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง สำหรับยีสต์นำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๐°C เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดขนาดของวงใสที่เกิดขึ้นโดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมการบวกและตัวควบคุมการลบ



ภาพที่ ๕. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัด

การแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

๑.๗ การแยกและทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบริสุทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟฟี (Thin Layer Chromatography)

นำสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำกลั่น หลังจากระเหยตัวทำละลายออกแล้ว ละลายสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลปริมาตร ๑ ml ทำการแยกสารสกัดให้บริสุทธิ์เบื้องต้นโดยใช้แผ่น TLC aluminium sheet รุ่น silica gel ๖๐ F โดยหยดสารสกัดปริมาตร ๕๐ µl ลงบนแผ่น TLC แล้วนำไป develop ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลแอซิเทต (ethyl acetate) และไดเอทิลลามิน (diethylamine) ในอัตราส่วน ๖๐:๔๐ เพื่อใช้เป็น mobile phase หลังจากนั้นนำไปส่องดูภายใต้รังสี UV ที่ความยาวคลื่น ๒๕๔ และ ๓๖๕ nm ตามลำดับ สารสกัดจากพืชจะปรากฏเป็นแถบที่แยกออกมา หลังจากนั้นนำไปวัดระยะทางเพื่อหาตำแหน่งของค่า R_f (retention factor) โดยใช้วิธีการคำนวณดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารนั้นเคลื่อนที่ไปจากจุดเริ่มต้น}}{\text{ระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปจากจุดเริ่มต้นในเวลาเดียวกัน}}$$

๑.๗.๑ ทดสอบหาตำแหน่งของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธีไบโอออโตกราฟิค (bioautographic analysis)

๑.๗.๒ นำเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบมา swab ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

๑.๗.๓ ทำเครื่องหมายบนแผ่น TLC และนำมาส่องหาแถบ (band) ที่เกิดขึ้น ภายใต้แสง UV (ultraviolet) หลังจากนั้นนำมาวัดระยะทางและคำนวณหาค่า R_f ของสาร

๑.๗.๔ วางแผ่น TLC ที่ต้องการทดสอบลงบนจานอาหารที่ swab ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ (โดยการคว่ำด้านหน้าลง) เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง

๑.๗.๕ ดึงแผ่น TLC ออก แล้วนำจานอาหารมาบ่มที่อุณหภูมิ ๓๗°C (สำหรับแบคทีเรีย) และ ๓๐°C (สำหรับยีสต์) โดยใช้เวลาในการบ่ม ๒๔ ชั่วโมง

๑.๗.๖ อ่านผลที่ได้จากการทดลองโดยดูขนาดของวงใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น เพื่อที่จะจำแนกว่าตำแหน่งของแบนใดบนแผ่น TLC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

๒. การศึกษาปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อผลผลิตของพืช

ทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิต ของตำลึง เชียงดา ย่านาง ผักหวานป่า ผักหวานบ้าน ถั่วพู และฟักข้าว ที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๑๕ นิ้ว ในโรงเรือนที่คลุมด้วยมุ้งตาข่ายกันแมลง โดยเริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม ๒๕๕๕ ถึง เดือนมิถุนายน ๒๕๕๖

๒.๑. เปรียบเทียบผลของวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินและทรายในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของพืชผักพื้นบ้านสมุนไพรที่ปลูกในกระถางโดยใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินและทรายด้วยใช้สัดส่วนต่างกัน ๓ กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ ๑ ปลูกด้วยดินผสมล้วน (ผลิตโดยภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม)

กรรมวิธีที่ ๒ ดินผสมชนิดเดียวกัน ๑ ส่วน ผสมทรายหยาบ ๑ ส่วน

กรรมวิธีที่ ๓ ดินผสมชนิดเดียวกัน ๑ ส่วน ผสมกับทรายหยาบ ๒ ส่วน

ทำการศึกษากับพืช ๔ ชนิด ได้แก่ ตำลึง เชียงดา ย่านาง และผักหวานป่า โดยแต่ละกรรมวิธีใช้พืช จำนวน ๑๐ ต้น

๒.๒. เปรียบเทียบความเข้มของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิด

ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของพืชผักพื้นบ้านสมุนไพร ที่ปลูกด้วยดินผสมล้วนปลูกในโรงเรือนด้วยสภาพความเข้มแสง ๒ กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ ๑ สภาพที่ไม่พรางแสง ทำให้พืชได้รับการได้รับความเข้มแสงจากแสงแดดเต็มที่

กรรมวิธีที่ ๒ สภาพที่พรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง ๕๐%

ทำการศึกษากับพืช จำนวน ๕ ชนิด ได้แก่ ตำลึง เชียงดา ผักหวานบ้าน ถั่วพู แต่ละกรรมวิธีใช้พืช จำนวน ๑๐ ต้น ยกเว้นฟักข้าว ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีใช้พืช จำนวน ๕ ต้น

๒.๓ เปรียบเทียบผลของความยาววันที่มีผลต่อการออกดอกของถั่วพู

ศึกษาเปรียบเทียบการออกดอก หรือผลผลิตถั่วพูที่ปลูกในสภาพของความยาววันที่ต่างกัน ๒ กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ ๑ การได้รับความยาววันตามธรรมชาติ

กรรมวิธีที่ ๒ ควบคุมให้พืชได้รับแสงเป็นเวลา ๘ ชั่วโมงต่อวัน โดยคลุมด้วยผ้ากันแสงส่องผ่าน ในเวลาตั้งแต่ ๑๖.๓๐ – ๘.๓๐ น.

แต่ละกรรมวิธีใช้ต้นถั่วพูที่แตกต้นใหม่จากเหง้า จำนวน ๑๐ ต้น ปลูกทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม ๒๕๕๖ เป็นเวลา ๓ เดือน

เปรียบเทียบการเจริญเติบโต ของตำลึง เชียงดา ย่านาง ผักหวานป่า ผักหวานบ้าน ถั่วพู และฟักข้าว เมื่อมีอายุได้ ๒ เดือน ๔ เดือน และ ๖ เดือน และผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ในช่วงเวลาดังกล่าว

- รายงานผลการเจริญเติบโตด้วย ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตต่อไปนี้
  - ความสูง โดยวัดความสูงจากโคนถึงปลายลำต้น แสดงการเจริญเติบโตของพืชที่มีลำต้นตั้ง เช่น ผักหวานป่า ผักหวานบ้าน เป็นต้น
  - ความยาวรวมของลำต้น แสดงผลรวมของการเจริญเติบโตโดยรวมความยาวของกิ่งก้านสาขา รวมถึงแสดงการเจริญเติบโตของพืชที่เป็นไม้เลื้อย เช่น เชียงดา ตำลึง ฟักข้าว ถั่วพู เป็นต้น
  - จำนวนยอด นับจำนวนยอดทั้งหมด
  - จำนวนใบ นับจำนวนใบทั้งหมด
  - ขนาดใบ โดยนำใบที่โตเต็มที่ไปวัดพื้นที่ใบด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบยี่ห้อ LI-COR รุ่น LI ๓๑๐๐ เฉลี่ยจากตัวอย่างจำนวน ๓ ใบ/ต้น
  - จำนวนดอก
  - จำนวนผล
  - ค่าสังเกตอื่นๆ ได้แก่ สีใบ การระบาดของโรคและแมลง

- รายงานผลผลิต โดยเก็บเกี่ยวยอดตามขนาดที่มีใบอ่อน หรือฝักอ่อนที่นิยมบริโภค แสดงปริมาณผลผลิตด้วยค่าเฉลี่ยของจำนวนยอด จำนวนใบ ความยาวยอด จำนวนดอก จำนวนผล และน้ำหนัก

๓. การถ่ายทอดความรู้และเทคโนโลยีสู่ชุมชน

หลังจากที่ได้ทำการวิจัยเสร็จสิ้นแล้วคณะวิจัยได้ทำการถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยเผยแพร่แก่เกษตรกร และผู้สนใจ โดยการจัดฝึกอบรมให้กับเกษตรกรและผู้ที่สนใจ จำนวน ๖๐ คน

กำหนดการอบรม ภายใต้โครงการวิจัย
เรื่อง การเพิ่มศักยภาพและสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรในตำรับยาล้านนา:
การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการผลิต
วันจันทร์ที่ ๑๙ สิงหาคม ๒๕๕๖ เวลา ๘.๓๐ – ๑๖.๓๐ น.
ณ ห้องประชุมเทศบาลตำบลป่าป้อง อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่

เวลา	หัวข้อและรายละเอียด
๐๘.๓๐ – ๐๙.๐๐ น.	ลงทะเบียน
๐๙.๐๐ – ๐๙.๑๕ น.	กล่าวรายงานการจัดอบรม โดย นางนิตยา บุญทิม กล่าวเปิดงานการอบรมและกล่าวต้อนรับผู้เข้าร่วมอบรม โดย นายอำเภอดอยสะเก็ด ว่าที่ ร.ต.สมัย คำชมภู
๐๙.๑๕ –๑๐.๑๕ น.	บรรยาย การผลิตพืชผักสมุนไพรที่ปลอดภัยในอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ โดย เกษตรอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ นายประมวล เครือมณี
	รับประทานอาหารว่างในห้องจัดอบรม
๑๐.๑๕ – ๑๐.๔๕	บรรยายเรื่อง สถานการณ์ในการผลิตพืชผักในอำเภอดอยสะเก็ด โดย เกษตรตำบลเชิงดอย อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่
๑๐.๔๕ – ๑๑.๑๕ น.	บรรยายเรื่อง การทำเกษตรอินทรีย์ในอำเภอดอยสะเก็ด โดย นายเจริญ ยกคำสูง
๑๑.๑๕ – ๑๒.๑๕ น.	บรรยายเรื่อง ผลที่ได้จากงานวิจัยเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในชุมชน โดยคณะวิจัย นางนิตยา บุญทิม นางถกลวรรณ ศิริสวัสดิ์ นางสาวพรรณเพ็ญ เครือไทย นายชินกฤต สุวรรณศีรี
๑๒.๑๐ – ๑๓.๓๐ น.	รับประทานอาหารกลางวัน
๑๓.๓๐ – ๑๖.๓๐ น.	บรรยายเรื่อง การใช้ประโยชน์จากสมุนไพรในชุมชนเพื่อป้องกันและรักษาโรคไขมันเกิน โรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูง โดย แพทย์แผนไทย อาจารย์จรรยา วงค์ชัย