

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรรณิการ์ ว่องวุฒิญาณ. 2536. ผลกระทบทางจุลชีววิทยาของดินในป่าเบญจพรรณที่ผ่านการทำไม้ บริเวณห้วยดินถิ่น จังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกษม ตรี้อยทอง. 2534. การแยกเชื้อราในดินและการทดสอบคุณสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลส. แก่นเกษตร 19(4) : 218-255.
- จินตนา ชนะ. 2517. การศึกษาเชื้อราในดินในภาคกลางของประเทศไทย วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชวนพิศ อรุณรังสีกุล. 2538. การตรวจสอบสายพันธุ์พืชด้วยการใช้ Isozyme pattern และ RAPD. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ. หน้า 31-38. นครปฐม: ฝ่ายปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- น้อย เกษมสุขสกุล. 2530. การผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อราที่อุณหภูมิสูงบนวัสดุที่เป็นของแข็ง. ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 28(297) : 12-13.
- นิยม สุดเพราะ, เตชา มาโนช, อุบล คือประโคน และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. 2542. ความหลากหลายของราดินและราโรคพืชในดินปลูกพืชไร่ จ. สกลนคร. รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ครั้งที่ 3 : 129-134.
- บัณฑิต มิ่งสินธุ์. 2538. การใช้ cellulase เพื่อช่วยในการแยกชนิดจากแกลบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พรเทพ ถนนแก้ว. 2538. ภาวะเหมาะสมของการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อราที่คัดแยกจากบริเวณปลูกป่าศรนารายณ์ *Agave sisalana* Perrine. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มนต์นภา พฤกษ์บำรุง. 2537. ผลของเชื้อราที่คัดแยกได้จากดินในป่าดงการย่อยสลายฟางข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มานะ กาญจนมณีเสถียร. 2531. ราที่เจริญในอุณหภูมิสูง และราทนความร้อนจากดิน มูลสัตว์ และเศษเหลือจากการเกษตร : การจำแนก และประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- บพิท จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์ 2539. โปรโตซัวในแหล่งน้ำจืด. กรุงเทพมหานคร : ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟีนีฟับบลิซซิ่ง. 139 หน้า.
- ปทุมพร เมืองพระ และ อรุณี สมมณี. 2532. โปรโตซัวและแบคทีเรียในดินบริเวณรากพุทธรักษา แสม และสน. วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทยาศาสตร์) 23: 364-372.
- ประภคต์สิน สีहनนท์. 2540. อุทกธรณีดิน. เอกสารไมตรีพิมพ์. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประสิทธิ์ ประคองศรี. 2518. การศึกษาเชื้อราในดินเชิงใหม่. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปราณี อานเป็รื่อง. 2534. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 2. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เดชา มาโนช. 2535. รา Phythiaceae, Zygomycetes, Ascomycetes และ Hyphomycetes บางชนิด จากดินในประเทศไทย รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 25 สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 739-747.
- เดชา มาโนชและคณะ 2540ก. สายพันธุ์เชื้อรา Ascomycetes และ Deuteromycetes จากดิน และพืช รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 35 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 432-443.
- เดชา มาโนชและคณะ 2540ข. ราเมือก รา Hyphomycetes และรามูลสัตว์จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 35 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 444-452.
- วิฑูร ชินพันธุ์. 2537. ลักษณะของหญ้าแฝก. คู่มือการดำเนินงานเกี่ยวกับหญ้าแฝก. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 15-24.
- วิมล พานิชยการ, วิชัย เชิดชูวิศาสตร์ และ สุมาลี พิษญาญงกูร. 2523. การสำรวจราในอากาศจากบริเวณชุมชนเขาวราช วิทยาศาสตร์ 34(2): 118-125.
- วิสุทธิ์ ไบไม้. 2532. ความหลากหลายทางชีวภาพ. 1-13. ใน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สาขาชีววิทยา สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ ร่วมกับองค์การยูเนสโก (USAID). ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : บริษัท ประชาชน จำกัด.

- วิสุทธิ ไบไม้ 2538. สถานะภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (ตอนที่ 1). สารคดี. 11(123): 115-124.
- ศรีศักดิ์ ชานี. 2540. การหมักเวียงราคาอาหารของป่าดิบแล้งธรรมชาติและป่าดิบแล้งที่ก่้างคืนสภาพป่า บริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤๅไน จังหวัดฉะเชิงเทรา วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศุภลักษณ์ เจนถนอมม้า. 2524. การศึกษารานในดินบริเวณป่าดิบแล้งและป่าเต็งรังในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าทุ่งใหญ่นเรศวร จังหวัดกาญจนบุรี ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมศิริ จีวตกุล. 2517. การศึกษารานในดินจังหวัดลำปาง ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุจิตรา โกศล, เตชา มาโนช, นิพนธ์ ตั้งธรรม, และสามัคคี บุญยะวัฒน์. 2542. ชนิดและปริมาณของราในดิน น้ำ และพืชภายใต้แปลงปลูกสัก ดุ่มน้ำล้นตื้น จังหวัดกาญจนบุรี. รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ครั้งที่ 3 :146-150
- สุภาพร ธรรมสุระกุล. 2528. การศึกษารานในดินภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุมาลี พิชญากร. 2526. รานน้ำทิ้งคลอง. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ 8: 149-155.
- สุมาลี เหลืองตฤก และ น้ำผึ้ง ดุงโคกกรวด, 2539. การจำแนกชนิดของเชื้อราเห็ดรา-อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในดินปลูกมะเขือเทศ วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 12(1): 7-32.
- อภิรดี ปิตันชนภาคย์ และ วาสนา ศรีบุญธรรม. 2542. การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์รานป่าจาก. รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ครั้งที่ 3 :141-145.
- อาภัสตรา ชนิดท์. 2537. เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์สหมิตรออฟเซต 86 หน้า.

ภาษาอังกฤษ

- Alexander, M. 1967. Introduction to Soil Microbiology. New York : John Wiley and Sons.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. and Blackwell, M. 1996. Introductory mycology. New York: John Wiley and Sons.
- Arora, D. K., Rai, B., Mukerji, K. G., Knudsen, G. R., Ajello, L., Marth, E. H. and Elander, R. P. 1991. Handbook of applied mycology Vol.1-4. New York: Marcel Dekker, Inc.

- Banke, S., Frisvad, J. C. and Rosendahl S. 1997. Taxonomy of *Penicillium chrysogenum* and related xerophilic species, based on isozyme analysis. Mycology Research 101(5): 617-624.
- Barnett, H. L. 1960. Illustrate genera of imperfect fungi. United States of America.
- Bamforth, S. S. 1980. Terrestrial protozoa. Journal of Protozoology 27(1): 33-36.
- Barr, D.J.S., Warwick, S.I. and Desaulnier, N.L. 1997. Isozyme variation, morphology, and growth response to temperature in *Pythium irregulare*. Canadian Journal of Botany 75: 2073-2081.
- Bent, J. K. 1967. Electrophoresis of proteins of 3 *Penicillium* species on acrylamide gels. Journal of General Microbiology 49: 195-200.
- Bielennin, A., Jeffers, S.N., Wilcox, W.F. and Jones, A.L. 1988. Separation by protein electrophoresis of six species of *Phytophthora* associated with deciduous fruit crops. Phytopathology 78 : 1402 – 1408.
- Bonde, M. R., Micales, J. A. and Peterson, G. L. 1993. The use of isozyme analysis for identification of plant-pathogenic fungi. Plant Disease 77(10): 961-968.
- Bonde, M.R. and Peterson, G.L. 1986. The use of isozyme analysis in fungal taxonomy and genetics. Mycotaxon 17 : 405 – 449.
- Bosland, P.W. and Williams, P.H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility, and geographic origin. Canadian Journal of Botany 65 : 2067 – 2073.
- Carreio, M. M. and Koske, R. E. 1992. Room temperature isolates can bias against selection of low temperature microfungi in temperate forest soil. Mycologia .84(6): 886-900.
- Chang, L. O. and Steward, C. F. 1962. Electrophoretic separations of the soluble proteins of *Neurospora*. Nature 193: 756-759.
- Chen, W., Hoy, W.J. and Schneider R.W. 1991. Comparisons of soluble proteins and isozyme for seven *Pythium* species and applications of biochemical data to *Pythium* systematics. Mycology Research 95 (5) : 548 – 555.
- Christensen, M. 1989. A view of fungi ecology. Mycologia 81(1): 1-19.
- Clare, B. G. 1963. Starch-gel electrophoresis of proteins as an aid in identifying fungi. Nature 200: 803-804.

- Cruickshank, R. H. and Pitt, J. I. 1987. Identification of species in *Penicillium* subgenus *Penicillium* by enzyme electrophoresis. Mycologia 79(4): 614-620.
- Cruickshank, R. H. and Pitt, J. I. 1990. Isoenzyme patterns in *Aspergillus flavus* and closely related species, Modern concepts in Penicillium and Aspergillus classification. New York : Plenum Press. 259 – 265.
- Durbin, R. D. 1966. Comparative gel-electrophoretic investigation of the protein patterns of *Septoria* species. Nature 210: 1186-1187.
- Elias, K.S. and Schneider, R.W. 1992. Genetic diversity within and among races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by isozyme analysis. Phytopathology 82 (12): 1421-1427.
- Erskine, M. J. 1992. Vetiver grass: its potential use in soil and moisture conservation in Southern Africa. Southern Africa Journal of Science 88: 298-299.
- Finegan, B. 1996. Pattern and process in neotropical secondary rain forests: the first 100 years of succession. Tree 11(3): 119-124.
- Foissner, W. and Berger, H. 1996. A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lake, and wastewaters, with notes on their ecology. Freshwater Biology 35: 375-482.
- Glynn, A. N. and Reid, J. 1969. Electrophoretic patterns of soluble fungal proteins and possible use as taxonomic criteria in the genus *Fusarium*. Canadian Journal of Botany 47(12): 1823-1831.
- Grigg, R. and Lichtwardt, R. 1996. Isozyme patterns in cultured Harpellales. Mycologia 88(2): 219 – 229.
- Harley, L. 1971. Fungi in ecosystem. Journal of Ecology 59: 653-668.
- Huss, M. J., Campbell, C. L., Jennings, D. B. and Leslie, J. F. 1996. Isozyme variation among biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* Section *Liseola*). Applied Environmental Microbiology 62 (10): 3750-3756.
- Jha, D. K., Shama, G. D. and Mishara R. R. 1992. Soil microbial population numbers and enzyme activities in relation to altitude and forest degradation. Soil Biology and Biochemistry 24(8): 761-767.

- Kjoller, A. and Struwe, S. 1980. Microfungi of decomposition red alder leaves and their substrate utilization. Soil Biology and Biochemistry 12:425-431.
- Kulik, M. M. and Brooks, A. G. 1970. Electrophoretic studies of soluble proteins from *Aspergillus* spp. Mycologia 62: 365-376.
- Leuchtmann, A., Petrini, O. and Samuels, G. J. 1996. Isozyme subgroups in *Trichoderma* section *Longibrachiatum*. Mycologia 88(3): 384-394.
- Macnish, G.C. and Sweetingham, M.W. 1993. Evidence of stability of pectic zymogram groups within *Rhizoctonia solani* AG-8. Mycology Research 97 (9): 1056-1058.
- Mchau, G.R. and Coffey, M.D. 1994. Isozyme diversity in *Phytophthora palmivora* : evidence for a Southeast Asian center of origin. Mycology Research 98 (9): 1035-1043.
- Micales, J.C., Bonde, M.R. and Peterson G.L. 1991. Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics. Handbook of applied mycology. Vol.4. Part I Section 3 New York : Marcel Dekker, Inc.
- Nasuno, S. 1972. Differentiation of *Aspergillus sojae* from *Aspergillus oryzae* by polyacrylamide gel disc electrophoresis. Journal of General Microbiology 71: 29-33.
- Oudemans, P. and Coffey, M.D. 1991. Isozyme comparison within and among worldwide sources of three morphologically distinct species of *Phytophthora*. Mycology Research 95 (1): 19 -30.
- Porter, N. and Fox, F. M. 1993. Diversity of microbial products-discovery and application. Pestic Science 39: 161 - 168.
- Soltis, D.E. and Soltis, P.S. 1989. Isozyme in plant biology. Volume 4. Portland, Oregon : Dioscorides Press.
- Tanksley, S.D. and Orton, T.J. 1983. Isozyme in plant genetics and breeding. Part A. New York : ELSEVIER.
- Teacher, R.M. and Wood, P.J. 1982. Use of congo red polysaccharide interactins in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. Applied Environmental Microbiology 43: 777-780.
- Vardavakis, E. 1990. Seasonal fluctuations of soil microfungi in correlation with some soil enzyme activities and VA mycorrhizae associated with certain plants of a typical calcixeroll soil in Greece. Mycology 82(6): 715-726.

Vagvolgyi, C., Papp, T., Plagyi, Z. and Michailides, T. J. 1996. Isozyme variation among isolates of *Mucor piriformis*. Mycology 88(4): 602-607.

Wongseenin , P. and Sudhagul, M. 1973. Soil and root fungi in Sakaerat dry evergreen forest The Kasetsart Journal 7(2): 109-116.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน

1. Nutrient Agar (NA)

| | | |
|--------------|----|-----------|
| Glucose | 10 | กรัม |
| Beef extract | 5 | กรัม |
| Bactopeptone | 5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกั้น | 1 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกั้น 1 ลิตร ต้มจน agar ละลายดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

2. Glucose Ammonium nitrate Agar (GAN)

| | | |
|--|------|---------------------|
| NH_4NO_3 | 1 | กรัม |
| KH_2PO_4 | 1 | กรัม |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | 0.5 | กรัม |
| Rose bengal | 0.03 | กรัม |
| Yeast extract | 1 | กรัม |
| Glucose | 5 | กรัม |
| Agar | 9 | กรัม |
| น้ำกั้น | 1 | ลิตร |
| Streptomycin | 30 | มิลลิกรัม/มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกั้น 1 ลิตร ต้มจน agar ละลายดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ยกเว้น Streptomycin ใช้เติมหลังฆ่าเชื้อแล้ว และอาหารควรมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส

3. Potato Dextrose Agar (PDA)

| | | |
|----------|-----|------|
| มันฝรั่ง | 200 | กรัม |
| Glucose | 10 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ต้มมันฝรั่งที่หั่นเป็นชิ้นขนาดลูกเต๋าน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ให้เดือดประมาณ 15 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ใต้วงประกอบที่เหลือนจนละลายหมด ละลายดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

4. Carboxymethyl cellulose Ammonium nitrate Agar (CMA)

| | | |
|--|-----|------|
| NH_4NO_3 | 1 | กรัม |
| KH_2PO_4 | 1 | กรัม |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | 0.5 | กรัม |
| Yeast extract | 1 | กรัม |
| Carboxymethyl cellulose | 5 | กรัม |
| Agar | 9 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ค่อยๆ ละลาย carboxymethyl cellulose ก่อนในน้ำอุ่น แล้วจึงละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจน agar ละลายดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. Growth medium (GM) (ตามวิธีของ Benke, Frisvad, and Rosendahl 1997)

| | | |
|--|------|------|
| KNO ₃ | 4 | กรัม |
| KH ₂ PO ₄ | 0.5 | กรัม |
| MgSO ₄ · 7 H ₂ O | 0.5 | กรัม |
| FeSO ₄ · 7 H ₂ O | 0.01 | กรัม |
| Yeast extract | 5 | กรัม |
| Sucrose | 30 | กรัม |
| น้ำกั้น | 1 | ลิตร |
| pH 6.5 | | |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกั้น 1 ลิตร ต้มจน agar ละลายดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีสำหรับการทำ Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

วิธีการเตรียมสารสำหรับ polyacrylamide gel (Tanksley และ Orton 1986.)

Seperating gel (7.5%)

| | | |
|---|-----|-----------|
| สารละลาย A 29.2% acrylamide + 0.8 bisacrylamide | 15 | มิลลิลิตร |
| สารละลาย B 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8) | 15 | มิลลิลิตร |
| 10% APS (ammonium persulfate) | 300 | ไมโครลิตร |
| TEMED | 30 | ไมโครลิตร |
| H ₂ O | 29 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกันโดยเติม TEMED และ 10% APS เป็น 2 ส่วนสุดท้ายแล้ว
รีบเทลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก

Stacking gel (4%)

| | | |
|---|------|-----------|
| สารละลาย A 29.2% acrylamide + 0.8 bisacrylamide | 2.6 | มิลลิลิตร |
| สารละลาย B 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8) | 2.5 | มิลลิลิตร |
| 10% APS (ammonium persulfate) | 200 | ไมโครลิตร |
| TEMED | 10 | ไมโครลิตร |
| H ₂ O | 13.8 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกันโดยเติม TEMED และ 10% APS เป็น 2 ส่วนสุดท้ายแล้ว
รีบเทลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกแล้วเทียบหัวทันที ระวังอย่าให้มีฟอง

Running Buffer

| | | |
|----------------------------------|------|-----------|
| Glycine | 14.4 | กรัม |
| Tris (hydroxymetyl) aminomethane | 12.1 | กรัม |
| H ₂ O | 1000 | มิลลิลิตร |

การเตรียมสารละลาย A 29.2% acrylamide + 0.8 bisacrylamide

| | | |
|---------------------------------|-----|-----------|
| acrylamide | 30 | กรัม |
| N', N', methylene-bisacrylamide | 0.8 | กรัม |
| H ₂ O | 100 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรองในที่มืด ทวเก็บในขวดที่
ชา ในที่เย็น

การเตรียมสารละลาย 1.5 M Tris -HCl buffer pH 8.8

| | | |
|-----------------------------------|-------|-----------|
| Tris (hydroxymethyl) aminomethane | 18.05 | กรัม |
| H ₂ O | 100 | มิลลิลิตร |
| conc. HCl | | |

ละลาย แล้วปรับ pH เป็น 8.8

การเตรียม marker dye (ชวานพิศ อรุณรังสีฤๅ, 2538)

| | | |
|-----------------------------------|------|-----------|
| Bromophenol blue | 0.05 | กรัม |
| HCl | 4.8 | มิลลิลิตร |
| glycerol | 1 | มิลลิลิตร |
| Tris (hydroxymethyl) aminomethane | 0.59 | กรัม |
| TEMED | 46 | ไมโครลิตร |
| H ₂ O | 10 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ใช้ผสมกับ crude extract เพียง 10 %

การเตรียมทีช้อมเอนไซม์ (Micales, 1986., Tanksley และ Orton, 1986., Soltis และ Soltis, 1989., Oudemans และ Coffey, 1991)

Acid phosphatase

| | | |
|--|--------|-----------|
| ACP 1 | 100 | มิลลิลิตร |
| 0.5 M MgCl ₂ · 6H ₂ O | 1 | มิลลิลิตร |
| Fast Garnet GBC salt | 75 | มิลลิกรัม |
| 1% naphthyl acid phosphate Na ใน 40% ethanol | 3 | มิลลิลิตร |
| วิธีเตรียม ACP 1 stock solution | | |
| sodium acetate (anhydrous) | 11.458 | กรัม |
| galcial acetic acid | 3.6 | มิลลิลิตร |
| 40 % ethanol | 25 | มิลลิลิตร |

เทสารละลายทีช้อมลงในก่องช้อมสี นำแผ่นเจลแช่ในสารละลาย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในที่มืด เมื่อแถบสีปรากฏให้ fix ด้วย 50 % ค้างคืน

Alcohol dehydrogenase

| | | |
|---|-----|-----------|
| Tris 0.1 M (tris 12.1 ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร) pH 7.5 | 100 | มิลลิลิตร |
| NAD ⁺ | 30 | มิลลิกรัม |
| NBT or MTT | 20 | มิลลิกรัม |
| PMS | 4 | มิลลิกรัม |
| Ethanol | 6 | มิลลิลิตร |

Esterase

| | | |
|-------------------------------|------|-----------|
| 0.1 M phosphate buffer pH 6.0 | 100 | มิลลิลิตร |
| Fast blue BB salt | 0.15 | กรัม |

| | | |
|------------------|---|-----------|
| naphthyl acetate | 3 | มิลลิลิตร |
|------------------|---|-----------|

6-Phosphogluconate dehydrogenase

| | | |
|---|-----|-----------|
| Tris 0.1 M (tris 12.1 ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร) pH 7.5 | 100 | มิลลิลิตร |
| MgCl ₂ · 6H ₂ O | 98 | มิลลิกรัม |
| NADP ⁺ | 30 | มิลลิกรัม |
| NBT or MTT | 20 | มิลลิกรัม |
| PMS | 4 | มิลลิกรัม |
| 6-Phosphogluconic acid | 20 | มิลลิกรัม |

Peroxidase

| | | | |
|---------|-------------------------------|-------|-----------|
| stock A | 3-amino-9-ethylcarbasole | 0.42 | กรัม |
| | naphthyl acid phosphate | 0.29 | กรัม |
| | acetone | 200 | มิลลิลิตร |
| stock B | Tris | 1.89 | กรัม |
| | acetic acid | 2.025 | มิลลิลิตร |
| | ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ | 1,250 | มิลลิลิตร |
| stock C | H ₂ O ₂ | 30% | |

ผสม stock A: stock B: stock C ในอัตราส่วน 20: 80: 1

Malate dehydrogenase

| | | |
|---|-----|-----------|
| Tris 0.1 M (tris 12.1 ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร) pH 7.5 | 100 | มิลลิลิตร |
| NAD ⁺ | 30 | มิลลิกรัม |
| NBT or MTT | 20 | มิลลิกรัม |
| PMS | 4 | มิลลิกรัม |
| 1 M DL-malate | 3 | มิลลิลิตร |

Shikimate dehydrogenase

| | | |
|--|-----|---------|
| Tris 0.1 M (tris 12.1 ๓๓๓๓น้ำ 1000 มลลลลลล) pH 7.5 | 100 | มลลลลลล |
| NADP ⁺ | 15 | มลลลลลล |
| NBT or MTT | 20 | มลลลลลล |
| PMS | 4 | มลลลลลล |
| shikimic acid | 100 | มลลลลลล |

Glutamate-oxaloacetate-transaminase

| | | |
|-------------------------------|-----|---------|
| 0.1 M phosphate buffer pH 7.0 | 100 | มลลลลลล |
| 0.3 % pyridoxal-5-phosphate | 3 | มลลลลลล |
| L-aspartic acid | 100 | มลลลลลล |
| 10 % α-ketoglutaric acid | 1 | มลลลลลล |
| Fast blue BB salt | 100 | มลลลลลล |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นายศุวิชา บุญเลี้ยง เกิดวันที่ 17 พฤษภาคม 2517 ที่จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2538 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2539 โดยได้รับทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) และทุนผู้ช่วยสอนจากบัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย