ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวกที่ 1 อุณหภูมิเฉลี่ย เดือน ม.ค. – ธ.ค. ปี พ.ศ 2543 ณ สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์

เดือน	อุณหภูมิ °C		
	min	max	mean
ม.ค.	12.2	25.0	17.7
ก.พ.	14.3	26.1	19.3
มี.ค.	16.0	29.0	21.6
เม.ย.	18.0	28.6	22.5
พ.ค.	18.1	25.8	21.4
มิ.ย.	18.6	25.6	21.6
ก.ค.	18.4	25.3	21.4
ส.ค.	18.7	32.1	24.5
ก.ย.	22.7	25.5	23.9
ต.ค.	17.0	25.2	20.5
พ.ย.	12.7	24.5	18.6
ธ.ค.	12.8	25.8	19.3

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาอิเล็กโทรโฟรีซีส

1. การเตรียม stock และสารละลาย

1.1 Electrode buffer

Solution A Tris buffer **pH** 8.3 (10x)

Tris	6.0	กรัม
Glycine	28.8	กรัม
H_2O ปรับปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 8.3 โดยใช้ NaOH หรือ HCL

หมายเหตุ : Trizma base หรือ T ris-(hydroxymethyl) amenomethane

1.2 Gel buffer

Solution B : Tris-chloride buffer pH 8.9

HCL 1 N	48.00	มิลลิลิตร
Tris	36.60	กรัม
TEMED	0.23	มิลลิลิตร
H_2O ปรับปริมาตร	100	มิลลิลิตร

กรองแล้วเก็บในที่มืด

Solution C : Tris-chloride buffer pH 6.7

HCL 1 N	48.00	มิลลิลิตร
Tris	5.98	กรัม
TEMED	0.46	มิลลิลิตร
H_2O ปรับปริมาตร	100	มิลลิลิตร

กรองแล้วเก็บในที่มืด

หมายเหตุ : TEMET คือ N,N,N,N,-tetemethyl ethylendiamine

Soltion D : Acrylamide stock

Acrylamide	28.00	กรัม
N,N-methlyene bisacrylamine	0.74	กรัม
H_2O ปรับปริมาตร	100	มิลลิลิตร

กรองแล้วเก็บในที่มืด

น้ำยา $(NH_4)_2S_2O_8$ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

1.3 Marker dye solution

Bromophenol blue	0.05	กรัม
Solution C	10	มิลลิลิตร
Glyceral	11.00	มิลลิลิตร

หมายเหตุ : เวลาผสมใช้เพียง 10%

2. วิธีเตรียมเจลเข้มข้น 8.5%

2.1 Runing gel

Solution B	1.87	มิลลิลิตร
Solution D	4.55	มิลลิลิตร
Solution $(NH_4)_2S_2O_8$	80	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	8.57	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันเทใส่ลงในแผ่นแก้วที่ประกบรอไว้แล้วตามด้วยน้ำกลั่น รอให้ polymerize 60 นาที

2.2 Stacking gel

Solution C	0.42	มิลลิลิตร
Solution D	1.35	มิลลิลิตร
Solution $(NH_4)_2S_2O_8$	18	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	2.53	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงด้านบนของ Runing gel แล้วเสียบหวีลงไป รอให้ polymerize 60 นาที

3. การเตรียมสารละลายเพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์

3.1 Esterase

Phosphate buffer(0.1 M pH 6.0)	100	มิลลิลิตร
Fast blue B salt	0.15	กรัม

กรองในที่มืด

α - naphthyl acetate 3 ml (dilute 0.1 gใน Absolute alcohol 10 ml ดึงออกมาใช้ 3 ml จาก 100 ml)

3.2 Peroxidase

Stock A : 3-amino-9-ethylcarbazole	0.42	กรัม
α -naphthol	0.29	กรัม
Acetone	200	มิลลิลิตร

กรองในที่มืดและเย็น

Stock C : Hydrogenperoxide	3	เปอร์เซ็นต์
H_2O_2	10	มิลลิลิตร
H_2O_2 adjust	100	มิลลิลิตร
เตรียมใหม่ทุกครั้ง		

หมายเหตุ : ใช้ในอัตราส่วนระหว่าง stock A : stock B : stock C : = 20 : 80 : 1

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาคผนวก ค

1. สูตรอาหารแข็งเลี้ยงละอองเกสร

เตรียมอาหารแข็งปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ต่างกันดังนี้

5 % sucrose + H_3BO_3 300 ppm + $Ca(NO_3)_2$ 300 ppm + 2 % Agar

10 % sucrose + H_3BO_3 300 ppm + $Ca(NO_3)_2$ 300 ppm + 2 % Agar

15 % sucrose + H_3BO_3 300 ppm + $Ca(NO_3)_2$ 300 ppm + 2 % Agar

20 % sucrose + H_3BO_3 300 ppm + $Ca(NO_3)_2$ 300 ppm + 2 % Agar

วิธีเตรียม

1. H_3BO_3	0.003	กรัม
2. $Ca(NO_3)_2$	0.003	กรัม
3. น้ำ	100	มิลลิลิตร
4. น้ำตาลซูโครส	5, 10, 15	กรัม
5. ผงวุ้น	2	กรัม

2. การเตรียมน้ำยาหยุดวงชีพเซลล์ (pre-treatment)

p- dichlorobenzene	10	กรัม
น้ำ	500	มิลลิลิตร

ผสม p- dichlorobenzene และน้ำ ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำมาคนให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย magnetic stirrer ที่ 60 °ซ

3. การเตรียมน้ำยารักษาสภาพเซลล์

absolute ethanol	3	ส่วน
glacial acetic acid	1	ส่วน

4. การเตรียมน้ำยาแยกเซลล์

hydrochloric acid	1 N

5. การเตรียมสีย้อม

lacto-propionic orcin	2	กรัม
lactic acid	50	มิลลิลิตร
propionic acid	50	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 คืน นำมากรองเวลาใช้ผสมกับน้ำในอัตราส่วน น้ำ : สีย้อม 55 – 40 : 45 – 60 แล้วนำมากรองอีกครั้งหนึ่ง

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล นางสาวไพลิน กันทา

วัน เดือน ปีเกิด 24 มีนาคม 2513

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ 300 / 425 – 427 ถนนเชียงใหม่ – หางดง ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50120 โทรศัพท์ 053-804726

ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่จบการศึกษา
ปวส.	วิทยาลัยเกษตรกรรมเชียงใหม่	2532
ทษ.บ	สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้	2535

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University