

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

##### 1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายยีนที่ควบคุมการเป็นหมันในไซโทพลาสซึม ไปสู่ผักกาดเขียวปลี สายพันธุ์แท้

1.1.1 เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีที่มียีนตัวผู้เป็นหมัน (4-4) ใช้เป็นแม่พันธุ์ และเมล็ดพันธุ์ที่มียีนรักษาความเป็นหมัน (4-1) ใช้เป็นพ่อพันธุ์เพื่อขยายต้นแม่ (4-4)

1.1.2 เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกโดยวิธี Pedigree method ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่ พันธุ์ต่อไปนี 2R-1, 2M7R-2-1, 2I13, 40R<sub>2</sub>-3-4, 64-4, 67, 25-4 และ 2-4

1.1.3 ฝักริลาเน่

1.1.4 โฟม

1.1.5 ถาดอคูมินิยม

1.1.6 กล้องฟิล์มเจาะรูที่ด้านล่าง

1.1.7 ถุงพลาสติก

1.1.8 ถุงกระดาษคลุมช่อดอก

1.1.9 ไหมพรม

1.1.10 ออกผึ้ง

1.1.11 ตู้อบ

1.1.12 ซ้อนคัสสาร

1.1.13 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.1.14 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง

1.1.15 เครื่องแก้วอื่น ๆ เช่น ขวดวัดปริมาตร กระจกวัดปริมาตร บีกเกอร์ กรวยแก้ว

แท่งแก้วคนสาร

1.1.16 เตาไฟฟ้า (hot plate) พร้อมเครื่องคนสาร (magnetic stirrer)

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมฝักภาคเขียวปรี

1.2.1 เมล็ดพันธุ์แท้ฝักภาคเขียวปรีพันธุ์ 40R<sub>2</sub>-3-4

1.2.2 เมล็ดพันธุ์ฝักภาคเขียวปรีที่มีลักษณะเป็นหมันในไซโทพลาสซึม โดยอาศัยการผสมกลับ 4 ครั้ง (BC<sub>4</sub>) คือ 4-4x2M7R-2-1

1.2.3 มุ้งตาข่ายสีฟ้าขนาด กว้าง 2.5 เมตร ยาว 3.5 เมตร สูง 2 เมตร

1.2.4 ฝักร้อมรังผสมเกสร

1.2.5 เครื่องพ่นควัน

1.2.6 ออกฝักร้อม

1.2.7 ถังคลุมช่อดอก

1.2.8 ไหมพรม

1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตลูกผสมโดยใช้ฝักร้อม

1.3.1 เมล็ดพันธุ์แท้ฝักภาคเขียวปรีพันธุ์ 40R<sub>2</sub>-3-4, 67-1

1.3.2 เมล็ดพันธุ์ฝักภาคเขียวปรีที่มีลักษณะเป็นหมันเนื่องจากไซโทพลาสซึม โดยการผสมกลับ 4 ครั้ง (BC<sub>4</sub>) ได้แก่ 4-4x2M7R-2-1, 4-4x2R<sub>2</sub>-2, 4-4x19-H-1, 4-4x64-4-2, 4-4x19-H-12, 4-4x2I13, 4-4x2-4-1, 4-4x40R<sub>2</sub>-3-4, 4-4x67-1

1.3.3 มุ้งตาข่ายสีฟ้าขนาด กว้าง 2.5 เมตร ยาว 3.5 เมตร สูง 2 เมตร

1.3.4 ฝักร้อมรังผสมเกสร

1.3.5 เครื่องพ่นควัน

1.3.6 ออกฝักร้อม

1.3.7 ถังคลุมช่อดอก

1.3.8 ไหมพรม

1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินพันธุ์ลูกผสม

1.4.1 เมล็ดพันธุ์ฝักภาคเขียวปรีพันธุ์แท้ 40R<sub>2</sub>-3-4 และ 67

1.4.2 เมล็ดพันธุ์ฝักภาคเขียวปรีลูกผสม ได้แก่ (4 - 4 x 2M7R - 2 - 1) x 40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x2R<sub>2</sub>-2)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x19-H-12)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x19-H-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x64-4-2)x 40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x2I13)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x2-4-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x67-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x64-4)x67, (4-4x2I13)x67, (4-4x19-H-1)x67

1.4.3 เมล็ดพันธุ์การค้าได้แก่ พันธุ์ธรรมชาติราสิงห์โต พันธุ์กังฟู ทรายเครื่องบิน พันธุ์เอ็ม-วัน ทรายรถถัง พันธุ์เหนือชั้นตราสิงห์โต พันธุ์ข้อแผลตราปลาคู่ พันธุ์แม็กซ์ 018 ทรายเครื่องบิน พันธุ์เบอร์ 3 ทราย ลูกโลก และพันธุ์ เบอร์ 99 ทรายลูกโลก

1.4.4 อุปกรณ์ในการเตรียมดิน เช่น รถไถ เชือก ปูนขาว จอบ

1.4.5 อุปกรณ์ในการให้น้ำเช่นสายยาง บั้วรดน้ำ สปริงเกอร์

1.4.6 เครื่องพ่นยา

1.4.7 มีด

1.4.8 ไม้บรรทัด

1.4.9 เครื่องชั่ง

1.5 อุปกรณ์ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

1.5.1 ตัวอย่างพืชได้แก่ใบผักกาดเขียวปลี

1.5.2 เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบแผ่น (slab)

1.5.3 ตู้เย็น

1.5.4 ตู้แช่แข็ง

1.5.5 โกร่งบด

1.5.6 magnetic stirrer

1.5.7 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.5.8 vial ขนาด 1 dram

1.5.9 micro pipette

1.5.10 กล่องพลาสติก

1.5.11 ขวดใส่สารเคมี

1.5.12 เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น beaker, pipette, cylinder

1.5.13 pH meter

1.5.14 petri dish

1.5.15 กรรไกร

1.5.16 กล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

1.5.17 เครื่อง refrigerated centrifuge

1.6 สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงต้นไม้อ้อยในห้องปฏิบัติการ เพื่อถ่ายยีนที่ควบคุมเป็นหมันไปสู่สายพันธุ์แท้ ผักกาดเขียวปลี

- 1.6.1  $\text{KNO}_3$
- 1.6.2  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- 1.6.3  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 1.6.4  $\text{CaNO}_3$
- 1.6.5  $\text{H}_2\text{PO}_3$
- 1.6.6  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 1.6.7  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 1.6.8  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 1.6.9  $\text{NaMnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 1.6.10  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 1.6.11  $\text{Na}_2\text{EDTA}$

1.7 สารเคมีที่ใช้ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- 1.7.1 0.1 M Tris-buffer pH 8.2
- 1.7.2 Tris (hydroxymethyl) aminomethane
- 1.7.3 Glycine
- 1.7.4 1 N. HCl
- 1.7.5 TEMED (N,N,N,N-tetramethyl ethylenediamine)
- 1.7.6 Acrylamine
- 1.7.7 N,N-methylene bisacrylamide
- 1.7.8  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$
- 1.7.9 0.1 N phosphate buffer pH 6.0
- 1.7.10 Fast blue B salt
- 1.7.11  $\alpha$ -naphthyl acetate
- 1.7.12 absolute alcohol
- 1.7.13 3-amino-9-ethylcarbazole
- 1.7.14 B-naphthol
- 1.7.15 acetone
- 1.7.16 0.1 M Tris buffer pH 4.0
- 1.7.17 Hydrogen peroxide 3%

1.7.18 0.5 M acetate buffer pH 4.8

1.7.19 1% naphthyl acid phosphate

1.7.20  $MgCl_2$

## สถานที่ทำการวิจัย

- ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ผัก ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## ระยะเวลาการทำวิจัย

ระหว่างเดือนกันยายน 2539 ถึง เดือนมีนาคม 2541

## 2. วิธีการวิจัย

### 2.1 การถ่ายยีนที่ควบคุมการเป็นหมันในไซโทพลาสซึม(4-4) ไปยังสายพันธุ์แท้ผักกาดเขียวปลี

เตรียมดินโดยใช้อัตราส่วนระหว่าง ดิน : ปุ๋ยคอก : ขี้เถ้าแกลบ อัตรา 3 : 1 : 1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วบรรจุลงในกล่องฟิล์มที่เจาะรูด้านล่างสำหรับสอดฝักริธานที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อคูดน้ำและสารอาหารจากภาคด้านล่าง เมื่อบรรจุดินได้ ประมาณครึ่งหนึ่งแล้วใส่ปุ๋ยออสโมโคทสูตร 13-13-13 กล่องละ 3 เม็ด บรรจุดินจนกระทั่งเต็มกล่องฟิล์มนำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีจาก 1.1.1 และ 1.1.2 ไปเพาะใน petri dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในที่มืดเป็นเวลา 15 วัน ย้ายต้นกล้าปลูกในกล่องฟิล์มที่เตรียมไว้กล่องละ 1 ต้น วางกล่องฟิล์มไว้บนแผ่นโฟมที่บุด้วยฝักริธาน ซึ่งวางในถาดคลุมนิย่มที่หุ้มด้วยถุงพลาสติกปิดทึบ 20 ต้น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $20 \pm 3$  °C ให้แสงตลอดเวลาคด้วยหลอด fluorescent ความเข้มแสง 9000 ลักซ์ ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80% ให้น้ำทุกวันและให้ Hoagland's solution (คู่มือการเตรียมในภาคผนวก ก) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เมื่ออายุได้ 20-30 วัน ผักกาดเขียวปลีจะเริ่มแทงช่อดอกโดยไม่ผ่านการเข้าปลี (ภาพที่ 10) ถ่ายยีนตัวผู้เป็นหมันให้แก่สายพันธุ์แท้โดยนำไปผสมกับต้นที่มีลักษณะเป็นหมัน (4-4) โดยอาศัยมือผสมเกสร ผูกช่อดอกที่ผสมและคลุมช่อดอกไว้จนกระทั่งติดเมล็ด รอนจนกระทั่งฝักแก่เต็มที่ เก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์

ศึกษาเมล็ดพันธุ์ถูกผสมที่ได้ โดยการนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณหาผลผลิตต่อต้น และนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้ไปปลูก เพื่อศึกษาลักษณะของดอกของเมล็ดพันธุ์ถูกผสมที่ได้



ภาพที่ 10 วงชีวิตของผักกาดเขียวปลีที่เลี้ยงภายใต้สภาพควบคุม



ภาพที่ 11 ลักษณะดอกของผักกาดเขียวปลี



ภาพที่ 12 การผสมเกสรผักกาดเขียวปลีที่มีเกสรตัวผู้เป็นหมัน โดยใช้มือ

## 2.2 ศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลี โดยอาศัยยีนตัวผู้เป็นหมัน

นำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีพันธุ์แท้คือ 40R<sub>2</sub>-3-4 และสายพันธุ์ที่ผ่านการถ่ายทอคอนตัวผู้เป็นหมัน โดยการผสมกลับ (BC<sub>1</sub>) สายพันธุ์ 4-4x2M7R-2-1 ไปเพาะใน petri dish 1 วัน แล้วนำไปไว้ในที่มีดักที่มี อุณหภูมิ 5 °C 15 วัน จากพื้นที่ย้ายปลูกลงในแปลงขนาด 2.5x3 เมตร ให้ระยะห่าง 50x50 ซม. โดยปลูกพันธุ์ พ่อคือ 40R<sub>2</sub>-3-4 ที่มีดอกปกติ สลับด้วยพันธุ์ 4-4x2M7R-2-1 ที่มีดอกเป็นหมัน(ภาพที่ 11) ใน 1 แปลงปลูก พันธุ์ 40R<sub>2</sub>-3-4 จำนวน 3 แถว และพันธุ์ 4-4x2M7R-2-1 จำนวน 2 แถว คลุมด้วยมุ้งซาข่าย โดยปลูกทั้งหมด 6 แปลงโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มี 3 กรรมวิธี ประกอบด้วย การปล่อยให้ผสมเกสรตามธรรมชาติ ผสมเกสรด้วยมือ(ภาพที่ 12) และอาศัยผึ้งเป็นตัวช่วยผสมเกสร มี 10 ซ้ำ ในขณะที่ดอกเริ่มบานคลุมช่อดอก และทำเครื่องหมาย จากนั้นผสมเกสรโดยวิธีการต่าง ๆ หลังจากผสมเกสรแล้วเด็ดช่อดอกที่เหลือด้านบนทิ้ง แล้วคลุมช่อดอกไว้จนเกิดการพัฒนาของฝัก เก็บเกี่ยวเมื่อฝักแก่เต็มที่ แล้วนำฝักที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีมาชั่งน้ำหนัก นับจำนวนเมล็ดที่ได้ในแต่ละฝัก ชั่งน้ำหนักเมล็ดที่ได้ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

### 2.3 การผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีลูกผสมโดยอาศัยผึ้ง

นำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีพันธุ์ที่ผ่านการจำเพาะคั่นตัวผู้เป็นหมันโดยการผสมกลับ 4 ครั้ง (BC<sub>4</sub>) ได้แก่ 4-4x19-H-12, 4-4x2R<sub>1</sub>, 4-4x2H13, 4-4x67, 4-4x64-4-2, 4-4x2M7R-2-1, 4-4x25-4-6, 4-4x2-4-1, 4-4x19-H-1 ไปเพาะใน petri dish ที่งั้วที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน จากนั้นย้ายไปไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นนำมาย้ายปลูกลงในถุงเพาะกล้าขนาด 3x5 เซนติเมตร คุณลักษณะปรากฏจนกระทั่งต้นกล้าอายุได้ 30 วัน คัดเลือกเอาเฉพาะต้นที่แข็งแรงไปปลูกลงในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม (ภาพที่ 13) โดยปลูกลงในแปลงขนาด 3x5 เมตร (คู่มือการปลูกภาคผนวก ข) คลุมด้วยมุ้งดำข้างสี่ด้านจนกระทั่งดอก เริ่มบาน เริ่มผสมเกสร โดยการนำรังผึ้งที่ใช้ในการผสมเกสรย้ายเข้าไปไว้ในมุ้ง หลังจากนั้น 10 วัน นำรังผึ้งออกทิ้งไว้ให้ผึ้งเจริญ จนกระทั่งผึ้งแก่เต็มที่ทำกรเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ ซึ่งนำหมักเมล็ดพันธุ์ที่ได้ และนำเมล็ดที่ได้ ไปปลูกเพื่อทำการประเมินพันธุ์ต่อไป



ภาพที่ 13 แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลี



## 2.4 การประเมินพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลี

นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ผลิตได้ คือ (4-4x19-H-1)x67, (4-4x64-4)x67, (4-4x2R<sub>2</sub>-2)x67, (4-4 x2I13)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x2-4-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x19-H-12)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x19-H-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4 x2M7R-2-1)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x67)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x2R<sub>2</sub>)x40R<sub>2</sub>-3-4, (4-4x25-4-6)x40R<sub>2</sub>-3-4 ไปปลูกเพื่อทำการประเมินพันธุ์กับพันธุ์การค้า พันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCB)

เริ่มเพาะกล้าในกระบะพลาสติก โดยเฉพาะกระบะละ 1 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 100 ต้น หลังจากนั้น 30 วัน คัดเอาเฉพาะต้นที่ดีมีความสม่ำเสมอ ย้ายปลูกลงในแปลงขนาด 2x2 เมตร โดยใช้ระยะห่าง 50x50 เซนติเมตร ในขั้นตอนของการเตรียมดิน ใช้ปุ๋ยคอกอัตรา 1000 กิโลกรัม/ไร่ ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ และปุ๋ยราดาน 3 จี 3 กิโลกรัม/ไร่ หลังจากย้ายปลูกได้ 15 วันให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และ 46-0-0 อัตราส่วน 1 : 1 50 กิโลกรัม/ไร่ โดยโรยโคนต้น พร้อมกับการพรวนดินและการกำจัดวัชพืชในช่วงแรกให้น้ำโดยใช้สปริงเกอร์ และบัวรดน้ำ พอผักกาดเขียวปลีตั้งตัวได้ก็ให้น้ำแบบปล่อยตามร่อง มีการพ่นยาป้องกันโรคและแมลงตามปกติ (ภาพที่ 14)

หลังจากย้ายปลูกได้ 45 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิต บันทึกข้อมูล โดยชั่งน้ำหนักของหัวก่อนและหลังการตัดแต่ง โดยวัดความกว้างและความยาวของหัวและลำต้น การห่อหัวและการเกิดโรคเน่า นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ รวมทั้งคำนวณหาค่า heterosis ของลูกผสมโดยเปรียบเทียบจากค่า  $\bar{F}_1$ - mean กับค่าของพ่อหรือแม่ที่สูงกว่า (Higher parent) (คำเนิน ,2541)

ซึ่งค่าเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นเนื่องจาก heterosis =  $\frac{\bar{F}_1 - HP}{HP} \times 100\%$



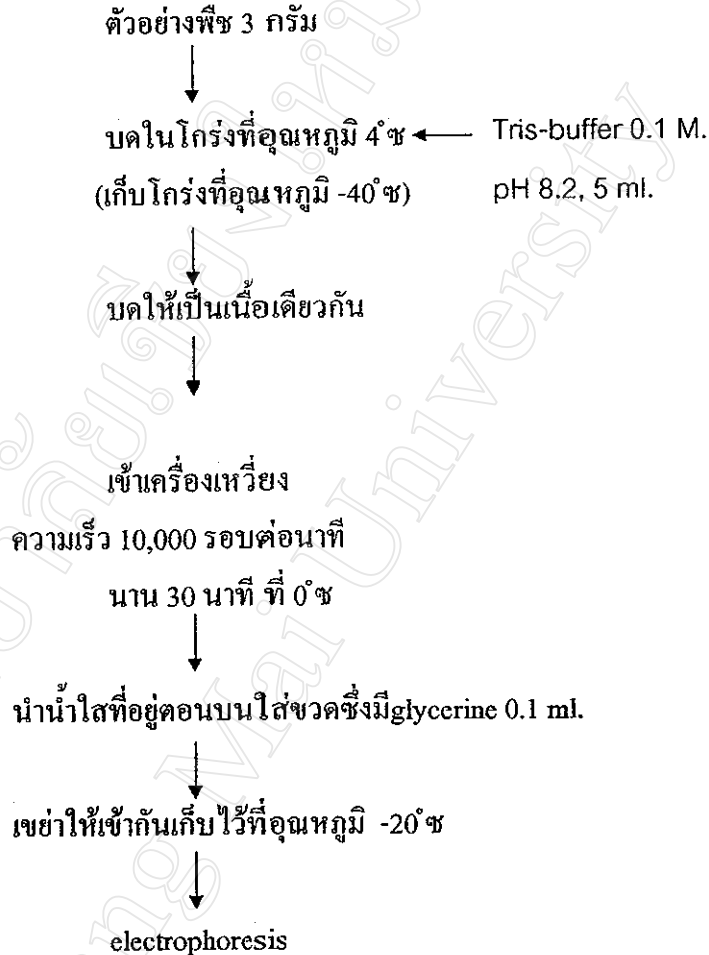
ภาพที่ 14 แปลงทดสอบพันธุ์ผักกาดเขียวปลี

## 2.5 การจำแนกความแตกต่างของลูกผสมโดยโพลีครีมาซิมิลาร์ อีเล็กโทรโฟรีซิส

### การเตรียมตัวอย่างพืช

นำใบผักกาดเขียวปลีที่มีอายุ 15 วันที่จะใช้ทดสอบมาตัดเส้นใบออกเลือกเอาเฉพาะใบที่สะอาด  
ไม่เป็นโรคมาหั่นแล้วเก็บเข้าสู่แช่แข็ง -40 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วนำไปสกัดหาเอ็นไซม์

การสกัดเอ็นไซม์โดยตรง (Crude enzyme extraction) (Ozeki, 1983)



การเตรียม running gel หรือ separating gel 8.5%

ประกอบชุดแผ่นแก้วทำ slab gel ปรับความหนาของ gel ให้ได้ 1 มม. โดยใช้ spacers พร้อมสารละลาย stock solution ตามส่วนผสมของการเตรียมเจล (ในภาคผนวก ค) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ magnetic stirrer จากนั้นทำเจลที่เตรียมไว้ ใส่ลงไปในชุดแผ่นแก้ว ให้สูงประมาณ 12 เซนติเมตร ปรับผิวหน้าของเจลให้เรียบโดยใช้น้ำกลั่น ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อรอให้เจลเกิด polymerization แล้วใส่ stacking gel พร้อมกับ comb ทิ้งไว้อีก 1 ชั่วโมง เพื่อรอให้เจลเกิด polymerization อีกครั้งจึงนำ comb ออก แล้วล้างผิวหน้าเจลด้วยน้ำกลั่น

### การแยกเอ็นไซม์

ต่อชุดอิเล็กโทรโฟรีซิสให้ครบวงจร (ภาพที่ 15) แล้วเติม electrode buffer ลงใน chamber จากนั้นหยอด ตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงในช่อง โดยใช้เข็ม loading (50 ml) หยอดตัวอย่างผ่าน buffer ลงในช่อง เจล หยอด bromophenol blue ประมาณ 20 ml. ต่อช่องเพื่อใช้เป็นเครื่องหมาย อย่าให้ฟุ้งกระจายต่อวงจรชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยต่อขั้วบวกเข้ากับ chamber ด้าน และขั้วลบเข้ากับ chamber บน ผ่านกระแสไฟฟ้าโดยควบคุมความต่างศักย์ไว้ที่ 200-250 โวลต์ และใช้กระแส 60 มิลลิแอมแปร์ ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4°C ทั้งไว้จนกระทั่งเห็นสีของ marker เคลื่อนลงมาอยู่ห่างจากส่วนล่างของแผ่นเจลประมาณ 1 นิ้ว หยุดกระแสไฟฟ้า แล้วนำเจลออกจากชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส นำไปย้อมสีเอ็นไซม์ต่อไป

### การย้อมสีเอ็นไซม์

นำแผ่นเจลที่ได้ไปย้อมสีด้วยน้ำยาสำหรับย้อมเอ็นไซม์แต่ละชนิด (ดูการเตรียมในภาคผนวก) เพื่อย้อมไอโซไซม์ esterase และ peroxidase นำไปไว้ในที่มีคณาน 15-60 นาที นำเจลมาล้าง ก็จะปรากฏแถบสี

### บันทึกข้อมูล

บันทึกการแสดงออกของ ไอโซไซม์แต่ละชนิดของผักกาดเขียวปลีที่ได้ เป็นภาพถ่ายของแถบสี และวาด zymogram ของไอโซไซม์ดังกล่าว แสดงตำแหน่ง จำนวน และขนาดของแถบสีวัดค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบสีตามสมการดังต่อไปนี้ (อาภัสสรา, 2537)

$$\text{ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (rF)} = \frac{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของแถบสี}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของ marker}}$$



ภาพที่ 15 เครื่อง electrophoresis แบบ slab gel

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University