

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตอ้อย
2. โครงการวิจัย : โครงการวิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อย
กิจกรรม : การกำจัดเชื้อสาเหตุโรคใบขาวในเนื้อเยื่ออ้อย
กิจกรรมย่อย :-

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย):

การศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาต่อการตอบสนองและการแสดงอาการโรคใบขาวในอ้อย

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ):

Effect of gamma irradiation on plant response and symptom expression in sugarcane infected with white leaf disease

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลองนางสาวศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน นางสาวอัมรารวรรณ ทิพย์วัฒน์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
นายวีรกรณ์แสงไสย	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

5. บทคัดย่อ

โรคใบขาวอ้อยเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาที่อาศัยอยู่ในท่ออาหารของอ้อย สามารถติดไปกับท่อนพันธุ์ และมีเชื้อจี้ก้านสีน้ำตาลเป็นแมลงพาหะนำเชื้อจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง อ้อยที่ติดเชื้อใบขาวแสดงอาการใบขาวได้เมื่อมีเชื้อในปริมาณเชื้อมากพอและมีการกระตุ้นให้เกิดสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช การกำจัดเชื้อในท่อนพันธุ์และในเนื้อเยื่ออ้อยด้วยวิธีการต่างๆ ยังไม่ประสบความสำเร็จ ทำให้การสร้างต้นปลอดเชื่อนั้นกระทำได้ยาก จากรายงานพบว่าอ้อยที่ติดเชื้อใบขาวจะเกิดความเครียดออกซิเดชันขึ้น (oxidative stress) รวมทั้งมีการสร้างสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองจากการติดเชื้อในพืช ในกรณีที่ติดเชือรระดับต่ำพืชอาจไม่มีการตอบสนองได้ ทำให้มีอาการแฝง การฉายรังสีเป็นอีกภาวะหนึ่งที่กระตุ้นสภาวะเครียดในพืชแบบชั่วคราวได้ ในงานวิจัยได้ทำการศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อการแสดงความเครียดออกซิเดชันในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวระดับต่างๆ และการแสดงอาการโรคใบขาวในอ้อยที่ได้รับการฉายรังสี สำหรับใช้เป็นแนวทางหนึ่งในการกำจัดเชื้อใบขาวในเนื้อเยื่ออ้อย โดยใช้ข้อตาอ้อยพันธุ์ KK3 ที่ติดเชื้อใบขาวเป็นต้นแบบในการทดลอง ผลการทดสอบความไว (Survival rate) ของข้อตาอ้อยพันธุ์ KK3 ที่ได้จากอ้อยที่ไม่มีอาการใบขาวต่อการฉายแกมมาแบบเฉียบพลันระดับ 0-150 Gy พบค่า LD₅₀ของระดับปริมาณรังสีที่ทำให้อ้อยพันธุ์ KK3 งอกได้ 50% ของจำนวนต้นทั้งหมดได้คือ 47 Gy โดยระดับรังสีที่ 90 Gy ขึ้นไป ต้นตายทั้งหมดระดับ 60 Gy มีอ้อยงอกได้ 30% แต่มีการเติบโตที่ช้าในระยะแรก และที่ 30 Gy มีการเจริญเติบโตปกติ พบว่ากลุ่มที่ไม่ฉายรังสีมีการแสดงอาการใบขาวมากกว่ากลุ่มฉายรังสี พบในปริมาณ 60.8% และ 14.3% ตามลำดับ ผลการ

ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี PCR เมื่อต้นอายุประมาณ 5 เดือนหลังปลูก ในกลุ่ม control ตรวจพบเชื้อได้ในระดับสูงในระดับ 1000-10,000 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ในหลายตัวอย่างและมีต้นแสดงอาการใบขาวมากกว่า ในกลุ่มฉายรังสีส่วนใหญ่ตรวจพบเชื้อในระดับน้อยกว่า 10 -100 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม และมีจำนวนต้นที่มีอาการใบขาวน้อยกว่า ผลการตรวจการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เมื่อต้นอายุได้ประมาณ 3 เดือนหลังออก พบว่าสารในกลุ่มความเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ กิจกรรมเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX), hydrogen peroxide (H₂O₂) ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) โดยรวมแล้วมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม control และกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี แต่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ คลอโรฟิลล์ โปรตีน โดยรวมแล้วมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม control ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากการลำและกอที่แสดงอาการใบขาว ในระดับ 20-80 Gy เมื่ออายุ 3 เดือนหลังปลูก พบว่ากลุ่มที่ฉายรังสีมีต้นที่มีอาการใบขาว 18.5-64.7% ส่วนกลุ่มควบคุมมีจำนวน 24.3-80.0% และพบว่ารังสีในระดับ 80 Gy ทำให้ต้นตายทั้งหมด ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากลำที่มีเชื้อใบขาวสูงแต่ไม่แสดงอาการ พบว่ากลุ่มที่ฉายรังสีมีต้นที่มีอาการใบขาว 4.5-15.6% ส่วนกลุ่มควบคุมมีจำนวน 5.9-21.4% และพบว่ารังสีในระดับ 80 Gy ยังมีต้นที่สามารถงอกได้ แสดงให้เห็นว่าอ้อยที่ติดเชื้อใบขาวในระดับสูงมีความอ่อนแอต่อการฉายรังสีมากกว่าต้นที่ติดเชื้อในระดับต่ำกว่า ระดับรังสีตั้งแต่ 60 ขึ้นไปพบว่าต้นที่มีอาการใบขาวตายทั้งหมดในเวลาต่อมา แต่อ้อยที่ไม่มีอาการใบขาวยังเจริญเติบโตได้ และมีจำนวนต้นที่แสดงอาการใบขาวมากขึ้นเมื่ออายุได้ 7 เดือนหลังปลูก การวิเคราะห์ในอ้อยที่ได้จากลำที่มีเชื้อใบขาวสูงแต่ไม่แสดงอาการ พบว่าระดับปริมาณเชื้อในเนื้อเยื่ออาจมีผลต่อประสิทธิภาพของการใช้รังสี รังสีที่ระดับ 20-60 Gy อาจสามารถกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีปริมาณเชื้อในเนื้อเยื่อประมาณ 1 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม หรือน้อยกว่าได้ ในขณะที่เชื้อในระดับ 1-10 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ฉายและไม่ฉายรังสี

6. คำนำ:

โรคใบขาวอ้อยเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาที่อาศัยอยู่ในท่ออาหารของอ้อย การกำจัดเชื้อในท่อนพันธุ์และในเนื้อเยื่ออ้อยด้วยวิธีการต่างๆ จากรายงานที่ผ่านมา ยังไม่ประสบความสำเร็จ นอกจากนี้จากการศึกษาเบื้องต้นยังพบว่าสามารถตรวจพบเชื้อใบขาวได้แม้ในอ้อยที่ได้จากการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มาจาก การเพาะส่วนเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด (apical meristem) ของอ้อย ซึ่งอ้อยที่ติดเชื้อใบขาวนี้จะแสดงอาการใบขาวได้เมื่อมีเชื้อในปริมาณเชื้อมากและมีการกระตุ้นให้เกิดสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (ศุจิรัตน์ และคณะ, 2558ข) การทดลองใช้สารต้านจุลชีพชนิดต่างๆ พบว่าลดปริมาณเชื้อลงได้บ้าง แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ การตรวจพบเชื้อได้ในเนื้อเยื่อคัลลัส รวมทั้งส่วนของดอก (ศุจิรัตน์ และคณะ, 2558ก) ทำให้การสร้างต้นปลอดเชื่อนั้นกระทำได้อย่างยาก และยังไม่มียวิธีที่ใช้กำจัดเชื้อนี้ได้มีประสิทธิภาพ

จากผลการศึกษาของ ศุจิรัตน์ และคณะ (2558ข) พบว่าอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน พบกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับที่สูงกว่าค่าปกติ พบปริมาณสาร Malondialdehyde ที่แสดงถึง lipid peroxidation สูงขึ้น รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกกลุ่ม phenolic ที่พืชสร้างขึ้นเมื่อถูกทำลายด้วยโรคและแมลงสูงขึ้นด้วย แสดงให้เห็น

ถึงการตอบสนองของพืชต่อภาวะเครียดจากการติดเชื้อ และยังพบว่าระดับความรุนแรงของอาการใบขาวมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มต้นที่มีปริมาณเชื้อมากแต่ยังไม่แสดงอาการ มักพบปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงมาก ในกลุ่มนี้หากถูกกระตุ้นด้วยภาวะแล้งแล้วให้น้ำ จะแสดงอาการใบขาวได้หลังจากนั้น ในทางตรงกันข้ามเมื่อทำการกระตุ้นสภาวะเครียดในกลุ่มต้นที่ไม่มีอาการใบขาวและมีปริมาณเชื่อน้อย จะไม่พบอาการใบขาวหลังจากที่อ้อยมีการฟื้นตัว แสดงให้เห็นว่าอ้อยที่มีเชื้อในปริมาณน้อย สามารถรักษาสมดุลและควบคุมการดำรงชีวิตได้

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ถูกสร้างขึ้นจากขบวนการออกซิเดชันนี้เป็นที่ทราบแล้วว่าเป็นพิษต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต มีรายงานว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสัญญาณส่งข้อมูลไปกระตุ้นการทำงานของขบวนการอื่นๆ ในพืช ในการป้องกันตัวเองอย่างเป็นระบบ (Petrovand Breusegem, 2012) จากรายงานพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีครึ่งชีวิตประมาณ 1 ms ซึ่งยาวนานกว่าอนุมูลอิสระ ROS ชนิดอื่นๆ รวมทั้งมีขนาดเล็ก สามารถผ่านผนังเซลล์ได้ ทำให้เคลื่อนที่ไปยังส่วนต่างๆได้ง่าย และไปกระตุ้นให้เกิดขบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ หลายชนิด อาทิเช่น การสร้างความต้านทานต่อเชื้อ การเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ การสร้างไฟโตอะเล็กซิน ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ และขบวนการตอบสนองอื่นๆ อีก (Bienert et al. 2006,).

ความเครียดออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นเมื่อพืชอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมอื่น เช่น ความเข้มแสงมาก สภาวะแล้ง โรคและแมลงเข้าทำลาย เป็นต้นเมื่อเกิดภาวะเครียดดังกล่าวขึ้น พืชจะมีการกำจัดอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อไม่ให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ ในกรณีที่พืชมีสภาพแข็งแรง การกำจัดอนุมูลอิสระสามารถกระทำได้ และฟื้นตัวได้ แต่ในกรณีที่พืชไม่แข็งแรง เช่น ถูกเชื้อเข้าทำลายอย่างรุนแรง พืชจะไม่สามารถฟื้นตัวได้ และตายในที่สุด (Smirnoff and Arnaud, 2019; Medhy, 1994)จากการสังเกตพบว่าในใบอ้อยที่เคยแสดงอาการใบขาวที่ไม่รุนแรง เมื่อถึงวันฟื้นตัวพบว่าสีใบสามารถเปลี่ยนกลับเป็นเขียวได้อีกโดยไม่ได้ใช้ปุ๋ย แสดงให้เห็นว่าอ้อยอาจมีการตอบสนองต่อการเข้าทำลายและสามารถฟื้นตัวจากการถูกเข้าทำลายนั้นได้จากการศึกษาพบว่าในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวในระดับต่ำหรือมีปริมาณเชื่อน้อย จะไม่แสดงอาการใบขาว และพบว่ามีสารและปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันในระดับต่ำใกล้เคียงกับระดับปกติ (ศุจิรัตน์ และคณะ. 2558)การตอบสนองในระดับต่ำนี้อาจจะเป็นระดับที่ไม่สามารถใช้ในการจัดการการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ในกรณีที่พืชมีการติดเชื้อในระดับต่ำมาก อาจจะมีปริมาณไม่ถึงระดับที่ภูมิคุ้มกันของพืชสามารถตรวจจับได้ (Sanabria et al., 2010) จัดเป็นอาการแฝงของโรคและจะแสดงอาการเมื่อเชื้อมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นในขณะที่พืชอ่อนแอลงจากภาวะเครียด

การกระตุ้นให้พืชเกิดปฏิกิริยาต่อต้านอนุมูลอิสระสามารถเกิดได้ทั้งจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มแสง รังสีและจากสิ่งมีชีวิต (biotic stress) เช่น โรค แมลงต่างๆ บางชนิดต้องใช้ระยะเวลาช่วงหนึ่งในการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง แต่บางชนิดใช้เวลารวดเร็ว ตัวอย่างเช่น การฉายรังสีซึ่งสามารถกำหนดปริมาณและระยะเวลาในการฉายรังสีได้ขึ้นกับจุดประสงค์ ทั้งนี้พบว่าการเพิ่มขนาดการฉายรังสีแกมมา กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระมากขึ้นใน Arabidopsis และยังพบว่ายีน 33 ชนิดจาก 42 ชนิดที่มีการแสดงออกที่เปลี่ยนไป เป็นยีนที่สัมพันธ์กับปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระและการขบวนการส่งสัญญาณไปยังระบบอื่นให้มีการผลิตสารในการต่อต้านขึ้น (Kim et al., 2011) Moghaddam et al. (2011) รายงานว่า การฉายรังสีแกมมาชนิด

เฉียบพลันในปริมาณ 20 and 30 Gy ทำให้ต้นใบบัวบก (*Centella asiatica*) ผลิตสาร flavonoid ได้สูงกว่าต้นควบคุมมาก หลังจากการเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 8 สัปดาห์

การฉายรังสีในระดับที่เหมาะสมแบบเฉียบพลัน อาจจะนำมาใช้เป็นภาวะในการกระตุ้นสภาวะเครียดออกซิเดชันชั่วคราวได้ และอาจทำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันชั่วคราวที่สามารถกำจัดเชื้อระดับต่ำนี้ได้ หากมีการกระตุ้นให้พืชที่มีเชื้ออยู่ในปริมาณต่ำ และยังมีความแข็งแรง ยังไม่แสดงอาการโรคในสภาพธรรมชาติ ให้เกิดความเครียดออกซิเดชันขึ้นชั่วคราว อาจจะทำให้พืชสามารถกำจัดเชื้อได้ด้วยตัวเองโดยไม่ต้องใช้สารเคมีได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อการแสดงความเครียดออกซิเดชันในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวระดับต่างๆ และการแสดงอาการโรคใบขาวในอ้อยที่ได้รับการฉายรังสี สำหรับใช้เป็นแนวทางหนึ่งในการกำจัดเชื้อใบขาวในเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อการขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่นต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์: เครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสง เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลาย เครื่องปั่นเหวี่ยง หลอดขนาด 1 มล. เครื่องตรวจดีเอ็นเอ เครื่องแยกสารด้วยกระแสไฟฟ้า กระจกพลาสติก ดินสำหรับเพาะต้นกล้า

ตัวอย่างพืช : อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ได้จากอ้อยที่มีและไม่มีอาการใบขาว

วิธีการ : แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนการทดลอง

1. การทดสอบหาความไว (Survival rate) ของอ้อยต่อการฉายรังสี

- การวางแผนการทดลอง : -

- วิธีการทดลอง : ใช้ลำอ้อยที่ไม่มีอาการใบขาว ตัดข้อ นำไปแช่น้ำร้อนที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งไว้ข้ามคืนนำไปฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ระดับ 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 เกรย์ (Gy) ระดับละ 70 ตัวอย่างนำตัวอย่างที่ได้มาเพาะเลี้ยงในวัสดุปลูกใหม่ ดูแลรักษา ให้น้ำ บันทึกอัตราการรอดชีวิตหลังการเพาะเลี้ยงต่อ 30-45 วัน ในแต่ละระดับของการฉายรังสีวิเคราะห์ค่าความไวต่อการฉายรังสีโดยการตรวจเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของการฉายรังสีแต่ละระดับ และคำนวณหา LD_{50} (50% lethality) ของตัวอย่าง

2 การฉายรังสีและการทดสอบปฏิกิริยาตอบสนองต่อการฉายรังสีแกมมา

- การวางแผนการทดลอง : -

- วิธีการทดลอง: คัดเลือกลำอ้อยที่มีและไม่มีอาการใบขาวนำมาตัดข้อแล้วนำตัวอย่างอ้อยที่ได้ไปฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ระดับรังสี 0-90 Gy ระดับละ 50-100 ข้อนำตัวอย่างที่ได้มาเพาะเลี้ยงในวัสดุปลูกใหม่ แล้วดูแลรักษา ให้น้ำ บันทึกอัตราการรอดชีวิตหลังการเพาะเลี้ยงต่อ 30-45 วัน ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวอย่างด้วยเทคนิคพีซีอาร์ตามวิธีการ Sakuanrungsirikul *et al.* (2013) หลังการฉายรังสีแต่ละระดับตรวจการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในปฏิกิริยาออกซิเดชันตามรายงานของ ศุภจิรัตน์ และคณะ (2558ก) ก่อนการฉายรังสีแต่ละระดับ

บันทึกข้อมูล: จำนวนต้นที่รอดจากการฉายรังสีแต่ละระดับ และระดับรังสีที่ LD_{50} ข้อมูลปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวอย่างหลังการฉายรังสีข้อมูลค่าของกิจกรรมเอนไซม์เอนไซม์ในกลุ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างหลังการฉายรังสี

เวลาและสถานที่ : ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2558 – กันยายน 2562

สถานที่ดำเนินการทดลอง: ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ความไว (Survival rate) ของอ้อยพันธุ์ KK3 ต่อการฉายรังสี :

การทดสอบโดยการคัดเลือกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีลำสมบูรณ์ ไม่มีอาการใบขาว ตัดข้อ นำไปแช่น้ำร้อนที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ก่อนนำไปฉายรังสี จากนั้นนำข้อที่ได้ ไปฉายแกมมาแบบเฉียบพลัน ใช้รังสีขนาด 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 เกรย์ (Gy) ทำการฉายรังสีชุดละ 70 ข้อ บันทึกอัตราการรอดชีวิตหลังการเพาะเลี้ยงทำการฉายรังสีที่ศูนย์วิจัยนิเวศลิยร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผลการฉายรังสีพบว่าระดับรังสีที่ 90 Gy ขึ้นไป ไม่มีต้นอ้อยงอกได้ ส่วนในระดับ 60 Gy มีอ้อยงอกได้ 30% แต่มีการเติบโตที่ช้า และต้นเล็กกว่ากลุ่ม control ในขณะที่กลุ่มรังสีที่ 30 Gy มีการเจริญเติบโตปกติ (Table 1) แสดงให้เห็นว่าอัตราการรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันระดับ 60 Gy ขึ้นไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของอ้อยพันธุ์ KK3 จากการสังเกตอาการใบขาวพบว่าเริ่มแสดงออกหลังการฉายรังสีได้ประมาณ 2 เดือน หลังต้นเริ่มเจริญเติบโต และมีอัตราการเกิดเพิ่มมากขึ้นในกลุ่ม control ที่ไม่ได้มีการฉายรังสี โดยพบในปริมาณ 60.8% จากจำนวนต้นที่งอก เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี (Table 1)

Table 1 Seedling germination rates and white leaf symptom of sugarcane var. KK3 after acute gamma irradiation at doses 0-150 Gy recorded at 2 months after planting

Radiation dose (Gy)	No. of plant	Germinated seedlings (%)*	Asymptomatic plants (%)**	White leaf plants (%)**	N.B. Plant appearance
0	70	51 (72.8%)	21 (41.2%)	30 (60.8%)	
30	70	35 (50.0%)	30 (85.7%)	5 (14.3%)	normal growth
60	70	21 (30.0%)	21 (100%)	0 (0%)	Short and small
90	70	0	0	0	
120	70	0	0	0	
150	70	0	0	0	

* calculated from total plants tested

** calculated from germinated seedlings

จากการตรวจความงอกของต้นอ่อนที่เพาะได้หลังจากการฉายรังสี พบค่า LD₅₀ ของระดับปริมาณรังสีที่ทำให้อ้อยพันธุ์ KK3 งอกได้ 50% ของจำนวนต้นทั้งหมดได้คือที่ 47 Gy (Figure 1)

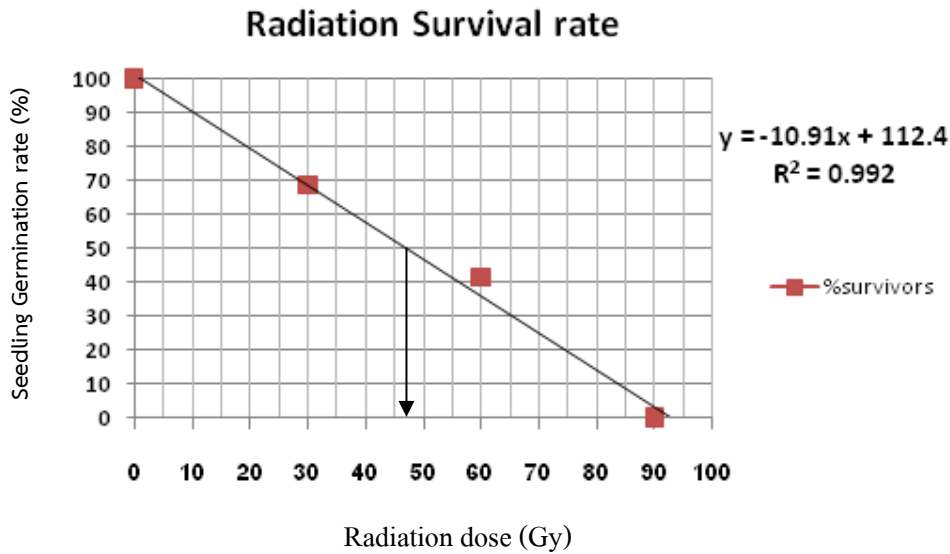


Figure 1. Survival rate of sugarcane var. KK3 seedling to acute gamma irradiation

ผลการตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี PCR เมื่อต้นอายุประมาณ 5 เดือนหลังปลูก ในกลุ่ม control สามารถตรวจพบเชื้อได้ในระดับสูงหรือมีเชื้อในระดับ 1000-10,000 เซลล์ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม (ตำแหน่ง 700 bp 2+, ตำแหน่ง 210 bp 4+, secA 3+) ได้ในหลายตัวอย่าง ซึ่งหมายถึงสามารถแสดงอาการใบขาวได้ในเวลาต่อมาหรือมีอาการใบขาวแล้วสามารถตรวจพบต้นที่มีอาการใบขาวจำนวนมากกว่ากลุ่มที่ฉายรังสี ส่วนในตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสี สามารถตรวจพบเชื้อได้เช่นกันในการตรวจที่ตำแหน่ง 700 bp 2+, ตำแหน่ง 210 bp 4+ แต่ปริมาณเชื้อตรวจด้วย secAพบว่ามึระดับที่น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่ามีปริมาณในระดับ น้อยกว่า 10 -100 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม และมีจำนวนต้นที่มีอาการใบขาวน้อยกว่า (Figure 2)

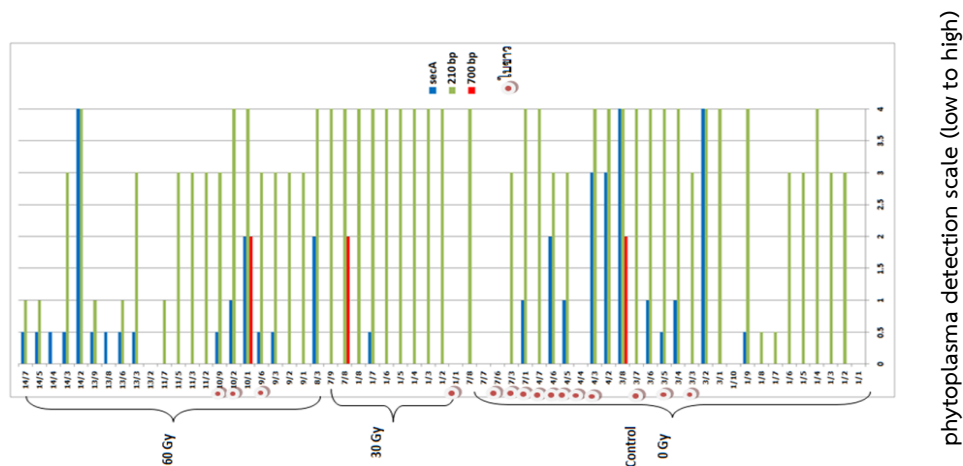


Figure 2. Sugarcane white leaf phytoplasma concentration in leaves of acute gamma irradiated sugarcane var. KK3 seedlings at 5 months after planting detected by 16S-23S rDNA nested PCR method with 700 bp and 210 bp amplification products and secA gene PCR amplification products

ผลการตรวจการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เมื่อต้นอายุได้ประมาณ 3 เดือนหลังจาก พบว่าสารในกลุ่ม ความเครียดออกซิเดชันได้แก่ กิจกรรมเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX), hydrogen peroxide (H₂O₂) ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และปริมาณแป้ง โดยรวมแล้วมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม control และกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี (Figure 3)

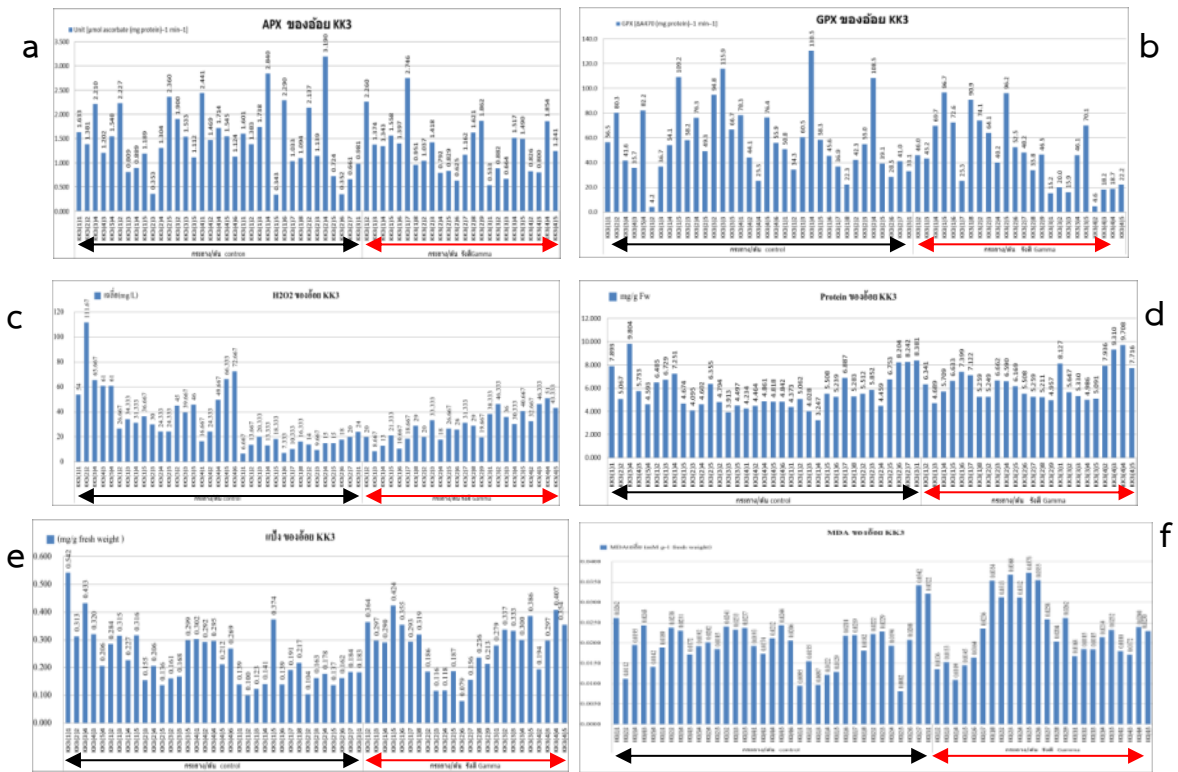


Figure 3. Biochemical enzymes and substances in acute gamma irradiated sugarcane var.KK3 seedlings at 0 and 30 Gy in 3 months after planting (a) APX: ascorbate peroxidase (b) GPX : guaiacol peroxidase (c) H₂O₂: hydrogen peroxide (d) total protein (e) total starch (f) MDA :malondialdehyde (0 Gy : ↔ ; 30 Gy : ↔)

แต่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ คลอโรฟิลล์ โปรตีน โดยรวมแล้วมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม control ส่วน น้ำตาลรวมพบว่ามีความต่ำกว่า (Figure 4) การพบว่าสารประกอบฟีนอลิกส์มีปริมาณสูงขึ้นประมาณ 0.5 เท่า ในกลุ่ม ที่ผ่านการฉายรังสี อาจเกิดจากความเครียดจากรังสี รวมทั้งโปรตีนที่แสดงถึงปัญหาภาวะ osmotic ของเซลล์

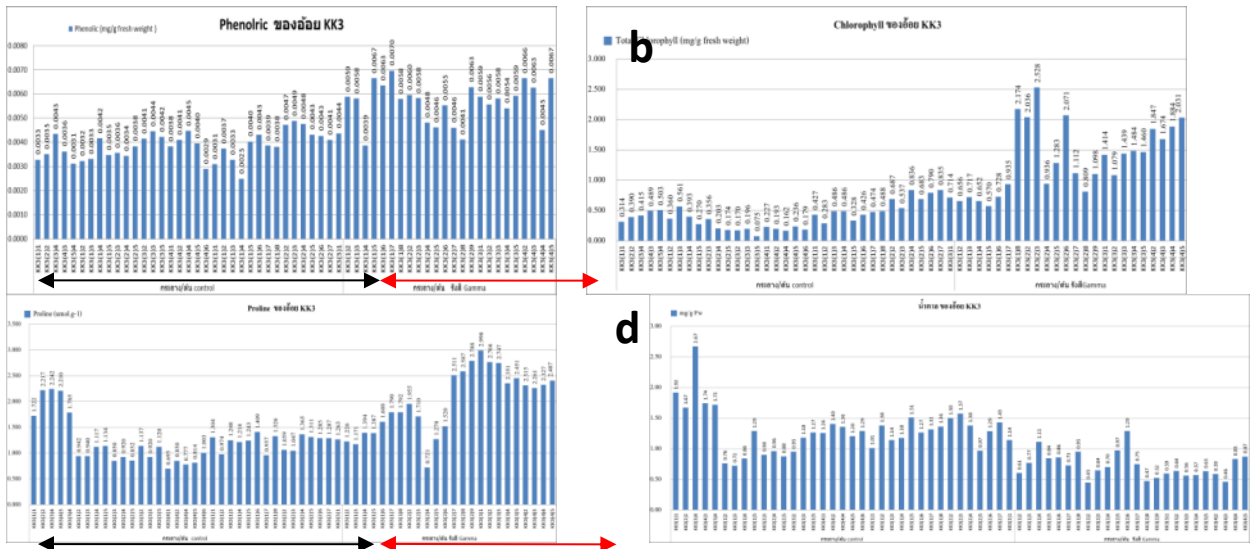


Figure 4. Biochemical enzymes and substances in acute gamma irradiated sugarcane var.KK3 seedlings at 0 and 30 Gy in 3 months after planting (a) Phenolics: phenolic compounds (b)chlorophyll (c) proline (d) total protein (e) total sugar (0 Gy: $\blackleftarrow\blackrightarrow$; 30 Gy : $\blackleftarrow\blackrightarrow$)

ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากการลำและกอที่แสดงอาการใบขาว

การทดสอบปริมาณการฉายรังสีที่ต่ำกว่าและสูงกว่าค่า LD_{50} ต่อการติดเชื้อโรคใบขาวในอ้อย ดำเนินการโดยใช้อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุประมาณ 8 เดือน ที่มีอาการใบขาวที่ยอด และจากกอที่มีอาการใบขาว จำนวน 52 ลำ และจากกอที่ไม่มีอาการใบขาว จำนวน 30 ลำ แบ่งตัวอย่างจากทั้งสองกลุ่มเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนอ้อยข้อเลขคู่ และส่วนข้อเลขคี่ นับจากโคนต้นเพื่อให้ได้กลุ่มตัวอย่างที่มีกระจายตัวของปริมาณเชื้อภายในลำที่ถูกต้องที่สุดในการเปรียบเทียบผล บันทึกรายชื่อข้อและลำ โดยใช้การเทียบผลจากการทดสอบในแต่ละลำเพื่อลดความผิดพลาดของระดับปริมาณเชื้อนำกลุ่มข้อที่ได้แต่ละชุด แบ่งเป็นกลุ่มควบคุม อีกชุดหนึ่งเป็นกลุ่มทดสอบ นำกลุ่มทดสอบไปฉายรังสีแกมมาชนิดเฉียบพลัน ในระดับ 20, 40, 60 และ 80 เกรย์ ส่วนกลุ่มชุดควบคุมไม่มีการฉายรังสี ในการฉายรังสีกลุ่มอ้อยที่มาจากลำที่มีใบขาว สามารถแบ่งตัวอย่างเพื่อฉายรังสีที่ระดับ 20, 40, 60 และ 80 เกรย์ ได้จำนวน 72, 66, 72 และ 67 ข้อ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มอ้อยที่มาจากลำที่ไม่มีอาการใบขาว สามารถแบ่งตัวอย่างเพื่อฉายรังสีที่ระดับดังกล่าวได้จำนวน 39, 41, 44 และ 35 ข้อ ตามลำดับ

การตรวจอาการใบขาวในต้นที่ทดสอบเมื่ออายุ 3 เดือนหลังปลูก พบว่ากลุ่มที่นำไปฉายรังสีมีเปอร์เซ็นต์ต้นเขียวมากกว่ากลุ่มควบคุม จากผลการทดลองนี้ยังคงแสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีในระดับต่ำ อาจช่วยลดต้นที่แสดงอาการใบขาวได้ แต่รังสีในระดับ 80 Gy พบว่าต้นตายทั้งหมด (Table 2)

Table 2 Germination rates and white leaf symptom after acute gamma irradiation doses of 20, 40, 60 and 80 Gy of seedlings from sugarcane var. KK3 infected with white leaf disease recorded at 3 months after planting

Radiation dose (Gy)	total plants	Control group			Irradiation group		
		Germinated seedlings (%)*	Asymptomatic plant (%)**	White leaf plant (%)**	Germinated seedlings (%)*	Asymptomatic plant (%)**	White leaf plant (%)**
20	111	51.4	75.7	24.3	37.5	81.5	18.5
40	107	22.7	20.0	80.0	25.8	35.3	64.7
60	116	51.4	37.8	62.2	29.4	52.4	47.6
80	102	50.7	52.9	47.1	1.5	100.0	0.0

* calculated from total plants tested

** calculated from germinated seedlings

ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากลำที่มีเชื้อใบขาวสูงแต่ไม่แสดงอาการ

การศึกษาในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 โดยใช้ลำอายุประมาณ 12 เดือน ที่มีไม่มีอาการใบขาว แต่มีเชื้อใบขาวสูงโดยต่อแสดงอาการใบขาว นำตัวอย่างดังกล่าวมาแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนอ้อยข้อเลขคู่ และส่วนข้อเลขคี่จากโคนต้น นำส่วนหนึ่งไปฉายรังสีแกมมาชนิดเฉียบพลัน ในระดับ 20, 40, 60 และ 80 เกรย์ อีกส่วนหนึ่งเป็นชุดควบคุม ไม่ฉายรังสี พบว่ามีความงอกดี และกลุ่มฉายรังสีมีเปอร์เซ็นต์ต้นที่มีอาการใบขาวน้อยกว่ากลุ่ม control ที่ไม่ได้ฉายรังสี (Table 3) ที่ระดับรังสี 20-40 Gy มีต้นตายน้อยกว่าระดับรังสี 60-80 Gy จากการวิเคราะห์ตัวอย่างระดับลำที่ทดสอบ ที่ระดับรังสี 20 Gy พบว่าในบางลำส่วนที่นำไปฉายรังสีไม่มีอาการใบขาว แต่ส่วนที่ไม่ได้ฉายรังสีพบว่ามีอาการใบขาวทั้งหมด (ลำที่ 20Gy-8 และ 13) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระดับปริมาณเชื้อที่อาจถูกกำจัดได้ด้วยการฉายรังสี ในขณะที่บางลำพบว่าการแสดงอาการใบขาวทั้งสองส่วน (ลำที่ 20Gy-11 และ 12) แสดงถึงระดับปริมาณเชื้อที่อาจไม่สามารถกำจัดได้ด้วยการฉายรังสี เช่นเดียวกับระดับ 40 Gy (ลำที่ 40Gy-30, 37, 38 และ 39) ในขณะที่ระดับรังสีตั้งแต่ 60 ขึ้นไป พบว่าต้นที่มีอาการใบขาวตายทั้งหมด ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีในระดับต่ำที่ 20-40 Gy อาจสามารถกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีปริมาณระดับไม่สูงมากได้ ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์ระดับปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวอย่างที่กล่าวไว้ข้างต้น

ในการวิเคราะห์ในรายละเอียดเฉพาะลำที่ทดสอบ จากการเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ฉายรังสี ในลำที่มีอาการใบขาว เมื่อฉายรังสีแล้วพบว่าส่วนใหญ่ตาย แต่ในระดับ 20 Gy ลำที่ 8, 13 พบว่ากลุ่มควบคุมมีอาการใบขาวและตายส่วนใหญ่ แต่กลุ่มฉายรังสีไม่แสดงอาการใบขาว แต่ในลำที่ 12 พบว่าการแสดงอาการใบขาวทั้งสองกลุ่ม ในระดับ 40 Gy ลำที่มีอาการใบขาวตายทั้งหมดในทั้งสองกลุ่ม ซึ่งอาจไม่ได้เกิดจากความแรงของรังสี ส่วนในระดับ 60 Gy พบว่าต้นใบขาวกลุ่มไม่ฉายรังสี มีต้นที่ยังคงเติบโตได้ ส่วนต้นที่ฉายรังสีตายทั้งหมด เช่นเดียวกับระดับ 80 Gy แสดงให้เห็นว่าระดับ 60 Gy เป็นระดับที่อ้อยที่ไม่มีอาการใบขาวยังคงรอดได้

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีในระดับ 20 Gy อาจสามารถควบคุมหรือลดปริมาณเชื้อใบขาวลงได้ แต่ทั้งนี้อาจขึ้นกับปริมาณเชื้อตั้งต้น หากมีเชื้อตั้งต้นในปริมาณที่สูงมาก เมื่อทำการฉายรังสี อาจไม่สามารถลดปริมาณลงได้ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาระดับปริมาณเชื้อที่สามารถควบคุมได้ด้วยการฉายรังสี

Table 3. Percentage of sugarcane var. KK 3 seedlings with white leaf symptom after acute gamma irradiation at doses 20-80 Gy

Radiation dose	control			Irradiation		
	Total plant	symptomatic	%	Total plant	symptomatic	%
20 Gy	95	14	14.7	98	9	9.2
40 Gy	84	18	21.4	90	14	15.6
60 Gy	86	16	18.6	77	8	10.4
80 Gy	85	5	5.9	22	1	4.5

ผลการบันทึกการเจริญเติบโตและอาการใบขาวต่อเนื่องในต้นอ้อยเมื่ออายุได้ 7 เดือนหลังปลูก พบว่ามีต้นตายมากขึ้น สาเหตุเนื่องจากการปลูกในกระถาง พบว่าที่ระดับรังสี 60 Gy มีต้นที่แสดงอาการใบขาวมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีน่าจะสามารถลดปริมาณเชื้อใบขาวได้ และเชื้ออาจมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นในเวลาต่อมา จนถึงปริมาณที่ทำให้อ้อยแสดงอาการใบขาวได้ในเวลาต่อมา (Table 4)

Table 4. Number of surviving sugarcane var KK3 plants in control and irradiated groups at 3 and 7 months after planting

Radiation dose	Control				Irradiation			
	Total plant	Surviving plant at	Symptomatic plant at	Symptomatic plant at	Total plant	Surviving plant at	Symptomatic plant at	Symptomatic plant at
		7 months	3 months	7 months		7 months	3 months	7 months
20 Gy	95	50	14	5	98	58	9	2
40 Gy	84	46	18	0	90	43	14	0
60 Gy	86	63	16	2	77	19	8	13
80 Gy	85	70	5	5	22	8	1	0

การทดลองในตัวอย่างอ้อยพันธุ์ KKขอนแก่น 3 จากบ้านหินลาด อ.เมือง จ.ขอนแก่น โดยเก็บลำจากกอใบขาวที่ไม่แสดงอาการโรค นำไปฉายรังสีระดับ 20, 40 และ 60 Gy โดยให้ข้อคู่เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ฉายรังสี และข้อคี่นำไปฉายรังสี ดำเนินการกลุ่มละ 100 ข้อ พบว่าบางต้นเริ่มแสดงอาการใบขาวหลังการปลูกได้ประมาณ 45 วัน แต่พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ ประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างทั้งหมดที่ทดสอบ พบใบขาวในกลุ่มฉายรังสีที่ระดับ 20 Gy ในระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งกลุ่มที่ไม่ฉายรังสีและฉายรังสี ส่วน

กลุ่มที่ฉายรังสีสูงขึ้นไม่พบใบขาวทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี (Table 5) ดังนั้นการไม่แสดงอาการใบขาวในกลุ่มรังสีที่ 40 และ 60 Gy อาจไม่ใช่ผลจากการฉายรังสี

Table 5. Germination rates and white leaf symptom after acute gamma irradiation doses of 20, 40 and 60 Gy of seedlings from sugarcane var. KK3 infected with white leaf disease recorded at 1.5 months after planting

Radiation dose (Gy)	total plants	Control group			Irradiation group		
		Germinated seedlings (%)*	Asymptomatic plant (%)**	White leaf plant (%)**	Germinated seedlings (%)*	Asymptomatic plant (%)**	White leaf plant (%)**
20	100	49	96	4	41	95	5
40	100	46	100	0	42	100	0
60	100	52	100	0	41	100	0

* calculated from total plants tested

** calculated from germinated seedlings

ผลการตรวจปริมาณเชื้อใบขาวในตัวอย่างชุดบ้านหินลาด ในกลุ่มต้นที่งอกซึ่งมี พบเชื้อใบขาวมีปริมาณตั้งแต่ น้อยกว่า 0.5 ถึง 100,000 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม ส่วนใหญ่มีเชื้อในระดับน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม ในกลุ่มที่มีเชื้อในระดับสี่สัปดาห์ (10-100 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม) และสี่เหลี่ยมน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม สามารถแสดงอาการใบขาวได้ใน 4 -10 เดือนต่อมา ซึ่งพบได้ทั้งในกลุ่มฉายรังสีในระดับ 20-60 Gy และกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการฉายรังสี แสดงให้เห็นว่าระดับรังสีดังกล่าว ไม่สามารถกำจัดเชื้อในระดับสี่สัปดาห์ขึ้นไปได้ หรือ มีเชื่อน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม (Appendix Table 1) ดังนั้นในกรณีที่พืชยังแข็งแรง ไม่แสดงอาการใบขาวในระยะเริ่มต้น อาจต้องใช้รังสีที่สูงขึ้นกว่า 60 Gy ในการทดสอบ หรือต้องใช้ตัวอย่างที่มีเชื้อในระดับสี่สัปดาห์ (1 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม) หรือสีฟ้าที่ต่ำกว่า 1 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม หรือระดับที่น้อยกว่า

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการทดสอบความไว (Survival rate) ของอ้อยพันธุ์ KK3 ที่ต่อการฉายแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยใช้รังสีขนาด 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 Gy ในตัวอย่างอ้อยที่ได้จากกอที่ไม่แสดงอาการใบขาว พบค่า LD₅₀ของระดับปริมาณรังสีที่ทำให้อ้อยพันธุ์ KK3 งอกได้ 50% ของจำนวนต้นทั้งหมดได้คือที่ 47 Gy โดยระดับรังสีที่ 90 Gy ขึ้นไป ไม่มีต้นอ้อยงอกได้ ในระดับ 60 Gy มีอ้อยงอกได้ 30% แต่มีการเติบโตที่ช้าในระยะแรก และที่ 30 Gy มีการเจริญเติบโตปกติ การแสดงอาการใบขาวพบว่าเริ่มแสดงออกหลังการฉายรังสีได้ประมาณ 2 เดือน ในกลุ่ม control พบในปริมาณ 60.8% จากจำนวนต้นที่งอก กลุ่มที่ผ่านการฉายรังสีพบในปริมาณ 14.3% ผลการตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี PCR เมื่อต้นอายุประมาณ 5 เดือนหลังปลูก ในกลุ่ม control ตรวจพบเชื้อได้ในระดับสูงในระดับ 1000-10,000 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีช 25 นาโนกรัม ในหลายตัวอย่างและมีต้นแสดงอาการใบขาวมากกว่า ในกลุ่มฉายรังสีส่วนใหญ่ตรวจพบเชื้อในระดับน้อยกว่า 10 -100 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอ

เอพีซ 25 นาโนกรัม และมีจำนวนต้นที่มีอาการใบขาวน้อยกว่า ผลการตรวจการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เมื่อต้นอายุได้ประมาณ 3 เดือนหลังงอก พบว่าสารในกลุ่มความเครียดออกซิเดชั่น ได้แก่ กิจกรรมเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX), hydrogen peroxide (H₂O₂) ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) โดยรวมแล้วมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม control และกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี แต่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ คลอโรฟิลล์ โพรทีน โดยรวมแล้วมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม control

ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากการลำและกอที่แสดงอาการใบขาว ในระดับ 20, 40, 60 และ 80 เกรย์ เมื่ออายุ 3 เดือนหลังปลูก พบว่ากลุ่มที่ฉายรังสีมีต้นที่มีอาการใบขาว 18.5-64.7% ส่วนกลุ่มควบคุมมีจำนวน 24.3-80.0% และพบว่ารังสีในระดับ 80 Gy ทำให้ต้นตายทั้งหมด ผลของการฉายรังสีต่อการเกิดอาการใบขาวในอ้อยที่ได้จากลำที่มีเชื้อใบขาวสูงแต่ไม่แสดงอาการ พบว่ากลุ่มที่ฉายรังสีมีต้นที่มีอาการใบขาว 4.5-15.6% ส่วนกลุ่มควบคุมมีจำนวน 5.9-21.4% และพบว่ารังสีในระดับ 80 Gy ยังมีต้นที่สามารถงอกได้ ที่ระดับรังสี 20-40 Gy มีต้นตายน้อยกว่าระดับรังสี 60-80 Gy แสดงให้เห็นว่าอ้อยที่ติดเชื้อใบขาวในระดับสูงมีความอ่อนแอต่อการฉายรังสีมากกว่าต้นที่ติดเชื้อในระดับต่ำกว่า

จากการวิเคราะห์ผลการทดสอบในอ้อยที่ได้จากลำที่มีเชื้อใบขาวสูงแต่ไม่แสดงอาการ พบว่าระดับปริมาณเชื้อในเนื้อเยื่ออาจมีผลต่อประสิทธิภาพของการใช้รังสีระดับ 20-60 Gy ในการกำจัด อาจสามารถกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีปริมาณระดับไม่สูงมากได้ ระดับรังสีตั้งแต่ 60 ขึ้นไปพบว่าต้นที่มีอาการใบขาวตายทั้งหมด แต่อ้อยที่ไม่มีอาการใบขาวยังเจริญเติบโตได้ และมีจำนวนต้นที่แสดงอาการใบขาวมากขึ้นเมื่ออายุได้ 7 เดือนหลังปลูก แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีน่าจะสามารถลดปริมาณเชื้อใบขาวได้ในระยะเริ่มต้นได้

การทดลองฉายรังสีระดับ 20-60 Gy ในตัวอย่างที่ได้จากลำจากกอใบขาวที่ไม่แสดงอาการโรค พบความงอกเพียง 50% ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ เกิดจากท่อนพันธุ์อ่อนแอจากโรคใบขาว ผลการตรวจปริมาณเชื้อใบขาวในตัวอย่างทั้งหมดพบเชื้อในระดับ น้อยกว่า 0.5 ถึง 100,000 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม ส่วนใหญ่มีเชื้อในระดับน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม ในกลุ่มที่มีเชื้อในระดับสี่สาม (10-100 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม) และสี่เหลืองน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม สามารถแสดงอาการใบขาวได้ใน 4 -10 เดือนต่อมา ซึ่งพบได้ทั้งในกลุ่มฉายรังสีในระดับ 20-60 Gy และกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการฉายรังสี แสดงให้เห็นว่าระดับรังสีดังกล่าว ไม่สามารถกำจัดเชื้อในระดับสี่เหลืองขึ้นไปได้ หรือ มีเชื้อน้อยกว่า 10 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม ดังนั้นในกรณีที่มีพืชยังแข็งแรง ไม่แสดงอาการใบขาวในระยะเริ่มต้น อาจต้องใช้รังสีที่สูงขึ้นกว่า 60 Gy ในการทดสอบ หรือต้องใช้ตัวอย่างที่มีเชื้อในระดับสี่เขียว (1 เซลล์ต่อดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม) หรือสี่ฟ้าที่ต่ำกว่า 1 เซลล์ต่อไมโครลิตรในดีเอ็นเอพีซ 25 นาโนกรัม หรือระดับที่น้อยกว่า

9. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

9.1 เผยแพร่ผลการทดลองโดยการตีพิมพ์ผลงานในวารสารทางวิชาการ การนำเสนองานภาคบรรยายหรือโปสเตอร์ในการประชุมทางวิชาการ

9.2 พัฒนาต่อโดยการทดสอบในอ้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

10. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกร นายสนอง โพธิ์ตาทอง และครอบครัว นักวิชาการเกษตรของศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น หลายท่าน นางสาววีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์ และนักวิชาการผู้ช่วย นางสาวปิยะรัตน์ จังพล ที่สนับสนุนท่อนพันธุ์อ้อย สำหรับการทดลองนี้ ทำให้สามารถดำเนินการทดลองได้ด้วยดี

11. เอกสารอ้างอิง

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล อีรวุฒิ วงศ์วรัตน์ ทักษิณา ศันสยะวิชัย สุณี ศรีสิงห์ รังสี เจริญสถาพร ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ และ กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ. 2558ค. วิธีตรวจและวินิจฉัยโรคใบขาวของอ้อยด้วยเทคนิคพีซีอาร์. ผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2557 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 69-89.

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย และ สุณี ศรีสิงห์. 2558ข. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยด้วย Cryotherapy และสารต้านจุลินทรีย์บางชนิดใน: *รายงานเรื่องเต็มประจำปี 2558. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร*

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย และ สุณี ศรีสิงห์. 2558ก. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีบางชนิดในอ้อยที่เป็นโรคใบขาว. ใน : *รายงานเรื่องเต็มประจำปี 2558. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร*

Kim, D.S, J.B. Kim, E.J. Goh, W.J. Kim, S.H. Kim, Y.W. Seo, C.S. Jang, and S.Y. Kang. 2011.

Antioxidant response of Arabidopsis plants to gamma irradiation: Genome-wide expression profiling of the ROS scavenging and signal transduction pathways. *J Plant Physiol.* 1;168(16): 1960-71.

Marcu, D., V. Cristea and L. Daraban. 2013. Dose-dependent effects of gamma radiation on lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata*) seedlings. *Int J Radiat Biol* 89 : 219-223.

Mehdy M.C. 1994. Active Oxygen Species in Plant Defense against Pathogens. *Plant Physiol.* 105(2) : 467-472.

Moghaddam, S. S., J. Hawa, I. Rusli, R. Asmah, A. A. Maheran and P. Elizabeth. 2011. Effects of acute gamma irradiation on physiological traits and flavonoid accumulation of *Centella asiatica*. *Molecules* 2011, 16, 4994-5007.

Petrov, V. D. and F. V. Breusegem. 2012. Hydrogen peroxide—a central hub for information flow in plant cells. *AoB PLANTS* 2012: pls014; doi:10.1093/aobpla/pls014, available online at www.aobplants.oxfordjournals.org Bienert et al. 2006

Sakuanrungsirikul, S., T. Wongwarat, S. Sankot, K. Kawabe, Y. Kobori and S. Ando. 2013.

Sugarcane white leaf and sugarcane grassy shoot diseases in Thailand and their detection methods. Proc. Int. Soc. Sugar cane technol., Vol 28, 2013.

Sanabria, N.M., J.C. Huang and I. A. Dubery. 2010. Self/nonsel self perception in plants in innate immunity and defense. Self /Nonsel self. 1(1): 40–54.

Smirnoff, N. and D. Arnaud. 2019. Tansley review : Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants New Phytologist. 221: 1197–1214.

12. ภาคผนวก

Appendix table 1 Sugarcane white leaf phytoplasma concentration in leaves of acute gamma irradiated sugarcane var. KK3 seedlings at 3 months after planting detected by 16S-23S rDNA nested PCR method with 700 bp and 210 bp amplification products and secA gene PCR amplification products and plant symptom after radiation

Plant no. (A = control)	PCR Product			Radiation dose (Gy)	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
1A1	-	4+	+/-	20Gy	<10	green	green
1A2	-	4+	+/-	40%	<10	green	green
1A3	-	4+	+/-	germination	<10	green	green
1B4	-	4+	+/-		<10	green	green
2A1	-	4+	+/-		<10	green	green
2A3	-	4+	+/-		<10	green	green
2A4	-	4+	+/-		<10	green	green
2B3	4+	3+	3+		100,000	white	white
2B4	-	4+	+/-		<10	green	white /10 months
3A2	-	4+	+/-		<10	green	green
3A3	-	4+	+/-		<10	green	green
3A4	-	4+	+/-		<10	green	green
3B2	-	4+	+/-		<10	green	green
3B4	-	4+	+/-		<10	green	green
4A2	-	4+	+/-		<10	green	white /5 months
4A4	-	4+	2+		<10	green	green
4B2	-	4+	2+		<10	green	green
4B5	-	4+	+/-		<10	green	green
5A1	-	4+	+/-		<10	green	green
5A5	-	4+	+/-		<10	green	green
5B2	-	4+	+/-		<10	green	green
5B3	1+	4+	4+		10	green	white / 5 months
6A5	-	4+	+/-		<10	green	green
6B1	-	4+	0.5+		<10	Green	green
7A2	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
7A4	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
7B1	-	4+	0.5+		<10	Green	green
7B3	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
7B4	-	4+	<0.5+		<10	green	green
7B5	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
8A2	-	4+	1+		<10	Green	green
8A3	-	4+	1+		<10	Green	green
8A4	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
8B1	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
8B3	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
9A4	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
9A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green

Appendix table 1. Cont.

Plant no.	PCR Product			Radiation dose (Gy)	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
9B2	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
9B3	-	4+	1+		<10	Green	green
9B4	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
10A1	-	4+	+/-		<10	Green	green
10A5	-	4+	+/-		<10	Green	green
10B1	-	4+	+/-		<10	Green	green
10B2	0.5+	4+	4+		10	Green	green
10B3	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
10B4	-	4+	0.5+		<10	Green	green
10B5	-	4+	+/-		<10	Green	green
11A1	-	4+	3+		<10	Green	green
11A2	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
11A3	-	4+	0.5+		<10	green	green
11A4	<0.5+	4+	1+		10	Green	green
11A5	-	4+	1+		<10	Green	green
11B2	1+	4+	4+		10	Green	green
12A1	-	4+	1+		<10	Green	green
12A3	-	4+	<0.5+		<10	Green	green
12A4	-	4+	0.5+		<10	Green	green
12B4	-	4+	1+		<10	Green	green
12B5	-	4+	<0.5+		<10	green	green
13A1	4+	4+	4+		100,000	white	white
13A3	4+	4+	4+		100,000	white	white
13A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green
13B2	2+	4+	4+		100	green	white /4 months
13B3	-	4+	1+		<10	green	green
14B1	-	4+	+/-		<10	green	green
14B3	-	4+	+/-		<10	green	green
15A1	-	4+	+/-		<10	green	green
15A3	-	4+	+/-		<10	green	green
15A4	-	4+	+/-		<10	green	green
16A1	-	4+	1+		<10	green	green
16A4	-	4+	+/-		<10	green	green
16B4	-	4+	3+	16B1 white	<10	green	green
17A1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
17A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green
18A2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
18A3	-	4+	1+		<10	green	green
18A4	-	4+	1+		<10	green	green
18B1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
18B4	-	4+	1+		<10	green	green
19A3	-	4+	<0.5+		<10	green	green
19A4	-	4+	+/-		<10	green	green
19B3	-	4+	0.5+		<10	green	green
19B5	-	4+	+/-		<10	green	green
20A1	-	4+	<0.5+		<10	green	green

Appendix table 1. Cont.

Plant no. (A =	PCR Product			Radiation dose (Gy)	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
20A2	-	4+	+/-		<10	green	green
20B3	-	4+	+/-		<10	green	green
21A3	-	4+	+/-	40Gy	<10	green	green
21A4	-	4+	+/-	30Gy 43%	<10	green	green
21A5	-	4+	+/-		<10	green	green
21B1	-	4+	+/-		<10	green	green
21B2	-	+/-	+/-		<10	green	green
21B5	-	4+	+/-		<10	green	green
21A1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
22A3	-	4+	+/-		<10	green	green
22A4	-	4+	0.5+		<10	green	green
22A5	-	4+	4+		<10	green	green
23A1	-	4+	0.5+		<10	green	green
23A2	-	4+	1+	23A4 white	<10	green	green
23A3	-	4+	0.5+	23A5 white	<10	green	green
23B1	-	4+	4+		<10	green	green
23B3	-	4+	<0.5+	23B2 white	<10	green	green
24A1	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
24A2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
24A3	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
24B1	-	2+	+/-		>0.5/3	green	green
24B2	-	3+	+/-		1	green	green
24B3	-	4+	4+		<10	green	green
25A2	-	4+	+/-		<10	green	green
25B5	-	4+	+/-		<10	green	white / 5 months
26A1	-	4+	+/-		<10	green	green
26A4	-	3+	+/-		1	green	green
26B2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
26B4	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
27A4	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
27B2	-	1+	+/-		>0.5/2	green	green
27B3	-	4+	+/-		<10	green	green
27B5	-	4+	+/-		<10	green	green
28A2	-	4+	+/-		<10	green	green
28A4	-	4+	+/-		<10	green	green
28B2	-	4+	+/-		<10	green	green
28B4	-	4+	+/-		<10	green	green
28B5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
29A3	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
29A1	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
29A5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
29B1	-	4+	+/-		<10	green	green
29B2	-	4+	+/-		<10	green	green
30A1	-	4+	+/-		<10	green	green
30B1	-	4+	+/-		<10	green	green
30B2	-	3+	+/-		1	green	green

Appendix table 1. Cont.

Plant no. (A =	PCR Product			Radiation	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
30B3	-	3+	+/-		1	green	green
31A2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
31A3	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
31A5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
31B2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
31B3	-	4+	+/-		<10	green	green
31B4	-	4+	+/-		<10	green	green
32A4	<0.5+	4+	+/-		<10	green	green
32B5	1+?	4+	+/-		<10	green	green
33A1	<0.5+?	4+	+/-		<10	green	green
33A4	-	2+	+/-		>0.5/3	green	green
33A5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
33B2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
33B3	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
34A1	-	1+	+/-		>0.5/2	green	green
34A2	-	4+	+/-		<10	green	green
34A3	-	4+	+/-		<10	green	green
34A4	0.5+	4+	+/-		10	green	green
34B2	<0.5+	4+	+/-		<10	green	green
35A4	-	4+	+/-		<10	green	green
35B1	-	4+	+/-		<10	green	green
35B5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
36A4	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
36B2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
36B4	-	3+	+/-		1	green	green
36B5	<0.5+	4+	+/-		<10	green	green
37A2	-	4+	+/-		<10	green	green
37B1	0.5+	4+	+/-		10	green	green
37B2	0.5+	4+	+/-		10	green	green
37B3		4+	+/-		<10	green	green
38A3	-	3+	+/-		1	green	green
38A5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
38B2	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
38B3	-	3+	+/-		1	green	green
38B4	-	4+	4+		<10	green	green
39A1	-	4+	+/-		<10	green	green
39A2	-	4+	+/-		<10	green	green
39B1	0.5+	4+	2+		10	green	green
39B3	<0.5+	4+	+/-		<10	green	green
39B4	-	4+	1+		<10	green	green
40A3	-	3+	1+		1	green	green
40A5	-	+/-	+/-		<0.5	green	green
41A2	-	4+	+/-	60Gy	<10	green	green
41A3	-	4+	+/-		<10	green	green
41A4	-	4+	<0.5+	၅၀ဂ် 48%	<10	green	green
41A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green

Appendix table 1. Cont.

Plant no. (A =	PCR Product			Radiation dose (Gy)	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
42A2	-	4+	+/-		<10	green	green
42A4	??	4+	+/-		<10	green	green
42B1	1+??	4+	4+		100	green	white / 5 months
42B2	-	4+	+/-		<10	green	green
42B4	-	4+	+/-		<10	green	green
43A1	-	4+	+/-		<10	green	green
43A5	-	4+	1+		<10	green	green
43B1	-	4+	1+		<10	green	green
43B4	-	4+	<0.5+		<10	green	green
44A1	-	4+	+/-		<10	green	green
44A2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
45A1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
45A2	-	4+	0.5+		<10	green	green
45B1	-	4+	1+		<10	green	green
45B2	-	4+	+/-		<10	green	green
45B4	-	4+	2+		<10	green	green
45B5	-	4+	+/-		<10	green	green
46A3	-	4+	+/-		<10	green	green
46B2	-	4+	3+		<10	green	green
47A1	-	4+	4+		<10	green	green
47A2	-	4+	0.5+		<10	green	green
47A3	-	4+	<0.5+		<10	green	green
47A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green
47B1	-	4+	+/-		<10	green	white / 5 months
47B2	3+	4+	<0.5+		1,000	white	white
48A1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
48A3	-	4+	<0.5+		<10	green	green
48A5	-	4+	<0.5+		<10	green	green
49A2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
49A3	0.5+	4+	0.5+		10	green	white / 5 months
49A4	-	4+	<0.5+		<10	green	white / 5 months
49B2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
51A5	3+	4+	4+		1,000	white	white
51B1	-	4+	<0.5+		<10	green	green
52A1	-	4+	+/-		<10	green	green
52A2	-	3+	<0.5+		<10	green	green
52A3	-	3+	<0.5+		<10	green	green
52B1	-	3+	+/-		1	green	green
52B2	-	4+	+/-		<10	green	green
52B3	-	4+	+/-		<10	green	green
52B4	-	4+	+/-		<10	green	white / 5 months
52B5	-	4+	+/-		<10	green	green
53A1	-	4+	+/-		<10	green	green
53A2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
53A3	-	3+	+/-		1	green	green
53A5	-	4+	+/-		<10	green	green

Appendix table 1. Cont.

Plant no. (A =	PCR Product			Radiation dose (Gy)	White leaf concentration	Plant symptom at 3 months	Symptom/age after 3 months
	700 bp	210 bp	SecA				
53B1	-	4+	0.5+		<10	green	green
54A1	-	4+	1+		<10	green	green
54A2	-	4+	+/-		<10	green	green
54A3	-	4+	+/-		<10	green	green
54A4	-	4+	<0.5+		<10	green	green
54A5	-	4+	+/-		<10	green	green
54B4	-	4+	<0.5+		<10	green	green
54B5	-	4+	0.5+		<10	green	green
55A4	-	4+	+/-		<10	green	green
55A5	-	4+	2+		<10	green	green
55B2	-	4+	+/-		<10	green	green
55B4	2+??	4+	+/-		100	green	white / 5 months
56A1	-	4+	3+		<10	green	white / 5 months
56A2	2+??	4+	4+		100	green	green
56B1	-	4+	1+		<10	green	green
56B5	0.5+	4+	+/-		10	green	green
57A1	-	4+	+/-		<10	green	green
57A5	-	4+	+/-		<10	green	green
57B1	-	4+	+/-		<10	green	green
57B2	??	+/-	+/-		<0.5	green	green
57B3	-	4+	+/-		<10	green	green
57B4	-	4+	+/-		<10	green	green
58A2	1+??	4+	+/-		<10	green	green
58A4	??	4+	<0.5+		<10	green	green
58A5	-	4+	+/-		<10	green	green
58B3	-	4+	+/-		<10	green	green
59A2	-	4+	<0.5+		<10	green	green
59A4	-	4+	+/-		<10	green	green
59A5	-	4+	+/-		<10	green	green
60A4	-	4+	+/-		<10	green	green
60B2	1+	4+	0.5+		<10	green	green
60B5	-	4+	0.5+		<10	green	green