รายงานชุดโครงการวิจัย

การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
Biotechnology Research and Development

หัวหน้าชุดโครงการวิจัย

นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์

พ.ศ.2558

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		1
คณะผู้วิจัย		2
บทนำ		16
วัตถุประสงค์ของชุดโครงการ		17
ระเบียบและวิธีวิจัย		18
ผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ		
โครงการวิจัย 1	การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์	21
โครงการวิจัย 2	การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร	27
โครงการวิจัย 3	การพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตร	29
โครงการวิจัย 4	พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์	32
โครงการวิจัย 5.	การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ	35
โครงการวิจัย 6	เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อวิจัยพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ในสภาวะโลกร้อน	39

กิตติกรรมประกาศ

ชุดโครงการนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความร่วมมือของคณะผู้วิจัย การบริหารจัดการ การจัดสรรงบประมาณ การให้คำแนะนำ กลั่นกรอง และช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จากคณะกรรมการที่ปรึกษาวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการกรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร และการสนับสนุนให้ดำเนินการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณหัวหน้าโครงการและผู้ร่วมดำเนินงานวิจัยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและทำงานวิจัยอย่างมุ่งมั่น และดำเนินงานวิจัยให้บรรลุวัตถุประสงค์ สนับสนุนให้งานวิจัยสามารถถ่ายทอดองค์ความรู้ และนำไปใช้ประโยชน์ได้ ตลอดจนรวบรวมและจัดทำรายงานผลการทดลองเสร็จสิ้นภายในระยะเวลาที่กำหนด

ขอขอบคุณหน่วยงานต่างๆและเกษตรกร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชมาใช้ในการวิจัย นับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำงานวิจัย ทำให้โครงการนี้ประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความรู้ทางสถิติ ทำให้ผู้วิจัยสามารถนำความรู้ที่ได้รับมาใช้ในการวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติของการทดลองในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบุคลากรทั้งหลายของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพที่ช่วยเหลือสนับสนุนทั้งกำลังกายและกำลังใจ จนโครงการสำเร็จลุล่วงและสมบูรณ์

นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์
หัวหน้าชุดโครงการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะผู้วิจัย

ชุดโครงการวิจัย การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
Biotechnology Research and Development

ชื่อหัวหน้าชุดโครงการวิจัย

นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประกอบด้วย 6 โครงการวิจัยดังนี้

โครงการวิจัย1 การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์
The utilization of Biotechnology to develop plant varieties microorganism and products

หัวหน้าโครงการวิจัย นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมภายใต้โครงการวิจัย มี 4 กิจกรรม

กิจกรรมที่ 1 รวบรวม พัฒนาสายพันธุ์ สารสำคัญ และผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร ประกอบด้วยการทดลอง 11 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1.1 การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสำหรผลิตเอทานอลจากชีวมวล

หัวหน้าการทดลอง	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายกรกช จันทร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาไลเปสของราและแบคทีเรียและการใช้ประโยชน์ในการผลิตไบโอดีเซล

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัทนา ศรีหัตถกรรม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางวิภา หงษ์ตระกูล	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
	นางสาวกิ่งกาญจน์ พิชญกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.3 การศึกษาไคติเนสของแบคทีเรีย รา และ *Streptomyces* และการใช้ประโยชน์

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัทนา ศรีหัตถกรรม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางวิภา หงษ์ตระกูล	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 1.4 การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

หัวหน้าการทดลอง	นายกรกช จันทร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.5 คัดเลือกชนิดสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ที่เหมาะสมกับการผลิตเอทานอลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.6 การศึกษาแบคทีเรียและเชื้อราที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ย่อยสลายชีวมวลเพื่อการผลิตเอทานอลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองย่อยที่ 1.6.1 การศึกษาแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ย่อยสลายเยื่อใยจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวมัทนา ศรีหัตถกรรม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองย่อยที่ 1.6.2 การศึกษาเชื้อราที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ไซลาเนสและการโคลนยีนไซลาเนสเพื่อการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

หัวหน้าการทดลอง	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.7 การศึกษาการโคลนยีน การแสดงออกของยีน และการผลิตโปรตีนต้านการเกิดผลึกน้ำแข็งจากแบคทีเรีย

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัทนา ศรีหัตถกรรม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 1.8 การศึกษาเทคโนโลยีเบื้องต้นในการผลิตไบโอเอทานอลจากสาหร่ายขนาดเล็ก

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.9 การดัดแปลงพันธุกรรมของ ยีน YAP1 ในยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการหมักเอทานอล

หัวหน้าการทดลอง	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลอง 1.10 การจำแนกเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. จากยีนไคติเนสด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัลลิกา แก้ววิเศษ.	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.
	นางสาวจีรภา ปัญญศิริ	ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาและพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม

ประกอบด้วยการทดลอง 1 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 2 การควบคุมการแสดงออกของยีน dihydroflavonol 4-reductase (DFR) ในรูป antisene เพื่อสร้างความหลากหลายของสีดอกหน้าวัว

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวกุหลาบ คงทอง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายประสาน สืบสุข	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางกัลยา เกาะกากลาง	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
	นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 3 การใช้เทคโนโลยีเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช

ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 3.1 การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ SNP เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ยางพารา

หัวหน้าการทดลอง	นายประสาน สืบสุข	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวกุหลาบ คงทอง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวกรรณิการ์ ธีระวัฒนสุข	ศูนย์วิจัยยางฉะเชิงเทรา
	นางสาวรัชนี รัตนวงศ์	ศูนย์วิจัยยางหนองคาย
	นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 3.2 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อการปรับปรุงพันธุ์

หัวหน้าการทดลอง	นายประสาน สืบสุข	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวกุหลาบ คงทอง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายกิตติภพ วายุภาพ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท
	นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 4 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ประกอบด้วยการทดลอง 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 4.1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัลลิกา แก้ววิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาววราพร ไชยมา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 4.2 การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมองุ่นโดยใช้เทคนิค DNA Fingerprint และการจัดทำฐานข้อมูล (Database)

หัวหน้าการทดลอง	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางอัครชาพรรณ กวางแก้ว	ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร

การทดลองที่ 4.3 การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการประเมินลักษณะ และตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ของกล้วยไม้รองเท้านารีในประเทศไทย

การทดลองย่อยที่ 4.3.1 การรวบรวม อนุรักษ์ และตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ของกล้วยไม้รองเท้านารีในประเทศไทย

หัวหน้าการทดลอง	นายนุกูล อ่อนนิ่ม	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางกุลธิดา ดอนอยู่ไพร	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก
	นางเยาวภา เต้าชัยภูมิ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์
	นางวิลาวรรณ ไชยบุตร	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก

การทดลองย่อยที่ 4.3.2 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลในการตรวจเอกลักษณ์ของกล้วยไม้รองเท้านารีในประเทศไทย

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวศิริลักษณ์ อินทะวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายนุกูล อ่อนนิ่ม	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายประสาน สืบสุข	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

โครงการวิจัย2 **การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร**
Gene Discovery and Functional Studies

หัวหน้าโครงการวิจัย นายพยุงศักดิ์ รวยอารีย์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1 การศึกษาหายีนส์ทนแล้งเพื่อเตรียมไว้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชทนแล้ง

การทดลองที่ 1.1 การค้นหายีนและกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ

หัวหน้าการทดลอง	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาการแสดงออกของกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำในระดับอาร์เอ็นเอในข้าวโพดพันธุ์ทนแล้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

หัวหน้าการทดลอง	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.3 การโคลนยีนที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในข้าวโพดทนแล้ง

หัวหน้าการทดลอง	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 2 การโคลนยีน Flavanoid 3', 5' hydroxylase (F3' 5'H) จากอัญชันและพิทูเนีย

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวกุหลาบ คงทอง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายประสาน สืบสุข	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 3 การศึกษายีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล

การทดลองที่ 3.1 การโคลนยีน Sucrose Synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลในอ้อย

หัวหน้าการทดลอง	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 3.2 การถ่ายยีน Sucrose Synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลและการตรวจสอบการปรากฏของยีนในพืชต้นแบบ

หัวหน้าการทดลอง	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 4 การถ่ายฝากเวคเตอร์ RNAi เพื่อยับยั้งการเสื่อมสภาพและการแสดงออกของยีน *DHS* ในพืชต้นแบบ

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองเรื่องที่ 5 การโคลนยีนเรืองแสงจากเห็ดเรืองแสง

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัลลิกา แก้ววิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางอัญชลี เชียงกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 6 การศึกษาและค้นหายีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 (NSW3) โดยอาศัยเทคนิค PCR

หัวหน้าการทดลอง	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายสุริพัฒน์ ไทยเทศ	ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตร
Development of GMO Detection Technique for Agricultural of Agricultural Product

หัวหน้าโครงการวิจัย นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1 วิจัยและพัฒนาความใช้ได้ของวิธีการทดสอบการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวชนันต์ธร ดนัยสิริชัยชล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 2 การพัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีน (เป็นกรณีศึกษาการใช้กับ) ข้าวดัดแปรพันธุกรรม Bt63

หัวหน้าการทดลอง	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวชนันต์ธร ดนัยสิริชัยชล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 3 การพัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีน CP4EPSPS (เป็นกรณีศึกษาการใช้กับ) ข้าวโพดต้านทานสารกำจัดวัชพืช Roundup Ready

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวชนันต์ธร ดนัยสิริชัยชล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที 4 การพัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีน CrylAb (เป็นกรณีศึกษาการใช้กับ) ข้าวโพดดัดแปพันธุกรรม

หัวหน้าการทดลอง	นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 5 การผลิตชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วสำหรับโปรตีน Cry9C (เป็นกรณีศึกษาการใช้กับข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม)

หัวหน้าการทดลอง	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 6 วิจัยและพัฒนาความใช้ได้ของวิธีการทดสอบการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรม Mon 89788, 356043 และ 305423

หัวหน้าการทดลอง	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 7 วิจัยและพัฒนาความใช้ได้ของวิธีการทดสอบการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม Mon 88017, Mon89034, MIR604 และ MIR162

หัวหน้าการทดลอง	นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายอรรคพล ภูมีศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การทดลองที่ 8 การสร้างดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อการตรวจวิเคราะห์มะละกอดัดแปรพันธุกรรม

หัวหน้าการทดลอง	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวชนันต์ธร ดนัยสิริชัยชล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 9 การผลิตโปรตีนมาตรฐานเพื่อพัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA Kit ของถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมในเชิงพาณิชย์

หัวหน้าการทดลอง	นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวชนันต์ธร ดนัยสิริชัยชล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โครงการวิจัยที่ 4 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์
In vitro Culture Technique for Micropropagation and Breeding

หัวหน้าโครงการวิจัย นางสาวอำไพ สินพัฒนานนท์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ในกระทือ

การทดลองที่ 1.1 การขยายพันธุ์กระทือด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอำไพ สินพัฒนานนท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวนาตยา ดำอำไพ	สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.2 การฉายรังสีเนื้อเยื่อกระทือให้เกิดการกลายพันธุ์

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอำไพ สินพัฒนานนท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวนาตยา ดำอำไพ	สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกถ่ายยีนในยางพารา

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาและพัฒนาการขยายพันธุ์ยางพาราโดยการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน

หัวหน้าการทดลอง	นายวิทยา พรหมมี	ศูนย์วิจัยยางฉะเชิงเทรา กรมวิชาการเกษตร
	รศ.ดร. สมปอง เตชะโต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

การทดลองที่ 2.2 การพัฒนาการขยายพันธุ์ยางโดยวิธี microcutting ในสภาพ ปลอดเชื้อ

หัวหน้าการทดลอง	นายวิทยา พรหมมี	ศูนย์วิจัยยางฉะเชิงเทรา กรมวิชาการเกษตร
	รศ.ดร. สมปอง เตชะโต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

การทดลองที่ 2.3 การพัฒนาการปลูกถ่ายยีนโดยการใช้ *Agrobacterium* และการพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ในยางพารา

หัวหน้าการทดลอง	นายวิทยา พรหมมี	ศูนย์วิจัยยางฉะเชิงเทรา กรมวิชาการเกษตร
	รศ.ดร. สมปอง เตชะโต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

โครงการวิจัย 5. การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

The Production of Bio-ethanol from Biomass Using Biotechnology

หัวหน้าโครงการวิจัย นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

แบ่งเป็น 4 กิจกรรม ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การศึกษา พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

การทดลองที่1.1 การคัดเลือกและศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.2 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์

หัวหน้าการทดลอง	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.3 การผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

หัวหน้าการทดลอง	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.4 การรวบรวมและพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์สำหรับผลิตไบโอเอทานอล

หัวหน้าการทดลอง	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 1.5 การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายชีวมวลระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม

หัวหน้าการทดลอง	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของพืชและชีวมวล (Biomass) ในประเทศไทยสำหรับผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 2.1 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น

การทดลองที่ 2.2 ศึกษา คัดเลือก และทดสอบชีวมวลในภาคต่างๆของประเทศไทยที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

หัวหน้าการทดลอง	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น

การทดลองที่ 2.3 การพัฒนาพันธุ์พืชที่มีปริมาณลิกนินต่ำสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล

2.3.1 การโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช

หัวหน้าการทดลอง	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

2.3.2 การถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินในพืช

หัวหน้าการทดลอง	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 2.4 ผลของการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครสใน สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii.* สำหรับการผลิตเอทานอล

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 3 การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 3.1 การทดสอบพืช/สาหร่ายนำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับพืชท้องถิ่น

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่ 3.2 การทดสอบจุลินทรีย์นำเข้าจากต่างประเทศที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับจุลินทรีย์ท้องถิ่น

หัวหน้าการทดลอง	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวภรณี สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากชีวมวลเพื่ออุตสาหกรรมขนาดย่อม

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลในกระบวนการย่อยสลาย

หัวหน้าการทดลอง	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายมงคล ตุ่นเฮ้า	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายกลวัชร ทิมิลกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น

การทดลองที่ 4.2 การพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการหมักของการผลิตเอทานอลจากชีวมวล

หัวหน้าการทดลอง	นายพินิจ จิรัคคกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน	นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายมงคล ตุ่นเฮ้า	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นายกลวัชร ทิมิลกุล	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมขอนแก่น
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

โครงการวิจัยที่ 6 เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อวิจัยพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ในสภาวะโลกร้อน
Biotechnology Research and Development of Plants and Microbes under Global Warming Condition

หัวหน้าโครงการวิจัย นางสุภาวดี ง้อเหรียญ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประกอบด้วย การทดลอง

การทดลองที่1 การโคลนยีนที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในข้าวโพดพันธุ์ทนแล้ง

หัวหน้าการทดลอง	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่2 การถ่ายยีนและศึกษาการแสดงออกของยีนที่ทนต่อสภาวะเครียดในพืชต้นแบบ

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่3 การศึกษาและค้นหายีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 (NSW3)โดยอาศัยเทคนิค PCR

หัวหน้าการทดลอง	นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	สุริพัฒน์ ไทยเทศ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

การทดลองที่4 การปรับปรุงและถ่ายฝากยีนทนทานสภาพแวดล้อม OsSKIPa สู่ถั่วเหลืองโปรตีนสูง โดยเทคนิค Ovary-drip

หัวหน้าการทดลอง	นายพงศกร สรรค์วิทยากุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	สุภาวดี ง้อเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสุมนา งามผ่องใส	ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท

บทนำ

เทคโนโลยีชีวภาพ เป็นความรู้หรือวิชาการที่สามารถนำสิ่งมีชีวิตหรือผลผลิตจากสิ่งมีชีวิตมาใช้หรือมาปรับเปลี่ยนและประยุกต์เพื่อใช้ประโยชน์ จากการวิเคราะห์ประเด็นปัญหา ประเทศไทยเป็นแหล่งเกษตรกรรมอันดับหนึ่ง มีการเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจมากมายหลายชนิด ได้แก่ ข้าว พืชไร่ พืชผัก และไม้ผล เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศและปัจจัยการผลิตที่เหมาะสมในการปลูกพืช แต่ยังมีปัญหาการพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะตามที่ต้องการ เช่น ผลผลิตสูง ต้านทานโรค ทนแล้ง ในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ในส่วนของจุลินทรีย์ซึ่งมีความหลากหลายในประเทศไทย และมีการนำมาใช้ประโยชน์เพียงบางส่วน จำเป็นต้องมีงานวิจัยและพัฒนาเพื่อนำความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์มากขึ้น โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่เข้ามาช่วยเป็นปัจจัยเสริมในด้านการปรับปรุงพันธุ์ ได้แก่โคลนยีนที่มีควบคุมลักษณะที่สำคัญทางการเกษตร เพื่อนำไปถ่ายเข้าสู่พืชเศรษฐกิจ เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) เทคโนโลยีดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA) เทคโนโลยีโมเลกุลเครื่องหมาย (molecular markers) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) เพื่อการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืช จะช่วยให้ได้พันธุ์ใหม่ตามต้องการ การรวบรวม พัฒนาสายพันธุ์ การค้นหาสารสำคัญ และผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร ปัจจุบันมีเทคนิคทางชีวโมเลกุลใหม่ๆเข้ามาอย่างต่อเนื่อง ทำให้การศึกษาและค้นคว้าได้ง่ายและเร็วขึ้น เช่น การใช้เทคนิค Metagenomic ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถค้นหายีนที่สำคัญจากจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ และผลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงแม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้

ในปัจจุบันมีปริมาณการใช้พลังงานที่เพิ่มมากขึ้นตามความต้องการของมนุษย์ ทั้งภาคเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการคมนาคมขนส่ง ซึ่งแหล่งพลังงานเหล่านี้ล้วนได้มาจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมซึ่งมีอยู่อย่างจำกัด หลายประเทศจึงมีความพยายามอย่างยิ่งที่จะหาพลังงานทางเลือกอื่น ในรูปแบบต่างๆ เช่น ก๊าซธรรมชาติ ไบโอดีเซล พลังงานลม น้ำ แสงอาทิตย์ เพื่อที่จะนำมาทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งพลังงานจากชีวมวล ซึ่งนับว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจมากการผลิตเอนไซม์ ที่สำคัญต่างๆที่ได้จากจุลินทรีย์ recombinant DNA ซึ่งช่วยในขบวนการย่อยสลาย การหมัก เพื่อผลิตเอทานอลและไบโอดีเซล ล้วนแต่ต้องนำเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่เข้ามาช่วยปรับปรุงเพื่อให้ได้ผลผลิตอย่างรวดเร็ว และสามารถนำไปใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ๆที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรได้ต่อไปในอนาคต

นอกจากงานที่เน้นในเรื่องงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพแล้ว ประเทศไทยต้องเปิดการค้าเสรี ทำให้สินค้าเกษตรจากประเทศอื่นๆ เข้ามาในประเทศได้ง่าย สินค้าเกษตรของไทยอาจมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนพืชดัดแปรพันธุกรรม ที่จะส่งผลต่อการส่งออกสินค้าทางการเกษตรของไทย และความวิตกกังวลต่อความปลอดภัยของพืชดัดแปรพันธุกรรมในสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ในหลายประเทศจึงมีกฎระเบียบการติดฉลากพืชดัดแปลงพันธุกรรมในสินค้าและผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และได้มาตรฐานสากล ด้วยวิธีวิเคราะห์ทางด้าน molecular biomarkers analysis ซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจทางด้านดีเอ็นเอและโปรตีน จะทำให้เกิดประโยชน์ต่อประเทศไทยในด้านตรวจวิเคราะห์ ซึ่งมีผลต่อการนำเข้าและส่งออกผลิตภัณฑ์ของประเทศ หากไม่พัฒนาอาจทำให้ประเทศเกิดความเสียหายหรือถูกกีดกันทางการค้าโลกได้

วัตถุประสงค์ของชุดโครงการวิจัย

1. เพื่อนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในงานวิจัยเพื่อพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการคัดเลือกพันธุ์ การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ในอุตสาหกรรมไบโอเอทานอลและไบโอดีเซล การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืช ตลอดจนการศึกษาพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอล

2. การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อสร้างเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมพืช และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการตรวจเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมพืช

3. การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร เช่น ยีนควบคุมสีของไม้ดอก การศึกษายีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล การศึกษาและทดสอบการถ่ายยีนเพื่อยับยั้งการเสื่อมสภาพและการแสดงออกของยีนในพืชต้นแบบ

4. วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีในการตรวจวิเคราะห์พืชดัดแปลงพันธุกรรม ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ให้ได้วิธีการที่แม่นยำ รวดเร็ว ได้มาตรฐาน ISO ในระบบรับรองสินค้าเกษตร การวิจัยพัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีนพืชดัดแปรพันธุกรรม เพื่อใช้ตรวจสอบการแพร่กระจายของพืชดัดแปรพันธุกรรมในภาคสนาม

5. วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์ การสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยการฉายรังสี และการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ในปริมาณมาก

6. ศึกษาพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลและเยื่อกระดาษ ศึกษาพืชและวัตถุดิบที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวในภาคต่างๆ ของไทยที่มีศักยภาพสามารถนำมาผลิตไบโอเอทานอล ศึกษาและพัฒนาเครื่องจักรกลต้นแบบที่จำเป็นสำหรับขบวนการผลิตไบโอเอทานอล

7. เพื่อโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความทนต่อสภาวะโลกร้อน ได้แก่ ความแห้งแล้ง สภาวะขาดน้ำ และสร้างชุดยีน (plasmid construct) สำหรับนำไปถ่ายฝากเข้าสู่พืช เพื่อใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ทนต่อสภาวะขาดน้ำได้ หรือนำมาประยุกต์ใช้เป็นโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

ระเบียบและวิธีการวิจัย

ในการวิจัยและพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ได้ตระหนักถึงความจำเป็นในการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการเพิ่มขีดความสามารถและประสิทธิภาพงานวิจัย โดยเฉพาะด้านชีวโมเลกุลในการค้นหายีนที่มีประโยชน์จากพืชและจุลินทรีย์ การสร้างสายพันธุ์จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่มีประโยชน์ ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามธรรมชาติ หรือ จุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมการเกษตร จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาทุกด้าน ตลอดจนบุคลากร และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ เพื่อค้นคว้าวิจัยเทคโนโลยีทางชีวภาพ และนำเอาความหลากหลายของทรัพยากรที่มีอยู่มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดเป็นระบบครบวงจร โดยดำเนินการวิจัยด้านต่างๆ ดังนี้

โครงการวิจัยที่ 1 การใช้เทคโน โลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์

1. ทำการศึกษารวบรวม พัฒนาสายพันธุ์ สารสำคัญ และผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

1.1 พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ แบคทีเรีย/เชื้อรา และยีสต์ ที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ย่อยสลายชีวมวลเพื่อการผลิตไบโอดีเซลและเอทานอล ได้แก่เอนไซม์เซลลูเลส เอ็นไซม์ไซลาเนส ไลเปสของราและแบคทีเรีย โดยการศึกษาเอนไซม์ การค้นหายีน โคลนยีน และสร้างจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรม

1.2 ศึกษาเทคโนโลยีเบื้องต้นในการผลิตไบโอเอทานอลจากสาหร่ายขนาดเล็ก

1.3 จัดจำแนกเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. จากยีนไคติเนสด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

2. ศึกษาและพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม โดยการโคลนและถ่ายยีน dihydroflavonol 4-reductase (DFR) ในรูป antisene เพื่อสร้างความหลากหลายของสีดอกหน้าวัว

3. ศึกษาและจัดทำลายพิมพ์ดีเอนเอของอุ่น เห็ดเรืองแสง กล้วยไม้รองเท้านารีเพื่อประเมินลักษณะทางพันธุกรรม โดยออกสำรวจ รวบรวม และจัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรม

4. ศึกษาเทคโนโลยีเครื่องหมายโมเลกุลเอ SNP เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ยางพารา และเครื่องหมายโมเลกุลประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อการปรับปรุงพันธุ์

โครงการวิจัยที่ 2 การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

1. ศึกษาหายีนส์ทนแล้งเพื่อเตรียมไว้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชทนแล้ง โดยค้นหายีนและกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ และศึกษาการแสดงออกของกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำในระดับอาร์เอ็นเอ

2. โคลนยีน Flavanoid 3', 5' hydroxylase (F3' 5'H) จากอัญชันและพิทูเนีย เพื่อเพิ่มความหลากหลายในไม้ดอก

3. ศึกษายีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล โดยโคลนยีนโคลนยีน Sucrose Synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล และถ่ายเข้าสู่พืชโมเดล

4. ศึกษายีนและยับยั้งการแสดงออกของยีน Deoxyhypusine Synthase (DHS) โดยใช้เทคนิค RNAi เพื่อยับยั้งการเสื่อมสภาพของพืชการถ่ายฝากเวคเตอร์ RNAi เข้าสู่พืชต้นแบบ

โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตร

1. พัฒนาความใช้ได้ของวิธีการทดสอบการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรม Mon 89788, 356043 และ 305423 และข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม Mon 88017, Mon89034 และ MIR604

2. พัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีน Bt63 ในข้าวดัดแปรพันธุกรรม โปรตีน CP4EPSPS ในข้าวโพดต้านทานสารกำจัดวัชพืช Roundup Ready โปรตีน CryIAb และ โปรตีน Cry9C ในข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม

3. การสร้างดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อการตรวจวิเคราะห์มะละกอดัดแปรพันธุกรรม

4. การพัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA เพื่อตรวจสอบโปรตีน EPSPS ของถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมต้านทานสารกำจัดวัชพืช

โครงการวิจัยที่ 4 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์

1. ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ในกระทือ ขยายพันธุ์ด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์และฉายรังสีให้เกิดการกลายพันธุ์

2. ศึกษาและพัฒนาการขยายพันธุ์ยางพาราโดยการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน**และ**วิธี microcutting ในสภาพปลอดเชื้อ รวมทั้งพัฒนาการปลูกถ่ายยีนโดยการใช้ *Agrobacterium* และศึกษาการพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ในยางพาราดัดแปลงพันธุกรรม

โครงการวิจัยที่ 5 การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

1. ศึกษาพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล โดย

1.1 สำรวจและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจาจุลินทรีย์

1.2 รวบรวมและพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์สำหรับผลิตไบโอเอทานอล

1.3 โคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

1.4 การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายชีวมวลระดับอุตสาหกรรม

2. ศึกษาศักยภาพของพืชและชีวมวล (Biomass) ในประเทศไทยสำหรับผลิตไบโอเอทานอลโดยวิธีคัดเลือก และทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

3. พัฒนาพันธุ์พืชที่มีปริมาณลิกนินต่ำสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลโดยการโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช และถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินในพืช

4. คัดเลือก และทดสอบพืช/สาหร่าย/จุลินทรีย์ นำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอเอทานอลเทียบกับพืชท้องถิ่น

5. ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากชีวมวลเพื่ออุตสาหกรรมขนาดย่อม โดยการพัฒนาเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลในกระบวนการย่อยสลาย และพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวน การหมักของการผลิต เอทานอลจากชีวมวล

โครงการวิจัยที่ 6 เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อวิจัยพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ในสภาวะโลกร้อน

1. ศึกษาหายีนทนแล้ง โดยศึกษาหน้าที่ กลไกลการทำงานของยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ การโคลนยีนทนแล้ง และสร้างชุด cassette ของยีนที่โคลนได้ ถ่ายฝากชุดยีนดังกล่าวเข้าสู่พืชต้นแบบ (ยาสูบ) โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ทนต่อสภาวะเครียดในพืชต้นแบบ (ยาสูบ) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2. การปรับปรุงและถ่ายฝากยีนทนทานสภาพแวดล้อม *OsSKIPa* สู่ถั่วเหลืองโปรตีนสูง โดยเทคนิค Ovary drip และการตรวจสอบความสามารถในการทนแล้งของถั่วเหลืองที่ได้รับการถ่ายฝากยีนในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยที่1 การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์

ผลการวิจัย

กิจกรรมที่1 รวบรวม พัฒนาสายพันธุ์ สารสำคัญและผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ เป็นโครงการที่เริ่มดำเนินการตั้งแต่ ปี 2554-2558 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ รวบรวม พัฒนา และค้นหาสารสำคัญของจุลินทรีย์เพื่อไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ในการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสำหรับผลิตเอทานอลจากชีวมวลสามารถโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายชีวมวลจำนวน 3 ยีน ได้แก่ endo glucanase, cellobiohydrolase และ beta-D- glucosidase ใส่ในเวคเตอร์ pPICZA pPICZB และ pPICZC ซึ่งเป็นเวคเตอร์ที่มีคุณสมบัติ เหมาะสมในการถ่ายลงเซลล์แบคทีเรียได้แก่ *E .coli* และยีสต์ *Pichia pastoris* นำยีสต์ที่มียีนนั้นไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหาร YPD + Zeocin และเลี้ยงกระตุ้นการแสดงออกของยีนในอาหาร MGYH และกระตุ้นโดยการเติมเมทานอล พบว่ายีสต์ที่ได้สามารถผลิตโปรตีนได้มีขนาด 45 , 25 และ 15 กิโลดาลตันตามลำดับ ในการศึกษาไลเปสที่มีประโยชน์ในการผลิตไบโอดีเซลนั้นสามารถถ่ายฝากยีนไลเปส 4 ยีน ได้แก่ *lip* ของ *P. aeruginosa*, *lip* A ของ *S. marcescens*, *lip* A ของ *B. subtilis* และ *alkaline lip* ของ *B. cepacia* เข้าใน pET TOPO เวคเตอร์ และเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนใน BL21 ได้ไลเปสของ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการย่อยน้ำมันปาล์มอย่างสมบูรณ์ น้ำมันที่ได้ใสสะอาด เมื่อนำไปผลิตไบโอดีเซล ได้ไบโอดีเซลชนิด B100

ในการศึกษาแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเยื่อใยจากชีวมวล สามารถรวบรวมและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนส บนอาหาร screening medium ซึ่งมี CMC-Na และ Xylan เป็นองค์ประกอบ จำนวนทั้งสิ้น 488 ไอโซเลท เชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ดี คือ ไอโซเลท AC-10 ให้ค่า reducing sugar สูงที่สุด เท่ากับ 1,350 ug/ml ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ดี คือ ไอโซเลท PV4-15x ให้ค่า reducing sugar สูงที่สุด เท่ากับ 3,360 ug/ml จำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces* sp. และ *Bacillus amyloliquefaciens* การโคลนยีนไซลาเนส (endo-1,4-beta-xylanase gene) ทำการเชื่อมต่อชิ้นยีนไซลาเนสเข้ากับ Expression Vector (aLICator LIC Cloning and Expression system) แล้วถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีนไซลาเนส เข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) พบว่า รีคอมบิแนนท์เอนไซม์มีกิจกรรมที่ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม *E. coli* BL21 (DE3) ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

สำหรับการศึกษาเอนไซม์เซลลูเลส ได้เก็บรวบรวมเชื้อราทั้งหมด 32 สายพันธุ์นำมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเฮมิเซลลูเลส พบว่ามี 10 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ดีบนอาหารทั้ง 4 ชนิดได้แก่ CMC เปลือกข้าวโพด เปลือกมัน และอากาเว่ ด้านการโคลนยีน เมื่อมีการเลี้ยง *E. coli* BL21 (DES 3) ที่พลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO มียีน B-D – xylosidase ได้แก่ XldC1, Xld2C1

และXldC4ที่กระตุ้นให้มีการแสดงออกของโปรตีนที่ 4 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แบบเติมและแบบไม่เติม IPTG พบว่า มีการย่อยบนอาหารไซเลน ข้าวโพดและอากาเว่ได้ดี ในขณะที่มีการย่อยได้น้อยมากบนอาหารที่ผสมเปลือกมัน และไม่เกิดการย่อยบนอาหาร CMC เลย ซึ่งผลจากการเลี้ยงเชื้อ แบบเติมและแบบไม่เติม IPTG พบว่า ให้ผลการย่อยเคลียร์โซนบนอาหารที่มีส่วนผสมของไซเลน อากาเว่และข้าวโพดที่ไม่แตกต่างกัน

การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยการศึกษาไคติเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยสลายไคตินของเชื้อราสาเหตุโรคพืชสามารถโคลนยีนและถ่ายฝากยีนไคติเนสของแบคทีเรียเข้าใน pET 100/D-TOPO vector ได้ 6 ยีน และโคลนยีนราได้ 1 ยีน และพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราโรคพืช 3 เชื้อ ได้แก่ *Botryodiplodia theobromae, Pyricularia oryzae* และ *Fusarium oxysporum* และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ราโรคพืชได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้สารชีวภาพจากเห็ดยังสามารถใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่าเชื้อเห็ด 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง ของกรมวิชาการเกษตร คือ เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหลวง, เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 4 และ เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และ เบอร์ 3 มีผลต่อการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด 7 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU, *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ., *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU, *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ., *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. และ *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU ทดสอบด้วยวิธี Dual cultures โดยเห็ดแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชในแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อเห็ดในสกุลเดียวกัน สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด หลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 หรือ 1 เท่า เท่านั้น ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเชื้อราโรคพืช ยกเว้นกับเชื้อรา *S. rolfsii* ที่ไม่มีผลในการยับยั้ง และจากการศึกษาเชื้อราเขียวที่ป้องกันแมลง สามารถจำแนกเชื้อราเขียวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ซึ่งจากการจำแนกเบื้องต้นพบว่าเป็น *Metarhizium anisopliae* 11 ตัวอย่าง *M. flavoride* 1 ตัวอย่าง และ *Metarhizium spp*. 2 ตัวอย่าง

การศึกษาเทคโนโลยีเบื้องต้นในการผลิตไบโอเอทานอลจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถจำแนกชนิดสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในส่วนของ rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ 11 คู่ พบว่า สาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* (ADOA4) มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็วที่สุด ที่ pH 7-8 สามารถขยายและเลี้ยงในสภาพกลางแจ้งได้ในอ่างพลาสติกขนาด 600 ลิตร เก็บเกี่ยวเซลล์ได้ในวันที่ 4-8 ได้น้ำหนักเฉลี่ย 1.65 กก. น้ำหนักแห้ง/ลบ.ม. และสามารถคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณแป้งสูงจากการโคลนยีน waxy (*Wx* gene) เข้าสู่ pChlamy_3 vector และถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ได้จึงเป็นชนิดที่เหมาะสมในการคัดเลือกไปเพิ่มปริมาณและศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเป็นไบโอเอทานอลต่อไป ในเรื่องของกระบวนการหมักไบโอเอทานอล สามารคัดเลือกยีสต์ที่ได้รับการถ่ายยีน *yap1* ซึ่งเป็นยีนที่มีส่วนสำคัญในการกำจัดสารพิษของยีสต์เข้าสู่จีโนมของยีสต์และได้ยีสต์ดัดแปลงพันธุกรรมที่มีอัตตราการเจริญเติบโตสูงและเร็วกว่ายีสต์ WT นอกจากนี้ยีสต์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้สามารถทนทานต่อสารปฏิชีวนะ Cycloheximide

และทนทานต่อสารมีพิษ HMF และสร้างชุดการสังเคราะห์ Over expression vector สำหรับ Cellulase Enzymes พร้อมใช้เพื่อถ่ายเข้าสู่ยีสต์ในการนำไปใช้ย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้

กิจกรรมที่2 การพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม

ศึกษาการควบคุมการแสดงออกของยีน dihydroflavonol 4-reductase (DFR) ใน รูปantisene เพื่อสร้างความหลากหลายของสีดอกหน้าวัว ได้ทำการสร้างชุดยีน *pMDC32-DFRAS* จากยีน*DFR* ที่โคลนได้จาก cDNAของดอกหน้าวัวให้อยู่ในรูปควบคุมการแสดงออกของยีนแบบกลับทิศ (*DFRAS)* โดยการนำยีน DFR ที่โคลนได้เข้าสู่ระบบการตัดต่อยีนแบบ Gateway โดยใช้เวคเตอร์ pDONR 221 เป็นตัวรับยีนและย้ายยีนต่อไปยัง ไบนารีเวกเตอร์ pMDC32 และสามารถนำไบนารีเวกเตอร์ที่มียีน DFR เข้าสู่ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ทำให้ได้ชุดยีน *pMDC32-DFRAS* ที่อยู่ ใน *Agrobacterium tumefaciens* ที่สามารถนำไปถ่ายฝากสู่หน้าวัวพันธุ์โซเนตและพันธุ์ราปิโด จากการคัดเลือกต้นหน้าวัวที่ได้รับการถ่ายยีนในอาหารที่เติม hygromycin และนำไปตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ พบว่าการถ่ายฝากยีน *DFRAS* เข้าสู่หน้าวัวประสบผลสำเร็จ ต้นที่ได้รับการถ่ายยีน *DFRAS* จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค PCR ส่วนต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายฝากจะไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ซึ่งต้นหน้าวัวที่ได้รับการถ่ายยีนนี้สามารถนำออกปลูกเพื่อตรวจสอบผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของดอกหน้าวัวในโอกาสต่อไป

กิจกรรมที่3 การใช้เทคโนโลยีเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช

ในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ SNP เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ยางพาราได้ทำการค้นหาตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบสนิปของยีนในยางพารา 12 พันธุ์ เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอของยีน 9 ยีน นำไปวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเบสแบบสนิปรวม 90 ตำแหน่ง และได้สร้างแผนที่พันธุกรรมของยางพาราโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสนิป 13 ตำแหน่ง ร่วมกับเครื่องหมายโมเลกุล EST-SSR 19 ตำแหน่ง และเครื่องหมาย g-SSR 62 ตำแหน่ง วิเคราะห์ความเชื่อมโยงและตำแหน่งการวางตัวของเครื่องหมายดีเอ็นเอ โดยใช้ประชากรลูกผสม 96 พบว่าสามารถวิเคราะห์การจัดกลุ่มความเชื่อมโยงได้ทั้งหมด 18 กลุ่ม สามารถวิเคราะห์การจัดกลุ่มความเชื่อมโยงได้ทั้งหมด 18 กลุ่ม ซึ่งตรงกับจำนวนชุดจีโนมของยางพารา การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบสนิปที่พบจัดเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการปรับปรุงพันธุ์ยางพารา และนำไปใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อระบุความเป็นเอกลักษณะของยางพาราแต่ละพันธุ์ได้ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของข้าวโพดข้าวเหนียว 186 สายพันธุ์ ทำการวิเคราะห์จัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA แล้วเขียนแผนภูมิ Dendrogram ด้วยวิธีการของ SAHN ทำให้การจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 5 กลุ่ม ความแตกต่างทางพันธุกรรมของข้าวโพดด้วยผลของการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จึงเป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด และเป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับตรวจสอบพันธุ์ข้าวโพด

กิจกรรมที่ 4 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

จากการประเมินลักษณะพันธุกรรมขององุ่น 63 พันธุ์ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Microsatellite ได้ข้อมูลพันธุกรรมจากการประเมินครั้งนี้ 1,764 ข้อมูล เมื่อนำไปวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (cluster analysis)

พบว่าสามารถแบ่งพันธุ์อุ่นออกเป็น 2 กลุ่มที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนคือ กลุ่ม A เป็นอุ่นรับประทานสดทั้งหมด กลุ่ม B เป็นอุ่นทำไวน์และอุ่นป่ารวมถึงอุ่นรับประมานสดอีก 6 พันธุ์ และได้จัดทำโปรแกรมฐานข้อมูลอุ่น ใช้ Microsolf Visual Studio 2005 และโปรแกมฐานข้อมูล MS-SQL Sere Express ASP.Net 2.0 ติดตั้งบนอินเตอร์เน็ต คำนำ Information service

ส่วนกล้วยไม้รองเท้านารีที่เก็บรวบรวมไว้ โดยการประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่พัฒนาจากกล้วยไม้สกุลแวนด้ากับกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เพื่อลดค่าใช้จ่าย ศึกษาไพรเมอร์ทั้งหมดจำนวน 101 คู่สาย กับกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 25 ตัวอย่าง จาก 12 สายพันธุ์ พบว่ามี 61 คู่สายไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ รองเท้านารีขาวพังงา รองเท้านารีขาวสตูล รองเท้านารีเหลืองปราจีน รองเท้านารีเกรยี่ และรองเท้านารีฝาหอย กลุ่มที่ 2 ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองกระบี่ และไม้ป่าเกาะพนัก นอกจากนี้ได้มีการทำฐานข้อมูลของกล้วยไม้รองเท้านารี จัดเก็บในรูปแบบสื่อออนไลน์เพื่อให้ง่ายต่อการใช้งานของบุคคลทั่วไป และมีการออกแบบไว้เพื่อให้ผู้นำไปใช้สามารถปรับปรุงข้อมูลให้เป็นปัจจุบันได้อย่างง่าย โดยมีการเปิดให้ทดลองใช้ผ่านทาง http://www.plc.rmutl.ac.th/Database/result.php

นอกจากการศึกษาในอุ่นและกล้วยไม้รองเท้านารี ยังได้ศึกษาถึงความหลากหลายของสายพันธุ์เห็ดเรืองแสงที่พบในประเทศไทย 4 ชนิด ใน อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอใช้ primer ITS 1 และ 4 ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลเห็ดเรืองแสงที่สามารถจำแนกได้ทั้ง genus และ species คือ พบคือ *Mycena chlorophos* และ *Neonothopanus nimbi* อีก 2 ชนิดสามารถจำแนกได้เพียง genus คือ *Favolaschia spp*. และ *Mycena spp.*

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลงานวิจัย การใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อพัฒนาพันธุ์พืช จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ พบว่าเป็นไปตามตามวัตถุประสงค์และเป้าหมาย ดังนี้

1. โคลนยีนและถ่ายฝากยีน 3 ชนิดได้แก่ endoglucanase, cellobiohydrolase และ beta-D-glucosidase เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย E. coli และ เซลล์ยีสต์ Pichia pastoris สามารถผลิตโปรตีนได้

2. สามารถถ่ายฝากยีนไลเปส 4 ยีน ได้แก่ *lip* ของ *P. aeruginosa*, *lip* A ของ *S. marcescens*, *lip* A ของ *B. subtilis* และ *alkaline lip* ของ *B. cepacia* เข้าใน pET TOPO เวคเตอร์ ได้ไลเปสที่มีประสิทธิภาพในการย่อยน้ำมันปาล์มอย่างสมบูรณ์ ได้ไบโอดีเซล B100

3. สามารถคัดเลือก สาหร่ายสีเขียว *Chlorella pyrenoidosa* (ADOA4) และนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อนำไปเพิ่มปริมาณและศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเป็นไบโอเอทานอล ในพืชจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ หญ้าคิงเนเปีย ต้นเลา และ อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า สาหร่ายมีการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้เร็วที่สุด

4. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเยื่อใยจากชีวมวล จำนวน 144 ไอโซเลท ไอโซเลท AC-10 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces* sp ส่วนไอโซเลท PV4-15x มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens*พบว่าเอนไซม์อย่างหยาบที่ได้จากการชักนำโดยใช้รำข้าวนั้นมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ดี สามารถย่อยอาหารแข็งที่มี เซลลูโลส (CMC-Na) และ ไซแลน และสามารถเชื่อมต่อชิ้นยีนไซลาเนสเข้ากับ Protein Expression Vector แล้วถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีนพบว่า เอนไซม์มีกิจกรรมที่ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม *E. coli* BL21 (DE3) ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

5. เชื้อราทั้งหมด 32 สายพันธุ์นำมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเฮมิเซลลูเลส พบว่ามี 10 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ดีบนอาหารทั้ง 4 ชนิด การโคลนยีนพบว่าว่าเมื่อมีการเลี้ยง E. coli BL21 (DES 3) ที่พลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO มียีน β -D – xylosidase ได้แก่ XldC1, Xld2C1 และXldC4ที่กระตุ้นให้มีการแสดงออกของโปรตีน พบว่า มีการย่อยบนอาหารไซเลน ข้าวโพดและอากาเว่ได้ดี

6. สามารถถ่ายยีน *yap1* เข้าสู่จีโนมของยีสต์และได้ยีสต์ดัดแปลงพันธุกรรมที่มีอัตตราการเจริญเติบโตสูงและเร็วกว่ายีสต์ WT นอกจากนี้ยีสต์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้สามารถทนทานต่อสารปฏิชีวนะ Cycloheximide ทนทานต่อสารมีพิษ HMF ได้ ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนกระบวนการกลั่นเอทานอลการ และสามารถสังเคราะห์ Over expression vector สำหรับ Cellulase Enzymes พร้อมใช้เพื่อถ่ายเข้าสู่ยีสต์ในการนำไปใช้ย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้

7. การจำแนกเชื้อราเขียว *Metarhizium* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล โดยใช้ยีนไคติเนส สามารถจำแนกเชื้อราเขียว 9 ตัวอย่างเป็นชนิด *M. majus* ทั้งหมด ในขณะที่การจำแนกด้วยส่วนของ ITS จะสามารถจำแนกเชื้อได้ทั้ง 14 ตัวอย่าง แยกได้เป็น *M. anisopliae, M. majus* และ *M. flavoviride*

8. พบเห็ดเรืองแสง 4 ชนิด จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลเห็ดเรืองแสงที่สามารถจำแนกได้ทั้ง genus และ species คือ พบคือ *Mycena chlorophos* และ *Neonothopanus nimbi* อีก 2 ชนิดสามารถจำแนกได้เพียง genus คือ *Favolaschia spp*. และ *Mycena spp*

9.การใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของข้าวโพดข้าวเหนียว 186 สายพันธุ์ สามารถจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 5 กลุ่ม ซึ่งความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ได้เป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด และเป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับตรวจสอบพันธุ์ข้าวโพดในโอกาสต่อไป

10. ได้ไพรเมอร์จำนวน 28 คู่ ที่เหมาะสมในการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่น 63 พันธุ์ สามารถแบ่งองุ่นออกเป็น 2 กลุ่ม อย่างชัดเจนโดย กลุ่ม A คือ องุ่นรับประทานสด กลุ่ม B คือ องุ่นทำไวน์และองุ่นที่ใช้เป็นต้นตอ นอกจากนั้นยังพบว่าพันธุกรรมขององุ่นทำไวน์ มีความหลากหลายมากกว่าองุ่นรับประทานสดมาก และได้จัดทำและพัฒนาระบบฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอขององุ่นจำนวน 7 โปรแกรม

11. การประยุกต์เครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่พัฒนาจากกล้วยไม้สกุลแวนด้า ใช้กับกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 25 ตัวอย่าง จาก 12 สายพันธุ์ พบว่า สามารถทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้ 61 คู่สาย การทำดีเอ็นบาร์โค๊ดของกล้วยไม้รองเท้านารีสามารถใช้ยีน *matK* ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี 13 ตัวอย่าง จากตัวแทนชนิดจำนวน 7 ชนิด พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ได้เป็น 2

กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ รองเท้านารีขาวพังงา รองเท้านารีขาวสตูล รองเท้านารีเหลืองปราจีน รองเท้านารีเกรยี่ และรองเท้านารีฝาหอย กลุ่มที่ 2 ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองกระบี่ และไม้ป่าเกาะพนัก

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำจุลินทรีย์ที่พัฒนาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สายพันธุ์ยีสต์ที่ได้รับการควบคุมการแสดงออกของ ยีน *YAP*1 และสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้ไปใช้ในขบวนการผลิตเอทานอล

2. เชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* ไอโซเลท PV4-15x สามารถนำไปใช้ในการย่อยสลายวัสดุจำพวกเฮมิเซลลูโลสได้ดี เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท AC-10 สามารถนำไปใช้ในการย่อยสลายวัสดุจำพวกเซลลูโลสได้ดี การกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสและเซลลูเลส ในเชื้อแบคทีเรีย สามารถใช้รำข้าว 1 เปอร์เซ็นต์ทดแทนการใช้ไซแลนและ CMC-Na ได้ รีคอมบิแนนท์โปรตีน (เอนไซม์ไซลาเนส) ที่ผลิตได้จากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสม มีศักยภาพในการย่อยไซแลนหรือเฮมิเซลลูโลสได้ดี สามารถนำไปพัฒนากระบวนการผลิตในปริมาณมากเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมได้

3. สามารถนำชุดยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ *dihydroflavonol 4-reductase (DFR)* จากดอกหน้าวัวที่อยู่ในรูปควบคุมการแสดงออกของยีนแบบกลับทิศ ที่เป็นของกรมวิชาการเกษตรสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับแต่งสีหน้าวัวโดยวิธีการถ่ายยีน เพื่อสร้างความหลากหลายของสีดอก

4. สามารถนำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเห็ด องุ่น ยางพารา ข้าวโพด และกล้วยไม้รองเท้านารี ไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ และความตรงตามสายพันธุ์ได้

5. สามารถนำไพรเมอร์ที่ได้จากการทดลองนี้ รวมถึงเทคนิค SSR ISSR และดีเอ็นเอบาร์โค้ด ไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้รองเท้านารีที่เก็บรวบรวมไว้ตามหน่วยงานต่างๆ ได้ และลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* จากกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีสามารถนำไปลงในฐานข้อมูล BLAST เพื่อเป็นฐานข้อมูลของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีของประเทศไทยต่อไป

6. สามารถนำระบบฐานข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้รองเท้านารีที่ได้ไปใช้ปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ในประเทศไทย

โครงการวิจัย2 **การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร**

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษายีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตรกับพืชต่างๆ ได้แก่ การศึกษาหายีนทนแล้งจากข้าวโพดทนแล้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลในอ้อย สำหรับนำไปใช้ในการพัฒนาพันธุ์พืชให้มีศักยภาพในการผลิตน้ำตาลให้สูงขึ้น ยีนยับยั้งเกิดสีในดอกไม้ การโคลนยีนเรืองแสงจากเห็ดเรืองแสง รวมทั้ง การนำเทคนิคการถ่ายฝากยีนมาใช้เพื่อศึกษาการถ่ายฝากยีน Sucrose Synthase เพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีปริมาณสูงขึ้นและการนำเทคนิค RNAi เพื่อศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีน *Deoxyhypusine Synthase* (*DHS*) ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเบญจมาศในพืชต้นแบบ

ผลการวิจัย

จากผลการศึกษาศึกษาการปรากฏของยีนทนแล้งในข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 โดยวิธีการ LD PCR และโดยวิธีการสร้าง In Fusion Smarter cDNA Library จากใบข้าวโพดอายุ 54 วัน ในสภาวะขาดน้ำนาน 1 เดือน ออกแบบไพรเมอร์จากยีนทนแล้ง หาลำดับเบสและนำลำดับเบสไปเทียบกับฐานข้อมูลชีวภาพสากล ผลการทดลองในเบื้องต้นพบยีนทนแล้งที่ได้มีการศึกษาจากพืชชนิดต่างๆปรากฏในจีโนมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 จำนวน 5 ชนิดยีน ส่วนยีนที่ได้จากโคลน cDNA จะเป็นตัวบ่งบอกการแสดงออกของยีนในระยะขาดน้ำได้ ซึ่งได้ศึกษาหน้าที่ของยีนต่างๆ ในระดับอาร์เอ็นเอด้วย นอกจากนี้ยังได้โคลนยีนและศึกษาคุณสมบัติของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการทนต่อสภาวะขาดน้ำในพืช สำหรับนำไปใช้ในการพัฒนาพันธุ์พืชให้มีศักยภาพในการให้ผลผลิตและสามารถทนต่อสภาวะเครียดอันเกิดจากภาวะขาดน้ำในพืชได้ ซึ่งยีนที่ทำการโคลนในครั้งนี้ได้แก่ ยีน SINA3 และ SINAT3 เป็นยีนที่อยู่ในกลุ่ม E3 ubiquitin ligase เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดของพืช และสามารถนำยีน SINA3 และ SINAT3 ที่โคลนได้จากข้าวโพดไปทำการสร้างชุด cassette สำหรับถ่ายฝากเข้าสู่พืชต้นแบบเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนต่อไป

นอกจากยีนทนแล้งแล้วยังไดศึกษายีนลักษณะอื่นๆ ได้แก่ ยีน *F3'5'H* จากดอกอัญชันและพิทูเนียที่โคลนได้เข้าสู่เวคเตอร์ pDONR 221 เพื่อนำยีนเข้าสู่เวคเตอร์แบบไบนารี่ pMDC32 แล้วทำการถ่ายฝากเข้าสู่ยาสูบพันธุ์แซนเทียร์โดยใช้อะโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 คัดเลือกต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนโดยเลี้ยงในอาหารที่เติม hygromycin และตรวจสอบต้นยาสูบที่ได้รับการคัดเลือกด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ พบว่าการถ่ายฝากยีน *F3'5'H* เข้าสู่ยาสูบประสบผลสำเร็จ ต้นที่ได้รับการถ่ายยีน *F3'5'H* ดอกจะมีสีม่วงชมพู ยีน Sucrose Synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาล การสร้างชุดยีน *So*SuSy โดยการเชื่อมต่อยีน *So*SuSy เข้ากับ plant expression vector (pCAMBIA2300) ที่ประกอบด้วย โปรโมเตอร์ (35SCaMV) และเทอร์มิเนเตอร์ (NOS) ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการแสดงออกของยีน มียีน nptII เป็นยีนเครื่องหมายในการคัดเลือกได้พลาสมิดสายผสม (pCAMBIA2300 – *So*SuSy) ขนาดประมาณ 12 กิโลเบส และทำการถ่ายฝากยีน Sucrose Synthaseg เข้าสู่พืชต้นแบบ

ได้นำเทคนิค RNAi มาศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีน *Deoxyhypusine Synthase* (*DHS*) ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเบญจมาศในพืชต้นแบบ ส่วนยีนเรืองแสงไม่สามารถโคลนได้ ได้เพียงแต่

ชิ้นส่วนของโปรตีนที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ คาดว่ายีนเรืองแสงของเห็ดเรืองแสงน่าจะเกิดจากการทำปฏิกิริยาของยีนหลายยีนด้วยกัน ดังนั้นการหายีนเรืองแสงเดี่ยวๆ จึงอาจมีความยุ่งยากในการที่จะสามารถหาได้

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรมีความเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต การพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชโดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพจึงมีความสำคัญ ในการโครงการวิจัยนี้กล่าวถึงปัญหาและขอบเขตที่เกี่ยวข้องแตกต่างกัน เช่น ปัญหาด้านความแห้งแล้ง ทำให้ผลผลิตพืชลดลง การพัฒนาสีดอกเพื่อเพิ่มมูลค่าทางการเกษตร การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในพืชเพิ่มมูลค่า การค้นหายีนเครื่องหมายใหม่ๆจาก โดยผลการวิจัยในภาพรวมของโครงการ ประกอบด้วยยีนยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการทนต่อสภาวะขาดน้ำในข้าวโพด ยีนเพิ่มสีดอกไม้ Flavonoid 3',5' hydroxylase (F3' 5'H) จากอัญชันและพิทูเนีย ยีน Sucrose Synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลในอ้อย ยีน DHS จากเบญจมาศ ยีนบางส่วนของเห็ดเรืองแสง และเทคนิคการถ่ายฝากยีนเข้าสู่พืชที่สนใจจากยีนที่ศึกษาดังกล่าว

โดยผลการวิจัยของโครงการได้ผลผลิตตรงตามเป้าประสงค์ของโครงการ ตามวัตถุประสงค์ ดังต่อไปนี้ ได้แก่

1. ได้กลุ่มยีนที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับความทนแล้งของข้าวโพดพันธุ์ทนแล้งนครสวรรค์ 3 เมื่อนำลำดับเบสของไปเทียบกับฐานข้อมูลชีวภาพสากล (NCBI database) สามารถได้ยีนทนแล้งจากข้าวโพดพันธุ์ทนแล้ง ยีนเพิ่มสีดอกไม้ ยีนเพิ่มปริมาณน้ำตาล ยีนเรืองแสงบางส่วน และลักษณะสีดอกไม้ภายหลังระงับการแสดงออกของยีน DHS โดยอาศัยเทคนิคการโคลนยีน การถ่ายฝากยีนและเทคนิค RNAi ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้

2.สามารถได้ยีนที่สามารถนำมาใช้ในการถ่ายฝากยีน เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ให้มีลักษณะที่ดีกว่าเดิม จากเทคนิคการโคลนยีน การถ่ายฝากยีน และการตรวจสอบยีนที่ปรากฏในพืชที่ได้รับการถ่ายฝาก

การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถนำงานวิจัยไปใช้ต่อยอดงานวิจัยได้ในอนาคต กับพืชชนิดอื่นๆ เป็นต้น หรือนักวิจัยสามารถนำเทคนิคเดียวกันไปประยุกต์ใช้กับเทคนิคอื่นๆที่มีความก้าวหน้าขึ้นในปัจจุบัน เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่รวดเร็วและมีประสิทธิผลมากยิ่งขึ้น

โครงการวิจัยที่ 3 การพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตร

ประเทศไทยได้เปิดเขตการค้าเสรีกับต่างประเทศและหลายประเทศมีกฎระเบียบการติดฉลากพืชดัดแปลงพันธุกรรม เพื่อลดความเสี่ยงการปนเปื้อนพืช GMOs ในสินค้าเกษตรเพื่อการนำเข้าและส่งออก จึงเกิดโครงการวิจัยการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตรขึ้น

ผลการวิจัย

โดยได้ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมทั้ง 10 สายพันธุ์ ประกอบด้วยถั่วเหลือง GTS 40-3-2 1 สายพันธุ์ ข้าวโพด 9 สายพันธุ์ ได้แก่ Mon 810, Bt176, Bt11, Mon863, NK603, GA21, TC1507, CBH351 และ T25 โดยทำการทดสอบกับชุดไพร์เมอร์ และโพรบที่ออกแบบมาให้มีความจำเพาะเจาะจงกับ Gene-specific และ Event-specific การตรวจวิเคราะห์พืชดัดแปรพันธุกรรมทั้ง 10 สายพันธุ์อยู่ในเกณฑ์การยอมรับคือน้อยกว่า 25 % และมีค่า LOD และ LOQ ของการตรวจวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 0.05-0.5 % และการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม Mon 88017, Mon89034, MIR604 และ MIR162 (LOD : 0.1%) ด้วยวิธี Real-time PCR เชิงคุณภาพและปริมาณ พบว่าทุกวิธีมีค่าความแม่นและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ทั้งมีการพัฒนาชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วสำหรับโปรตีนข้าวดัดแปรพันธุกรรม Bt63, โปรตีน CP4EPSPS ในข้าวโพดต้านทานสารกำจัดวัชพืช Roundup Ready, โปรตีน CrylAb ในข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม, และโปรตีน Cry9C ในข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม โดยสังเคราะห์ยีน *EPSPS*, *NK603*, *Cry1Ab* และ *CRY9C* เพื่อผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนใช้เป็นแอนติเจนเพื่อผลิตแอนติบอดีในสัตว์ทดลองที่จำเพาะกับโปรตีนในข้าวและข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม เตรียม Gold-conjugated IgG พ่นที่ conjugated release pad ใช้ goat anti-rabbit (GAR) ทำ control line และใช้ IgG ที่จำเพาะต่อโปรตีนที่ผลิตขึ้นเองทำ test line พบว่าชุดตรวจสอบทั้ง 4 มีความไวที่ปริมาณโปรตีนต่ำสุด ที่ 0.0625 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.03 µg/ml และ 0.01 µg/ml ตามลำดับ และตรวจสอบได้ภายในเวลา 5-20 นาที ทั้งยังได้ผลิตโปรตีนมาตรฐานเพื่อพัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA Kit ของถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมในเชิงพาณิชย์ โดยผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน EPSPS ในเซลล์ *E. coli* ทำบริสุทธิ์โปรตีน EPSPS ด้วย Ni-NTA เพื่อใช้เป็นแอนติเจนกระตุ้นสัตว์ทดลองให้ผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะเจาะจง และทดสอบทำแห้งโปรตีนแบบเยือกแข็ง แล้วทดสอบความใช้ได้ของแอนติบอดีต่อโปรตีนด้วยวิธี ELISA พบว่าแอนติบอดีมีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีน EPSPS ในตัวอย่างถั่วเหลืองสด โปรตีน EPSPS บริสุทธิ์ และตัวอย่างโปรตีน EPSPS ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สอดคล้องกับชุดตรวจสอบทางการค้า (Agdia ELISA kit)

นอกจากนี้ยังมีการสร้างดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อการตรวจวิเคราะห์มะละกอดัดแปรพันธุกรรม โดยสร้างชุดยีนสามชุดที่ประกอบด้วยยีน *CaMV35S*, *gus*, *nos* และยีน *papain* ที่เหมือนกัน แต่ต่างกันในส่วนของยีน *cp* ที่คัดแยกสายพันธุ์มะละกอดัดแปรพันธุกรรมได้ คือ สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร (*cp*-DOA) สายพันธุ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (*cp*_SC) และสายพันธุ์ฮาวาย หรือ line 55-1 (*cp*_Hawaii) พันธุกรรม ด้วยวิธี Real-time PCR โดยค่า LOD ของดีเอ็นเอมาตรฐานทั้ง 3 ชุด อยู่ระหว่าง 25-250 ชุด (copies) จะเห็นได้ว่าทุกเทคนิคที่พัฒนาขึ้นได้มาตรฐานในการตรวจสอบพืช GMOs ทั้งสำหรับห้องปฏิบัติการและภาคสนาม

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากดำเนินโครงการวิจัยการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืช GMOs เพื่อรับรองสินค้าเกษตร เสร็จสิ้น ผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลอง

1 ได้วิธีการทดสอบ (Validation method) ของการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลือง GTS 40-3-2 และข้าวโพด MON810 โดยวิธี Real-time PCR

2 สามารถสังเคราะห์ยีน Bt63 ในข้าว ที่ผลิตโปรตีน Cryl A(b)+ Cryl A(c) ใช้เป็นแอนติเจนเพื่อผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีน Bt63 และมีความไวในการตรวจสอบโปรตีนดังกล่าว ทำให้ประสบความสำเร็จในในการพัฒนาวิธีการประดิษฐ์ชุดตรวจสอบแบบ GLIFT Kit ได้ชุดตรวจสอบที่จำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพสำหรับตรวจข้าว Bt63 ในภาคสนาม

3 ได้ชุดตรวจสอบที่จำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพเพื่อตรวจข้าวโพดต้านทานสารกำจัดวัชพืช Roundup Ready ในภาคสนาม

4 พัฒนาวิธีการประดิษฐ์ชุดตรวจสอบแบบ GLIFT Kit ได้ชุดตรวจสอบเพื่อใช้ตรวจข้าวโพดที่ต้านทานแมลง สายพันธุ์ MON810, Bt176, Bt11 และ Bt10

5. พัฒนาวิธีการประดิษฐ์ชุดตรวจสอบแบบ GLIFT Kit ได้ชุดตรวจสอบที่จำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพเพื่อตรวจข้าวโพดต้านทานแมลง สายพันธุ์ CBH351 (StarLink) ในภาคสนาม

6 ได้วิธีการทดสอบ (Validation method) ของการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรม Mon 89788, 356043 และ 305423 โดยวิธี Real-time PCR

7 ได้วิธีการทดสอบ (Validation method) ของการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม Mon 88017, Mon89034, MIR604 และ MIR162 โดยวิธี Real-time PCR

8 ได้ชุดยีน ซึ่งเป็นดีเอ็นเอมาตรฐานสามชุด คือ พลาสมิด GMOs-DOA, GMOs-SC และ GMOs-Hawaii เพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิงในการตรวจสอบมะละกอดัดแปรพันธุกรรม สายพันธุกรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ Line 55-1 (ฮาวาย)

9 ได้ชุดตรวจสอบ ELISA kit ที่สามารถนำไปใช้ตรวจสอบถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรม

การนำไปใช้ประโยชน์

วิธีการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมที่พัฒนาขึ้นเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ นอกจากจะเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจรับรองสินค้าพืชดัดแปรพันธุกรรมให้ได้ตามมาตรฐานสากล และการขอการรับรองห้องปฏิบัติการให้เป็นมาตรฐานของ ISO/IEC17025 นำไปสู่การสร้างความมั่นใจให้กับประเทศคู่ค้าในการออกใบรับรองของห้องปฏิบัติการ ยังสามารถนำไปใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณของห้องปฏิบัติการ เพื่อการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างพืช ผลิตภัณฑ์แปรรูปและอาหารสัตว์ที่ต้องการการตรวจรับรองสำหรับการนำเข้า-ส่งออกสินค้าระหว่างประเทศ ทั้งยังตอบสนองต่อระเบียบมาตรการในการติดฉลากสินค้าดัดแปรพันธุกรรมกับประเทศคู่ค้าที่มีการกำหนดเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนขั้นต่ำไว้ ในส่วนของการพัฒนาชุดตรวจสอบโปรตีนของข้าว Bt63, ข้าวโพด Roundup Ready,

ข้าวโพดต้านทานแมลง และข้าวโพด StarLink ซึ่งเป็นการตรวจสอบอย่างรวดเร็ว เป็นประโยชน์ต่อเจ้าหน้าที่ด่านกักพืช นักวิชาการและเจ้าหน้าที่ซึ่งต้องปฏิบัติงานภาคสนาม ให้สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนของพืชดัดแปรพันธุกรรมในเบื้องต้น เพื่อเป็นการเฝ้าระวัง หรือติดตามการแพร่กระจายพืชดัดแปลงพันธุกรรมในแปลงปลูกได้อย่างง่ายและรวดเร็ว ทั้งนี้ภาคเอกชนก็สามารถใช้ชุดทดสอบในการคัดเลือกวัตถุดิบที่ปลอดการปนเปื้อนพืชดัดแปรพันธุกรรมเข้าสู่โรงงาน ซึ่งจะช่วยเพิ่มมาตรฐานสินค้าได้อีกด้วย เช่นเดียวกับการพัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA kit เพื่อตรวจสอบโปรตีน CP4EPEPS ของถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมต้านทานสารกำจัดวัชพืช สามารถใช้ชุดตรวจสอบนี้เพื่อตรวจสอบถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมภาคสนามอย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลายตัวอย่างต่อครั้ง ลดต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์ เป็นประโยชน์ต่อการเฝ้าระวัง หรือติดตามการแพร่กระจายพืชดัดแปรพันธุกรรมในแปลงปลูกได้อย่างรวดเร็ว ทั้งยังต่อยอดผลิตเป็นชุดตรวจสอบ ELISA kit เพื่อจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ลดการนำเข้าชุดตรวจสอบจากต่างประเทศได้อีกด้วย และประสบความสำเร็จในการสร้างชุดยีน ซึ่งเป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน เพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิงในการตรวจสอบมะละกอดัดแปรพันธุกรรมสายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสายพันธุ์ 55-1 (ฮาวาย) ได้อย่างถูกต้อง ช่วยลดการนำเข้าวัสดุอ้างอิงที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ นับได้ว่าโครงการวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืชดัดแปรพันธุกรรมเพื่อรับรองสินค้าเกษตร ติดตาม และเฝ้าระวังพืชดัดแปรพันธุกรรมอย่างมีประสิทธิภาพอย่างยิ่ง

โครงการวิจัยที่ 4 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์

ผลการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ในกระทือ

กระทือเป็นพืชที่มีศักยภาพในการปลูกขยายเชิงการค้าเพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ อยู่ในสกุล Zingiber ใช้ประโยชน์เป็นอาหาร พืชสมุนไพร และไม้ดอก กำลังได้รับความนิยมเป็นไม้ตัดดอก เพราะดอกที่เกิดจากใบประดับมีรูปทรงแปลกตา สีสวยงาม การขยายพันธุ์โดยวิธีแยกหน่อ ทำให้ขยายพันธุ์ได้ช้า การศึกษาการขยายพันธุ์กระทือโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์จะช่วยให้สามารถขยายพันธุ์กระทือได้เป็นจำนวนมากเชิงพาณิชย์ ดำเนินการโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาจากลำต้นเทียมของกระทือ *Zingiber zerumbet* Smith และกระทือพิลาส *Zingiber spectabile* Griff. เพิ่มปริมาณยอดและศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือพิลาส พบว่ากระทือพิลาสสามารถเจริญเติบโตเป็นยอดและรากได้ทั้งบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทุกสูตรที่ศึกษา การเจริญของชิ้นส่วนกระทือบนอาหารเพาะเลี้ยงมีความแปรปรวน แม้ว่าจะเป็นชิ้นส่วนที่มาจากยอดเดียวกันและเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกัน แต่ให้ผลต่างๆ กัน เมื่อนำมาศึกษาการเพาะเลี้ยงด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์ โดยมีระยะเวลาของการให้อาหารเหลว 6 ระดับ และจำนวนครั้งในการให้ 2 ระดับ การเจริญของชิ้นส่วนกระทือเกิดได้ในทุกสิ่งทดลอง แต่ไม่สามารถวิเคราะห์ผลทางสถิติชี้ชัดได้ว่าสิ่งทดลองไหนให้ผลดีกว่าเนื่องจากเกิดข้อมูลเสียหาย กระทือที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์ เมื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ มีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 89.74 – 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นแข็งแรงสมบูรณ์

การใช้รังสีแกมมาร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสร้างต้นกระทือกลายพันธุ์ เพื่อเพิ่มความหลากหลายและเพิ่มฐานพันธุกรรม ดำเนินการโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาจากลำต้นเทียมของกระทือ *Zingiber zerumbet* Smith. และกระทือพิลาส *Zingiber spectabile* Griff. เพิ่มปริมาณยอด จากนั้นนำกระทือที่เพาะเลี้ยงไปฉายรังสีแกมมาแบบเรื้อรังและแบบเฉียบพลัน ตรวจคัดเลือกกระทือในขวดขณะเพาะเลี้ยง พบกระทือพิลาส *Zingiber spectabile* Griff. ที่ได้รับรังสีแกมมาแบบเรื้อรัง 5 Krad เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้ลักษณะแตกต่างที่คาดว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ไปจากปกติ ได้แก่ ลักษณะใบบิด ใบลาย ใบบิดลาย ใบเขียวเข้ม ใบและต้นเล็กบอบบาง ตรวจสอบการกลายพันธุ์ระดับพลอยดิด้วยเครื่องโฟลไซโทรมิเตอร์ ไม่พบการกลายพันธุ์ระดับพลอยดิ และตรวจสอบการกลายพันธุ์ระดับดิพลอยด์ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลโดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่ประยุกต์มาจาก RAPD และ ISSR ของขิง *Zingiber officinale* 16 ไพรเมอร์ ได้ไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของกระทือ *Zingiber spectabile* Griff. กับ *Zingiber zerumbet* Smith. 6 ไพรเมอร์ นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ไปตรวจสอบกับกระทือที่คาดว่าเกิดการกลายพันธุ์ พบว่ากระทือที่มีใบบิดลายเป็นต้นกลายพันธุ์ โดยให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอแตกต่างกับกระทือปกติ เมื่อใช้ไพรเมอร์ชนิด RAPD ที่มีลำดับเบส 5' AGACGGCTCC 3'

กิจกรรมที่ 2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกถ่ายยีนในยางพารา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยางพาราโดยการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนพันธุ์ RRIM600 เพาะเลี้ยงจากเปลือกหุ้มชั้นในเมล็ดอ่อนหลังผสมเกสร 4-6 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MH (Carron et al., 1995) โดยการพัฒนาของเนื้อเยื่อสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะที่ 1 ระยะ Callogenesis เป็นระยะที่มีการสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนพืช และแคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (MH-IN และ MH-EXP) ระยะที่ 2 ระยะการ Somatic embryogenesis เป็น ระยะที่เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ และเอ็มบริโอ (MH-DEN และ MH-MAT) ระยะที่ 3 ระยะ Regeneration เป็น ระยะที่เอ็มบริโอมีการพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์มีระบบรากแก้ว (MH-PL) ทำการปรับสภาพต้นกล้าก่อนย้ายปลูกในโรงเรือนพบว่าต้นกล้ายังมีการรอดตายต่ำ หลังจากต้นกล้าตั้งตัวได้ย้ายปลูกในโรงเรือน และปลูกลงดินได้สำเร็จ จากการตรวจสอบความถูกต้องทางพันธุกรรมด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นยางที่ได้โดยใช้ Microsettellite จำนวน 6 ไพร์เมอร์ คือ A131, gA2689, MA179, mT65, M574 และ MA17 พบว่าต้นยางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอแตกต่างไปจากต้นเปรียบเทียบในทุกไพร์เมอร์ 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการขยายพันธุ์ด้วยวิธี micro-cutting ต้นกล้าที่ได้มีลักษณะข้อปล้องสั้นและอวบอ้วน เหมาะสำหรับนำข้อ และ ยอด ไปเพาะเลี้ยงยอดรวม ส่วนขนาดของต้นอ่อนที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะในหลอดทดลอง คือ ต้นอ่อนที่มีขนาดใหญ่สามารถรอดตายหลังจากเพาะและมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นอ่อนขนาดกลางและเล็ก การเพาะเลี้ยงยอดสามารถเพาะเลี้ยงให้มีความยาวยอด ขนาดของยอด และจำนวนยอดที่งอกสูงบนอาหารสูตร MH (PL) เติม GA_3 ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรเติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA หรือ IBA ความเข้มข้น 0.25-0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช คือ 5.8 ทำให้มีจำนวนการสร้างยอดเฉลี่ยสูงสุด การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชโดยวิธี micro-cutting จากต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน (somatic embryo) เพื่อเพิ่มปริมาณยอด พบว่าข้อใบเลี้ยงสามารถเกิดการสร้างยอดรวมได้โดยใช้อาหารสูตร MH (PL)+1BA-0.5NAA แต่ยอดรวมยังสร้างในปริมาณที่น้อย ส่วนการถ่ายฝากยีน Gus เข้าสู่เนื้อเยื่อเปลือกหุ้มเมล็ดชั้นในของยางพันธุ์ RRIM600 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAM1304 ซึ่งมียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล การใช้ความเข้มข้นของเชื้อ OD_{600} = 0.6 และปลูกเชื้อนาน 1 วินาที ให้ประสิทธิภาพของการถ่ายยีนสูงที่สุด ยืนยันจากการตรวจสอบผลของการถ่ายยีนโดยพิจารณาจากการแสดงออกของยีน *gus* แบบชั่วคราว (transient expression) โดยวิธี Gus histochemical assay โดยการนับจำนวนชิ้นเนื้อเยื่อที่ติดสีน้ำเงิน และจำนวนจุดสีน้ำเงินบนชิ้นเนื้อเยื่อ และจากการตรวจสอบผลการถ่ายยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อที่รอดชีวิตโดยการทำ PCR พบว่าเนื้อเยื่อที่รอดชีวิตบนอาหารคัดเลือกได้รับการถ่ายฝากยีน *gus* เข้าสู่เนื้อเยื่อได้สำเร็จ ระยะเวลาในการเลี้ยงร่วมกับ *Agrobacterium tumefaciens* ที่เหมาะสม คือ 3-5 วัน การกำจัดเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* บนอาหารที่เติม Cefotaxime 200-400 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถกำจัดเชื้อได้ดี ความเข้มข้นของ Kanamycin ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้คัดเลือกแคลลัสภายหลังการถ่ายยีน คือ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อที่ได้รับการถ่ายยีนไม่มีสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยของโครงการ ได้ข้อมูลเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและข้อมูลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบเทมโพรารีไบโอรีแอคเตอร์ของกระทือ ได้ความหลากหลายทางพันธุกรรมกระทือที่เกิดจากการกลายพันธุ์โดยการใช้รังสีแกรมมาร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กระทือกลายพันธุ์จะส่งมอบให้หน่วยงานของสถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร ดำเนินการศึกษาคุณลักษณะต่างๆ เพื่อใช้เป็นพันธุ์ใหม่หรือเป็นแหล่งพันธุกรรมต่อไป นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลปริมาณรังสีแกรมมาแบบเรื้อรังที่เหมาะสมที่สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในกระทือ คือ ประมาณ 5 Krad ได้ทราบปริมาณรังสีแกรมมาแบบเฉียบพลันที่ทำให้เนื้อเยื่อกระทือตาย 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 2 Krad ซึ่งสามารถนำไปปรับใช้ในพืชตระกูลขิง ได้ข้อมูลวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากใบของกระทือ สามารถนำไปเป็นตัวอย่างในการสกัดดีเอ็นเอจากใบของกระทือ พืชตระกูลขิง และพืชอื่น ๆ โดยใช้ *SDS/NaCl* Extraction Buffer ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว ไม่มีส่วนผสมของสารเคมีอันตราย ลดค่าใช้จ่ายของสารเคมีและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ รวมถึงดีเอ็นเอที่สกัดได้มีคุณภาพดี สามารถนำไพรเมอร์จากงานวิจัยนี้ ไปใช้ในการจำแนกพันธุ์กระทือและพืชสกุล *zingiber*

ได้ข้อมูลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยางพารา ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับการพัฒนางานด้านยางพาราทั้งการขยายพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนการปรับปรุงการผลิตยางโดยการใช้เทคโนโลยีชีวภาพทั้งในปัจจุบันและในอนาคต โดยเฉพาะการพัฒนางานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ของยางพาราซึ่งจะต้องลงไปในเชิงลึก ได้ข้อมูลวิธีการถ่ายยีนที่มีประสิทธิภาพในยางพารา ได้แก่ ความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* OD_{600} = 0.6 และปลูกเชื้อนาน 1 วินาที ให้ประสิทธิภาพของการถ่ายยีนสูงที่สุด ระยะเวลาในการเลี้ยงร่วมกับ *Agrobacterium tumefaciens* ที่เหมาะสม คือ 3-5 วัน ความเข้มข้นของ Cefotaxime 200-400 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกำจัดเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* บนอาหารได้ดี ความเข้มข้นของ Kanamycin ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้คัดเลือกแคลลัสภายหลังการถ่ายยีน คือ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ปริมาณมาก ปรับปรุงพันธุ์ หรือในงานวิจัยที่ต้องการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในกระทือและในพืชตระกูลขิง

2.ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาคุณสมบัติและหน้าที่ของยีน ตลอดจนการถ่ายฝากยีนเข้าไปในยางพาราเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ยาง สามารถนำไปใช้ต่อยอดงานวิจัยเชิงลึกในการพัฒนางานวิจัยด้านยางพาราต่อไป

โครงการวิจัยที่ 5 การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

ความต้องการของมนุษย์ด้านพลังงาน มีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปี ดังนั้นหลายประเทศจึงมีความพยายามอย่างยิ่งที่จะหาพลังงานทางเลือกอื่น ในรูปแบบต่างๆ เช่น ก๊าซธรรมชาติ ไบโอดีเซล พลังงานลม น้ำ แสงอาทิตย์ เพื่อที่จะนำมาทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรจึงถูกนำมาเป็นวัตถุดิบ ร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายเพื่อผลิตพลังงาน

ผลงานวิจัย

กิจกรรมที่1.การศึกษา พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกนินที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตและผลิต ligninolytic enzymes บนอาหารแข็งทดสอบที่มีสาร Azure-B ABTS และ Guaiacol จำนวนทั้งสิ้น 20 ไอโซเลท ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์แลคเตสได้ดี เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน พบว่า เชื้อไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 ไอโซเลท คือ Rigido G1 และหลินจือ เมื่อนำลำดับเบสมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า คล้ายคลึงกับเชื้อรา 2 ชนิดคือ *Ganoderma lucidum* และ *Rigidoporus microporus*

ในการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซลาเนสแล้วนำมาโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายชีวมวลที่เป็นโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส จำนวน 3 ยีนได้แก่ β-D-Xylosidase, endo-1,4-β-xylanase และ alpha-L-arabinofuranosidase แล้วถ่ายเข้าสู่เซลล์ยีสต์ สามารถคัดเลือกยีสต์ที่ได้รับการถ่ายยีน นำเซลล์ยีสต์ที่ได้มาตรวจสอบการปรากฏของยีนด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ AOX ที่อยู่กับเวคเตอร์ เลี้ยงกระตุ้นการแสดงออกของยีนในอาหาร MGYH และกระตุ้นโดยการเติมเมทานอล พบว่ายีสต์ที่ได้สามารถผลิตโปรตีนได้

การรวบรวมและพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์สำหรับผลิตไบโอเอทานอล ทำการการคัดเลือกและโคลนยีนสำหรับการสร้างยีสต์ สามารถโคลนยีน Xylose reductase ได้จากเชื้อรา *Neurospora sp.* โคลนยีน *endo Xylanase* ได้จากเชื้อรา *Aspergillus niger* และยีน *Xylital dehydrogenase* จากเชื้อรา *Trichoderma sp.* แล้วส่งถ่ายเข้า เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ายีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ที่ได้รับการถ่ายฝาก ยีน Xylose reductase มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและลิตเอทานอลได้สูงกว่า ที่ยีสต์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนถึง 11.35 %

ในเรื่องการผลิตเอนไซม์ เอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ดีได้แก่เอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาเนส โดยการศึกษาหาสับสเตรทที่เหมาะสมพบว่าเมื่อใช้เห็ดแครงเป็นจุลินทรีย์สำหรับผลิตเอนไซม์นั้น พบว่า สับสเตรทที่เหมาะสมได้แก่เปลือกข้าวโพด รองลงมาได้แก่หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 และต้นเลา ตามลำดับ วัสดุที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเอนไซม์ด้วยเชื้อรา *A. niger* ได้แก่ ไซแลน หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1และเปลือกข้าวโพด และจะนำผลการทดลองไปขยายผลสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กต่อไป ส่วนการผลิตเอนไซม์ในถังหมักขนาดย่อม เป็นงานวิจัยที่ได้นำเทคโนโลยีทางด้านการผลิตเอนไซม์มาศึกษาการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล โดยใช้เชื้อเห็ดแครง และ

เชื้อ *Aspergillus niger* เป็นกล้าเชื้อในการทดลอง ซึ่งการทดลองของเชื้อเห็ดแครง ได้ใช้เปลือกข้าวโพดบดเป็นวัสดุหลักในการหมักเชื้อ ส่วนการทดลองของเชื้อ *Aspergillus niger* ใช้หญ้าเนเปียบดเป็นวัสดุหลักในการหมัก ปริมาตร 300 ลิตร ต่อการทดสอบเชื้อหนึ่งตัวอย่าง จากนั้นเดินเครื่องการทำงานของถังหมัก โดยการกวนของใบพัด และเก็บตัวอย่างส่วนน้ำใส เพื่อนำไปวัดค่า ทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ด้วยเทคนิค Congored diffusion assay เตรียมอาหารแข็งที่มีซับเสรตต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบพบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้นั้นมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีวมวลต่าง ๆ ได้

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของพืชและชีวมวล (Biomass) ในประเทศไทยสำหรับผลิตไบโอเอทานอล

ศึกษาชนิดของพืชชีวมวลในประเทศไทยที่เหมาะสมในการนำมาผลิตไบโอเอทานอล โดยคัดเลือกและทดสอบพืชที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล ได้สำรวจและรวบรวมชนิดพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลในพื้นที่เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดขอนแก่น ได้เก็บพันธุ์และพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ต้นเลา หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) และ สาหร่ายขนาดเล็ก นำไปทดสอบการผลิตน้ำตาล พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กสามารถย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีและเร็วที่สุดตั้งแต่วันที่ 1 รองลงมา ต้นเลา หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) และอ้อยพลังงาน ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาเปรียบเทียบชนิดและปริมาณชีวมวลที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอทานอลในพืชอื่นๆ ได้แก่ เปลือกยูคาลิปตัส อ้อยพลังงาน และทะลายปาล์ม ในการผลิตไบโอเอทานอล โดยนำมาผ่านกระบวนการ pre-treatment ด้วย NaOH ที่ 0.4%, 1%, 2% และ 20% ตามลำดับ เพื่อแยกลิกนินออก นำไปหมักให้เป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์ ก่อนตรวจวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และปริมาณน้ำตาลและแอลกอฮอล์หลังหมัก ผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การย่อยลิกนินของชีวมวลมีค่าต่ำสุด และเปอร์เซ็นต์การย่อยเฮมิเซลลูโลสมีค่าสูงสุด รองลงมาคือ เซลลูโลส

การโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างลิกนินในพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อโคลนยีนและศึกษาคุณสมบัติของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างลิกนินในพืชและสร้างชุด cassette ยีนในรูปแบบ antisense เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีน สำหรับนำไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชเพื่อใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีปริมาณลิกนินต่ำเหมาะสมกับการนำไปผลิตไบโอเอทานอล โดยยีนที่ทำการโคลนยีนจากหญ้าคิงเนเปียร์ (KN) และหญ้าคิงเนเปียร์ลูกผสมปากช่อง 1 (KP) 4 ยีน ได้แก่ 4-coumarate:CoA ligase (*4CL*), cinnamyl alcohol dehydrogenase (*CAD*), caffeic acid O-methyltransferase (*COMT*) และ caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase (*CCOMT*) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ลิกนินในพืช สามารถนำชุดยีนดังกล่าวไปศึกษาการแสดงออกของยีน โดยการถ่ายฝากเข้าสู่พืชชีวมวล เช่น หญ้าคิงเนเปียร์ เพื่อยับยั้งขบวนการสร้างลิกนินให้มีปริมาณลิกนินต่ำเพื่อการผลิตไบโอเอทานอล โดยศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบอ่อนของหญ้าเนเปียร์พันธุ์ปากช่อง 1 ให้เกิดแคลลัสและยอด นำไปใช้ในการถ่ายยีนได้ การเลือกใช้แคลลัสของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 มาถ่ายยีนโดยวิธี Leaf disc โดยใช้ *A. tumefaciens* ในขั้นตอนของอาหารสำหรับการคัดเลือกร่วมกับสารปฏิชีวนะที่เติม Kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารปฏิชีวนะ Cefotaxime ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถกำจัดเชื้ออะโกร

แบคทีเรียมได้ และมีผลทำให้เนื้อเยื่อแคลลัสตาย นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลซูโครส ได้แก่ ยีน *Sucrose synthase (SUS)* เพื่อใช้เป็นสาหร่ายชีวมวล ทำการสร้างเวคเตอร์สำหรับถ่ายยีน *SUS* ให้ได้ดีเอ็นเอสายผสมที่อยู่ในเวคเตอร์ pChlamy3 มีขนาด 6947 เบส เพื่อถ่ายยีนเข้าสาหร่าย พบว่า ได้สาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* C.137 ที่ได้รับการถ่ายยีน *SUS* (C.137+*SUS*) จำนวน 1 ไอโซเลต

กิจกรรมที่3 การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอล

ทำการศึกษาและการทดสอบพืชและสาหร่ายชีวมวลในประเทศไทยเพื่อทดแทนพืชพลังงานเปรียบเทียบกับสาหร่ายนำเข้าจากต่างประเทศที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอเอทานอล โดยเริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี 2557-2558 รวบรวมชนิดพืช/สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ต้นเลา หญ้าเนเปียร์ (ขอนแก่น) หญ้าคิงเนเปียร์ (ปากช่อง1) อ้อยพลังงาน (ลูกผสม KJ) สาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* (ADOA4) เปรียบเทียบกับ *Chlorella* sp. (J1) จากประเทศญี่ปุ่น

กิจกรรมที่4 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากชีวมวลเพื่ออุตสาหกรรมขนาดย่อม

พัฒนาและปรับปรุงเครื่องจักรกลต้นแบบให้สามารถใช้ในการแปรสภาพชีวมวลในขบวนการ ผลิตเอทานอลให้มีประสิทธิภาพ ทำการออกแบบและสร้างต้นแบบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวลสำหรับผลิตเอทานอล ได้แก่ เครื่องหั่นย่อยเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และพืชพลังงาน ที่มีคุณสมบัตินำไปผลิตเอทานอลได้ เช่น ทะลายปาล์ม หญ้าเนเปียร์ ต้นเลา และอ้อยพลังงาน ทดสอบและประเมินผลเครื่องต้นแบบ หาสมรรถนะและประสิทธิภาพการทำงาน สามารถทำการแปรสภาพวัสดุพืชชีวมวลที่มีสภาพแห้งได้ดีกว่าสภาพวัสดุที่สดหรือมีความชื้นสูง ลำได้ศึกษากระบวนการผลิตซึ่งประกอบด้วย เครื่องสับย่อยหยาบและเครื่องบดหยอดละเอียดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ โดยกระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนใช้งาน (Pre-treatment) สามารถทำได้โดยทั้งทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพ หรือใช้ร่วมกันขึ้นอยู่ชนิดชีวมวลและความเหมาะสมของสมบัติทางกายภาพและเคมีในชีวมวล โดยเครื่องจักรในกระบวนการผลิตจะประกอบด้วย 1) ถังหมักแบบกะ ขนาด 600 ลิตร มีระบบการให้ความร้อนและมีระบบควบคุมด้วยระบบ PID สามารถควบคุมอุณหภูมิและใบกวนตามเงื่อนไขที่ตั้งไว้ 2) ปั๊มชนิด เกียร์ปั๊มใช้ในการดึงของเหลวจากถังหมักผ่านถังกรอง 3) ถังกรองซึ่งจะมีชั้นกรองหยาบและละเอียดภายใต้ความดัน ไม่เกิน 3 bar 4) ชุดให้ความร้อนก่อนเข้ากระบวนการกลั่นพร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิ 5) ถังกลั่นลำดับส่วนใช้ในการกลั่นเอทานอลออกจากน้ำ 6) เครื่องควบแน่นใช้ระบบเครื่องทำความเย็นมาประยุกต์ใช้ 7) ถังบรรจุ ซึ่งกระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลที่ออกแบบมี ปริมาตรการหมัก 480 ลิตร กำลังการผลิตเอทานอล 48 ลิตรต่อกะ ที่ปริมาณเอทานอลหลังการหมัก 10 เปอร์เซ็นต์

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาวิจัยภายใต้โครงการนี้ เน้นผลผลิต Output ตรงเป้าประสงค์ของโครงการ ตามวัตถุประสงค์

1. ได้จุลินทรีย์/ ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส และเทคนิคการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจากเห็ดในระดับห้องปฏิบัติการ

2. ได้ยีนที่มีประสิทธิภาพในการนำไปผลิตเอนไซม์ด้วยเทคนิค recombinant DNA และยีนเกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างลิกนินในพืช

3. ได้ชนิดได้ชนิดของชีวมวลที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอลนิดของพืชที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

4.ได้ชนิดของพืช/สาหร่ายขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงได้ในประเทศไทย (พืชท้องถิ่น) ที่เหมาะสมนำมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล

5. ได้รูปแบบ เทคนิควิธีการ และแนวทางการออกแบบเครื่องมือแปรสภาพชีวมวล

6. ได้ต้นแบบเครื่องจักรต้นแบบในการเตรียมวัตถุดิบ(Pretreatment) ก่อนกระบวนการหมักผลการทดสอบเบื้องต้นกับชีวมวลชนิดต่างๆ

7.ได้เทคนิคการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมเบื้องต้นขนาด 100 ลิตร

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำจุลินทรีย์ที่ดีไปผลิตเอนไซม์ย่อยลิกโนเซลลูโลสหรือนำไปโคลนยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องทำให้ผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดี

2. สามารถนำเทคโนโลยีไปใช้ในการขยายขนาดในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้

3. เกษตรกรมีทางเลือกในการผลิตพืชชีวมวล ได้รายได้เพิ่มในสภาวะที่ใช้ปุ๋ยและปัจจัยการผลิตอื่นลดลง ทำให้มีผลกำไรเพิ่ม

4. นำยีนที่ได้ไปใช้ในการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีลิกนินต่ำเหมาะสำหรับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกโนเซลลูโลสทำให้ได้เอทานอลเพิ่ม

โครงการวิจัยที่ 6 เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อวิจัยพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ในสภาวะโลกร้อน

สภาวะโลกร้อน (Global Warming) หรือ สภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง (Climate Change) ส่งผลกระทบต่อพื้นที่เกษตรกรรมโดยตรงทั้งปัญหาโรคพืช แมลงศัตรูพืช และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น สภาวะขาดน้ำ ดินเค็ม และน้ำท่วมฉับพลัน เป็นต้น โครงการวิจัยนี้วัตถุประสงค์เพื่อ 1. ค้นหายีนและโคลนยีนที่เกี่ยวข้องความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และสร้างชุด cassette ยีน สำหรับนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ทนต่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม และ 2. เพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชและพัฒนาเทคนิคการถ่ายฝากยีนที่เกี่ยวข้องความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยใช้เทคนิคการถ่ายยีนเข้าสู่พืชและเทคนิค Ovary Drip

ผลการวิจัย

ทำการโคลนยีนที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในข้าวโพดพันธุ์ทนแล้ง ได้แก่ ยีน *SINA3* และ *SINAT3* จากข้าวโพดพันธุ์ทนแล้ง 4 พันธุ์ ได้แก่ ตากฟ้า 1 (TF1), ตากฟ้า 3 (TF3), นครสวรรค์ 3 (NS3) และ นครสวรรค์ 1 (NS1) โดยใช้เทคนิค RT–PCR พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณยีน *SINA3* และ *SINAT3* มีขนาดเท่ากับ 1,026 คู่เบส และ 1,050 คู่เบส ตามลำดับ สามารถถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนของยีนได้เท่ากับ 341 และ 349 amino acids จากนั้นทำการสร้างชุด cassette ยีน โดยการเชื่อมต่อชิ้นยีน *ZmSINA3* และ *ZmSINAT3* เข้ากับ plant expression vector (pCAMBIA2300) ที่ประกอบด้วยโปรโมเตอร์ (35SCaMV) และเทอร์มิเนเตอร์ (NOS) ได้พลาสมิดสายผสม pCAMBIA2300 – *ZmSINA3* และ pCAMBIA2300 – *ZmSINAT3* มีขนาด 10.6 และ 10.7 กิโลเบส ตามลำดับ และได้มีการนำชุด cassette ยีน pCAMBIA2300 – *ZmSINA3* ไปถ่ายฝากยีนเข้าสู่พืชต้นแบบ (ยาสูบ) เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่ทนต่อสภาวะเครียดในยาสูบ โดยการเพาะเลี้ยงยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีน *SINA3* บนอาหารสูตร MS ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ สภาวะขาดน้ำ เติม PEG 6000 ความเข้มข้น 0, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และสภาวะเครียดเกลือ เติม NaCl ความเข้มข้น 0, 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เปรียบเทียบกับยาสูบปกติที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม PEG6000 และ NaCl ระดับความเข้มข้นเดียวกันเป็นชุดควบคุม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ต้นยาสูบที่มียีน *SINA3* ให้ผลการทดลองสอดคล้องกับต้นยาสูบชุดควบคุม ทั้งน้ำหนักสด ความสูงของต้น และจำนวนใบ แสดงว่ายีน *SINA3* ที่ถ่ายฝากเข้าสู่ยาสูบ แบบ over expression นั้น ไม่สามารถทนทานต่อสภาวะเครียดเกลือและสภาวะขาดน้ำได้

การศึกษาและค้นหายีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 (NSW3) โดยอาศัยเทคนิค PCR พบว่า เมื่อนำ cDNA ของใบข้าวโพดขาดน้ำนาน 7 วัน และ cDNA จากใบข้าวโพดให้น้ำปกติ (control) มาทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary ACP primers จำนวน 12 ไพรเมอร์ สามารถตรวจหาการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันได้ (differentially expressed genes) และพบ ACP primers จำนวน 2 คู่ ที่ให้แถบดีเอ็นเอของยีนที่แตกต่างกันชัดเจนที่สุด (up-regulated) ได้แก่ ACP2 และ ACP12 ซึ่งข้อมูลที่ได้อาจนำไปสู่การศึกษาหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำในพืชและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์พืชทนแล้งต่อไป

งานวิจัยการปรับปรุงและถ่ายฝากยีนทนทานสภาพแวดล้อม *OsSKIPa* สู่ถั่วเหลืองโปรตีนสูงโดยเทคนิค Ovary drip นั้นเป็นการพัฒนาเทคนิคในการถ่ายยีน ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ที่สามารถลดข้อกังวลที่เกิดจากการใช้เวคเตอร์ เช่น ยีนต้านทานต่อสารปฏิชีวนะและยีนที่ไม่พึงประสงค์อื่นๆ ซึ่งจะติดมากับเวคเตอร์ ในขณะที่ linear gene cassette ที่ออกแบบไว้จะมีเพียงยีนที่เราต้องการเท่านั้น งานวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบ linear gene cassette ของยีน *OsSKIPa* สำหรับใช้ในการถ่ายฝากยีนเข้าสู่ถั่วเหลืองโดยวิธีการ Ovary drip แต่ผลจากการถ่ายยีน *OsSKIPa* เข้าสู่ถั่วเหลืองพันธุ์ไทยนี้ยังไม่พบ Insert จาก linear gene cassette ในถั่วเหลืองรุ่นลูกที่ได้รับการถ่ายยีนโดยวิธีดังกล่าวซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากสภาวะแวดล้อมและอุณหภูมิของประเทศไทยที่ไม่เหมาะสมต่อวิธีการดังกล่าวและทำให้ไม่เกิดการถ่ายยีน

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. การโคลนยีนที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในข้าวโพดพันธุ์ทนแล้ง ได้แก่ ยีน *SINA3* และ *SINAT3* และการสร้างชุด cassette ยีน ที่อยู่ในรูปแบบของพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมที่มีความสมบูรณ์ (pCAMBIA2300 – *ZmSINA3* และ pCAMBIA2300 – *ZmSINAT3*) ซึ่งได้มีการนำชุดยีนดังกล่าวไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชต้นแบบคือยาสูบเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน แต่ไม่สามารถทำให้ยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนมีความต้านทานต่อสภาวะเครียดได้ ดังนั้น ในการศึกษายีน *SINA3* ต่อไป อาจต้องใช้เทคนิค RNAi ร่วมกับการการถ่ายยีนแบบ over expression เพื่อศึกษาความทนทานต่อสภาวะเครียดของพืชนั้นๆ ต่อไป

2. การถ่ายฝากยีนเข้าสู่ถั่วเหลืองโดยวิธีการ Ovary drip ไม่ประสบผลสำเร็จตามเป้าหมายอาจเกิดจากหลายประการคือ สภาพแวดล้อมในการปลูกภายในโรงเรือนมีอากาศร้อน อบ และแสงไม่เพียงพอ ปลูกต้นถั่วน้อยไปซึ่งอาจทำ ทำให้ DNA ที่ drip ไม่สามารถ Insert เข้าไปในจีโนมได้

การนำไปใช้ประโยชน์

1. องค์ความรู้หน้าที่และการแสดงออกของยีน *Zm*SINA3 และชุด cassette ยีน (pCAMBIA2300 – *Zm*SINA3 และ pCAMBIA2300 – *Zm*SINAT3) สามารภนำไปไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชเศรษฐกิจ เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด อ้อย และมันสำปะหลัง เป็นต้น เพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตและสามารถทนทานต่อสภาวะขาดน้ำได้ อีกทั้งยังเป็นพืชทางเลือกในการเร่งรัดกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไปในอนาคตที่ทนต่อสภาวะเครียดในพืชต้นแบบ (ยาสูบ) สามารถนำไปต่อยอดโดยการถ่ายฝากเข้าสู่พืชเศรษฐกิจเพื่อให้ทนต่อสภาวะเครียดต่อไป

2. กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการทนทานต่อสภาวะขาดน้ำจากข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 คือ DREB-like protein (Dreb1) และ ARBE binding protein (AP2) สำหรับนำไปพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ทนต่อสภาวะขาดน้ำต่อไป