

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย เกษตรกรผลิตอ้อยได้ปีละประมาณ 60 ล้านตัน อ้อยส่วนใหญ่ใช้ในการผลิตน้ำตาลทราย เพื่อใช้บริโภคภายในประเทศ และส่งขายในตลาดโลก ในปี 2545 ไทยส่งออกน้ำตาลทราย 4.02 ล้านตัน มูลค่า 29,182 ล้านบาท ใช้บริโภคภายในประเทศ 1.85 ล้านตัน (กระทรวงธุรกิจ, 2546) อ้อยเป็นพืชที่ให้น้ำตาลต่อไร่ต่อปีสูงที่สุด เนื่องจากอ้อยเป็นพืชที่มีความสามารถพิเศษในการใช้แสงแดด น้ำ และอากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยกำลังเผชิญกับราคาน้ำมันเชื้อเพลิงมีราคาแพง ปริมาณความต้องการใช้น้ำมันของประเทศไทยมีประมาณวันละ 115 ล้านลิตร ในขณะที่น้ำมันดิบที่ผลิตได้ในประเทศมีเพียงวันละ 4 ล้านลิตร ทำให้ต้องมีการนำเข้าน้ำมันดิบและน้ำมันสำเร็จรูป จากต่างประเทศรวมวันละ 111 ล้านลิตร หรือประมาณร้อยละ 97 ของการใช้น้ำมันในประเทศ และในอนาคตความต้องการใช้น้ำมันจะเพิ่มสูงขึ้นอีก แต่การค้นพบแหล่งน้ำมันดิบในประเทศไม่เพิ่มขึ้น (สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ, 2543) ดังนั้นอ้อยควรได้รับความสนใจเป็นพิเศษ เนื่องจากอาจใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งสามารถใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน (เรียก แก๊สโซฮอล์) หรือผสมกับน้ำมันดีเซล (เรียก ดีโซฮอล์) ได้ ส่วนกากอ้อยที่เป็นผลพลอยได้จากการหีบน้ำตาลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตกระแสไฟฟ้าราคาถูกลงได้เป็นอย่างดี ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาประเทศไทยจึงมีการเพิ่มปริมาณการเพาะปลูกมากขึ้นกว่าเท่าตัว โดยส่วนใหญ่เป็นการขยายพื้นที่เพาะปลูกอ้อยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากมีผลผลิตต่อไร่สูงกว่าภาคอื่นและใกล้เคียงกับภาคกลาง คือเฉลี่ยไร่ละ 9,200 กิโลกรัม และอ้อยมีระดับความหวานสูงมาก กล่าวคืออ้อยหนึ่งตันสามารถผลิตน้ำตาลได้ถึง 110.83 กิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าภาคอื่นๆ ทั้งหมด (กระทรวงธุรกิจ, 2546) ทำให้ภูมิภาคนี้เป็นแหล่งผลิตอ้อยและน้ำตาลที่สำคัญของประเทศ แต่เมื่อตรวจสอบผลผลิตและอัตราการเพิ่มผลผลิตอ้อยที่แท้จริงพบว่า ผลผลิตเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลง ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งในการผลิตอ้อยคือ การระบาดของโรคและแมลงศัตรูอ้อย ซึ่งเป็นปัจจัยที่จำกัดระดับผลผลิตและคุณภาพของอ้อยในแต่ละปีและก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรง (พรทิพย์ วงศ์แก้ว, 2542)

เทคโนโลยีชีวภาพ เป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลักษณะที่ดีขึ้น เช่น การศึกษาการส่งถ่ายยีนโดยวิธี particle bombardment และใช้ *Agrobacterium tumefaciens* เพื่อสร้างอ้อยดัดแปรพันธุกรรม (transgenic sugarcane) ให้มีลักษณะที่ดีตามที่ต้องการ งานวิจัยนี้

จึงมุ่งเน้นการปรับปรุงพันธุ์อ้อยโดยการส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อย เพื่อสร้างอ้อยที่ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูอ้อย ซึ่งยีน chitinase สกัดจากข้าว เป็นยีนที่ผลิต pathogenesis-related (PR) protein ซึ่ง PR protein เป็นโปรตีนที่ผลิตขึ้นเพื่อป้องกันภัย (defense protein) ทำให้พืชต้านทานโรคและแมลงได้ดีขึ้น (Collinge *et al.*, 1993) โดยพืชที่ได้รับการส่งถ่ายยีนจะมีการสร้างเอนไซม์ chitinase สูงกว่าพืชที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนและจะเพิ่มการป้องกันการเข้าทำลายพืชจากแมลงและเชื้อราสาเหตุโรคได้มากกว่า (Lin *et al.*, 1995) ซึ่งถ้าสามารถปรับปรุงพันธุ์อ้อยให้ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูอ้อยได้สำเร็จ จะช่วยลดการใช้สารป้องกันโรคและแมลงศัตรูอ้อย ทำให้ลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันด้านอุตสาหกรรมน้ำตาลในตลาดโลกส่งผลดีต่อเศรษฐกิจของประเทศโดยรวม

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 และพันธุ์มิตรผล 99-94 ให้เจริญเป็นแคลลัสและต้นอ่อน
- 2.2 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีฟิแทกซิมและไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัส และต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 และพันธุ์มิตรผล 99-94
- 2.4 เพื่อศึกษาการส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 และพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และวิธี particle bombardment
- 2.5 ตรวจสอบการแสดงออกของยีน chitinase โดยใช้เทคนิค PCR และ RT-PCR

3. ขอบเขตของการวิจัย

- 3.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ให้เจริญเป็นแคลลัสและต้นอ่อน
- 3.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดรากของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07
- 3.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ให้เจริญเป็นต้นอ่อน
- 3.4 ศึกษาความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีฟิแทกซิม และไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัส และต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07
- 3.5 ศึกษาความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีฟิแทกซิม กานามัยซิน และไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัสและต้นอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94
- 3.6 ทำการส่งถ่ายยีน chitinase ซึ่งได้จากข้าวเข้าสู่อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และวิธี particle bombardment

3.7 ทำการส่งถ่ายยีน chitinase ซึ่งได้จากข้าวและเชื้อราเข้าสู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และวิธี particle bombardment

3.8 ตรวจสอบผลการส่งถ่ายยีน chitinase โดยวิธี GUS assay เทคนิค PCR และ RT-PCR

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำใบอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ให้เจริญเป็นแคลลัสและต้นอ่อน

4.2 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดรากของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07

4.3 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ให้เจริญเป็นต้นอ่อน

4.4 ทราบความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิม และไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัส และต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07

4.5 ทราบความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิม กานามัยซิน และไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94

4.6 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และวิธี particle bombardment

4.7 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และวิธี particle bombardment

4.8 เป็นแนวทางเพื่อปรับปรุงพันธุ์อ้อยในอนาคต