สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ไคโตซาน มีชื่อทางเคมีว่า Poly [ß-(1 ⟶ 4) -2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็นสารธรรมชาติที่เกิดจาก deacetylation ของไคติน ที่เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างที่ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงแก่เปลือกสัตว์ที่มีข้อปล้อง เช่น กุ้ง ปู และเป็นองค์ประกอบหนึ่งของผนังเซลล์ราอีกด้วย ไคโตซานสามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ และเป็นสารที่ปลอดภัยที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้ไคโตซานในด้านต่างๆ เช่น เทคโนโลยีชีวภาพ การแพทย์ เภสัชกรรม การบำบัดน้ำเสีย การพัฒนาคุณภาพกระดาษ และการเกษตร (Li และคณะ, 1997; รัฐ พิชญางกูร, 2547)

การประยุกต์ใช้ไคโตซานทางการเกษตรมีการนำไปใช้กับพืชหลายชนิด เช่น การใช้ไคโตซานเคลือบเมล็ดพืชเพื่อป้องกันเชื้อรา และเพิ่มการตอบสนองต่อการต้านทานโรคต่างๆ (Hirano และคณะ, 1990) การฉีดพ่นไคโตซานให้กับพืช สามารถกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานโรคที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ และเชื้อรา ดีขึ้น (Struszczyk และ Pospieszny, 1997; Pospieszny, 1997; Sathiyabama และ Balasubramanain, 1998; Ben-Shalom และคณะ, 2003) เนื่องจากพบว่าไคโตซานสามารถออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้น (elicitor) ให้พืชสร้างสารป้องกันตนเอง (Hirano, 1997) เช่น L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ลิกนิน (Notsu และคณะ, 1994) และไคติเนส (Akimoto, Aoyagi และ Tanaka, 1999) เป็นต้น การให้ไคโตซานกับพืชบางชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต และกระตุ้นการออกดอกให้เร็วขึ้นในไม้ดอกบางชนิด เช่น ใน Lisianthus (Ohta และคณะ, 1999) และกล้วยไม้ (Limpanavech และคณะ, 2003) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำไคโตซานไปฉีดพ่นกับผลไม้ เช่น ลิ้นจี่ (Zhang และ Quantick, 1997) ลำไย (Jiang และ Li, 2001) และลูกท้อ (Li และ Yu, 2001) เพื่อยืดอายุของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว โดยพบว่าไคโตซานมีผลทำให้อัตราการหายใจ และการสร้างเอทิลีนลดลง

ในการศึกษาระดับยีน พบว่าไคโตซานมีผลต่อการแสดงออกของยีนในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันตัวเองของพืช เช่น PR protein (Agrawal และคณะ, 2002) cinnamic acid-4-hydroxylase และ chitinase (Mason และ Davis, 1997) เป็นต้น

ไคโตซานเป็นสารธรรมชาติ และมีประโยชน์ในหลายด้าน ดังนั้นจึงมีผู้ทำการวิจัยโดยประยุกต์ใช้ไคโตซานกับกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล' เพื่อพัฒนาการผลิตกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย (Limpanavech และคณะ, 2003) เนื่องจากปัจจุบันการผลิตดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ซึ่งเป็นกล้วยไม้ตัดดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย (ครรชิต ธรรมศิริ, 2547) มักประสบปัญหาด้านคุณภาพดอกกล้วยไม้ต่ำ จำนวนดอกต่อช่อน้อย อายุการใช้งานสั้น ปัญหาโรค และแมลงที่ปนเปื้อนไปกับดอกกล้วยไม้ที่ส่งออก เป็นต้น (เสมอ นิ่มเจริญ, 2544; นิยมรัฐ ไตรศรี, 2544) จากการทดลองของ Limpanavech และคณะ (2003) พบว่าการใช้ไคโตซานสามารถเร่งการออกดอกได้เร็วขึ้น แต่ยังไม่มีรายงานผลของไคโตซานในระดับยีนของกล้วยไม้ นอกจากนี้การศึกษาผลของไคโตซานในระดับยีนที่ผ่านมา มักพบแต่ยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองของพืชเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งความสนใจไปยังการศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการแสดงออกของยีนต่างๆ ในกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล' ที่ได้รับไคโตซาน โดยใช้วิธี differential display (Liang และ Pardee, 1992) ซึ่งวิธีนี้อาจนำไปสู่การศึกษาหน้าที่ของยีน ที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกที่เร็วขึ้น นอกจากนี้อาจทำให้เข้าใจบทบาทของไคโตซานที่มีต่อพืชในแง่มุมอื่นๆ ได้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล'

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นพื้นฐานในการคัดเลือกโครงสร้าง และความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสมกับพืช ในการชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีนอย่างจำเพาะ

แผนการดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาวิธีการสกัด total RNA ที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล'
2. ศึกษาการแสดงออกของยีน โดยวิธี differential display
3. โคลนชิ้นส่วน cDNA ที่แตกต่างระหว่างกล้วยไม้ทั้ง 2 ชุดการทดลอง เข้าในเวกเตอร์ที่เหมาะสม
4. วิเคราะห์ชนิดของยีนที่มีการตอบสนองต่อไคโตซานในกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล'
5. วิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่คัดเลือกได้จากการทำ differential display