

ภาคผนวก

วัสดุและอุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวที่มีลักษณะการผสมตัวเองไม่ที่คัดเลือกแล้วจำนวน 13 สายพันธุ์
2. จานเลี้ยงเชื้อ (petridish)
3. หลอดทดลอง (test tube)
4. ปีกเกอร์ (beaker)
5. กระบอกตวง (cylinder)
6. แท่งแก้วคน
7. ข้อนตักสาร
8. เทอร์โมมิเตอร์
9. คีม (forcep)
10. สไลด์
11. cover slip
12. เข็มเย็บปลายแหลม
13. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
14. ขวดสีชา
15. ถังกระดาษคลุมดอก
16. ป้ายแสดงรายละเอียด
17. เชือกขนาดเล็ก , ด้าย
18. ถาดอลูมิเนียม
19. กล้องฟิล์ม
20. ฝารีลัน
21. กระดาษเพาะเมล็ด
22. กระดาษกรองเบอร์ 1
23. น้ำยาทาเล็บแบบใส
24. ตูเย็น
25. หม้อต้มน้ำ (waterbath)

26. เครื่องเหวี่ยง
27. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
28. กล้องจุลทรรศน์แบบ fluorescent
29. เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Electrophoresis power supply)
30. Electrophoresis chamber

ภาคผนวก ข

สารเคมี

1. สารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N
3. 0.2% Aniline blue ใน 2% $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$
4. glycerol
5. Tris (hydroxymethyl) aminomethane
6. กรดไฮโดรคลอริก 1 N
7. N,N,N',N'-tetramethyl aminomethane
8. acrylamide
9. N,N'-methylene bisacrylamide
10. ammonium persulphate
11. Bromphenol blue
12. glycine
13. KNO_3
14. KH_2PO_4
15. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
16. $CaNO_3$
17. H_3PO_3
18. $MnSO_4 \cdot H_2O$
19. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$
20. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
21. $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$
22. $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
23. Na_2 EDTA
24. ยาสีฟันและยาฆ่าเชื้อรา เช่น อโซดริน , เบนเลท

ภาคผนวก ค

วิธีการเตรียม Hoagland's solution (Hoagland and Arnon, 1952)

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution)

stock 1 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1,000 ml

KNO_3	101.11 g
KH_2PO_4	27.21 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	98.60 g

stock 2 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1,000 ml

CaNO_3	295.18 g
-----------------	----------

stock 3 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1,000 ml

H_3PO_3	0.71 g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.45 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.02 g
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.02 g

stock 4 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1,000 ml

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.39 g
Na_2EDTA	1.86 g

การเตรียมสารละลาย stock 4 แบ่งปริมาตรเป็นสองส่วนเท่ากัน ส่วนหนึ่งเตรียม Na_2EDTA อีกส่วนหนึ่งเตรียม $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ โดยละลายสารในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แล้วปรับปริมาตรแต่ละส่วนเป็น 500 ml เทสารละลายทั้งสองรวมกัน

การเตรียมสารละลาย (working stock) สำหรับใช้จริง 1,000 ml

stock 1	4 ml
stock 2	5 ml
stock 3	4 ml
stock 4	4 ml

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารละลายสำหรับงานอิเล็กโทรโฟรีซิส

1. การเตรียม Tris buffer 0.1 M pH 8.2

stock A : 0.1 M tris (hydroxymethyl) aminomethane (12.1 g/1000 ml)

stock B : 0.1 M HCl (9.85 ml/1000 ml)

stock C : stock A 50 ml + stock B 21.9 ml เติมน้ำให้ครบ 200 ml ปรับ pH 8.2

เวลาจะใช้ Tris buffer 0.1 M pH 8.2 บดตัวอย่างพืช จะใช้ stock C 50 ml เติมน้ำให้ครบ 100 ml ปรับ pH ให้ได้ 8.2

2. การเตรียม electrode buffer (Tris buffer 0.1 M pH 8.3)

Tris 6.0 g

glycine 28.8 g

เติมน้ำจนครบ 1000 ml ปรับ pH 8.3 โดยใช้ NaOH เมื่อจะใช้ให้เติมน้ำกลั่นอีก 10 เท่า

3. การเตรียม Phosphate buffer 0.1 M pH 6.0

stock A : 0.1 M monobasic potassium phosphate (KH_2PO_4) (13.6 g/1000 ml)

stock B : 0.1 M dibasic potassium phosphate (K_2HPO_4) (17.9 g/1000 ml)

stock C : stock A 87.8 ml + stock B 12.3 ml เติมน้ำให้ครบ 200 ml ปรับ pH 6.0

4. การเตรียม Acetate buffer 0.5 M pH 4.8

stock A : 0.5 M solution of acetic acid (28.86 g/1000 ml)

stock B : 0.5 M solution of sodium acetate (41.0 g of $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$ หรือ 68.0 g of $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ /1000 ml)

stock C : stock A 20.0 ml + stock B 30.0 ml เติมน้ำให้ครบ 100 ml ปรับ pH 4.8

5. อัตราส่วนการเตรียมเจล 7.5%

	Running gel				Stacking gel			
Sol ⁿ	A	C	H ₂ O	F	B	C	H ₂ O	F
Size	(ml)	(ml)	(ml)	(μl)	(ml)	(ml)	(ml)	(μl)
2L+2S	7.5	17.15	35.35	300	1.25	3.04	5.72	38
2L	5.62	12.87	26.51	225	0.83	2.03	3.81	25.3
2S	1.88	4.29	8.84	75	0.42	1.01	1.91	12.7

6. อัตราส่วนการเตรียมเจล 8.5%

	Running gel				Stacking gel			
Sol ⁿ	A	C	H ₂ O	F	B	C	H ₂ O	F
Size	(ml)	(ml)	(ml)	(μl)	(ml)	(ml)	(ml)	(μl)
2L+2S	7.5	18.21	34.29	300	1.25	4.04	7.6	50.16
2L	5.62	13.66	25.72	225	0.83	2.69	5.07	33.44
2S	1.87	4.55	8.57	75	0.42	1.35	2.53	16.72

7. การเตรียมสารละลายเพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์

7.1 Peroxidase

Stock A : 3-amino-9-ethycarbazole 0.42 g

β-naphthol 0.29 g

acetone 200 ml

keep in dark and cool condition

Stock B : Tris buffer 0.1 M pH 4.0

tris-(hydroxymethyl) aminomethane 1.89 g

acetic acid 2.025 ml

H₂O adjust 1250 ml

keep in dark and cool condition

Stock C : Hydrogen peroxide 3%

H₂O₂ 30% 10 ml

H₂O adjust 100 ml

fresh preparation

เวลาจะใช้มีอัตราส่วนระหว่าง Stock A : Stock B : Stock C = 20 : 80 : 1

7.2 Esterase

Phosphate buffer (0.1 M pH 6.0) 100 ml

Fast blue BB หรือ BN salt 150 mg

α -naphthyl acetate 3 ml (dilute 0.1 g in absolute alcohol 10 ml)

filtrate in dark condition

7.3 Acid Phosphatase

Acetate buffer (0.5 M pH 4.8) 100 ml

Fast Blue B-salt 100 mg

α -naphthyl acid phosphate (Monosodium salt) 100 mg

MgCl₂ 10 หยด

filtrate in dark condition

ภาคผนวก จ

ตารางที่ ฅ1. จำนวนฝัก จำนวนเมล็ดของดอกตูมและดอกบาน และเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดที่ได้จากการตรวจสอบลักษณะการผสมตัวเองไม่ติดโดยวิธีผสมดอกตูมและดอกบานในข้อเดียวกัน

พันธุ์	จำนวนฝัก		จำนวนเมล็ด		%การติดเมล็ด	สรุปผล
	ดอกตูม	ดอกบาน	ดอกตูม	ดอกบาน		
18-1-1	15	15	46	14	30.43	SI
27-1-3	15	15	55	25	45.45	SI
56-1-1	15	15	30	20	66.66	WSI
59-10	15	15	45	9	20.00	SI
62-2-2	15	15	54	18	33.33	SI
68-2	15	15	37	12	32.43	SI
75-2-2	15	15	68	15	22.06	SI
77-9-2	15	15	60	27	45.00	SI
80-8	15	15	40	10	25.00	SI
84-1-1	15	15	46	20	43.48	SI
87-3-1	15	15	45	0	0.00	SI

ตัวย่อ SI : self-incompatibility

WSI : weak self-incompatibility

* : ไม่สามารถนับได้

ตารางที่ ๘2 เปอร์เซ็นต์การงอกของเกสรตัวผู้ในก้านชูเกสรตัวเมียที่ได้จากการตรวจสอบลักษณะการผสม
ตัวเองไม่ติดโดยวิธีตรวจสอบหลอดเกสรตัวผู้ในก้านชูเกสรตัวเมีย (FM)

พันธุ์	ไม่ได้ผสม		ผสมตัวเอง		ผสมข้าม		สรุป
	ดอกตูม	ดอกบาน	ดอกตูม	ดอกบาน	ดอกตูม	ดอกบาน	
	%	%	%	%	%	%	
18-1-1	0	0	30	0	100	30	SI
	0	0	30	30	100	50	
	0	0	30	0	100	50	
27-1-3	0	0	50	30	50	30	WSI
	0	30	30	50	50	50	
	0	0	50	50	50	50	
54-8	0	50	*	30	30	30	SI
	0	0	30	0	100	30	
	0	30	30	30	50	50	
56-1-1	0	50	30	100	30	50	WSI
	0	30	30	50	50	50	
	0	0	30	50	50	50	
59-10	0	0	50	0	50	50	SI
	0	0	30	30	30	50	
	0	0	30	0	30	50	
62-2-2	*	50	100	30	50	100	SI
	0	30	50	30	50	50	
	0	30	50	50	50	50	
68-2	0	30	30	30	50	50	SI
	0	30	*	30	50	100	
	0	30	*	50	30	50	
75-2-2	*	0	*	30	50	50	SI
	0	0	50	50	50	30	
	0	0	100	30	50	50	

ตารางที่ ผ2 เปอร์เซ็นต์การงอกของเกสรตัวผู้ในก้านชูเกสรตัวเมียที่ได้จากการตรวจสอบลักษณะการผสม
ตัวเองไม่ติดโดยวิธีตรวจสอบหลอดเกสรตัวผู้ในก้านชูเกสรตัวเมีย (FM) (ต่อ)

พันธุ์	ไม่ได้ผสม		ผสมตัวเอง		ผสมข้าม		สรุป
	ดอกตูม	ดอกบาน	ดอกตูม	ดอกบาน	ดอกตูม	ดอกบาน	
	%	%	%	%	%	%	
77-9-2	0	50	50	50	100	*	WSI
	0	30	100	100	*	100	
	0	30	*	50	50	100	
80-8	0	0	30	0	30	30	SI
	0	0	30	0	0	*	
	0	0	30	0	30	30	
84-1-1	0	30	30	50	100	30	WSI
	0	30	30	50	30	30	
	0	30	50	30	100	50	
87-3-1	0	30	50	0	50	30	SI
	*	*	50	30	30	30	
	0	30	50	0	30	30	

ภาคผนวก จ

แบบบันทึกลักษณะผักกาดหัวเบื้องต้น

4.1.3 Seedling leaf (marginal incisions)

See Fig. 1

- 0 Entire
- 1 Crenate
- 2 Dentate
- 3 Serrate
- 4 Undulate
- 5 Doubly dentate
- 6 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

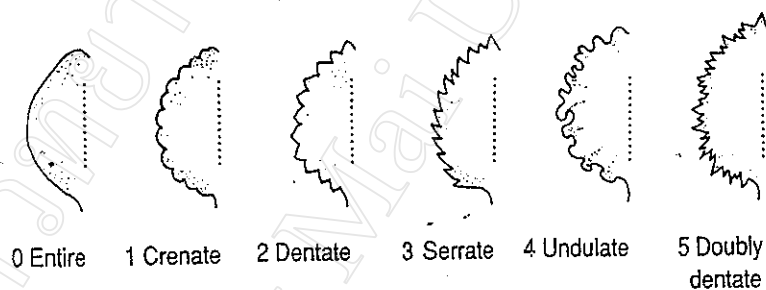


Fig. 1. Leaf division, margin

4.1.4 Seedling pubescence

- 0 Glabrous
- 1 Very sparse (few on leaf margins only)
- 3 Sparse
- 5 Intermediate
- 7 Abundant

4.1.5 Juvenile development

Rate of covering the ground

- 3 Slow
- 5 Intermediate
- 7 Fast

4.1.6 Cotyledon retention

- 3 Early drop
- 7 Nondropping

4.2.81 Head cover from subtending leaves

See Fig. 16

- 0 Apex fully exposed
- 2 Low (apex visible)
- 4 Intermediate
- 6 High (only top of head visible)
- 8 Apex fully covered by overlapping or twisted leaves

4.2.82 Root, shape in longitudinal section

See Fig. 23

- 1 Nonswollen tap root
- 2 Triangular
- 3 Cylindric
- 4 Elliptic
- 5 Spheric
- 6 Transverse elliptic
- 7 Inverse triangle
- 8 Apically bulbous
- 9 Horn
- 10 Branched
- 11 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

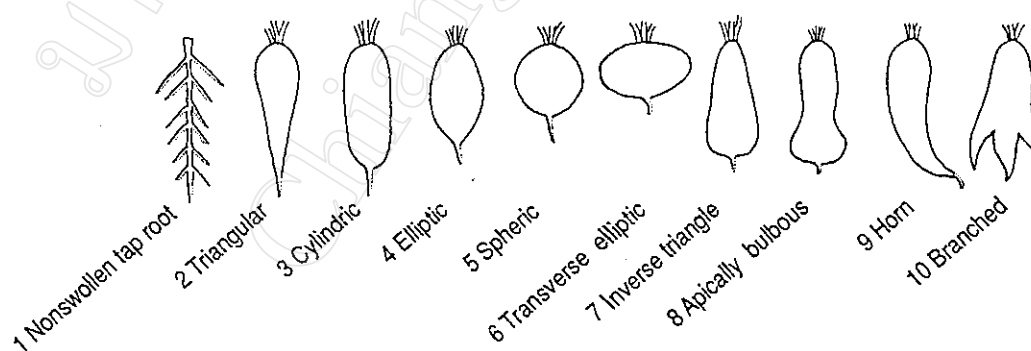


Fig. 23. Root, shape in longitudinal section

4.2.83 Root length in relation to width

- 3 Short
- 5 Intermediate
- 7 Long

4.2.84 Root length [cm]

Measure storage portion

4.2.85 Root diameter [cm]

Measure at widest point

4.2.86 Root width/length ratio

Compute ratio 4.2.85/4.2.84

4.2.87 Root weight [g]4.2.88 Root, shape of shoulder

See Fig. 24

- 3 Concave
- 5 Plane
- 7 Convex

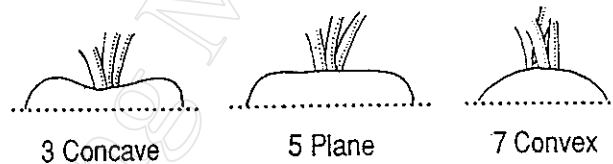


Fig. 24. Root, shape of shoulder

4.2.89 Root, shape at base

See Fig. 25

- 1 Acute
- 3 Obtuse
- 5 Convex
- 7 Plane
- 9 Concave

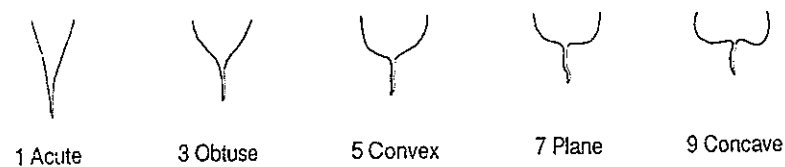


Fig. 25. Root, shape at base

4.2.90 Root skin surface texture

- 3 Smooth
- 5 Intermediate
- 7 Coarse

4.2.91 Root exterior colour pattern

- 0 Uniform
- 1 Bicolour
- 2 Multicolour
- 4 Mixed colours
- 5 Lateral root grooves of different colour than root
- 6 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

4.2.92 Exterior root colour

If more than one colour, specify the colours

- 1 White
- 2 Yellow
- 3 Green
- 4 Pink
- 5 Red
- 6 Purple
- 7 Bronze
- 8 Brown
- 9 Black
- 10 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

4.2.93 Interior root colour

If more than one colour, specify the colour

- 1 White
- 2 Yellow
- 3 Green
- 4 Pink
- 5 Red
- 6 Purple
- 7 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

4.2.94 Root flesh colour distribution in transverse section

See Fig. 26

- 1 Uniform
- 2 Colour in cortex and cambium
- 3 Colour radially distributed in stellate pattern
- 4 Concentric rings of colour
- 5 Irregular distribution
- 6 Other (specify in the NOTES descriptor, 11)

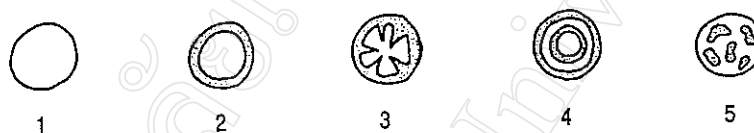


Fig. 26. Root, flesh colour distribution in transverse section

4.2.95 Root flesh texture

- 1 Crisp
- 2 Pithy
- 3 Fibrous

4.2.96 Root pungency

- 3 Mild
- 5 Intermediate
- 7 Strong

4.2.97 Position of 'bulb' in soil

See Fig. 27

- 3 Mostly buried
- 5 Half buried
- 7 Largely above the soil line

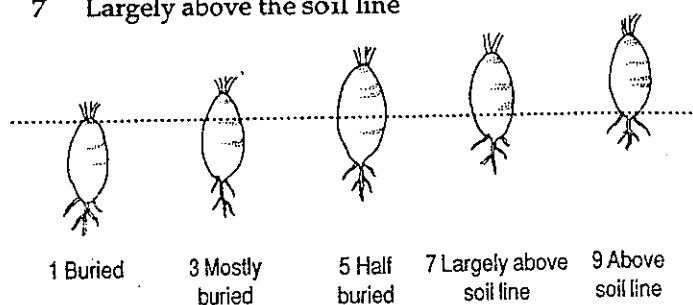


Fig. 27. Position of 'bulb' in soil

4.2.98 Root, lateral root emergence on 'bulb'

See Fig. 28

- 0 Absent
- 3 Lower portion
- 5 Lower half
- 7 More than half

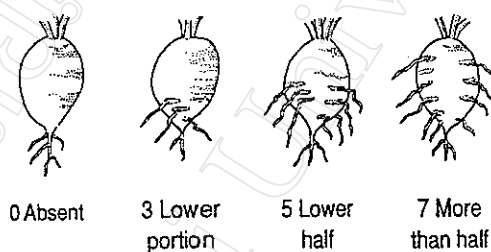


Fig. 28. Root, lateral root emergence in bulb

4.2.99 Lateral root-groove tissue 'scars'

See Fig. 29

- 0 Absent
- 3 Narrow
- 5 Intermediate
- 7 Wide

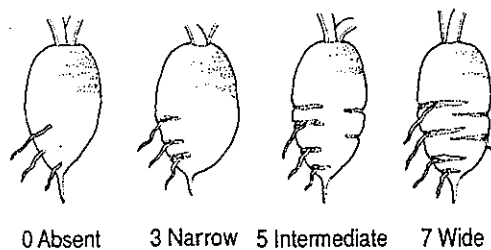


Fig. 29. Lateral root-groove tissue 'scars'

ประวัติการศึกษา

ชื่อ นางสาวมณฑิรา ภูติวรนาถ
วัน เดือน ปี เกิด 15 ตุลาคม 2515
ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนนารีรัตน์ จังหวัดแพร่
ปีการศึกษา 2532
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ปีการศึกษา 2536