



เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

- จรัญญา เงินประเสริฐศิริ, "การตัดต่อและการแสดงออกของยีนเพนนิซิลิน เอซีเลส จากเอสเคอร์เรียโคไล," วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2528.
- นันทกร บุญเกิด ก, "อนาคตและศักยภาพของเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตรเพื่อการพัฒนาประเทศ," เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง เทคโนโลยีชีวภาพ, หน้า 79-88, จัดโดยสาขาชีวเคมี สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ฯ ร่วมกับภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และ สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2529.
- นันทกร บุญเกิด ข, คู่มือการใช้เชื้อไรโซเบียม, ศูนย์ทรัพยากรการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร สนับสนุนโดย USAID ประเทศไทย, NifTAL BNF Resource Center for South and Southeast Asia และ กรมวิชาการเกษตร, มกราคม 2529.
- พัชรี เจียรนัยกูร, "การคัดเลือกสายพันธุ์และศึกษาสมบัติของ *Rhizobium phaseoli* ที่ทนเค็ม," วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2528.
- วิมลศรี เทาะผลิน, "ประโยชน์ของถั่วเหลือง," เอกสารวิชาการ ชุดพืชศาสตร์ (Crop manual) ที่ 3 เรื่อง ถั่วเหลือง, หน้า 75-77, กรมส่งเสริมการเกษตร พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ศูนย์การทหารราบ (ไม่มี พ.ศ.)
- ศิริพร สิทธิประณีต, พันธุ์วิศวกรรม : ปฏิบัติการเบื้องต้น, หน้า 43-103, หน่วยปฏิบัติการวิจัย พันธุ์วิศวกรรม ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, พิมพ์ครั้งที่ 1, 2531.
- อธิป ลิขิตลิลิต, "การศึกษาศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนของ ไรโซเบียม *จาโรบินิตัม* สายพันธุ์ 122 และสายพันธุ์ใหม่," วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตหลักสูตรชีวเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2524.

ภาษาต่างประเทศ

- Adelberg, E.A., M.Mandel, and G.C.Ching Chen, "Optimal conditions for mutagenesis by N- methyl- N'- nitro- N- nitrosoguanidine in Escherichia coli K12," Biochem. Biophys. Res. Com. 18, 788-794, 1965.
- Albrecht, S.L., R.J. Maier, F.J. Hanus, S.A. Russell, D.W. Emerich, and H.J.Evans, "Hydrogenase in Rhizobium japonicum Increases Nitrogen Fixation by Nodulated Soybeans," Science 203, 1255-1257, 1979.
- Anon, "Tropical Legumes : Resources for the Future," National Academic of Sciences (ad hoc.) Panel Report, pp.332, Washington D.C., 1979.
- Beringer, J.E., "R-factor transfer in Rhizobium leguminosarum," J. Gen. Microbiol. 84, 188-198, 1974.
- Bourne, N., and B.N.Dancer, "Regeneration of Protoplasts of Bacillus subtilis 168 and Closely Related Strains," J. Gen. Microbiol. 132, 251-255, 1986.
- Carlton, B.C., and B.J. Brown, "13. Gene Mutation," Manual Methods for General Bacteriology, (Gerhardt, P. and E.W. Nester, eds., III. Genetics) pp.222-242, American Society for Microbiology, Washington, DC 20006, 1981.
- Coetzee, J.N., F.A.Sirgel, and G.Lecatsas, "Genetic Recombination in Fused Spheroplasts of Providencia alcalifaciens," J. Gen. Microbiol. 114, 313-322, 1979.
- Dunwell, J.L., F.Ahmad, and A.H.Rose, "Changes in the Polysaccharide Composition of Yeast Resulting from Biotin deficiency," Biochim. Biophys. Acta 51, 604, 1961.
- Halverson, and Stacey, "Signal Exchange in Plant-Microbe Interactions," Microbial. Rev. 50, 207, 1986.

- Jensen, H.L., "Nitrogen Fixation in Leguminous Plants : I. General Characters of Root-Nodules Bacteria Isolated from Species of Medicago and Trifolium in Australia," Proc. Linn. Soc. N.S.W. 66, 99-108, 1942.
- Kuykendall, L.D., and G.H.Elkan, "Rhizobium japonicum Derivatives Differing in Nitrogen Fixing Efficiency and Carbohydrate Utilization," Appl. Envir. Microbiol. 32, 511-519, 1976.
- Landfald, B., and A.R.Strom, "Choline-Glycine Betaine Pathway Confers a High Level of Osmotic Tolerance in Escherichia coli," J. Bacteriol. 165, 849-855, 1986.
- Lim, G., and J.C.Burton, "Nodulation Status of the Leguminosae," Nitrogen Fixation, vol.2 : Rhizobium (Bronghton, ed.), pp.1-13, 1982.
- Maggio, B., Q.F.Ahkong, and J.A.Lucy, "Poly (Ethylene Glycol), Surface Potential and Cell Fusion," Biochem. J. 158, 647-650, 1976.
- Mulongoy, K., and G.H.Elkan, "Glucose Catabolism in Two Derivatives of a Rhizobium japonicum Strain Differing in Nitrogen Fixing Efficiency," J. Bacteriol. 131, 179-187, 1977.
- Noel, D., "Molecular Genetics of Nitrogen Fixation," Advanced in Agricultural Biotechnology Applications of Genetic Engineering to Crop Improvement, (Collins, G.B., J.G. Petolino, eds.) pp. 53-85, M. Nijhoff/ W. Jank, Publisher, 1984.
- Okamishi, M., K.Suzuki, and H.Umezawa, "Formation and Reversion of Streptomycete Protoplasts : Cultural Conditions and Morphological Study," J. Gen. Microbiol. 80, 389-400, 1974.
- Peberdy, J.F., "Protoplast Fusion - a Tool for Genetic Manipulation and Breeding in Industrial Microorganisms," Enzyme Microb.

- Technol. 2, 23-29, 1980.
- Postgate, J.R.FRS, "Genetics of nif in Rhizobium," The Fundamental of Nitrogen Fixation pp.133-136, Cambridge University Press, 1982.
- Quinto, C., H.de la Vega, M.Flores, L.Ferna'ndez, T.Ballado, G.Sobero'n, and R.Palacios, "Reiteration of nitrogen fixation gene sequences in Rhizobium phaseoli," Nature 299, 724-726, 1982.
- Rai, R., and V.Prasad, "Salinity Tolerance Rhizobium Mutants : Growth and Relative Efficiency Symbiotic Nitrogen Fixation," Soil Biol. Chem. 15, 217-219, 1983.
- Rai, R., and V.Prasad, "Chemotaxis Cicer Rhizobium Strains to Root Exudates of Chick Pea (Cicer arietinum L.) Genotypes and Their Interaction Response on Nodulation, Nodulins, Leghaemoglobin and Grain Yield in Calcareous Soil," J. Agric. Sci., (Cambridge) 107, 75-81, 1986.
- Repaske, R., "Lysis of Gram-negative Organisms and the Role of Versene," Biochim. Biophys. Acta 30, 225-232, 1958.
- Sagara, Y., K.fukui, F.Ota, N.Yoshida, T.Kashiyama, and M.Fujimoto, "Rapid Formation of Protoplast of Streptomyces griseoflavus and Their Fine Structure," Japan J. Microbiol. 15(1), 73-84, 1971.
- Schmidt, E.L., R.O. Bankole, and B.B. Bohlool (1968), "Injecting and Bleeding Rabbits," Methods in Legume-Rhizobium Technology (Somasegaran,P., and H.J. Hoben, eds.) 304-309, University of Hawii NIFTAL Project and MERCEN, May, 1985.
- Schubert, K.R., and H.J.Evans, "Hydrogen Evolution : a Major Factor Affecting the Efficiency of Nitrogen Fixation in Nodulated Symbionts," Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 73, 1207-1211, 1976.
- Smith, L.T., J.A.Pocard, T.Bernard, and D.Le Rudulier, "Osmotic

- Control of Glycine Betaine Biosynthesis and Degradation in Rhizobium Meliloti," J. Bacteriol. 170, 3142-3149, 1988.
- Somasegaran, P., and H.J. Hoben, Methods in Legume-Rhizobium Technology pp.75-87, 320-327, University of Hawaii NIFTAL Project and MERCEN, May, 1985.
- Stowers, M.D., "Carbon Metabolism in Rhizobium Species," Ann. Rev. Microbiol. 39, 89-108, 1985.
- Strominger, J.L., and Birger, C.H., "Nucleotide accumulation induced in Staphylococcus aureus," J. Bacteriol. 89, 1124-1127, 1965.
- Stryer, L., "Mechanisms of Enzyme Action : Lysozyme and Carboxypeptidase," Biochemistry, pp.135-148, Stanford University, W.H.Freeman & Co., Sanfrancisco, 2nd ed., 1981.
- Vincent, J.M.(ed.), "The Cultivation, Isolation and maintainance of Rhizobia," A Manual for the Practical Study of the Root-Nodule Bacteria, Blackwell Scientific Publications, London, pp.1-13, 1970.
- Vincent, J.M., "Rhizobium : General Microbiology," A Treatise of Dinitrogen Fixation (Hardy R.W.F. and W.S.Silver, eds.), sec.III, pp.343-344, John-Wiley and Sons, 1977.
- Weibull, C., "Bacterial Protoplasts," Ann. Rev. Dec., 1-26, 1957.
- Wilson, J.R., and D.O.Norris, "Some Effect of Salinity on Glycine Max. and Its Rhizobium Symbiosis," Proc. Inter. Grassland Cong. 11, 455-458, 1970.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การหาเปอร์เซ็นต์การเกิดและการหาค่าหนึ่งเซลล์ของโพรโทพลาสต์

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดโพรโทพลาสต์โดยการวัดค่าการดูดแสง (PMA)

$$PMA = \frac{B - C}{B} \times 100 \%$$

2. เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สูญเสียภายหลังการสร้างโพรโทพลาสต์โดยการวัดค่าการดูดแสง (CL)

$$CL = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

3. เปอร์เซ็นต์การหาค่าหนึ่งเซลล์ของโพรโทพลาสต์ (PR)

$$PR = \frac{A(Y - Z)}{BX} \times 100 \%$$

เมื่อกำหนดให้

A คือ ค่าการดูดแสง (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร) ของเซลล์ก่อนการสร้างโพรโทพลาสต์ในสารละลายบัฟเฟอร์มาลีเอกที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์

B คือ ค่าการดูดแสงของเซลล์ภายหลังการสร้างโพรโทพลาสต์ในสารละลายบัฟเฟอร์มาลีเอกที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์

X คือ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable cell count) ก่อนการสร้างโพรโทพลาสต์ซึ่งเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์มาลีเอกที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์ และเจริญบนสูตรอาหารอุดมที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์

Y คือ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตภายหลังการสร้างโพรโทพลาสต์ ซึ่งเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์มาลีเอกที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์ และเจริญบนสูตรอาหารอุดมที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์

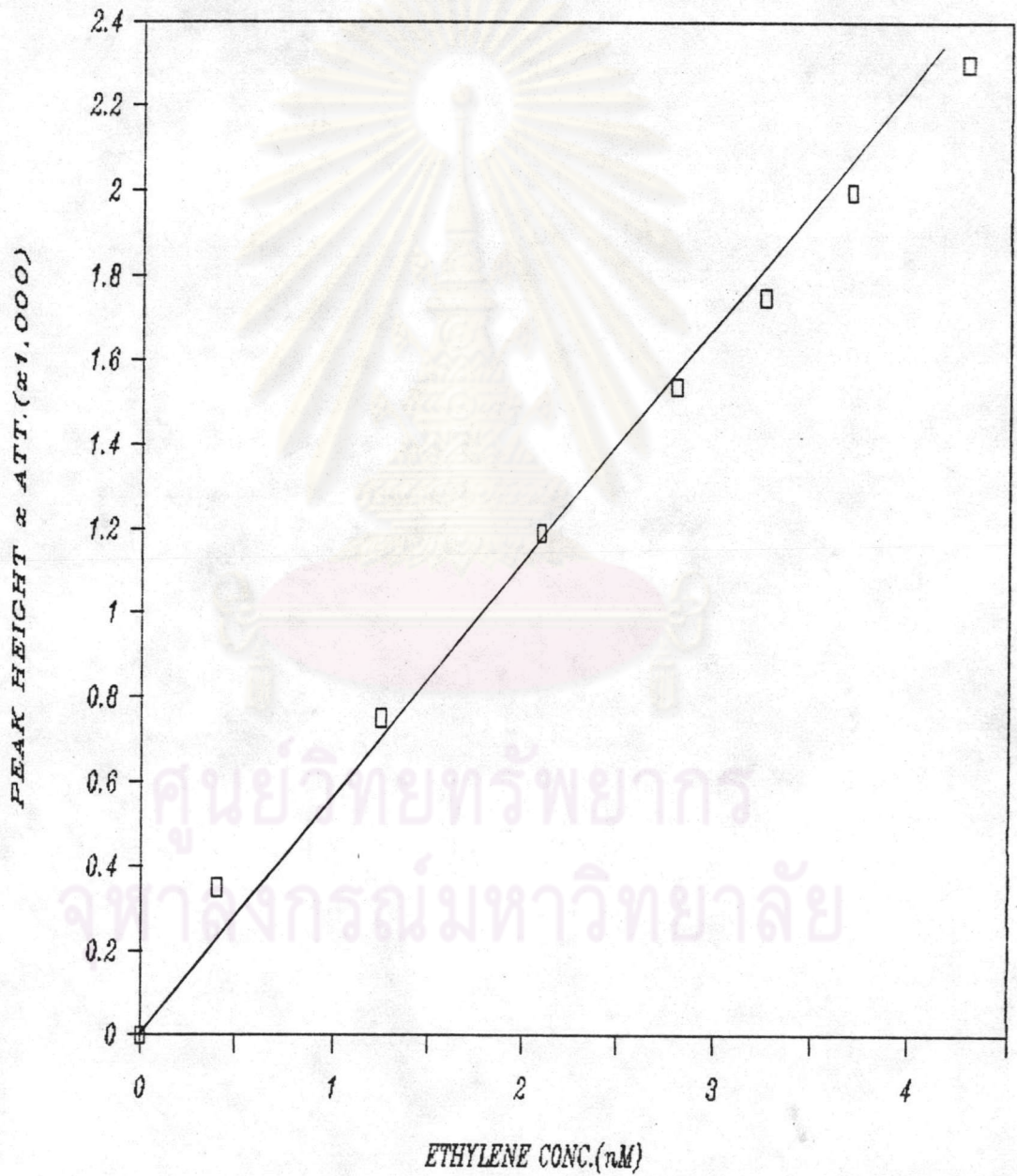
Z คือ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตภายหลังการสร้างโพรโทพลาสต์ ซึ่งเจือจางในน้ำกลั่นและเจริญบนสูตรอาหารอุดมที่มีชูโครส 0.234 โมลาร์



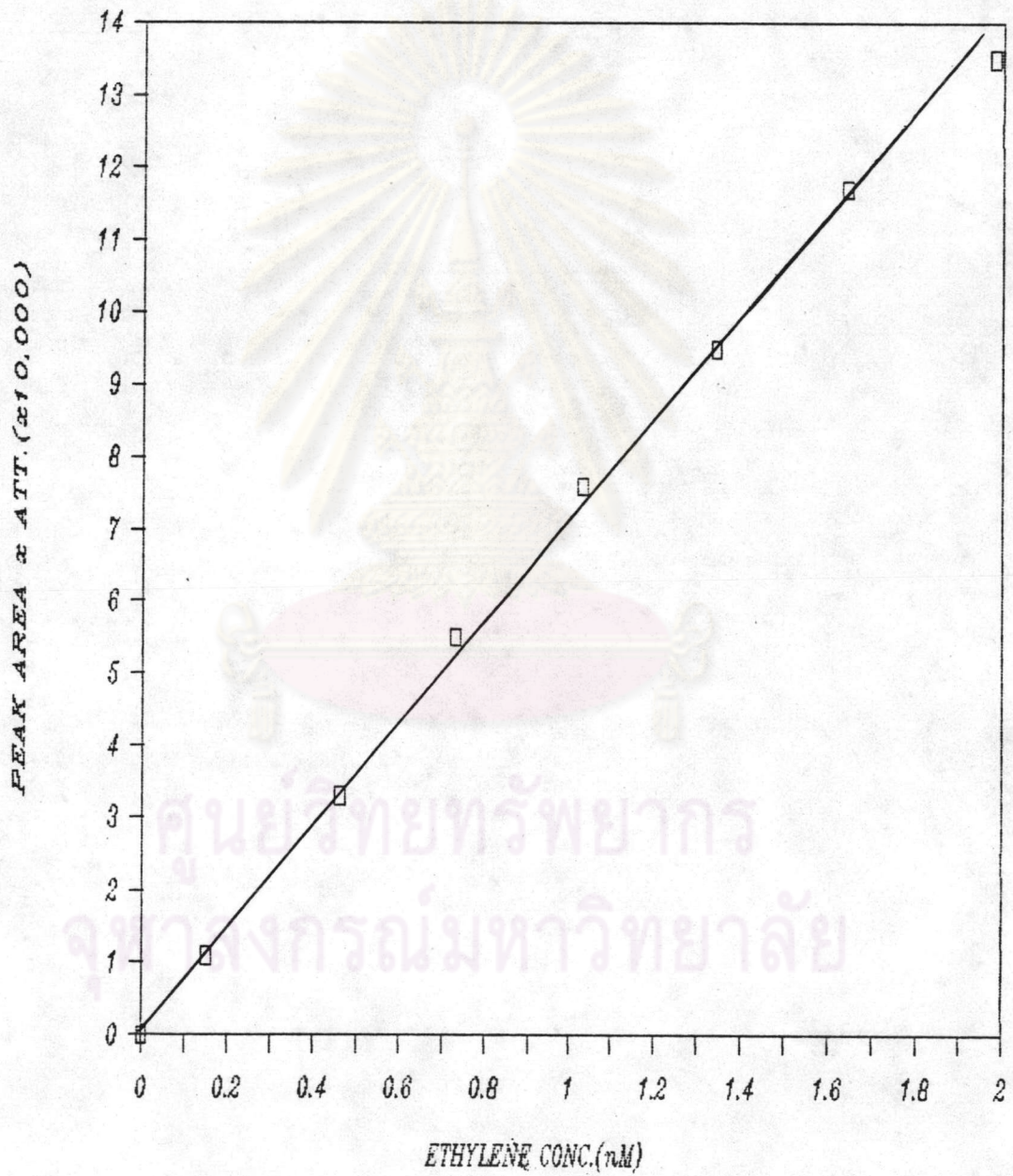
ภาคผนวก ข

ค่าลิเบชันกราฟของอะเซทิลีนมาตรฐานที่วัดด้วยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี

1. จากเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี Varian model 3700, U.S.A.



2. จากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี Shimadzu model GC-R1A, Japan



ภาคผนวก ค

ผลงานที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana,
"Optimization of Protoplast Formation in Rhizobium sp. TAL 141 ure," 14 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 14 (poster B-40, 19-21 October 1988, at Chulalongkorn University and Royal Orchid Sheraton Hotel), pp. 322-323.
2. Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana,
"Effects of Carbon Sources and Glycine-Betaine to Salt Tolerance in Rhizobium spp.," 14 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 14 (poster B-40, 19-21 October 1988, at Chulalongkorn University and Royal Orchid Sheraton Hotel), pp. 408-409.
3. Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana,
"Protoplast Formation and Fusion in Rhizobium sp. TAL 141 ure his and Rhizobium japonicum USDA 192 trp phe," 15 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 15 (poster B-73, 18-20 October 1989, at Chiang Mai University), pp. 476-477.



ชื่อ-สกุล ผู้เสนอ เสาวรส สุวัฒน์สินธิ์ สาขาวิชา :
 นาย น.ส. นาง คร. อ. ผศ. รศ. ศ.
 ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ กายภาพ เกษตร
 ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ วิศวกรรมศาสตร์ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทร. 2514 903 วิทยา-ศึกษา ทรัพยากร-แวดล้อม
 แพทย์ ทวโป

OPTIMIZATION OF PROTOPLAST FORMATION IN Rhizobium sp. TAL141 ure

Saowarose Sukwattanasinit*, Siriporn Sittipraneed* and Pairor Thipayathasana*
 *Dept. of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

TAL141 ure was a strain of fast growing rhizobia that can grow well in minimum medium supplemented with 0.5 M NaCl. We used them as the standard strain to find an optimal protocol for rhizobial protoplast formation by an application of lysozyme-EDTA method. We found that a minimal medium supplemented with 0.3 M NaCl plus 0.025 grams percent yeast extract rendered cells that suitable for a protoplast formation of a higher yield than 90 percents. This was found better than those of minimal or riched media alone. In addition the optimal concentrations of lysozyme and EDTA were found 0.5 mg per ml and 50 mM respectively. In this communication, a stepwise protocol of protoplast formation of TAL141 ure will be illustrated.

สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างโปรโตพลาสต์ของไรโซเบียม

เสาวรส สุวัฒน์สินธิ์*, สิริพร สิทธิประณีต* และ ไพเราะ ทิพย์ทัศน*

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10500

TAL141 ure เป็นสายพันธุ์ไรโซเบียมชนิดที่เติบโตเร็ว และสามารถเจริญในอาหารสูตรปรับค่าที่มีเกลือแองเสริมอยู่ถึง 0.5 โมลาร์ ใต้น้ำไรโซเบียมสายพันธุ์นี้มาทดลองสร้างโปรโตพลาสต์โดยใช้วิธี lysozyme-EDTA จากการทดลองแปรสูตรอาหารสำหรับการเจริญไรโซเบียม พบว่าอาหารสูตรปรับค่าที่มีเกลือแอง 0.3 โมลาร์ เสริมด้วยผงสกัดยีสต์ 0.015 กรัมเปอร์เซ็นต์ จะช่วยทำให้ได้โปรโตพลาสต์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับอาหารสูตรปรับค่า หรืออาหารอุดม นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของ lysozyme และ EDTA ที่เหมาะสมคือ 0.3-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้จะแสดงขั้นตอนละเอียดในการเตรียม TAL141 ure ให้เป็นโปรโตพลาสต์

¹Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana, "Optimization of Protoplast Formation in Rhizobium sp. TAL 141 ure," 14 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 14 (poster B-40, 19-21 October 1988, at Chulalongkorn University and Royal Orchid Sheraton Hotel), pp. 322-323.

ชื่อ-สกุล ผู้เสนอ เสาวรส สุววัฒนาสินธุ์ สาขาวิชา: _____

นาย น.ส. นาง ดร. อ. ผศ. รศ. ศ. กายภาพ เกษตร

ที่ทำงาน ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชีวภาพ วิศวกรรม-เทคโนโลยี

โทร. ๒๕๐๔๕๐๓ วิทย-ศึกษา ทฤษฎี-แวกชั่น

แพทย์ ทำไป

EFFECTS OF CARBON SOURCES AND GLYCINE-BETAINE TO SALT TOLERANCE IN
Rhizobium spp

Saowarose Sukwattanasinit¹, Siriporn Sittipraneed² and Pairor Thipayathasana²
¹Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University,
Bangkok

Comparative studies of growth difference between two strains of rhizobia, so called TAL141(WT) and TAL380(WT) were investigated. TAL380 was previously classified as Rhizobium meliloti whereas TAL141 was still unclassified, even though they belonged to the fast growing rhizobial group. We found that both strains could well utilize both glucose and mannitol as the sole carbon sources and provided the same degree in culture turbidities. When a high concentration of NaCl in a range of 0.3 to 0.5 M was supplemented in the medium. Under these stress conditions, mannitol was found played as a better carbon source than that of glucose. Furthermore, glycine-betaine could restore the culture turbidities of TAL141 which were formerly decreased due to the presence of stress conditions. This phenomenon was not detected in TAL380. We, therefore, concluded that the mechanism in stress tolerance of these two strains of rhizobia should be different.

บทบาทของแหล่งคาร์บอนและไกลซีน-บีเทนต่อการทนเค็มของไรโซเบียมสายพันธุ์ต่าง ๆ
เสาวรส สุววัฒนาสินธุ์¹, ศิริพร สิทธิประณีต² และ ไพโรธ ทัพยัทธานา²

¹ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10500

งานวิจัยนี้ได้เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการเจริญของไรโซเบียมสองสายพันธุ์คือ ไรโซเบียม TAL141 (WT) ไรโซเบียม เมลิไลโท TAL380 (WT) ซึ่งอยู่ในกลุ่มไรโซเบียมพวกเจริญเติบโตเร็วทั้งคู่ จากการศึกษาพบว่า ทั้งแบคทีเรียและกลูโคสทำหน้าที่เป็นสารต้นคอคาร์บอนของไรโซเบียมทั้งสองสายพันธุ์นี้ได้ดีเท่า ๆ กัน ครั้นเมื่อเสริมความเค็มในรูปเกลือแอมโมเนียมระหว่าง 0.3-0.5 โมลาร์ลงในอาหารดังกล่าว พบว่า แบคทีเรียจะทำหน้าที่เป็นสารต้นคอคาร์บอนได้ดีกว่ากลูโคส นอกจากนี้ยังพบว่าไกลซีน-บีเทนจะช่วยเพิ่มการเจริญของไรโซเบียม TAL141 ในอาหารที่มีความเค็มและมีกลูโคสเป็นสารต้นคอคาร์บอน บ่งชี้ว่ากลไกการทนเค็มของไรโซเบียม TAL380 สลับได้ว่ากลไกการทนความเค็มในรูปเกลือแอมโมเนียมของไรโซเบียมสองสายพันธุ์จะมีความแตกต่างกัน

²Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana, "Effects of Carbon Sources and Glycine-Betaine to Salt Tolerance in Rhizobium spp.," 14 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 14 (poster B-40, 19-21 October 1988, at Chulalongkorn University and Royal Orchid Sheraton Hotel), pp. 408-409.

ชื่อ-สกุลผู้เสนอ เสาวรส สุวัตตานาสินิทธิ์

 นาย น.ส. นพ. ดร. อ. ผศ. รศ. ศ.

 ที่ทำงาน ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 ปทุมวัน ถนนสุขุมวิท กรุงเทพฯ 10330 โทร. 251 4 903

สาขาวิชา :

 เกษตร เกษตร
 ชีววิทยา วิทยาศาสตร์
 วิทยาศาสตร์ วิทยาศาสตร์
 แพทย์ ทั่วไป

Protoplast Formation and Fusion in Rhizobium sp. TAL 141 ure his and Rhizobium japonicum USDA 192 trp phe

Saowarose Sukwattanasinit¹, Siriporn Sidhipraneed², Pairor Thipayathasana³

¹Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phayathai Rd., Pathumwan, Bangkok 10330

A modification of protoplast formation, the method reported by Sukwattanasinit last year (14th STT CONFERENCE, poster) was performed in two strains of Rhizobium, so-called TAL 141 ure his and USDA 192 trp phe. For TAL 141 ure his, it was found that an addition of an appropriate concentration of glycine in the growth medium at a right time including a replace of GEDTA to EDTA were the two crucial factors of the protocol modification. For the other strain, USDA 192 trp phe, the original protocol of protoplast formation was applied plus a glycine supplementation in the medium. The fusion was initiated by an addition of 15% PEG and was incubated at 42 °c for 5 minutes. Fusants were allowed to grow on minimal MMG plates and reisolated and purified. The frequency of fusion was approximately 3.6×10^{-6} per cell. Five different interesting strains, so-called F11, F14, F15, F20 and F36 were subjected for more studies. This communication will report their properties. An interesting property was that F20 and F36 could enhance the efficiency of nodulation in soybean.

การสร้างและหลอมโปรโทพลาสต์ของ Rhizobium sp. TAL 141 ure his และ Rhizobium japonicum USDA 192 trp phe

เสาวรส สุวัตตานาสินิทธิ์¹, สิรินพร สิทธิประณีต², ไพบรุษ ทิพย์ทัศน³

¹ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

ได้ปรับปรุงวิธีการสร้างโปรโทพลาสต์จากวิธีที่ได้เคยรายงานโดย สุวัตตานาสินิทธิ์ เมื่อปีที่แล้ว (การประชุม วทท. ครั้งที่ 14, โปสเตอร์) ได้ทำการสร้างโปรโทพลาสต์จากไรโซเบียม TAL141 ure his พบว่าปัจจัยสำคัญที่ทำให้การสร้างโปรโทพลาสต์จากสายพันธุ์นี้ได้ผลดี คือ การเติมไกลซีนลงในอาหารที่ความเข้มข้น และเวลาในการเติมที่เหมาะสม รวมทั้งการใส่ GEDTA แทน EDTA ส่วนการเตรียมโปรโทพลาสต์จากสายพันธุ์ USDA 192 trp phe นั้นได้ใช้วิธีเดิมและเสริมไกลซีนลงในอาหารด้วย หลังจากนั้นได้หลอมโปรโทพลาสต์ที่เตรียมได้โดยการใส่ 15% PEG 6000 มุมที่ 42 °c เป็นเวลา 5 นาที เลือกผิวเซลล์ที่สามารถเจริญได้บนสูตรอาหารปรับต่ำมาทำการแยกให้บริสุทธิ์ โดยมีความถี่ในการเกิดผิวเซลล์ประมาณ 3.6×10^{-6} ต่อเซลล์ ได้ใช้ผิวเซลล์สายพันธุ์ F11, F14, F15, F20 และ F36 เป็นตัวแทนในการศึกษา และจะรายงานสมบัติของสายพันธุ์ดังกล่าวในการประชุมนี้ สิ่งที่น่าสนใจอีกคือ สายพันธุ์ F20 และ F36 ตรึงไนโตรเจนได้สูงเพิ่มขึ้น

³Sukwattanasinit, S., S. Sittipraneed and P. Thipayathasana, "Protoplast Formation and Fusion in Rhizobium sp. TAL 141 ure his and Rhizobium japonicum USDA 192 trp phe," 15 TH CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THAILAND, STT 15 (poster B-73, 18-20 October 1989, at Chiang Mai University), pp. 476-477.



ประวัติผู้เขียน

นางสาว เสาวรส สุขวัฒนาสินธุ์ เกิดเมื่อวันที่ 20 มิถุนายน พ.ศ. 2507 จบการ
ศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์ จากมหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการ
ศึกษา 2528.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย