บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

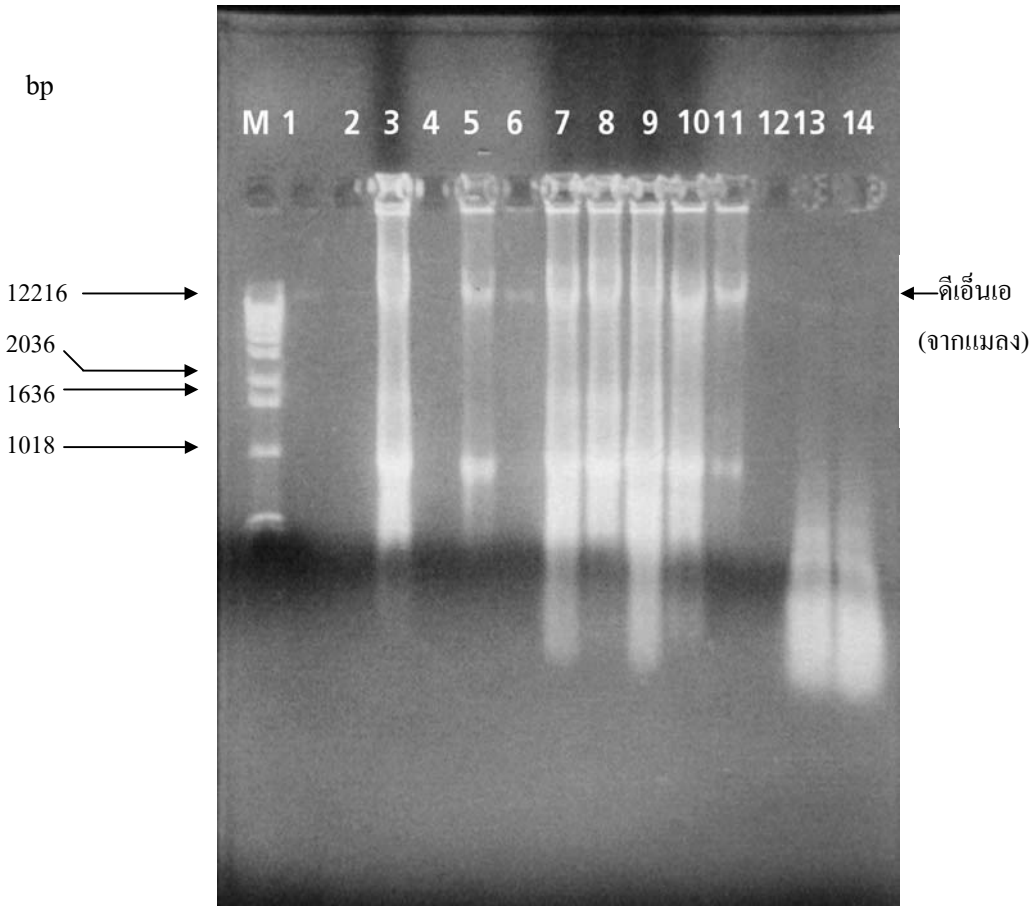
1. การทดสอบการรับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรกและอ้อยของแมลง *Exitanus indicus* ผ่านการดูดกินพืชที่เป็นโรค

1.1 การรับเชื้อของแมลง *E. indicus* จับจากธรรมชาติ

ในการสกัดดีเอ็นเอจากแมลง *E. indicus* (ภาพที่ 5) ซึ่งดักจับจากหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวซึ่งขึ้นอยู่ตามธรรมชาติ ในระหว่างเดือนมีนาคม 2545 – กุมภาพันธ์ 2547 แล้วนำมาตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาโดยเทคนิคพีซีอาร์ ผลการตรวจพบเชื้อในแมลง 15 ตัว จากตัวอย่างแมลงจำนวนทั้งสิ้น 100 ตัว (ภาพที่ 6) คิดเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ของแมลงที่ตรวจพบเชื้อ ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของแมลงที่ตรวจพบเชื้อเป็นแมลงที่จับในเดือนกุมภาพันธ์ 2547 ซึ่งเป็นจำนวนทั้งสิ้น 7/14 ตัว รองลงมาเป็นแมลงที่ดักจับในเดือนมีนาคม 2545 เป็นจำนวนทั้งสิ้น 3/10 ตัว (ตารางผนวกที่ 1) ดังนั้นแสดงว่าแมลง *E. indicus* ซึ่งหากินอยู่บนหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวสามารถรับเชื้อไฟโตพลาสมาจากต้นหญ้าแพรกเข้าสู่ร่างกายได้ ทั้งนี้มีรายงานการตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาของหญ้าแพรกใบขาวในแมลง *Chiasmas varicolor* ซึ่งสุ่มจับมาจากต้นหญ้าเป็นโรคในประเทศออสเตรเลีย โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (Blanche *et al.*, 1999) ทั้งนี้ใช้ไพรเมอร์ (P1/P7) ชนิดเดียวกับการทดลองครั้งนี้ แสดงว่ามีแมลงจำพวกเพลี้ยจักจั่น (leafhopper) มากกว่าหนึ่งชนิดที่สามารถรับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรกผ่านการดูดกินต้นหญ้าที่เป็นโรคซึ่งขึ้นอยู่ตามธรรมชาติ

1.2 การรับเชื้อของแมลง *E. indicus* ภายหลังการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว

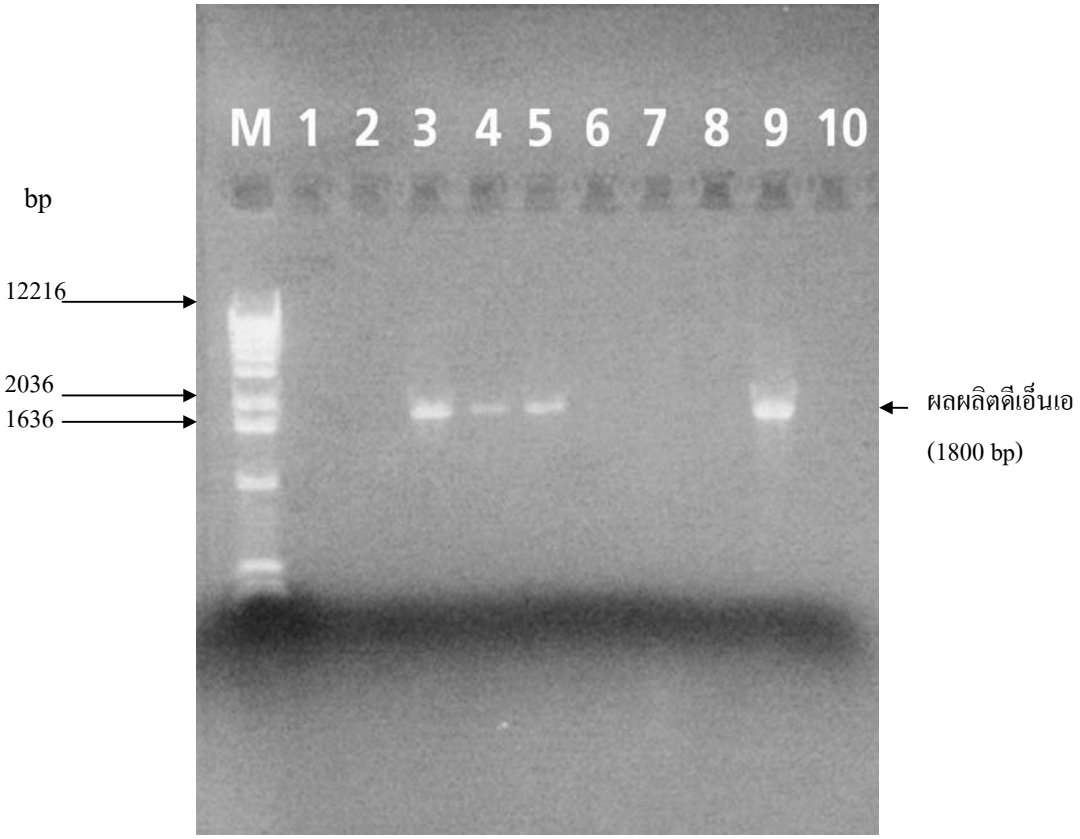
เมื่อนำดีเอ็นเอของแมลง *E. indicus* (ภาพที่ 7) ซึ่งผ่านการดูดกินหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวเป็นระยะเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ มาตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาพบเชื้อไฟโตพลาสมาในแมลงดังกล่าว 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 8 และตารางที่ 2) ซึ่งจำนวนแมลงที่รับเชื้อสูงกว่าแมลงที่ดักจับมาจากธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากแมลงได้รับเชื้อโดยตรง เพราะถูกเลี้ยงไว้บนต้นหญ้าที่เป็นโรคไม่มีพืชอื่นปะปน (ภาพที่ 4ก) ทำให้แมลงมีอาหารเป็นหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวเพียงอย่างเดียว และจากการเพิ่มจำนวนเวลาในการดูดกินจาก 1 สัปดาห์ เป็น 2 สัปดาห์ พบว่าจำนวนแมลงที่รับเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 2 และ 3) ทำให้สันนิษฐานว่าระยะเวลาในการดูดกินอาหารมีอิทธิพลต่อการรับเชื้อของแมลง *E. indicus*



ภาพที่ 5 ผลการตรวจดีเอ็นเอ ซึ่งสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* จับมาจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกใบขาว)

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1-14 ดีเอ็นเอสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus*



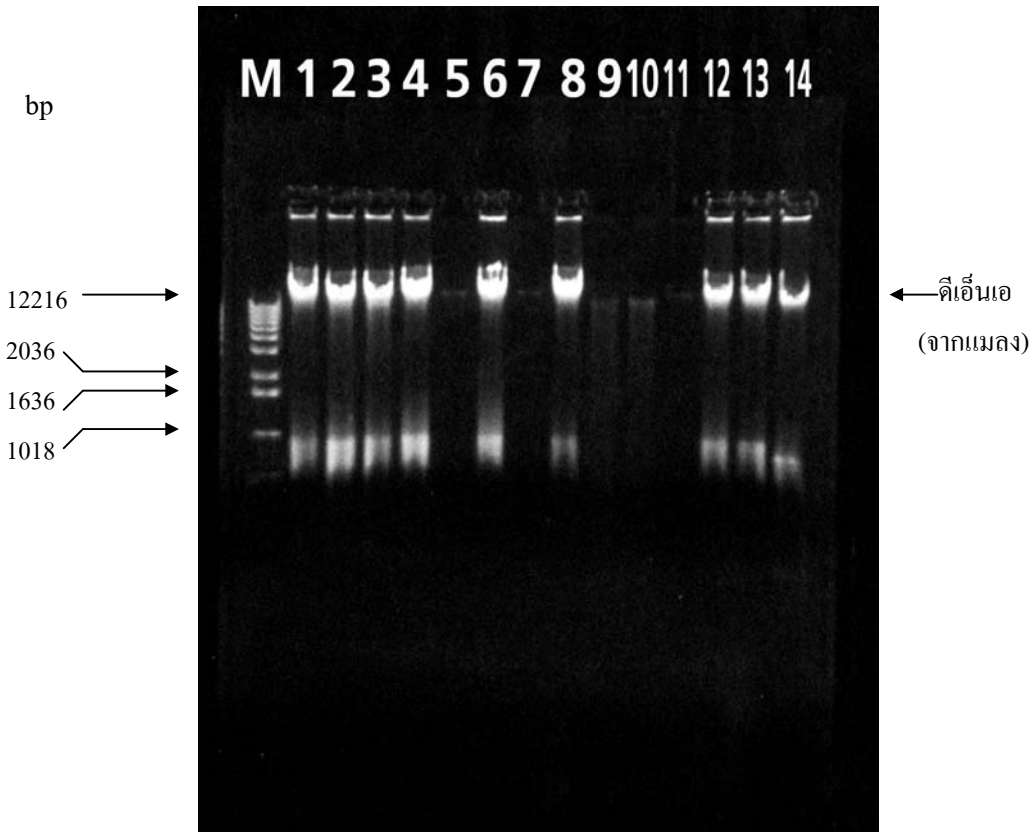
ภาพที่ 6 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาตรวจพบในแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่จับมาจากธรรมชาติโดยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งใช้ไพรเมอร์จำเพาะ ต่อ 16S rRNA gene (P1/P7)

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1-8 ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* จับจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว)

ช่องที่ 9 ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรก (positive control)

ช่องที่ 10 Sterile deionized water (negative control)



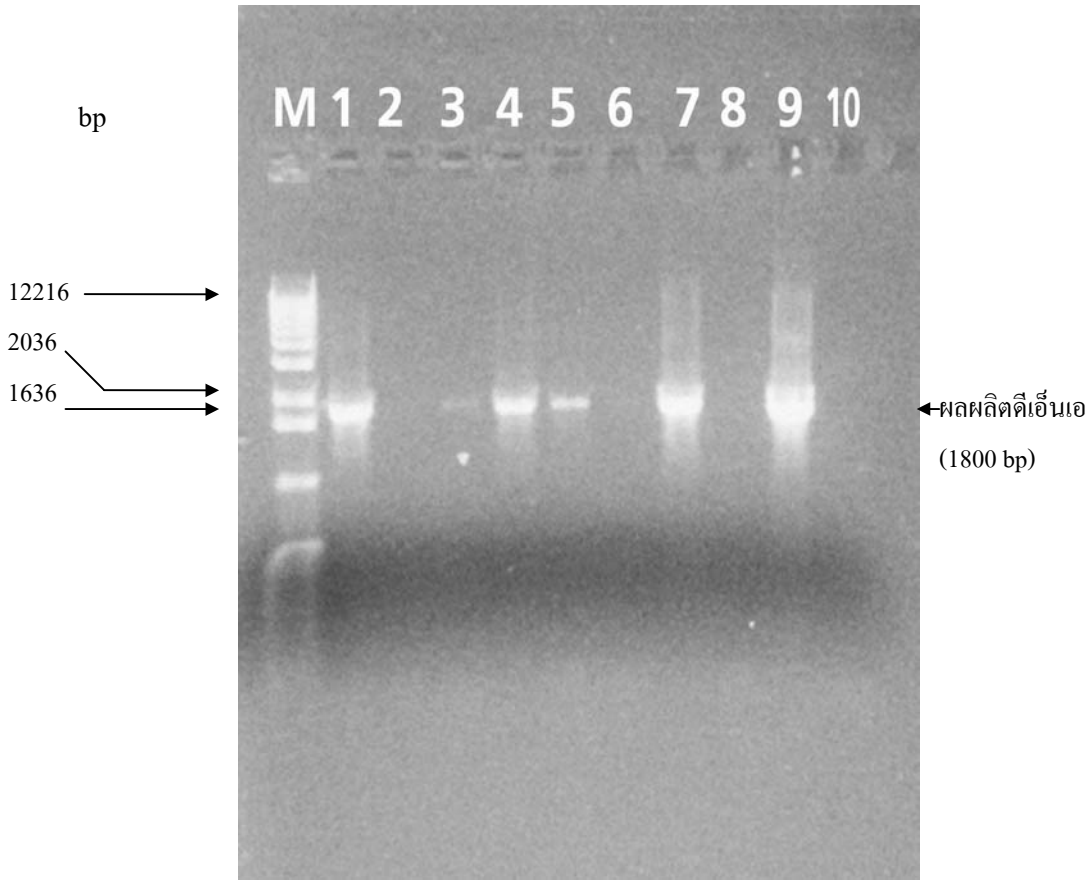
ภาพที่ 7 ผลการตรวจดีเอ็นเอสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus*

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1-2 ดีเอ็นเอจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 1 สัปดาห์

ช่องที่ 3-4 ดีเอ็นเอจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 2 สัปดาห์

ช่องที่ 5-14 ดีเอ็นเอจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งจับจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว)



ภาพที่ 8 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาตรวจพบในแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาวโดยเทคนิคพีซีอาร์และใช้ไพรเมอร์จำเพาะ ต่อ 16S rRNA gene (P1/P7)

ช่อง	M	ดีเอ็นเอ Marker 1 kb
ช่องที่	1,2,3,8	ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 1 สัปดาห์
ช่องที่	4-7	ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 2 สัปดาห์
ช่องที่	9	ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรก (positive control)
ช่องที่	10	Sterile deionized water (negative control)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในแมลง *Exitanus indicus* ผ่านการดูดกินโรคใบขาวของหญ้าและอ้อย

แมลง *E .indicus* ผ่านการดูดกิน	ผลการตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาในแมลงโดยเทคนิค PCR	
	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์
หญ้าแพรกใบขาว	8/20 (40%)	12/20 (60%)
อ้อยใบขาว	4/20 (20%)	8/20 (40%)

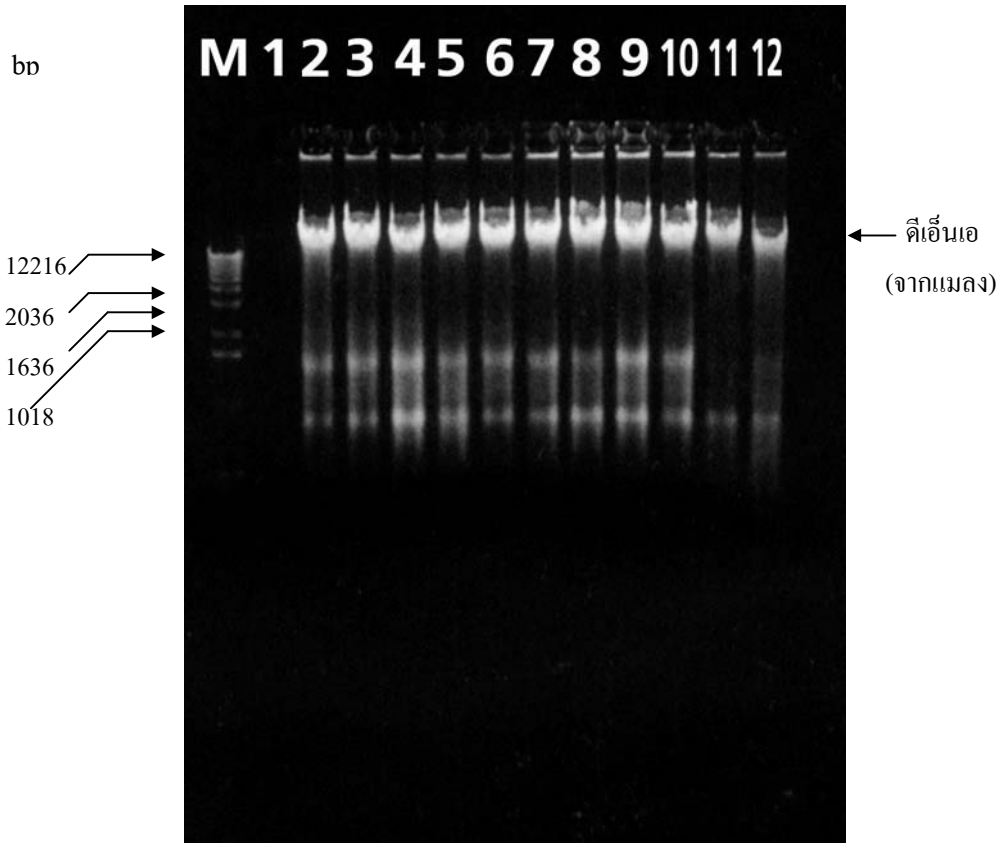
1.3 การรับเชื้อของแมลง *E. indicus* ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว

เมื่อนำแมลง *E. indicus* ไปเลี้ยงบนต้นอ้อยเป็นโรคใบขาวเพื่อให้ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อยนาน 1 และ 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอจากแมลงที่ผ่านการดูดกินในระยะเวลาดังกล่าว (ภาพที่ 9) มาทำการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อย ผลการตรวจโดยเทคนิคพีซีอาร์ (ภาพที่ 10) พบว่าแมลงสามารถรับเชื้อเข้าสู่ร่างกาย 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้แมลง *E. indicus* ดูดกินและรับเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อยมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าการรับเชื้อหญ้าแพรกใบขาวของแมลงที่พบตามธรรมชาติ แต่จะน้อยกว่าแมลงที่ปล่อยให้ดูดกินหญ้าแพรกใบขาวโดยตรงในกรงเลี้ยงแมลง อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้แสดงว่าแมลง *E. indicus* สามารถรับเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อย (ตารางผนวกที่ 4 และ 5) และใบขาวของหญ้าแพรก ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาในแมลง *M. hiroglyphicus* เพราะมีการตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวทั้งสองชนิดในแมลงชนิดนี้ ทั้งมีการเพิ่มจำนวนวันในการดูดกินทำให้เพิ่มจำนวนแมลงที่รับเชื้อมากขึ้นเช่นเดียวกัน (ยุพา และสกล, 2543)

2. การถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวโดยแมลง *E. indicus* ข้ามระหว่างอ้อยและหญ้าแพรก

2.1 การถ่ายทอดเชื้อโดยแมลงจับจากธรรมชาติ

จากการนำแมลง *E. indicus* จับจากบริเวณที่มีหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวขึ้นซึ่งขึ้นอยู่ตามธรรมชาติแล้วนำมาปล่อยในกรงเลี้ยงแมลงเพื่อดูดกินอ้อยและหญ้าแพรกปกติซึ่งใช้เป็นพืชทดสอบ ผลการทดลองพบว่าหญ้าแพรกจำนวน 4/20 ต้น แสดงอาการของโรคใบขาว ภายในระยะเวลา 3 เดือน ทั้งนี้อาการเริ่มแรกปรากฏในเดือนที่ 2 ภายหลังที่ถูกแมลงดูดกิน อาการจะปรากฏที่ใบอ่อนของกอหญ้าที่แตกใหม่ โดยใบจะมีสีเขียวซีดหรือซีดเหลือง (ภาพที่ 11) ต่อมาในเดือนที่ 3 เกิดอาการใบขาวที่ยอดซึ่งปรากฏอาการมาก่อนแล้วในเดือนที่ผ่านมา ทั้งนี้ 2/4 ต้นของพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่มีอาการใบขาวลำต้นจะสั้นและแคระแกรน เมื่อติดตามอาการต่อไปจนครบ 6 เดือน พบว่ากอหญ้าที่มีอาการใบขาวแห้งตาย และหญ้าแพรกกลับเป็นปกติ ทั้งนี้ในการถ่ายทอดเชื้อโดยแมลง *E. indicus* ซึ่งจับจากธรรมชาติไปยังพืชทดสอบอีกชนิด คือ ต้นอ้อยปกติ โดยการทดลองในทำนองเดียวกัน จากการติดตามอาการของต้นอ้อยภายหลังการดูดกินของแมลง ไม่พบอาการใบขาวเกิดขึ้นกับต้นอ้อยทั้ง 20 ต้น ทั้งนี้ยืนยันผลการถ่ายทอดเชื้อของแมลง *E. indicus* โดยการสกัดดีเอ็นเอจากพืชทดสอบทั้งสองชนิดที่แสดงอาการใบขาวและอาการปกติ แล้วนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ภาพที่ 12) มาตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมา ผลการตรวจเชื้อโดยเทคนิคพีซีอาร์ (ภาพที่ 13) แสดงว่าหญ้าแพรกที่เป็นพืชทดสอบได้รับการถ่ายทอดเชื้อรวมทั้งสิ้น 5/20 ต้น (ตารางที่ 3) ซึ่งประกอบด้วยหญ้าแพรกที่แสดงอาการใบขาว 4 ต้น และหญ้าแพรกที่มีอาการลำต้นแคระแกร็นแต่ไม่มีอาการ

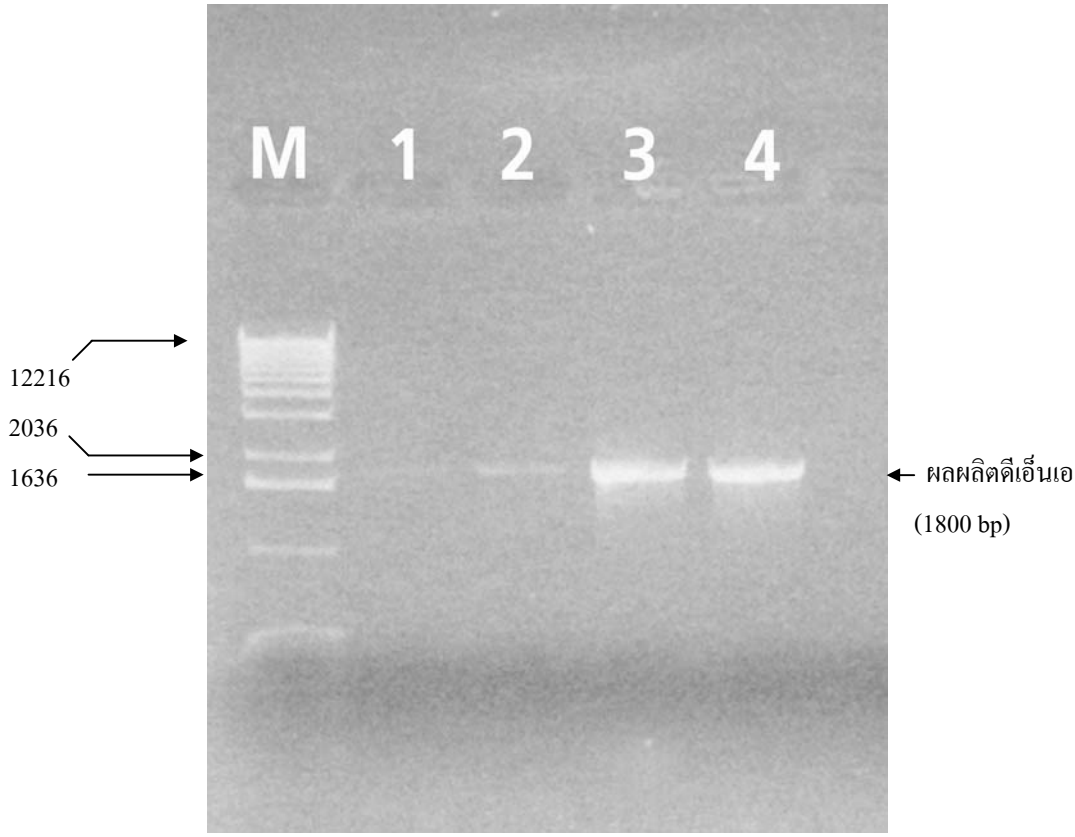


ภาพที่ 9 ผลการตรวจดีเอ็นเอซึ่งสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1-2, 7-12 ดีเอ็นเอสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว 2 สัปดาห์

ช่องที่ 3-6 ดีเอ็นเอสกัดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว 1 สัปดาห์



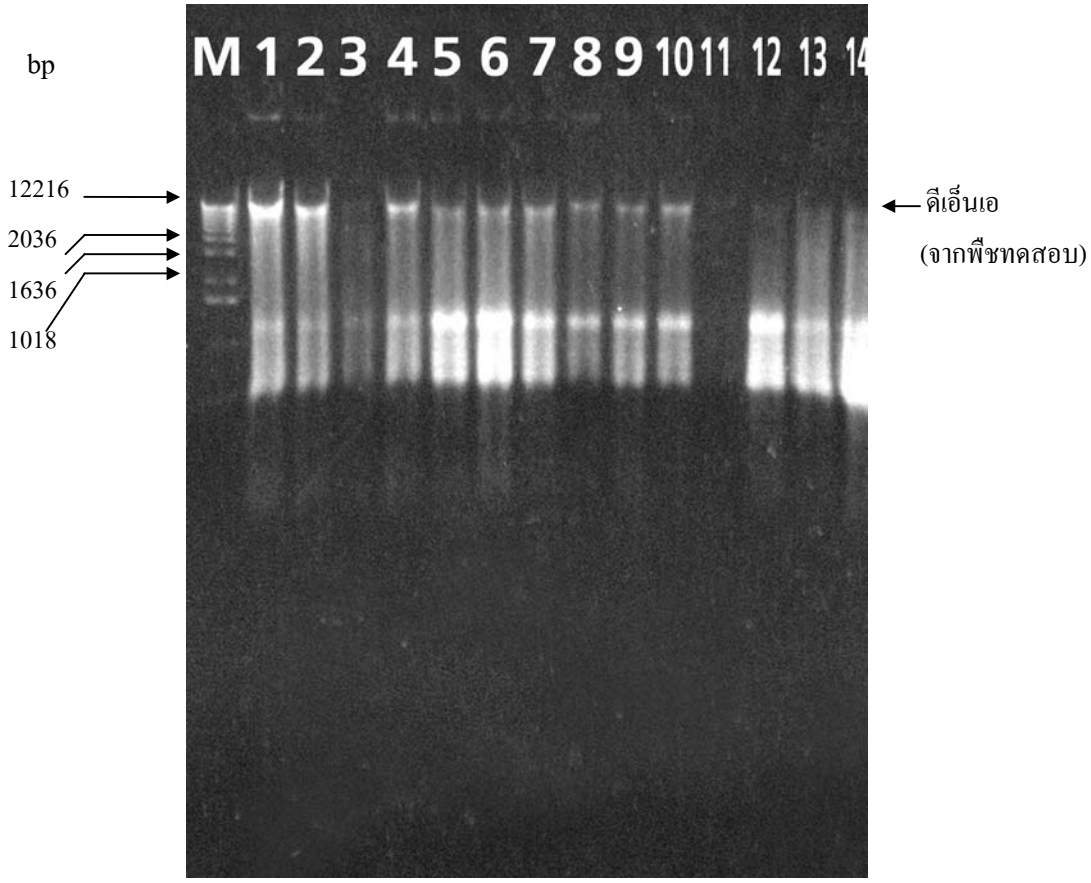
ภาพที่ 10 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งเพิ่มขยายโดยเทคนิคพีซีอาร์และใช้ไพรเมอร์จำเพาะ ต่อ 16S rRNA gene (P1/P7)

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1-2 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อตรวจพบในแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว 2 สัปดาห์

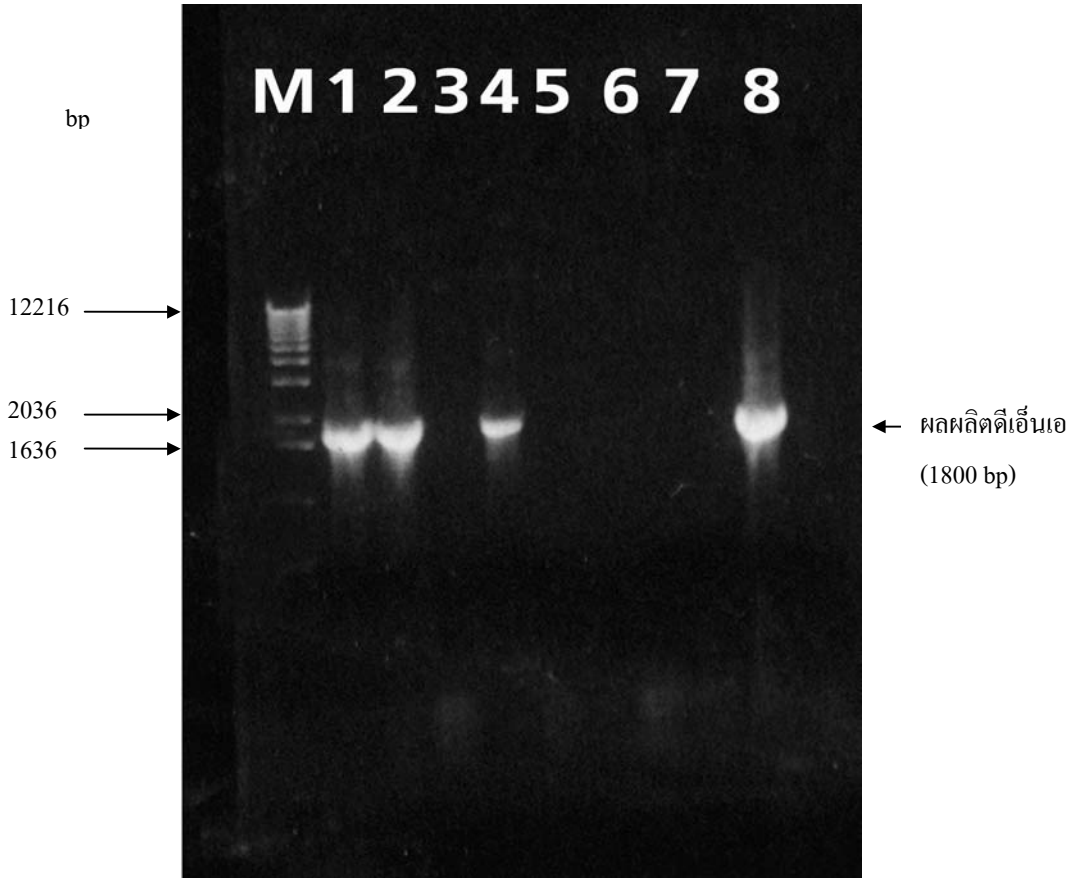
ช่องที่ 3-4 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อตรวจพบในพืชทดสอบหญ้าแพรกได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว

ภาพที่ 11 พืชทดสอบ (หญ้าแพรก) แสดงอาการโรคใบขาวหลังจากได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลง *Exitianus indicus* จับจากธรรมชาติ



ภาพที่ 12 ผลการตรวจหาดีเอ็นเอสกัดจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก)

ช่อง	M	Marker 1 kb
ช่องที่	1-2, 5-6	ดีเอ็นเอสกัดจากพืชทดสอบที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* จับจากธรรมชาติ
ช่องที่	3, 13-14	ดีเอ็นเอสกัดจากพืชทดสอบที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 2 สัปดาห์
ช่องที่	4	ดีเอ็นเอสกัดจากพืชทดสอบที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว 2 สัปดาห์



ภาพที่ 13 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาตรวจพบในพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) โดยเทคนิคพีซีอาร์ซึ่งใช้ไพรเมอร์จำเพาะ ต่อ 16S rRNA geng (P1/P7)

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb

ช่องที่ 1 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อจากพืชทดสอบได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลง *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว

ช่องที่ 2-6 ผลผลิตดีเอ็นเอจากพืชทดสอบได้รับการถ่ายทอดจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* จับจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว)

ช่องที่ 7 ผลผลิตดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าปากควาย (positive control)

ช่องที่ 8 Sterile deionized water (negative control)

ใบขาว 1 ต้น แต่ไม่พบเชื้อในหญ้าแพรกและอ้อยซึ่งใช้เป็นพืชทดสอบที่มีอาการปกติ (ตารางผนวกที่ 6) ดังนั้นแสดงว่าแมลง *E. indicus* ซึ่งดักจับมาจากธรรมชาตินั้นมีเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรกและสามารถถ่ายทอดเชื้อดังกล่าวไปยังหญ้าแพรกเท่านั้นแต่ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไปสู่ต้นอ้อย ในประเทศออสเตรเลียมีรายงานการตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาของหญ้าแพรกใบขาวในแมลง *Chiasmus varicolor* ซึ่งดักจับจากธรรมชาติ และมีการทดลองถ่ายทอดเชื้อหญ้าแพรกใบขาวโดยแมลงดังกล่าวไปยังหญ้าแพรกปกติ แต่ไม่ประสบผลสำเร็จ (Blanche *et al., 2003*) ในการทดลองของฐิตินันท์ (2543) ระบุว่าแมลงจำพวกเพลี้ยจักจั่น (leafhopper) ซึ่งมีรูปร่างเหมือนกับแมลง *Exitianus sp* .และจับมาจากหญ้าแพรกใบขาวซึ่งขึ้นอยู่ตามธรรมชาติสามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวให้กับหญ้าแพรกปกติ โดยหญ้าแพรกจะแสดงใบขาวที่ยอดแตกใหม่ภายใน 70 – 75 วันภายหลังได้รับเชื้อจากแมลง ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองครั้งนี้

ตารางที่ 3 ผลการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรกและอ้อยโดยแมลง *Exitanus indicus* ไปยังพืชทดสอบ

แมลง *E. indicus*	ผลการถ่ายทอดเชื้อไปยังพืชทดสอบ (ต้น)	
	หญ้าแพรก	อ้อย
จับจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกใบขาว)	5/20	0/20
ดูดกินหญ้าแพรกใบขาว	8/20	0/20
ดูดกินอ้อยใบขาว	1/20	0/20

2.2 การถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าแพรกโดยแมลง *E. indicus*

เมื่อนำแมลง *E. indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรกนาน 2 สัปดาห์ ไปเลี้ยงไว้บนพืชทดสอบสองชนิด คือ หญ้าแพรก และอ้อยปกติ เพื่อให้แมลงดูดกินและถ่ายเชื้อให้พืชทั้งสองชนิด พบว่าแมลงสามารถถ่ายทอดเชื้อไปสู่หญ้าแพรกแต่ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไปยังต้นอ้อย (ตารางที่ 3) ทั้งนี้พบว่าหญ้าแพรกซึ่งถูกดูดกินโดยแมลงซึ่งผ่านการดูดกินเชื้อมาก่อนจำนวน 8/20 ต้น แสดงอาการใบขาว ขณะที่ต้นอ้อยซึ่งถูกดูดกินโดยแมลงเช่นเดียวกันไม่มีอาการผิดปกติแต่อย่างใด อาการใบขาวเกิดขึ้นกับหญ้าแพรกภายหลังได้รับเชื้อ 3 เดือน โดยเกิดที่ยอดของกอหญ้าที่แตกใหม่หรือที่ยอดซึ่งแตกออกจากไหล (stolon) ของกอเดิม ทั้งนี้พบว่า 6/8 ต้นของหญ้าแพรกที่มีอาการ ใบที่มีสีขาวขนาดจะเล็กและสั้นกว่าใบปกติทั่วไป และมีลักษณะลำปล้องสั้นบริเวณที่เกิดใบขาว (ภาพที่ 14) เมื่อสกัดดีเอ็นเอจากพืชทดสอบ (ภาพที่ 12)

ทั้งสองชนิดเพื่อตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาโดยเทคนิคพีซีอาร์ (ภาพที่ 13) พบเชื้อไฟโตพลาสมาในพืชทดสอบที่เป็นหญ้าแพรกและแสดงอาการใบขาวทั้ง 8 ต้น แต่ไม่พบเชื้อในพืชทดสอบที่ไม่แสดงอาการทั้งหญ้าแพรก และต้นอ้อย (ตารางผนวกที่ 7) ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้เป็นการยืนยันว่าแมลง *E. indicus* เป็นพาหะนำเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรก ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อนำแมลงไปดูดกินเพื่อรับเชื้อจากหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว แมลงชนิดนี้สามารถถ่ายเชื้อไปให้หญ้าแพรกปกติ เพราะหญ้าแพรกเกิดโรคใบขาวขึ้นภายหลังที่ถูกดูดกินโดยแมลงที่มีเชื้อ แต่แมลงไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อใบขาวของหญ้าแพรกไปยังต้นอ้อยได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าอ้อยมิใช่พืชอาศัยของเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าแพรก ก่อนหน้านี้มีรายงานระบุว่ารหัสพันธุกรรม (16S rRNA gene) ของเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าแพรกและอ้อยมีความแตกต่างต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ (Sdoodee *et al*., 1999; Wongkeaw *et al.,* 1998; รุ่งโรจน์ 2343) ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจส่งผลต่อชนิดของพืชอาศัย และแมลงพาหะของเชื้อทั้งสองชนิด

2.3 การถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อยโดยแมลง *E. indicus*

ผลการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาของอ้อยใบขาวโดยแมลง *E. indicus* พบว่าพืชทดสอบหญ้าแพรกซึ่งถูกดูดกินโดยแมลง *E. indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินอ้อยเป็นโรคใบขาวมาก่อนหน้าแล้วเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แสดงอาการใบขาว 1/20 ต้น (ภาพที่ 15) ไม่พบอาการใบขาวในต้นอ้อยที่ถูกดูดกินโดยแมลงดังกล่าว (ตารางผนวกที่ 8) ทั้งนี้เมื่อทำการตรวจหาเชื้อในหญ้าแพรกที่มีอาการใบขาวเนื่องจากได้รับการถ่ายเชื้อจากแมลง ผลการตรวจเชื้อโดยเทคนิคพีซีอาร์บ่งชี้ว่าหญ้าแพรกติดเชื้อไฟโตพลาสมา (ภาพที่ 10) ทั้งนี้เมื่อจำแนกชนิดของไฟโตพลาสมาที่พบในหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวเนื่องจากได้รับการถ่ายเชื้อจากแมลงผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว โดยการวิเคราะห์แบบแผน RFLP พบว่าไฟโตพลาสมาที่ตรวจพบในหญ้าแพรกดังกล่าวเป็นไฟโตพลาสมาของโรคใบขาวของหญ้าแพรก (ภาพที่ 16) ซึ่งอาจเกิดจากแมลงที่ใช้ในการทดลองเป็นแมลงที่จับจากธรรมชาติ คือ จากแปลงหญ้าที่ขึ้นอยู่ทั่วไป อาจมีเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าแพรกอยู่ก่อนแล้วจึงถ่ายทอดเชื้อไปสู่ต้นหญ้าแพรกซึ่งใช้เป็นพืชทดสอบ จากการไม่พบการติดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อยในพืชทดสอบที่เป็นอ้อยปกติ ทำให้พิสูจน์ได้ว่าถึงแม้แมลง *E. indicus* จะสามารถรับเชื้อใบขาวของอ้อยเข้าสู่ร่างกาย (จากการทดลองข้อ 1.3) แต่แมลงชนิดนี้ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของอ้อยไปสู่อ้อยปกติได้

ภาพที่ 14 พืชทดสอบ (หญ้าแพรก) แสดงอาการโรคใบขาวหลังจากได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 2 สัปดาห์

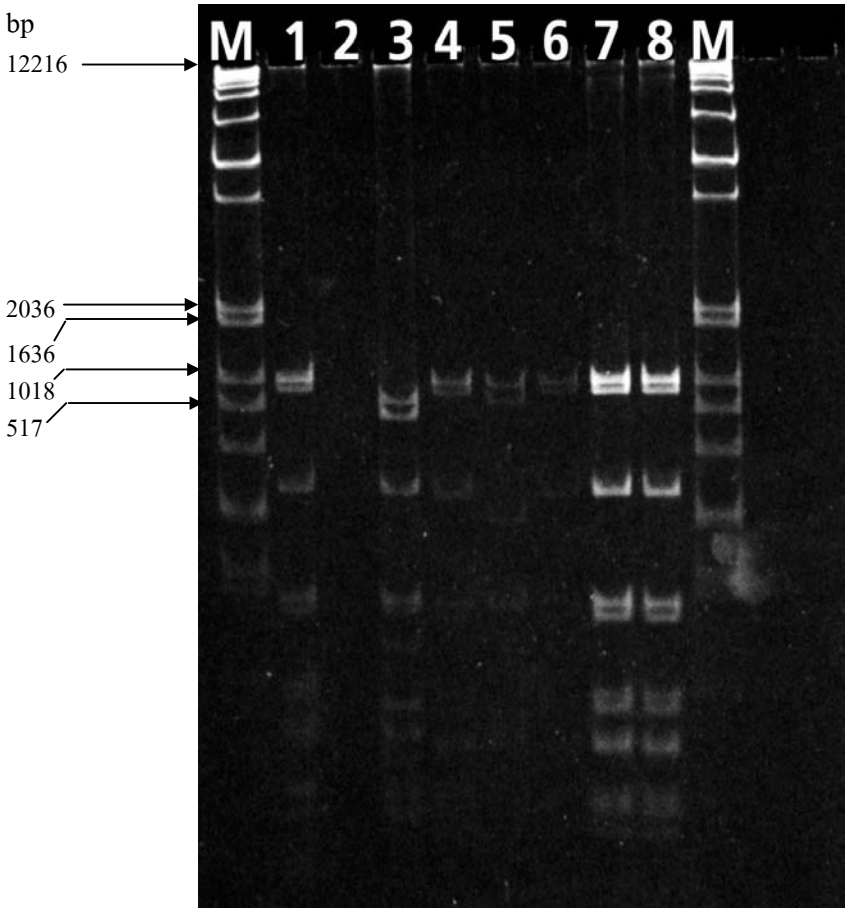
ภาพที่ 15 พืชทดสอบ (หญ้าแพรก) แสดงอาการโรคใบขาว (ลูกศร) หลังจากได้รับการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว 2 สัปดาห์

3. การจำแนกชนิดของเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวซึ่งถ่ายทอดโดยแมลง *E. indicus* โดยการวิเคราะห์แบบแผน RFLP (Restriction Flagment Length Polymorphism) ของรหัสพันธุกรรม 16 S rRNA gene

เมื่อนำแบบแผน RFLP ของผลดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งตรวจพบในแมลง *E. indicus* ทั้งที่จับจากธรรมชาติ หรือที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว หรือที่ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว หรือจากพืชทดสอบที่ได้รับเชื้อจากแมลงมาเปรียบเทียบกัน จากการนับจำนวนชิ้นดีเอ็นเอและวัดระยะทางของการเคลื่อนที่ใน polyacrylamide gel โดยสรุปจำนวนชิ้น และขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ไว้ในตารางที่ 10 และแบบแผน RFLP แสดงไว้ในภาพที่ 16 และ 17 ทั้งนี้พบว่าแบบแผน RFLP ของเชื้อไฟโตพลาสมาที่ตรวจพบในแมลง *E. indicus* ที่จับมาจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว) ในแมลงที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว ในหญ้าแพรกที่ได้รับการถ่ายเชื้อจากแมลงจับจากธรรมชาติ และหญ้าแพรกที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงที่ดูดกินหญ้าแพรกใบขาว มีแบบแผน RFLP ที่เหมือนกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุของโรคหญ้าแพรกใบขาว (ภาพที่ 17 ช่องที่ 1, 5, 7, 8, 9, 10) แสดงว่าเชื้อที่พบทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นเป็นเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดเดียวกัน คือ เชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวของหญ้าแพรก ขณะเดียวกันพบว่าแบบแผน RFLP ของเชื้อไฟโตพลาสมาที่ตรวจพบในแมลง *E. indicus* ซึ่งผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว เหมือนกันกับที่พบในอ้อยเป็นโรคใบขาว (ภาพที่ 17 ช่องที่ 3, 4) แสดงว่าเชื้อทั้งสองชนิดเป็นไฟโตพลาสมาชนิดเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบแบบแผน RFLP ของเชื้อไฟโตพลาสมาของสาเหตุของโรคใบขาวของอ้อย และเชื้อสาเหตุโรคใบขาวของหญ้าแพรก พบว่าคล้ายคลึงกันค่อนข้างมาก จะแตกต่างกันที่ชิ้นดีเอ็นเอ 2 ชิ้นแรกซึ่งมีขนาดใหญ่ โดยเชื้อสาเหตุของหญ้าแพรกมีชิ้นดีเอ็นเอ 2 ชิ้นแรกซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าของอ้อย ซึ่งขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจะเป็นตัวบ่งชี้จำนวนเบสซึ่งเป็นรหัสของสารพันธุกรรมแตกต่างกัน ความแตกต่างของรหัสพันธุกรรมจะส่งผลถึงลักษณะภายนอก (phenotype) ที่ถูกควบคุมโดยรหัส (genotype) ดังกล่าว ทั้งนี้แบบแผน RFLP ในผลการทดลองครั้งนี้ตรงกับที่รายงานไว้โดย Sdoodee *et al.* (1999) และความแตกต่างทางพันธุกรรมของ 16S rRNA gene ครั้งนี้คล้อยตามการจัดกลุ่มไฟโตพลาสมาโดยอาศัยข้อมูลพันธุกรรม 16S rRNA gene เนื่องจากไฟโตพลาสมาทั้งสองชนิดถูกจัดให้อยู่คนละกลุ่ม โดยเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของหญ้า (Bermuda Grass White Leaf, BGWL) จัดอยู่ในกลุ่มที่ XIV (A) ขณะที่ไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของอ้อย (Sugarcane White Leaf, SCWL) จัดอยู่ในกลุ่มที่ XI (B) (Davis and Sinclair, 1998; Lee *et al.,* 1998)

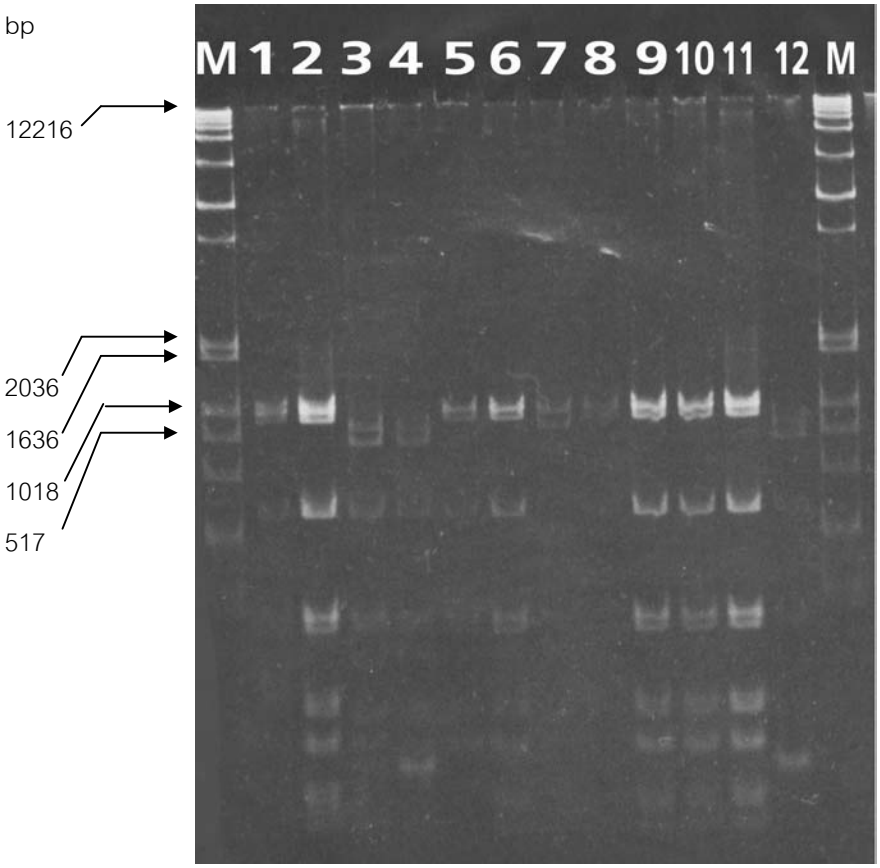
ตารางที่ 4 ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ (bp) วิเคราะห์จากแบบแผน RFLP ของ 16S rRNA gene ของเชื้อไฟโตพลาสมาโดยใช้โปรแกรม Molecular Analyst Software V 1.4.1 (Bio-RAD)

เชื้อไฟโตพลาสมาพบใน	จำนวนชิ้นดีเอ็นเอ	ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ (bp)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
แมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว	4	758	712	434	289				
แมลงพาหะ *Exitianus indicus* ดักจับจากธรรมชาติ(แปลงหญ้าแพรกใบขาว)	4	745	665	369	288				
หญ้าแพรกใบขาว	8	771	724	439	288	275	210	193	166
แมลงพาหะ *Exitianus indicus* ดักจับจากธรรมชาติ (แปลงหญ้าแพรกใบขาว)	8	801	724	414	294	287	210	194	174
พืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลง พาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว	8	866	799	456	298	287	218	196	171
อ้อยใบขาว (พันธุ์อู่ทอง1)	8	702	638	437	296	289	250	215	197
แมลง พาหะ*Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยเป็นโรคใบขาว	8	721	633	441	290	274	213	196	184
พืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลง พาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยเป็นโรคใบขาว	8	864	813	456	297	287	218	196	169



ภาพที่ 16 แบบแผน RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ของผลผลิตดีเอ็นเอ (16S rRNA gene) ของเชื้อไฟโตพลาสมา ย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Tru 9 I*

ช่อง M ดีเอ็นเอ Marker 1 kb
ช่องที่ 1 เชื้อจากหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวขึ้นตามธรรมชาติ
ช่องที่ 3 เชื้อจากอ้อยเป็นโรคใบขาว (พันธุ์อู่ทอง1) จากแปลงปลูกจังหวัดขอนแก่น
ช่องที่ 4 เชื้อจากแมลง *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว 1 สัปดาห์
ช่องที่ 5-6 เชื้อจากแมลง *Exitianus indicus* ซึ่งจับจากธรรมชาติ
ช่องที่ 7 เชื้อจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกใบขาว
ช่องที่ 8 เชื้อจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งจับจากธรรมชาติ



ภาพที่ 17 แบบแผน RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ของผลผลิตดีเอ็นเอ (16S rRNA gene) ของเชื้อไฟโตพลาสมา ย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Tru 9I*

ช่อง	M	ดีเอ็นเอ Marker 1 kb
ช่องที่	1	เชื้อจากหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาวขึ้นตามธรรมชาติ
ช่องที่	2,11	เชื้อจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยใบขาว
ช่องที่	3	เชื้อจากอ้อยเป็นโรคใบขาว (พันธุ์อู่ทอง 1)
ช่องที่	4	เชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินอ้อยเป็นโรคใบขาว 2 สัปดาห์
ช่องที่	5	เชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว 1 สัปดาห์
ช่องที่	6	เชื้อจากหญ้าแกลกเป็นโรคใบขาวขึ้นตามธรรมชาติ
ช่องที่	7 –8	เชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ซึ่งจับมาจากธรรมชาติ
ช่องที่	9	เชื้อจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินหญ้าแพรกเป็นโรคใบขาว
ช่องที่	10	เชื้อจากพืชทดสอบ (หญ้าแพรก) ที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus Indicus* ซึ่งจับมาจากธรรมชาติ
ช่องที่	12	เชื้อจากแมลงพาหะ *Exitianus indicus* ที่ผ่านการดูดกินอ้อยเป็นโรคใบขาว