บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จำพวกหญ้าอยู่ในสกุล (genus) *Saccharum* ชอบอากาศร้อน แสงแดดจัด และชุ่มชื้น ซึ่งมีประเทศที่ปลูกอ้อยทั่วโลกมากกว่า 60 ประเทศ บริเวณที่ปลูกอ้อยอยู่ระหว่างเส้นรุ้งที่ 35 อาศาเหนือและใต้ สำหรับประเทศไทยปลูกได้ทั่วไป ยกเว้นภาคใต้ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศไม่เอื้ออำนวย อ้อยจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดชนิดหนึ่ง โดยผลผลิตอ้อยทั่วโลกถูกส่งเข้าอุตสาหกรรมน้ำตาลมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้อ้อยยังเป็นที่สนใจในการใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล ซึ่งสามารถใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน (เรียก แก๊สโซฮอลล์) หรือผสมกับน้ำมันดีเซล (เรียก ดีโซฮอลล์) ได้ โดยในปี พ.ศ 2550 - 2551 ปริมาณการผลิตและการใช้เอทานอลจะเติบโตขึ้นประมาณ 27% ปริมาณการผลิตเพิ่มขึ้นจาก 13.1 พันล้านลิตร เป็น 62.8 พันล้านลิตร (วารสารอ้อยและน้ำตาล, 2551) นอกจากผลิตภัณฑ์น้ำตาลและผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล ยังก่อให้เกิดอุตสาหกรรมต่อเนื่องอีกมากมาย อาทิ อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมยา แอลกอฮอล์ อาหารสัตว์ และปุ๋ย

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ปลูกอ้อยอันดับที่ 4 ของโลก ในปี พ.ศ 2551 - 2552 ไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อยทั้งสิ้นประมาณ 6.2 ล้านไร่ ได้ผลผลิตทั้งสิ้น 78 ล้านต้น และมีผลผลิตเฉลี่ย 12.58 ตันต่อไร่ โดยส่วนใหญ่มีพื้นที่ปลูกอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลผลิตอ้อยต่อไร่ประมาณ 12.2 ตันต่อไร่ ซึ่งมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับกับภาคอื่นๆ ที่มีปริมาณพื้นที่เพาะปลูกน้อยกว่า เช่นภาคเหนือซึ่งมีพื้นที่เพาะปลูกประมาณ 1 ล้านไร่แต่ได้ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 13.33 ตัน ทั้งนี้ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งในการผลิตก็คือ การระบาดของโรคและแมลงศัตรูอ้อย ซึ่งเป็นปัจจัยที่จำกัดระดับผลผลิตและคุณภาพของอ้อยในแต่ละปีและก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรง ปัจจุบันพันธุ์อ้อยที่เกษตรกรในเขตส่งเสริมการปลูกอ้อยของแต่ละโรงงานใช้ปลูกส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ได้รับการผสมและคัดเลือกขึ้นใช้เองภายในประเทศจากหน่วยงานต่างๆ เช่น จากสำนักงาน คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย ได้แก่พันธุ์ K84-200 K88-92 K92-80 LK92-11 และ K94-84 โดยเฉพาะพันธุ์ K92-80 แม้ว่าจะโตเร็ว แตกกอดี และผลผลิตสูง แต่ก็อ่อนแอต่อโรคใบจุดเหลือง ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์อ้อยเพื่อให้สามารถต้านทานต่อโรคเหล่านี้ได้จึงจำเป็นต่อการศึกษา เพื่อแก้ปัญหาให้กับเกษตรกรโดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม เป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาเนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าแบบดั้งเดิม เพราะแบบดั้งต้องอาศัยการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่

มีลักษณะดี และมีความเป็นพันธุ์แท้ (homologus) นำมาผสมในหลายรุ่นเพื่อให้ได้ลูกที่มีลักษณะที่ต้องการ แต่การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมเป็นการปรับปรุงยีนหรือกลุ่มยีนเพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ โดยการตัดต่อและส่งถ่ายยีนที่ต้องการนั้นเข้าสู่พืช งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการปรับปรุงพันธุ์อ้อยโดยใช้ *A. tumefaciens* ในการส่งถ่ายยีน *Chitinase* เข้าสู่อ้อย เพื่อให้สามารถสร้างอ้อยแปลงพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคและแมลง ซึ่งวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่ง่าย มีประสิทธิภาพ และใช้เวลาไม่นาน

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการส่งถ่ายยีน *Chitinase* สู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 โดยใช้ *A. tumefaciens*

3. ขอบเขตของการวิจัย

3.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และK 92-80 ในสภาพปลอดเชื้อ

3.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการเจริญของแคลลัสของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และK 92-80

3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการส่งถ่ายยีนโดย *A. tumefaciens* ซึ่งมียีน *Chitinase* มี *gus* gene เป็นยีนรายงานผล และ *hpt* gene เป็นยีนเครื่องหมาย สู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

3.4 ตรวจสอบผลการส่งถ่ายยีน *Chitinase* โดยวิธี GUS assay และตรวจสอบการสอดแทรกของดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

4.2 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็นต้นของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

4.3 ทราบความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

4.4 ทราบข้อมูลพื้นฐานในการส่งถ่ายยีนสู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และK 92-80 เพื่อประโยชน์ในการส่งถ่ายยีนที่สนใจต่อไปในอนาคต