การตรวจเอกสาร

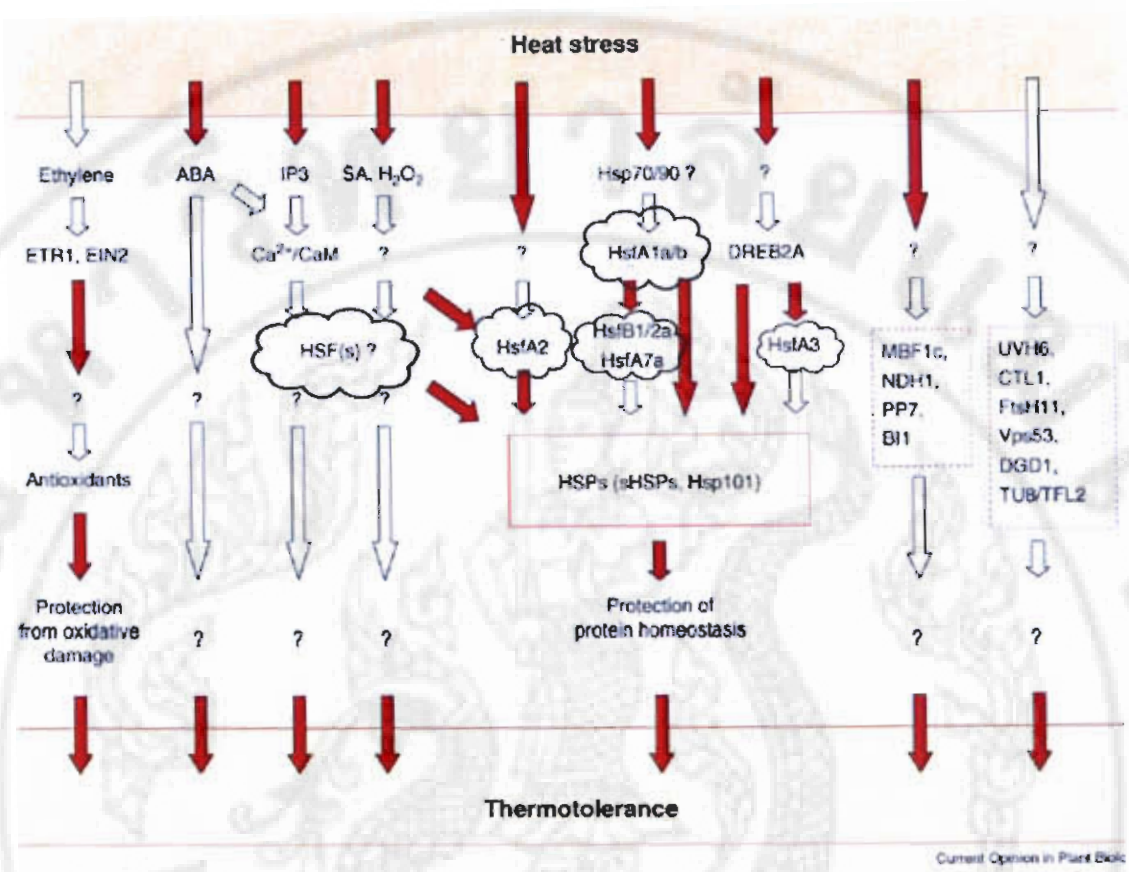
ภาวะโลกร้อนเป็นปัญหาที่รุนแรงมากขึ้น เนื่องจากการทำลายและใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่ไม่มีการควบคุม ตลอดจนจำนวนประชากรที่มากขึ้น ทำให้โลกไม่สามารถรองรับกับกิจกรรมต่างๆ เหล่านี้ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ขององค์กรอุตุนิยมวิทยาแห่งอังกฤษ หรือ MetOffice ทำนายว่าโลกจะมีอุณหภูมิเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 4 องศาเซลเซียส ในปี ค.ศ. 2100 โดยทำเป็นแผนที่โลกร้อนแสดงถึงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นกับพื้นที่ต่างๆ บนโลก ได้แก่ ไฟป่า พืชผล แหล่งน้ำ ระดับน้ำทะเล สัตว์น้ำ ความแห้งแล้ง แผ่นน้ำแข็ง พายุหมุนเขตร้อน อุณหภูมิสูงอย่างมาก และ สุขภาพ จากแผนที่ประเทศทั่วทุกภูมิภาคของโลกจะพบกับปัญหาความแห้งแล้ง และประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จะประสบปัญหาพืชผลโดยจะเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ (ASTV ผู้จัดการออนไลน์) และอีกหนึ่งปัญหาของโลกคือการขาดแคลนพลังงาน เนื่องจากปริมาณการใช้น้ำมันปิโตรเลียมที่เพิ่มขึ้น แต่ปริมาณของน้ำมันปิโตรเลียมที่กำลังจะหมดไป

ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ได้ให้ความสำคัญกับการพัฒนาพลังงานทดแทน เพื่อลดสัดส่วนการพึ่งพาน้ำมันปิโตรเลียมที่มีแนวโน้มว่าราคาจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพลังงานทดแทนที่ทั่วโลกกำลังได้รับความสนใจ คือ เชื้อเพลิงชีวภาพ (Bio Fuel) ซึ่งผลิตได้จากผลิตผลทางการเกษตร ที่ประกอบด้วย 2 ประเภทหลัก คือ เอทานอล และไบโอดีเซล ทั้งนี้เอทานอลส่วนมากผลิตจากอ้อยและมันสำปะหลัง ส่วนไบโอดีเซลใช้วัตถุดิบจากปาล์มน้ำมันเป็นหลัก นอกจากนี้ ยังมีพืชประเภทอื่น ๆ ที่สามารถนำมาผลิตเป็นพลังงานชีวภาพได้ อาทิ ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าว ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี สบู่ดำ และเรพซีด (Rapeseed) เป็นต้น ซึ่งนโยบายพลังงานไม่ส่งเสริมการใช้พืชอาหารมาผลิตเอทานอล ทำให้พืชที่น่าสนใจในการใช้ผลิตเอทานอล คือ อ้อยและข้าวฟ่างหวาน เนื่องจากหากใช้ข้าวหรือมันสำปะหลังจะต้องเปลี่ยนแป้งมาเป็นน้ำตาลก่อนเข้าสู่การหมักเอทานอล ส่วนอ้อยกับข้าวฟ่างหวานนั้นจะได้น้ำตาลเข้าสู่การหมักได้ทันที นอกเหนือจากนั้นอ้อยและข้าวฟ่างหวานยังเป็นพืชเมืองร้อน ที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูง และแห้งแล้งได้ดี

อ้อย (Sugar-cane) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Saccharum officinarum* Linn. GRAMINEAE (วิกีพีเดีย สารานุกรมเสรี) เป็นพืชอาหารและพืชพลังงานที่สำคัญ มีพื้นที่ปลูก ในปี 2549/2550 จำนวน 6.5 ล้านไร่ มีผลผลิตอ้อย 63.8 ล้านตัน (เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน)

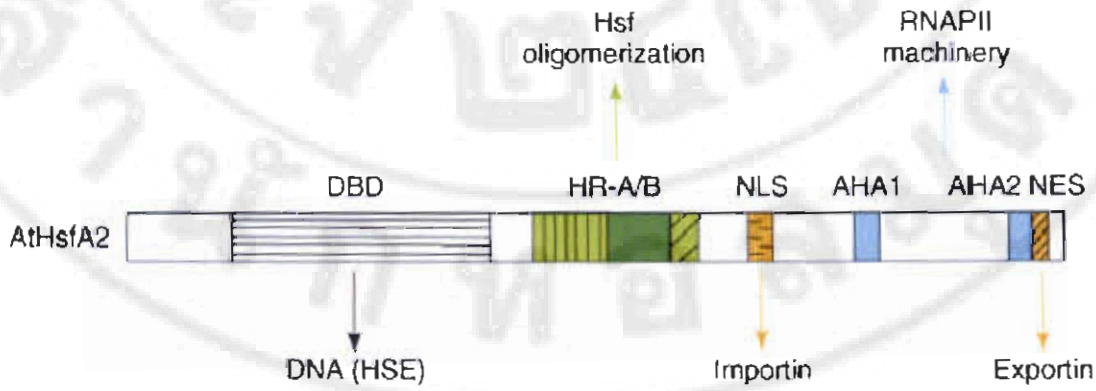
การศึกษากลไกการทนต่ออุณหภูมิสูงของพืช มีการศึกษาจำนวนมากในมะเขือเทศและพืชอะราบิตอพซิส *(Arabidopsis)* โดยที่โปรตีนที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง (heat shock proteins; HSPs) หรือความร้อนของพืชนั้นนั้นเกี่ยวข้องกับโปรตีน 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรกเป็นโปรตีนควบคุมการถอดรหัสที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (heat shock transcription factors; HSFs/Hsf) ที่จะทำหน้าที่ไปจับกับบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนที่เป็นรหัสของโปรตีน HSP แล้วกระตุ้นการสร้างโปรตีนเหล่านั้น และกลุ่มที่สองเป็นโปรตีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์หรือโปรตีนโครงสร้างที่ทำให้เซลล์ไม่เสียหายจากความร้อน ซึ่งอาจจะได้จากการทำงานของ HSFs หรือจากสารอื่นๆ ดังแสดงในภาพที่ 1 ที่พบว่าโปรตีน HSFs เป็นโปรตีนหลักที่สำคัญในกลไกการตอบสนองต่อความร้อนของพืช นอกจากจะเป็นโปรตีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน HSPs ชนิดอื่นๆ แล้ว โปรตีน HSFs ยังเป็นโปรตีนที่ตอบสนองต่อความเครียดทางกายภาพ (abiotic stress) ของพืชด้วยเช่นกัน (Sachin Kotak *et. al.* 2007, A. Wahid *et. al.* 2007 และ Eric Ruelland and Alain Zachowski. 2010)

โปรตีน HSFs ของพืชพบว่าจะมีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน ตัวอย่างเช่นโปรตีน HSFs ของ *Arabidopsis* (ATHsfA2) ดังภาพที่ 2 ที่โครงสร้างจะประกอบด้วย 3 บริเวณหลัก คือ บริเวณจับดีเอ็นเอ (DNA binding domain; DBD) ซึ่งจะจับที่ heat stress element บนบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน HSPs ต่างๆ ที่สนองต่ออุณหภูมิ บริเวณจับกับโปรตีน HSFs อื่น (Hsf oligomerization) และบริเวณจับกับเอนไซม์ RNA polymerase (RNAPII) จากการศึกษาเปรียบเทียบโปรตีน HSFs จากข้าว มะเขือเทศ และ *Arabidopsis* พบว่าสามารถแบ่งโปรตีน HSFs จากพืชตามโครงสร้างออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Class A, B และ C (ดังภาพที่ 3) ซึ่งมีรายงานว่าโปรตีน HSFs class A มีบทบาทในการตอบสนองต่ออุณหภูมิ เช่น โปรตีน HsfA1a ของมะเขือเทศ และโปรตีน HsfA2 ของ *Arabidopsis* (P von Koskull-DÖring, KD Scharf and L Nover. 2007)



ภาพที่ 1 กลไกการตอบสนองต่ออุณหภูมิของพืช ที่โปรตีน HSFs เป็นตัวกลางในการตอบสนองต่ออุณหภูมิของพืช

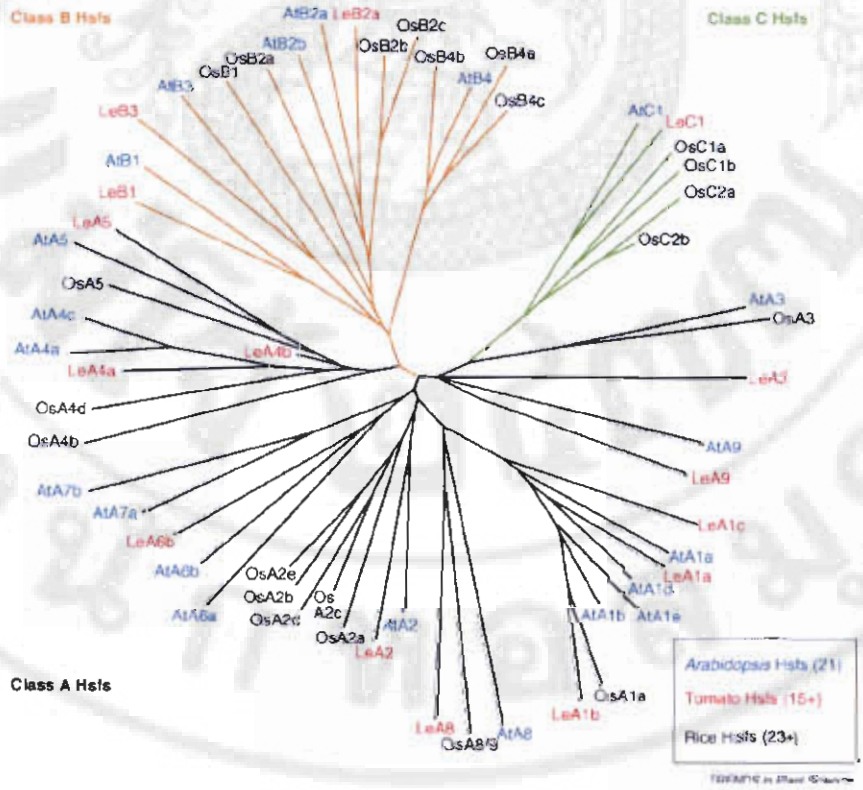
ที่มา Sachin Kotak *et. al.* 2007



ภาพที่ 2 โครงสร้างของโปรตีน HSFs จาก *Arabidopsis* (AtHsfA2)

ที่มา P von Koskull-DÖring, KD Scharf and L Nover. 2007

จากการศึกษาโปรตีน HsfA1a ของมะเขือเทศ พบว่าเป็นโปรตีนหลัก (master regulator) ที่ทำให้มะเขือเทศตอบสนองต่ออุณหภูมิ จากการทดลองในมะเขือเทศที่เพิ่มการแสดงออก กับมะเขือเทศที่กดการแสดงออกของยีน HsfA1a พบว่าในสภาวะปกติการเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งสองประเภทไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิมะเขือเทศที่กดการแสดงออกของยีน HsfA1a จะไม่สามารถเจริญเติบโตและให้ผล ซึ่งในมะเขือเทศมียีน HSF จำนวน 15 ยีน และพบว่ายีนเหล่านั้นไม่สามารถทำหน้าที่แทน HsfA1a ได้ แต่ใน *Arabidopsis* พบว่าการกำจัดยีน HsfA1a และยีน HsfA1b ไม่กระทบต่อการตอบสนองต่ออุณหภูมิอย่างชัดเจน ดังนั้นอาจจะกล่าวได้ว่าใน *Arabidopsis* ไม่มีโปรตีนตอบสนองต่ออุณหภูมิหลักเหมือนกับในมะเขือเทศ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาโดยการให้อุณหภูมิสูงอย่างต่อเนื่อง พบว่าโปรตีน HsfA2 มีการทำงานเพิ่มขึ้นและทำให้ทั้งมะเขือเทศและ *Arabidopsis* ทนต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้น (P von Koskull-DÖring, KD Scharf and L Nover. 2007)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ทาง phylogenetics ของโปรตีน HSFs จากข้าว มะเขือเทศ และ *Arabidopsis*

ที่มา P von Koskull-Döring, KD Scharf and L Nover. 2007

การศึกษา heat shock protein (HSPs) ในอ้อยพบ small HSP ขนาด 17.2 และ 17.9 kDa (Tiroli AO. and Ramos CH., 2007) แต่ยังไม่พบรายงานการวิจัยของ HSFs จากอ้อย และจากการสืบค้นฐานข้อมูลพบว่ามีเพียงข้อมูลลำดับดีเอ็นเอของยีน *hsf* จากการศึกษาจีโนมของอ้อย (sugarcane transcription factor database) แต่ยังไม่มีการรายงานความแตกต่างกันของยีนในอ้อยพันธุ์ต่างๆ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกยีนของโปรตีน HSFs จากอ้อยพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงความสามารถในการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงของอ้อย ดังนั้นโครงการวิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกยีน HSFs class A และทดสอบการแสดงออกของยีนดังกล่าวในพืชที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้เข้าใจกลไกการตอบสนองต่อความร้อนของพืชพลังงานที่ทนร้อน