

รายละเอียดของการเตรียมสารเคมี

1. CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
NaCl	8.12	กรัม
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	4.0	มิลลิลิตร
1.0M Tris-HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติม CTAB ปริมาณ 2 กรัม และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร β -mercaptoethanol เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

2. TE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0M Tris-HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25M Na ₂ EDTA (pH 7.0)	200	ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. TAE บัฟเฟอร์เข้มข้น 50 เท่า

Tris Base	121.1	กรัม
Acetic acid	28.5	มิลลิลิตร
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	50.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

4. TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	กรัม
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

5. DNA sample buffer

Bromophenol blue	125.0	มิลลิลิตร
Xylene cyanol FF	125.0	มิลลิลิตร
Glycerol	15.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

6. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรต่อ Ethidium bromide 1 กรัม

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และเปอร์เซ็นต์จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากต้นแม่จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้ากลางสาด

ไพรเมอร์	กลางสาด 1			กลางสาด 2			กลางสาด 3			ค่าเฉลี่ย % polymorphic markers
	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	
OPA-10	2	6	25.00	2	6	25.00	2	6	25.00	25.00
OPB-04	1	11	8.33	3	8	27.27	3	8	27.27	20.96
OPB-07	3	10	23.08	2	9	18.18	2	11	15.38	18.88
OPC-04	3	10	23.08	2	10	16.67	2	11	15.38	18.38
OPC-05	4	12	25.00	5	9	35.71	2	10	16.67	25.79
OPD-03	3	11	21.43	3	9	25.00	4	10	28.57	25.00
OPT-01	2	16	11.11	5	10	33.33	2	14	12.50	18.98
OPT-08	1	15	6.25	3	13	18.75	4	14	22.22	15.74

ตารางผนวกที่ 2 จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และเปอร์เซ็นต์จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากต้นแม่
จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้าดูถู

ไพรเมอร์	ดูถู 1			ดูถู 2			ดูถู 3			ค่าเฉลี่ย % polymorphic markers
	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	จำนวน polymorphic markers	จำนวน monomorphic markers	% polymorphic markers	
OPA-10	7	5	58.33	6	5	54.55	5	7	41.67	51.52
OPB-04	7	9	43.75	7	10	41.18	6	11	35.29	40.07
OPB-07	10	6	62.50	9	6	60.00	7	8	46.67	56.39
OPC-04	12	5	70.59	12	6	66.67	7	8	46.67	61.31
OPC-05	9	6	60.00	8	5	61.54	7	6	53.85	58.46
OPD-03	10	5	66.67	8	7	53.33	12	4	63.16	61.05
OPT-01	9	8	52.94	7	9	43.75	11	9	55.00	50.56
OPT-08	10	7	58.82	12	5	70.59	11	5	68.75	66.05

ตารางผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์รูปแบบแถบสีเอ็นเอที่เหมือนต้นแม่ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้ากลางสาดและคู

ไพรมอร์	กลางสาด (%)				คู (%)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
OPA-10	87.10	70.59	73.33	77.01	13.33	26.67	13.33	17.78
OPB-04	93.55	67.65	83.33	81.51	13.33	26.67	16.67	18.89
OPB-07	80.65	79.41	83.33	81.13	16.67	13.33	10.00	13.33
OPC-04	70.97	79.41	76.67	75.68	10.00	6.67	10.00	8.89
OPC-05	54.84	76.47	83.33	71.55	16.67	13.33	16.67	15.56
OPD-03	64.52	55.88	66.67	62.36	16.67	16.67	6.67	13.34
OPT-01	54.84	61.76	53.33	56.64	10.00	6.67	13.33	10.00
OPT-08	87.10	64.71	43.33	65.05	3.33	6.67	3.33	4.44

ตารางผนวกที่ 4 จำนวนรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างจากต้นแม่ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้ากลางสาดและคู

ไพรมอร์	กลางสาด				คู			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
OPA-10	2	2	2	2	14	10	9	11
OPB-04	1	3	3	2.3	14	8	14	12
OPB-07	2	1	2	1.7	13	18	14	15
OPC-04	3	2	2	2.3	24	23	16	21
OPC-05	5	4	2	3.7	15	15	10	13.3
OPD-03	3	3	6	4.0	20	16	21	19
OPT-01	2	3	2	2.3	16	15	18	16.3
OPT-08	1	5	4	3.3	24	25	24	24.3