

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเหลว LB ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป ประกอบด้วย

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	5 กรัม

ผสมสารต่างๆให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร และปรับ pH ให้เป็น 7.4 โดยใช้ NaOH จากนั้นนำสารผสมดังกล่าวมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ถ้าต้องการเติมสารปฏิชีวนะ ampicillin หลัง autoclave ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

2. อาหารวุ้น LB ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป ประกอบด้วย

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	5 กรัม
Agar	15 กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้เป็น 7.4 โดยใช้ NaOH จากนั้นนำสารผสมดังกล่าวมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ถ้าต้องการเติมสารปฏิชีวนะ ampicillin ให้เติมหลังการ autoclave โดยปล่อยให้เย็นลงอาหารวุ้น LB ให้อุณหภูมิเย็นลงประมาณ 60 องศาเซลเซียส จึงเติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (petri dish)

3. อาหารเหลว SOC ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* สำหรับเตรียม competent cell หรือใช้สำหรับการถ่ายพลาสมิดเข้าสู่เชื้อแบคทีเรีย ประกอบด้วย

Tryptone	2% (W/V)
Yeast extract	0.5% (W/V)
NaCl	10 mM

KCl 2.5 mM

MgSO₄ 10 mM

Glucose 20 mM

ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หลังการ autoclave แล้ว จึงเติมสารละลายน้ำตาลที่มีการกรองด้วยแผ่นเมมเบรนขนาด 0.22 μ

4. สารปฏิชีวนะ ampicillin

เตรียมสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยแผ่นเมมเบรนขนาด 0.22 μ ก่อนเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

5. 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside (X-gal)

ละลาย X-gal 20 มิลลิกรัม ใน Dimethylformamide 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในหลอดที่ห่อด้วย foil ไม่ให้ถูกแสงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องกรอง สารละลายที่ได้เป็นสารละลายใส ไม่มีสี

ภาคผนวก ข
สารละลายบัฟเฟอร์และสารละลายอื่นๆ

1. Deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) ของบริษัท Promega, Madison, USA ประกอบด้วย

10 mM deoxyadenosine triphosphate (dATP)

10 mM deoxycytidine triphosphate (dCTP)

10 mM deoxyguanosine triphosphate (dGTP)

10 mM deoxythymidine triphosphate (dTTP)

เตรียม dNTP 2 mM จาก 10 mM dATP, dCTP, dGTP และ dTTP อย่างละ 40 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ปริมาตรครบ 200 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เตรียม dNTP 2.5 mM จาก 10 mM dATP, dCTP, dGTP และ dTTP อย่างละ 100 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. 0.5M EDTA ประกอบด้วย

Disodium ethylenediamine tetraacetate · 2H₂O 186.1 กรัม

น้ำกลั่น

ชั่ง Disodium ethylenediamine tetraacetate · 2H₂O 186.1 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตร กวนอย่างแรงด้วยการใช้ magnetic stirrer แล้วเติมเกล็ด NaOH ลงไปจนกระทั่งได้ pH เท่ากับ 8 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

3. Ethidium bromide (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ประกอบด้วย

Ethidium bromide 1 กรัม

น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชั่ง Ethidium bromide 1 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร และกวนด้วยการใช้ magnetic stirrer จนกว่าจะละลาย ห่อด้วย foil ไม่ให้ถูกแสง และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. 1M NaCl ประกอบด้วย

NaCl 5.844 กรัม

น้ำกลั่น

ละลาย NaCl 5.844 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

5. สารละลายผสมของ Chloroform และ Isoamyl alcohol (24:1)

ผสม Chloroform และ Isoamyl alcohol ด้วยอัตราส่วน 24:1 เก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง

6. สารละลายผสมของ Phenol, Chloroform และ Isoamyl alcohol (25:24:1)

ผสม Chloroform และ Isoamyl alcohol ด้วยอัตราส่วน 24:1 แล้วนำไปผสมกับสารฟีนอลให้มีปริมาตรที่เท่ากัน เก็บในขวดสีเข้มไม่ให้ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7. 3M Sodium acetate pH 5.2 ประกอบด้วย

Sodium acetate $\cdot$ 3H₂O 24.6 กรัม

น้ำกลั่น

ชั่ง Sodium acetate $\cdot$ 3H₂O 24.6 กรัม มาละลายในน้ำ 90 มิลลิลิตร เติม Glacial acetic acid จนกระทั่งได้ pH เท่ากับ 5.2 ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

8. 10% Sodium dodecyl sulfate (SDS) ประกอบด้วย

SDS 10 กรัม

น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ละลาย SDS 10 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

9. 1M Tris-HCl ประกอบด้วย

Tris base 121.1 กรัม

น้ำกลั่น

ละลาย Tris base 121.1 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตร ปรับ pH โดยการใช้กรด HCl เข้มข้น จนกระทั่งได้ pH เท่ากับ 8 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

10. 100 bp marker ประกอบด้วย

stock 100 bp DNA Ladder (1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร) 50 ไมโครลิตร

Loading dye 50 ไมโครลิตร

สารละลายบัฟเฟอร์ TE 400 ไมโครลิตร

ผสมสารละลาย stock 100 bp DNA Ladder (1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร) 50 ไมโครลิตร, Loading dye 50 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ TE 400 ไมโครลิตรให้เข้ากันและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

11. λ Hind III marker ประกอบด้วย λ Hind III (0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร) 50 ไมโครลิตร

Loading dye 50 ไมโครลิตร

สารละลายบัฟเฟอร์ TE 400 ไมโครลิตร

ผสม λ Hind III (0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร) 50 ไมโครลิตร, Loading dye 50 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ TE 400 ไมโครลิตร ให้เข้ากัน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

12. Loading dye ประกอบด้วย

Urea 2.4 กรัม

Sucrose 5 กรัม

Bromophenol blue 1 มิลลิลิตร จาก 0.5% ของ stock (0.05 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร)

Xylene cyanol 1 มิลลิลิตร จาก 0.5% ของ stock (0.05 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร)

0.5M EDTA 2 มิลลิลิตร

น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ผสมสารต่างๆ ให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร

13. TBE (Tris Borate EDTA) (10X) ประกอบด้วย

Tris base 108 กรัม

EDTA 9.3 กรัม

Boric acid 55 กรัม

ละลาย Tris 108 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เติม EDTA 9.3 กรัม และ Boric acid 55 กรัม ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1 ลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

14. สารละลายบัฟเฟอร์ TE (Tris EDTA) ประกอบด้วย

1M Tris pH 8 5 มิลลิลิตร

0.5M EDTA 1 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น

ผสม 1M Tris pH 8 5 มิลลิลิตร และ 0.5M EDTA 1 มิลลิลิตรให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1 ลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

15. สารละลายบัฟเฟอร์ 2% CTAB ประกอบด้วย

1M Tris pH 8 50 มิลลิลิตร

0.5M EDTA pH 8 20 มิลลิลิตร

NaCl 40.88 กรัม

น้ำกลั่น

ผสม 1M Tris pH 8 50 มิลลิลิตร และ 0.5M EDTA pH 8 20 มิลลิลิตรให้เข้ากัน แล้วเติม NaCl 40.88 กรัม ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรเป็น 490 มิลลิลิตร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ปล่อยให้อุณหภูมิเย็นลงประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วเติม CTAB 10 กรัม

แบ่งใช้ครั้งละ 100 มิลลิลิตรโดยเติม 0.02% mercaptoethanol

16. สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับสกัดดีเอ็นเอของแมลง ประกอบด้วย

1M Tris pH 8	100	ไมโครลิตร
0.5M EDTA pH 8	25	ไมโครลิตร
1M NaCl	125	ไมโครลิตร
10% SDS	25	ไมโครลิตร
Pronase 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	25	ไมโครลิตร

ผสมสารต่างๆ ให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ปริมาตรครบ 500 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง

ภาคผนวก ค วิธีการเตรียมเอนไซม์

1. RNase (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

RNase	200 มิลลิกรัม
5M NaCl	30 ไมโครลิตร
1M Tris pH 7.5	100 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	

เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มในน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. Pronase

ละลาย Pronase 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยแผ่นเมมเบรนขนาด 0.22 μ เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 125 ไมโครลิตร และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. *Msp* I และ *Hpa* II (บริษัท Promega, Madison, USA)

ความเข้มข้นของ *Msp* I คือ 10 หน่วยต่อไมโครลิตร จัดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'C / CGG 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

4. *Hpa* I (บริษัท Promega, Madison, USA)

ความเข้มข้นของ *Hpa* I คือ 10 หน่วยต่อไมโครลิตร จัดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'GTT / AAC 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

5. *Dra* I (บริษัท Promega, Madison, USA)

ความเข้มข้นของ *Dra* I คือ 10 หน่วยต่อไมโครลิตร จัดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'TTT / AAA 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

6. *EcoR* I (บริษัท Promega, Madison, USA)

ความเข้มข้นของ *EcoR* I คือ 12 หน่วยต่อไมโครลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'G / AATTC 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

7. *Hind* III (บริษัท Promega, Madison, USA)

ความเข้มข้นของ *Hind* III คือ 10 หน่วยต่อไมโครลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'A / AGCTT 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

8. *Xba* I (บริษัท Amersham Life Science)

ความเข้มข้นของ *Xba* I คือ 12 หน่วยต่อไมโครลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'T / CTAGA 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

9. *Bgl* I (บริษัท Amersham Life Science)

ความเข้มข้นของ *Bgl* I คือ 12 หน่วยต่อไมโครลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'GCCNNNN / NGGC 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

10. *Kpn* I (บริษัท Pharmacia Biotech)

ความเข้มข้นของ *Kpn* I คือ 12,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'GGTAC / C 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

11. *Sal* I (บริษัท Pharmacia Biotech)

ความเข้มข้นของ *Sal* I คือ 10,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'G / TCGAC 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

12. *Bam*H I (บริษัท Pharmacia Biotech)

ความเข้มข้นของ *Bam*H I คือ 20,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร จดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'G / GATCC 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

13. *Taq* I (บริษัท Pharmacia Biotech)

ความเข้มข้นของ *Taq* I คือ 8,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร จัดจำและตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'T / CGA 3' ปฏิกริยาเกิดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

ภาคผนวก ง

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อย พืชอื่นๆ และแมลงพาหะ

หญ้าแพรงใบขาว	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTAGGTTAAC	50
หญ้าข้าวใบขาว	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTAGGTTAAC	50
หญ้าปากควายใบขาว	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTAGGTTAAC	50
อ้อยกอตะไคร้	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTAGGTTAAC	50
อ้อยใบขาว	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTAGGTTAAC	50
หญ้าแพรงใบขาว	TCCTAAAACGAGCGCAACCCTTGTCAC <u>T</u> AGTTGCCAGCATGTTATGATGG	100
หญ้าข้าวใบขาว	TCCTAAAACGAGCGCAACCCTTGTCAC <u>T</u> AGTTGCCAGCATGTTATGATGG	100
หญ้าปากควายใบขาว	TCCTAAAACGAGCGCAACCCTTGTCAC <u>T</u> AGTTGCCAGCATGTTATGATGG	100
อ้อยกอตะไคร้	TCCTAAAACGAGCGCAACCCTTGTCAC <u>T</u> AGTTGCCAGCATGTTATGATGG	100
อ้อยใบขาว	TCCTAAAACGAGCGCAACCCTTGTCAC <u>T</u> AGTTGCCAGCATGTTATGATGG	100
* *		
หญ้าแพรงใบขาว	GCACTTTAGTGAGACTGCCAATGAAAAATTGGAGGAAGGTGAGGATCACG	150
หญ้าข้าวใบขาว	GCACTTTAGTGAGACTGCCAATGAAAAATTGGAGGAAGGTGAGGATCACG	150
หญ้าปากควายใบขาว	GCACTTTAGTGAGACTGCCAATGAAAAATTGGAGGAAGGTGAGGATCACG	150
อ้อยกอตะไคร้	GCACTTTAGTGAGACTGCCAATGAAAAATTGGAGGAAGGTGAGGATCACG	150
อ้อยใบขาว	GCACTTTAATGAGACTGCCAATGAAAAATTGGAGGAAGGTGAGGATCACG	150

*

ภาพผนวกที่ 1 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยและหญ้าชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบขาว รวมทั้งในอ้อยที่แสดงอาการกอตะไคร้ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ 23s rRNA โดยใช้ชุด primer MLO 1, MLO 7

หญ้าแพรกใบขาว	TCAAATCATCATGCCCCCTTATGATCTGGGCTACAAACGTGATACAATGGC	200
หญ้าข้อใบขาว	TCAAATCATCATGCCCCCTTATGATCTGGGCTACAAACGTGATACAATGGC	200
หญ้าปากควายใบขาว	TCAAATCATCATGCCCCCTTATGATCTGGGCTACAAACGTGATACAATGGC	200
อ้อยกอตะไคร้	TCAAATCATCATGCCCCCTTATGATCTGGGCTACAAACGTGATACAATGGC	200
อ้อยใบขาว	TCAAATCATCATGCCCCCTTATGATCTGGGCTACAAACGTGATACAATGGC	200
หญ้าแพรกใบขาว	TGTTACAAAGAGTAGCTAAAACGCGAGTTIATAGCCAATCTCATAAAAGC	250
หญ้าข้อใบขาว	TGTTACAAAGAGTAGCTAAAACGCGAGTTIATAGCCAATCTCATAAAAGC	250
หญ้าปากควายใบขาว	TGTTACAAAGAGTAGCTAAAACGCGAGTTIATAGCCAATCTCATAAAAGC	250
อ้อยกอตะไคร้	TGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGCAAGTTAATAGCCAATCTCATAAAAGC	250
อ้อยใบขาว	TGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGTAAGTTIATAGCCAATCTCATAAAAGC	250
	* ** *	*
หญ้าแพรกใบขาว	AGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
หญ้าข้อใบขาว	AGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
หญ้าปากควายใบขาว	AGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
อ้อยกอตะไคร้	AGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
อ้อยใบขาว	AGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
หญ้าแพรกใบขาว	GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCTCGGGGTTTG	350
หญ้าข้อใบขาว	GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCTCGGGGTTTG	350
หญ้าปากควายใบขาว	GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCTCGGGGTTTG	350
อ้อยกอตะไคร้	GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCTCGGGGTTTG	350
อ้อยใบขาว	GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCTCGGGGTTTG	350

ภาพผนวกที่ 1 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยและหญ้าชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบขาว รวมทั้งในอ้อยที่แสดงอาการกอตะไคร้ที่มีการเพิ่มปริมาณ ในปฏิกิริยา PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ 23s rRNA โดยใช้ชุด primer MLO 1, MLO 7 (ต่อ)

หน้ําแพรกใบขาว TACACACCGCCCGTCAAACCACGAAAGTTGGTAATACTCAAAAACGGTAG 400
 หน้ําข้อใบขาว TACACACCGCCCGTCAAACCACGAAAGTTGGTAATACTCGAAAAACGGTAG 400
 หน้ําปากควายใบขาว TACACACCGCCCGTCAAACCACGAAAGTTGGTAATACTCGAAAAACGGTAG 400
 อ้อยกอตะไค้ TACACACCGCCCGTCAAACCACGAAAGTTGGTAATACTCGAAAAACGGTAG 400
 อ้อยใบขาว TACACACCGCCCGTCAAACCACGAAAGTTGGTAATACTCAAAAAACGGTAG 400

*

หน้ําแพรกใบขาว CCTAACTTCTTCGGAAGAGGGGAACIGTCTAAGGTAGGATCGATGATTGGG 450
 หน้ําข้อใบขาว CCTAACTTCTTCGGAAGAGGGGAACCGTCTAAGGTAGGATCGATGATTGGG 450
 หน้ําปากควายใบขาว CCTAACTTCTTCGGAAGAGGGGAACCGTCTAAGGTAGGATCGATGATTGGG 450
 อ้อยกอตะไค้ CCTAACTTCTTCGGAAGAGGGGAACIGTCTAAGGTAGGATCGATGATTGGG 450
 อ้อยใบขาว CCTAACTTCTTCGGAAGAGGGGAACCGTCTAAGGTAGGATCGATGATTGGG 450

**

หน้ําแพรกใบขาว GTTAAGTCGTAACAAGGTATCCCTACCGGAAGGTGGGGATGGATCACCTC 500
 หน้ําข้อใบขาว GTTAAGTCGTAACAAGGTATCCCTACCGGAAGGTGGGGATGGATCACCTC 500
 หน้ําปากควายใบขาว GTTAAGTCGTAACAAGGTATCCCTACCGGAAGGTGGGGATGGATCACCTC 500
 อ้อยกอตะไค้ GTTAAGTCGTAACAAGGTATCCCTACCGGAAGGTGGGGATGGATCACCTC 500
 อ้อยใบขาว GTTAAGTCGTAACAAGGTATCCCTACCGGAAGGTGGGGATGGATCACCTC 500

หน้ําแพรกใบขาว CTTTCTAAGGAAAAGAAAAATTTTTAAATTTTCATCTTCAGTTTTGAAAG 550
 หน้ําข้อใบขาว CTTTCTAAGGAAAAGAAAAATTTTTAAATTTTCATCTTCAGTTTTGAAAG 550
 หน้ําปากควายใบขาว CTTTCTAAGGAAAAGAAAAATTTTTAAATTTTCATCTTCAGTTTTGAAAG 550
 อ้อยกอตะไค้ CTTTCTAAGG_AAAT_AATTTTTAAATTTTCATCTTCAGTTTTGAAAG 547
 อ้อยใบขาว CTTTCTAAGG_AAAT_AATTTTTAAATTTTCATCTTCAGTTTTGAAAG 547

*

*

ภาพผนวกที่ 1 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยและหน้ําชนิดต่างๆ
 ที่แสดงอาการใบขาว รวมทั้งในอ้อยที่แสดงอาการกอตะไค้ที่มีการเพิ่มปริมาณ
 ในปฏิกิริยา PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ 23s rRNA โดยใช้ชุด
 primer MLO 1, MLO 7 (ต่อ)

หญ้าแพรกใบขาว	ACTTAGTTCTAATAAGTAGTAAGTTTTCTCTTTTAAGAAAAAGGAA__	597
หญ้าข้าวใบขาว	ACTTAGTTCTAATAAGTAGTAAGTTTTCTCTTTTAAGAAAAAGGAA__	597
หญ้าปากควายใบขาว	ACTTAGTTCTAATAAGTAGTAAGTTTTCTCTTTTAAGAAAAAGGAA__	597
อ้อยกอตะไคร้	ACTTAGTTCTIATAA _____ TTTTCTITTTTAAGGAAAAAGAAAAAT	589
อ้อยใบขาว	ACTTAGTTCTIATAA _____ TTTTCTITTTTAAGGAAAAAGAAAA I	588
	* * * * *	
หญ้าแพรกใบขาว	GGGCCTATAGCTCAGTTGGTTAGAGCACACGCCTGATAAGCGTGAGGTCTG	647
หญ้าข้าวใบขาว	GGGCCTATAGCTCAGTTGGTTAGAGCACACGCCTGATAAGCGTGAGGTCTG	647
หญ้าปากควายใบขาว	GGGCCTATAGCTCAGTTGGTTAGAGCACACGCCTGATAAGCGTGAGGTCTG	647
อ้อยกอตะไคร้	GGGCCTATAGCTCAGTTGGTTAGAGCACACGCCTGATAAGCGTGAGGTCTG	639
อ้อยใบขาว	GGGCCTATAGCTCAGTTGGTTAGAGCACACGCCTGATAAGCGTGAGGTCTG	638
หญ้าแพรกใบขาว	ATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCCACCAACTGATCAATAAGGTCATCTTTC	697
หญ้าข้าวใบขาว	ATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCCACCAACTGATCAATAAGGTCATCTTTC	697
หญ้าปากควายใบขาว	ATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCCACCAACTGATCAATAAGGTCATCTTTC	697
อ้อยกอตะไคร้	ATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCCACCAACTGAAAAA AGGTC ITTTTTTC	687
อ้อยใบขาว	ATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCCACCAACTGAAAAA AGGTCATTTTTTC	687
	** * * *	
หญ้าแพรกใบขาว	TAATTCTTAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTAGATAAAACAAAGTAAAAATAAT	747
หญ้าข้าวใบขาว	TAATTCTTAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTAGATAAAACAAAGTAAAAATAAT	747
หญ้าปากควายใบขาว	TAATTCTTAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTAGATAAAACAAAGTAAAAATAAT	747
อ้อยกอตะไคร้	CAATTCTTGAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTAGATAAAACAAAGTAAAAATIT	737
อ้อยใบขาว	TAATTCTTAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTAGATAAAACAAAGTATTTTTIT	737
	** * *** **	

ภาพผนวกที่ 1 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยและหญ้าชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบขาว รวมทั้งในอ้อยที่แสดงอาการกอตะไคร้ที่มีการเพิ่มปริมาณ ในปฏิกิริยา PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ 23s rRNA โดยใช้ชุด primer MLO 1, MLO 7 (ต่อ)

โคลนที่ 1	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 2	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 3	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 4	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 5	AGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	59
โคลนที่ 6	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 7	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 8	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTIGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 9	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG	60
โคลนที่ 10	AGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTAGGTAAAGTCCTAAAACG	59
โคลนที่ 11	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTAGGTAAAGTCCTAAAACG	60
โคลนที่ 12	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTAGGTAAAGTCCTAAAACG	60
อ้อยใบขาว	CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTAGGTAAAGTCCTAAAACG	60

* * *

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง

โคลนที่ 1 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTCCGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 2 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTTAGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 3 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTTAGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 4 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTTAGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 5 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTTAGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 118
 โคลนที่ 6 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTCCGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 7 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG GTCCGGCCGGGAAC TAAAGGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 8 AGCGCAACCCTTATCCTTIGTTGCCAGCG CG GATGGGGGAAC TAAAGGAGACTGCCG 119
 โคลนที่ 9 AGCGCAACCCTTAAAGCTTAGTTGCCATCA TTAAGTTGGCGAAC TCTAAG TTGACTGCCG 119
 โคลนที่ 10 AGCGCAACCCTTGTCGTTAGTTGCCAGCATGTCATGATGGGCAC TTTAATGAGACTGCCA 119
 โคลนที่ 11 AGCGCAACCCTTGTCGTTAGTTGCCAGCATGTCATGATGGGCAC TTTAATGAGACTGCCA 120
 โคลนที่ 12 AGCGCAACCCTTGTCGTTAGTTGCCAGCATGTCATGATGGGCAC TTTAATGAGACTGCCA 120
 อ้อยใบขาว AGCGCAACCCTTGTCATTAGTTGCCAGCATGTCATGATGGGCAC TTTAATGAGACTGCCA 120

**** * * ***** *

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อใน
 แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มี
 การเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA
 (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
 ของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการ
 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 2 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 3 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 4 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 5 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 178
 โคลนที่ 6 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 7 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 8 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGC 179
 โคลนที่ 9 GTGATAAACITGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGGTITGGGC 179
 โคลนที่ 10 ATGAAAAATITGGAGGAAGGTGAGGATCACGTCAAAATCATCATGCCCTTATGATCTGGGC 179
 โคลนที่ 11 ATGAAAAATITGGAGGAAGGTGAGGATCACGTCAAAATCATCATGCCCTTATGATCTGGGC 180
 โคลนที่ 12 ATGAAAAATITGGAGGAAGGTGAGGATCACGTCAAAATCATCATGCCCTTATGATCTGGGC 180
 อ้อยใบขาว ATGAAAAATITGGAGGAAGGTGAGGATCACGTCAAAATCATCATGCCCTTATGATCTGGGC 180
 * * ** * * ** * * ****

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อใน
 แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มียีน
 การเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA
 (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
 ของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการ
 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 2 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 3 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 4 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 5 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 237
 โคลนที่ 6 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 7 TACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 8 TACACACGTGCTACAATGGCGTATACAAAGGGAAGTGACCTCGCAAGGCA AGCGGACC 238
 โคลนที่ 9 TACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCGAAATCGCGAGGTCA AGCAAAAC 238
 โคลนที่ 10 TACAAACGTGATACAATGGCTGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGTAAGTTTATAGCCAATC 239
 โคลนที่ 11 TACAAACGTGATACAATGGCTGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGTAAGTTTATAGCCAATC 240
 โคลนที่ 12 TACAAACGTGATACAATGGCTGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGTAAGTTTATAGCCAATC 240
 อ้อยใบขาว TACAAACGTGATACAATGGCTGTTACAAAGAGTAGCTGAAACGTAAGTTTATAGCCAATC 240
 * * * *** * * *****

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อใน
 แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มี
 การเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA
 (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
 ของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการ
 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 2	ICATAAAAGTGCCTTGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 3	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 4	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGIATC	298
โคลนที่ 5	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	297
โคลนที่ 6	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 7	ICATAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 8	ICATAAAAGTACGTCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC	298
โคลนที่ 9	CCATAAAAGTTGT TCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTATATGAAGCTGGAATC	298
โคลนที่ 10	ICATAAAAGCAGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	299
โคลนที่ 11	ICATAAAAGCAGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCTACTTCATGAAGTTGGAATC	300
โคลนที่ 12	ICATAAAAGCAGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
อ้อยใบขาว	ICATAAAAGCAGTCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC	300
	* ***** *** * * * ** ** *	

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 2 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 3 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 4 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 5 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 357
 โคลนที่ 6 GCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 7 GCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 8 GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 9 GCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGICTTGTACACACCGC 358
 โคลนที่ 10 GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTTCGCGGGITTTGTACACACCGC 359
 โคลนที่ 11 GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTTCGCGGGITTTGTACACACCGC 360
 โคลนที่ 12 GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTTCGCGGGITTTGTACACACCGC 360
 อ้อยใบขาว GCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTTCGCGGGITTTGTACACACCGC 360

*** * ***** *

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อใน
 แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่ม
 การเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA
 (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
 ของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการ
 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 2 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 3 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 4 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 5 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 417
 โคลนที่ 6 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 7 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 8 CCGTCACACCAIGGGAGTGGGTGCAAAAGAAGTAGGTAGCITTAACCTTCG GGAGGGCGC 418
 โคลนที่ 9 CCGTCACACCAAGAGAGTGGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCATTT GGAGCTAGC 418
 โคลนที่ 10 CCGTCAAACCAAGAAAGTIGGTAATACTC AAAACGGTAGCCTAACCTTCGGAAGAGGG 419
 โคลนที่ 11 CCGTCAAACCAAGAAAGTIGGTAATACTC AAAACGGTAGCCTAACCTTCGGAAGAGGG 420
 โคลนที่ 12 CCGTCAAACCAAGAAAGTIGGTAATACTC AAAACGGTAGCCTAACCTTCGGAAGAGGG 419
 อ้อยใบขาว CCGTCAAACCAAGAAAG TIGGTAATACTCAAAAACGGTAGCCTAACCTTCGGAAGAGGG 421

* * ** * ***** * ** ***** *****

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 2 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 3 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 4 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 5 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 474
 โคลนที่ 6 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 7 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 8 TTACC ACTT TGTGAT TCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAA 475
 โคลนที่ 9 CGTCG AAGGTGGGACAAATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAA 475
 โคลนที่ 10 A ACCGTCTAAGGTAAAAAT CGATGATTGGGGTTAAGTCGTAACAAGG TAICCCCTACCGGAA 479
 โคลนที่ 11 A ACCGTCTAAGGTAAAAAT CGATGATTGGGGTTAAGTCGTAACAAGG TAICCCCTACCGGAA 480
 โคลนที่ 12 A ACCGTCTAAGGTAAAGT CGATGATTGGGGTTAAGTCGTAACAAGG TAICCCCTACCGGAA 479
 อ้อยใบขาว A ACCGTCTAAGGTAGGAT CGATGATTGGGGTTAAGTCGTAACAAGG TAICCCCTACCGGAA 481

*** ***** *** ***** ** * * * * *

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AACCTGCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 2 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AACCTGCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 3 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AACCTGCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 4 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AACCTGCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 5 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AACCTGCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 534
 โคลนที่ 6 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AAGCGTTCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 7 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTTAAAG AAGCGTTCCTTTGTAGTGCTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 8 CCTGCGGTTGGATCACCTCCTTACCTAGTTG ATTTGGAATGTGTAGTGTTCA CACAGATT 535
 โคลนที่ 9 GGTGCGGCTGGATCACCTCCTTTCTAAGGATATATTCGGAACATCTTCTACG AAGAGATT 535
 โคลนที่ 10 GGTGCGGATGGATCACCTCCTTTCTAAGGAAATAATTTTT AAATATTCA TCTT CAGITT 539
 โคลนที่ 11 GGTGCGGATGGATCACCTCCTTTCTAAGGAAATAATTTTT AAATATTCA TCTT CAGITT 540
 โคลนที่ 12 GGTGCGGATGGATCACCTCCTTTCTAAGGAAATAATTTTT AAATATTCA TCTT CAGITT 539
 อ้อยใบขาว GGTGCGGATGGATCACCTCCTTTCTAAGGAAATAATTTTT AAATATTCA TCTT CAGITT 541

** * *

*

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อใน
 แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการ
 เพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA
 (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
 ของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการ
 เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1	<u>_GTCTGA_TGAAAAACAGCAGT_____AAGAAAACC TCTACAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 2	<u>_GTCTGA_TGAAAAATAGCAGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 3	<u>_GTCTGA_TGAAAAATAGCAGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 4	<u>_GTCTGA_TGAAAAATAGCAGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 5	<u>_GTCTGA_TGAAAAATAGCAGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	580
โคลนที่ 6	<u>_GTCTGA_TGAAAAATTAGCGGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 7	<u>_GTCTGA_TGAAAAATTAGCGGT_____AAGAAAATC TCTGCAGGCTTGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 8	<u>_GTCTGA_TAGAAAGAAGCAGT_____AAGACCGGG AATGCAGGCTCGTAGCT</u>	581
โคลนที่ 9	<u>_GAATAA_CGTGACATATTGTA_____TTCAGATTT TTGAATGTT TATTAGCT</u>	581
โคลนที่ 10	<u>TGAAAGACTTAGT TCTTATAAGTTTTCTTTTTTAAGGAAAAGAAAATGGGCCTATAGCT</u>	599
โคลนที่ 11	<u>TGAAAGACTTAGT TCTTATAAGTTTTCTTTTTTAAGGAAAAGAAAATGGGCCTATAGCT</u>	600
โคลนที่ 12	<u>TGAAAGACTTAGT TCTTATAAGTTTTCTTTTTTAAGGAAAAGAAAATGGGCCTATAGCT</u>	599
อ้อยใบขาว	<u>TGAAAGACTTAGT TCTTATAAGTTTTCTTTTTTAAGGAAAAGAAAATGGGCCTATAGCT</u>	601
* **** ** ***** *** ***** *****		

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)

โคลนที่ 1	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 2	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 3	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 4	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 5	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	625
โคลนที่ 6	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 7	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 8	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 9	CAGGTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	626
โคลนที่ 10	CAGITGGTTAGAGCAGCACGCCTGATAAGCGTGAGGTCGGTGGTTC	644
โคลนที่ 11	CAGITGGTTAGAGCAGCACGCCTGATAAGCGTGAGGTCGGT	640
โคลนที่ 12	CAGITGGTTAGAGCAGCACGCCTGATAAGCGTGAGGTCGGT	639
อ้อยใบขาว	CAGITGGTTAGAGCAGCACGCCTGATAAGCGTGAGGTCGATGGTTCAAGTCCATTAG	658
	* * * *	
อ้อยใบขาว	GCCCACCAACTGAAAAAGGTCATTTTTCTAATTCTTAAAAAAGTTCTTTGAAAAGTA	718
อ้อยใบขาว	GATAAACAAAGTATTTTTTAAAAATCAAAGGAATCAAGGGCGTACAGTGGATGCCTTGG	779
อ้อยใบขาว	CACTAAGAGCCGATGAAGGACG	800

ภาพผนวกที่ 2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มีการติดเชื้อในแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) ที่มีการเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา nested PCR ที่ส่วนของยีน 16s rRNA และ tRNA (Ile) โดยใช้ชุด primer U 1, MLO 7 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งแรก และใช้ชุด primer MLO 1, MLO 3 สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาในครั้งที่สอง (ต่อ)