

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

ในบทนี้ผู้วิจัยจะกล่าวถึง สรุปผลการวิจัย การอภิปรายผลในด้านต่าง ๆ ข้อจำกัดงานวิจัยและข้อเสนอแนะอื่นๆ โดยมีรายละเอียดดังนี้

5.1 สรุปผลงานวิจัย

5.1.1 ตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล Nested PCR

จากการทดลองชุดควบคุม ท่อนพันธุ์อ้อยสายพันธุ์ทอง12 ที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยแฝงอยู่ในปริมาณมาก อายุปลูก 7 - 10 เดือน ทั้งท่อนพันธุ์อ้อยที่แช่สารละลายเตตระโซคลิน สารละลายโซเดียมซัลเฟต และน้ำร้อน มีเปอร์เซ็นต์ปลอดโรคที่ตรวจสอบด้วยเทคนิค Nested PCR เป็น 0 ทั้งหมด แต่เมื่อนำมาผ่านกระบวนการพลาสมาสารละลาย สามารถลดเชื้อได้ตามเงื่อนไข ดังตารางที่ 5.1 โดยเงื่อนไขทั้งหมดเลือกมาจากเปอร์เซ็นต์ปลอดโรคที่ตรวจสอบด้วยเทคนิค Nested PCR ที่มากที่สุดของแต่ละชุดการทดลอง เพื่อให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์งานวิจัยนี้

ตารางที่ 5.1 สรุปเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวในท่อนพันธุ์อ้อย

เงื่อนไข	เปอร์เซ็นต์ ปลอดโรค		เปอร์เซ็นต์ การงอก	
	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.
ระบบ Wire to Wire Electrode ภายใต้อิทธิพลแรงดันไฟฟ้า 500 โวลต์ [เครื่องจ่ายไฟ (1kV, 2A, DC power supply)] ขั้วไฟฟ้าทั้งสองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหน้าตัด 1 มิลลิเมตร ระยะห่างระหว่างขั้วเท่ากับ 3 มิลลิเมตร ดิสชาร์จสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 10 กรัม ผสมกับน้ำปราศจากไอออนในถังอะคริลิกปริมาตรรวม 1 ลิตร ดิสชาร์จขณะแช่ท่อนพันธุ์อ้อย ครั้งแรกนาน 2 นาที แล้วดิสชาร์จซ้ำทุกๆ 20 นาที เป็นเวลาทั้งหมด 120 นาที อุณหภูมิคงที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส	50.0	14.0	80.0	0.0

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

เงื่อนไข	เปอร์เซ็นต์ ปลอดโรค		เปอร์เซ็นต์ การงอก	
	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.
ระบบ Plasma Jet ภายใต้อิออนไนซ์กำลังไฟฟ้า 30 วัตต์ [เครื่องจ่ายไฟ (80kHz, 800kHz, 100W, HV, RF, GENERATOR)] อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอนเท่ากับ 5,000 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการไหลของแก๊สออกซิเจนเท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อนาที คีตสารจันทอนพันธุ์อ้อยแต่ละท่อนในน้ำปราศจากไออนอนปริมาตร 30 มิลลิลิตร นาน 30 นาที แล้วแช่ท่อนพันธุ์อ้อยต่อ 300 นาที อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 44 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆลดลง	40.0	0.0	90.0	14.1
ระบบ Wire to Wire Electrode ภายใต้อิออนไนซ์แรงดันไฟฟ้า 500 โวลต์ [เครื่องจ่ายไฟ (1kV, 2A, DC power supply)] ขั้วไฟฟ้าทั้งสองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหน้าตัด 1 มิลลิเมตร ระยะห่างระหว่างขั้วเท่ากับ 3 มิลลิเมตร คีตสารจันทอนละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 10 กรัม ผสมกับน้ำปราศจากไออนอนในถังอะคริลิกปริมาตรรวม 1 ลิตร คีตสารจันทอนละลาย 2 นาที แล้วแช่ท่อนพันธุ์อ้อยต่อ 360 นาที อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆลดลง	15.0	10.0	60.0	28.3

ในการทดลองระบบ Wire to Wire Electrode คีตสารจันทอนละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 10 กรัม ผสมกับน้ำปราศจากไออนอนในถังอะคริลิกปริมาตรรวม 1 ลิตร คีตสารจันทอนแช่ท่อนพันธุ์อ้อย ครั้งแรกนาน 2 นาที แล้วคีตสารจันทอนทุกๆ 20 นาที เป็นเวลาทั้งหมด 120 นาที อุณหภูมิคงที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส สามารถลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวในท่อนพันธุ์อ้อยได้สูงสุด 50.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 14.0 ส่วนระบบ Plasma Jet คีตสารจันทอนพันธุ์อ้อยแต่ละท่อนในน้ำปราศจากไออนอนปริมาตร 30 มิลลิลิตร นาน 30 นาที แล้วแช่ท่อนพันธุ์อ้อยต่ออุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 44 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆลดลง พบว่าเมื่อแช่ท่อนพันธุ์อ้อยต่อเป็นเวลา 300 นาที สามารถลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวในท่อนพันธุ์อ้อยได้สูงสุด 40.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0 และระบบ Wire to Wire Electrode คีตสารจันทอนละลาย 2 นาที แล้วนำไปแช่ท่อนพันธุ์อ้อยต่อ 360 นาที อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ ลดลง สามารถลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวในท่อนพันธุ์อ้อยได้สูงสุด 15.0 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 10.0 ทั้งนี้มีความคลาดเคลื่อนจากการทดลองอาจมีสาเหตุมาจากการทดลองในแต่ละครั้งใช้ช่วงเวลาที่ต่างกัน ทำให้อุณหภูมิ สภาพอากาศ และอายุปลูกลูกที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ท่อนพันธุ์อ้อยมีความแข็งแรง และปริมาณเชื้อที่แฝงอยู่แตกต่างกัน ในแต่ละชุดการทดลอง ซึ่งเป็นปัจจัยรบกวนภายนอกที่ไม่สามารถควบคุมได้ รวมทั้งตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองมีจำนวนน้อย ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนจากการทดลองแต่ละครั้ง

5.1.2 ตรวจสอบเชื้อจากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด

สรุปผลได้ตามตารางที่ 5.2 ดังนี้

ตารางที่ 5.2 สรุปผลการทดลองที่ได้จากการตรวจสอบด้วยวิธีการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด

การทดลอง	ปริมาณเชื้อเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)
ใบอ้อยปกติ	0.00
ใบอ้อยปกติ หลังผ่านกระบวนการพลาสมาสารละลาย	0.00
ใบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว	8.00
ใบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว หลังผ่านกระบวนการพลาสมาสารละลาย	5.33

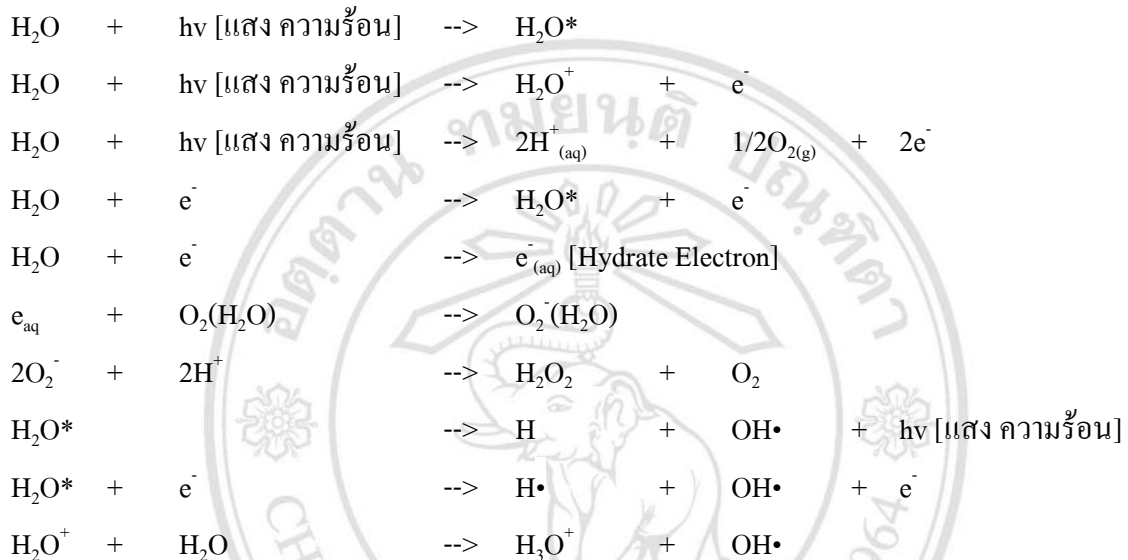
ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาหลังจากที่ผ่านกระบวนการพลาสมาสารละลายในระบบ ระบบ Wire to Wire Electrode (แช่ใบอ้อยขณะเกิดการดีสชาร์จ แล้วดีสชาร์จซ้ำ ทุกๆ 20 นาที เป็นเวลาทั้งหมด 120 นาที) ลดลงคิดเป็น 33.38 เปอร์เซ็นต์ต่อหน่วยพื้นที่

5.2 การอภิปรายผล

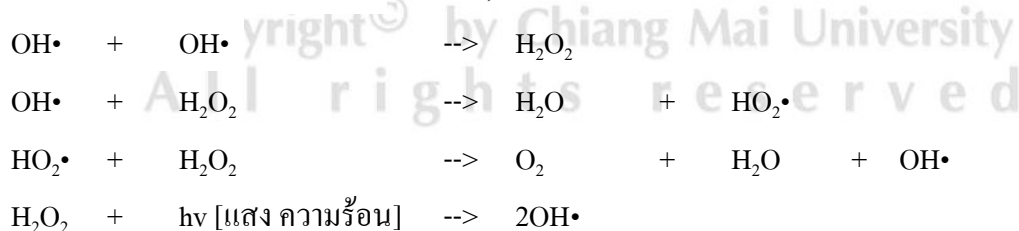
จากการทดลองใช้พลาสมาสารละลาย เพื่อลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุของโรคใบขาวในท่อนพันธุ์อ้อย พบว่ายังไม่สามารถใช้พลาสมาสารละลายลดเชื้อไฟโตพลาสมาที่อาศัยอยู่ภายในท่อลำเลียงอาหารของท่อนพันธุ์อ้อยได้ทั้งหมด เนื่องจากพลาสมาสารละลายยังมีข้อจำกัดด้านการทำปฏิกิริยาที่ว่องไวและอยู่บริเวณผิวบน ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้

5.2.1 อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (Reactive Oxygen Species, ROS)

ขณะเกิดการดิสราร์จ พลาสมาจะประกอบไปด้วย อิเล็กตรอน ไอออน อะตอมและโมเลกุลที่อยู่ในสถานะถูกกระตุ้นต่างๆ ที่อยู่ในกลุ่มของอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ($OH\cdot$) เป็นต้น สามารถอธิบายได้จากสมการดังต่อไปนี้



และหลังจากเสร็จสิ้นการดิสราร์จ สารเหล่านั้นจะกลับเข้าสู่สภาวะเดิม หลังจากนั้นจะไม่สามารถตรวจสอบหาธาตุต่างๆ ด้วยเครื่อง OES ได้ แต่ตรวจพบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นทำให้เกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล โดยการตรวจสอบจากชุดทดสอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide Test Kits) สามารถอธิบายได้จากสมการการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังนี้ (Zdenka, 2011)

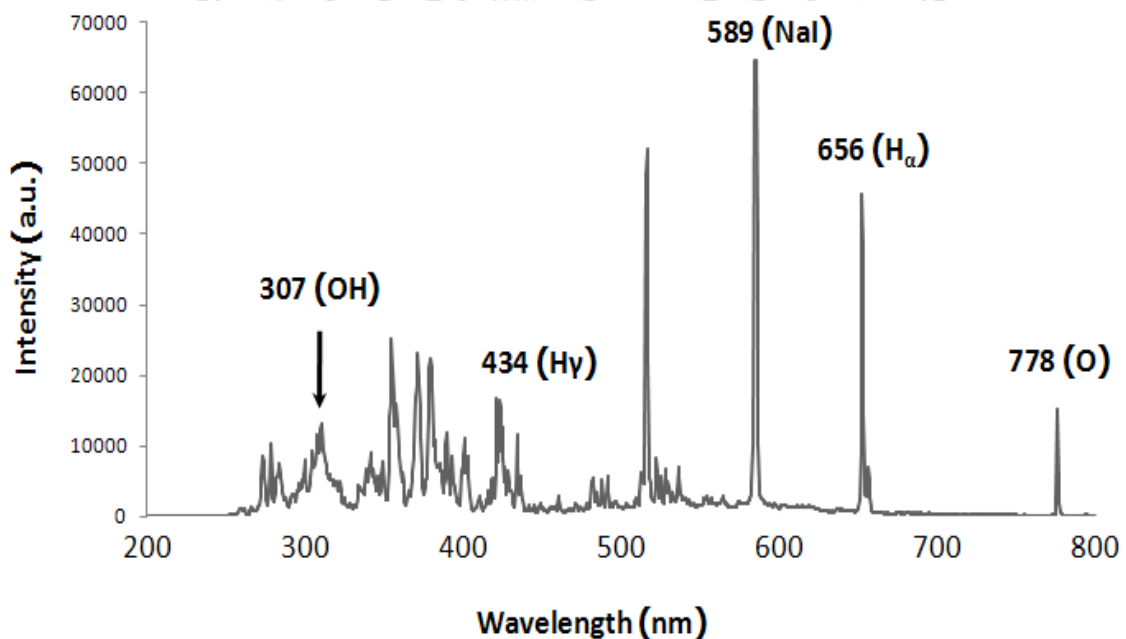


อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (ROS) ที่เกิดขึ้นขณะดิสราร์จหรือหลังดิสราร์จ เป็นสารที่มีธาตุออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ มีความว่องไวมากในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร จัดเป็นสารออกซิไดซ์ที่รุนแรง จะแย่งชิงอิเล็กตรอนจากสารชีวโมเลกุลต่างๆ ทำให้โครงสร้างหรือบทบาทการทำงานของสารชีวโมเลกุลนั้นๆ ผิดปกติไป

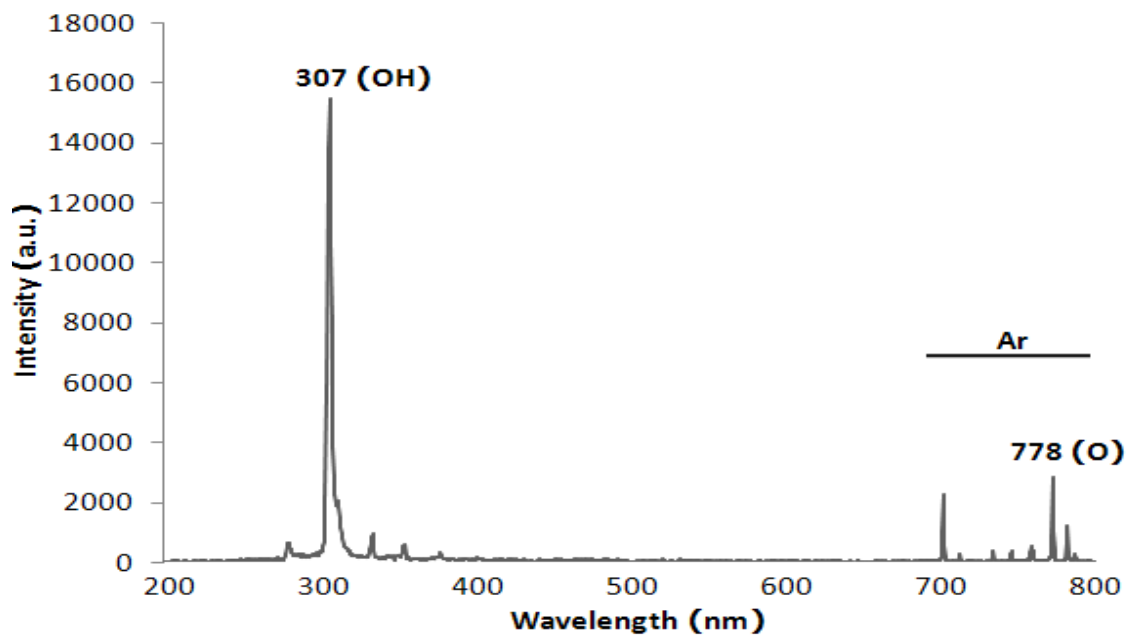
และสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อเนื่องจากสารชีวโมเลกุลหนึ่งไปยังสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ เกิดอนุพันธ์ใหม่เป็นลูกโซ่ได้

5.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล

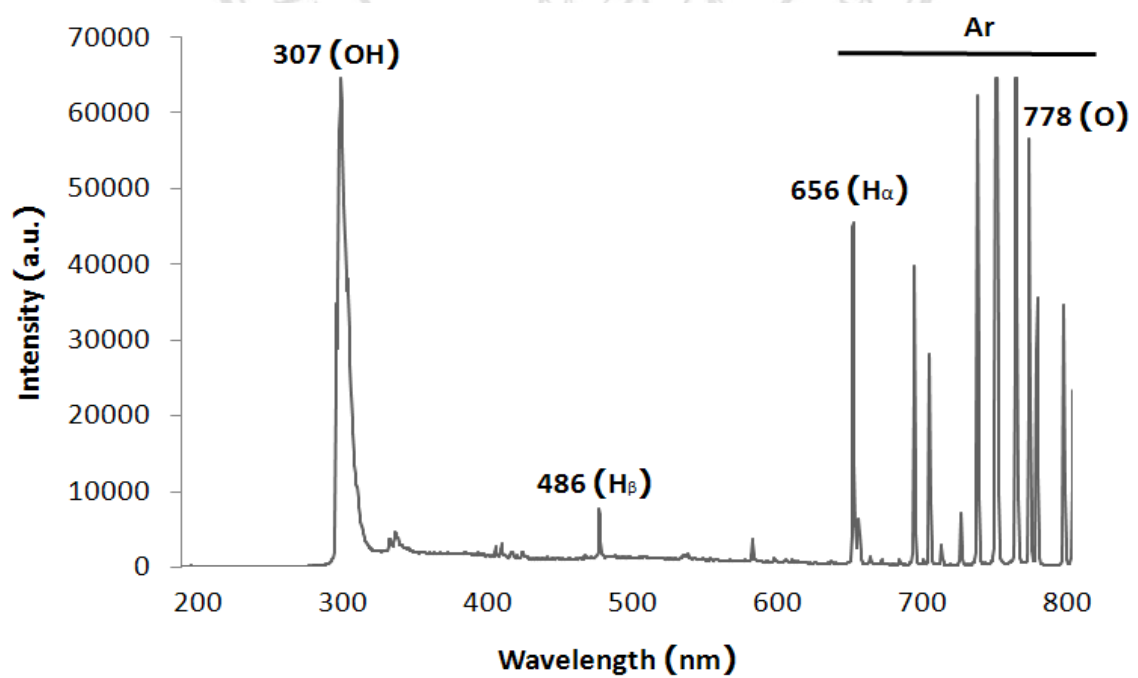
ประสิทธิภาพการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลของกระบวนการพลาสมาสารละลายทั้ง 3 ระบบ พบว่าพลาสมาสารละลายมีปริมาณไอออน อิเล็กตรอน และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้น ซึ่งได้แก่ระบบ Wire to Wire Electrode ดิซาร์จขณะแช่ท่อนพันธุ์อ้อย แล้วดิซาร์จซ้ำ ระบบ Plasma Jet และระบบ Gliding Arc จากการตรวจสอบอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลด้วยเครื่อง OES และยังสามารถคล่องกับการตรวจสอบจากชุดทดสอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของแต่ละระบบตามตารางที่ 5.2 ซึ่งช่วยลดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในท่อนพันธุ์อ้อยได้มากขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้ท่อนพันธุ์อ้อยมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงด้วย



ภาพที่ 5.1 ปริมาณธาตุต่างๆ ในระบบ Wire to Wire Electrode ที่วัดได้จากเครื่อง OES



ภาพที่ 5.2 ปริมาณธาตุต่างๆในระบบ Plasma Jet ที่วัดได้จากเครื่อง OES



ภาพที่ 5.3 ปริมาณธาตุต่างๆ ในระบบ Gliding Arc ที่วัดได้จากเครื่อง OES

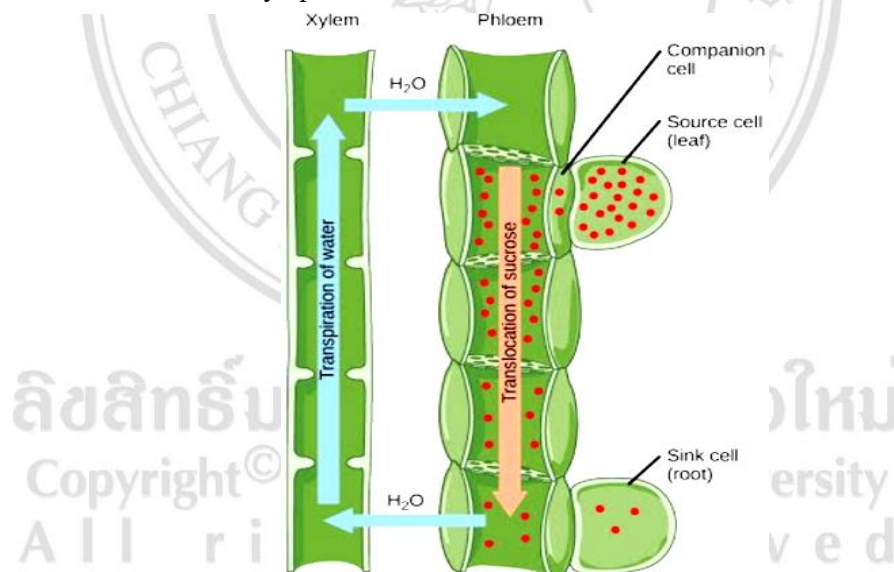
ตารางที่ 5.3 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ระบบ	ความเข้มข้น (ppm)
ระบบ Wire to Wire Electrode คิซาร์จ 1 - 2 นาที	0.5 - 2.0
ระบบ Wire to Wire Electrode คิซาร์จซ้ำ เป็นเวลา 120 นาที	2.0 – 5.0
ระบบ Plasma Jet	10.0 - 25.0
ระบบ Gliding Arc	มากกว่า 25.0

5.2.3 กลไกการนำอนุภาคที่มีประจุและพลังงานสูงเข้าสู่ท่อลำเลียงอาหาร

กลไกการนำอนุภาคที่มีประจุและพลังงานสูง เช่น ไอออน อิเล็กตรอน อะตอม โมเลกุลที่อยู่ในสถานะถูกกระตุ้น และอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล จากพลาสมาสารละลาย เข้าไปสู่ท่อลำเลียงอาหารบริเวณ Sieve tube ในท่อน้ำพินธุ์อ้อย สามารถทำได้ 2 ทางดังนี้

1. การออสโมซิสสารละลายจากภายนอก ผ่านรากหรือเซลล์อื่นๆ เข้าสู่ทางท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) แล้วออสโมซิสต่อโดยผ่านชั้นเซลล์ต่อเซลล์เข้าสู่ท่อลำเลียงอาหาร เรียกว่า การลำเลียงน้ำแบบ Symplast



ภาพที่ 5.4 กลไกการลำเลียงน้ำแบบ Symplast

(<https://sites.google.com/site/structureofplants/home/translocation-of-water>,
กุมภาพันธ์ 2560)

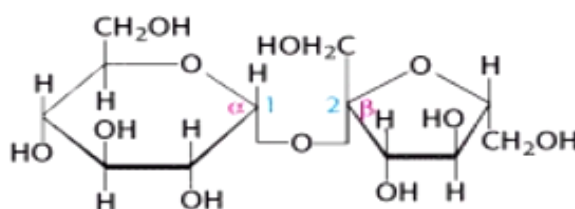
2. สารละลายเข้าสู่ท่อลำเลียงอาหารโดยผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ การลำเลียงลักษณะนี้จะทำให้อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลเข้าถึงเชื้อเป้าหมายได้รวดเร็วกว่าการลำเลียงน้ำแบบ Symplast

5.2.4 สารชีวโมเลกุล

ตัวออกซิไดซ์ที่มีความแรงมาก ได้แก่ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน มีโครงสร้างที่ไม่เสถียร ทำให้ไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ในสิ่งมีชีวิต ประกอบด้วยธาตุพื้นฐาน คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โดยสารชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในงานวิจัยนี้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนคือสารชีวโมเลกุลที่องค์ประกอบของท่อนพันธู้อยู่ และ เชื้อไฟโตพลาสมา

1) สารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของท่อนพันธู้อยู่ ได้แก่

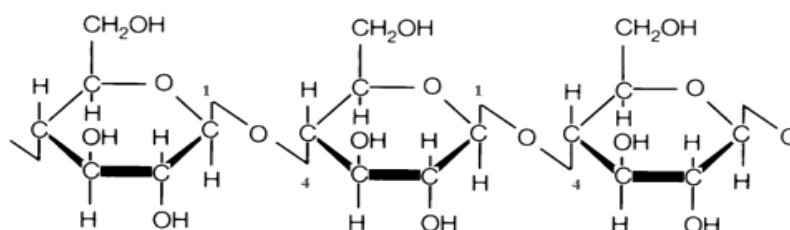
1.1) น้ำตาลซูโครสจากน้ำอ้อย ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรต เกิดจากโมเลกุลของกลูโคสเชื่อมต่อกับโมเลกุลของฟรุคโตสด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเป็นพันธะโคเวเลนต์ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรต ส่งผลให้โครงสร้างของโมเลกุลซูโครสถูกทำลาย (Misra et al., 2016)



ภาพที่ 5.5 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส

(<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0978/sucrose>, กุมภาพันธ์ 2560)

1.2) เซลลูโลสจากชั้นผนังของเซลล์พืชต่างๆ เช่นเซลล์เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย (ตาและปมราก) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรตเช่นกัน เกิดจากโมเลกุลของกลูโคสเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะไฮโดรเจน อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรต ส่งผลให้โครงสร้างของโมเลกุลเซลลูโลสถูกทำลาย (Misra et al., 2016)



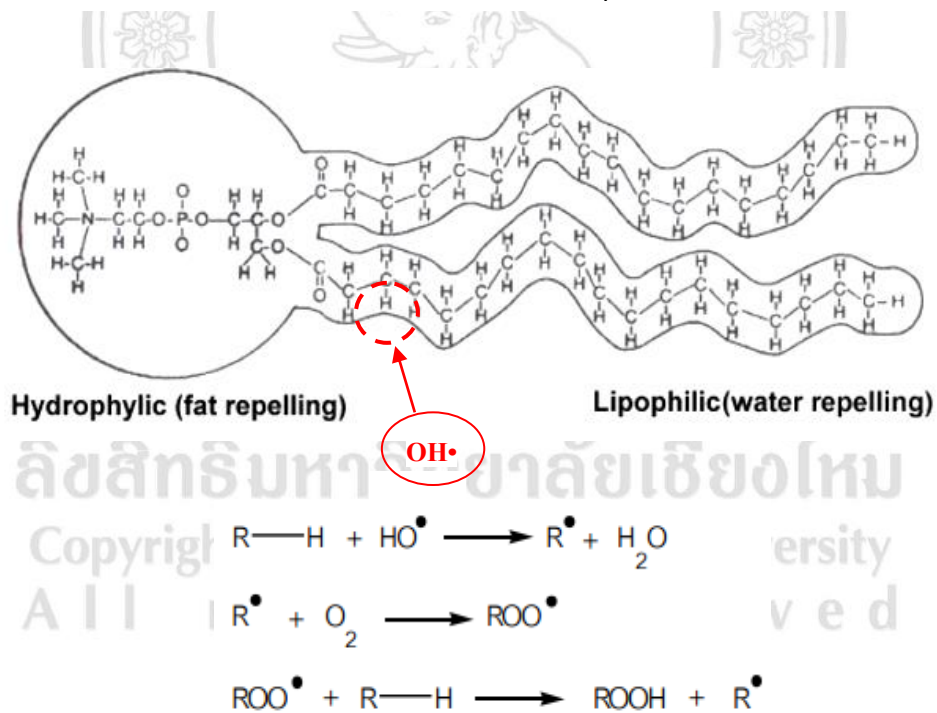
ภาพที่ 5.6 โครงสร้างของเซลลูโลส

(<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose>, กุมภาพันธ์ 2560)

1.3) เชื้อหุ้มเซลล์และส่วนประกอบอื่นๆภายในเซลล์พืช เป็นโครงสร้างที่มีไขมันหรือลิพิดเป็นส่วนประกอบ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลประเภทไขมัน เกิดปฏิกิริยา Lipid peroxidation ส่งผลให้โครงสร้างของโมเลกุลไขมัน ถูกทำลาย

2) สารชีวโมเลกุลที่องค์ประกอบของเชื้อไฟโตพลาสมา

สารชีวโมเลกุลประเภทไขมันเป็นส่วนประกอบของเชื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อไฟโตพลาสมา เรียกว่า Phospholipid มีโครงสร้างดังภาพที่ 5.7 เมื่อพบกับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเกิดปฏิกิริยา Lipid Peroxidation เริ่มจากอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ($\text{OH}\cdot$) ดึงไฮโดรเจน (H) จากลิพิด (R) กลายเป็นโมเลกุลน้ำและทำให้เกิดอนุมูลของลิพิด ($\text{R}\cdot$) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลลิพิดเปอร์ออกไซด์ ($\text{ROO}\cdot$) และอนุมูลลิพิดเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับลิพิดโมเลกุลอื่นๆ เกิดเป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ดังแสดงในภาพที่ 5.7 ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด (Gaschler and Stockwell, 2017)

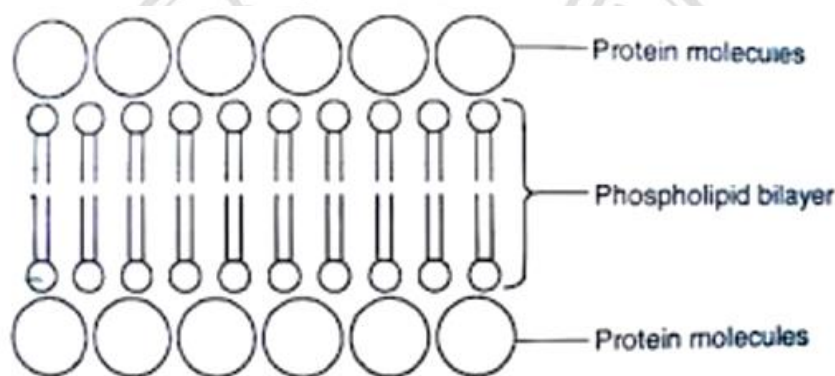


ภาพที่ 5.7 โครงสร้าง Phospholipid และปฏิกิริยา Lipid peroxidation

(<https://burningscience.wordpress.com/asa2-cie-tips/biology-2/lipids/phospholipids/>,
กุมภาพันธ์ 2560)

5.2.5 โครงสร้างทางกายภาพของเยื่อไฟโตพลาสมา

อรพรรณ (2555) กล่าวไว้ว่าโครงสร้างทางกายภาพของเยื่อไฟโตพลาสมา มีลักษณะพื้นฐาน วิทยาคล้ายกับเยื่อไมโครพลาสมา ซึ่งมีเยื่อหุ้มเซลล์ 3 ชั้น (Trilaminar membrane) จากโมเดล โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์แบบ Trilaminar membrane ของ Danilli-Davson พบว่าชั้นบนสุดของเยื่อหุ้ม เซลล์จะมี Glycoprotein ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เกิดจากโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ เคลือบอยู่ระหว่างชั้น Phospholipid ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลประเภท ไขมัน โดยทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพให้กับเซลล์ ส่งผลให้เกิดความยากต่อการทำลายเยื่อ ไฟโตพลาสมานี้มากขึ้น



ภาพที่ 5.8 โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์แบบ Trilaminar membrane

(<http://nyagyaa.blogspot.com/2012/10/cell-cell-can-be-defined-as-unit-of.html>,

กุมภาพันธ์ 2560)

เนื่องจากเยื่อไฟโตพลาสมาเป็นเยื่อเป้าหมายที่ต้องการกำจัด อาศัยอยู่ในท่อลำเลียงอาหาร ของอ้อย ซึ่งอยู่ในเซลล์อ้อย เมื่อแช่ท่อนพันธุ์อ้อยที่เป็นโรคใบขาวด้วยพลาสมาสารละลาย ที่ประกอบไปด้วยไอออน อิเล็กตรอน และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล แล้วสารเหล่านี้จะสามารถแพร่เข้าไป ในเซลล์อ้อยได้ด้วยกลุ่มท่อลำเลียง แล้วอาจจะเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับน้ำตาลซูโครสจาก น้ำอ้อย และเซลล์โลสจากชั้นผนังเซลล์ของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายของอ้อย รวมถึงเยื่อหุ้มเซลล์ และส่วนประกอบอื่นๆภายในเซลล์พืชก่อน ทำให้เนื้อเยื่ออ้อยโดยเฉพาะเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย ถูกทำลาย มีผลกระทบต่อการทำงานของอ้อย อีกทั้งยังส่งผลให้อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลมีจำนวนลดลง ก่อนที่จะเจอเป้าหมายอีกด้วย

ในกรณีที่ต้นอ้อยยังแสดงอาการใบขาว อาจเกิดจากอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลถูกใช้ทำปฏิกิริยา หมดก่อนหรือเหลือปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณเยื่อไฟโตพลาสมาที่อยู่ในท่อลำเลียงอาหาร ของอ้อย ทำให้ยังมีเชื้อเหลืออยู่ในท่อนพันธุ์อ้อยปริมาณมาก ส่งผลให้อ้อยแสดงอาการใบขาว

ในกรณีที่ดินอ้อยแสดงอาการใบเขียว แต่เมื่อนำไปตรวจหาเชื้อด้วยเทคนิค Nested PCR แล้วพบว่ายังมีเชื้ออยู่ อาจเป็นเพราะว่าสารอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลเข้าไปทำปฏิกิริยากับเชื้อไฟโตพลาสมาได้ในระดับหนึ่ง ทำให้ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีจำนวนลดลงอย่างมาก แต่กำจัดไม่ได้ทั้งหมด ส่งผลให้ท่อนพันธุ์อ้อยยังมีเชื้อแฝงอยู่ แต่ไม่แสดงอาการใบขาว

ในกรณีที่ดินอ้อยไม่งอก อาจเป็นเพราะอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลที่มีความเข้มข้นมาก เข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย เช่น ตา และ ราก ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของการเจริญเติบโตของพืช ในขณะที่อ้อยมีความอ่อนแอกว่าเชื้อ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจึงสร้างความเสียหายอย่างหนัก จนอ้อยไม่สามารถงอกได้ สังเกตได้เมื่อส่องคู่มือของผนังท่อลำเลียงจากอ้อยปกติหรืออ้อยที่แสดงอาการใบขาว หลังผ่านกระบวนการพลาสมาสารละลาย จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า พบว่าผนังของท่อลำเลียงมีลักษณะเป็นร่องขรุขระ แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อพืชอาจถูกทำลายด้วยพลาสมาสารละลาย

ปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการทำให้ท่อนพันธุ์อ้อยเจริญเติบโตและปลอดเชื้อมีดังนี้

- 1) ปริมาณความเข้มข้นของอนุมูลอิสระที่เหมาะสมกับปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีอยู่ในท่อนพันธุ์อ้อย
- 2) ระยะเวลาแช่ในสารละลายพลาสมาที่เหมาะสมกับปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีอยู่ในท่อนพันธุ์อ้อย
- 3) อุณหภูมิความร้อนอยู่ระหว่างค่าที่เหมาะสม ซึ่งควรอยู่ที่ระดับ 50 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้มีผลกระทบต่อการงอกของตาอ้อย

5.3 ปัญหาและอุปสรรคที่พบในการทำวิจัย

- 1) อ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง12 ที่แสดงอาการใบขาว พบในพื้นที่จังหวัดกำแพงเพชร ซึ่งอยู่ไกลจากห้องปฏิบัติการพลาสมา ทำให้การขนส่งมีความยากลำบาก ต้องใช้เวลานาน
- 2) อ้อยมีฤดูกาลปลูกและเก็บเกี่ยว ทำให้งานวิจัยเกิดความล่าช้า เนื่องจากต้องรอให้อายุอ้อยมีความเหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ ก่อนตัดนำมาทำการทดลอง
- 3) ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบด้วยเทคนิค Nested PCR ต้องใช้เวลานาน ใช้ทักษะในการปฏิบัติ และมีค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีและอุปกรณ์สูง
- 4) ห้องปฏิบัติการพลาสมา ไม่มีสิ่งอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน เช่น อ่างล้างทำความสะอาด ทำให้ต้องเพิ่มระยะเวลาการเดินทางไป/กลับ เพื่อทำความสะอาดถึงปฏิกิริยาจากห้องอื่น และมีเวลาจำกัดสำหรับการปฏิบัติการทดลองในแต่ละวัน

5.4 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัย

5.4.1 ข้อเสนอแนะเบื้องต้นเกี่ยวกับการนำไปใช้จริง

แนวทางการทำวิจัยที่สามารถนำไปใช้จริงได้ โดยอ้างอิงจากปัญหาและอุปสรรคที่ผู้วิจัยพบขณะปฏิบัติงาน มีรายละเอียดดังนี้

1. การขนส่งอ้อย ควรตัดใบอ้อยบางส่วนทิ้ง และใช้กระสอบพันรอบๆ ลำอ้อย เพื่อลดการคายน้ำ ระหว่างการเดินทาง
2. ปลุกอ้อยเอง เพื่อควบคุมปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวที่แฝงอยู่ในต้นอ้อย
3. วางแผนการทดลองให้สัมพันธ์กับฤดูกาลปลูกและเก็บเกี่ยวของไร่อ้อย และวางแผนการทดลองแต่ละชุดการทดลองให้อยู่ในเวลาเดียวกัน เพื่อไม่ให้เกิดความคลาดเคลื่อนของข้อมูลจากปัจจัยด้านอุณหภูมิ สภาพอากาศ และอายุปลูกของอ้อย
4. ฝึกทักษะปฏิบัติในห้องปฏิบัติการจนเกิดความชำนาญ และวางแผนล่วงหน้าก่อนปฏิบัติงานทุกครั้ง
5. ควรมีระบบพลาสมาสารละลายในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา

5.4.2 แนวทางการทำวิจัยในอนาคต

เสนอแนะเกี่ยวกับแนวทางการทำวิจัยที่เป็นไปได้ในอนาคต โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ทดลองใช้กระบวนการพลาสมาสารละลายกับท่อนพันธุ์อ้อยสายพันธุ์อื่นๆที่มีความแข็งแรง ด้านทางโรคสูง และมีเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยแฝงอยู่ในปริมาณน้อย เช่น อ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 เป็นต้น
2. ทดลองใช้กระบวนการพลาสมาสารละลาย ร่วมกับเทคนิคอื่นๆที่ช่วยฆ่าเชื้อ เช่น ระบบฟองอากาศขนาดไมโครหรือนาโน เป็นต้น