# เอกสารอ้างอิง

ดีพร้อม ไชยวงค์. 2519. การเพาะเห็ดและเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. หน้า 52-71 และ 124-132. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ:อักษรสยามการพิมพ์.

ชวนพิศ ดีเอกนามกูล. การหลอมรวมโปรโตพลาสต์ของรา. ใน วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และ สรวง อุดมวรภัณฑ์ (บรรณาธิการ), เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ และพันธุวิศวกรรม. หน้า 8.16-8.19. กรุงเทพฯ:สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพ,2536.

ประเสริฐ สันตินานาเลิศ. การทำให้กลายพันธุ์. ใน วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และ สรวง อุดมวรภัณฑ์(บรรณาธิการ), เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวรรม. หน้า 5.1 -5.54. กรุงเทพฯ: สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพ, 2536 .

วีรวัฒน์ กนกนุเคราะห์และสุมาลี พิชญางกูร.2534. การปรับปรุงสายพันธุเห็ดฟาง *Volariella volvacea* โดยการรวมโปรโตพลาสต์. 139 หน้า. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศิริพร สิทธิประณีต. 2531. พันธุวิศวกรรม ปฏิบัติการเบื้องต้น . หน้า 57-59.พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2530. เห็ดเมืองไทย . หน้า 28-29. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

อภิญญา วงศ์กิดาการ. 2531. สถิติสำหรับชีววิทยา. หน้า 71-196. พิมพ์ครั้งที่ 1.สงขลา: ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Anne,J., and Peberdy,J.F. 1976. Induced fusion of fungal protoplasts following treatment with polyethylene glycol. J. of Gen. Micro. 94: 413-417.

Barrett, V.,Lemke,P.A. and Dixon, R.K. 1989. Protoplast formation from selected species of ectomycorrhizal fungi. Appl.Microbiol. Biotechnol.30: 381-387.

Burton,K. 1956. A study of the conditions and mechanism of Diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribo nucleic acid. Biochem J. 62: 315-323.

Chang ,S.T. and Hays, W.A. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic press. 810 pp.

Chang ,S.T. and Quimio, T.H.1989. Tropical mushroom biological nature and cultivation methods. The Chinese University press. 489 pp.

Das , A.,Gokhale, D.V. and Peberdy, J.F. 1989. Protoplast fusion and genetic recombination in intra- and interstrain crosing in *Aspergillus niger*. Enzyme. Microb,Technol. 11:2-5.

Dovijewaard, K., Adriana. M.P., Sietsma, J.H. and Wouters, J.T.M.1973. Formation and regeneration of *Geotrichum candidum* protoplast. J.of Gen.Micro. 74: 205-209.

Ferenczy,L.,Kerei, F.and Zsolt,D .1974. Nature 248: 193.

Ferenczy,L.,Kerei,F., Szegedi,M.,Franko, A. and Rojik,I. 1976. Facters affecting high-frequency fungal protoplast fusion.Experientia. 32: 1156-1158.

Fujii, T.,Yamamoto,H.,Takenaka,E., Fujinami,K.,Ando, A. and Yabuki, M. 1988.Intraspecific hybridization of a methanol utilizing yeast, *Candida sp.* N-16, through protoplast fusion. Agric.Biol.Chem. 52: 1661-1667.

Heim, R.1977. Termites et Champignonys.Les Champignongs ternitophile d' Afrigue Noire et d' Asie Me'ridionale. Paris,France:Societe Novelle des Edition Boubee.

Hou,H.H. and Jong, S.C.1985. Protoplast formation from mycelia of *Penicillium digitatum* by cell wall-lytic enzyme of *Trichoderma harzianum* .J.Ferment Technol. 63: 189-192.

Kao ,K.N. and Michayluk, M. R.1974. A method for high-frequency intergeneric fusion of plant protoplast. Planta.115: 355-367.

Kevei,F. and Peberdy, J.F. 1977. Interspecific hybridization between *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus rugulosus* by fusion of somatic protoplasts. J.Gen.Micro. 102: 255-262.

Kitamoto, Y., Mori, N., Yamamoto , M., Ohiwa,T. and Ichikawa, Y.1988. A simple methord for protoplast formation and improvement of protoplast regeneration from various fungi using an enzyme from *Trichoderma harzianum*. Appl.Microbiol.Biotechnol .28: 445-450.

Kiyohara, H., Watanabe, T., Imai, J., Takizawa, N., Hatta, T., Nagae, K. and Yamamoto, A. 1990. Intergeneric hybridization between *Monascus anka* and *Aspergillus oryzae* by protoplast fusion. Appl.Microbiol.Biotechnol. 33: 671-676.

Kuo, S.C. and Lampen, J.O.1971.Osmotic regulation of invertase formation and secretion by protoplasts of *Saccharomyces*. J.Bacteriol. 106: 183-191.

Kuwabara, H., Mangae, Y., Kashiwagi, Y., Okada, G. and Sasaki, T.1989. Characterization of enzyme productivity of protoplast regenerants from the cellulase producing fungus *Robillarda* Y-20. Enzyme.Microb.Techol. 11: 696-699.

Mukherjee, M. and Sengupta,S.1988. Isolation and regeneration of protopasts from *Termitomyces clypeatus*. Can.J.Microbiol. 34: 1330-1332.

Ogawa, K., Ohara, H. and Toyama, N.1988. Interspecific hybridization of *Aspergillus awamori var kawachi* and *Aspergillus oryzae* by protoplast fusion. Agric. Biol. Chem. 52: 1985-1991.

Peberdy, J.F., Rox, A.H.,Rogers, H.J. and Cocking, E.C. 1976. Microbial and Plant Protoplasts. Academic Press. 370 pp.

________.1979. Fungal protoplast:Isolation,reversion, and fusion.Ann. Rev. Microbiol. 33: 21-39.

________.1980. Protoplast fusion a tool for genetic manipulation and breeding in industrial microorganism.Enzyme.Microbiol.Technol. 2: 23-28.

________.and Ferenczy, L. 1985. Fungal protoplast applications in biochemistry and genetics. New York: Basel. 354 pp.

Pina, A., Calderon, I.L. and Benitez, T.(1986). Intergeneric hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces fermentati* obtained by protoplasts fusion. Appl. and Enviro. Microbiol. 51(5): 995-1003.

Prillinger, H. and Molitoris, H.P. 1979. Genetic analysis in wood-decaying fungi. Physiol.Plant. 40: 265-277.

Santiago, J.C.M.1982. Production of *Volvariella* protoplasts by use of *Trichoderma* enzyme. Mushroom new's letter for the trophics.3: 3-6.

Schaseffer, P. Cami, B. and Hatchkiss, R.D. 1976. Fusion of bacterial protoplasts. Proc. Natl. Acad Sci. 73: 2151-2155.

Schneider, W.C. 1945. phosphorus compounds in animal tissues 1. Extraction and estimation of Deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. J.Biol.Chem. 161: 293-303.

________.1946. Phosphorus compounds in animal tissues 3. A Comparision of method for the estimation of nucleic acids. J. Biol. Chem. 164: 747-751.

Toshiyaki, K., Takahiko, B. and Yanagi, S.O.1988. Protoplasts fusion of incompatible mating type combination of *Lentinus ededes* (chitake) auxotrophs. Agric. Biol. Chem. 52: 3197-3199.

Toyomasu, T., Matsumoto, T. and Mori, K.(1986). In terspecific protoplast fusion between *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus salmoneo-stramineus*. Agric. Biol.Chem. 50(1): 223-225.

________. and Mori, K.1987. Fruiting body formation of fusion products obtained on interspecific protoplast fusion between *Plurotus sp.* Agric.Biol.Chem. 51: 2037-2040.

Tseuboi, M. 1985. UNESSO regional workshop on applicationof microbial protoplasts in genetic manipulation and genetic engineering. Hong Kong: Department of Biology, Science Center.

Ushijima, S., Tadanobu, N. and Uchida, K. 1990. Further evidence on the interspecific protoplast fusion between *Aspergillus* oryzae and *A.sojae* and subsequent hapliodization with special reference to their production of some hydrolyzing enzyme.Agric. Biol. Chem. 54: 2393-2399.

Vries, O.M.H. and Wessels, J.G.H. 1972. Release of protoplasts from *Schizophyllum commune* by a lytic enzyme preparation from *Trichodema viride*. J. of Gen. Micro. 73: 13-22.

Wakabayashi, S., Magae, Y., Kashiwagi, Y. and Sasaki, T. (1985). Formation of giant protoplasts from protoplasts of *Pleurotus cornucopiae* by the cell wall lytic enzyme. Appl.Microbiol. Biotechnol. 21: 328-330.

Yanagi, S.O. and Takebe,I.1984. An efficient method for the isolation of mycelial protoplasts from *Coprinus macrorhizus* and other basidiomycetes from Appl. Microbiol.Biotechnol. 19: 58-60.

Zimmermann, U. and Scheurich, P. 1981 . High frequency fusion of plant protoplasts by electrical fields. Planta. 151: 26-32.

# ภาคผนวก

## ภาคผนวก 1.1

ตารางที่5 แสดงการรวมโปรโตพลาสต์แบบต่างๆ

1. Intraspecific fusion

| ชนิดของเชื้อรา ยีสต์ | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|
| *Penicillum chrysogenum* | Anne and Peberdy (1976) |
| *Aspergillus niger* | Anne and Peberdy (1976);<br>Das et al. (1989) |
| *Cephalosporium acremonium* | Anne and Peberdy (1976) |
| *Candida* sp.N-16 | Fujii et al. (1988) |

2. Interspecific fusion

| ชนิดของเชื้อราที่มารวมกัน | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|
| *Aspergillus nidulan* กับ *A. rugulosus* | Kevei and Peberdy(1977) |
| *A. awamori var kawachi* กับ *A. oryzae* | Ogawa et al. (1988) |
| *A. oryzae* กับ *A. sojae* | Ushijima et al.(1990) |
| *Plurotus ostreatus* กับ *P. columbinus* | Toyomasu and Mori(1988) |

3. Intergeneric fusion

| สกุลของรา ยีสต์ พืช ที่มารวมกัน | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|
| *Vicia hajastana* และ *Pisum sativam* | Kao and Mihayluk (1974) |
| *Saccharomyces cerevisiae* กับ *Zygosaccharomyces fumentati* | Pina et al. (1986) |
| *Monascus anka* กับ *Aspergillus oryzae* | Kiyohara et al.(1990) |

## ภาคผนวก 1.2

## อาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร1 พีดีเอ (PDA)

| | | |
|---|---|---|
| มันฝรั่งหั่นชิ้นเล็กๆ | 200 | กรัม |
| เด็กโตส | 20 | กรัม |
| วุ้น | 20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปชั่งให้ได้ 200 กรัม แล้วนำไปต้มกับน้ำกลั่น 1 ลิตร นาน 15-20 นาที กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมา เติมส่วนประกอบที่เหลือ ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1ลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในหม้อนึ่งออโตเคลบ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

สูตร2 พีดีบี (PDB)

เตรียมเหมือน พีดีเอ แต่ไม่ใส่วุ้น

สูตร3 อาหารแข็งสูตร1 (Tseuboi,1985)

| | | |
|---|---|---|
| ซอร์บิทอล | 182 | กรัม |
| ยีสต์ไนโตรเจนเบส ปราศจากกรดอะมิโน | 6.8 | กรัม |
| กลูโคส | 20 | กรัม |
| วุ้นผง | 30 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำออโตเคลบ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

สูตร4 อาหารแข็งสูตร2 (Mukherjee,1988) ×

| | | |
|---|---|---|
| ซอยโตน | 5 | กรัม |
| กลูโคส | 10 | กรัม |
| ผงสกัดยีสต์ | 5 | กรัม |
| วุ้นผง | 20 | กรัม |
| 0.5 โมลาร์โปแตสเซียมคลอไรด์ | 1 | ลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดใน 0.5 โมลาร์โปแตสเซียมคลอไรด์ ปรับพีเอชเป็น 7 เติมจนครบปริมาตร 1 ลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในหม้อออโตเคลบที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

สูตร5 อาหารแข็งสูตร3 (วีรวัฒน์ และสุมาลี, 2534)

| | | |
|---|---|---|
| มันผรั่ง | 250 | กรัม |
| กลูโคส | 20 | กรัม |
| วุ้นผง | 30 | กรัม |
| ซอร์บิทอล | 2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.5 | กรัม |
| ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต | 1 | กรัม |
| ผงสกัดยีสต์ | 5 | กรัม |
| เปปโตน | 2 | กรัม |

ต้มมันฝรั่งกับน้ำกลั่น 1 ลิตร กรองเก็บแต่น้ำเพื่อมาละลาย ส่วนประกอบที่เหลือปรับพีเอชให้ได้ 5.6 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในหม้อออโตเคลบ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

สูตร6 สูตรอาหารชักนำให้เส้นใยสร้างนิวเคลียส (Mosser)

| | | |
|---|---|---|
| มอลโตส | 20 | กรัม |
| กลูโคส | 10 | กรัม |
| เปปโตน | 2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| ผงสกัดยีสต์ | 0.2 | กรัม |
| 0.1 โมลาร์ แคลเซียมคลอไรด์ | 5 | มล. |

| | | |
|---|---|---|
| 0.2 % ซิงค์ซัลเฟต | 0.5 | มล. |
| 1% เฟอรัสคาร์บอเนต | 1 | มล. |
| 1% แมงกานิสซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร ปรับพีเอชให้เป็น 6.5 ทำให้ปลอดเชื้อโดยนำไปนึ่งในออโตเคลบที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก 1.3

## สารละลายในการเตรียมโปรโตพลาสต์

### สูตร1 สารละลายเอนไซม์มาตราฐาน (Tseuboi,1985)

| | | |
|---|---|---|
| 0.6 โมลาร์โปแตสเซียมคลอไรด์ | 10 | มล. |
| 1 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.5 | 1.5 | มล. |
| 10 % 2-เมอร์แคปโตเอธานอล | 0.2 | มล. |
| น้ำกลั่น | 8.3 | มล. |

ทำให้ปลอดเชื้อ โดยนึ่งในออโตเคลบที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

### สูตร2 สารละลายออสโมติกสเตบิไลท์เซอร์

เหมือนกับสารละลายมาตราฐานเอนไซม์ แต่ไม่ใส่เมอร์แคปโตเอธานอล

### สูตร3 สารละลายเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ (วีรวัฒน์,2534)

| | | |
|---|---|---|
| 1.5 โมลาร์โปแตสเซียมคลอไรด์ | 20 | มล. |
| 0.1 โมลาร์ 2-เมอแคปโตเอธานอล | 5 | มล. |
| 1 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช6.5 | 20 | มล. |

ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในหม้อออโตเคลบ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15นาที

### สูตร4 สารละลายล้างโปรโตพลาสต์

1โมลาร์ซอร์บิทอล ผสมกับ 1โมลาร์ฟอสเฟต พีเอช 7.5

ทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งในออโตเคลบที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

### สูตร5 สารละลายโพลีเอทธิลีนไกลคอล 8000

| | | |
|---|---|---|
| โพลีเอธิลินไกลคอล 8000 | 15 | กรัม |
| 1โมลาร์แคลเซียมคลอไรด์ | 2.5 | มล. |
| 0.1 โมลาร์ ทริสบัฟเฟอร์ | 5 | มล. |

ละลายส่วนผสมทั้งหมด เติมน้ำกลั่นปรับจนได้ปริมาตร 50 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งออโตเคลบ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## ภาคผนวก1.4

## สารละลายและบัฟเฟอร์

สูตร1 บัฟเฟอร์สำหรับการสกัด ดีเอนเอ

25 มิลลิโมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอริก พีเอช 8.0
25 มิลลิโมลาร์ อีดีทีเอ(EDTA)
50 มิลลิโมลาร์ โซเดียมคลอไรด์
1% เอสดีเอส(SDS)

สูตร2 กรดไตรคลอโรอะซิติก 10 %

| | |
|---|---|
| กรดไตรคลอโรอะซิติก | 10 กรัม |
| น้ำกลั่น | 100 มล. |

สูตร3 สารละลายอีเทอร์-แอลกอฮอล์

| | |
|---|---|
| ไดเอธิล อีเทอร์ | 1 ส่วน |
| 95 % แอลกอฮอล์ | 3 ส่วน |

สูตร4 สารละลายไดเฟนนิลลามีน

| | |
|---|---|
| ไดเฟนนิลลามีน | 1.5 กรัม |
| กรดอะซิติก | 100 มล. |
| กรดซัลฟุริก | 5 มล. |

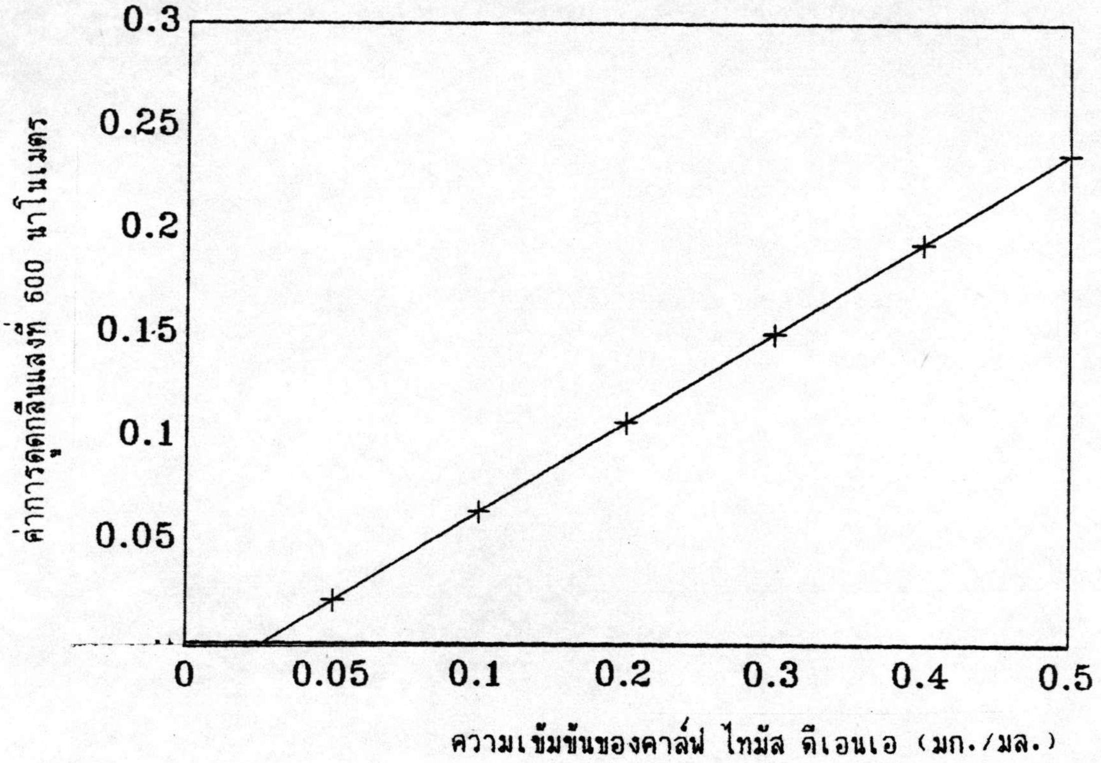
สูตร5 การสร้างกราฟมาตราฐาน

ใช้คาล์ฟไทมัส ดีเอนเอ เป็นดีเอนเอมาตราฐาน โดยละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ ด้วยสารละลายเจือจาง 0.5% กรดไตรคลอโรอะซิติก เตรียมสารละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ ที่มีความเข้มข้น 0.05 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มก./มล. ตามลำดับ

นำ 1 มล. ของสารละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ ทุกความเข้มข้น มาเติม 2 มล. ของ สารละลายไดเฟนนิลลามีน และเติม 0.1 มล. ของสารละลายอเซตาดีไฮด์เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในอ่างน้ำเดือด 10 นาที ทำให้เย็นทันทีในอ่างน้ำแข็ง

วัดการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตราฐาน โดยให้แกนเอกซ์เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย คาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ (มก./มล.) แกนวายเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ 600 นาโนเมตร

ได้กราฟมาตราฐาน ดังรูป



รูปที่ 26 กราฟมาตราฐานของคาร์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ

สูตร6 อะเซตาดีไอด์ 1.6มก./มล.

| | | |
|---|---|---|
| อะเซตาดีไอด์ | 0.2 | มล. |
| เติมน้ำกลั่นจนครบ | 100 | มล. |

## ภาคผนวก 1.5

เตรียมสตอกของสารละลายต่อไปนี้

| สตอกเอ | | | สตอกบี | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 นอร์มอลกรดไฮโดคลอริก | 48 | มล. | 1 นอร์มอลกรดไฮโดคลอริก | 48 | มล. |
| TRIS | 36.6 | ก. | TRIS | 5.98 | ก. |
| TEMED | 0.23 | มล. | TEMED | 0.46 | มล. |
| น้ำกลั่นใส่ให้ครบ | 100 | มล. | น้ำกลั่นใส่จนครบ | 100 | มล. |
| พีเอช 8.9 | | | พีเอช 6.7 | | |

| สตอกซี | | | สตอกดี | | |
|---|---|---|---|---|---|
| อะคริลาไมด์ | 28 | ก. | อะคริลาไมด์ | 10 | ก. |
| BIS | 0.735 | ก. | BIS | 2.5 | ก. |
| น้ำกลั่นเติมจนครบ | 100 | มล. | น้ำกลั่นเติมจนครบ | 100 | มล. |

| สตอกอี | | | สตอกเอฟ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ไรโบฟลาววิน | 4 | ก. | ซูโครส | 40 | ก. |
| น้ำเติมจนครบ | 100 | มล. | น้ำกลั่นเติมจนครบ | 100 | มล. |

สูตร1 เจลที่ใช้ในการแยกโปรตีน

| | | |
|---|---|---|
| สตอกเอ | 1 | ส่วน |
| สตอกซี | 2 | ส่วน |
| น้ำกลั่น | 1 | ส่วน |
| สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต | 4 | ส่วน |

(แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต 0.14กรัม ละลายน้ำกลั่น 100มล.)

สูตร2 เจลที่ทำให้โปรตีนเข้มข้น

| | | |
|---|---|---|
| สตอกบี | 1 | ส่วน |
| สตอกดี | 2 | ส่วน |
| สตอกอี | 1 | ส่วน |

| | | |
|---|---|---|
| สตอกเอฟ | 4 | ส่วน |

สูตร3 ทริส-ไกลซีนบัฟเฟอร์

| | | |
|---|---|---|
| ทริส | 6 | กรัม |
| ไกลซีน | 28.8 | กรัม |
| น้ำกลั่นปรับปริมาตรจนได้ | 1 | ลิตร |
| พีเอช 8.3 | | |

สูตร4 บัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายโปรตีน

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.5

สูตร5 บรอมพีนอลบลู-กลีเซอรอล

| | | |
|---|---|---|
| 0.005% บรอมพีนอลบลู | 1 | ส่วน |
| กลีเซอรอล | 4 | ส่วน |

สูตร6 สารละลายที่ใช้ย้อมสี

| | | |
|---|---|---|
| โคเมทซีบลู จี-250 | 1 | กรัม |
| 7 % กรดอะซีติก | 100 | มล. |

สูตร7 สารละลายกำจัดสี

| | | |
|---|---|---|
| กรดอะซีติก | 70 | มล. |
| เติมน้ำกลั่นให้ครบ | 1 | ลิตร |

## ภาคผนวก 2

ตารางที่6  แสดงการคาดเดาผลรวมของปริมาณดีเอนเอของสายพันธุ์ต้นแบบ V T3

| V + T3 | จำนวนนิวเคลียส | ผลรวมค่าปริมาณดีเอนเอ ทั้งหมด |
|---|---|---|
| V+T3 | 2n | 0.0445 |
| V+2T3 | 3n | 0.075 |
| 2V+T3 | | 0.058 |
| 2V+2T3 | 4n | 0.089 |
| V+3T3 | | 0.105 |
| 3V+T3 | | 0.072 |
| V+4T3 | 5n | 0.136 |
| 2V+3T3 | | 0.119 |
| 3V+2T3 | | 0.103 |
| 4V+T3 | | 0.086 |
| 3V+3T | 6n | 0.133 |
| V+5T3 | | 0.166 |
| 2V+4T3 | | 0.15 |
| 4V+2T3 | | 0.117 |
| 5V+T3 | | 0.1 |

# ภาคผนวก3

## การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1.การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างดีเอนเอทั้งหมดของสายพันธุ์ฟิวแสนท์ กับผลรวมของสายพันธุ์ต้นแบบ

HO : ปริมาณดีเอนเอของสายพันธุ์ฟิวแสนท์จะมากกว่า หรือเท่ากับผลรวมของปริมาณดีเอนเอ ของสายพันธุ์ต้นแบบรวมกัน

ระดับความเชื่อมั่น 95%

ฟิวแสนท์กลุ่ม 1

$n=21$ $df=20$

$\alpha = 0.05$

$t \leq -1.725$ $t=11.4$

ยอมรับสมมุติฐาน

ฟิวแสนท์กลุ่ม 2

$n=16$ $df=15$

$\alpha = 0.05$

$t \leq -1.753$ $t=1.16$

ยอมรับสมมุติฐาน

ฟิวแสนท์กลุ่ม 3

$n=15$ $df=14$

$\alpha = 0.05$

$t \leq -1.761$ $t=-2.16$

# ประวัติ

นางสาวบุญลักษณ์ เชิญศิริดำรงค์ เกิดเมื่อวันที่ 7 กรกฎาคม 2511 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (ประสานมิตร) ปีการศึกษา 2533 ขณะศึกษาหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม) ได้เสนอผลงานวิจัยดังนี้คือ

Boonluck Chernsiridumrong and Sumalee Pichangkura. 1994. Comparision of some lytic enzymes in protoplasts formation from *Termitomyces* mycelia. The 9th NRCT, NUS, DOST-JSPS Joint Seminar on Biotechnology and 6th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology : Biotechnology for Economy and Pollution Control approaches October 12-15, Khon Kaen Thailand.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย