



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ก. การตรวจนับจำนวนโครโมโซม

1. การเตรียมน้ำยาหยุดวงชีพเซลล์ (pre-treatment)

1.1 para-dichlorobenzene 5 กรัม

1.2 น้ำ 1,000 มิลลิลิตร

นำสารในข้อ 1.1 และ 1.2 ผสมกัน คนให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย magnetic stirrer ที่ 60 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (fixative)

absolute ethanol 3 ส่วน

glacial acetic acid 1 ส่วน

3. การเตรียมน้ำยาล่อยแยกเซลล์ (hydrolysis)

hydrochloric acid 1 N

4. การเตรียมสีย้อม

4.1 สี carbol fuchsin (stock D)

stock A: basic fuchsin 3 กรัม

70% ethanol 100 มิลลิลิตร

stock B: stock A 10 มิลลิลิตร

5% phenol 90 มิลลิลิตร

stock C: stock B 55 มิลลิลิตร

glacial acetic acid 6 มิลลิลิตร

37% formaldehyde 6 มิลลิลิตร

stock D: stock C 5 มิลลิลิตร

45% acetic acid 95 มิลลิลิตร

sorbitol 1.8 กรัม

### ข. การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

#### 1. การเตรียม extraction buffer

Tris-HCl 0.05 M pH 8.4	100.00 มิลลิลิตร
NaCl 150 mM	1.7532 กรัม
cysteine 10 mM	0.1212 กรัม
ascorbic acid 1 mM	0.0352 กรัม
CaCl <sub>2</sub> 1 mM	0.0294 กรัม
Na <sub>2</sub> -EDTA 1 mM	0.7444 กรัม
nicotine 2%	2.00 มิลลิลิตร

#### 2. การเตรียม Tris-HCl buffer 0.05 M pH 8.4

Tris	1.1057 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้ 8.4 ด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl	

#### 3. การเตรียม electrode buffer

Tris	6 กรัม
glycine	28.8 กรัม
Tris buffer pH 6.7	10 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลาย โดยการละลาย Tris 6.0 กรัม และ glycine 28.8 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.3 ด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อจะใช้ให้นำมา 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร จะได้ pH 8.3 โดยไม่จำเป็นต้องปรับ pH

#### 4. การเตรียม marker dye solution

bromophenol blue	0.05 กรัม
glycerol	1.00 มิลลิลิตร

## 5. การเตรียมเจล

stock A: polyacrylamide gel 30 เปอร์เซ็นต์

acrylamide 28.00 กรัม

N,N-methylene bisacrylamide gel 0.74 กรัม

ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองและเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส

stock B: Tris-HCl buffer pH 8.9

HCl 1N 48.00 มิลลิลิตร

Tris 36.60 กรัม

ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองและเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส

stock C: 10% ammonium persulfate

ammonium persulfate 0.1 กรัม

น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร

อัตราส่วนในการเตรียมเจล

stock solution	separating gel	
	8.5%	10%
A (มิลลิลิตร)	28.305	33.3
B (มิลลิลิตร)	25	25
C (ไมโครลิตร)	500	500
น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	45.2	40.2
TEMED (ไมโครลิตร)	50	50

## 6. การเตรียม phosphate buffer 0.1 M pH 6.0

stock A: 0.1 M solution of monobasic sodium phosphate (1.39 g. in 100 ml)

0.1 M solution of dibasic sodium phosphate (5.365 g. of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  or 7.17

g. of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  in 100 ml.)

นำ stock A มา 87.7 มิลลิลิตร ผสมกับ stock B 12.3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นพร้อมกับปรับ pH ให้ได้ 6.0 ด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl ที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

7. การเตรียม acetate buffer 0.5 M pH 4.8

stock A: 0.5 M solution of acetic acid (2.887 ml. in 100 ml)

0.5 M solution of sodium acetate (4.1 g. of  $C_2H_3O_2Na$  or 6.8 g. of  $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$  in 100 ml.)

นำ stock A มา 20.0 มิลลิลิตร ผสมกับ stock B 30.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นพร้อมกับปรับ pH ให้ได้ 4.8 ด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl ที่ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

8. Tris-HCl 0.1 M pH 7.5

1. Tris 1.2114 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2. HCl 0.84 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

นำสารในข้อ 1 มา แล้วค่อยๆเติมสารในข้อ 2 จน pH 7.5 เก็บสารละลายในขวดสีชาที่อุณหภูมิตู้เย็น

9. การเตรียมลิซอสมอนไซม์

9.1 peroxidase

stock A: 3 amino-9 ethylcarbazole 420 มิลลิกรัม

$\beta$ -naphthol 290 มิลลิกรัม

acetone 200 มิลลิลิตร

ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิตู้เย็น

stock B: Tris buffer 0.1 M pH 4.0

Tris-hydroxymethyl aminomethane 3.78 กรัม

acetic acid 4.05 มิลลิลิตร

ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับ pH ให้ได้ 4.0 ด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl ที่ปริมาตร 2.5 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิตู้เย็น

stock C:  $H_2O_2$  3 เปอร์เซนต์

เตรียมจาก  $H_2O_2$  30 เปอร์เซนต์ 10.0 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

ใช้อัตราส่วน stock A: stock B: stock C = 20:80:1 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

### 9.2 esterase

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1. phosphate buffer 0.1 M pH 6.0                      | 100.0 มิลลิลิตร |
| 2. fast blue -B salt                                  | 100.0 มิลลิกรัม |
| 3. 1% $\alpha$ - naphthyl acetate in absolute alcohol | 3.0 มิลลิลิตร   |

นำสารในข้อ 1 และ 2 ละลายให้เข้ากันดี แล้วกรองในที่มืด ก่อนย้อมสีเติมข้อ 3 ลงไป

### 9.3 malate dehydrogenase

- |                                     |                 |
|-------------------------------------|-----------------|
| 1. Tris-HCl 0.1 M pH 7.5            | 100.0 มิลลิลิตร |
| 2. L-malic acid                     | 200.0 มิลลิกรัม |
| 3. NAD 10% 0.04 g. ละลายในน้ำกลั่น  | 400 ไมโครลิตร   |
| 4. NBT 10% 0.02 g. ละลายในแอลกอฮอล์ | 200 ไมโครลิตร   |
| 5. PMS 10% 0.004 g. ละลายในน้ำกลั่น | 40 ไมโครลิตร    |

นำสารในข้อ 1 และข้อ 2 ละลายให้เข้ากันดี แล้วนำสารในข้อ 3, 4 และ 5 ผสมลงไป

### 9.4 acid phosphatase

- |                                       |                 |
|---------------------------------------|-----------------|
| 1. acetate buffer 0.5 M pH 4.8        | 100.0 มิลลิลิตร |
| 2. fast blue-B salt                   | 100.0 มิลลิกรัม |
| 3. $\alpha$ - naphthyl acid phosphate | 100.0 มิลลิกรัม |
| 4. $MgCl_2$ 10%                       | 10 หยด          |

นำสารในข้อ 1, 2 และ 3 ละลายให้เข้ากันแล้วกรองในที่มืด แล้วเติมสารละลายในข้อ 4

### 9.5 น้ำยาเก็บรักษานเกลและล้างสีส่วนเกิน

glacial acetic acid 7 มิลลิลิตร

glycerol 10 มิลลิลิตร

นำสารทั้งสองชนิดรวมกัน แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความกว้างของใบประกอบ (ตารางที่ 3)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	1345.5247	70.8171	11.0614	0.0000
Within Groups	80	512.1726	6.4022		
Total	99	1857.6974			

CV = 10.3418 %

LSD<sub>0.05</sub> = 3.1685

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของใบประกอบ (ตารางที่ 3)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	2656.5239	139.8170	18.1497	0.0000
Within Groups	80	616.2850	7.7036		
Total	99	3272.8089			

CV = 9.0031 %

LSD<sub>0.05</sub> = 3.4756

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความกว้างของใบย่อย (ตารางที่ 3)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	48.9899	2.5784	7.2696	0.0000
Within Groups	80	28.3748	0.3547		
Total	99	77.3647			

CV = 13.1095 %

LSD<sub>0.05</sub> = 0.7457

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของใบย่อย (ตารางที่ 3)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	547.896	28.8310	18.9557	0.0000
Within Groups	80	121.6776	1.5210		
Total	99	669.4672			

CV = 8.3050 %

LSD<sub>0.05</sub> = 1.5443

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความกว้างของผล (ตารางที่ 4)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	1.9764	0.1040	0.0297	0.0000
Within Groups	80	0.9226	0.0115		
Total	99	2.8980			

CV = 3.6684 %

LSD<sub>0.05</sub> = 0.1232

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงของผล (ตารางที่ 4)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	1.8818	0.0990	10.3594	0.0000
Within Groups	80	0.7649	0.0096		
Total	99	2.6467			

CV = 3.6922 %

LSD<sub>0.05</sub> = 0.1155

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักของผล (ตารางที่ 4)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	217.6499	11.4553	13.1194	0.0000
Within Groups	80	69.8524	0.8732		
Total	99	287.5024			

CV = 7.4791 %

LSD<sub>0.05</sub> = 1.1701

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความหนาเนื้อ (ตารางที่ 4)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	0.7236	0.0381	8.3585	0.0000
Within Groups	80	0.3645	0.0046		
Total	99	1.0881			

CV = 13.3232 %

LSD<sub>0.05</sub> = 8.4738



ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ตารางที่ 4)

Source	D.F.	SS	MS	F	P
Between Groups	19	235.5674	12.3983	19.3300	0.0000
Within Groups	80	51.3015	0.6413		
Total	99	286.8689			

CV = 3.9420 %

LSD<sub>0.05</sub> = 1.0028

ตารางภาคผนวก 10 ข้อมูลอุณหภูมิอากาศในระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนตุลาคม 2546 ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

เดือน	อุณหภูมิอากาศ ( ° ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
มีนาคม	34.9	18.9	25.8
เมษายน	37.3	22.5	28.8
พฤษภาคม	35.6	23.5	28.7
มิถุนายน	32.9	23.2	27.4
กรกฎาคม	33.5	23.9	28.0
สิงหาคม	32.4	23.5	27.3
กันยายน	33.2	23.2	27.5

ที่มา : สถานีวิจัยการเกษตร เขตชลประทาน ภาควิชาปฐพีและอนุรักษศาสตร์

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล	นางสาวสลิลรัตน์ วิชัยพานิช	
ที่อยู่ติดต่อได้	146 หมู่ 4 ต.ท่าก้อ อ.แม่สรวย จ. เชียงราย 57180 (0-1883-9353)	
วัน เดือน ปีเกิด	9 ธันวาคม พ.ศ. 2521	
ประวัติการศึกษา	วุฒิ	ปีที่จบการศึกษา
	สถานศึกษา	
มัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนคาราวินาลัย	พ.ศ. 2536
มัธยมศึกษาตอนปลาย	โรงเรียนคาราวินาลัย	พ.ศ. 2539
วท.บ. (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่	พ.ศ. 2543

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved