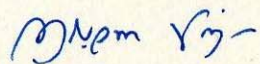




สภาวิจัยแห่งชาติ  
มอบประกาศนียบัตรนี้ เพื่อประกาศเกียรติคุณ  
รองศาสตราจารย์ ดร.พัฒนา ศรีฟ้า อุนเนอ์  
ในฐานะที่ได้รับรางวัลผลงานประดิษฐ์คิดค้น ประจำปี ๒๕๕๓  
รางวัลระดับดี

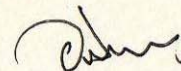
เรื่อง “กล้อยไม้หอยด้านทานไธรัส”

ให้ไว้ ณ วันที่ ๒ กุมภาพันธ์ พุทธศักราช ๒๕๕๓



(นางกาญจนา ปานช้อยงาม)

รองเลขาธิการคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ รักษาราชการแทน  
เลขาธิการคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



(นายอภิสิทธิ์ เวชชาชีวะ)

นายกรัฐมนตรี  
ประธานสภาวิจัยแห่งชาติ

## 1. ได้รับรางวัลชนะเลิศ ระดับดี ผลงานประดิษฐ์คิดค้นประจำปี 2553

(เงินรางวัล 150,000 บาท)

### ชื่อผลงานวิจัย กล้วยไม้หวายต้านทานไวรัสยอดบิด

สาขา สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา

หน่วยงาน สำนักงานคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ

ผู้ร่วมวิจัย พัฒนา ศรีฟ้า สุรนเนอร์ กฤษณา พิณีจ อัญชลี ชูพร้อม และ อุดมพร เพ็ชรไทย

ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

โทรศัพท์ 02-5625555 ต่อ 4203

## 2. เป็นผลงานใหม่และโดดเด่น

การสร้างพันธุ์กล้วยไม้หวายไซเนียเอียสกุลให้มีคุณลักษณะต้านทานไวรัสยอดบิด โดยการทำลายอาร์เอ็นเอจีโนมของไวรัสในส่วนยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนหุ้มอนุภาคไวรัส (CyMV-CP) ที่เข้าทำลายอยู่ในกล้วยไม้ ด้วยการถ่ายยีน CyMV-CP ที่ออกแบบพิเศษให้มียีนสองโมเลกุลอยู่คู่กัน และกำหนดให้เกิดการแสดงออกของยีนแบบ over-expression เพื่อเข้าขบวนการ RNAi ในการปกป้องตัวเองของกล้วยไม้ ผลการถ่ายยีน CyMV-CP โดยการยิงอนุภาคเข้ากล้วยไม้หวายไซเนียเอียสกุลที่เป็นโรคไวรัสยอดบิด พบว่าไวรัสในกล้วยไม้แปลงพันธุ์ที่ผลิตได้มีปริมาณไวรัสและการแพร่ของไวรัสไปยังเนื้อเยื่อเจริญของกล้วยไม้ลดลงเรื่อยๆ จนตรวจไม่พบไวรัสยอดบิดทั้งในระดับ กรดนิวคลีอิก โปรตีน และอนุภาคไวรัสในที่สุด แม้ในกล้วยไม้แปลงพันธุ์ที่นำไปขยายด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และด้วยวิธีการคัดเลือกกล้วยไม้แปลงพันธุ์อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้มีเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้รับยีนโปรตีนหุ้มอนุภาคของไวรัสได้ทั่วทั้งต้น จึงเปรียบเสมือนการสร้างภูมิคุ้มกันโรคไวรัสให้กับกล้วยไม้ หลักการผลิตกล้วยไม้ต้านทานไวรัสที่คิดค้นได้ก่อนให้เกิดประโยชน์ต่อกล้วยไม้ในทุกสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคทั้งที่เป็นพ่อแม่พันธุ์และการผลิตเพื่อการค้าในอนาคต

### 3. ผลงานมีผลกระทบทางบวกต่อเศรษฐกิจ และความเป็นอยู่ของประชากรไทย

กล้วยไม้ตัดดอกของประเทศไทยเป็นพืชส่งออกอันดับหนึ่งของโลก ซึ่งมูลค่าการค้ากล้วยไม้ของโลกปี 2550 สูงกว่า 5,337 ล้านบาท (PR new network, 2551) ปัญหาด้านโรคมีรายงาน ไวรัscopyอดบิต Cymbidium mosaic virus (CyMV) ที่พบเข้าทำลายและแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับกล้วยไม้หลายชนิดที่ปลูกเป็นการค้า ในสภาวะที่พืชอ่อนแอกล้วยไม้จะแสดงอาการของโรคอย่างรุนแรง การควบคุมโรคที่เกิดจากไวรัสในกล้วยไม้มีข้อจำกัด เนื่องจากเชื้อไวรัส CyMV อาศัยอยู่ทุกส่วนของเนื้อเยื่อพืชรวมถึงปลายยอดสุดที่เซลล์กำลังแบ่งตัว ดังนั้นเราจึงมักตรวจพบเชื้อ CyMV กับกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การรักษาโรคไวรัสของกล้วยไม้ในปัจจุบัน คือ การทำลายต้นที่เป็นโรค และ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเมล็ด แต่ลักษณะทางพันธุกรรมของกล้วยไม้อาจแปรปรวนได้

### 4. ผลงานมีผลกระทบทางบวกต่อวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่นำไปสู่การคิดค้น และการพัฒนาที่สำคัญต่อไป

#### 4.1 การออกแบบโครงสร้างยีน CyMV-CP ในพลาสมิด

งานวิจัยในช่วงแรกได้ออกแบบโครงสร้างของยีนโปรตีนหุ้มอนุภาค ให้มีทิศทางการแสดงออกของยีนแบบ sense เพียง 1 โมเลกุล บนพลาสมิดชื่อ pCB2 เมื่อนำไปถ่ายยีนพบว่าไม่สามารถยับยั้งไวรัสที่มีอยู่ในกล้วยไม้ได้ ต่อมาโครงสร้างของยีนโปรตีนหุ้มอนุภาคถูกออกแบบเป็น 2 โมเลกุล ต่อกันในพลาสมิดชื่อ pCB199 พบว่าโครงสร้างของยีนแบบนี้ยับยั้งไวรัscopyอดบิตที่มีอยู่ในกล้วยไม้จำนวนมากได้

#### 4.2 ประสิทธิภาพการถ่ายยีนเข้ากล้วยไม้

พัฒนา และ คณะ ได้ศึกษาวิจัยระบบการถ่ายยีนโดยอะโกรแบคทีเรีย และ การถ่ายยีนโดยการยิงอนุภาคในกล้วยไม้และการคัดเลือกอย่างมีประสิทธิภาพ (Suwanna-ketchanatit *et al.*, 2006) ดังนั้น ผลการถ่ายยีนจึงมีประสิทธิภาพสูง และกล้วยไม้ดัดแปลงพันธุ้ประกอบด้วยทุกส่วนพืชได้รับยีน ทำให้การยับยั้งไวรัสเกิดได้ทุกส่วนของพืช แม้ในบริเวณที่มีการแบ่งตัวของเซลล์

#### 4.3 ยีนโปรตีนหุ้มอนุภาคไวรัสสาเหตุโรคของประเทศไทย

ผู้ประดิษฐ์ได้ศึกษาวิเคราะห์และโคลนยีนไวรัscopyอดบิตของประเทศไทยที่พบแพร่ระบาดในกล้วยไม้ทุกสายพันธุ์ ดังข้อมูลใน GenBank คือ ไวรัสของกล้วยไม้อนชิเดียม (assession # AY376393) กล้วยไม้มอคารา (AY376392) และ กล้วยไม้แคทลียา (AY376391) ยีนที่ใช้จึงมี

ประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการทำงานของยีนของไวรัสที่เข้าทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย  
(Srifah *et al.*, 1996; Arayaskul *et al.*, 2002)

#### 4.4 วิธีการตรวจสอบไวรัสยอดบิตในกล้วยไม้ที่ผ่านการคัดเลือก

กล้วยไม้หวายไซเนียเซียสกุลตัดแปลงพันธุกรรมที่ผ่านการคัดเลือกนาน 9 เดือน ตรวจพบกล้วยไม้ 2 โคลน ยับยั้งการสร้าง mRNA ของยีน *CyMV-CP* ได้ในระดับหนึ่งเมื่อตรวจด้วย RT-PCR เมื่อตัดแยกขยายกล้วยไม้โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อจนมีอายุ 17 เดือน ตรวจไม่พบไวรัสยอดบิตทั้งในระดับกรดนิวคลีอิก ระดับโปรตีนเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี ELISA (Enzyme linked immunosorbant assay) และตรวจไม่พบอนุภาคไวรัสด้วยวิธี IEM (Immuno Electron microscopy) ที่ใช้ Antiserum ของไวรัสยอดบิต

#### 4.5 ผลงานตีพิมพ์

- Srifah, P., S. Lopprasert and N. Rungroj. 1996. Use of reverse transcription–polymerase chain reaction for cloning of coat protein–encoding genes of cymbidium mosaic virus. *Gene* 179 (1): 105-107.
- Arayaskul, N, P. *Srifah* and C. Piluek. 2002. Detection of potexvirus and tobamovirus causing diseases reaction for cloning of coat protein – encoding genes of cymbidium mosaic virus. *Gene*. 179: 105-107. in orchids. *Agriculture Sci. J.* 33(4-5): 173-186.
- Suwanaketchanatit, C., Chaisuk, P., Piluek, C., Piyachokanakul, S. and *Huehne, P. Srifah*. 2006. Evaluation of constitutive promoters for gene expression in *Dendrobium* Protocorms and Flowers. *Kasetsart J.(Nat. Sci.)* 40(4): 1-10
- Suwanaketchanatit, C., P., Piluek, C., Piyachokanakul, S. and *Huehne, P. Srifah*. 2006. High efficiency of stable genetic transformation in *Dendrobium* orchid via microprojectile bombardment. *Biologia Plantarum* 51(4):720-727.
- Chuphrom, Anchalee, Lertluk Ngernsiri, Kisana Bhinija and *Pattana Srifah Huehne*. 2007. Transformation of RNAi gene construction of Cymbidium mosaic virus coat protein gene

into *Dendrobium* orchid. The Proceeding of 46<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference, held on 29 January-1 February, 2007 Bangkok, Thailand. Pp 135-144.

4.6 จัดประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง เทคโนโลยีการถ่ายยีนในพืชอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ 7-9 เมษายน 2552 ณ อาคารปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีผู้เข้าร่วมประชุมรวม 81 คน

4.7 ผลิตินิสิตและผลงาน ได้แก่ นิสิตปริญญาเอก 1 คน คือ ชิดชนก สุวรรณชนาพิต

นิสิตปริญญาโท 3 คน คือ นัญวรรณ รุ่งโรจน์ นฎา อารยะสกุล และ อัญชลี ชูพร้อม

นิสิตปริญญาตรี 2 คน คือ ปราภนา ตปนิย์ และ ศิริวรรณ บุญมา

## 5. เป็นการปรับปรุงเทคโนโลยีใหญ่ที่ทำให้ประเทศไทยมีความได้เปรียบในการแข่งขันในเวทีอุตสาหกรรม

5.1 กล้วยไม้จัดเป็นพืชใน product champion ของประเทศไทย การผลิตกล้วยไม้ด้านทานไวรัสยอดบิตในครั้งนี้จะช่วยเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้นโดยเฉพาะกล้วยไม้มีอายุมากกว่า 3 ปี และมีผลดีต่อการส่งต้นกล้วยไม้ไปยังตลาดต่างประเทศ

5.2 การผลิตกล้วยไม้ปลอดโรคโดยยังคงลักษณะที่ดีของสายพันธุ์เดิมได้

5.3 ผลิตกล้วยไม้พันธุ์อื่นให้ด้านทานไวรัสยอดบิต โดยเฉพาะกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส และ ออนซิเดียม และใช้เป็นแนวทางศึกษาวิจัยกับไวรัสชนิดอื่น

5.4 ปกป้องการจดสิทธิบัตรของต่างประเทศ

