

สุปราณี บุญโนนแต่ 2553: การพัฒนาวิธีการตรวจสอบโรคใบขาวอ้อยอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พฤษศรเศรษฐกิจ) สาขาพฤษศรเศรษฐกิจ สายวิชาวิทยาศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ สิริภัทร พรหมณีย์, Ph.D. 95 หน้า

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการพัฒนาวิธีการตรวจสอบโรคใบขาวอ้อยให้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยการพัฒนาตัวตรวจที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย โคลน PCR product จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ใช้ primer ที่ออกแบบจากยีน 16S rRNA ที่จำเพาะกับเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวอ้อย จำนวน 4 ชุด และคัดเลือกโคลนที่มีความเฉพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพ โดยการทดสอบกับตัวอย่างใบอ้อย และตัวอย่างแมลง ด้วยวิธีการตัดเฉพาะส่วน inserted DNA จาก recombinant clone ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Not I* ติดฉลากด้วยสาร dioxigenin นำมาตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี dot blot hybridization พบว่า โคลนจาก primer A1A2 ให้สัญญาณที่ชัดเจนมากที่สุด และพบสัญญาณบนตัวอย่างอ้อยที่เป็นโรคแต่ไม่พบบนอ้อยปกติ อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ การสกัดดีเอ็นเอที่ใช้เวลาสั้นขึ้นมีความจำเป็น การทดลองนี้จึงได้ดัดแปลงวิธีการสกัดดีเอ็นเอแบบลดขั้นตอนด้วยสารเคมีตามวิธีของ Dellaporta *et al.* (1983) วิธีของ Kang *et al.* (1998) และวิธี Kristi *et al.* (2002) เปรียบเทียบการบดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลวและผงซิลิกา พบว่าการใช้สารเคมีตามวิธีของ Dellaporta *et al.* (1983) และการใช้ในไนโตรเจนเหลวในการบดตัวอย่างให้ผลที่มีประสิทธิภาพ และในการลดขั้นตอน การทดลองโดยใช้ส่วนน้ำใสบ่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เป็นวิธีที่ให้สัญญาณในการตรวจสอบที่มีความเข้มมากกว่าการใช้ส่วนน้ำใสบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และการใช้ส่วนน้ำใส (crude extract) ดีเอ็นเอที่สกัดได้นี้สามารถใช้ทำปฏิกิริยา PCR และให้ PCR product กับตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการใบขาวเท่านั้น