



บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กองการเจ้าหน้าที่ กลุ่มสรรหาและบรรจุแต่งตั้ง โทร./โทรสาร ๐ ๒๕๗๙ ๘๕๑๓

ที่ กษ ๐๙๐๒/ ว ๕๓๘ วันที่ ๑๘ สิงหาคม ๒๕๖๘

เรื่อง ประกาศรายชื่อผู้ได้รับการคัดเลือก

เรียน ลนท./ผอ.กอง/สถาบัน/สำนัก/ศทส./สวพ. ๑ - ๘/สชช./กตบ./กพร./สนท./กปร./กกย./กวม. และ กศก.

สวส. ส่งเรื่องของนางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการ (ตล.๑๖๐๗) กลุ่มวิจัย สวส.สุโขทัย สวส. ซึ่งขอรับการประเมินบุคคลเพื่อประเมินผลงานให้ดำรงตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ตำแหน่งเลขที่และส่วนราชการเดิม ซึ่งกรมฯ ได้เห็นชอบการประเมินบุคคลแล้ว เมื่อวันที่ ๘ สิงหาคม ๒๕๖๘

ขอประกาศรายชื่อผู้ได้รับการคัดเลือก ชื่อผลงาน พร้อมเค้าโครงผลงาน และสัดส่วนของผลงาน โดยสามารถดูเค้าโครงผลงาน (บทคัดย่อ) และสัดส่วนของผลงานได้จาก Website ของ กกจ. และหากประสงค์ จะทักท้วงโปรดแจ้งที่ กกจ. ภายในเวลา ๓๐ วัน นับแต่วันประกาศ

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

(นายปรัชญา วงษา)

ผู้อำนวยการกองการเจ้าหน้าที่

แบบเสนอเค้าโครงผลงานและข้อเสนอแนวคิดที่เสนอเพื่อขอรับการประเมิน

๑. ผลงาน จำนวนไม่เกิน ๓ เรื่อง (โดยเรียงลำดับความดีเด่นหรือความสำคัญ)

ผลงานลำดับที่ ๑

เรื่อง การเพิ่มศักยภาพการผลิตบัวบกคุณภาพเพื่อเป็นพืชสมุนไพรปลอดสารพิษ และโลหะหนัก

ทะเบียนวิจัยเลขที่ ๐๓-๖๗-๖๓-๐๑-๐๑-๐๒-๐๑-๖๔

ระยะเวลาดำเนินการ (เดือน ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ) ตุลาคม ๒๕๖๓ - มกราคม ๒๕๖๕

สัดส่วนของผลงาน

รายชื่อ ตำแหน่ง/สังกัด ผู้ขอประเมิน/ผู้มีส่วนร่วม ในผลงาน (ถ้ามี)	สัดส่วนของ ผลงาน (%)	รับผิดชอบ ในฐานะ
นางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย จังหวัดสุโขทัย สถาบันวิจัยพืชสวน	๘๐	หัวหน้าโครงการ
นายพงษ์รวิ นามวงศ์ ตำแหน่งวิศวกรการเกษตรชำนาญการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม	๑๐	ผู้ร่วมโครงการ
นางเพ็ญจันทร์ สุทธานุกูล ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย จังหวัดสุโขทัย สถาบันวิจัยพืชสวน	๕	ผู้ร่วมโครงการ
นายไกรสิงห์ ชูดี ตำแหน่งผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๓ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ ๓ จังหวัดขอนแก่น	๕	ผู้ร่วมโครงการ

เค้าโครงผลงาน (บทคัดย่อ)

บัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) เป็นผักพื้นบ้านที่พบเห็นได้ทั่วไป และเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยามาก แต่พบว่าปริมาณสารสำคัญ และผลผลิตไม่คงที่ เนื่องจากวัตถุดิบบัวบกมีความแปรปรวนจากฤดูกาลผลิต และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง รวมทั้งพบสารพิษตกค้าง และโลหะหนักที่ไม่สามารถนำมาใช้เป็นสารสกัดมาตรฐานได้ จึงศึกษาการผลิตบัวบกในระบบโรงเรือนและการปลูกพืชไม่ใช้ดินภายใต้สภาพโรงเรือนแบบระบบกึ่งปิด เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตบัวบกให้มีคุณภาพสูง ปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง และโลหะหนัก โดยการเปรียบเทียบวัสดุปลูก และสูตรสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตบัวบกในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดิน วางแผนการทดลองแบบ split-plot จำนวน ๔ ซ้ำ Main-plot ได้แก่ สูตรสารละลายธาตุอาหาร Enshi, Hoagland และสูตรการค้า A,B Sub-plot ได้แก่ วัสดุปลูกทรายหยาบ:ถ่านกลบ อัตราส่วน ๑:๑ โดยปริมาตร ทรายหยาบ:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน ๑:๑ โดยปริมาตร ถ่านกลบ:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน ๑:๑ โดยปริมาตร และเพอร์ไลท์ (Perlite): เวอร์มิคูไลท์ (Vermiculite) ๒:๑ โดยปริมาตร ผลการทดสอบพบว่า กรรมวิธีสารละลายธาตุอาหารสูตรการค้า A,B ร่วมกับการปลูกในวัสดุปลูก ทรายหยาบ:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน ๑:๑ ส่งผล

ต่อเจริญเติบโตบัวบก ปริมาณผลผลิต และปริมาณสาร Asiaticoside และ Madecassoside ของบัวบกมีแนวโน้มสูงกรรมวิธีอื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ การเปรียบเทียบเทคโนโลยีการผลิตบัวบกคุณภาพภายใต้สภาพโรงเรือนในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดินกับเทคโนโลยีการผลิตของเกษตรกร พบว่าการผลิตบัวบกภายใต้สภาพโรงเรือนในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดิน บัวบกมีการเจริญเติบโต ความยาวไหล ปริมาณผลผลิต และปริมาณสาร Asiaticoside และ Madecassoside สูงกว่ากรรมวิธีเทคโนโลยีการผลิตของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญ และทั้งสองกรรมวิธีไม่พบสารพิษตกค้าง แต่เทคโนโลยีการผลิตของเกษตรกรพบปริมาณโลหะหนักเหล็กและตะกั่วเกินเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจระยะเวลา ๕ ปี พบว่าทั้งสองเทคโนโลยีมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ แต่เทคโนโลยีของเกษตรกรสามารถใช้ระยะเวลาคืนทุนประมาณ ๑ ปี ๕ เดือน เร็วกว่าเทคโนโลยีการผลิตบัวบกคุณภาพภายใต้สภาพโรงเรือนในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดินที่ใช้ระยะเวลาคืนทุน ๓ ปี ๓ เดือน เมื่อเปรียบเทียบกระแสเงินสดสุทธิ พบว่าเทคโนโลยีการผลิตบัวบกคุณภาพภายใต้สภาพโรงเรือนในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดินมีกระแสเงินสดสุทธิสูงกว่าการผลิตตามเทคโนโลยีของเกษตรกรมากกว่า ๑๓ เท่า ในปีที่ ๓

ผลงานลำดับที่ ๒

เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ส้มโอเนื้อสีแดงเพื่อการส่งออก

ทะเบียนวิจัยเลขที่ FF๖๕-๓๐-๑๒-๖๕-๐๑-๐๑-๖๕, FF๖๕-๓๐-๑๒-๖๕-๐๒-๐๑-๖๕,
FF๖๕-๓๐-๑๒-๖๕-๐๒-๐๒-๖๖

ระยะเวลาดำเนินการ (เดือน ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ) ตุลาคม ๒๕๖๔ - มีนาคม ๒๕๖๘

สัดส่วนของผลงาน

รายชื่อ ตำแหน่ง/สังกัด ผู้ขอประเมิน/ผู้มีส่วนร่วม ในผลงาน (ถ้ามี)	สัดส่วนของ ผลงาน (%)	รับผิดชอบ ในฐานะ
นางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย จังหวัดสุโขทัย สถาบันวิจัยพืชสวน	๗๐	หัวหน้าโครงการ
นางสาวอรุณทัย ชาววา ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กลุ่มวิจัยพัฒนาการตรวจสอบพืชและจุลินทรีย์ดัดแปรพันธุกรรม สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	๑๐	ผู้ร่วมโครงการ
นายเอกพล ภูวนารณฤบาล ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน	๑๐	ผู้ร่วมโครงการ
นางศศิมา เมืองแก้ว ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน	๓	ผู้ร่วมโครงการ
นายณทีพงศ์ เมืองแก้ว ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน	๒	ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวพรพยุ่ง คงสุวรรณ ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการ กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา จังหวัดยะลา สถาบันวิจัยพืชสวน	๕	ผู้ร่วมโครงการ

เค้าโครงผลงาน (บทคัดย่อ)

การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ส้มโอเนื้อสีแดง โดยการคัดเลือกพันธุ์ส้มโอลูกผสมส้มโอเนื้อสีแดง นำลูกผสมส้มโอที่พ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์มีลักษณะที่ดี จำนวน ๘ คู่ผสม เสียบบางบนต้นต่อที่แข็งแรงสมบูรณ์พร้อมให้ผลผลิตเมื่ออายุยอดลูกผสมส้มโอ ๓ ปี (ปี ๒๕๖๕-๒๕๖๗) ทำการคัดเลือกต้นลูกผสมส้มโอที่มีการเจริญเติบโตสมบูรณ์ แตกกิ่งและยอดจำนวนมาก ถูกทำลายด้วยโรคและแมลงค่อนข้างน้อย พบว่าพันธุ์แดงท่าชัย x ชาวใหญ่ มีจำนวนต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์มากที่สุด ๑๕๙ ต้น รองลงมาคือพันธุ์บูโก x ชาวน้ำผึ้ง ๗๒ ต้น, แดงท่าชัย x ชาวใหญ่ ๓๖ ต้น, บูโก x ทองดี ๓๕ ต้น, ท่าชัย ๓๒ x บูโก ๓๒ ต้น, บูโก x แดงท่าชัย ๒๑ ต้น, หับทิมสยาม x ทองดี ๗ ต้น, และบูโก x

หอมหัดใหญ่ ๒๖ ต้น, การค้นหาและพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับสีเนื้อผลของส้มโอ จากการการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RNA-seq ในส้มโอ ๔ สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เนื้อสีขาว (พันธุ์หอมหัดใหญ่ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง) และพันธุ์เนื้อสีแดง (พันธุ์ทองดี พันธุ์ทับทิมสยาม) พบยีนที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของสี ๒๙,๐๒๑ ยีน ประกอบด้วย ยีนที่แสดงออกในเนื้อส้มโอทั้งสองสี ๑๙,๓๕๑ ยีน ยีนที่แสดงออกเฉพาะในส้มโอเนื้อสีขาว ๕,๑๒๙ ยีน และยีนที่แสดงออกเฉพาะในส้มโอเนื้อสีแดง ๔,๕๔๑ ยีน การวิเคราะห์หาตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุล พบเครื่องหมายดีเอ็นเอ ชนิด SNPs ที่ให้ความแตกต่างระหว่างเนื้อสีบนยีนที่แสดงออก จำนวน ๒๑,๖๐๘ ตำแหน่ง และเครื่องหมายชนิด SSR (Simple Sequence Repeated) ในรูปแบบ di- tri- และ tetra- จำนวน ๑๘,๓๔๓ ตำแหน่ง โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับดีเอ็นเอด้วยวิธี GBS ในพันธุ์ส้มโอ จำนวน ๒๔ ตัวอย่าง พบตำแหน่งเครื่องหมาย SNPs ที่ให้ความแตกต่าง (polymorphism) ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์ตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับสีเนื้อ ๑๒๘ ตำแหน่ง ที่อาจเกี่ยวข้องกับสีเนื้อแดง และสามารถออกแบบไพรเมอร์สำหรับเครื่องหมาย SNPs ได้ ๒๐ คู่ไพรเมอร์ ผลทดสอบความใช้ได้ของไพรเมอร์ยังไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของเนื้อสีส้มโอได้ จึงได้ใช้เทคโนโลยีการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมขั้นสูง MassARRAY พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล ๔ ตำแหน่งที่แสดงความแตกต่างของ SNPs ได้แก่ SNP๑๕๐๐๓๘๘ , SNP๑๕๐๘๕๐๙, SNP๑๖๒๕๕๓๙ และ SNP๑๖๕๗๗๗๘ แสดง Peak ของส้มโอพันธุ์เนื้อสีแดง ออกมาชัดเจน และเมื่อนำมาประมวลผลการจัดกลุ่มการทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลของประชากรส้มโอเนื้อสีขาว เนื้อสีแดง และลูกผสมส้มโอสามารถแบ่งกลุ่มได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้พบว่าเครื่องหมาย SNP๑๖๒๕๕๓๙ จะปรากฏเบส C เฉพาะส้มโอที่มีเนื้อสีแดง และชมพู

๒. ข้อเสนอแนวคิด จำนวน ๑ เรื่อง

เรื่อง การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ส้มเปลือกอ่อนทนทานโรคกรีนนิ่งด้วยเทคโนโลยีชีวภาพด้านการเกษตร

๓. ชื่อผลงานเผยแพร่ (ถ้ามี)

- ๑) ลักษณะทางสัณฐานของพ่อแม่พันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์มะม่วงลูกผสมผิวสีแดงเพื่อบริโภคสด ตีพิมพ์ผลงานในงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ ๑๙ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
- ๒) การเพิ่มศักยภาพการผลิตบัวบกคุณภาพเพื่อเป็นพืชสมุนไพรปลอดสารพิษ และโลหะหนัก นำเสนอโปสเตอร์ผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๔
- ๓) การเพิ่มศักยภาพการผลิตบัวบกคุณภาพสูงเพื่อเป็นพืชสมุนไพรปลอดสารพิษและโลหะหนัก ตีพิมพ์ผลงานวารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ ๖ (๑) : ๗๑-๘๐ (๒๕๖๖)
- ๔) การประเมินลักษณะทางกายภาพของลูกผสมชั่วที่ ๑ สำหรับปรับปรุงพันธุ์มะม่วงผิวสีแดงเพื่อบริโภคผลสด ตีพิมพ์ผลงาน วารสารแก่นเกษตร ปีที่ ๕๑ ฉบับเพิ่มเติม ๓ (๒๕๖๖) ในงานการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ ๒๐
- ๕) การประเมินความพึงพอใจกล้วยน้ำว้าพันธุ์ กวก.สุโขทัย ๑ สู่การนำไปใช้ประโยชน์ โปสเตอร์ในการประชุมสัมมนาวิชาการพืชสวน : นวัตกรรมพืชสวนพร้อมใช้ ประจำปี ๒๕๖๗
- ๖) มะม่วงพันธุ์พื้นฐานเพื่อการปรับปรุงพันธุ์
- ๗) คู่มือปฏิบัติของเกษตรกร เทคโนโลยีการผลิตบัวบกคุณภาพภายใต้สภาพโรงเรือนในระบบปลูกพืชไม่ใช้ดิน ภายใต้โครงการ การเพิ่มศักยภาพการผลิตบัวบกคุณภาพเพื่อเป็นพืชสมุนไพรปลอดสารพิษ และโลหะหนัก
- ๘) กล้วยน้ำว้าพันธุ์ กวก.สุโขทัย ๑ (แผ่นพับ)

๔. ชื่อเอกสารวิชาการ (ถ้ามี)

- ๑) การคัดเลือกพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

แบบการเสนอข้อเสนอแนวทางการพัฒนาหรือปรับปรุงงาน

ชื่อผู้ขอประเมิน นางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการ (ตำแหน่งเลขที่ ๑๖๐๗)

สังกัด กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย จังหวัดสุโขทัย สถาบันวิจัยพืชสวน

ขอประเมินบุคคลเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ (ตำแหน่งเลขที่ ๑๖๐๗)

สังกัด กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย จังหวัดสุโขทัย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร

๑. เรื่อง การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ส้มเปลือกอ่อนทนทานโรครินนิ่งด้วยเทคโนโลยีชีวภาพด้านการเกษตร

๒. หลักการและเหตุผล

การผลิตส้มในประเทศไทยทั้งเพื่อการบริโภคในประเทศ และส่งออกยังต้องการการวิจัยและพัฒนาเพื่อตอบใจหัยความต้องการของผู้บริโภค และการแก้ไขหรือลดปัญหาในการผลิตส้มที่ยังไม่สามารถแก้ไขปัญหาได้ทั้งในด้านการผลิต โรคพืชตระกูลส้ม การเพิ่มปริมาณและคุณภาพผลผลิตส้มให้มีคุณภาพและมีความปลอดภัยมากขึ้น สถานการณ์การผลิตส้มในปี ๒๕๖๓ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกส้มทั้งสิ้น ๑๐๓,๖๗๗ ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลผลิต ๙๘,๖๕๙ ไร่ มีผลผลิตส้มเขียวหวาน ๒๑๓,๖๐๙ ตัน ซึ่งมีพื้นที่ปลูก พื้นที่ให้ผลผลิต และผลผลิตเพิ่มขึ้นจากปี ๒๕๖๑ คิดเป็นร้อยละ ๒ ร้อยละ ๔ และ ร้อยละ ๑๑ ตามลำดับ แหล่งปลูกที่สำคัญ คือ จังหวัดเชียงใหม่ กำแพงเพชร สุโขทัยแพร่ น่าน เชียงราย และปลูกบางในจังหวัดในภาคกลาง รวมทั้งภาคตะวันออกและภาคใต้ โดย พันธุ์ส้มเปลือกอ่อนที่นิยมปลูก ได้แก่ สายน้ำผึ้งหรือโชกุน เขียวหวานหรือผิวทอง פרמיות เป็นต้น การผลิตส้มในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ และในแหล่งปลูกที่สำคัญในภาคเหนือ ส่วนใหญ่มีรูปแบบการผลิตแบบเกษตรกรรายย่อย โดยผลผลิตจากสวนเกษตรกรรายย่อย มีระบบการจัดการผลิตที่ไม่ครบวงจรและอาศัยพ่อค้าคนกลางทั้งในท้องถิ่นและนอกท้องถิ่นในการทำตลาดสินค้ารวมทั้งการจัดการสินค้าและการคัดบรรจุ ส่วนการผลิตในรูปแบบเชิงการค้าของเกษตรกรรายใหญ่จะมีระบบการจัดการสินค้าอย่างครบวงจร ตั้งแต่การผลิต การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวในการคัดบรรจุและการจัดจำหน่าย

ปัญหาในการผลิตส้มที่สำคัญคือ โรครินนิ่ง (Greening disease) เป็นโรคที่ทำความเสียหายให้แก่ส้มที่ปลูกในประเทศไทยมากที่สุดโรคหนึ่ง ส้มที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อยลง และไม่มีคุณภาพ โรครินนิ่งจึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลให้พื้นที่เพาะปลูกส้มลดลงอย่างมากและรวดเร็ว โรครินนิ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Candidatus liberibacter asiaticus* (CLas) ที่อาศัยอยู่ในท่ออาหารของต้นส้ม โดยมีเพลี้ยไก่แจ้ส้ม *Diaphorina citri* Kuw. เป็นแมลงพาหะนำเชื้อเข้าสู่ต้นส้มที่ปลูกแถบเอเชียและแอฟริกา ต้นส้มที่เป็นโรคจะมีอาการใบเหลือง ต้นโทรมเนื่องจากเชื้อโรครินนิ่งเข้าไปอุดตันท่ออาหาร ทำให้การลำเลียงอาหารไปเลี้ยงราก ผล และใบอ่อนได้ไม่เพียงพอ ใบแสดงอาการขาดธาตุอาหาร อาการแรกเริ่มคือใบมีจุดประสีเหลือง เส้นใบยังคงมีสีเขียว ถ้าอาการรุนแรงใบอ่อนจะมีสีเขียวซีด เส้นใบมีสีเหลือง และบวม ซึ่งในปัจจุบันการควบคุมและป้องกันโรครินนิ่ง ยังไม่มีวิธีการหรือคำแนะนำที่สามารถใช้ควบคุมหรือจัดการโรคนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในปัจจุบันการใช้ปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (ampicillin) โดยวิธีการฉีดเข้าสู่ลำต้นในการรักษาโรครินนิ่งในภาคเหนือกับส้มสายน้ำผึ้ง พบว่าต้นส้มที่เป็นโรคฟื้นจากอาการของโรคและมีสภาพต้นที่ดีขึ้นได้ แต่ต้นส้มฟื้นจากอาการต้นโทรมได้ชั่วคราว โดยสารแอมพิซิลลินออกฤทธิ์ในเวลา ๓ เดือน สามารถแตกกิ่งก้านที่มีใบสีเขียวเข้มออกดอกและผลได้ แล้วต้นส้มจะเริ่มแสดงอาการทรุดโทรมอีกครั้ง จนเกษตรกรต้องฉีดสารดังกล่าวทุก ๆ ๓ เดือน และพบว่าสภาพดินของต้นส้มที่ได้รับสารแอมพิซิลลิน มีความเป็นกรดสูง และยังพบอาการโรครากเน่าโคนเน่าอย่างรุนแรง ถึงแม้ว่าจะมีต้นเขียวสด แต่รากเน่ารุนแรง รวมทั้งมีข้อกังวลในเรื่องสารปฏิชีวนะตกค้างที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน MRL ที่ส่งผลไปยังผู้บริโภคด้วยดังกล่าว

การวิจัยและพัฒนาพันธุ์เพื่อทนทานต่อโรครินนิ่งพบว่า สายพันธุ์ส้มเปลือกอ่อนการค้าส่วนใหญ่อ่อนแอต่อเชื้อ CLas มาก แต่มีรายงานความทนทานต่อโรครินนิ่งในระดับสูงของส้มที่มักใช้เป็นต้นตอ เช่น ส้มสามใบ และส้มลูกผสมบางสายพันธุ์ วิธีการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคแบบดั้งเดิมโดยการผสมข้ามพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ตรงตามความต้องการ ต้องมีการผสมกลับหลายรอบเพื่อให้ได้ลักษณะทางการค้าที่มีคุณภาพกลับคืนมา และระยะเวลาขั้นตอนในการผสมมีตั้งแต่ ๕-๑๐ ปี ต่อชั่วรุ่นลูกผสมของส้ม การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อทนทานโรคหรือต้านทานโรคโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาประยุกต์ใช้ โดยเฉพาะการคัดเลือกลูกผสมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสามารถวิเคราะห์ได้ในส่วนของจีโนมทั้ง inter-species และ intra-species การผสมผสานวิธีวิเคราะห์เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ QTL (quantitative trait locus) และ MAS (marker-assisted selection) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการปรับปรุงพันธุ์ในพืชตระกูลส้ม ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นที่มีระยะเวลากการเติบโตที่ยาวนาน โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถช่วยในการคัดเลือกลูกผสมหรือพันธุ์ได้ตั้งแต่ระยะกล้า ปัจจุบันเทคโนโลยี NGS (Next Generation Sequencing) ได้เข้ามามีบทบาทในการศึกษาวิจัยเครื่องหมายดีเอ็นเอในพืชตระกูลส้มมากขึ้น และเทคนิค GBS (genotyping by sequencing) โดยเทคโนโลยี NGS ยังสามารถนำมาประยุกต์ในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบหลายตัวอย่างแบบกระจายทั้งจีโนมได้ในเวลาอันรวดเร็ว การใช้เครื่องมือทางด้านชีวสารสนเทศ (bioinformatics) สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากได้ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ และประเมินทดสอบความแม่นยำของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับความทนทาน หรือต้านทานโรครินนิ่งสำหรับการประเมินสายพันธุ์อ่อนแอและทนทานหรือต้านทานต่อโรครินนิ่ง และเพื่อสร้างประชากรลูกผสมส้มเปลือกอ่อนที่ทนทานต่อการเกิดโรครินนิ่งสำหรับการคัดเลือกต่อไป

๓. บทวิเคราะห์/แนวความคิด/ข้อเสนอ และข้อจำกัดที่อาจเกิดขึ้นและแนวทางแก้ไข

แนวทางการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรครินนิ่งในส้มเขียวหวาน Huanglongbing (HLB) หรือโรครินนิ่งเป็นโรคที่ร้ายแรงที่สุดในส้มทั่วโลก พันธุ์ส้มเชิงพาณิชย์รวมถึงส้มเขียวหวาน (*Citrus sinensis*) มีอ่อนแออย่างมากต่อ HLB จากรายงานของ Ming Huang *et al.* ๒๐๑๘. ได้ระบุ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค จากประชากร F_๑ ระหว่างพันธุ์ของส้มหวาน และส้มสามใบ (*Poncirus trifoliata* ซึ่งมีพันธุกรรมใกล้เคียงกับ *Citrus*) มีความต้านทานหรือทนต่อ HLB สูง ค้นหาลักษณะทางพันธุกรรมโดย Genotyping-by-Sequencing และสร้างแผนที่พันธุกรรมที่ใช้ SNP ที่มีความหนาแน่นสูงเพื่อจำแนกส้มสามใบและส้มหวาน การวิเคราะห์ QTL ทั่วทั้งจีโนมตามข้อมูลฟีโนไทป์ของอาการทางใบและความเสียหายของทรงพุ่มใน ๒ ปี สามารถระบุกลุ่มของ QTL ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความต้านทานในส้มสามใบ linkage groups LG-tb, LG-t๘ และ LG-t๙ มี ๖๔๗ high-quality SNP markers (ภาพที่ ๑ A) รวมถึง QTLs หนึ่งกลุ่มในส้มเขียวหวาน (linkage groups LG-s๗) มี ๗๕๔ high-quality SNP markers (ภาพที่ ๑ B)

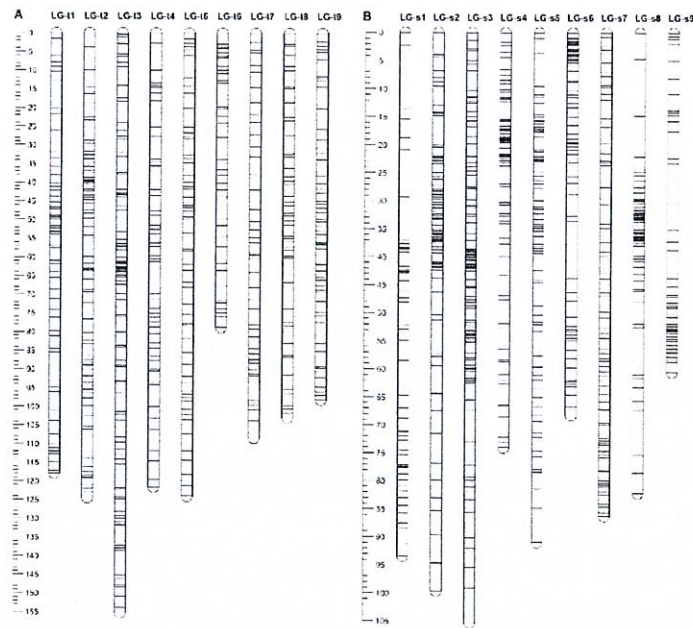


FIGURE ๑. การกระจายของเครื่องหมายที่มีตำแหน่งเฉพาะในแผนที่ความเชื่อมโยงทางพันธุกรรม (genetic linkage map) ของส้มสามใบ (A) และส้มเขียวหวาน (B) linkage group ทั้งเก้ากลุ่มนั้นสอดคล้องกับ จีโนมของส้มแมนดารินของเคลเมนไทน์ ระยะทางในแผนที่หน่วยเป็นเซนติมอร์แกน (cM) ระบุโดยไม้บรรทัดทางด้านซ้าย (Huang, M. *et al.* ๒๐๑๘.)

การค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับตำแหน่ง QTLs ของยืนทนทาน หรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งในส้มเปลือกอ่อน ด้วยเทคโนโลยีเอ็นจีเอส (NGS: Next-generation sequencing) ได้แก่ การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RNA-seq วิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อค้นหาตำแหน่ง SNPs และตำแหน่ง Ins/Del หรือเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างในยืนเกี่ยวข้องกับ ความต้านทาน หรือทนทานโรคกรีนนิ่งในส้มเขียวหวาน โดยใช้โปรแกรมชีวสารสนเทศ (bioinformatics) การสืบค้นข้อมูลยืนของส้มและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาตัวแทนลำดับเบส สืบค้นข้อมูลยืน และลำดับนิวคลีโอไทด์ของ candidate gene จากรายงานของ Wang, Y.S. *et al.* ๒๐๑๖, Huang, M. *et al.* ๒๐๑๘. และ Huang, M. *et al.* ๒๐๑๒. โดยการวิเคราะห์ Contig Assembly แล้วตัดส่วนของลำดับเบสที่เป็นของ Vector ออก โดยใช้ VecScreen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen>) และนำตัวแทนลำดับเบสที่ต้องการไปออกแบบไพรเมอร์โดยใช้โปรแกรม primer ๓ และสังเคราะห์ไพรเมอร์เพื่อไปใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยืนที่สนใจ สำหรับยืนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานหรือทนทาน HLB ตามรายงานของ Huang, M. *et al.* ๒๐๑๒ โดยใช้ลำดับจีโนมของสายพันธุ์ ส้มที่มีระดับของความต้านทานที่แตกต่างกันดังนี้ MIK๒, LRR๘, RPPL๑, LCR๘, NHL๖ และ NHL๑๐ ซึ่งจะเปรียบเทียบกับลำดับจีโนมจากฐานข้อมูลของส้มแมนดาริน Clementine เพื่อหาเครื่องหมาย SNP แบบโพลิมอร์ฟิก การค้นหา HP ดำเนินการบนพื้นฐานของยืนแต่ละตัว ซึ่งผลกระทบของแต่ละ HP ที่ต้านทานหรือทนทาน วิเคราะห์โดยใช้ haplotype เดียวโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวและการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายโดยใช้ซอฟต์แวร์ GenStat (รุ่นที่ ๑๘) (<https://www.vsni.co.uk/software/genstat/>) HPs ที่ส่งผลต่อความเสียหายของจากการเข้าทำลายของโรคกรีนนิ่งคำนวณจาก average area under the curve : AUC) ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% ($P < 0.05$) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการต้านทานโรคกรีนนิ่ง ส่วนค่า Damage reducing ratios (DRR) ของ HP ที่มีนัยสำคัญคำนวณโดยการหาร AUC เฉลี่ยของ HP ที่มีนัยสำคัญด้วย AUC เฉลี่ย HP ของ ส้มเขียวหวานบันทึกผลการทดลอง

การสร้างประชากรลูกผสมส้มเขียวหวานและสายน้ำผึ้งกับส้มพันธุ์ที่มีความทนทาน หรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่ง ได้แก่ พันธุ์ส้มสามใบ ผสมพันธุ์ส้มที่ผ่านการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ โดยใช้คนช่วยผสมหรือการผสมด้วยมือ ผลที่ได้จากการผสมติดที่มีอายุแก่พร้อมเก็บเกี่ยว นำเมล็ดมาเพาะต้นกล้าเมื่อมีการแตกกิ่งเจริญเต็มที่นำยอดพันธุ์

ลูกผสมชั่วที่ ๑ ไปเปรียบช่างกับต้นต่อสั้ที่มีอายุและการเจริญเติบโตสมบูรณ์พร้อมต่อการให้ผลผลิตในพื้นที่พบโรคกรีนนิ่งในสภาพธรรมชาติ และนำยอดพันธุ์ระยะกล้าประเมินและทดสอบความแม่นยำของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับยืนทนทานหรือต้านทานโรคกรีนนิ่งในสั้ต่อไป แต่พบว่าสั้สายน้ำผึ้ง และสั้เขียวหวาน ผสมกับพันธุ์สั้สามใบเอมบริโอไม่พัฒนา มีความเป็นหมัน จึงต้องทำการเพาะเลี้ยงคัพพะ (embryogenesis) ทำการคัดเลือกสั้ที่ได้จากการขยายพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงคัพพะ เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแขวนตะกอนที่มี *Ca L. asiaticus* และนำมาปลูกถ่ายเชื้อลงในหลอดทดลองที่มียอดสั้ปลอดเชื้อนาน ๘ วัน จากนั้นนำยอดล้างด้วยยาปฏิชีวนะ ๔๐๐ ppm นำยอดมาเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง และสังเกตอาการการเกิดโรค เพาะเลี้ยงต้นอ่อนของสั้ที่ไม่มีอาการของโรค นำไปตรวจหาเชื้อด้วยเทคโนโลยีทางด้านทางชีวภาพ โดยการทำให้ PCR ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อโรคกรีนนิ่งโดยเฉพาะ primer ส่วน ๑๖S rDNA และ ๑๖S/๒๓S intergenic region

๔. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RNA-seq ที่เชื่อมโยงกับตำแหน่ง QTLs ของยืนทนทาน หรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งในสั้เปลือกกล่อน และทำการค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับตำแหน่ง QTLs ของยืนทนทาน หรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งในสั้เปลือกกล่อน ได้สร้างประชากรลูกผสมสั้เขียวหวานและสายน้ำผึ้งกับสั้พันธุ์ที่มีความทนทานหรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งโดยการเพาะเลี้ยงคัพพะ (embryogenesis) และนำประชากรลูกผสมมาประเมินความทนทาน หรือต้านทานโรคกรีนนิ่งด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับตำแหน่ง QTLs ของยืนทนทาน หรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งในสั้เปลือกกล่อน

๕. ตัวชี้วัดความสำเร็จ

๑. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการ ปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะทางการเกษตรที่ต้องการ จำนวนอย่างน้อย ๑ เทคโนโลยี
๒. ได้กลุ่มประชากรสั้เปลือกกล่อนลูกผสมสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ทนทานหรือต้านทานต่อโรคกรีนนิ่งต่อไป อย่างน้อย ๒ กลุ่มประชากร

(ลงชื่อ)
 (นางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว)
 ผู้ขอประเมิน
 (วันที่)๑๓...../มิถุนายน./๒๕๖๘..