

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงความยาวทั้งสิ้น (total length) กับอายุของปลาทุทรายระยะวัยอ่อน

อายุ	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 6	ตัวที่ 7	ตัวที่ 8	ตัวที่ 9	ตัวที่ 10	ค่าเฉลี่ย (mm) ± SD
1	1.9	2.1	2.3	2.5	2.6	2.1	2.3	2.4	2.5	2.7	2.34 ± 0.24
2	3.1	2.9	2.8	3.3	3.5	3.2	3.3	2.9	3.1	3.4	3.15 ± 0.22
3	3.8	4.2	3.5	3.9	4.1	4	3.5	3.7	3.6	3.9	3.82 ± 0.23
4	3.5	3.6	3.8	3.7	3.4	3.7	3.9	4.1	4	3.7	3.74 ± 0.21
5	3.7	3.4	4.1	3.9	3.9	3.8	4.2	3.5	3.8	3.9	3.82 ± 0.23
6	4.1	3.8	3.9	3.6	3.4	3.9	4.3	3.8	4.1	3.9	3.88 ± 0.24
7	4.2	3.7	3.9	4.2	3.8	4	4.3	4.1	3.8	3.8	3.98 ± 0.20
9	3.7	3.9	4.3	4.1	4.1	4.2	3.8	4.1	4.2	3.9	4.03 ± 0.18
11	3.5	4.1	3.3	3.6	4.1	4.3	4.1	4.4	3.9	4.3	3.96 ± 0.36
13	4	4.2	3.9	4.3	3.7	4.2	4.3	3.9	4.1	4.2	4.08 ± 0.19
15	4.9	4.8	4.5	4.2	5.3	4.3	4.4	4.5	4.7	4.7	4.63 ± 0.31
17	4.5	4.9	5.1	5.2	4.9	5.1	4.8	4.9	5.2	4.9	4.95 ± 0.20
19	5.1	5.4	5.7	4.8	4.4	5.6	4.9	5.6	5.5	5.6	5.26 ± 0.42

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)+

อายุ	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 6	ตัวที่ 7	ตัวที่ 8	ตัวที่ 9	ตัวที่ 10	ค่าเฉลี่ย (mm) ± SD
21	5.7	5.1	4.9	5.2	4.9	5.6	5.7	5.6	5.6	5.2	5.35 ± 0.31
24	5.5	5.2	5.8	5.1	5.6	5.4	5.8	5.7	5.4	5.4	5.49 ± 0.23
27	5.4	5.5	5.4	5.6	5.8	5.7	5.8	5.8	5.2	5.3	5.55 ± 0.23
30	7.2	9.3	8.1	8.9	8.3	6.8	7.1	6.9	7.2	7.3	7.71 ± 0.84
35	11.4	9.8	10.1	11.7	11.8	11.2	10.5	10.7	10.6	10.4	10.82 ± 0.64
40	13.5	14.2	13.1	15.5	12.3	13.2	14.1	15.1	13.7	14.8	13.95 ± 0.94
45	16.3	16.2	17.1	16.1	17.3	17.4	16.5	16.7	17.1	15.9	16.66 ± 0.51

สารเคมี และขั้นตอนการเตรียมสารเคมี

1 สารละลายฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

สารเคมี

40 % formaldehyde	100 ml.
distilled or tap water	900 ml.

2 Bouin's Fluid

สารเคมี

saturated aqueous picric acid solution	75 ml.
40 % formaldehyde	100 ml.
glacial acetic acid	5 ml.

3. Harris's heamatoxylin (Humason, 1979)

สารเคมี

heamatoxylin	5 g.
absolute alcohol sulfates	50 ml.
aluminum alcohol sulfates (aluminum alum)	100 ml.
mercuric oxide	2.5 g.
distilled water	1000.0 ml.

วิธีการเตรียม

ละลายผง heamatoxylin ใน absolute alcohol และ aluminum alum ละลายใน น้ำกลั่นอุ่น ผสมสารละลายทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันใน flask ขนาด 2 ลิตร นำไปต้มให้เดือดอย่างรวดเร็วบน hot plate แล้วค่อยๆเติม mercuric oxide ที่ละน้อยจนกระทั่งหมด จากนั้นทำให้สารละลายเย็นตัวลงโดยนำ flask ที่บรรจุสารละลายแช่ในน้ำเย็น เก็บไว้ในที่มืด 2 – 3 วันก่อนนำมาใช้

4. 1% alcoholic eosin (Humason, 1979)

สารเคมี

stock solution

eosin Y 100 g.

distilled water 50 ml.

95 % ethanol alcohol 490 ml.

working solution

stock solution 1 ส่วน

95 % ethanol alcohol 1 ส่วน

วิธีการเตรียม

ละลาย eosin Y ใน 95 % ethanol alcohol แล้วเติมน้ำกลั่น ซึ่งจะได้ stock solution จากนั้นทำเป็น working solution โดยเติม 95 % ethanol alcohol ใน stock solution ในอัตราส่วน 1 : 1

5 alcian blue (Chayan *et al.*, 1969)

สารเคมี

alcian blue 0.5 g.

distilled water 99 ml.

acetic acid 0.5 ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย alcian blue ในน้ำกลั่น 49.5 มิลลิลิตร และเติม acetic acid ในน้ำกลั่น 49.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

6 Best's carmine (Chayan *et al.*, 1969)

สารเคมี

stock solution

carmine 2 g.

potassium carbonate 1 g.

potassium chloride	5 g.
ammonia	20 ml.
distilled water	60 ml.
working solution	
stock solution	5 ml.
ammonia	12.5 ml.
methanol	12.5 ml.
Best's differentiator	
methanol	40 ml.
ethanol	80 ml.
distilled water	60 ml.

วิธีการเตรียม stock solution

ละลาย carmine, potassium carbonate และ potassium chloride ในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด 5 นาที ทิ้งให้เย็น เติม ammonia เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งจะได้ stock solution จากนั้นนำ stock solution มาผสม ammonia และ methanol เป็น working solution

7 Gomori incubating medium (Chayan *et al.*, 1969)

สารเคมี

3 % sodium β - glycerophosphate	10 ml.
2% sodium diethyl barbiturate	10 ml.
2 % calcium chloride	20 ml.
5 % magnesium sulfate	21 ml.
distilled water	5 ml.

8. 2 % cobalt nitrate (Chayan *et al.*, 1969)

สารเคมี

cobalt nitrate	2 g
distilled water	98 ml.

ขั้นตอนการ dehydration, infiltration และ embedding (Humason, 1979)

นำเนื้อเยื่อมาทำการดึ่งน้ำออกจากเซลล์ โดย นำเนื้อเยื่อมาผ่าน ethanol alcohol ความเข้มข้นต่างๆดังนี้

1. 70 % ethanol alcohol 2 ชั่วโมง ถึงข้ามคืน
2. 95 % ethanol alcohol 2 ชั่วโมง
3. 95 % ethanol alcohol 2 ชั่วโมง
4. absolute ethanol alcohol 2 ชั่วโมง
5. absolute ethanol alcohol ข้ามคืน

เมื่อดึ่งน้ำออกจากเซลล์แล้ว infiltration โดยผ่าน xylene และ paraplast แล้วนำเนื้อเยื่อไปฝังใน paraplast (embedding) ตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. xylene 1 ชั่วโมง
2. xylene : paraplast (1 : 1) 1 ชั่วโมง
3. paraplast I 1 ชั่วโมง
4. paraplast II 1 ชั่วโมง
5. paraplast III 1 ชั่วโมง
6. embedding