1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย LB (Luria Bertaini) medium (Sambrook, *et. al.*, 1989)

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
เติมน้ำให้ได้	1000	มิลลิลิตร

2. เอนไซม์ RNase A

เตรียมโดยการชั่ง RNase A 10 มิลลิกรัม และละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร แล้วต้มในน้ำเดือด 10 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เก็บที่ – 20 °C เอนไซม์จะยังคงทำงานได้ดีแม้จะผ่านการ Freeze-thaw หลายครั้ง

3. การเตรียมยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการคัดเลือก *E. coli* transformation จะเก็บ Stock ที่ – 20 °C สำหรับยาปฏิชีวนะ คือ Ampicillin (100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) โดยการชั่ง Ampicillin sodium salt 0.1 กรัม ละลายด้วย น้ำกลั่นปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร

4. สารละลายในการสกัดโครโมโซม (Doyle and Doyle, 1990)

4.1 CTAB isolation

- 2% (v/v) CTAB
- NaCl ความเข้มข้น 1.4 โมลาร์
- 0.2% (v/v) 2-mercaptoethanol

4.2 Phenol:Chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1 v/v)

ทำการผสม Chloroform และ Isoamyl alcohol ด้วยอัตราส่วน 24 :1 ไปผสมกับสาร ฟีนอลอิ่มตัวปริมาตรที่เท่ากัน ส่วนใหญ่จะผสมกับฟีนอลอิ่มตัวเมื่อจะใช้ ถ้าต้องการจะเก็บไว้ทีหลังผสมกันแล้ว ให้เติม 0.1 M Tris-HCl pH 8.0 เพื่อปิดสารละลาย เก็บในขวดสีเข้มที่อุณหภูมิ 4 °C

4.3 Wash buffer

- 76% (v/v) Ethanol
- ammonium acetate ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

5. TE buffer
   - Tris-HCl pH 7.4 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์
   - EDTA ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

6. TAE buffer (50x) ปริมาตร 1 ลิตร
   - Tris. Base 242 กรัม
   - glacial acetatic acid ปริมาตร 57.1 มิลลิลิตร
   - EDTA (pH 8.0) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7. TBE buffer (10x) ปริมาตร 1 ลิตร
   - Tris. Base 108 กรัม
   - Boric acid 55 กรัม
   - EDTA (pH 8.0) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

8. DNA Marker
   - 100 bp
   - Dye
   - DI water

9. Ethidium bromide (10 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)

Ethidium bromide 1 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร กวนด้วยการใช้ magnetic sterrer จนกว่าจะละลาย ห่อ ด้วย Foil หรือ เก็บใส่ขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง

ต้องสวมถุงมือระหว่างเตรียม ระวังอย่าหายใจเอาผง Ethidium bromide เข้าไประหว่างการเตรียม เพราะผงของสารนี้ มีคุณสมบัติเป็น strong mutagen

10. สารละลายที่ใช้ในการตกตะกอน DNA

Sodium acetate pH 5.2 ความเข้มข้น 3 โมลาร์

ชั่ง Sodium acetate •3 H_2O 408.1 กรัม ละลายในน้ำให้ได้ปริมาตรประมาณ 750 มิลลิลิตร เติม Glacial acetic acid จนได้ pH 5.2 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร และ sterile โดยการ Autoclave

11. เตรียม T-dot-E buffer

- Tris-HCl ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์
- EDTA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

12. EDTA ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

ชั่ง Disodium ethylenediamine tetraacetate•2 H_2O 136.1 กรัม เติมน้ำ 800 มิลลิลิตร กวนอย่างแรงโดยการใช้ Magnetic sterrer เติมเกล็ด NaOH ลงไปให้ได้ pH 8.0 ปรับปริมาตร ให้ได้ 1000 มิลลิลิตร แล้ว Autoclave

13. สารละลายที่ใช้ในการสกัด plasmid (Holmes and Quiqley, 1981)

STET

- 8 % sucrose
- 0.1 % Triton X-100
- EDTA ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์
- Tris pH 8.0 ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์

14. สารละลายที่ใช้ในการ Hybridization (ตามวิธีการของบริษัท Boehringer Mannheim)

14.1 Pre-hybridize

- 5x ssc
- 1 % (x/v) N-lauroylsacrosine
- 1 % blocking buffer
- 0.02 % SDS

14.2 Hybridize

- 5x SSC
- 1 % (x/v) N-lauroylsacrosine
- 1 % blocking buffer
- 0.02 % SDS
- GT-probe

14.3 Washing solution I

- 2x SCC 100 ml
- 0.1% SDS

14.4 Washing solution II

- 0.1x SSC
- 0.1 % SDS

14.5 Washing buffer (200 ml)

- Maleic acid buffer 194 ml
- Tween® 20 6 ml

14.6 การเตรียม Maleic acid buffer 250 ml

โดยการชั่ง Maleic acid (MW = 63) มา 4 กรัมแล้วเติม 5M NaCl 7.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น จนครบปริมาตร 250 มิลลิลิตรนำไป Autoclave

14.7 Blocking solution

- 1 % blocking reagent (w/v) in Maleic acid buffer

14.8 Detection buffer

- Tris pH 9.5 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
- NaCl ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
- $MgCl_2$ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

15. การเตรียม $MgCl_2$ ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ละลาย $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 20.3 กรัมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไป Autoclave

16. การเตรียม 10 % SDS

ละลาย SDS 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร อาจอุ่นจนละลาย เก็บที่อุณหภูมิห้อง

17. การเตรียม 20x SSC

ละลาย soduim chloride 175.3 กรัม และ sodium citrate 88.2 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตรจนละลายหมดปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย 1.0 NaOH และปรับปริมาตรให้ได้ เป็น 1000 มิลลิลิตร sterile ด้วยการ Autoclave

18. การเตรียม 1 M Tris-HCl

ละลาย Tris base 121.1 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตร ปรับ pH โดยการใช้กรด HCl เข้มข้นจนกระทั่งได้ pH ที่ต้องการ (pH 7-8) แล้วปรับปริมาตรจนได้ 1000 มิลลิลิตร sterile ด้วยการ Autoclave

19. การเตรียม Tris ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ละลาย Tris base 121.1 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตรปรับ pH โดยการใช้กรด HCl เข้มข้นจนกระทั่งได้ pH 9.5 แล้วปรับปริมาตรจนได้ 1000 มิลลิลิตร sterile ด้วยการ Autoclave

20. ลำดับเบสของ adapter

5′CTAAGGCCTTGCTAGCAGAAGC3′

5′GCTTCTGCTAGCAAGGCCTTAGAAAA3′

21. 1 unit ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ หมายความว่า ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยดีเอ็นเอปริมาณ 1 ไมโครกรัม ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 60 นาที ภายใต้สภาวะของแต่ละเอนไซม์

22. ปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการทดลอง

- ปาล์มน้ำมันคู่ผสม 105 เกิดจากการผสมตัวเองของปาล์มน้ำมันต้น CAM237: 666T Ekona Tenera 2/1301T Self ของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี
- ปาล์มน้ำมันคู่ผสม 109 เกิดจากการผสมตัวเองของปาล์มน้ำมันต้น IRH629: 316T Lame Tenera WA11 Self ของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี
- ปาล์มน้ำมันคู่ผสม 110 เกิดจากการผสมตัวเองของปาล์มน้ำมันต้น IRH630: 314T Nigeria T WA10 × WA11 ของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี
- ปาล์มน้ำมันคู่ผสม 116 เกิดจากการผสมตัวเองของปาล์มน้ำมันต้น DAM585: 343T DAMI T Composite ของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี

ปาล์มน้ำมันที่ใช้เป็นต้นพ่อ-แม่ เป็นเทเนอราทั้งหมดดังนั้นเมื่อทำการผสมตัวเอง ประชากรที่ได้จึงมีทั้ง เทเนอรา, ดูรา และพิสิเฟอรา ซึ่งนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้