รายงานแผนงานวิจัย

การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

Research and Development on Agricultural Biotechnology

หัวหน้าแผนงานวิจัย

กษิดิศ ดิษฐบรรจง

Karsedis Distabanjong

ปี พ.ศ.2560

รายงานแผนงานวิจัย

การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
Research and Development on Agricultural Biotechnology

หัวหน้าแผนงานวิจัย

กษิดิศ ดิษฐบรรจง

Karsedis Distabanjong

ปี พ.ศ.2560

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

แผนงานวิจัยการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร เป็นการวิจัยและพัฒนาการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตพืชและจุลินทรีย์ เพื่อช่วยเพิ่มคุณภาพและการผลิตให้เพียงพอต่อการบริโภคและพลังงาน การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเป็นนวัตกรรมใหม่ทางการเกษตร เพื่อช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ การสร้างเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมพืช การวิจัยพัฒนาการผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวล รวมถึงการวิจัยพัฒนาพืชเพื่อรองรับการผลิตในสภาวะการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ

แผนงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 4 โครงการวิจัยใหญ่ๆ โดยมีระยะเวลาการดำเนินงานวิจัยโครงการนี้ เดิมเริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 และสิ้นสุดในเดือนกันยายน 2564 แต่เนื่องจากไม่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยต่อเนื่องในปี 2561 ทุกรายการทดลองจึงสรุปการดำเนินงานทดลองถึงเดือนกันยายน 2560 ดังนั้นข้อมูลการวิจัยที่ได้อาจไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ อย่างไรก็ตามผลการวิจัยตลอดระยะเวลา 2 ปี ทำให้ได้ข้อมูลและเทคโนโลยีบางส่วนที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ หรือต่อยอดงานวิจัยต่อไปได้ในอนาคต

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อนักวิจัย และผู้ที่สนใจเทคนิควิธีการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ และนำเอาไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

นายกษิดิศ ดิษฐบรรจง

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..	5
ผู้วิจัย...	6
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ...	8
บทนำ...	9
วิธีการวิจัย...	13
บทสรุปและข้อเสนอแนะ...	19
บรรณานุกรม...	25

กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรได้ดำเนินการได้โดยได้รับการสนับสนุนจากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่ให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพที่ให้การสนับสนุนสถานที่ เครื่องมือในการทดลอง ตลอดจนได้รับความร่วมมือจากหัวหน้าโครงการและคณะผู้วิจัย ที่ร่วมใจในการปฏิบัติงานวิจัย ขอขอบคุณหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง, ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี, ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น, ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ และเกษตรกร ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ นอกจากนี้ยังมีผู้ที่ได้ให้การสนับสนุนงานในด้านอื่นๆ แต่มิได้เอ่ยนามไว้ ซึ่งล้วนมีส่วนช่วยส่งเสริมให้โครงการวิจัยนี้ดำเนินงานจนประสบผลสำเร็จ ซึ่งขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

นายกษิดิศ ดิษฐบรรจง	ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย
นางชยานิจ ดิษฐบรรจง	ผู้ประสานงาน
นางสาว อรุโณทัย ซาววา	หัวหน้าโครงการย่อย
นายประสาน สืบสุข	หัวหน้าโครงการย่อย
นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	หัวหน้าโครงการย่อย
นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	หัวหน้าโครงการย่อย
นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ	ผู้ร่วมวิจัย
นางสุภาวดี ง้อเหรียญ	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวจีราพร แก่นทรัพย์	ผู้ร่วมวิจัย
นายพยุงศักดิ์ รวยอารี	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวกุหลาบ คงทอง	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวภรณี สว่างศรี	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวมัทนา ศรีหัตถกรรม	ผู้ร่วมวิจัย
นายวุฒิพล จันทร์สระคู	ผู้ร่วมวิจัย
นายอำนวย อรรถลังรอง	ผู้ร่วมวิจัย
นายศรีเมฆ ชาวโพงพาง	ผู้ร่วมวิจัย
นายสมชาย หลวงสนาม	ผู้ร่วมวิจัย
นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวอำไพ สินพัฒนานนท์	ผู้ร่วมวิจัย
นางกัลยา เกาะกากลาง	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวศิริพร วรกุลดำรงชัย	ผู้ร่วมวิจัย
นางนัยเนตร เจริญสันติ ทานากะ	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวจารุฉัตร เขนยทิพย์	ผู้ร่วมวิจัย
นางสุปัน ไม้ดัดจันทร์	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวศิวิไล ลาภบรรจบ	ผู้ร่วมวิจัย
นายสุริพัฒน์ ไทยเทศ	ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวรัชนี โสภา	ผู้ร่วมวิจัย
นายพินิจ จิรัคคกุล	ผู้ร่วมวิจัย
นายประยูร เอ็นมาก	ผู้ร่วมวิจัย

นายศักดิ์ชัย อาษาวัง ผู้ร่วมวิจัย
นางศุภลักษณ์ อริยภูชัย ผู้ร่วมวิจัย
นายวีระพล พลรักดี ผู้ร่วมวิจัย
นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ผู้ร่วมวิจัย
นางสาวเตือนจิตร เพ็ชรรุณ ผู้ร่วมวิจัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

VL	= Light chain	VH	= Heavy chain
L	= Liters	ml	= Milliliters
kg	= Kilograms	cm	= Centimeters
hr	= Hour	%	= Percentage
0C	= Degree Celsius	µl	= Microliters
µM	= Micromoles	mM	= Millimoles
ng	= Nanograms	mg	= Milligrams
g	= Grams	rpm	= Rounds per Minute

ม.ล. = มิลลิลิตร	ก.ก. = กิโลกรัม	ซ.ม. = เซนติเมตร
ชม. = ชั่วโมง	% = เปอร์เซ็นต์	o C = องศาเซลเซียส
µl = ไมโครลิตร	µM = ไมโครโมล	ml = มิลลิลิตร
ng = นาโนกรัม	mg = มิลลิกรัม	g = กรัม

MS	Murashige and Skoog
BA	6-Benzyladenine
2-ip	N6-(2-Isopentenyl)adenine
TDZ	Thidiazuron
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
GA3	Gibberellin acid
CCC	Chlorochorine chloride
PEG	Polyethylene glycol
CRD	Completely Randomized Design

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มา

การพัฒนาการเกษตรของประเทศไทยเพื่อยกระดับประสิทธิภาพการผลิต และเพิ่มผลผลิตทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่เข้ามาช่วยเป็นปัจจัยเสริมในด้านการปรับปรุงพันธุ์ การโคลนยีนที่ควบคุมลักษณะที่สำคัญทางการเกษตร เพื่อนำไปถ่ายฝากเข้าสู่พืชเศรษฐกิจ โดยอาศัยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) เทคโนโลยีดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA) เทคโนโลยีเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) เพื่อการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ เทคนิค next generation sequencing ที่สามารถหาลำดับเบส หรือถอดรหัสพันธุกรรมของพืชและจุลินทรีย์ทั้งจีโนมได้อย่างรวดเร็ว สามารถนำไปช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) เป็นเทคนิคที่เข้ามาช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืช การผลิตพืชปลอดโรค ตลอดจนการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณในเชิงพาณิชย์ การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และสาหร่าย โดยใช้เทคโนโลยี recombinant DNA ช่วยในการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมพลังงาน และอุตสาหกรรมการผลิตอื่นๆ สามารถนำมาใช้พัฒนากระบวนการผลิตเอทานอล และไบโอดีเซล ล้วนแล้วแต่ต้องนำเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่เข้ามาช่วยปรับปรุงเพื่อให้ได้ผลผลิตอย่างรวดเร็ว และสามารถนำไปใช้ให้เป็นประโยชน์ทางการเกษตร อุตสาหกรรมการเกษตร และพลังงานทดแทนได้ต่อไปในอนาคต สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ได้ตระหนักถึงความจำเป็นในการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการเพิ่มขีดความสามารถและประสิทธิภาพงานวิจัย เพื่อค้นคว้าวิจัยและนำเอาความหลากหลายของทรัพยากรที่มีอยู่มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยดำเนินการวิจัยด้านต่างๆ ดังนี้

การศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ ยีนทนเค็ม ทนแล้ง ทนน้ำท่วม และทำการโคลนยีนเหล่านี้โดยใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่ ตัดต่อเข้ากับพาหะ และนำไปฝากถ่ายในพืชต้นแบบเพื่อดูการแสดงออกของยีนนั้น ๆ การตัดต่อยีนและฝากถ่ายเข้าไปในพืชมีด้วยกัน 2 วัตถุประสงค์ คือ เป็นการกระตุ้นให้ยีนนั้นๆ สร้างมากขึ้น (overexpression) ได้แก่ ยีนที่ช่วยต่อสู้กับสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม ยีนทนทานความร้อน ความแห้งแล้ง หรือยีนที่ทำให้พืชต้านทานโรค โดยมีสมมุติฐานว่าถ้าทำให้ยีนเหล่านั้นแสดงออกมาก พืชนี้จะสามารถทนสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม โรคและแมลง ได้มากขึ้นด้วย วัตถุประสงค์อีกข้อหนึ่ง คือ เป็นการถ่ายฝากยีนเพื่อยับยั้งหรือลดการแสดงออกของยีนบางตัว เช่น ยีนที่ทำให้พืชเหี่ยวอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสภาพขาดน้ำ ลดการแสดงออกของยีนที่ควบคุมสีบางสี เพื่อเพิ่มการแสดงออกของยีนอีกสี เป็นต้น ซึ่งการโคลนยีนเหล่านี้เป็นการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อเตรียมรับมือกับสภาวะโลกร้อนที่จะทวีความรุนแรงขึ้นในอนาคต นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคใหม่ ๆ ของการถอดรหัสพันธุกรรมพืช (Next Generation Sequencing) ที่สามารถหาลำดับเบสของพืชและจุลินทรีย์ทั้งจีโนมได้อย่างรวดเร็ว มาเป็นแนวทางในการศึกษายีนและค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่สำคัญ ได้แก่ SNP, SSR ได้อย่างรวดเร็ว สามารถนำลำดับเบสที่ได้ออกแบบไพรเมอร์ในการโคลนยีน เพื่อการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมให้มีลักษณะตามต้องการได้อย่างรวดเร็วขึ้น

การศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลของพืชเศรษฐกิจสำคัญที่สามารถนำไปใช้ตรวจพิสูจน์พันธุ์ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ตลอดจนช่วยในการคัดเลือกลูกผสมให้มีลักษณะตามต้องการได้รวดเร็วและแม่นยำกว่าวิธีคัดเลือกโดยดูจากฟีโนไทป์ เช่น การหามาร์คเกอร์ของยีนต้นเตี้ยในปาล์มน้ำมัน การหาเครื่องหมายโมเลกุลใน

การจำแนกทุเรียน การจำแนกเพศในอินทผาลัม เทคนิคนี้จะสามารถนำมาช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ได้ลักษณะตามความต้องการได้รวดเร็วขึ้น ลดแรงงานในการปลูกคัดเลือก และพืชที่ได้ไม่ใช่พืชดัดแปลงพันธุกรรม

การศึกษาเทคนิคการผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวล วัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตเอทานอลในปัจจุบันนิยมใช้แป้งและน้ำตาลเป็นหลัก เช่น มันสำปะหลัง กากน้ำตาล แป้งข้าวโพด มันสำปะหลังเส้นตากแห้ง แป้งมันสำปะหลัง แต่เนื่องจากเป็นพืชอาหาร วิวัฒนาการของการผลิตพลังงานทดแทนในยุคที่ 2 จึงมีการค้นคว้าหาวัสดุอื่นมาทดแทน นั่นคือ กลุ่มเซลลูโลสจากพืช ซึ่งเรียกเอทานอลจากขบวนการผลิตเช่นนี้ว่า ลิกโนเซลลูโลซิค เอทานอล (lignocellulosic ethanol) โดยกระบวนการเปลี่ยนเศษซากพืช หรือผลิตผลทางการเกษตรที่เหลือใช้ซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ให้เป็นเอทานอล โดยการปรับสภาพวัตถุดิบ การย่อยหรือไฮโดรไลซิสให้เป็นน้ำตาล แล้วผ่านกระบวนการหมักให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเมื่อทำให้บริสุทธิ์ได้เอทานอล 95% นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาการวิจัยการผลิตพลังงานอนาคต ในยุคที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นการศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายและแบคทีเรียที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมซึ่งสามารถสังเคราะห์แสงแล้วแปลงเป็นไขมัน ซึ่งมีศักยภาพในการผลิตสูง เนื่องจากมีอายุในการเก็บเกี่ยวผลผลิตสั้น จึงให้ผลผลิตต่อพื้นที่สูง นอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศได้อีกทางหนึ่ง

เมล็ดพันธุ์หรือส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีคุณภาพเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตพืชให้ได้ปริมาณและคุณภาพตามต้องการ แผนงานนี้จึงได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเชิงพาณิชย์และการศึกษาเทคโนโลยีขยายพันธุ์พืชปลอดโรคไวรัสและไมโครพลาสมา ซึ่งเชื้อทั้งสองดังกล่าวสามารถติดไปกับท่อนพันธุ์ เมล็ด ประกอบกับมีแมลงและไส้เดือนฝอยเป็นพาหะ ทำให้มีการแพร่ระบาดไปอย่างรวดเร็ว วิธีการป้องกันและกำจัดที่ดีคือทำลายต้นที่เป็นโรคเพื่อลดแหล่งแพร่เชื้อ (Source of inoculum) และปลูกพันธุ์ปลอดโรคแทน ซึ่งสามารถลดการแพร่ระบาดได้ นอกจากนี้ มีการตรวจรับรองพืชปลอดโรคที่ได้จากเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการตรวจดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอของเชื้อโรคด้วย PCR ที่มีความแม่นยำและเชื่อถือได้

ในการวิจัยและพัฒนาพืชและจุลินทรีย์ได้ตระหนักถึงความจำเป็นในการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการเพิ่มขีดความสามารถและประสิทธิภาพงานวิจัย โดยเฉพาะด้านชีวโมเลกุลในการค้นหายีนที่มีประโยชน์จากพืชและจุลินทรีย์ หรือ จุลินทรีย์/ เอนไซม์ที่ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมการเกษตร จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาทุกด้าน ตลอดจนบุคลากร และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ เพื่อค้นคว้าวิจัยเทคโนโลยีทางชีวภาพ และนำเอาความหลากหลายของทรัพยากรที่มีอยู่มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดเป็นระบบครบวงจร โดยดำเนินการวิจัยด้านต่างๆ ดังนี้

ผลผลิต / คุณภาพของผลิตผลทางการเกษตรเพิ่มขึ้น และแข่งขันได้
แผนงานวิจัย : การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
เป้าหมาย :
1. ได้ยีนและข้อมูลของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร
2. ได้เทคนิคในการพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
3. ได้พืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีลักษณะตามต้องการ ได้แก่ ต้านหน้าวัว/กุหลาบ ที่ผ่านการพัฒนาสีดอก พันธุ์พืชที่มีลักษณะทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม
เป้าหมาย :
ได้เครื่องหมายโมเลกุลของทุเรียน ข้าวโพด อินทผาลัม ถั่วเหลือง และกล้วยไม้สกุลหวาย สำหรับใช้ในการตรวจสอบ จำแนก และปรับปรุงพันธุ์
เป้าหมาย :
1. ได้ยีน และเทคนิคการผลิตเอนไซม์จากรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอ
2. สามารถผลิตไบโอเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและพืชชีวมวล
3. ได้เทคโนโลยีการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย/ไบโอดีเซลที่มีจุดแข็งตัวต่ำ
เป้าหมาย :
1. ได้เทคโนโลยีการผลิตขมิ้นชันเชิงการค้าและสามารถนำไปปลูกได้อย่างมีระสิทธิภาพ
2. ได้เทคโนโลยี/วิธีการที่เหมาะสมในการผลิตอ้อย และมันฝรั่งปลอดโรค
3. ได้เทคนิคการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
โครงการวิจัยที่ 1 การศึกษาค้นหายีน และพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
วัตถุประสงค์ :
1. เพื่อศึกษายีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร รวมถึงการพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ และการทดสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรม
2. เพื่อค้นหายีน การตรวจสอบยีน และศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร
โครงการวิจัยที่ 2 : การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์พืช
วัตถุประสงค์ :
1. เพื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกพันธุ์ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช
2. เพื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการระบุยีนที่สำคัญทางเศรษฐกิจช่วยในการคัดเลือกลูกผสมในโครงการปรับปรุงพันธุ์
โครงการวิจัยที่ 3 : การผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ
วัตถุประสงค์ :
1. เพื่อศึกษายีนและพัฒนาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวล (เอทานอล และ ไบโอดีเซล) จากจุลินทรีย์และสาหร่าย
2. เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานทดแทนจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
โครงการวิจัยที่ 4 : การขยายพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
วัตถุประสงค์ :
1. เพื่อศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์พืชเชิงพาณิชย์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. เพื่อศึกษาเทคนิคการผลิตท่อนพันธุ์/ส่วนขยายพันธุ์พืชปลอดโรคไวรัส

2.วัตถุประสงค์แผนงานวิจัย

1. เพื่อนำเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่มาใช้ในงานวิจัยเพื่อการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืช และจุลินทรีย์ การศึกษาการโคลนยีนและการแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิตต้นแบบ การทดสอบพืชดัดแปรพันธุกรรม การศึกษาเทคนิคการยับยั้งการแสดงออกของยีน การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการจำแนกและคัดเลือกพันธุ์พืช การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ในอุตสาหกรรมไบโอเอทานอล และไบโอดีเซล การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ตลอดจนศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายและปรับปรุงพันธุ์พืช และผลิตพันธุ์พืชปลอดโรค

2. เพื่อค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (abiotic stresses) ยีนที่ควบคุมลักษณะต้นเตี้ยในปาล์มน้ำมัน ยีนที่ควบคุมการเกิดสีในไม้ดอก ตลอดจนการศึกษายีนและข้อมูลการกลายของยีนที่กระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อโรคไวรัสจุดวงแหวนมะละกอ

3. การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อจัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมพืช การพัฒนาและทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับใช้จัดจำแนกพันธุ์ และการศึกษารูปแบบการปรากฏของเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค

4. วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการโคลนยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ และยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมัน สำหรับผลิตไบโอดีเซลและไบโอเอทานอล

5. เพื่อศึกษาเทคโนโลยีต้นแบบในการผลิตพลังงานทดแทนไบโอเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและพืชชีวมวลในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง รวมถึงการศึกษาเทคนิคการผลิตไบโอดีเซลที่มีจุดไหลเทต่ำจากกรดไขมันแบบต่าง ๆ

6. วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์พืชปลอดโรค ได้แก่ขมิ้นชัน มันฝรั่ง และอ้อย ด้วยระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) และการชักนำให้เกิดยอดรวมจากชิ้นส่วนของใบ

วิธีการวิจัย

โครงการวิจัยที่ 1 การศึกษา ค้นหายีน และพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
The Discovery and Functional Studies of genes for Crop Improvement using Modern Biotechnology

กิจกรรมที่ 1 การตรวจสอบยีน และศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

การทดลองที่ 1.1 การตรวจสอบการแสดงออกของไซโคลฟิลินและนีโอมายซินฟอสโฟทรานสเฟอเรสทูด้วยเทคนิคการแสดงโปรตีนบนผิวฟาจ

ทำการผลิตคลังแอนติบอดี (Antibody library) โดยโคลนยีนแอนติบอดีจากหนูด้วยเทคนิคการแสดงโปรตีนบนผิวฟาจ (phage display) จากนั้นนำรีคอมบิแนนท์ไซโคลฟิลินและ NPT II คัดเลือกแอนติบอดีจากคลังแอนติบอดี ตรวจสอบคุณสมบัติของแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไซโคลฟิลินและ NPT II นำแอนติบอดีที่ได้ไปคัดเลือก/ตรวจสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรม ด้วยวิธีทางซีรั่มวิทยา เช่น ELISA และ Western blotting นอกจากนี้คลังแอนติบอดีที่ผลิตได้ ยังสามารถนำไปใช้คัดเลือกโปรตีนชนิดอื่นๆ โดยไม่ต้องมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันสัตว์ทดลองอีก เพื่อใช้ในการตรวจสอบต่อไปในอนาคตได้ด้วย

การทดลองที่ 1.2 การตรวจสอบการกลายของยีนที่กระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อโรคไวรัสจุดวงแหวนมะละกอ

ทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบการกลายของยีนในมะละกอที่มีการกลายพันธุ์ตามวิธีธรรมชาติและมะละกอที่ได้รับการกลายพันธุ์โดยขั้นตอนที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenesis) โดยศึกษายีนที่กระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อไวรัสจุดวงแหวนมะละกอ ได้แก่ ยีนในกลุ่มปัจจัยเริ่มต้นการแปลรหัสพันธุกรรม (translation initiation factors) และยีนในกลุ่มกระบวนการ RNA silencing โดยการโคลนยีนและวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม เพื่อศึกษาความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายของยีนส่งผลให้ลำดับอะมิโนแอซิดของมะละกอเปลี่ยนแปลงไป

กิจกรรมที่ 2 การโคลนยีนและศึกษาการแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิตต้นแบบ

การทดลองที่ 2.1 การโคลนยีนและการแสดงออกของยีน N-acetylglutamate synthase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารออร์นิทีน (ornithine) อาร์จินีน (arginine) และโพรลีน (proline) ในพืช ซึ่งช่วยให้พืชสามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายใต้สภาวะเครียดอันเนื่องจากสภาวะขาดน้ำ แลพถ่ายเข้าสู่พืชต้นแบบ

การทดลองที่ 2.2 การโคลน ถ่ายฝากและศึกษายีนต้านทานโรค GmPR1 เพื่อความต้านทานโรคในพืชต้นแบบ Arabidopsis thaliana สำหรับเตรียมการถ่ายฝากสู่ถั่วเหลือง

การทดลองที่ 2.3 การถ่ายฝากยีน ERD15 ที่อยู่ในรูป RNAi ที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งหรือในสภาวะขาดน้ำในยาสูบ และศึกษาการแสดงออกของยีน

การทดลองที่ 2.4 การโคลนยีน PIS (Phosphatidylinositol (Ptdlns) synthase ที่เกี่ยวข้องกับสภาวะทนแล้งในพืชทนแล้งและถ่ายฝากยีน PIS ในรูปแบบ over-expression ที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งหรือในสภาวะขาดน้ำในยาสูบ

การทดลองที่ 2.5 การโคลนยีนและศึกษาการแสดงออกของยีน calreticulin และ calmodulin เพื่อให้ทนต่อสภาวะขาดน้ำและสภาวะเค็มจากพืช และนำยีนที่ได้ไปเปรียบเทียบกับยีนที่มีรายงานในฐานข้อมูล NCBI จากนั้นทำการศึกษาการแสดงออกของยีน calreticulin และ calmodulin ในพืชต้นแบบ เพื่อให้ทราบกลไกการทำงานของยีนภายใต้สภาวะขาดน้ำและสภาวะเค็ม โดยสามารถนำยีนและข้อมูลยีนที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในกระ บวนการปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เพื่อเพิ่มศักยภาพในลักษณะการทนทานต่อสภาวะเครียด

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่และการทดสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรม

การทดลองที่ 3.1 การถ่ายยีน Flavonoid 3',5' hydroxylase (F3' 5'H) ที่โคลนได้จากอัญชันหรือพิทูเนียสีน้ำเงิน ซึ่งเป็นยีนที่โคลนได้และได้ผ่านการทดสอบการแสดงออกแล้วในยาสูบ เข้าสู่ดอกหน้าวัว

การทดลองที่ 3.2 การโคลนยีนและการถ่ายยีนควบคุมการเกิดสีม่วง-น้ำเงินสู่กุหลาบ

โคลนยีน DFR จากดอกอัญชันที่มีสีน้ำเงิน และโคลนยีน DFR จากดอกกุหลาบที่มีสีแดง เพื่อนำยีนทั้งสองไปสร้างเป็นชุดยีน ที่ประกอบด้วยยีน F3' 5'H ที่โคลนได้จากอัญชันสีน้ำเงิน โดยชุดยีนประกอบด้วย ชุดยีนที่มียีน DFR จากดอกกุหลาบที่ออกแบบให้มีการขัดขวางการทำงานของยีน DFR ในดอกกุหลาบพันธุ์ดั้งเดิมโดยใช้เทคนิค RNAi ควบคู่กับการเพิ่มการแสดงออกของยีน DFR จากดอกอัญชันสีน้ำเงิน และยีน F3’5’H จากดอกดอกอัญชันสีน้ำเงิน ในเวลาเดียวกัน จากนั้นนำชุดยีนที่เตรียมได้เข้าสู่ binary vector และนำ binary vector ที่มียีนเป้าหมาย มาฝากถ่ายเข้าสู่เชื้ออะโกรแบคทีเรียม เพื่อนำไปใช้ถ่ายเข้าสู่กุหลาบ

โครงการวิจัยที่ 2 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์พืช
The Use of Molecular Markers for Identification and Plant Breeding.

การทดลองที่ 1 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสยุคใหม่และการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอในทุเรียน

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเทคนิคการหาลำดับเบสยุคใหม่ เพื่อนำลำดับเบสที่ได้มาหาส่วนที่มีลำดับเบสซ้ำแบบเอสเอสอาร์ พร้อมทั้งออกแบบไพรเมอร์ให้ขนาบข้างส่วนของลำดับเบสที่เป็นเอสเอสอาร์ แล้วนำไปทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์กับทุเรียน พร้อมทั้งนำไพรเมอร์ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ไปทดสอบหาชนิดของไพรเมอร์ที่ให้รูปแบบการเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphism) กับทุเรียน

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบเพศอินทผลัมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพศอินทผาลัมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล โดยนำพันธุ์อินทผาลัมที่รวบรวมไว้ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ซึ่งได้คัดแยกต้นตัวผู้และตัวเมียเรียบร้อยแล้ว มาศึกษาหาเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างต้นตัวผู้และตัวเมีย แล้วนำไปพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพศของอินทผลัม

การทดลองที่ 3 การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวายโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSRs

ทำการศึกษาเพื่อคัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลอื่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่นแคทลียาที่สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชประกาศให้มีการจดทะเบียนและส่งออกได้ โดยรวบรวมตัวอย่างกล้วยไม้และการสกัดดีเอ็นเอ นำมาคัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากกล้วยไม้สกุลแวนดาที่เหมาะสมสำหรับแต่ละสกุลติดฉลากสีฟลูเรสซีนและการอ่านแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องอัตโนมัติ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกล้วยไม้แต่ละสกุลและการทำลายพิมพ์ดีเอ็น

การทดลองที่ 4 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์และสการ์ตรวจหาความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพด

ดำเนินการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ และสการ์ ที่มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด ร่วมทั้งเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ที่วางตัวอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนควบคุมความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ (ht1, ht2, ht3, และ htn1) นำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ทดสอบหาทราบรูปแบบการปรากฏของเครื่องหมายโมเลกุลในดีเอ็นเอของข้าวโพดที่ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่

การทดลองที่ 5 ศึกษาความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตรโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

ทำการศึกษาความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร ทั้งลักษณะทางสรีรวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมโดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุล รวบรวมและจัดเตรียมถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 18 พันธุ์ ทดสอบความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมของถั่วเหลืองระยะแรกงอก ประยุกต์จากวิธีของ Sayama et al. (2009) และ วิธีของ Rasaei et al. (2013)

โครงการวิจัยที่ 3 การผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

The Production of Renewable Energy from Biomass using Biotechnological Approach.

กิจกรรมงานวิจัยที่ 1 การโคลนยีน พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์เพื่อผลิตพลังงานทดแทน

การทดลอง 1.1 การโคลนยีนแลคเคสที่ควบคุมการย่อยสลายลิกนินทางชีวภาพโดยใช้เทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอ

ทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์แลคเคส จำแนกชนิดของเชื้อราโดยเทคนิคชีวโมเลกุล หาลำดับเบสในส่วนของบริเวณ ITS ต่อจากนั้นโคลนยีนแลคเคส ถ่ายเข้าสู่อีโคไล และศึกษาการแสดงออกของยีน

การทดลองที่ 1.2 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันและถ่ายเข้าสู่สาหร่าย

เพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย *Chlamydomonas reinhadtii* สกัดดีเอนเอ อาร์เอนเอ เพิ่มปริมาณยีน Stearoyl-ACP Desaturase (SAD) ต่อจากนั้นทำการโคลนยีน Stearoyl-ACP Desaturase (SAD) ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันเพื่อนำไปถ่ายยีนเข้าสาหร่ายโมเดลในลักษณะ Overexpression เพื่อผลิตไบโอดีเซล

การทดลองที่ 1.3 การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากเชื้อรา Aspergillus niger ด้วยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยกระบวนการหมักแบบแห้ง

ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสโดยกระบวนการหมักแบบแห้งด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* S068 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา A.niger ด้วยเทคนิค solid state fermentation ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์และความคงตัวของเอนไซม์

กิจกรรมงานวิจัยที่ 2. การผลิตไบโอเอทานอล

การทดลองที่ 2.1 การผลิตเอทานอลจากชานอ้อยและฟางข้าวในระดับชุมชน

ทำการศึกษาการย่อยฟางข้าวด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ โดยศึกษาผลของการปรับสภาพของฟางข้าว โดยใช้กรด /ด่าง ร่วมกับ เอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า (Aspergillus niger) ต่อจากนั้นศึกษาความสามารถของ Pichia pastoris X-33 และ Sacharomyces cerevisiae Sc90 ในกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้ไฮโดรไลเสทฟางข้าวเป็นสับสเตรท

การทดลองที่ 2.2 การผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลแบบครบวงจร

ทำการออกแบบเพื่อการทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาล ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อBacillus sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส เชื้อ Actinomyces sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และ เชื้อAspergillus niger จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเฮมิเซลลูโลส

กิจกรรมงานวิจัยที่ 3 การผลิตไบโอดีเซล

การทดลอง 3.1 การศึกษาการผลิตไบโอดีเซลที่มีจุดแข็งตัวต่ำโดยใช้ไลเปส

วิธีดำเนินการ โดยศึกษาการย่อยน้ำมันปาล์มและน้ำมันพืชต่างๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง โดยใช้ไลเปส ต่อจากนั้นศึกษาการแยกสกัดกรดไขมันประเภทต่างๆที่ได้จากการย่อยด้วยไลเปสโดยวิธีchromatography

โดยใช้สารเคมี ยูเรีย และ เมทธานอล ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลที่มีจุดเยือกแข็งต่ำโดยใช้กรดไขมันอัตราส่วนต่างๆ แยก fatty acid methyl ester ชนิดต่างๆที่มีจุดแข็งตัวที่อุณหภูมิสูง ออกจากส่วนผสมไบโอดีเซลโดยใช้ความเย็น(crystallization) ยูเรีย และทดลองใช้ไบโอดีเซลกับเครื่องยนต์

กิจกรรมงานวิจัยที่ 4 การพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทนจากพืชชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพในระดับชุมชน

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนสาหร่ายชีวมวลในระดับชุมชน

วิจัยและพัฒนาเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนสาหร่ายชีวมวลในระดับชุมชน โดยดำเนินการออกแบบและสร้างเครื่องมือต้นแบบสำหรับใช้ในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทนระดับชุมชน เปรียบเทียบกับวิธีการแยกตะกอนสาหร่ายด้วยวิธีปฏิบัติของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อเพาะเลี้ยงคอนกรีตเคลือบไฟเบอร์กลาส

การทดลองที่ 4.2 การพัฒนาเครื่องบดละเอียดแบบเปียกพืชชีวมวลสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล

พัฒนาเครื่องบดละเอียดแบบเปียกพืชชีวมวลสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล เป็นการออกแบบและสร้างเครื่องมือต้นแบบสำหรับผลิตเอทานอลให้เหมาะสมกับการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตพลังงานทดแทน

โครงการวิจัยที่ 4 การขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Plant Tissue Culture for Propagation and Crop Improvement

กิจกรรมที่ 1 การขยายพันธุ์พืชเชิงพาณิชย์ มี 3 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 1.1 การขยายพันธุ์ขมิ้นชัน (Curcuma longa Linn.) โดยเทคนิค Temporary Immersion Bioreactor

รวบรวมตัวอย่างขมิ้นชันตรัง 1(ขมิ้นทอง) และขมิ้นชันตรัง 2 (ขมิ้นด้วง) จาก พื้นที่ จ. นครศรีธรรมราช และ ศวส.ตรัง ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการพัฒนาของขมิ้นชันที่ระดับต่างๆ ทดสอบและศึกษาปัจจัยที่เหมาะในการขยายพันธุ์โดยเทคนิค Temporary Immersion Bioreactor

การทดลองที่ 1.2 การชักนำให้เกิดยอดรวมในอ้อย (Saccharum spp.) ที่ปลอดเชื้อไฟโตพลาสมา โดยใช้ชิ้นส่วนของใบอ่อน

วิธีการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดรวม (multiple shoot formation) จากชิ้นส่วนอ้อยปลอดเชื้อโรค phytoplasma พันธุ์ขอนแก่น 3 และ อู่ทอง 12 บนอาหารกึ่งแข็ง (semi solid media) ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ คือ ใบอ่อนจากยอดที่ยังไม่คลี่ (immature leaf roll) และชักนำให้เกิดยอดรวมในอาหารเหลวระบบ temporary immersion bioreactor (TIB)

การทดลองที่ 1.3 การขยายพันธุ์มันฝรั่งโดยใช้ระบบ Temporary Immersion Bioreactor

เป็นการศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ มันฝรั่งในสภาพปลอดเชื้อเชิงพาณิชย์ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันฝรั่งให้ได้ส่วนขยายพันธุ์ปลอดโรค พัฒนาหาสูตรอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการชัก

นำให้เกิด multiple shootsโดยใช้ระบบ Temporary Immersion Bioreacter เปรียบเทียบกับการชักนำให้เกิด multiple shoots ในอาหารเหลวรวมทั้งมีการปรับสภาพบางอย่างเช่นการชักนำให้เกิด micro tuber ก่อนลงปลูก เพื่อให้มีการพัฒนาความอยู่รอดในสภาพแปลงปลูกในเปอร์เซ็นต์ที่สูง

กิจกรรมที่ 2 ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจ มี 1 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาเทคนิคและปัจจัยเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

ศึกษาผลของปัจจัยภายนอกต่อการชักนำและพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 ได้แก่ชนิดของแสงต่อการชักนำการเกิดและการพัฒนาของแคลลัส ศึกษาความเข้มข้นของสาร Polyethylene glycol (PEG) และน้ำตาล Sorbitol เพื่อการกระตุ้นให้แคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 มีการพัฒนาเกิดยอด และการเลี้ยงในสภาพแสง 4 ชนิด คือ LED สีขาว, LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และ Grow lux ร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสม

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัย

โครงการวิจัยที่ 1 การศึกษา ค้นหายีน และพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่

เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ เป็นการใช้กระบวนการและเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ในการปรับปรุงสิ่งมีชีวิตให้ได้ลักษณะต้องการ มีประโยชน์ต่อการพัฒนาทางด้านการเกษตร สามารถช่วยพัฒนาพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลักษณะที่ดีตามที่ต้องการได้รวดเร็วขึ้น โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหายีน ตรวจสอบยีน ศึกษาหน้าที่ของยีน โคลนยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร ศึกษาการแสดงออกยีนในสิ่งมีชีวิตต้นแบบ และถ่ายยีนเข้าสู่พืช โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จากการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีเพื่อตรวจสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรมด้วยเทคนิคการแสดงโปรตีนบนผิวฟาจ ที่จำเพาะต่อโปรตีนไซโคลฟิน (CyP) และนีโอมายซินฟอสโฟทรานสเฟอเรสทู (NPT II) โดยใช้ชุดไพรเมอร์ดัดแปลงโคลนยีน VH และ VL จาก B-cell ของหนู พบว่า Phage-scFv library ที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพในการจับกับโปรตีน NPT II และ Cry1Ab ส่วนการตรวจสอบการกลายของยีน CpeIF4E และ CpRDR6 จากมะละกอที่มีขนาด 711 และ 3,588 คู่เบส สามารถถอดรหัสได้ 236 และ1,194 อะมิโนเอซิด ตามลำดับ พบยีน CpRDR6 ในตัวอย่าง HF39 ต้นที่ 1 มีลำดับอะมิโนเอซิดที่แตกต่างจากทุกตัวอย่างถึง 36 อะมิโน และพบความแตกต่างของอะมิโนแอซิดที่สัมพันธ์กับตัวอย่างที่ทนทานต่อไวรัส คือ ลำดับอะมิโน P (proline) ในตัวอย่างที่ทนทานแต่ไม่พบในตัวอย่างต้นที่อ่อนแอต่อไวรัสเลย โครงการวิจัยนี้ได้ทำการโคลนยีนจากหลายพืช โดยทำการโคลนยีน NAGS ที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในมะเขือเทศ 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เชอรี่ พันธุ์ท้อ และพันธุ์สีดา ได้ยีนขนาด 1,812 คู่เบส ถอดรหัสได้ 604 อะมิโนเอซิด เชื่อมต่อเข้ากับ pCAMBIA2300 มีขนาดประมาณ 11.5 กิโลเบส สำหรับการโคลนยีน GmPR1 ในถั่วเหลือง มีขนาด 525 คู่เบส และชิ้นส่วน promoter ของยีน Glyma04g05080 ที่มีการแสดงออกสูงในส่วนใบ ดอก และราก มีขนาด 1,000 คู่เบส การออกแบบและสังเคราะห์ยีน ERD15 ให้มีขนาดเท่ากับ 609 คู่เบส แล้วเชื่อมต่อกับเวคเตอร์ pRNAi-GG ได้ ihpRNAi+GG คอนส์ตรักส์ มีประสิทธิภาพการการถ่ายฝากยีน ERD15 เข้าสู่ต้นพืชยาสูบค่อนข้างต่ำเมื่อใช้อะโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 โดยต้นที่ได้รับการถ่ายยีนไม่สามารถเติบโตเป็นแคลลัสได้ การสังเคราะห์และการถ่ายยีน PIS ที่เชื่อมกับไบนารีเวคเตอร์ pCAMBIA2300 ยังไม่ได้ต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายฝากยีน ต้องมีการปรับสภาวะการทดลองเพื่อให้ได้ต้นยาสูบที่ประกอบด้วยยีน PIS ต่อไป การโคลนยีน CRT และ CaM ในข้าวโพด ได้ขนาดยีน 1,263 และ 450 คู่เบส สามารถถอดรหัสได้ 421 และ 150 อะมิโนเอซิด ตามลำดับ การถ่ายยีน F3' 5'H ที่โคลนได้จากอัญชันสีน้ำเงิน เข้าสู่หน้าวัวโดยใช้อะโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 สามารถนำไปถ่ายฝากเข้าสู่หน้าวัวพันธุ์โซเนตและพันธุ์ราปิโด ได้แคลลัสหน้าวัวหน้าที่ได้รับการถ่ายยีน และผ่านการตรวจสอบในอาหารคัดเลือกที่เติม hygromycin สำหรับนำไปเลี้ยงเพื่อให้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์และทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อไป และการโคลนยีน DFR จากดอกอัญชันสีน้ำเงินและกุหลาบสีแดง ได้ยีนขนาด

1,400 และ 1,050 คู่เบส ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลยีนและการโคลนยีนที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปสร้างชุดยีนใช้เป็นข้อมูลและแนวทางสำหรับการพัฒนาพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจ เพื่อเพิ่มศักยภาพการต้านทานโรคทนต่อสภาวะขาดน้ำ และเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรได้ต่อไปในอนาคต

โครงการวิจัยที่ 2 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์พืช

ทุเรียนเป็นหนึ่งในไม้ผลที่มีความสำคัญมากของประเทศไทย มีการปลูกแพร่หลายตามภาคต่าง ๆ ของประเทศทำให้เกิดความซ้ำซ้อนในการตั้งชื่อ และข้อมูลด้านเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้ตรวจสอบพันธุ์มีไม่เพียงพอ จึงได้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SSR ด้วยเทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับเบสยุคใหม่ (NGS) ผลจากการศึกษานี้สามารถหาลำดับเบสรวมได้ 25,909,606,800 เบส จากข้อมูลชิ้นลำดับเบส (raw read) จำนวน 30,107,9102 read จากการรวม raw read ให้เป็นชิ้นดีเอ็นเอที่ยาวขึ้น (contig) ได้ 424,882 contig เมื่อนำข้อมูลเหล่านี้ไปค้นหาเครื่องหมาย SSR พบว่าสามารถออกแบบไพรเมอร์ได้จำนวน 11,156 คู่ไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสซ้ำแบบซ้ำสองมีมากที่สุด 6,545 (58.67%) คู่ไพรเมอร์ รองลงมาคือลำดับเบสซ้ำสาม 2,295 (20.57%) คู่ไพรเมอร์ ลำดับเบสซ้ำหก 1,056 (9.47%) คู่ไพรเมอร์ ลำดับเบสซ้ำสี่ 781 (7.00%) คู่ไพรเมอร์ และลำดับเบสซ้ำห้า 479 (4.29%) คู่ไพรเมอร์ และได้คัดเลือกหาไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอแตกต่าง พบไพรเมอร์ SSR 17 คู่ ให้รูปแบบการเกิดแถบดีเอ็นเอที่เกิดความแตกต่างกันในทุเรียน 40 พันธุ์ พบรูปแบบอัลลีลที่แตกต่างกัน 73 อัลลีล โดยแต่ละไพรเมอร์ให้อัลลีลที่ต่างกันตั้งแต่ 2-8 อัลลีล ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่พัฒนาได้จากการทดลองนี้สามารถใช้แยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของทุเรียนที่เป็นพันธุ์เดียวกัน แต่ปลูกในพื้นที่ต่างกัน และแต่มีชื่อเรียกต่างกันได้ และใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของทุเรียน อีกทั้งยังประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์

การศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพศอินทผลัมในระยะต้นกล้าด้วยเครื่องหมายโมเลกุล จากการทดสอบไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ DpDOAF และ DpDOAR สามารถแยกเพศอินทผลัมได้ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยแสดงแถบดีเอ็นเอเฉพาะในต้นตัวผู้มีขนาด 450 เบส การทดสอบความแม่นยำของเครื่องหมายโมเลกุลกับต้นอินทผลัมที่ทราบเพศแล้ว จำนวน 169 ต้น พบผลการตรวจเพศไม่ตรงตามเพศจำนวน 8 ต้น คิดเป็นร้อยละ 4.7 มีความแม่นยำของเครื่องหมายโมเลกุลคิดเป็น 95.3 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของการพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพศอินทผลัมด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากการตีลูกเหล็ก พบมีความบริสุทธิ์เทียบเท่ากับการสกัดด้วยวิธี CTAB แต่รวดเร็วกว่า สำหรับการตรวจสอบเพศอินทผลัมด้วยเทคนิค High Resolution Melting (HRM) โดยใช้ไพรเมอร์ DpHRM พบว่าสามารถแยกเพศเมียออกจากเพศผู้ได้ และตรวจสอบตัวอย่างจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการตรวจเพศอินทผลัมในระดับต้นกล้า

การสุ่มนำไพรเมอร์ชนิด SSR ที่พัฒนาจากกล้วยไม้สกุลแวนด้าทั้งหมด จำนวน 70 คู่สาย มาทำ PCR กับตัวอย่างกล้วยไม้สายพันธุ์สกุลหวาย ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียงไพรเมอร์ 3 คู่สายที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างได้ คือ ไพรเมอร์ Vandbirdo_022 Vandbirdo_026 และ Vandbirdo_094 สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ขนาดแถบแบน จากไพรเมอร์ Vandbirdo_022 ประมาณ 240 คู่เบส เมื่อนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ติดสีฟลูออเรสเซนต์ที่จำเพาะ 3 ไพรเมอร์ กับดีเอ็นเอกล้วยไม้ 96 สายพันธุ์ หลังจากเพิ่ม

ปริมาณด้วยวิธี PCR แล้ว ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1% agarose gel electrophoresis พบว่าไพรเมอร์ Vandbirdo_026 สามารถเพิ่มปริมาณจำนวนดีเอ็นเอกับตัวอย่างสายพันธุ์กล้วยไม้ 74 ตัวอย่าง ขนาดแถบดีเอ็นเอประมาณ 280 คู่เบส และไพรเมอร์ Vandbirdo_094 สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอกับตัวอย่างสายพันธุ์กล้วยไม้ได้ 80 ตัวอย่าง ขนาดแถบดีเอ็นเอประมาณ 240 คู่เบส แต่เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้ยังไม่เพียงพอสำหรับการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายได้ จึงได้ปรับใช้เทคนิคอื่นได้แก่การคัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นสำหรับการอ่านข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค๊ด จากการรวบรวมตัวอย่างกล้วยไม้จากฟาร์มเกษตรกรที่นำพันธุ์พืชมาจดทะเบียนพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตร กล้วยไม้สกุลหวายพื้นเมืองที่เก็บรวบรวมไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จำนวน 30 สายพันธุ์ เพื่อนำมาทดสอบกับเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดบาร์โค๊ด โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอยีนต่าง ๆ จำนวน 4 ยีน ได้แก่ matK, ITS, trnH-psbA และ rbcl แล้วนำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติโดยบริษัทเอกชนและเปรียบเทียบข้อมูลกับฐานข้อมูล GenBank ได้ชื่อกล้วยไม้พร้อมทั้งสามารถจัดกลุ่มชนิดของกล้วยไม้หวายได้ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูล phylogenetic tree โดยใช้ ClustalWII Phylogeny ผลการวิเคราะห์พบว่า สามารถจำแนกชนิดของกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 30 สายพันธุ์ ด้วยไพรเมอร์ rbcl และmatK ซึ่งจะนำไปใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกล้วยไม้สกุลหวายชนิดต่าง ๆ ต่อไป

โรคใบไหม้แผลใหญ่ (Northern Corn Leaf Blight, NCLB) ที่เกิดจากเชื้อรา Exserohilum turcicum เป็นปัญหาสำคัญอย่างมากต่อการผลิตข้าวโพดในประเทศไทย ที่ทำความเสียหายให้กับข้าวโพด ส่งผลกระทบให้ผลผลิตลดลง 30-40 เปอร์เซ็นต์ โดยจะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อและระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพด การป้องกันความเสียหายจากโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่มีประสิทธิภาพและประหยัดมากที่สุดคือการใช้พันธุ์ต้านทานโรค การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์และสการ์ตรวจหาความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพด จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ 12 คู่ไพรเมอร์ตรวจหาความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในพันธุ์ข้าวโพดที่พันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอต่อโรค พบว่าไพรเมอร์ umc2037 bnlg1233 และ bnlg1607 ให้รูปแบบการเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอต่อโรคและข้าวโพดพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสการ์ SCA07496 SCA16420 SCB09464 และ SCE20429 ตรวจหาความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลสการ์ทั้ง 4 เครื่องหมายให้รูปแบบการเกิดแถบดีเอ็นเอไม่สัมพันธ์กับการต้านทานต่อโรคกับพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ได้ทำการศึกษา

การศึกษาความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตรทั้งลักษณะทางสรีรวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม จำนวน 20 พันธุ์ ประกอบด้วยถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร 18 พันธุ์ และถั่วเหลืองที่ใช้เป็นพันธุ์ควบคุม (control) 2 พันธุ์ ได้แก่ อุตสาหะ-เอ และ Williams ในส่วนของลักษณะทางสรีรวิทยาได้ทำการทดสอบความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมของถั่วเหลืองระยะแรกงอก และการทดสอบความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองระยะแรกงอกโดยใช้สาร Polyethylene glycol (PEG) แต่ละการทดลองวางแผนแบบ 2 x 20 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ จากนั้น

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้วิธี Analysis of variance พบว่า ถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์มีความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมแตกต่างกัน พันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมมากที่สุดใน 3 อันดับแรก ได้แก่ พันธุ์ศรีสำโรง 1 พันธุ์เชียงใหม่ 2 และพันธุ์สุโขทัย 1 พันธุ์ที่มีความอ่อนแอต่อสภาพน้ำท่วมมากที่สุดใน 3 อันดับแรก ได้แก่ พันธุ์เชียงใหม่ 1 พันธุ์เชียงใหม่ 5 และพันธุ์ สจ.4 สำหรับสภาพแห้งแล้ง พันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งมากที่สุดใน 3 อันดับแรก ได้แก่ พันธุ์ศรีสำโรง 1 พันธุ์เชียงใหม่ 2 และพันธุ์สุโขทัย 1 พันธุ์ที่มีความอ่อนแอต่อสภาพแห้งแล้งมากที่สุดใน 3 อันดับแรก ได้แก่ พันธุ์เชียงใหม่ 1 พันธุ์เชียงใหม่ 84-2 และพันธุ์เชียงใหม่ 6 เมื่อคำนวณหาค่าความสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งกับความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมของถั่วเหลืองระยะแรกงอกในแต่ละพันธุ์ พบว่า มีความสัมพันธ์(Correlation) เชิงบวกระหว่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลจากงานวิจัยนี้ทำให้ทราบว่าถั่วเหลืองพันธุ์รับรองพันธุ์ใดเหมาะสมต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งที่เกิดขึ้นในช่วงปลูกถั่วเหลืองรวมถึงระยะแรกงอก สามารถนำไปเผยแพร่แก่เกษตรกรให้ปลูกในพื้นที่ที่ประสบปัญหาดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตาม การต่อยอดงานวิจัยนี้โดยการศึกษาสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตรด้วยเครื่องหมายโมเลกุลและยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมหรือสภาพแห้งแล้ง คาดว่าจะเป็นประโยชน์ในการทำความเข้าใจเกี่ยวกับระบบความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองในระดับยีน รวมถึงสามารถนำเครื่องหมายโมเลกุลและยีนที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งไปใช้ในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองในอนาคต

โครงการวิจัยที่ 3 การผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

โครงการวิจัยการผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพได้แบ่งการทดลองเป็น 4 กิจกรรม มี 8 การทดลอง เริ่มดำเนินการในปี 2559 และจะสิ้นสุดในปี 2564 แต่แผนงานวิจัยนี้ไม่ได้รับการสนับสนุนต่อ จึงปิดโครงการเมื่อทำการวิจัยได้เพียง 2 ปี ทำให้ไม่สามารถบรรลุวัตถุประสงค์ทั้งหมดได้ แต่อย่างไรก็ตาม ได้รวบรวมผลการวิจัยที่ดำเนินการวิจัยทั้งหมด 2 ปี ในกิจกรรมที่ 1 มีการวิจัย 3 เรื่องได้แก่ การโคลนยีนแลคเคสที่ควบคุมการย่อยสลายลิกนินทางชีวภาพโดยใช้เทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอ สามารถโคลนยีนและทดสอบการผลิตโปรตีนได้ในเบื้องต้น การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันและถ่ายเข้าสู่สาหร่าย Chlamydomonas reinhardtii สามารถโคลนได้ยีน ยีน C. reinhardtii plastid acyl-ACP desaturase (FAB2) และการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากเชื้อรา Aspergillus niger S068 ด้วยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยกระบวนการหมักแบบแห้งพบว่า ฟางข้าว เป็นสับเสตรทที่ดีที่สุด อุณหภูมิ 30 °C มีกิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุด และการเก็บรักษาเอนไซม์ด้วยวิธีเก็บแบบเยือกแข็งแบบแห้งสามารถรักษาประสิทธิภาพเอนไซม์ได้ดีที่สุด ส่วนกิจกรรมที่ 2 มีการวิจัย 2 เรื่องได้แก่ การผลิตเอทานอลจากชานอ้อยและฟางข้าวในระดับชุมชน เมื่อศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้ไฮโดรไลเสทฟางข้าวเป็นสับสเตรท พบว่า การปรับสภาพด้วยกรดไฮโดรคลอริครวมกับเอนไซม์ เซลลูเลสได้ผลดีที่สุด และการผลิตไบโอเอทานอลจากพืชชีวมวลแบบครบวงจร โดยนำหญ้าเนเปียปากช่อง 1 มาการทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (hydrolysis) ให้กลายเป็นน้ำตาล ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้จากสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อBacillus sp. จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส เชื้อ Actinomyces sp. จุลินทรีย์ที่มี

ศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และ เชื้อAspergillus niger จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยเฮมิเซลลูโลส เมื่อนำมาทดสอบการผลิตพบว่าเชื้อ Actinomyces sp. เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเซลลูเลสเอนไซม์ ที่ดีที่สุด ส่วนกิจกรรมที่ 3ทำการวิจัยการผลิตไบโอดีเซลคือ การศึกษาการผลิตไบโอดีเซลที่มีจุดแข็งตัวต่ำโดยใช้ไลเปส สามารถผลิตไลเปสในถังหมัก โดยไลเปสที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพในการย่อยน้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันสบู่ดำ และน้ำมันรำข้าวอย่างสมบูรณ์ น้ำมันที่ได้ใสสะอาด ตกตะกอนน้อยมากเมื่อทิ้งไว้นานๆ และเมื่อนำไปผลิตไบโอดีเซล ได้เป็นไบโอดีเซลทั้งหมด สามารถปรับปรุงคุณภาพไบโอดีเซลดีกว่าเดิมได้มาตรฐานไบโอดีเซลบี 100 ตามมาตรฐานสากล และกิจกรรมที่ 4 เป็นการพัฒนาเครื่องจักรกลในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทนจากพืชชีวมวล ซึ่งประกอบด้วย 2 การทดลองคือ การพัฒนาเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนสาหร่ายชีวมวลในระดับชุมชน ดำเนินการออกแบบและสร้างเครื่องมือต้นแบบสำหรับใช้ในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทนระดับชุมชน เปรียบเทียบ กับวิธีการแยกตะกอนสาหร่ายด้วยวิธีปฏิบัติของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อเพาะเลี้ยง คอนกรีตเคลือบไฟเบอร์กลาส พบวิธีที่มีประสิทธิภาพสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้สูงที่สุด และการพัฒนาเครื่องบดละเอียดแบบเปียกพืชชีวมวลสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล ดำเนินการทดสอบการแปรสภาพของวัสดุหญ้าเนเปียร์โดยใช้เครื่องหั่นย่อยแบบสองใบมีดที่พัฒนาขึ้น ผลการทดสอบเบื้องต้นการใช้เครื่องหั่นย่อยแปรสภาพวัสดุชีวมวลหญ้าเนเปียร์ได้ละเอียดขนาดอยู่ในช่วง 2.58–4.76 มม.

โครงการวิจัยที่ 4 การขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์พืชปลอดโรคเชิงพาณิชย์จำนวน 3 ชนิด ประกอบด้วย ขมิ้นชัน, อ้อย และมันฝรั่ง จากการศึกษาผลของไซโตไคนิน 4 ชนิด ประกอบด้วย BA, kinetin, 2-ip และ TDZ ต่อการชักนำยอดขมิ้นชันพันธุ์ตรัง 1 และตรัง 2 พบว่า การใช้ไซโตไคนินทั้ง 4 ชนิดสามารถชักนำให้เกิดยอดของขมิ้นชันทั้ง 2 พันธุ์ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยพันธุ์ขมิ้นชันตรัง1 การใช้ kinetin ความเข้มข้น 2 mg/l จะทำให้เกิดต้นยอดใหม่จำนวนเฉลี่ยสูงสุด 5.2 ยอด และขมิ้นชันพันธุ์ตรัง 2 พบว่า การใช้สาร TDZ ความเข้มข้น 1 mg/l ทำให้เกิดค่าเฉลี่ยยอดใหม่สูงสุด 8.4 ยอด และเมื่อศึกษาปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการพัฒนาเหง้าของขมิ้นชันทั้ง 2 พันธุ์ พบว่าบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 mg/l ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 และ 60 g/l จะมีการสร้างเหง้าที่เห็นได้ชัดเจน สำหรับการชักนำให้เกิดยอดรวม (multiple shoot formation) ในอ้อยที่ปลอดเชื้อไฟโตพลาสมา โดยใช้ส่วนใบอ่อนจากยอดที่ยังไม่คลี่สามารถทำได้บนอาหารกึ่งแข็งในระบบ temporary immersion bioreactor (TIB) สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดยอดรวมสูงสุด ได้แก่สูตรอาหารที่ประกอบด้วย อาหาร MS ที่เติม 3-6 μM benzyladenine (BA) และ 2 μM naphthalene acetic acid (NAA) ได้ 47.5-51.6 ยอดอ่อน/ชิ้นส่วนพืช ภายในระยะเวลา 2 เดือน สำหรับการใช้ระบบ TIB สูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดสูงสุด คือ อาหาร MS ที่เติม 3-6 μM BA and 2 μM NAA ได้ 22.1-16.2 ยอดอ่อน/ชิ้นส่วนพืช ภายในระยะเวลา 1 เดือน ซึ่งระบบ TIB สามารถชักนำให้เกิดยอดรวมได้เร็วกว่าและยอดอ่อนมีขนาดใหญ่กว่าการใช้อาหารกึ่งแข็ง ยอดอ่อนที่ได้สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีบนอาหารสูตร ½MS+4-8 μM indole-3-butyric acid (IBA) ต้นอ่อนที่มีรากที่สมบูรณ์สามารถย้ายปลูกลงในเวอร์มิคูไลท์เพื่อปรับสภาพและปลูกในโรงเรือนระบบปิด โดยมีอัตราการอยู่รอดสูงกว่า 80% การขยายพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค ให้ได้ส่วนขยายพันธุ์ปลอดโรค พัฒนาหาสูตรอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมใน

การชักนำให้เกิด micro shoot โดยใช้ระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) เพื่อผลิตส่วนขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ปลอดโรคในเชิงพาณิชย์ ใช้ apical meristem ขนาด 0.1 - 0.2 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ร่วมกับ BA 5 µM สามารถชักนำให้มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ยอด ในพันธุ์แอตแลนติก 36 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์สปุนตา 24 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ PVY ด้วยวิธีเซรุ่มวิทยา พบการปลอดโรค 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดรวมในระบบ TIB เทียบกับการเลี้ยงในอาหารเหลวมันฝรั่งแอตแลนติกและสปุนตา สามารถเพิ่มปริมาณยอดรวมได้สูง 5.2 ยอด และ4.2 ยอด ต่อ 1ชิ้นส่วนพืชตามลำดับ และมีความสูงของยอดในเกณฑ์ปกติ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่มี GA3 0.1 mg/l และ NAA 0.1 mg/L ส่วนในระบบ TIB สามารถให้ปริมาณยอดรวมสูงสุด 4.8 ยอดและ 3.6 ยอด ตามลำดับในอาหารสูตรเดียวกัน โดยให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เมื่อศึกษาผลของ BA และน้ำตาลซูโครสต่อการเกิด micro tubers ในอาหารเหลว พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 40 µM และน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ 6 -8 เปอร์เซ็นต์ Chlorocholine chloride (CCC) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด micro tubers ได้มากที่สุดในพันธุ์แอตแลนติก ส่วนพันธุ์สปุนต้า อาหารเหลว MS ที่เติม BA 20 µM และน้ำตาลซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิด micro tubers ได้ดีที่สุด

การศึกษาผลของปัจจัยภายนอกต่อการชักนำและพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 โดยใช้สภาพแสง 4 ชนิด คือ LED สีขาว, LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และ Grow lux พบว่า ปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด ในสภาพแสง LED สีขาว การพัฒนา embryogenesis callus พบได้ดีในสภาพแสงชนิด Grow lux สำหรับปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด ในสภาพแสง Grow lux และมีการพัฒนาของแคลลัสได้ดีในสภาพแสง LED สีแดง การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนในสภาพที่มืดจะทำให้เกิดแคลลัสได้จากสูตรอาหาร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 2.5 เดือน และสูตรอาหาร MS ร่วมกับ picloram ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 6 เดือน ทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะกลมมีสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้นที่บริเวณขอบใบ

ข้อเสนอแนะและการนำไปใช้ประโยชน์

1. การศึกษา ค้นหายีน และพัฒนาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ การสร้าง Phage-scFv library ที่จำเพาะต่อแอนติเจนชนิดใหม่ๆ ใช้แอนติบอดีมีความรวดเร็วขึ้น และสามารถนำข้อมูลยีนต่างๆที่ได้จากการศึกษา พัฒนาต่อ เพื่อประโยชน์ด้านการพัฒนาพันธุ์พืช

2. เครื่องหมายโมเลกุลต่างๆ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาพันธุ์ เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เช่น SSR ของทุเรียนที่ เครื่องหมายโมเลกุล umc2037 bnlg1233 และ bnlg1607 ใช้ตรวจสอบกับข้าวโพดพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ นำวิธีการตรวจสอบเพศอินทผลัมในระยะต้นกล้าโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ไปใช้ตรวจต้นกล้าอินทผลัมในประเทศไทย ให้รวดเร็วยิ่งขึ้น เพื่อแยกเพศเมียออกจากเพศผู้ และตรวจสอบตัวอย่างจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการตรวจเพศอินทผลัมในระดับต้นกล้า

3 . สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์และต่อยอดงานวิจัยด้านต่างๆ เช่น

- การผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตพลังงานจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลส การกำจัดสีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมทอผ้า ฟอกย้อม เยื่อกระดาษ การย่อยสลายของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชพวก Isoxaflutole เป็นต้น สามารถนำกรรมวิธีการผลิตไปเผยแพร่ใช้กับกลุ่มเกษตรกร และผู้สนใจ เพราะเป็นกรรมวิธีที่ง่าย ประหยัด

- เทคนิคการขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจ คือ ปาล์มน้ำมัน พบว่า ปัจจัยภายนอกคือการเลือกชนิดแสง แนะนำการใช้แสง LED สีขาวเพื่อการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 เนื่องจากมีราคาถูกและหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาด

4. ได้พันธุ์พืชที่ปลอดโรค เช่นอ้อย ปลอดเชื้อไฟโตพลาสมา หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค PVY ขนาดเล็ก (micro tubers) สำหรับนำไปขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต่อได้ในปริมาณมาก

บรรณานุกรม

Rasaei, B., M.E. Ghobadi, M. Khas-Amiri and M. Ghobadi. 2013. Effect of osmotic potential on germination and seedling characteristic of soybean seeds. Intl J Agri Crop Sci. 5: 1265-1268.

Sayama, T., T. Nakazaki, G. Ishikawa, K. Yagasaki, N. Yamada, N. Hirota, K. Hirota, T. Yoshigawa, H. Saito, M. Teraishi, Y. Okumoto, T. Tsukiyama and T. Tanisaka. 2009. QTL analysis of seed-flooding tolerance in soybean (Glycine max [L.] Merr.). Plant Science. 176: 514–521.