# เอกสารอ้างอิง


ยงยุทธ์ สายฟ้า,, สัญชัย ตันตยาภรณ์ และโอภาส มิตร์มานะ. 2528. การปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดฟางโดยการคัดเลือกผ่านสปอร์เดี่ยว, หน้า 1-5. กลุ่มงานวิทยาไมโค. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. (อัดสำเนา).

ยงยุทธ์ สายฟ้า, สัญชัย ตันตยาภรณ์ และชวนพิศ รักษตุล. 2529. สายพันธุ์เห็ดฟางใหม่สำหรับฤดูฝน, หน้า 1-3. กลุ่มงานวิทยาไมโคร. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. (อัดสำเนา).

ยุวพิน เลิศวีระวัฒน์, 2529. การชักนำด้วยแสงอุลตราไวโอเลตให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์บ่งเพศของแอลฟา/แอลฟา ฟิวแซนท์ของแซคคาโรมัยซีสซีรีวิซีอี, หน้า 18-64. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิชาการเกษตร, กรม. 2529. ความร่วมมือภาครัฐ - เอกชนในการพัฒนาเห็ดเพื่อการส่งออก, หน้า 9-25. กรุงเทพมหานคร : กรมวิชาการเกษตร. (อัดสำเนา) (ก)

_____. เทคโนโลยีใหม่ในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง, หน้า 16-21. กรุงเทพมหานคร : วิชาการเกษตร, กรม. 2529.

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

อารยา จาติเสถียร. 2529. ชีวสถิติ, หน้า 26-49. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Abe, M., Umetsu, H., Nakai, T. and Sasage, D. 1982. Regeneration and fusion of mycelial protoplasts of Tricholoma matsutake. Agric. Biol. Chem. 46:1955-1957.

Anne, J. and Peberdy, J.F. 1976. Induced fusion of fungal protoplasts following treatment with polyethylene glycol. J. of Gen. Microbiol. 92:413-417.

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

Billich, A. Keller, U., Kleinkauf, H. and Zocher, R. 1988. Production of protoplasts from Fusarium scirpi by lytic enzymes from Streptomyces tsusimaensis. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28:442-444.

Burton, K. 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimeter estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem J. 62:315-323.

Chang, S. T. and Yau, C. K. 1970. A simple technique for the indoor cultivation of straw mushrooms. Mushroom Newsletter for the Tropics. 18:9-11.

_____. 1971. Volvariella volvacea and its life history. Amer. J. Bot. 58:552-561.

Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. Florida : CRC Press. 345 pp.

Crow, F. J. 1964. Genetics note. 5 th. ed. New York : Burgess Publishing. 643 pp.

Davies, K. E. 1988. Genome analysis. Washington DC : IRL Press. 192 pp.

Deacon, J. W. 1980. Introduction to modern mycology. London : Blackwell scientific publications. 197 pp.

Esser, K., and Kuenen, R. 1967. Genetics of fungi. New York : Springer Verlag. 500 pp.

Gascon, S., Ochoa, A. G., and Villaneuva, J. R. 1964. Production of yeast and mold protoplast by treatment with the Strepzyme of Micromonospora AS. Can. J. Microbiol. 11:573-580.

Haska, G. 1971. Extracellular lytic enzymes of Myxococcus virescens Physiol. Plant. 25:85-89.

Hebraud, M., and Fevre, M. 1988. Protoplast production and regeneration from mycorrhizal fungi and their use for isolation of mutants. Can. J. Microbiol. 34:157-161.

Ho, K. Y. 1985. Indoor cultivation of straw mushroom in Hong Kong. Mushroom Newsletter for the Tropics. 6:4-10.

Homolka, L., Vyskocil, P., and Pilat, P. 1988. Use of protoplasts in the improvement of filamentous fungi I. Mutagenization of protoplasts of Oudemansiella mucida. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28:166-169.

Hong, S. W. and Yeup, Y. 1985. Formation and regeneration of protoplasts in Lentinus edodes. Mushroom Newsletter for the Tropics. 5:4-10.

Keller, U. 1983. Highly efficient mutagenesis of Claviceps purpurea by using protoplasts. Appli. Envi. Microbiol. 46:580-584.

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

Kitamura, K., Kancko, T., and Yamamoto, Y. 1974. Lysis of viable yeast cells by enzymes of Arthrobacter luteus. II Purification and properties of an enzyme, Zymolyase, which lyses viable yeast cells. J. Gen. Appl. Microbiol. 20:323-344.

Kropp, B.R., and Fortin, J.A. 1986. Formation and regeneration of protoplasts from the ectomycorrhizal basidiomycete Laccaria bicolor. Can. J. Bot. 64:1224-1226.

Morinaga, T., Kikuchi, M., and Nomi, R. 1985. Formation and regeneration of protoplasts in Coprinus pellucidus and Coprinus cinereus. Agric. Biol. Chem. 49:523-524.

Orillo, C. A., and Carangal, A. R. 1961. Nitrogenous constituents of Volvariella volvacea. The Philippine Agric. 45:29-35.

Osserman, E.F., Canfield, R. E., and Beychock, S. 1974. Lysozyme. London : Academic Press. 637 pp.

Peberdy, J. F., Rose, A. H., Rogers, H. J., and Cocking, E. C. 1976. Microbial and plant protoplasts. London : Academic Press. 355 pp.

Peberdy, J. F. 1979. Fungal protoplasts : Isolation reversion and fusion. Ann. Rev. Microbiol. 33:21-39.

_____. 1985. UNESCO regional workshop on application of microbial protoplasts in genetic manipulation and genetic engineering. Hong Kong : Department of Biology, Science Center. (Mimeographed).

Pe'er, S., and Chet, I. 1990. Trichoderma protoplast fusion : a tool for improving biocontrol agents. J. Can. de Microbiol. 36:6-9.

Robinson, P. M. 1978. Practical fungal physiology. New York : John Wiley and Sons. 123 pp.

Schneider, W. C. 1956. Phosphorus compound in animal tissue. I Extraction and estimation of deoxypeptose nucleic acid and of pentose nucleic acid. Biochem. J. 62 : 315-322.

Sherman, F., Fink, G. R. and Hicks, J. B. 1983. Giemsa staining of yeast nuclei in methods in yeast genetics. New Yrok : Cold spring Harbor. 183 pp.

Stansfield, D. W. 1969. Theory and problems of genetics : Schaum's outline series in science. New York : Mc Graw-Hill Book. 487 pp.

Stasz, T. E., Harman, G. E., and Weeden, N. F. 1988. Protoplast preparation and fusion in two biocontrol strains of Trichoderma harzianum. Mycologia. 80:141-150.

Stumpf, P. K. 1947. A colorimetric method for the determination of deoxyribonucleic acid. J. Biol. Chem. 167:367-371.

Suzuki, T., Nishibayashi, S., Kuroiwa, T., Kanbe, T., and Tanaka, K. 1982. Variance of ploidy in Candida albicans. J. of Bacteriol. 152:893-896.

Tanaka, H., and Phaff, H. J. 1965. Enzymatic hydrolysis of yeast cell walls. J. of Bacteriol. 89:1570-1580.

Toyomasu, T., Matsumoto, T., and Mori, K. I. 1986. Interspecific protoplast fusion between Pleurotus ostreatus and Pleurotus salmoneostramineus. Agric. Biol. Chem. 50:223-225.

Toyomasu, T., and Mori, K. I. 1987. Intra - and interspecific protoplast fusion between some Pleurotus species. Agric. Biol. Chem. 51:935-937. (a)

_____. Fruit body formation of the fusion products obtained on interspecific protoplast fusion between Pleurotus species. Agric. Biol. Chem. 51:2037-2040.(b)

Van Solingen, P., and Van der Plaat, J. B. 1977. Fusion of yeast sphaeroplasts. J. of Bacteriol. 130:946-947.

Vipada Youtananukorn and Oshima Y. 1978. Hexaploid formation through the conversion of the mating-type alleles by the action of homothallic genes in Saccharomyces yeast. J. Sci. Soc. Thailand. 4:79-89.

Yamada, O., Magae, Y. Kashiwagi, Y., Kakimoto, Y., and Sasaki, T. 1983. Preparation and regeneration of mycelial protoplasts of Collybia veltipes and Pleurotus ostreatus. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 17:298-300.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก.

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TH อายุ 2 4 6 8 และ 10 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก.ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ ($\bar{X}$±S.D.)

| อายุ (วัน) / ระยะเวลาที่บ่ม (ชม.) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | | | |
| 1 | 0.67±0.29 | 1.83±0.29 | 0.50±0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2 | 0.83±0.29 | 4.00±0.50 | 1.17±0.29 | 0.50±0.00 | 0.30±0.29 |
| 3 | 1.00±0.50 | 4.67±0.29 | 1.50±0.50 | 1.50±0.50 | 2.00±0.50 |
| 4 | 1.17±0.29 | 7.17±0.29 | 2.17±0.29 | 2.17±0.29 | 3.17±0.29 |
| 5 | 0.67±0.29 | 3.67±0.29 | 1.67±0.29 | 2.00±0.50 | 1.83±0.29 |
| 6 | 0.67±0.29 | 3.33±0.29 | 1.33±0.29 | 1.00±0.00 | 0.83±0.29 |
| 7 | 0.50±0.00 | 2.83±0.29 | 1.17±0.29 | 0.50±0.00 | 0.00 |
| 8 | 0.33±0.29 | 1.50±0.50 | 1.00±0.50 | 0.00 | 0.00 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TA อายุ 2 4 6 8 และ 10 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก.ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| อายุ (วัน) / ระยะเวลาที่บ่ม (ชม.) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | | | |
| 1 | 1.00±0.50 | 1.33±0.76 | 0.50±0.00 | 0.17±0.29 | 0.00 |
| 2 | 1.67±0.58 | 3.50±0.50 | 1.67±0.29 | 0.83±0.29 | 0.33±0.29 |
| 3 | 1.00±0.00 | 4.67±0.29 | 4.50±0.50 | 2.00±0.50 | 1.00±0.50 |
| 4 | 0.83±0.29 | 8.50±0.50 | 5.50±0.50 | 2.83±0.76 | 2.67±0.58 |
| 5 | 0.68±0.28 | 6.83±0.76 | 3.33±0.29 | 2.17±0.29 | 2.50±0.50 |
| 6 | 0.50±0.00 | 3.50±0.50 | 2.35±0.30 | 1.83±0.29 | 1.67±0.29 |
| 7 | 0.50±0.00 | 1.83±0.29 | 1.83±0.29 | 1.67±0.29 | 1.33±0.29 |
| 8 | 0.00 | 1.00±0.50 | 0.83±0.29 | 1.33±0.29 | 1.00±0.50 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ WG อายุ 2 4 6 8 และ 10 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก. ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| อายุ (วัน) / ระยะเวลาที่บ่ม (ชม.) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | | | |
| 1 | 0.00 | 1.67±0.29 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2 | 0.17±0.29 | 2.83±0.29 | 0.68±0.28 | 0.50±0.50 | 0.33±0.29 |
| 3 | 0.33±0.29 | 6.83±0.76 | 1.33±0.58 | 1.67±0.29 | 0.83±0.29 |
| 4 | 0.68±0.28 | 8.50±0.50 | 3.50±0.50 | 3.33±0.29 | 2.00±0.50 |
| 5 | 0.83±0.29 | 1.83±0.29 | 1.50±0.50 | 2.83±0.58 | 1.67±0.29 |
| 6 | 0.68±0.28 | 1.33±0.76 | 0.68±0.28 | 2.17±0.29 | 0.68±0.28 |
| 7 | 0.18±0.29 | 1.00±0.50 | 0.50±0.00 | 1.83±0.29 | 0.17±0.29 |
| 8 | 0.00 | 0.83±0.29 | 0.17±0.29 | 0.17±0.29 | 0.17±0.29 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TH อายุ 4 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก. ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่อุณหภูมิ 25 30 35 40 และ 45° ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) / อุณหภูมิ (°ซ.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 25 | 1.50±0.50 | 2.83±0.76 | 2.33±0.29 |
| 30 | 4.17±0.29 | 7.33±0.58 | 4.50±0.00 |
| 35 | 1.00±0.50 | 2.00±0.00 | 0.83±0.29 |
| 40 | 1.67±0.29 | 5.17±0.58 | 3.67±1.15 |
| 45 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TA อายุ 4 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก. ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่อุณหภูมิ 25 30 35 40 และ 45°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) / อุณหภูมิ (°ซ.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 25 | 2.33±0.58 | 3.00±0.00 | 2.33±1.04 |
| 30 | 2.17±1.40 | 8.33±0.29 | 3.17±0.58 |
| 35 | 1.83±1.04 | 4.50±0.00 | 1.00±0.50 |
| 40 | 1.50±0.50 | 2.33±0.58 | 1.33±0.76 |
| 45 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ WG อายุ 4 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก.ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่อุณหภูมิ 25 30 35 40 และ 45°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) / อุณหภูมิ (°ซ.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 25 | 2.00±0.50 | 3.00±0.00 | 1.83±0.29 |
| 30 | 2.83±0.29 | 8.83±0.76 | 2.83±0.76 |
| 35 | 1.50±0.50 | 3.50±0.50 | 1.83±0.29 |
| 40 | 1.50±0.50 | 4.33±0.58 | 1.83±0.29 |
| 45 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TH อายุ 4 วัน โดยใช้เอนไซม์ไซโมไลเอสเป็นเอนไซม์ย่อยสลายที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ไซไมไลเอส (มก./มล.) | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.05 | 1.33±0.76 | 3.67±1.15 | 3.67±0.58 |
| 0.10 | 1.50±0.50 | 4.50±0.50 | 1.50±0.50 |
| 0.20 | 2.50±0.50 | 6.50±0.50 | 2.50±0.50 |
| 0.30 | 3.67±0.76 | 4.67±0.29 | 2.00±0.00 |
| 0.40 | 3.83±0.76 | 4.83±0.76 | 2.33±0.29 |
| 0.50 | 4.17±0.58 | 4.83±0.76 | 3.67±0.29 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TA อายุ 4 วัน โดยใช้เอนไซม์ไซโมไลเอสเป็นเอนไซม์ย่อยสลาย ที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ไซโมไลเอส (มก./1 มล.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.05 | 1.33±0.76 | 3.33±0.58 | 3.00±0.00 |
| 0.10 | 2.17±0.76 | 4.33±0.58 | 1.67±1.04 |
| 0.20 | 2.67±0.76 | 7.17±0.29 | 4.17±0.76 |
| 0.30 | 5.17±0.29 | 5.33±0.76 | 3.83±0.76 |
| 0.40 | 5.67±0.29 | 5.00±0.50 | 4.17±0.29 |
| 0.50 | 5.83±0.58 | 4.67±0.29 | 1.67±0.29 |

ตารางที่ 10 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ WG อายุ 4 วัน โดยใช้เอนไซม์ไซโมไลเอสเป็นเอนไซม์ย่อยสลาย ที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ไซโมไลเอส (มก./1 มล.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.05 | 1.33±0.76 | 2.83±0.29 | 1.83±0.29 |
| 0.10 | 1.50±0.50 | 3.17±0.29 | 4.00±1.00 |
| 0.20 | 2.67±0.29 | 5.17±0.58 | 1.17±0.76 |
| 0.30 | 3.33±0.29 | 3.83±1.04 | 2.67±0.58 |
| 0.40 | 3.83±0.76 | 3.67±0.76 | 3.83±0.76 |
| 0.50 | 4.00±0.50 | 3.50±0.00 | 1.83±0.29 |

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TH อายุ 4 วัน บ่มที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| ชนิดของเอนไซม์ | เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| ไซโมไลเอส | 2.33±0.58 | 6.67±0.76 | 2.00±0.00 |
| เซลลูเลส 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| เซลลูเลส 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 1% | 3.33±0.29 | 7.00±0.00 | 3.17±0.29 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 2% | 4.33±0.29 | 7.50±0.50 | 4.00±0.50 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 1% | 1.33±0.76 | 3.67±0.76 | 1.67±0.29 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 2% | 2.16±0.76 | 4.33±0.58 | 2.33±0.58 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TA อายุ 4 วัน บ่มที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| ชนิดของเอนไซม์ \ เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) | 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| ไซโมไลเอส | 2.83±0.76 | 7.00±0.87 | 4.33±0.58 |
| เซลลูเลส 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| เซลลูเลส 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 1% | 3.17±0.29 | 7.67±0.29 | 4.33±0.29 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 2% | 3.67±0.29 | 8.17±0.76 | 3.83±0.29 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 1% | 1.17±0.76 | 2.33±0.58 | 1.50±0.50 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 2% | 1.17±0.76 | 3.67±0.58 | 3.00±1.00 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ WG อายุ 4 วัน บ่มที่ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| ชนิดของเอนไซม์ | เวลาที่บ่มเส้นใย (ชม.) 2 | 4 | 6 |
|---|---|---|---|
| | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) | | |
| ไซโมไลเอส | 2.33±0.58 | 4.50±0.50 | 1.33±0.76 |
| เซลลูเลส 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| เซลลูเลส 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 1% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| โนโวไซม์ 2% | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 1% | 2.50±0.50 | 5.67±0.29 | 1.50±0.50 |
| ไซโมไลเอส+เซลลูเลส 2% | 3.17±0.29 | 7.33±0.58 | 2.17±0.29 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 1% | 1.17±0.76 | 3.67±1.15 | 3.17±0.76 |
| ไซโมไลเอส+โนโวไซม์ 2% | 2.00±1.00 | 3.83±0.76 | 1.67±0.29 |

หมายเหตุ ความเข้มข้นของไซโมไลเอสที่ใช้สำหรับตารางที่ 11 12 และ 13 คือ 0.20 มก./มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 แสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่เตรียมจากเส้นใยเห็ดฟางสายพันธุ์ TH TA และ WG อายุ 4 วัน บ่มด้วยเอนไซม์ไซโมไลเอส 0.20 มก. ต่อ มล. และเซลลูเลส 2% ที่อุณหภูมิ 30°ซ. จากการทำ 3 ซ้ำ

| ระยะเวลาที่บ่ม (ชม.) | จำนวนโปรโตพลาสต์ ($x10^4$ เซลล์/มล.) ของเห็ดฟาง 3 สายพันธุ์ | | |
|---|---|---|---|
| | TH | TA | WG |
| 0.5 | 0.50±0.00 | 0.50±0.00 | 0.66±0.29 |
| 1 | 1.83±0.29 | 1.67±0.58 | 1.17±0.58 |
| 2 | 4.17±0.76 | 3.33±0.58 | 2.83±0.29 |
| 3 | 4.83±0.29 | 4.83±0.29 | 6.67±0.76 |
| 4 | 7.33±0.29 | 8.67±0.76 | 8.50±0.50 |
| 5 | 3.50±0.50 | 7.33±0.29 | 1.83±0.29 |
| 6 | 3.17±0.29 | 3.33±0.29 | 1.58±0.38 |
| 7 | 3.00±0.50 | 2.00±0.00 | 1.17±0.58 |
| 8 | 2.67±0.58 | 0.67±0.29 | 0.83±0.29 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 24 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข.

### การคำนวณสถิติ

1. จำนวนดอก

| สายพันธุ์ | จำนวนซ้ำ (ดอก) | | ผลรวมของหน่วยทดลอง | ค่าเฉลี่ยของหน่วยทดลอง |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | | |
| TA | 39 | 35 | 74 | 37 |
| TH | 21 | 31 | 52 | 26 |
| WG | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TH-TA17) | 56 | 59 | 115 | 57.5 |
| F(TH-WG15) | 50 | 40 | 90 | 45 |
| F(TA-WG20) | 24 | 47 | 71 | 35.5 |
| F(TH-TA39) | 62 | 52 | 194 | 57 |
| F(TH-WG9) | 58 | 76 | 134 | 67 |
| F(TA-WG0) | 73 | 69 | 142 | 71 |
| ผลรวมของซ้ำ | 383 | 409 | 792 | 44 |

$$\text{correction term} = \frac{(\sum ixi)^2}{n}$$

$$= \frac{(792)^2}{18} = 34,848$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| แหล่งของความแปรปรวน | df | SS | MS | F คำนวน | F ตาราง |
|---|---|---|---|---|---|
| จำนวนซ้ำ | 1 | 37.56 | 37.56$^{NS}$ | 0.54 | 5.32 |
| หน่วยทดลอง | 8 | 7983 | 997.88$^{*}$ | 14.27 | 5.32 |
| ความผิดพลาด | 8 | 69.93 | 69.93 | | |
| ผลรวม | 17 | 8580 | | | |

| สายพันธุ์ | จำนวนดอก (เฉลี่ย) |
|---|---|
| F(TA-WG6) | 71 |
| F(TH-WG9) | 67 |
| F(TH-TA17) | 57.5 |
| F(TH-TA39) | 57 |
| F(TH-WG15) | 45 |
| TA | 37 |
| F(TH-WG20) | 35.5 |
| TH | 26 |
| WG | 0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$LSD = t_{\alpha,\ df}\sqrt{\frac{2\ \text{error MS}}{n}}$$

$$LSD_{0.05} = t_{0.05,\ 8}^{(2.306)}\sqrt{\frac{2x69.93}{2}} = 19.28$$

$$LSD_{0.01} = t_{0.01,\ 8}^{(3.355)}\sqrt{\frac{2x69.93}{2}} = 28.06$$

$$CV = \frac{\sqrt{\text{error MS}}}{\text{Grand Mean}} \times 100\%$$

$$= \frac{\sqrt{69.93}}{44} \times 100\ \%$$

$$= 19.01\ \%$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. น้ำหนักสด

| สายพันธุ์ | จำนวนซ้ำ (กรัม) | | ผลรวมของหน่วยทดลอง | ค่าเฉลี่ยของหน่วยทดลอง |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | | |
| TA | 183.42 | 171.87 | 355.29 | 177.65 |
| TH | 105.98 | 153.20 | 259.18 | 129.59 |
| WG | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| F(TH-TA17) | 381.56 | 401.20 | 782.76 | 391.38 |
| F(TH-WG15) | 287.32 | 229.68 | 517.00 | 258.50 |
| F(TA-WG20) | 189.99 | 346.86 | 536.85 | 268.43 |
| F(TH-TA39) | 422.85 | 312.34 | 735.19 | 367.60 |
| F(TH-WG9) | 349.46 | 478.80 | 828.26 | 414.13 |
| F(TA-WG6) | 498.28 | 447.75 | 946.03 | 473.02 |
| ผลรวมของซ้ำ | 2418.86 | 2541.70 | 4960.56 | 155.02 |

$$\text{correction term} = \frac{(\sum ixi)^2}{n} = \frac{(4960.56)^2}{18} = 1{,}367{,}064.20$$

| แหล่งของความแปรปรวน | df | SS | MS | F คำนวณ | F ตาราง |
|---|---|---|---|---|---|
| จำนวนซ้ำ | 1 | 838.31 | 838.31$^{NS}$ | 0.22 | 5.32 |
| หน่วยทดลอง | 8 | 374489.36 | 46811.17$^{**}$ | 12.38 | 11.26 |
| ความผิดพลาด | 8 | 30248.68 | 3781.09 | | |
| ผลรวม | 17 | 405576.36 | | | |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| สายพันธุ์ | น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัม) |
|---|---|
| F(TA-WG6) | 473.02 |
| F(TH-WG9) | 414.13 |
| F(TH-TA17) | 391.38 |
| F(TH-TA39) | 367.60 |
| F(TA-WG20) | 268.43 |
| F(TH-WG15) | 258.50 |
| TA | 177.65 |
| TH | 129.59 |
| WG | 0.00 |

$$LSD = t_{\alpha, df} \sqrt{\frac{2 \text{ error MS}}{n}}$$

$$LSD_{0.05} = t_{0.05, 8}^{(2.306)} \sqrt{\frac{2x3781.09}{2}} = 141.80$$

$$LSD_{0.01} = t_{0.01, 8}^{(3.355)} \sqrt{\frac{2x3781.09}{2}} = 206.30$$

$$CV = \frac{\sqrt{\text{errorMS}}}{\text{Grand Mean}} \times 100\%$$

$$= \frac{\sqrt{3781.09}}{155.02} \times 100\%$$

$$= 39.67\ \%$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. น้ำหนักแห้ง

| สายพันธุ์ | จำนวนซ้ำ (กรัม) | | ผลรวมของหน่วยทดลอง | ค่าเฉลี่ยของหน่วยทดลอง |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | | |
| TA | 59.33 | 58.28 | 117.61 | 58.81 |
| TH | 39.76 | 54.87 | 94.63 | 47.32 |
| WG | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| F(TH-TA17) | 121.42 | 134.68 | 256.10 | 128.05 |
| F(TH-WG15) | 94.19 | 77.84 | 172.03 | 86.02 |
| F(TA-WG20) | 69.32 | 125.84 | 195.16 | 97.58 |
| F(TH-TA39) | 147.85 | 98.77 | 246.62 | 123.31 |
| F(TH-WG9) | 109.75 | 159.63 | 269.38 | 134.69 |
| F(TA-WG6) | 147.79 | 129.80 | 277.59 | 138.80 |
| ผลรวมของซ้ำ | 789.41 | 839.71 | 1629.12 | 90.51 |

$$\text{correction term} = \frac{(\sum ixi)^2}{n} = \frac{(1629.12)^2}{18} = 147{,}446.22$$

| แหล่งของความแปรปรวน | df. | SS | MS | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | คำนวณ | ตาราง |
| จำนวนซ้ำ | 1 | 140.56 | 140.56$^{NS}$ | 0.26 | 5.32 |
| หน่วยทดลอง | 8 | 35803.34 | 4475.42$^{*}$ | 8.13 | 5.32 |
| ความผิดพลาด | 8 | 4403.23 | 550.40 | | |
| ผลรวม | 17 | 40347.13 | | | |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| สายพันธุ์ | น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม) |
|---|---|
| F(TA-WG6) | 138.80 |
| F(TH-WG9) | 134.69 |
| F(TH-TA17) | 128.05 |
| F(TH-TA39) | 123.31 |
| F(TA-WG20) | 97.58 |
| F(TH-WG15) | 86.02 |
| TA | 58.81 |
| TH | 47.32 |
| WG | 0.00 |

$$LSD = t_{\alpha,\ df}\sqrt{\frac{2\ \text{error MS}}{n}}$$

$$LDS_{0.05} = t_{0.05,\ 8}^{(2.306)}\sqrt{\frac{2x550.40}{2}} = 54.10$$

$$LSD_{0.01} = t_{0.01,\ 8}^{(3.355)}\sqrt{\frac{2x550.40}{2}} = 78.71$$

$$CV = \frac{\sqrt{\text{error MS}}}{\text{Grand Mean}} \times 100\ \%$$

$$= \frac{\sqrt{550.40}}{90.51} \times 100\ \%$$

$$= 25.92\ \%$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมายเหตุ

df. : degree of freedam (ชั้นแห่งความอิสระ)

SS : sum of squares (ผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบน)

MS : mean squares (ผลเฉลี่ยของผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบน)

F : F-test (เปรียบเทียบระหว่าง F ที่คำนวณได้ กับ F ที่เปิดจากตารางมาตรฐาน)

LSD : least significant difference (การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย)

n : ตัวหารในการหาค่าเฉลี่ยของหน่วยทดลอง

$t_{\alpha,df}$ : degree of freedom ของ error (ชั้นแห่งความอิสระของความผิดพลาด)

CV : coefficient of variation (สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน) คือ ค่าที่แสดงถึงความแปรปรวนที่เกิดขึ้นในการทดลองโดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน ใช้ประเมินประสิทธิภาพของการทดลองนั้น ๆ ว่าเชื่อถือได้เพียงใด

* : มีความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 หรือที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** : มีความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01 หรือที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

NS : ไม่มีความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองทางสถิติ

ถ้า F แสดงความแตกต่างที่ * ให้เปรียบเทียบกับค่า $LSD_{0.05}$

ถ้า F แสดงความแตกต่างที่ ** ให้เปรียบเทียบกับค่า $LSD_{0.05}$ และ $LSD_{0.01}$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 33 แสดงจำนวนดอกที่ออกในแต่ละวัน ตั้งแต่วันที่เริ่มออกดอกจนถึงวันที่ออกดอกวันสุดท้าย

| วันที่ | พฤษภาคม | | | | | | | | | | | มิถุนายน | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| สายพันธุ์ | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| TH 1 | 0 | 0 | 2 | 6 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| TH 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 0 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 2 |
| TA 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 10 | 6 | 2 | 0 | 0 |
| TA 2 | 0 | 0 | 2 | 4 | 4 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | 5 | 2 |
| WG 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WG 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TH-TA17)1 | 5 | 6 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 | 7 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TH-TA17)2 | 5 | 0 | 5 | 4 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 |
| F(TH-TA39)1 | 0 | 0 | 11 | 0 | 0 | 2 | 5 | 8 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 0 | 6 |
| F(TH-TA39)2 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 7 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| F(TH-WG15)1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 6 | 5 |
| F(TH-WG15)2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 2 | 4 | 7 | 5 | 0 |
| F(TH-WG9)1 | 8 | 0 | 7 | 0 | 0 | 9 | 2 | 3 | 0 | 0 | 7 | 3 | 8 | 2 | 0 |
| F(TH-WG9)2 | 4 | 6 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 7 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| F(TA-WG20)1 | 0 | 0 | 8 | 4 | 2 | 0 | 0 | 4 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TA-WG20)2 | 6 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5 | 2 |
| F(TA-WG6)1 | 7 | 6 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 5 | 9 | 3 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| F(TA-WG6)2 | 9 | 4 | 4 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 2 | 1 | 7 | 0 | 0 | 0 | 8 |

ตารางที่ 33 (ต่อ)

| วันที่ | มิถุนายน | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| สายพันธุ์ | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| TH 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| TH 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TA 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| TA 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WG 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WG 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TH-TA17)1 | 0 | 4 | 3 | 6 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| F(TH-TA17)2 | 6 | 2 | 0 | 0 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 2 |
| F(TH-TA39)1 | 0 | 0 | 4 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 1 |
| F(TH-TA39)2 | 7 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 1 |
| F(TH-WG15)1 | 4 | 4 | 0 | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 2 |
| F(TH-WG15)2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 |
| F(TH-WG9)1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 3 |
| F(TH-WG9)2 | 6 | 6 | 0 | 0 | 7 | 6 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 2 |
| F(TA-WG20)1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F(TA-WG20)2 | 0 | 1 | 0 | 4 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 2 |
| F(TA-WG6)1 | 6 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 2 |
| F(TA-WG6)2 | 6 | 6 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 1 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 34 แสดงอุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเพาะ ตั้งแต่วันที่เริ่มเพาะ (9/15/33) จนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง (26/6/33)

| วันที่ | เวลา | อุณหภูมิ (°ซ.) | | ความชื้น (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ |
| 9/5/33 | 18.00 น. | 35 | 32 | 58 | 73 |
| 10/5/33 | 9.00 น. | 36 | 28 | 52 | 78 |
| 10/5/33 | 16.00 น. | 36 | 28 | 58 | 78 |
| 11/5/33 | 9.00 น. | 33 | 30 | 54 | 78 |
| 11/5/33 | 16.00 น. | 33 | 31 | 60 | 77 |
| 12/5/33 | 9.00 น. | 33 | 32 | 62 | 76 |
| 12/5/33 | 16.00 น. | 33 | 31 | 63 | 76 |
| 13/5/33 | 9.00 น. | 35 | 32 | 60 | 80 |
| 13/5/33 | 16.00 น. | 35 | 28 | 58 | 81 |
| 14/5/33 | 10.00 น. | 36 | 28 | 63 | 80 |
| 14/5/33 | 14.00 น. | 36 | 28 | 64 | 82 |
| 15/5/33 | 10.00 น. | 34 | 29 | 62 | 81 |
| 15/5/33 | 16.00 น. | 33 | 30 | 60 | 81 |
| 16/5/33 | 9.00 น. | 32 | 30 | 68 | 80 |
| 16/5/33 | 18.00 น. | 30 | 28 | 67 | 82 |
| 17/5/33 | 9.00 น. | 33 | 28 | 65 | 80 |
| 17/5/33 | 16.00 น. | 32 | 28 | 67 | 81 |
| 18/5/33 | 9.00 น. | 33 | 29 | 65 | 82 |
| 18/5/33 | 16.00 น. | 32 | 28 | 72 | 82 |
| 19/5/33 | 9.00 น. | 32 | 28 | 71 | 81 |
| 19/5/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 75 | 85 |
| 20/5/33 | 9.00 น. | 31 | 28 | 68 | 82 |
| 20/5/33 | 14.00 น. | 30 | 28 | 69 | 82 |
| 21/5/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 72 | 83 |
| 21/5/33 | 12.00 น. | 31 | 28 | 75 | 82 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 34 (ต่อ)

| วันที่ | เวลา | อุณหภูมิ (°ซ.) | | ความชื้น (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ |
| 22/5/33 | 9.00 น. | 31 | 28 | 78 | 85 |
| 22/5/33 | 14.00 น. | 33 | 28 | 75 | 85 |
| 23/5/33 | 9.00 น. | 32 | 31 | 78 | 86 |
| 23/5/33 | 16.00 น. | 32 | 30 | 79 | 86 |
| 24/5/33 | 8.00 น. | 32 | 28 | 75 | 82 |
| 24/5/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 72 | 85 |
| 25/5/33 | 9.00 น. | 32 | 30 | 74 | 82 |
| 25/5/33 | 14.00 น. | 31 | 30 | 84 | 85 |
| 26/5/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 80 | 85 |
| 26/5/33 | 14.00 น. | 30 | 29 | 80 | 84 |
| 27/5/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 80 | 85 |
| 27/5/33 | 14.00 น. | 32 | 28 | 81 | 85 |
| 28/5/33 | 10.00 น. | 30 | 28.5 | 80 | 84 |
| 28/5/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 80 | 85 |
| 29/5/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 75 | 82 |
| 29/5/33 | 16.00 น. | 30 | 29 | 78 | 85 |
| 30/5/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 79 | 83 |
| 30/5/33 | 14.00 น. | 31 | 29 | 72 | 84 |
| 31/5/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 75 | 85 |
| 31/5/33 | 18.00 น. | 31 | 28 | 72 | 84 |
| 1/6/33 | 11.00 น. | 30 | 28 | 74 | 85 |
| 1/6/33 | 14.00 น. | 31 | 29 | 75 | 83 |
| 2/6/33 | 11.00 น. | 30 | 28 | 76 | 85 |
| 2/6/33 | 14.00 น. | 31 | 28 | 77 | 85 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 34 (ต่อ)

| วันที่ | เวลา | อุณหภูมิ (°ซ.) | | ความชื้น (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ |
| 3/6/33 | 11.00 น. | 30 | 28 | 75 | 85 |
| 3/6/33 | 14.00 น. | 31 | 28 | 79 | 84 |
| 4/6/33 | 9.00 น. | 32 | 28 | 75 | 83 |
| 4/6/33 | 16.00 น. | 32 | 28 | 72 | 84 |
| 5/6/33 | 9.00 น. | 31 | 29 | 74 | 84 |
| 5/6/33 | 16.00 น. | 31 | 28 | 75 | 85 |
| 6/6/33 | 8.00 น. | 32 | 29 | 72 | 83 |
| 6/6/33 | 16.00 น. | 32 | 28 | 75 | 85 |
| 7/6/33 | 9.00 น. | 32 | 29 | 75 | 84 |
| 7/6/33 | 16.00 น. | 31 | 28 | 72 | 83 |
| 8/6/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 71 | 84 |
| 8/6/33 | 16.00 น. | 34 | 28 | 72 | 85 |
| 9/6/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 70 | 81 |
| 9/6/33 | 16.00 น. | 31 | 28 | 72 | 84 |
| 10/6/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 74 | 85 |
| 10/6/33 | 14.00 น. | 32 | 28 | 72 | 83 |
| 11/6/33 | 9.00 น. | 30 | 28 | 74 | 85 |
| 11/6/33 | 14.00 น. | 32 | 29 | 72 | 83 |
| 12/6/33 | 9.00 น. | 31 | 28 | 75 | 82 |
| 12/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 72 | 84 |
| 13/6/33 | 10.00 น. | 32 | 28 | 75 | 83 |
| 13/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 78 | 84 |
| 14/6/33 | 11.00 น. | 32 | 32 | 79 | 83 |
| 14/6/33 | 16.00 น. | 30 | 29 | 75 | 82 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 34 (ต่อ)

| วันที่ | เวลา | อุณหภูมิ (°ซ.) | | ความชื้น (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ | ก่อนรดน้ำ | หลังรดน้ำ |
| 15/6/33 | 9.00 น. | 31 | 29 | 72 | 83 |
| 15/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 75 | 84 |
| 16/6/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 72 | 82 |
| 16/6/33 | 16.00 น. | 31 | 28 | 75 | 84 |
| 17/6/33 | 8.00 น. | 30 | 28 | 72 | 83 |
| 17/6/33 | 14.00 น. | 32 | 28 | 75 | 84 |
| 18/6/33 | 9.00 น. | 31 | 29 | 72 | 81 |
| 18/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 71 | 80 |
| 19/6/33 | 9.00 น. | 30 | 29 | 72 | 80 |
| 19/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 79 | 85 |
| 20/6/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 72 | 84 |
| 20/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 71 | 82 |
| 21/6/33 | 10.00 น. | 31 | 28 | 71 | 80 |
| 21/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 72 | 85 |
| 22/6/33 | 10.00 น. | 31 | 28 | 75 | 82 |
| 22/6/33 | 16.00 น. | 31 | 28 | 72 | 84 |
| 23/6/33 | 10.00 น. | 30 | 28 | 71 | 82 |
| 23/6/33 | 16.00 น. | 30 | 28 | 74 | 80 |
| 24/6/33 | 10.00 น. | 31 | 28 | 75 | 84 |
| 24/6/33 | 16.00 น. | 32 | 29 | 74 | 82 |
| 25/6/33 | 9.00 น. | 31 | 28 | 72 | 82 |
| 25/6/33 | 18.00 น. | 31 | 28 | 74 | 84 |
| 26/6/33 | 9.00 น. | 31 | 28 | 71 | 83 |
| 26/6/33 | 18.00 น. | 31 | 28 | 72 | 84 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ค.

1. สูตรอาหาร

สูตร 1 สูตรอาหารพีดีเอ (Potato dextrose agar)

| | | |
|---|---|---|
| มันฝรั่งหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ | 250.00 | กรัม |
| กลูโคส | 20.00 | กรัม |
| วุ้นผง | 20.00 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.00 | ลิตร |

ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปชั่งจนครบ 250 กรัม นำไปต้มกับน้ำกลั่น 1 ลิตร นาน 15-20 นาที กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมาเติมส่วนประกอบที่เหลือละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ปรับ pH เป็น 5.6 นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°ซ. นาน 15 นาที

สูตร 2 สูตรอาหารพีดีบี (Potato dextrose broth)

เตรียมเช่นเดียวกับสูตรอาหารพีดีเอ แต่ไม่เติมวุ้นลงไป

สูตร 3 สูตรอาหารพีดีบีเอ (Potato dextrose bacto-agar) สำหรับเลี้ยงโปรโตพลาสต์ให้กลับคืนสู่สภาพเส้นใย (อยู่ในวิธีการวิจัย)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 4 สูตรอาหารสำหรับทดสอบการเกิดตุ่มดอก

| | | |
|---|---|---|
| 4.1 มันฝรั่งหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ | 250.00 | กรัม |
| กลูโคส | 20.00 | กรัม |
| วุ้นผง | 20.00 | กรัม |
| น้ำสกัดจากไส้นุ่น | 1.00 | ลิตร |

นำไส้นุ่นมา 100 กรัม ต้มในน้ำสะอาด 1 ลิตร นาน 30 นาที กรองเอาไส้นุ่นทิ้ง เก็บส่วนน้ำไว้

ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปชั่งจนครบ 250 กรัม นำไปต้มกับน้ำสกัดจากไส้นุ่น 1 ลิตร นาน 15-20 นาที กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมาเติมส่วนประกอบที่เหลือละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ปรับ pH เป็น 5.6 นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°ซ. นาน 15 นาที

4.2 เตรียมเช่นเดียวกับสูตร 4.1 แต่ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำสกัดจากไส้นุ่น และเติมผงสกัดจากยีสต์ลงไป 5.00 กรัม

สูตร 5 สูตรอาหารสำหรับชักนำให้เส้นใยสร้างนิวเคลียสเพื่อย้อมสีจิมซา

| | | |
|---|---|---|
| มอลโตส | 20.0 | กรัม |
| กลูโคส | 10.0 | กรัม |
| เปปโตน | 2.0 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนซัลเฟต | 0.5 | กรัม |
| ผงสกัดยีสต์ | 0.2 | กรัม |
| 0.1 โมลาร์ แคลเซียมคลอไรด์ | 5.0 | มล. |
| 0.2% ซิงค์ซัลเฟต | 0.5 | มล. |
| 1.0% เฟอรัสคาร์บอเนต | 1.0 | มล. |
| 1.0% แมงกานีสซัลเฟต | 0.5 | มล. |
| วุ้นผง | 20.0 | กรัม |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร ต้มให้เดือดเป็นเวลา 20 นาที ปรับ pH เป็น 6.5 นำไปฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°ซ. เป็นเวลา 15 นาที

2. องค์ประกอบของสารละลายเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ มีดังนี้

| | | |
|---|---|---|
| 1.5 โมลาร์โปแตสเซียมคลอไรด์ | 20 | มล. |
| 0.1 โมลาร์ 2-เมอแคปโตเอทธานอล | 5 | มล. |
| 1.0 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ | 20 | มล. |
| เอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ | 5 | มล. |

ฆ่าเชื้อโดยกรองผ่านแผ่นกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

3. สารละลายโพลีเอทธิลีนไกลคอล-800

ชั่งโพลีเอทธิลีนไกลคอล-8000 จำนวน 15 กรัม ละลายในน้ำร้อน 30 มล. จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 45 มล. เติม 5 มล. ของ 500 มิลลิโมลาร์แคลเซียมคลอไรด์ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

4. การหาปริมาณดีเอนเอในเส้นใย

4.1 การเตรียมสารละลาย

4.1.1 ไดเฟนีลามีน รีเอเจนต์ (Diphenylamine reagent)

| | | |
|---|---|---|
| ไดเฟนีลามีน | 2 | กรัม |
| กรดอซิติก (glacial acetic acid) | 100 | มล. |

เก็บไว้ในที่มืด

4.1.2 1.6 มก./มล. อเซทาลดีไฮด์

| | | |
|---|---|---|
| อเซทาลดีไฮด์ (Acetaldehyde) | 0.20 | มล. |
| เติมน้ำกลั่นให้ครบ | 100 | มล. |

4.1.3 6% กรดเพอคลอริค (Perchloric acid)

| | | |
|---|---|---|
| 70% กรดเพอคลอริค | 6 | มล. |
| เติมน้ำกลั่นจนครบ | 70 | มล. |

4.1.4 95% เอธานอล (ethanol) ต่อน้ำ

| | | |
|---|---|---|
| 95% เอธานอล | 4 | ส่วน |
| น้ำกลั่น | 1 | ส่วน |

4.1.5 สารละลายอีเธอร์ต่อเอธานอล

| | | |
|---|---|---|
| ไดเอธิล อีเธอร์ (Diethyl ether) | 1 | ส่วน |
| 95% เอธานอล | 3 | ส่วน |

4.2 <u>การสร้างกราฟมาตรฐาน</u>

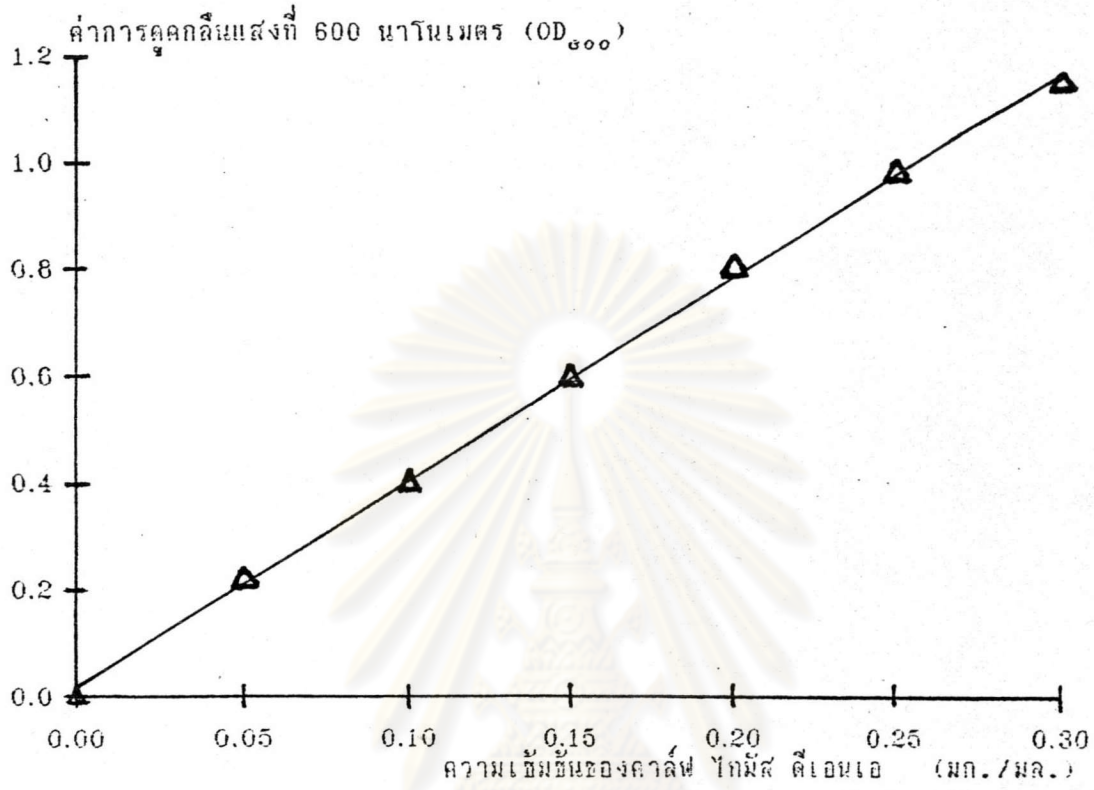
ใช้คาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ เป็นดีเอนเอมาตรฐาน โดยละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอด้วยสารละลายเจือจางของ 0.0015 โมลาร์ โซเดียมซิเตรท บัฟเฟอร์ pH 7.0 เตรียมสารละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ ที่มีความเข้มข้น 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 และ 0.30 มก./มล. ตามลำดับ

นำ 1 มล. ของสารละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอทุกความเข้มข้น มาเติม 2 มล. ของสารละลายไดเฟนีลามีน และเติม 0.1 มล. ของสารละลายอเซทาลดีไฮด์ เขย่าให้เข้ากันนำไปต้มในอ่างน้ำเดือด 10 นาที ทำให้เย็นทันทีในอ่างน้ำแข็ง

วัดการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน โดยให้แกนเอกซ์เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายคาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ (มก./มล.) แกนวายเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ 600 นาโนเมตร

ได้กราฟมาตรฐาน ดังรูป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




กราฟที่ 18 กราฟมาตรฐานของ คาล์ฟ ไทมัส ดีเอนเอ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. <u>การย้อมนิวเคลียสด้วยสีจิมซา</u> (Giemsa's stain)

<u>การเตรียมสารละลาย</u>

5.1 สารละลายเฮลลี (Helly solution)

| | | |
|---|---|---|
| เมอคูริคคลอไรด์ ($HgCl_2$) | 5 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดโครเมท ($K_2Cr_2O_7$) | 3 | กรัม |
| 40% ฟอร์มาลิน (Formalin) | 15 | มล. |
| เติมน้ำกลั่นจนครบ | 100 | มล. |

(เติม 40% ฟอร์มาลิน เมื่อจะใช้สารละลาย)

| | | |
|---|---|---|
| 5.2 เกลือแกง | 1 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 100 | มล. |

5.3 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) pH 6.9

| | | |
|---|---|---|
| โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4$) | 3 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 1.5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 500 | มล. |

5.4 สีจิมซา (Giemsa stock solution)

| | | |
|---|---|---|
| เมธานอล (methanol) | 5 | มล. |
| กลีเซอรอล (glycerol) | 5 | มล. |
| ผงจิมซา (Giemsa powder) | 76 | มก. |

6. <u>สารละลายที่ใช้แช่ไส้นุ่น</u>

| | | |
|---|---|---|
| แอมโมเนียมไนเตรท ($NH_4NO_3$) | 1.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 1.5 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) | 5.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) | 1.0 | กรัม |

เตรียมในน้ำสะอาด 1 ลิตร ต่อไส้นุ่น 1 กก. pH 6.5

# ประวัติ

นาย วีรวัฒน์ กนกนุเคราะห์ เกิดเมื่อวันที่ 6 ธันวาคม 2509 จังหวัดกรุงเทพ จบการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2530 ขณะศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม) ได้เสนองานวิจัย ดังนี้คือ

- Verawat Kanoknukroh, Witchporn Tiabjutorus and Sumalee Pichyangkura. 1990. Fusants from protoplast fusion of straw mushroom. International conference on Biotechnology and environmental science : molecular approaches August 21-24, Bangkok, Thailand. Organized by Chulabhorn Research Institute International Program on Environmental and Industrial Toxicology with support of the United Nations Development Programme.

- วีรวัฒน์ กนกนุเคราะห์ และ สุมาลี พิชญางกูร. 2533. การปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดฟาง (Volvariella sp.) โดยวิธีรวมโปรโตพลาสต์, หน้า 416-417. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16. 25-27 ต.ค. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

- วิทยานิทรรศน์. งานจุฬาวิชาการ ครั้งที่ 2. 21-25 พฤศจิกายน 2533. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย