LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

12 JUN 1992

STUDIES ON FORMATION, REGENERATION AND FRUITING BODY FORMATION OF *Pleurotus cystidiosus* PROTOPLASTS

อภินันทนาการ
จาก
.....

SUDARAT BOONCHAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1991

Copyright by Mahidol University

18992

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการสร้างโปรโตพลาสต์ การกลับคืนเป็นเส้นใย และการสร้างดอกเห็ด จากโปรโตพลาสต์ของเห็ดเป๋าฮื้อ

ผู้วิจัย สุดารัตน์ บุญจันทร์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ปรีชา กลิ่นเกษร Ph.D.

ทิมมอที วิลเลียม เฟลเกล Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤศจิกายน พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

จากการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสม ต่อการสร้างโปรโตพลาสต์จากเส้นใยของเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus*) และการกลับเป็นเส้นใยปกติของโปรโตพลาสต์ที่แยกได้นั้น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดเป็นโปรโตพลาสต์คือ การใช้เอนไซม์ Novozym™234 (2.0 %), Chitinase (1.5 %), Driselase (1.5 %) และ Cellulase (2.0 %) ร่วมกัน จะได้จำนวนโปรโตพลาสต์ประมาณ 3.8×10^6 /ml ภายในเวลา 10 ชั่วโมง เมื่อใช้เส้นใยที่มีอายุประมาณ 3 วัน โดยมี 0.05 M Na-maleate buffer, pH 5.8 เป็นบัฟเฟอร์ และ 0.6 M $MgSO_4$ เป็น osmotic stabilizer และเมื่อได้มีการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการกลับเป็นเส้นใยของโปรโตพลาสต์ พบว่าโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จากเส้นใยของเห็ดเป๋าฮื้อสามารถกลับสู่สภาพเส้นใยที่ปกติได้ประมาณ 0.19 % เมื่อเลี้ยงในอาหาร glucose-malt-yeast extract ที่มี 1.0 M sorbitol เป็น osmotic stabilizer โดยใช้วิธี embedding พบว่าแหล่งอาหารคาร์บอน และไนโตรเจนมีผลต่อการกลับเป็นเส้นใยของโปรโตพลาสต์ เส้นใยที่ได้จากการกลับสภาพของโปรโตพลาสต์นี้สามารถที่จะพัฒนาสร้างเป็นดอกเห็ดได้

Copyright by Mahidol University

Thesis Title Studies on Formation, Regeneration and Fruiting Body Formation of ***Plueurotus cystidiosus*** Protoplasts.

Name Sudarat Boonchan

Degree Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Commitee

Preecha Klingesorn, Ph.D.

Timothy Willium Flegel, Ph.D.

Date of Graduation 15 November B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

Conditions suitable for the release of mycelial protoplasts of ***Pleurotus cystidiosus*** and for reversion of the isolated protoplasts were examined. The study culminated in the development of a method using commercially available preparation of 2.0 % Novozym™234, 1.5 % Chitinase, 1.5 % Driselase and 2.0 % Cellulase, by which about 3.8 x 10^8 /ml protoplasts could be obtained from the young growing mycelia, within 10 hours. The 0.05 M Na-maleate buffer containing 0.6 M $MgSO_4$, pH 5.8 is suitable as protoplast buffer (buffer/stabilizer). Protoplasts from ***P. cystidiosus*** mycelia regenerated into normal hyphae with frequencies about 0.19 % in glucose-malt-yeast extract medium supplemented with 1.0 % sorbitol (regeneration medium), in embedding method. The reversion

Copyright by Mahidol University

frequency was shown to be influence by nutrient composition, especially of carbon and nitrogen sources in the regeneration medium. Mycelium derived from protoplasts of *P. cystidiosus* consistently developed normal fruiting bodies.

Copyright by Mahidol University