

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

กันยา สันทะ โพธิ. 2524. การศึกษาเรณุของพืชไม้ Wang's Bignoniaceae ของไทย.

วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โภสุม พีระман. 2522. วิธีเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะเรณุหรือสปอร์. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาประเทศไทย. บทคัดย่อการประชุมวิชาการ 2522.

หน้า 201. กรุงเทพฯ: บริษัท สารมวลชน จำกัด.

เจษฎา เหลืองแจ่ม. 2519. การศึกษาลักษณะของเกรสรของไม้ในเขตต้อน. บัญชีพิเศษ  
ภาควิชาวัฒนวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เต็ม สมิตินันท์. 2530. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง.  
กรุงเทพฯ: พนิพลับบลิชชิ่ง.

สมิต บุญเสริมสุข. 2530. การศึกษาเรณุของพรพรรณไม้ Wang's Rhizophoraceae  
ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

, และ ประวิทัย จิตต์จำนวนค์. 2532. การศึกษาเปอร์ออกชิเดส์ไอไซไซม์ใน  
พืชไม้สกุลสะเดา. ใน การประชุมการป่าไม้ประจำปี 2532 การพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์.  
กรุงเทพฯ: งานพิมพ์ ฝ่ายแผนที่ภาคถ่ายทางอากาศและดาวเทียม กองจัดการป่าไม้  
กรมป่าไม้.

แสงจันทร์ ศรีสายเชื้อ. 2532. วิธีเก็บตัวอย่างดิน. ใน วิธีเก็บตัวอย่างดินและน้ำ  
เพื่อการวิเคราะห์. หน้า 1-14. กรุงเทพฯ: ฝ่ายประชาสัมพันธ์และเผยแพร่  
กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร.

สุจิตรา จางตระกูล, สมิต บุญเสริมสุข, นิศาล วสุวนิช, ประวิทัย จิตต์จำนวนค์ และ  
บุญชูน บุญหวี. 2534. หลักการและเทคนิคพื้นฐานในการศึกษา isozyme

analysis กับพรรณไม้ป่า. กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและฝึกอบรม ฝ่ายวนวัฒนวิจัย  
กองบ้านรุ่ง กรมป่าไม้.

### ภาษาอังกฤษ

Baum, B.R. 1978. Taxonomy of the tribe Triticeae (Poaceae) using  
various numerical technique. II. Classification.

Can. J. Bot. 56: 27-56.

, and Bailey, L.G. 1984. Taxonomic studies in wall barley  
(Hordeum murinum sensu lato) and sea barley (Hordeum marinum

- sensu lato). 2. Multivariate morphometrics. Can. J. Bot. 62: 2754-2764.
- Brown, J.S. 1991. Principal component and cluster analyses of cotton cultivar variability across the U.S. cotton belt. Crop Sci. 31: 915-922.
- Cardy, B.J., and Kannenberg, L.W. 1982. Allozyme variability among maize inbred lines and hybrid: application for cultivar identification. Crop Sci. 22: 1016-1020.
- Chmielewski, J.G., and Chinnappa, C.C. 1988. The genus Antennaria (Asteraceae: Inuleae) in North America: multivariate analysis of variation pattern in Antennaria rosea sensu lato. Can. J. Bot. 66: 1583-1609.
- Chou, C.H., and Chang, F.U. 1987. Population study of Miscanthus floridulus (Labill.) Warb. I. Variation of peroxidase and esterase in 27 populations in Taiwan. Bot. Bull. Acad. Sinica 28: 247-281.
- \_\_\_\_\_, and Hwang, Y.H. 1985. A biochemical aspect of phylogenetic study of Bambusaceae in Taiwan. III. The genera Arthrostylotium, Chimonobambusa, and Dendrocalamus. Bot. Bul. Acad. Sinica 20: 155-170.
- \_\_\_\_\_, Hwang, Y.H., and Hwang, S.Y. 1986. A biochemical aspect of phylogenetic study of Bambusaceae in Taiwan. IV. the genera Arundinaria, Paudosasa, Semiarudinaria, Shibataca, Sinobambusaceae, and Yushania. Bot. Bull. Acad. Sinica 27: 119-131.
- Chuang, T.I., and Heckard, L.R. 1972. Seed coat morphology in Cordylanthus (Scrophulariaceae) and its taxonomic significance. Amer. J. Bot. 59: 258-265.
- Clifford, H.T., and Stephenson, W. 1975. An introduction to numerical classification. New York: Academic Press, Inc.
- Copeland, L.O. 1976. Principles of seed science and technology. Minnesota: Burgess Publishing Company.

- Craib, W.G. 1931. Florae siamensis enumeratio. vol.1: polypetalae. Bangkok: Bangkok Times Press, Ltd.
- Crisci, J.V., Hunziker, J.H., Palacios, R.A., and Naranjo, C.A. 1979. A numerical-taxonomic study of the genus Bulnesia (Zygophyllaceae): cluster analysis, ordination and simulation of evolution trees. Amer. J. Bot. 66: 133-140.
- du Plessis, E., and van Wyk, A.E. 1982. The genus Eugenia (Myrtaceae) in southern Africa: taxometrics of foliar organography. S. Afr. J. Bot. 1: 147-157.
- Dillon, W.R., and Goldstein, M. 1984. Multivariate analysis: methods and application. New York: John Wiley & Sons.
- Doebley, J.F., and Iltis, H.H. 1980. Taxonomy of Zea (Graminae). I. A subgeneric classification with key to taxa. Amer. J. Bot. 67: 982-993.
- Downie, S.R., and McNeill, J. 1990. A note on the taxonomic status of Euphrasia randii (Scrophulariaceae). Can. J. Bot. 68: 1531-1535.
- Dunn, G., and Everitt, B.S. 1982. An introduction to mathematical taxonomy. Cambridge: the Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Edwards, M.E., Dawe, J.C., and Armbruster, W.S. 1991. Pollen size of Betula in northern Alaska and the interpretation of late Quaternary vegetation records. Can. J. Bot. 69: 1666-1672.
- Ellis, W.M., Lee, B.T.O., and Calder, D.M. 1971. A biometric analysis of population of Poa annua L. Evol. 25: 29-37.
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy - angiosperms (An introduction to palynology. I). Uppsala: Almqvist & Wiksell.
- \_\_\_\_\_. 1969. Handbook of palynology, morphology-taxonomy-ecology. Copenhagen: Munksgaard.
- Fahselt, D., and Jancey, R.C. 1977. Polyacrylamide gel electrophoresis of protein extracts from members of the Parmelia perforata complex. The bryologist 80: 429-438.

- Gottlieb, L.D. 1973. Enzyme differentiation and Phylogeny in Clakia franciscana, C. rubicunda and C. amoena. Evolution 27: 205-214.
- Gottlieb, L.D. 1974. Genetic confirmation of the origin of Clakia lingulata. Evol. 28: 244-250.
- Gottlieb, L.D. 1977. Electrophoresis evidence and plant systematics. Ann. Missouri Bot. Gard. 64: 161-180.
- Green, R.L., Dudeck, A.E., Hannah, L.C., and Smith, R.L. 1981. Isoenzyme Polymorphism in St. augustinegrass. Crop Sci. 21: 778-782.
- Hanks, S. and Fryxell, P.A. 1979. Palynological studies of Gaya and Herissantia (Malvaceae). Amer. J. Bot. 66: 494-501.
- Heard, S.B., and Semple, J.C. 1988. The Solidago rigida complex (Compositae): a multivariate morphometric analysis and chromosome number. Can. J. Bot. 66: 1800-1807.
- Hill, R.S. 1980. A numerical taxonomic approach to the study of agiosperm leaves. Bot. Gaz. 141: 213-229.
- Hsiao, J.Y. 1980. A biochemical systematic study of the genus Chamecypris in Taiwan. Proc. Nat. Sci. Conc. ROC 4: 69-77.
- Hunter, R.L., and Markert, C.L. 1957. Histochemical demonstration of enzyme separation by zone electrophoresis in starch gels. Science 125: 1294-1295.
- Jones, Jr.S.B., and Luchsinger, H.E. 1987. Plant systematics. 2nd ed. Singapore: B & Jo Enterprise Pte Ltd.
- Kendrick, W.B., and Weresub, L.K. 1966. Attempting Neo-Adansonian computer taxonomy at the ordinal level in the Basidiomycetes. Syst. Zool. 15: 307-329.
- Kosum Bookyamalik. 1969. The palynological study of Thai Dipterocarpaceae. Master's Thesis, Chulalongkorn University.
- Lawrence, G.H. 1974. Taxonomy of vascular plants. 4th ed. New Delhi: Mohan Prinlani, Oxford & IBH Publishing Co.
- Lecomte, M.H. 1921. Flore de generale L'Indo-Chine. Paris: Masson et C<sup>ie</sup>, Editeurs.

- Newell, S.J. 1989. Variation in leaflet morphology among population of caribbean cycads (Zamia). Amer. J. Bot. 76: 1518-1523.
- Oliver, L.J., and Rejon, M.R. 1980. The relationship between isozymes and ploidy level, its application to biogeographical studies of Muscari atlanticum (Liliaceae). Taxon 29: 27-32.
- Palmer, C.L., and Parker, W.H. 1991. Phenotypic variation in Yukon populations of sbalpine fir. Can. J. Bot. 69: 1491-1500.
- Paoletti, C., Pigliucci, M., and Serafini, M. 1991. Microenvironmental correlates of phenotypic variation in Capsella bursa-pastoris (Cruciferae). Can. J. Bot. 69: 1637-1641.
- Parker, W.H., Maze, J., and Bradfield, G.E. 1981. Implication of morphological and anatomical variation in Abies balsamea and A. lasiocarpa (Pinaceae) from western Canada. Amer. J. Bot. 68: 843-854.
- Pigliucci, M., Politi, M.G., and Bellincampi, D. 1991. Implications of phenotypic plasticity for numerical taxonomy of Ornithogalum montanum (Liliaceae). Can. J. Bot. 34-38.
- Pollock, B.M., and Roos, E.E. 1972. Seed and seedling vigor. In Kozlowski, T.T. (ed.), Seed biology. volume 1, pp. 314-387. New York: Academic Press.
- Prakash, S., Lewontin, R.C., and Hubby, J.L. 1969. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics 62: 841-858.
- Quiros, C.F. 1980. Identification of Alfalfa plants by enzyme electrophoresis. Crop Sci. 20: 262-264.
- Ringius, G.S., Chmielewski, J.G. 1987. Morphological variation within and among six populations of Trillium erectum in south Ontario. Can. J. Bot. 65: 2450-2457.
- Reynold, J.F., and Crawford, D.J. 1980. A quantitative study of variation in the Chenopodium atrovirens-desiccatum-pratericola complex. Amer. J. Bot. 67: 1380-1390.

- MacFie, H.J.H., Gutteridge, C.S., and Norris, J.R. 1978. Use of canonical analysis in differentiation of bacteria by pyrolysis gas-liquid chromatography. J. Gen. Microl. 104: 67-74.
- Markert, C.L., and Moller, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific pattern. Proc. N.Y. Soc. 45: 753-763.
- Menapace, F.J. 1991. A preliminary micromorphological analysis of Eleocharis (Cyperaceae) achenes for systematic potential. Can. J. Bot. 69: 1533-1541.
- Menadue, Y., and Crowden, R.K. 1988. Multivariate analysis of variation in Ranunculus decurus (Hook.Fil.) Melville and Ranunculus concinnus (Hook.fil.) Mellville (Ranunculaceae). Bot. J. Linn. Soc. 98: 71-83.
- Moritz, C., and Hillis, D.M. 1990. Molecular systematics: context and controversies. In D.M. Hillis, and C. Maritz (eds.), Molecular systematics. pp. 1-10. Massachusetts: Sinauer Associates Inc.
- Morris, M.I. 1973. A biosystematic analysis of the Caltha leptosepala (Ranunculaceae) complex in the Rocky Mountains.  
III. Variability and gross morphological characteristics. Can. J. Bot. 51: 2259-2267.
- Mosquin, T. 1971. Biosystematic studies in the North America species of Linum, section Adenolinum (Linaceae). Can. J. Bot. 49: 1379-1388.
- Murphy, R.W., Sites, J.W., Buth, D.G., and Haufler, C.H. 1990. Protein I: isozyme electrophoresis. In D.M. Hillis, and C. Maritz (eds.), Molecular systematics. pp. 45-126. Massachusetts: Sinauer Associates Inc.
- Norusis, M.J. 1985. SPSS/PC+ tables, advanced statistics. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Nelson, Jr.O.E., and Burr, B. 1973. Biochemical genetics of higher plant. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 493-518.

- Rick, C.M., and Fobes, J.F. 1975. Allozymes of Galapagos tomatoes: polymorphism, geographic distribution, and affinities. Evol. 29: 443-457.
- Robbins, R.R., Dickinsons, D.B., and Rhodes, A.M. 1979. Morphometric analysis of pollen from four species of Ambrosia (Compositae). Amer. J. Bot. 66: 539-545.
- Semple, J.C., Chmielewski, J.G., and Brammall, R.A. 1990. A multivariate morphometric study of Solidago nemoralis (Compositae: Asteraceae) and comparison with S. californica and S. sparsiflora. Can. J. Bot. 68: 2070-2082.
- Shannon, L.M. 1968. Plant isoenzyme. Annu. Rev. Plant Physiol. 19: 187-210.
- Sharitz, R.R., Wimeriter, S.A., Smith, M.H., and Liu, E.H. 1980. Comparison of isozyme among Typha species in the eastern United States. Amer. J. Bot. 67: 1297-1303.
- Sheen, S.J. 1972. Isozyme evidence bearing on the origin of Nicotiana tabacum L. Evol. 26: 143-154.
- Small, E. 1987. A taxonomic study of the "medicagoid" Trigonella (Leguminosae). Can. J. Bot. 65: 1199-1211.
- Small, E. and Brookes, B. 1991. A clarification of Medicago sinskiae. Can. J. Bot. 69: 100-106.
- Smouse, P.E., and Saylor, L.C. 1973. Studies of the Pinus rigida-serotina complex. II. Natural hybridization among the Pinus rigida-serotina complex, P. taeda and P. eklamata. Ann. Missouri Bot. Gard. 60: 192-203.
- Sneath, P.H.A. 1957. The application of computer to taxonomy. J. Gen. Microl. 17: 201-226.
- \_\_\_\_\_, and Sokal, R.R. 1973. Numerical taxonomy. San Francisco: W.H. Freeman and Company.
- Solbrig, O.T. 1970. Principle and method of plant biosystematics. London: the Macmillan Company Gollier-Macmillan Limited.
- Stace, C.A. 1989. Plant taxonomy and biosystematics. 2nd ed. London: Biddles Ltd, Guildford and King's Lynn.

- Standley, L.A. 1987. Taxonomy of the Carex lenticularis complex in eastern North America. Can. J. Bot. 65: 673-686.
- Steenis, C.G.G.J. 1958. Flora Malasiana. volume 5. Netherlands: P.Noordhoff.
- Stebbin, L. 1950. Variation and evolution in plant. New York: Columbia University Press.
- Stern, W.T. 1973. Botanical latin. Great Britain: Redwood Press Ltd.
- Stone, D.E., Adroung, G.A., and Flake, R.H. 1969. New world Juglandaceae. II. Hickory nutoils, phenetic similarities, and evolutionary implication in the genus Carya. Amer. J. Bot. 69: 928-935.
- Torres, A.M., Soost, R.K., and Diedenhofen, U. 1978. Leaf isozyme as genetic markers in Citrus. Amer. J. Bot. 65: 869-881.
- Tseng, C.C. 1974. Pollen of Boerlagiodendron: a unique type in the Araliaceae. Amer. J. Bot. 61: 717-721.
- Vander Kloet, S.P. 1978. The taxonomic studies of Vaccinium pallidum, the hillside blueberries including Vaccinium vacillans. Can. J. Bot. 56: 1559-1574.
- Webb, E.C. 1964. The nomenclature of multiple enzyme forms. Experimentia 20: 592.
- Whiffin, T., and Tomb, A.S. 1972. The systematic significance of seed morphology in the neotropical capsular-fruited Melastomataceae. Amer. J. Bot. 59: 411-422.
- Wolff, S.L., and Jefferies, R.L. 1987a. Morphological and isozyme variation in Salicornia europaea (s.l.) (Chenopodiaceae) in northeastern North America. Can. J. Bot. 65: 1410-1419.
- Wolff, S.L., and Jefferies, R.L. 1987b. Taxonomic status of diploid Salicornia europaea (s.l.) (Chenopodiaceae) in northeastern North America. Can. J. Bot. 65: 1420-1426.
- Zona, S. 1991. A morphometric and taxonomic reevaluation of Haenianthus (Oleaceae). Can. J. Bot. 69: 489-493.



ภาคผนวก

# ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก

1. การเตรียม stock solution สำหรับการทำ polyacrylamide gel ทั้ง 6 ชุด

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

#### 1.1 Stock solution A [RG]

1.1.1 Trisma Base	90.5 g
(Tris (hydroxymethyl) aminomethane [MW=121.1])	
1.1.2 1N HCl	120.0 g
1.1.3 TEMED	0.6 ml
(N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylenediamine)	
1.1.4 distilled water to	500.0 ml

#### 1.2 Stock solution B [RG (7.5% acrylamide)]

1.2.1 Acrylamide	150.0 g
1.2.2 Bis	4.0 g
(N,N'-Methylene bis acrylamide)	
1.2.3 distilled water to	500.0 ml
1.3 Stock solution C [RG เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้]	

#### 1.3.1 Ammonium persulphate 70.0 mg

#### 1.3.2 distilled water to 50.0 ml

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

#### 1.4 Stock solution D [SG]

1.4.1 Trisma Base	14.95 g
1.4.2 1N HCl	120.0 ml
1.4.3 TEMED	1.15 ml
(N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylenediamine)	
1.4.4 distilled water to	500.0 ml

#### 1.5 Stock solution E [SG 3% acrylamide]

1.5.1 Acrylamide	37.5 g
1.5.2 Bis	6.25 g
(N,N'-methylene bis acrylamide)	

1.5.3 distilled water to 500.0 ml

1.6 Stock solution F [SG]

1.6.1 Riboflavin 10.0 mg

1.6.2 distilled water to 500.0 ml

2. การเตรียม Reservior Buffer (5 mM, pH 8.3)

I. concentration Reservior Buffer (Conc.R.B.)

1. Glycine 28.8 g

2. Tris 6.0 g

(Tris (hydroxymethyl) aminomethane [MW=121.14])

3. distilled water to 1000.0 ml

II. dilute Reservior Buffer (Dil.R.B.)

1. Conc.R.B. 100.0 ml

2. distilled water to 1000.0 ml

3. การเตรียม extract buffer ทั้ง 8 สูตร

I. การเตรียม Stock solution

3.1 Stock solution G [0.2 M Tris-HCl pH 7.5 (x2)]

3.1.1 glycerol (40%) 50.4 g

3.1.2 distilled water 30.0 ml

3.1.3 Tris 3.016 g

(Preset pH 7.5 crystal)

3.1.4 distilled water to 100.0 ml

3.2 Stock solution H [3% Tween 80 (SG 1.05)]

3.2.1 Tween 80 3.15 g

(Polyoxyethylenesorbitan Monolea)

3.2.2 distilled water to 100.0 g

3.3 Stock solution I [100 mM DTT (x10)]

3.3.1 DTT 463.0 mg

(DL-Dithiothreitol)

3.3.2 distilled water to 100.0 ml

## 3.4 Stock solution J [45 mM EDTA-s Na (x15)]

3.4.1 EDTA-2 Na 838.0 mg

(Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt)

3.4.2 distilled water to 50.0 ml

II. การหา extract buffer ที่เหมาะสมสำหรับการสกัดไอโซไซม์จากตัวอย่างพืช

3.5 ใช้ extract buffer ต่อไปนี้ในการสกัดไอโซไซม์โดยพยากรรมเลือกตัวอย่างพืชที่อยู่ในภาวะเดียวกัน และทำปฏิบัติการอิเล็กโโทร ไฟริชิส ข้อมูลด้านล่าง ไอโซไซม์ทุกรายการที่ต้องการศึกษา และพิจารณาว่าในการสกัดไอโซไซม์แต่ละระบบจะต้องใช้ extract buffer สูตรใด

Extract solution	Stock solution				distilled water
	G	H	I	J	
	-	-	-	-	
a	2.5	-	-	-	2.5
b	2.5	1.67	-	-	0.83
c	2.5	-	0.34	-	2.16
d	2.5	-	-	0.5	2.0
e	2.5	1.67	0.34	-	0.79
f	2.5	1.67	-	0.5	0.33
g	2.5	-	0.34	0.5	1.66
h	2.5	1.67	0.34	0.5	-

## 4. การเตรียม BPB-Tris-Glycine solution [Bromo-phenol-blue-Tris-glycine]

1. BPB 100.0 ml

2. Conc.R.B. 10.0 ml

3. distilled water to 1000.0 ml

## 5. การข้อมล้ำจำเพาะ ไอโซไซม์ระบบเบอร์อ็อกซิเดส

### 5.1 เตรียม Stock solution ต่อไปนี้

#### 5.1.1 POD : Substrate A

3-Amino 9-ethylcarbazole	1.05	g
B-Naphthol	725.0	mg
Acetone	500.0	ml

#### หรือ ไอโซไซม์ substrate B แทนดังนี้

3-Amino 9-ethylbarbazole	1.05	g
5-Amino 2-naphthol	800.0	mg
Acetone	500.0	ml

#### 5.1.2 POD : 12.5 mM Tris Buffer. pH 4.0

Tris	7.514	g
Acetic acid (Glacial)	8.10	ml
distilled water to	1000.0	ml

#### 5.1.3 POD : 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (40%)	2.00	ml
distilled water to	25.0	ml

### 5.2 เตรียม staining solution โดยการผสม Stock solution ในข้อ 5.1.1 :

5.1.2 : 5.1.3 ในอัตราส่วน 20:80:1 แล้วกรองเอาแต่สารละลายไว้

### 5.3 การข้อม

5.3.1 เท staining solution ที่ได้ในข้อ 5.2 ลงในกล่องพลาสติก

5.3.2 แซ่แผ่นเจลลงใน staining solution นาน 20-30 นาที

5.3.3 บริเวณที่มีไอโซไซม์เบอร์อ็อกซิเดสอยู่จะมีสีน้ำตาลแดง

5.3.4 ล้างเจลด้วยน้ำให้หลัง แล้วล้างด้วยน้ำกลันอีก 1 ครั้ง

5.3.5 แซ่แผ่นเจลลงในอัลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ 1 คืน

5.3.6 นำแผ่นเจลมาวางบนแผ่น cellophane ที่ชุ่มน้ำบีบกระจุก แล้วประคบด้วยแผ่น cellophane ที่ชุ่มน้ำอีกแผ่น ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ

5.3.7 ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุ่นๆ หมักห้อง

## 6. การข้อมล้ำจำเพาะ ไอโซไซม์ระบบเอดทีเรส

### 6.1 เตรียม Stock solution ต่อไปนี้

#### 6.1.1 EST : 0.12 M phosphate buffer, pH 5.6

NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O (MW=156.01)	15.601	g
-----------------------------------------------------------------	--------	---

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (MW=141.96) 2.839 mg

distilled water to 1000.0 ml

#### 6.1.2 EST : Fast blue RR salt

#### 6.1.3 EST : Ethyl alcohol

#### 6.1.4 EST : 0.1 M L-naphatyl propionate

L-naphthyl propionate 500.0 ml

Ethanol 25.0 ml

#### 6.1.5 EST : 0.1 M L-naphthyl acetate

L-naphthyl acetate 466.0 mg

Ethanol 25.0 ml

### 6.2 เตรียม staining solution

6.2.1 Solution A ได้จากการผสม Stock solution ในข้อ 6.1.1 : 6.1.2 ในอัตราส่วน 50 ml : 100 mg แล้วกรองเอาแต่สารละลายไว้

6.2.2 Solution B ได้จากการผสม Stock solution ในข้อ 6.1.1 : 6.1.3 : 6.1.4 : 6.1.5 ในอัตราส่วน 50 : 5 : 1 : 2 ml

### 6.3 การขึ้นอม

6.3.1 เท staining solution B ลงในกล่องพลาสติก

6.3.2 แฟ่แผ่นเจลลงใน staining solution B แล้ว incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที

6.3.3 เติม staining solution A เข้าให้เข้ากัน แล้ว incubate ที่ 37 องศาเซลเซียสในที่มีดีต่อไปอีก 20-30 นาที

6.3.4 บริเวณที่มีไอโซไซด์เมทิลเอนโซเลตอยู่จะมีสีดำ

6.3.5 ล้างเจลด้วยน้ำให้หมด แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 1 ครั้ง

6.3.6 แฟ่แผ่นเจลลงในอัลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ 1 คืน

6.3.7 นำแผ่นเจลมาวางบนแผ่น cellophane ที่ซุ่มด้วยน้ำบนกระดาษ แล้วประคบด้วยแผ่น cellophane ที่ซุ่มด้วยน้ำอีกแผ่น ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ

6.3.8 ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

**ประวัติผู้เขียน**

นายต่อศักดิ์ สีลายนนท์ เกิดวันที่ 6 มิถุนายน พ.ศ. 2510 ที่อำเภอเมืองลพบุรี จังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขานอกภาษาศาสตร์ ภาควิชาพฤกษาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2531 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2532



**ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**