



รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กันษา สันตะโชติ. 2524. การศึกษาเรณูของพันธุ์ไม้วงศ์ Bignoniaceae ของไทย.  
วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กันยารัตน์ ไชยสศ. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และอนุกรมวิธานของพืชสกุล  
Zephyranthes. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- โกสุม พีระมาณ. 2528. เรณูวิทยา(palynology). ภาควิชาพฤกษศาสตร์  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เจษฎา เหลืองแจ่ม. 2519. การศึกษาละอองเกสรของไม้ในเขตร้อน ปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาวนวัฒนวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชวนพิศ อรุณรังสิกุล. 2531. การเตรียมต้นกล้าพืชเพื่อการตรวจสอบเอนไซม์(เอกสาร  
ประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ 8-12 กรกฎาคม 2531). เทคนิคทางอิเล็ก  
โตรโฟรีซิส ในการจำแนกพันธุ์พืช(Electrophoresis Techniques for  
plant identification), ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.
- คำรงค์ สิ้นไชย. 2531. แดงโมไม้มีเมล็ด. ว.สงขลานครินทร์ 10 : 289-296.
- เต็ม สมิตินันท์. 2530. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง.  
กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ : พืชน้ำดับลิขซึ่ง.
- นิวัต กลิ่นงาม, เชาว์ พันธุ์น้อย, นราวัลย์ กลิ่นธมมานะวาท และ วันทนา กลิ่นงาม.  
2528. ผลกระทบของการพัฒนาสตรีต่อการวางแผนครอบครัวและภาวะเจริญพันธุ์.  
ใน สัญชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์(บรรณาธิการ), ประชากรและโครงการพัฒนาใน  
ประเทศไทย, หน้า 262-287. กรุงเทพฯ: หจก.ภาพพิมพ์.
- บุษกร อารชางกูร. 2529. การศึกษาสายสัมพันธ์ของบัวจีนดอกชมพูเล็ก(Zephyranthes  
rosea Lindl.) และบัวจีนดอกชมพูใหญ่(Zephyranthes grandiflora Lindl.).  
วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- มนตรี พิริยะกุล. 2529. การวิเคราะห์ทางสถิติของตัวแปรพหุ 2 (Multivariate Statistical Analysis 2). กรุงเทพฯ : กิ่งจันทร์การพิมพ์.
- วิสุทธิ ใบไม้. 2530. การศึกษาพันธุศาสตร์ของประชากรธรรมชาติของงูกันปล่อง. วิทยาศาสตร์ 41: 151-159.
- สุจิตรา จางตระกูล, ประวิทย์ จิตต์จำนงค์, พิศาล วสุณิชและ บุญชู บุษทวี. 2530. หลักการและเทคนิคพื้นฐานในการศึกษา isozyme analysis กับไม้ป่า. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.
- สุปรียา ควระเดชะคุปต์, สุพิน ประจวบเหมาะ และชงสุทธ แฉล้มวงศ์. 2528. ปัจจัยทางเศรษฐกิจ และสังคมที่มีผลต่อความปรารถนาที่จะย้ายถิ่นของชาวชนบทในเขตพื้นที่ตากจนในจังหวัดร้อยเอ็ด. ใน สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ (บรรณาธิการ), ประชากรและโครงการพัฒนาในประเทศไทย, หน้า 262-287. กรุงเทพฯ: หจก. ภาพพิมพ์.
- สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ และลัดดาวัลย์ รอดมณี. 2528. เทคนิคการวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัวสำหรับการวิจัยทางสังคมศาสตร์ (Multivariate Analysis Technique for Social Science Research). กรุงเทพฯ : หจก. ภาพพิมพ์.
- สมิต บุญเสริมสุข. 2530. การศึกษาเรณูของพรณไม้วงศ์ Rhizophoraceae ของไทย วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อดิรัฐ ปิยะมบุตร. 2530. ความแตกต่างของรูปแบบเอนไซม์ใน Opisthorchis viverrini. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อุบลนีย์ นุ้หัง, รุ่งภา นุ้หังและโชติแสง ใต้ชัยภูมิ. 2528. ปัจจัยที่มีผลกระทบต่ออาการตาของเด็กทารกในจังหวัดชัยภูมิ. ใน สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ (บรรณาธิการ), ประชากรและโครงการพัฒนาในประเทศไทย, หน้า 380-401, กรุงเทพฯ : หจก. ภาพพิมพ์.
- อภิสิทธิ์ เอี่ยมหน่อ. 2526. ธรณีวิทยา. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

## ภาษาอังกฤษ

- Abdulrahman, Farag, S., and Winstead, Joe, E. 1977. Chlorophyll levels and leaf ultrastructure as ecotype characters in Xanthium strumarium L. Amer. J. Bot. 64: 1177-1181.
- Anderson, H.J. 1982. Isozyme characters of 47 barley cultivars and their application in cultivar identification. Seed Sci. Technol. 10: 405-413.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiol. 24: 1-15.
- Banks, P. 1984. A new diploid Chromosome number for tomato (Lycopersicon esculentum). Can. J. Genet. Cytol. 26: 636-639.
- Baum, R.B. 1980. Multivariate Morphometric Relationships Between Hordeum jubatum and Hordeum brachyantherum in Colorado and Alaska. Can. J. Bot. 58: 604-623.
- Baum, R.B. and Bailey, L. Grant. 1988. A taxonomic investigation of Hordeum arizonicum (Poaceae; Triticeae) with reference to related species. Can. J. Bot. 66: 1848-1855.
- Black, C.C., Jr., and Mayne, B.C. 1970.  $P_{700}$  activity and chlorophyll content of plants with different photosynthetic carbon dioxide fixation cycles. Plant Physiol. 45: 738-741.
- Briggs, D., and Walters, S.M. 1984. Plant variation and evolution. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Cambridge University Press.
- Brougham, R.W. 1960. The relationship between critical leaf area total chlorophyll content, and maximum growth rate of zone pasteur and crop plants. Annals of Botany 24: 463-474.
- Bruinsma, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. Photochem. Photobiol. 2: 241-249.

- Burt, D., and Chermisrivathana, C. 1971. A second species of Afgekia (Leguminosae) B.L. & C. Chermisrivathana. The Royal Botanic Garden Edinburgh. 31: 131-134.
- Brougham, R.W. 1960. The relationship between critical leaf area total chlorophyll content, and maximum growth rate of zone pasteur and crop plants. Annals of Botany 24: 463-474.
- Bruinsma, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. Photochem. Photobiol. 2: 241-249.
- Castrillo, Marisol. 1983. Chlorophyll content in altitudinal population of Espeletia schultizii. Photosynthetica. 17: 256-258.
- Chandra, N.P. Todaria. 1984. Leaf pigmentation in Berberis species from different altitude. Photosynthetica 18: 414-417.
- Corcuera, L.J., Hintz, M., and Pahlichm, C. 1989. Effect of polyethylene glycol on protein extraction and enzyme activities in potato cell cultures. Phytochemistry 28 : 1569-1571.
- Craib, W.G. 1925. Florae siamensis enumeratio. Bangkok: Bangkok Time Press.
- Crawford, D.J. 1983. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. In S.O. Tanksley and T.J. Orton (eds.) Isozymes in plant genetics and breeding, pp. 405-416. Amsterdam: Elsevier.
- . 1985. Electrophoretic data and plant speciation. Syst. Bot. 10: 405-416.
- Darlington, C.D., and La Cour, L.F. 1962. The Handling of Chromosome. London: George Allen & Unwin Ltd.
- Daubenmire, R.F. 1974. Plants and Environment. 3<sup>rd</sup> ed. New York: John Wiley & Son.

- DeHond, P. E., and Campbell, C. S. 1989. Multivariate analyses of hybridization between Betula cordifolia and B. populifolia (Betulaceae). Can. J. Bot. 67 : 2252-2260.
- De Robertis, E.D.P., and De Robertis, E.M.F. 1980. Cell and Molecular Biology. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia:Saunders College Publishing.
- Doebley, John F. 1984. Isozymatic evidence and the phylogeny of Zea mays L. (Graminae). In David Dilcher (eds.) Botanical Society of America, p. 145. Colorado: Colorado State University.
- Elliott, F.C. 1958. Plant breeding and cytogenetics. New York: Mc Graw-Hill.
- Elisens, Wayne J. 1986. Pollen morphology and systematic relationships among new world species in Tribe Antirrhineae (Scrophulariaceae). Amer. J. Bot. 73(9): 1298-1311.
- . 1989. Genetic variation and evolution of the Galapagos Shurb Snapdragon. National Geographic Research 5: 98-110.
- Erdtman, G. 1966. Angiosperm (An Introduction to Palynology I). 3<sup>rd</sup> ed. New York: Hafner Publishing.
- Gabrielsen, E.K. 1984. Effects of different chlorophyll concentrations on photosynthesis in foliage leaves. Physiologia Plantarum 1: 6-73.
- Good, R. 1974. The geoghaphy of flowering plant. London: Longmans, Green and Co.
- Gottlieb, L.D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. Prog. Phytochem. 7: 1-46
- . 1982. Conservation and Duplication of Isozymes in plants. Science 216: 373-380.

- Gottlieb, L.D. 1984. Genetics and morphological evolution in plants Amer. Naturalist 123: 618-709.
- Gwyn, J., Jefferson, and Stelly, David, M. 1989. Method to evaluate pollen viability of upland cotton: Test with chromosome translocations. Crop Science. 29: 1165-1169.
- Harborne, J.B. 1988. Introduction to Ecological Biochemistry. New York: Academic Press.
- Haufler, Christopher, H. Electrophoresis is modifying our concepts of evolution in homosporous pteridophytes. Amer. J. Bot. 74: 953-966.
- Hiesey, William M., and Milner, Harold, W. 1965. Physiology of ecological races and species. Ann. Rev. of Plant Physio. 16: 203-216.
- Hodson, M.J. et al. 1981. Cation cotolerance in a salt-tolerance clone of Agrostis stolonifera L. New Phytol. 90: 253-261.
- Hunt, Roderick. 1982. Plant Growth Curves. The Institute of Biology's Studies in Biology no.96. London: Edward Arnold.
- Koerner, C., Farguham, G.D., and Roksandic. 1988. A global survey of carbon isotope discrimination in plants from high altitude. Ecologia 74: 623-632.
- Kornerup, A., and Wanscher, J.H. 1978. Methuen Handbook of Colour. 3rd ed. London: Eyre Methuen Ltd.
- Love, A., and Love, D. 1974. Cytotaxonomical Atlas of the Slovenian Flora. Koenigstein: Cramer.
- Lowry, O.H., et al. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- Markert, C.L., and Moller, F. 1959. Multiple Forms of Enzymes: Tissue, Ontagenetic, and Species specific Patterns. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 45: 753-763.

- Mc Naughton, J.S. 1967. Photosynthesis system II : Racial differentiation in Typha latifolia. Science 156: 1363.
- Menadue, Yvonne, and Crowden, Ronald, K. 1988. Multivariate analysis of variation in Ranunculus decurvus (Hook.fil.)Melville and Ranunculus concinnus (Hook.fil.)Melville (Ranunculaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 98: 71-83.
- Merrell, D.J. 1981. Ecological Genetics. Minnesota: The University of Minnesota Press.
- Nagami, Shuzo. 1972. Ecological Genetic studies on the differentiation of Chrysanthemum species. Annual report of national institute of genetics 23: 58-59.
- Norton, J.D. 1966. Testing of plum pollen viability with tetrazolium salt. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89: 132-134.
- Quiros, C.F. 1980. Identification of alfalfa plants by enzyme electrophoresis. Crop. Sci. 20: 262-264.
- Rosenfeld, I., and Beath, O.A. 1964. Selenium, Geobotany, Biochemistry, Toxicity and Nutrition. New York: Academic Press.
- Scandalios, John, G. 1974. Isozymes in development and differentiation. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 225-258.
- Sheen, S.J. 1970. Peroxidase in the genus Nicotiana. Theor Appl. Genet. 40: 18-25.
- Smith, D.R., Lister, P.R., and Handson, P.R. 1986. Discrimination of barley varieties by electrophoresis of endosperm proteins extractable into a mixture of sodium dodecyl sulphate, 2-mercaptoethanol and dimethyl formamide. J. of Cereal Science 4: 107-116.
- Somboon JaRuPongsakul. 1990. Geomorphology of the Chao Phraya delta, Thailand. Ph.D. dissertation, Kyoto University.
- Strickberger. 1968. Genetics. New York: The Macmillan Company.

- Thaweesakdi Boonkerd. 1987. Eco-physiology of *Primula farinosa* Linn. and its related species. Ph.D. dissertation, University of Durham.
- Todaria, N.P., Thapliyal, A.P., and Purohit, A.N. 1980. Altitudinal effects on chlorophyll and carotenoid contents in plants. Photosynthetica 14: 236-238.
- Troughton, J.H. 1975. Photosynthetic mechanisms in higher plants. In J.P. Cooper (eds.), Photosynthesis and productivity in different environments, pp. 357-391. London: Cambridge University Press.
- Turesson, G. 1922. The genotypical response of the plant species to the habitat. Hereditas 3 : 211-350.
- Warwick, S.I., and Marriage P.B. 1982a. Geographic variation in populations of *Chenopodium album* resistant and susceptible to atrazine. I between - and within-population variation in growth and response to atrazine. Can. J. Bot. 60:483-493.
- Warwick, S.I., and Marriage P.B. 1982b. Geographic variation in populations of *Chenopodium album* resistant and susceptible to atrazine. II photoperiod and reciprocal transplant studies. Can. J. Bot. 60: 494-504.



## ภาคผนวก ก

การสร้างสมการถดถอยเชิงเส้น(Regression Equation) เพื่อใช้ในการทำนายพื้นที่ของใบ  
พืชสกุลถั่วแปบข้าง(Afgekia Craib) มีวิธีการดังนี้

1. สุ่มตัวอย่างใบของถั่วแปบข้างและกันภัย มาชนิดละ 100 ใบ
2. วัดความกว้าง ความยาวของใบแต่ละใบ พร้อมหาพื้นที่ใบโดยใช้เครื่องมือหาพื้นที่ใบ (Plainimeter)
3. นำข้อมูลในข้อ 2 ไปคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น โดยใช้คอมพิวเตอร์และโปรแกรมสำเร็จรูป LOTUS 123 จะได้สมการถดถอยเชิงเส้นของพืชแต่ละชนิด ดังนี้

## ข้อมูลของถั่วแปบข้าง

ใบที่	L (ความยาว)	W (ความกว้าง)	L*W	AREA(พื้นที่)
1	3.9	2.2	8.58	66
2	4.5	2.3	10.35	81
3	5.1	2.5	12.75	95
4	5.6	2.4	13.44	93
5	5.1	2.4	12.24	85
100	5.2	2.5	12.72	95

## ข้อมูลที่ได้จากการคำนวณ

## Regression Output:

Constant	-1.31583
Std Err of Y Est	4.61903
R Squared	0.90522
No. of Observation	100
Degree of Freedom	98

X Coefficients	7.50307
Std Err of Coef	0.24524

จากสูตรของสมการถดถอยเชิงเส้น  $Y = a + bx$

ดังนั้น สมการถดถอยเชิงเส้นของถั่วแปบข้าง  $Y = -1.31583 + 7.05307(L*W)$

### ข้อมูลของกันภัย

ใบที่	L (ความยาว)	W (ความกว้าง)	L*W	AREA (พื้นที่)
1	3.9	2.5	9.75	73
2	4.9	2.6	12.74	87
3	5.7	2.7	15.39	118
4	5.0	2.5	12.50	93
5	4.1	2.6	10.66	76
100	4.8	2.9	13.92	102

### ข้อมูลที่ได้จากการคำนวณ

#### Regression Output:

Constant	1.775976
Std Err of Y Est	7.216995
R Squared	0.943159
No. of Observation	100
Degree of Freedom	98
X Coefficients	7.17731
Std Err of Coef	0.17798

จากสูตรของสมการถดถอยเชิงเส้น  $Y = a + bx$

ดังนั้น สมการถดถอยเชิงเส้นของกันภัย  $Y = 1.775976 + 7.17731(L*W)$

## ภาคผนวก ข

1. ส่วนประกอบของ Extract buffer (pH 7.5) ที่ใช้ในการสกัด soluble protein จากใบถั่วแปบข้างและกันภัย

- 1 M Tris (Hydroxymethyl) methylonine	4 มล.
- 1 M Magnesium sulphate	1 มล.
- 0.0125 M EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid)	25 มล.
- น้ำกลั่น	70 มล.

2. ส่วนประกอบของ Copper sulphate reagent

- Copper sulphate 1 เปอร์เซ็นต์	0.5 มล.
- Sodium potassium tartrate 2 เปอร์เซ็นต์	0.5 มล.
- Sodium carbonate 2 เปอร์เซ็นต์	50 มล.

## ภาคผนวก ค

1. ส่วนประกอบของ Extact buffer (pH 7.5) ที่ใช้ในการสกัด soluble protein จากใบถั่วแปบข้างและกันภัย

- 1 M Tris (Hydroxymethyl) methylonine	4 มล.
- 1 M Magnesium sulphate	1 มล.
- 0.0125 M EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid)	25 มล.
- น้ำกลั่น	70 มล.

2. ส่วนประกอบของ Copper sulphate reagent

- Copper sulphate 1 เปอร์เซ็นต์	0.5 มล.
- Sodium potassium tartrate 2 เปอร์เซ็นต์	0.5 มล.
- Sodium carbonate 2 เปอร์เซ็นต์	50 มล.

## ภาคผนวก ง

## 1. การเตรียม Extract Enzyme Solution

Stock solution	G	H	I	J	H <sub>2</sub> O	Total(มล.)
สารละลายสูตร a	2.5	-	-	-	2.5	5.0
b	2.5	1.67	-	-	0.83	5.0
c	2.5	-	0.34	-	2.16	5.0
d	2.5	-	-	0.5	2.00	5.0
e	2.5	1.67	0.34	-	0.79	5.0
f	2.5	1.67	-	0.5	0.33	5.0
g	2.5	-	0.34	0.5	1.66	5.0
h	2.5	1.67	0.34	0.5	-	5.0

ส่วนประกอบของ stock solution ต่าง ๆ เป็นดังนี้

1. G solution (0.2 M Tris-HCl pH 7.5 (x2) ) ประกอบด้วย

- glycerol 50.4 มก.
- H<sub>2</sub>O 30 มล.
- Tris(preset pH 7.5 crystal) 3.016 มก.
- H<sub>2</sub>O to 100 มล.

## 2. H solution ( 3 เปอร์เซ็นต์ Tween 80 ) ประกอบด้วย

- Tween 80 3.15 ก.
- H<sub>2</sub>O to 100 มล.

## 3. I solution (100 mM DTT (x10) ) ประกอบด้วย

- DTT 463 มก.
- H<sub>2</sub>O to 50 มล.

## 4. J solution (45 mM EDTA-2 Na (x15) ) ประกอบด้วย

- EDTA-2 Na 838 มก.
- H<sub>2</sub>O to 50 มล.

หมายเหตุ

1. x2 หรือ x10 หมายถึงต้องทำให้สารละลายเจือจางลง 2 เท่า หรือ 10 เท่า ตามลำดับ
2. การเตรียมสูตรสารละลายสำหรับสกัดไอโซไซม์ของพืชแต่ละชนิด และแต่ละระยะของการเจริญเติบโต ตลอดจนไอโซไซม์แต่ละระบบ สูตรสารละลายจะไม่เหมือนกัน ต้องมีการทดลองดูก่อนว่าสูตรใดเหมาะสมกับพืชและไอโซไซม์ที่ต้องการศึกษา

2. การเตรียม stock solution สำหรับทำ polyacrylamide gel มีทั้งหมด 6 ชุด ดังนี้

1. Running gel (0.37 M Tris-HCl pH 8.9)

A ประกอบด้วย

1. Trizma	90.5	ก.
2. N HCl	120	มล.
3. TEMED*	0.6	มล.
4. H <sub>2</sub> O to	500	มล.

TEMED = N,N,N,N-Tetramethyl ethylene diamine

B ประกอบด้วย

1. Acrylamide	150	ก.
2. BIS*	4	ก.
3. H <sub>2</sub> O to	500	มล.

BIS = N,N- Methylene bis acrylamide

C ประกอบด้วย (เตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง)

1. Ammonium persulphate	70	มก.
2. H <sub>2</sub> O to	500	มล.

3. การเตรียม Reservoir Buffer (5 mM Tris glycine pH 8.3)

3.1 Conc. Reservoir Buffer ประกอบด้วย

1. glycine	28.8 ก.
2. Tris	6.0 ก.
3. H <sub>2</sub> O	1000 มล.

(Reservoir Buffer ที่ใช้ต้องทำให้เจือจางลง 10 เท่า โดยใช้ conc. Reservoir Buffer 100 มล. ผสมกับน้ำกลั่น 1000 มล.)

4. การเตรียม Bromo-Phenol-Blue-Tris-Glycine solution (Dye marker)

BPB-Tris-Glycine solution ประกอบด้วย

1. BPB	100	มก.
2. conc. R.B.	10	มล.
3. H <sub>2</sub> O	to	100 มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2. Spacer gel (0.062 M Tris-HCl pH 6.7)

## D ประกอบด้วย

1. Trizma Base	14.95	ก.
2. 1N HCL	120	มล.
3. TEMED	1.15	มล.
4. H <sub>2</sub> O	500	มล.

## E ประกอบด้วย

1. Acrylamide	37.5	ก.
2. Bis	6.25	ก.
3. H <sub>2</sub> O to	500	มล.

## F ประกอบด้วย

1. Riboflavin	10	มก.
2. H <sub>2</sub> O to	500	มล.

ศูนย์วิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การเตรียมสีย้อมไฮโซไซม์เปอร์ออกซิเดส(Peroxidase Isozyme, POD)

สารละลายที่เตรียมไว้เป็น stock solution มีดังนี้

1. POD:Substrate A ประกอบด้วย

- 3-Amino L-Ethylcarbazole	1.05 ก.
- L-Naphthol	725 ก.
- Acetone	500 ก.

2. POD: 12.5 mM Tris Buffer pH 4.0 ประกอบด้วย

- Tris	7.154 ก.
- Acetic acid(glacial)	8.1 มล.
- H <sub>2</sub> O to	1000 มล.

3. POD: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย

- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (40 เปอร์เซ็นต์)	2 มล.
- H <sub>2</sub> O to	25 มล.

เตรียมสีย้อมโดยใช้ stock solution 1,2,3 ในอัตราส่วน 20:80:30

## 6. กระบวนการย้อมสี(Procedure of staining)

1. เท staining solution ลงในกล่องย้อมสี
2. แช่แผ่นเจล ลงในข้อ 1. นานประมาณ 20-30 นาที
3. บริเวณของ Peroxidase activity จะปรากฏเป็นแถบสีแดง
4. ล้างเจลด้วยน้ำไหล และล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง
5. ตีแข็ง(fixed) เจลด้วยการใช้แผ่น cellophane ประกบทั้งสองด้าน และรัดน้ำออกให้หมด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

## 7. การเตรียมสีย้อมไอโซไซม์เอสเตอเรส(Esterase Isozyme, EST)

สารละลายที่เตรียมไว้เป็น stock solution มีดังนี้

1. EST: 0.12 M Phosphate Buffer pH 5.6 ประกอบด้วย
 

- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	15.601 ก.
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (141.96)	2.839 ก.
- $\text{H}_2\text{O}$ to	1000 มล.
2. EST: Fast blue RR salt
3. EST: Ethyl alcohol
4. EST: 0.1 M L-Naphtyl Propionate ประกอบด้วย
 

- L-Naphtyl propionate	500 มล.
- Ethanol	25 มล.
5. EST: 0.1 M L-Naphtyl acetate ประกอบด้วย
 

- L-Naphtyl acetate	466 มก.
- Ethanol	25 มล.

การเตรียมสไลด์จาก stock solution

สารละลาย A ประกอบด้วย

- 1. EST                      50 มล.
- 2. EST                      100 มก.

และนำสารละลายที่ได้ไปกรอง

สารละลาย B ประกอบด้วย

- 1. EST                      50 มล.
- 2. EST                      5 มล.
- 3. EST                      1 มล.
- 4. EST                      2 มล.

8. กระบวนการย้อมสี(Procedure of staining)

1. เท สารละลาย B ลงในกล่องย้อมสี
2. แช่แผ่นเจล ลงในข้อ 1.
3. incubate ใวนานประมาณ 5-10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
4. เติมสารละลาย A และ incubate ต่อไปอีก 20-30 นาที
5. บริเวณของ Esterase activity จะปรากฏเป็นแถบสีดำ
6. ล้างเจลด้วยน้ำไหล และล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง
7. ตรึง(fixed) เจลด้วยการใช้แผ่น cellophane ประกบทั้งสองด้าน และรีดน้ำออกให้หมด ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

## ประวัติผู้เขียน

นายปรีชา ประเทพา เกิดเมื่อวันที่ 23 พฤษภาคม 2503 ที่จังหวัดมุกดาหาร สำเร็จ  
การศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2526  
เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ สาขาพันธุศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2531 ปัจจุบันรับราชการที่โรงเรียนปทุมรัตน์พิทยาคม  
อำเภอปทุมรัตน์ จังหวัดร้อยเอ็ด



ศูนย์วิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย