เอกสารอ้างอิง

นันทกร บุญเกิด เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรปุ๋ยชีวภาพรุ่นที่ 5, 9-13 พ.ค. 2531 กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ศิริพร สิทธิประณีต "พันธุวิศวกรรมปฏิบัติการเบื้องต้น" หน่วยปฏิบัติการวิจัยพันธุวิศวกรรม ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1988.

Adams, H.T., Mcclung, R.C. and Chelm, K.B., "Physical organization of the Bradyrhizobium Japonicum nitrogenase gene region" J. Bacteriol. Sept : 857-862.

Banfalvi, Z.V, Sakayan, C., Konez, A., Kiss, A., Dusha, and Kondosori, A.. "Location of Nodulation and Nitrogen Fixation genes on a high molecular weight plasmid of Rhizobium meliloti Mol.Gen.Genet 184 (1981) : 318-325.

Bochenek, B.and Hirsh,A.M."In-situ hybridization of nodulin mRNAs in root nodules using non- radioactive probe "Plant. Mol.Biol. report 8(4) 1990:236-247

Brinboim, H.C. and Doly, J., "A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA "Nucleic. Acid. Res. 7 (1979) : 1513-1523.

Buchanan, V., Wollaston, V., Cannon, M.C. and Cannon, F.C. "Role of the nif A Gene product in the Regulation of nif expression in Klebsiella pneumoniae Nature 294 (1981) : 776-778.

Budly, M. and Long, S.R. Plant Cell 1 (1989) : 65-72.

Cannon, F.C., Reidel, G.E. and Ausubel, F.M., "Overlapping sequence of Klebsiella pneumoniae nif DNA clone and characterized" Mol. Gen. Genet. 174 (1979) : 59-65.

Case,F.,Boucher,c,Julliot,J.S.,Micheal,M.,and Denaire,J. "Identification and characterization of large plasmid in Rhizobium meliloti using agarose gel electrophoresis J.Gen .Microbiol.113(1979) :229-242

Cooper,E.J.,Bjouson,J.A., and Thompson,K.J.,"Identification of Lotus Rhizobium By direct DNA hybridization crushed root nodule"App.and Env.Microbiol.(1987):1705-1707

Debelle, F. J. Bacteriol 168 (1986) : 1075-1086.

Dixon, R., Eady, R.R., Epsin, G., Hill, S., Laccarium, M.F. and Merrich, M. "Analysis and regulation of Klebsiella pneumoniae nitrogen fixation (nif) gene cluster with gene fusions" Nature 286 (1980) : 123-132.

Djordjevic,M.A.,Innes,R.W.,Wiffelman,C.A., Schofield,P.R., and Roffle,B.G., "Nodulation of specific legumes is controlled by several distinct loci Rhizobium trifoli "Plant. Molec. Biol.6(1986):389-401

Drummond, M., J, Merrick, M. and Dixon, R. "Positive control and autogenous Regulation of the nif L,A promoter in fixation and conservation of fixed nitrogen" Basic Life science 19 : 16-18.

Eckhardt, J. "A rapid method for the identification of plasmid deoxyribonucleic acid bacteria "Plasmid 1 (1978) : 584-588.

Emerich, D.W., and Burris, R.H. "Complemetary functioning of the component proteins of nitrogenase from several bacteria" J. Bacteriol 134 (1978) : 936-943.

Hadley,R.G., Eagleshamp,A.D.J.,and Szalay,A.A.,"Conservation of DNA region adjacent to nif HDK homologous sequence in diverse slow growing Rhizobium strains J.Mol.and App.Genet2 (1983):225-235

Hirsch,P.R., Van Montagu,M., Johnston,A.W.B., Brewin,N.J., and Schell,J.,"Physical identification of bacterio- cinogenic, nodolation and other plasmids in strain of Rhizobium leguminosarum" J.Gen.Microbiol. 120(1980) :403-412

Horvath, B. Cell 46 (1986) : 335-343.

Hughes,M.a., Sharif,A.L.,Dunn,A.,Oxtoby,E.,and Panaco,A.,"Restriction Fragment Length Polymorphism segregration analysis of Li locus in Trifolium repen "Plant. Mol.Biol. 14(1990):407-414

Innes, R.w., Kuempel, P.L., Planzinski, J., Canter-cremers, H., Rolfe, B.G., and Djordjevic, A.M. "Plant factor induce expression of nodulation and host range genes in Rhizobium trifoli" Mol. Gen. Genet. 201 (1985) : 426-432.

Kado,C.I.,and Liu,S.T.,"Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids " J. Bacterol. 145No3 (1981):1365-1373

Kaijalanen,S.,and Lindstrom,K.,"Restriction Fragment Length Polymorphism analysis of Rhizobium galegae strains" J.Bacteriol 171(10) (1989):5561-5566

Kaluza, K., Fuhrman, M. Hahn, B., Regensburger, B. and Hennecke, H. "In Rhizobium japonicum the nitrogenase genes nif H and nifD K are seperated J. Bacteriol 155 (1983) : 915-918.

Krol, A.J.M., Hantelez, J.G.J., Roozendaal, B. and Van Kammer, A. "On the operon structure of the nitrogenase genes of the Rhizobium leguminosarum and Azotobacter vinilandi" Nucleic. Acid. Res 10 (1982) : 4147-4157.

Lerouge, P., Roche, P., Faucher, C., Mailet, F., Turchet, G., Prome, J.C., and Denaire, J. "Symbiotic host specificity of Rhizobium meliloti is determined by a sulfated and acylated glucosamine oligosaccharide signals" Nature 344 (1990) 781-784.

Long, S.R., and Atkinson, E.M. "Rhizobium sweet talking" Nature 344 (1990) : 712-713.

Long, S.R.. and Cooper, J. "Molecular Genetic of Plant Microbe Interaction "APS press, St Paul Minnesota (1988) : 163-178.

Lyons, T.M., Valentine, R.C., Philllip, D.A., Rains, D.W. and Huffaker, C.R. "Genetic engineering of symbiotic nitrogen Gene Coding for the Nitrogenase Iron Protein from Klebsiella pneumoniae" J. Biol. Chemistry 256 (1981) : 2808-2812.

Manniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook, J."A laboratory mannual molecular cloning "Cold-Spring Harbour Laboratory 1982.

Mark Barbour,W.,Mathis,J.N.,Elken,G.H.,"Evidence for plasmid - and chromosome -borne multiple nif genes in Rhizobium fredii "Appl.Environ.Micro. 50(1) (1985):41-44

Masterson,R.V., Russel,P.R., and Arthely,A.G.,"Nitrogen fixation nif genes and large plasmid of Rhizobium japonicum " J.Bacteriol 152(1982):928-931

Masterson, V.R., Prakash, K.R. and Artherly, A.G. "Conservation of symbiotic nitrogen fixation gene sequences in Rhizobium japonicum and Bradyrhizobium japonicum" J. Bacteriol July (1985) : 21-26.

Mathis,J.N.,Barbour,w.m.,Elken,G.H.,"Effect of sym plasmid curing on symbiotic effectiveness in Rhizobium fredii" Appl.environ.microbiol.49(6) (1985):1385-1388

Merrick, M., Hahn, M., Dixon, R. and Kekedy, C. "Repressor of the nif L gene product in Ktebsietta pneumoniae" Mol.Gen.Genet 185 (1982) : 75-81.

Nei,M.,and HsiungLi,W.,"Mathematical model for studying genetic variation in term of restriction endonuclease" Proc .Natl.acad.Sci. 76(10) (1979):5269-5273

Nittayajarn,a.,Mullin,B.C,and Baker,D.D., "Screening of symbiotic Frankiae for host specific by Restriction Fragment Length polymorphism analysis"Appl.Environ.Microbiol. 56(4)(1990) :1172-1174

Olsen, P.E.,and Rice,A.W.,"Strains-specific technique for identification of Rhizobium meliloti in commmercial alfafa inoculants " Can.J.Microbiol. 29(1983):225-230

Ow, D.W. and Ausubel, F.M. "Regulation of Nitrogen Metabolism gene by nif A Gene product in Klebsiella pneumoniae" Nature 301 (1983) : 310-313.

Pilacinski,W.P. and Schmidt,E.L., "Plasmid transfer within and between serologically distinct strains of Rhizobium japonicum, using antibiotic resistance mutants and auxotrophs" J.Bacteriol145(2) (1981):1025-1030

Postgate, J.R. in "The fundamental of Nitrogen fixation" Cambridge University Press New York (1982) : 104-133.

Prakash,R.k.,et al.,"Detection, Isolation and Characterization of large plasmid in Rhizobium " Nitrogen Fixation Vol II University Park press Baltimore (1980):139-163

Rodriguez, R.L. and Tsit, R.c. "Isolation and purification of E.coli chromosomal DNA" In Recombinant DNA technique : 45-46, Addison Wesley Publishing company, Canada (1983).

Roger,W., et al. "Plant factor induce expression of nodulation and host-range genes in Rhizobium trifoli" Mol.Gen.Genet. (1985) :426-432

Ruvkun, G.B., Sundaresun, V. and Ausubel, F.M. "Interspecies homology of nitrogenase gene "Proc. Natl. Acad 1980 : 191-195.

Sadowsky,M.J., Tully,R.E., Cregan,P.B., and Keyser,H.H.,"Genetic diversity in Bradyrhizobium japonicum serogroup 123 and Its relation to genotype specific nodulation of soybean" Appl.Environ.Microbiol. 53(11) (1987):2624-2630

Scheres,B.,et al., "The ENOD 12 Gene product is involved in the infection process during the pea-Rhizobium interaction" Cell (60)1990:281-294.

Schmidt,E.L., Zidwick.Jo Mary., and Abebe ,M.H.,"Bradyrhizobium japonicum among member isolates"App.and Env.Microbiol.June (1984):1212-1215

Schofeild, P.R.P., Ridge, R.W., Rolfe, B.G., Shine, J. and Watson, J.M. "Host specific nodulation is encoded on a 14 Kb DNA fragments Rhizobium trifoli" Plant molecular biology 3 (1984) : 3-11.

Scott,K.F.,"Conserved nodulation genes from non legume symbiont Bradyrhizobium sp.(parasponia) "Nucleic Acid Res.(14)1986: 2907:2917

Simonet,P.,Thile,N., .,Eric Teisser. Du cus.,and Bardin,R., "Identification of Frankia strains by direct DNA hybridization of crushed nodules" Appl. Environ. Microbiol. 54 No 10. 1988:2500-2503

Somasegaran,P.and Hoben,H.J."Method in legume-Rhizobium Technology" University of Hawaii NifTAL Project and MIRCEN

Southern, E. "Detection of specific sequences among DNA fragments seperated by gel electrophoresis" J. Mol. Biol.9 (1975): 503-505.

Stanley, J., Brown, G.G. and Verma, S.D. "Slow-Growing Rhizobium japonicum comprised two highly divergent symbiotic type" J. Bacteriol July 1985 : 148-154.

Sundaresan, V. and Ausubel, F.M., "Nucleotide Sequence of the Klebsiella pneumoniae " Nature 301 (1983) : 301-307.

Swanstorm, R. and Shark, P.R. "X-ray intensifying screens greatly enhance the detection by autoradiography of the radioactive isotopes ^{32}P and ^{125}I "Anal. Biochem 86 (1978) : 184-192.

Upholt,W.B."Estimation of DNA sequene divergence from comparison of restriction endonuclease digests"Nucleic Acid Res 4 (No5) (1977):1257-1265.

Van Brussel, A.A.N,.et al " Role of Plant Root Exudate and Sym Plasmid-localized Nodulation Genes in the synthesis by Rhizobium laguminosarum of Tsr Factor which cause thick and short Roots on common vetch" J. Bacteriol (1986) 165 : 517-522

Van de Wiel,C., Norris,J.H., Bochenek,B., Dickstein,R.,Bessling,T. and Hirsh,A.M.,"Nodulin gene expression and ENOD2 localization ineffective nitrogen fixing and ineffective,bacteria-free nodole alfafa" Plant cell 2(1990) :1009-1017

Van de Wiel,C., etal.,"The early nodulin transcript ENOD2 is located in the nodule parenchyma (inner cortex) of pea and soybean root nodules" EMBO 9(1990):1-7

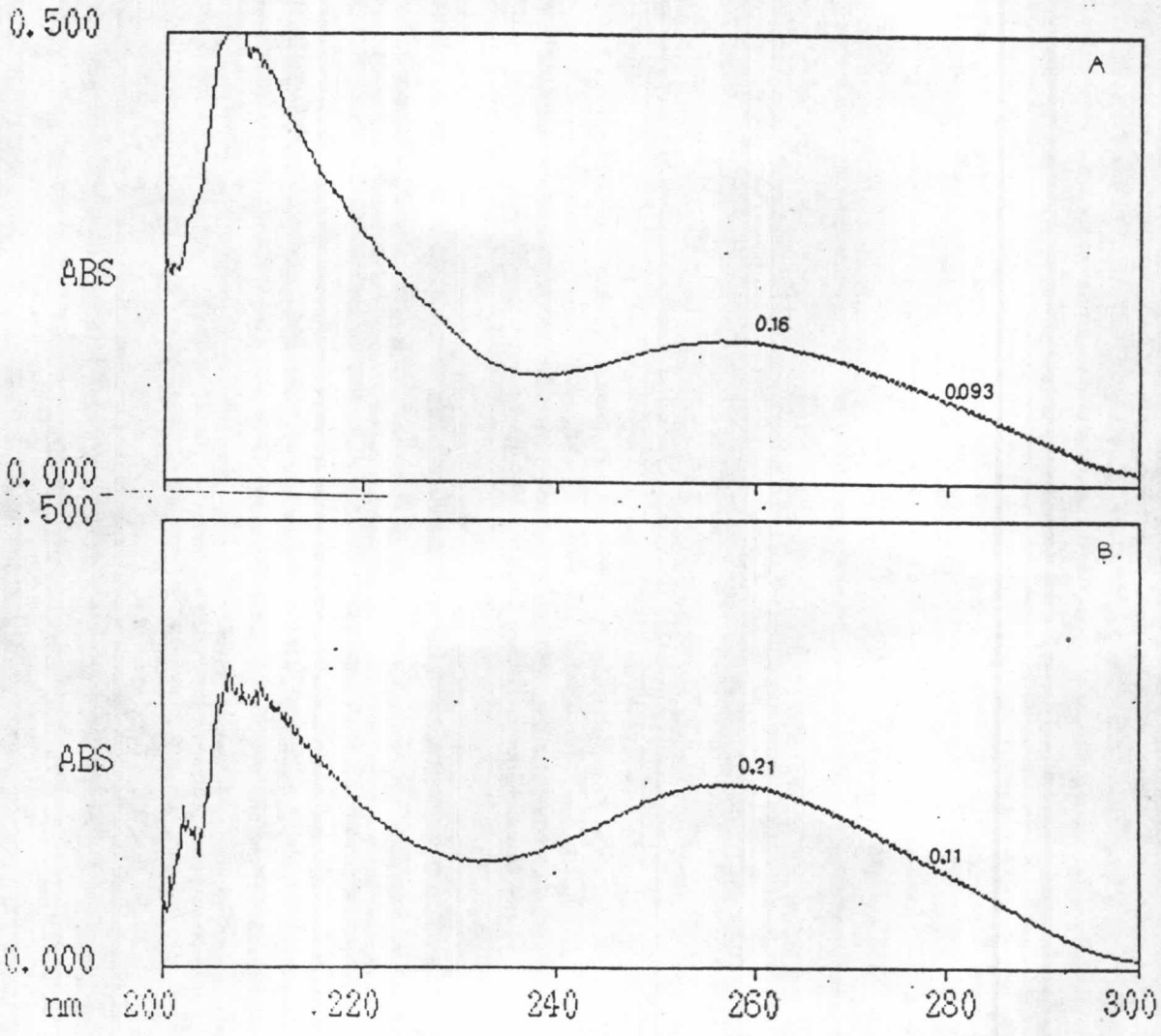
Wheatcroft,R. and Watson,R.J., "Identification and characterization of insertion sequence ISRm 1 in Rhizobium meliloti JJ1c10 "Can.J. Microbiol. 33(1987) :314-321

Wheatcroft,R. and Watson,R.J.," A positive strains identification method for Rhizobium meliloti" Appl.Env.Microbiol. Feb(1988) :574-576

Yao,P.Y.and Vincent,J.M.,Plant soil 45(1969) :1-16

ภาคผนวก ก

กราฟการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 - 400 นาโนเมตร ของดีเอนเอมาตรฐาน (B) และดีเอนเอของ B. japonicum ที่สกัดได้ (A)



ภาคผนวก ซ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomize complete block ของน้ำหนักต้นแห้ง

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	169.55910	24	7.0649624	5.019	.0000
Within groups	70.37920	50	1.4075840		
Total (corrected)	239.93830	74			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for STAT.pl_dw by STAT.treat

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	5.5800000	.3008876	.6849779	4.2038671	6.9561329
2	3	6.5200000	.6550572	.6849779	5.1438671	7.8961329
3	3	4.1900000	.4888081	.6849779	2.8138671	5.5661329
4	3	5.1866667	.6848925	.6849779	3.8105338	6.5627996
5	3	5.2333333	.1545244	.6849779	3.8572004	6.6094662
6	3	4.6566667	1.5415396	.6849779	3.2805338	6.0327996
7	3	7.6266667	.7119535	.6849779	6.2505338	9.0027996
8	3	4.2933333	.7035466	.6849779	2.9172004	5.6694662
9	3	4.1700000	.4887740	.6849779	2.7938671	5.5461329
10	3	4.7600000	.7503555	.6849779	3.3838671	6.1361329
11	3	5.4600000	.2802380	.6849779	4.0838671	6.8361329
12	3	6.0633333	1.0833949	.6849779	4.6872004	7.4394662
13	3	3.7833333	.8090392	.6849779	2.4072004	5.1594662
14	3	6.6933333	.5695710	.6849779	5.3172004	8.0694662
15	3	3.0666667	.3943067	.6849779	1.6905338	4.4427996
16	3	6.1233333	.4330255	.6849779	4.7472004	7.4994662
17	3	4.5166667	.5619707	.6849779	3.1405338	5.8927996
18	3	6.9166667	.3517733	.6849779	5.5405338	8.2927996
19	3	6.4333333	1.0723391	.6849779	5.0572004	7.8094662
20	3	4.9133333	.1281059	.6849779	3.5372004	6.2894662
21	3	4.1233333	.5167957	.6849779	2.7472004	5.4994662
22	3	4.7566667	.4589965	.6849779	3.3805338	6.1327996
23	3	6.5633333	.8112610	.6849779	5.1872004	7.9394662
24	3	5.2833333	.9910656	.6849779	3.9072004	6.6594662
25	3	.0000000	.0000000	.6849779	-1.3761329	1.3761329
Total	75	5.0765333	.1369956	.1369956	4.8013068	5.3517599

Multiple range analysis for STAT.pl dw by STAT.treat

Method: 95 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
25	3	.0000000	*
15	3	3.0666667	*
13	3	3.7833333	**
21	3	4.1233333	***
9	3	4.1700000	****
3	3	4.1900000	****
8	3	4.2933333	****
17	3	4.5166667	****
6	3	4.6566667	****
22	3	4.7566667	****
10	3	4.7600000	****
20	3	4.9133333	*****
4	3	5.1866667	*****
5	3	5.2333333	*****
24	3	5.2833333	*****
11	3	5.4600000	*****
1	3	5.5800000	*****
12	3	6.0633333	****
16	3	6.1233333	****
19	3	6.4333333	****
2	3	6.5200000	****
23	3	6.5633333	***
14	3	6.6933333	***
18	3	6.9166667	**
7	3	7.6266667	*

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomize complete block ของจำนวนปม

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	19968.667	24	832.02778	4.332	.0000
Within groups	9604.000	50	192.08000		
Total (corrected)	29572.667	74			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for STAT.nod_no by STAT.treat

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	48.333333	9.386752	8.0016665	32.257841	64.40883
2	3	65.666667	9.243616	8.0016665	49.591174	81.74216
3	3	38.666667	8.743251	8.0016665	22.591174	54.74216
4	3	60.333333	10.413666	8.0016665	44.257841	76.40883
5	3	42.666667	2.848001	8.0016665	26.591174	58.74216
6	3	62.666667	2.905933	8.0016665	46.591174	78.74216
7	3	72.333333	7.838651	8.0016665	56.257841	88.40883
8	3	53.666667	5.547772	8.0016665	37.591174	69.74216
9	3	54.666667	2.728451	8.0016665	38.591174	70.74216
10	3	85.333333	11.348030	8.0016665	69.257841	101.40883
11	3	48.666667	6.691620	8.0016665	32.591174	64.74216
12	3	63.333333	7.838651	8.0016665	47.257841	79.40883
13	3	48.000000	5.773503	8.0016665	31.924508	64.07549
14	3	47.333333	6.936217	8.0016665	31.257841	63.40883
15	3	50.000000	11.532563	8.0016665	33.924508	66.07549
16	3	63.333333	6.960204	8.0016665	47.257841	79.40883
17	3	57.666667	10.867894	8.0016665	41.591174	73.74216
18	3	81.000000	3.785939	8.0016665	64.924508	97.07549
19	3	77.333333	9.333333	8.0016665	61.257841	93.40883
20	3	52.666667	17.130220	8.0016665	36.591174	68.74216
21	3	57.666667	3.179797	8.0016665	41.591174	73.74216
22	3	44.333333	2.905933	8.0016665	28.257841	60.40883
23	3	51.666667	7.310571	8.0016665	35.591174	67.74216
24	3	44.333333	6.565905	8.0016665	28.257841	60.40883
25	3	.000000	.000000	8.0016665	-16.075492	16.07549
Total	75	54.866667	1.600333	1.6003333	51.651568	58.08177

Multiple range analysis for STAT.nod no by STAT.treat

Method: 95 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
25	3	.000000	*
3	3	38.666667	*
5	3	42.666667	**
22	3	44.333333	**
24	3	44.333333	**
14	3	47.333333	***
13	3	48.000000	***
1	3	48.333333	***
11	3	48.666667	***
15	3	50.000000	****
23	3	51.666667	****
20	3	52.666667	****
8	3	53.666667	*****
9	3	54.666667	*****
17	3	57.666667	*****
21	3	57.666667	*****
4	3	60.333333	*****
6	3	62.666667	*****
12	3	63.333333	*****
16	3	63.333333	*****
2	3	65.666667	*****
7	3	72.333333	****
19	3	77.333333	***
18	3	81.000000	**
10	3	85.333333	*

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomize complete block ของน้ำหนักปม

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.9434720	24	.0393113	3.274	.0002
Within groups	.6002667	50	.0120053		
Total (corrected)	1.5437387	74			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for STAT.nod_dw by STAT.treat

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	.3066667	.0296273	.0632596	.1795770	.4337564
2	3	.3466667	.0705534	.0632596	.2195770	.4737564
3	3	.2800000	.0264575	.0632596	.1529103	.4070897
4	3	.3766667	.0523874	.0632596	.2495770	.5037564
5	3	.3733333	.0425572	.0632596	.2462436	.5004230
6	3	.2633333	.0887568	.0632596	.1362436	.3904230
7	3	.5366667	.0338296	.0632596	.4095770	.6637564
8	3	.2733333	.0202759	.0632596	.1462436	.4004230
9	3	.3133333	.0425572	.0632596	.1862436	.4404230
10	3	.3200000	.0152753	.0632596	.1929103	.4470897
11	3	.3766667	.0504425	.0632596	.2495770	.5037564
12	3	.5133333	.1822392	.0632596	.3862436	.6404230
13	3	.2466667	.0676593	.0632596	.1195770	.3737564
14	3	.3766667	.0523874	.0632596	.2495770	.5037564
15	3	.2300000	.0208167	.0632596	.1029103	.3570897
16	3	.4466667	.0317980	.0632596	.3195770	.5737564
17	3	.3066667	.0523874	.0632596	.1795770	.4337564
18	3	.5400000	.0814453	.0632596	.4129103	.6670897
19	3	.5033333	.1049338	.0632596	.3762436	.6304230
20	3	.3600000	.0346410	.0632596	.2329103	.4870897
21	3	.2700000	.0251661	.0632596	.1429103	.3970897
22	3	.3066667	.0375648	.0632596	.1795770	.4337564
23	3	.3700000	.0754983	.0632596	.2429103	.4970897
24	3	.3000000	.0600000	.0632596	.1729103	.4270897
25	3	.0000000	.0000000	.0632596	-.1270897	.1270897
Total	75	.3414667	.0126519	.0126519	.3160487	.3668846

Multiple range analysis for STAT.nod dw by STAT.treat

Method: 95 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
25	3	.0000000	*
15	3	.2300000	**
13	3	.2466667	**
6	3	.2633333	**
21	3	.2700000	**
8	3	.2733333	**
3	3	.2800000	**
24	3	.3000000	***
17	3	.3066667	***
22	3	.3066667	***
1	3	.3066667	***
9	3	.3133333	***
10	3	.3200000	***
2	3	.3466667	***
20	3	.3600000	***
23	3	.3700000	***
5	3	.3733333	***
11	3	.3766667	***
14	3	.3766667	***
4	3	.3766667	***
16	3	.4466667	***
19	3	.5033333	**
12	3	.5133333	**
7	3	.5366667	*
18	3	.5400000	*

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomize complete block ของค่า ARA

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	1982.1505	24	82.589604	1.317	.2028
Within groups	3135.3375	50	62.706749		
Total (corrected)	5117.4880	74			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for STAT.etr by STAT.treat

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	15.610000	4.151148	4.5718978	6.424975	24.795025
2	3	14.486667	3.902889	4.5718978	5.301641	23.671692
3	3	8.870000	2.513192	4.5718978	-.315025	18.055025
4	3	20.056667	6.468375	4.5718978	10.871641	29.241692
5	3	17.543333	14.708281	4.5718978	8.358308	26.728359
6	3	9.216667	1.723179	4.5718978	.031641	18.401692
7	3	13.746667	4.174216	4.5718978	4.561641	22.931692
8	3	8.860000	3.731291	4.5718978	-.325025	18.045025
9	3	12.206667	7.261316	4.5718978	3.021641	21.391692
10	3	7.336667	.563215	4.5718978	-1.848359	16.521692
11	3	14.406667	2.125216	4.5718978	5.221641	23.591692
12	3	9.660000	1.940421	4.5718978	.474975	18.845025
13	3	9.070000	1.971979	4.5718978	-.115025	18.255025
14	3	16.673333	2.053114	4.5718978	7.488308	25.858359
15	3	8.413333	1.068899	4.5718978	-.771692	17.598359
16	3	19.330000	1.045004	4.5718978	10.144975	28.515025
17	3	6.546667	3.756636	4.5718978	-2.638359	15.731692
18	3	16.720000	1.853321	4.5718978	7.534975	25.905025
19	3	16.923333	2.750862	4.5718978	7.738308	26.108359
20	3	2.716667	1.023480	4.5718978	-6.468359	11.901692
21	3	15.996667	2.241059	4.5718978	6.811641	25.181692
22	3	4.220000	1.588626	4.5718978	-4.965025	13.405025
23	3	9.743333	6.968937	4.5718978	.558308	18.928359
24	3	12.706667	6.111291	4.5718978	3.521641	21.891692
25	3	.000000	.000000	4.5718978	-9.185025	9.185025
Total	75	11.642400	.914380	.9143796	9.805395	13.479405

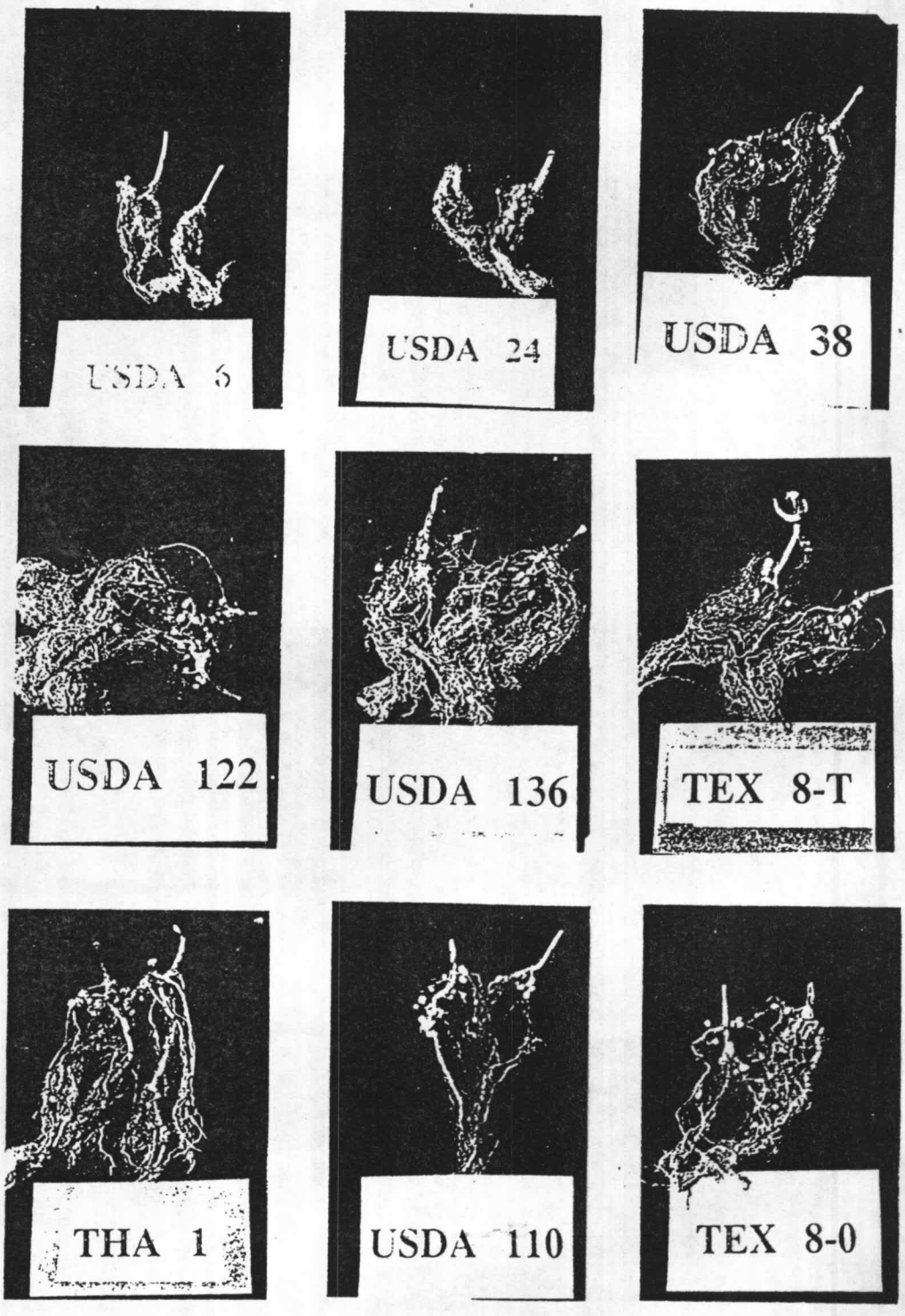
Multiple range analysis for STAT.etr by STAT.treat

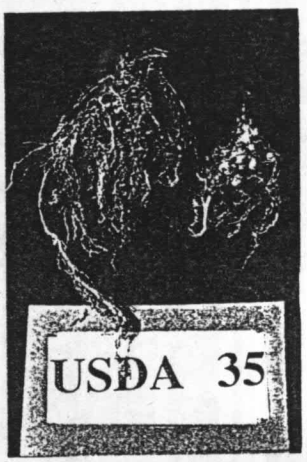
Method: 95 Percent Confidence Intervals

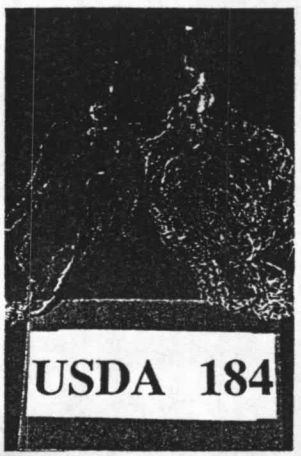
Level	Count	Average	Homogeneous Groups
25	3	.000000	*
20	3	2.716667	**
22	3	4.220000	**
17	3	6.546667	**
10	3	7.336667	**
15	3	8.413333	**
8	3	8.860000	**
3	3	8.870000	**
13	3	9.070000	**
6	3	9.216667	**
12	3	9.660000	**
23	3	9.743333	**
9	3	12.206667	**
24	3	12.706667	**
7	3	13.746667	**
11	3	14.406667	**
2	3	14.486667	**
1	3	15.610000	**
21	3	15.996667	**
14	3	16.673333	**
18	3	16.720000	**
19	3	16.923333	**
5	3	17.543333	**
16	3	19.330000	*
4	3	20.056667	*

ภาคผนวก ฉ

บริเวณการเกิดปมของ B. Japonicum สายพันธุ์ต่าง ๆ ในถั่วเหลือง สจ.5




USDA 35


USDA 184

TAL 377

USDA 31

TAL 944

USDA 76

USDA 94

USDA 142

TAL 432

ภาคผนวก ช

การเตรียมสารละลายต่าง ๆ

- การเตรียมสารละลาย

สารละลายที่ใช้ในการสกัดและตัดแยกดีเอ็นเอ (ศิริพร สิทธิประณีต, 2531)

ก. สารละลายบัฟเฟอร์ SET ประกอบด้วย ซูโครส 20 เปอร์เซนต์ (W/V) Tris-HCl 50 มิลลิโมลาร์ pH 7.6 และ EDTA 50 มิลลิโมลาร์

ข. สารละลายไลโซไซม์ ประกอบด้วย ไลโซไซม์ 0.2 เปอร์เซนต์ (W/V) กลูโคส 50 มิลลิเมตร , EDTA 10 มิลลิโมลาร์ , Tris-HCl 25 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

ค. สารละลาย RNase ประกอบด้วย RNase 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โซเดียมอะซิเตต 0.1 โมลาร์ pH 7.4 และ EDTA 0.3 มิลลิโมลาร์

ง. สารละลาย Pronase ประกอบด้วย Pronase 10 มิลลิกรัม ละลายใน Tris-HCl 50 มิลลิโมลาร์ pH 7.6 และ EDTA 50 มิลลิโมลาร์

จ. สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-borate ประกอบด้วย Tris-HCl 89 มิลลิโมลาร์ Boric acid 89 มิลลิโมลาร์ และ Na_2EDTA 2.5 มิลลิโมลาร์

ฉ. สีติดตาม (Tracking dye)ใช้สำหรับผสมดีเอ็นเอก่อนทำอิเลคโตรโฟริซิส ประกอบด้วย Bromphenol blue 0.025 เปอร์เซนต์ (W/V) , Ficoll 400 40 กรัมเปอร์เซนต์ SDS 0.5 กรัมเปอร์เซนต์

ช. สารละลาย phenol เตรียมโดยละลายฟีนอล 250 กรัม ใน 25 มิลลิโมลาร์ โซเดียมคลอไรด์จำนวน 150 มิลลิลิตร เติม Tris-base ลงไป 2.5 กรัม และ Hydroxy quinoline 0.45 กรัม เก็บในขวดสีชา ที่ 4 ° ซ.

ซ. สารละลาย chloroform : isoamyl alcohol ในอัตราส่วน 24:1, สารละลายโซเดียมอะซิเตต pH 5.2 , แอบโซลูทแอลกอฮอล์ , ไอโซโพรพานอล (2-propanol), 70 % เอธานอล

ฌ. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการตัดดีเอ็นเอ

- สารละลายบัฟเฟอร์กำลังอิออนสูง (high ionic strength) 10X ประกอบด้วย Tris-HCl 100 มิลลิโมลาร์ , $MgCl_2$ 100 มิลลิโมลาร์ , DTT 10 มิลลิโมลาร์ NaCl 1000 มิลลิโมลาร์

- สารละลายบัฟเฟอร์กำลังอิออนกลาง (Medium ionic strength) 10X ประกอบด้วย Tris-HCl 100 มิลลิโมลาร์ , $MgCl_2$ 100 มิลลิโมลาร์ , DTT 100 มิลลิโมลาร์ NaCl 500 มิลลิโมลาร์

- สารละลายบัฟเฟอร์กำลังไอออนต่ำ (low ionic strength) 10X ประกอบด้วย Tris-HCl 100 มิลิโมลาร์ , $MgCl_2$ 100 มิลลิโมลาร์ , DTT 10 มิลลิโมลาร์

2.4.2 สารละลายที่ใช้ในการสกัดพลาสมิด

ก. สารละลายไลโซไซม์ ประกอบด้วย กลูโคส 50 มิลลิโมลาร์ , Tris HCl pH 8 25 มิลลิโมลาร์ , EDTA 10 มิลลิโมลาร์ , EDTA 10 มิลลิโมลาร์ และไอโซไซม์ 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

ข. lysis solution ประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กรัม , SDS 1 กรัม ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร

ค. สารละลาย 3 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตต pH 4.85 , Absolute Ethanol, 70 % Ethanol

2.4.3 สารละลายที่ใช้ในการทำ "Southern blot"

ก. 0.2 N HCl

ข. สารละลาย Denaturalization 1 ลิตร ประกอบด้วยโซเดียมไฮด์ดรอกไซด์ 20 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 87.75 กรัม

ค. สารละลาย Neutralization 1 ลิตร ประกอบโซเดียมคลอไรด์ 175.5 กรัม และ Tris-base 6.7 กรัม , Tris-HCl 70.2 กรัม

ง. สารละลาย 20xSSC 1 ลิตรประกอบด้วย โซเดียมคลอไรด์ 175.5 กรัม และ ไตรโซเดียมซิเตรต (Na_3 Citrate.$2H_2O$) 88 กรัม

สารละลายที่ใช้ในการไฮบริไดเซชั่น

ก. Denhardt's solution (50X) ในสารละลาย 500 มิลลิลิตร ประกอบด้วย Ficoll 5 กรัม , Polyvinyl pyrolidone 5 กรัม ,BSA 5 กรัม กรองผ่านแผ่น Nalgene เก็บที่ -20 ° ซ.

ข. สารละลาย Calf Thymus DNA ในสารละลาย 10 มิลลิลิตร ประกอบด้วย Calf Thymus DNA 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร โดยใช้ Magnetic stirrer ปั่น 2-4 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ความร้อนที่ 100 °ซ. นาน 10 นาที เก็บที่ -20 °ซ. จะนำมาใช้ให้ความร้อน ที่ 65 ° ซ. นาน 10 นาที

ค. Pre-hybridization solution ในสารละลายประกอบด้วย 5 x SSC 5xDenhardt's solution , formamide 50 % (V/V) , Calf Thymus DNA 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

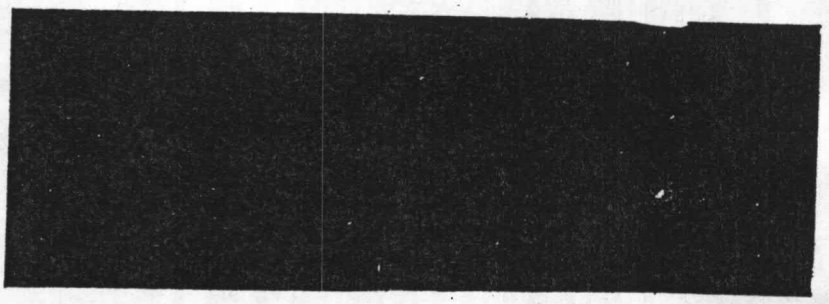
ง. Hybridization solution ในสารละลายประกอบด้วย 5xSSC 5x Denhardt's solution , formamide 50 % (V/V) , Calf Thymus DNA 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

จ. Washing solution

- Non stringent solution ในสารละลายประกอบด้วย 3xSSC
- Stringent solution

ในสารละลายแรกประกอบด้วย 3xSSC , EDTA 1 มิลลิโมลาร์ SDS 0.1 % (W/V)

ภาคผนวก ซ



การทดสอบพลาสมิด เวกเตอร์ของ pBR322 และ pACYC 184 กับ B. japonicum สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยวิธี Dot blot hybridization

ประวัติผู้เขียน

นางสาว ณัฐพร สุนทรวิจารณ์ เกิดเมื่อวันที่ 6 เมษายน พ.ศ. 2510 จบการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากมหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2530