

### บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษานิสัยการเจริญเติบโต ลักษณะทางสัณฐานและชีวเคมีบางประการของมะม่วงแก้ว 52 สายต้น ที่คัดเลือกจากต้นแม่พันธุ์ดีบนพื้นที่ของเกษตรกร ใน 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน และต้นลูกซึ่งเป็นต้นต่อกิ่งบนต้นตอคล้ายปลูกในแปลงทดลอง ณ สถานีวิจัยเกษตรชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. ต้นแม่ในพื้นที่ของเกษตรกร ที่คัดเลือกจาก 8 จังหวัดในภาคเหนือตอนบน เป้าหมายจำนวน 52 ต้น เก็บข้อมูลในปี 2541-2542 ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐาน (เทียบจาก A systematic description of mango clones in Peninsular Malaysia (Idris and Hasrom, 1992) และ Descriptors for Mango (IBPGR, 1989)) และลักษณะที่ใช้ในการแปรรูป ดังนี้

นิสัยการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูง ความกว้างของทรงพุ่ม

ลักษณะของต้น ได้แก่ รูปทรงต้น มุมกิ่ง เปลือกลำต้น

ลักษณะของใบ ได้แก่ รูปร่างของใบ ความยาวของก้าน และโคนก้านใบ

ลักษณะของช่อดอกและดอก ได้แก่ ความยาวและความกว้างช่อดอก ตำแหน่งช่อดอก รูปทรงช่อดอก และสีของก้านช่อดอก สัดส่วนจำนวนของดอกสมบูรณ์เพศและดอกเพศผู้ วัดเมื่อดอกในช่อบาน 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

ลักษณะของผล วัดเมื่อผลแก่จัด ได้แก่ น้ำหนักของผลแก่จัด น้ำหนักของผลสุก ความกว้างของผล ความยาวของผล ความหนาของผล รูปร่างของผล ลักษณะการติดของขั้วผล (ภาพภาคผนวกที่ 1.2) ความเหนียวของก้านขั้วผล ลักษณะของไหล่ผลด้านหลัง (ภาพภาคผนวกที่ 1.3) ลักษณะของไหล่ผลด้านนอก (ภาพภาคผนวกที่ 1.4) ลักษณะจะงอยผล (ภาพภาคผนวกที่ 1.5) ลักษณะฐานของผล (ภาพภาคผนวกที่ 1.6) ลักษณะของส่วนเว้าผล (ภาพภาคผนวกที่ 1.7) รูปร่างเมื่อมองจากด้านหน้าผล รูปร่างเมื่อมองจากด้านข้างผล โพรงที่ขั้วผล สีเปลือกของผลแก่จัดและผลสุก สีของเนื้อผลเมื่อแก่จัดและผลสุก ความแน่นเนื้อไม่รวมเปลือกของผลแก่จัดและสุก น้ำหนักของเปลือก อายุการเก็บเกี่ยว (วันหลังดอกบาน 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป) ความสม่ำเสมอของขนาดผล (พิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (C.V.) ของน้ำหนักผล 100 ผล โดยคำนวณจาก (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน/ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก

มะม่วง)  $\times 100$  ) ความสม่ำเสมอของสีเปลือกผลแก่จัดและสุก สัดส่วนที่รับประทานได้ ปริมาณเส้นใยในส่วนที่กินได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids; TSS) ของเนื้อผลแก่จัดและผลสุก ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titratable Acidity; TTA) ของเนื้อเมื่อแก่จัด และเมื่อผลสุกซึ่งได้จากการไทเทรต

ลักษณะของเมล็ดรวมผนังผลชั้นใน (กะลา) ได้แก่ น้ำหนักของเมล็ดรวมผนังผลชั้นใน ความยาวของกะลา ความกว้างของกะลา และความหนาของกะลา โดยทุกลักษณะ วัด 12 ผล

2. ต้นปลูกในแปลงทดลอง ที่ได้จากการต่อกิ่ง อายุ 2 ปี ปลูกในแปลงทดลอง ณ สถานีวิจัยเกษตรชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สายต้นละ 2 ต้น ระยะปลูก 3.6 เมตร  $\times$  3.7 เมตร รวม 104 ต้น ศึกษาลักษณะทางชีวเคมี โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส ศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ในใบมะม่วง ทั้ง 52 สายต้น โดยตัดแปลงจากวิธีการของ เพิ่มพงษ์และคณะ (2538)

วิธีการทดลองในส่วนของผลมะม่วง มีดังนี้

1. การสุ่มตัวอย่าง เก็บมะม่วงจากแต่ละสายต้น สายต้นละ 100 ผล
2. การวัดก้านผล วัดความเหนียวของก้านขั้วผล โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (digital force gauges, model SHIMPO FGV-50A) และความยาวของก้านผล 12 ผล
3. การวัดขนาดผล ซึ่งน้ำหนักโดยไม่รวมก้านผลและแบ่งมะม่วงออกเป็นกลุ่มดังนี้
 

กลุ่มที่ 1	น้ำหนัก	> 333	กรัม	( < 3 ผล/กิโลกรัม)
กลุ่มที่ 2	น้ำหนัก	251-333	กรัม	( 3-4 ผล/กิโลกรัม)
กลุ่มที่ 3	น้ำหนัก	167-250	กรัม	( 4-6 ผล/กิโลกรัม)
กลุ่มที่ 4	น้ำหนัก	< 167	กรัม	( > 6 ผล/กิโลกรัม)
4. การวัดความแก่ของผล นำมะม่วงแต่ละกลุ่มไปลอยน้ำและจัดบันทึกผลที่จิมและลอย
5. การศึกษาคูณลักษณะผล แบ่งมะม่วงตามอัตราส่วนน้ำหนัก โดยเลือกมะม่วงเฉพาะผลที่จิม แบ่งเป็น 2 ชุด คือ ผลดิบแก่จัด และผลสุก (หลังจากนำไปบ่มต่อ) ชุดละ 12 ผล เพื่อนำไปศึกษาคูณลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 ผลแก่จัด เลือกผลมะม่วง 12 ผล จากทุกกลุ่มน้ำหนักทั้ง 4 กลุ่มเท่า ๆ กัน นำมะม่วงทุกผล มาบันทึกผลตามลำดับ ดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักผล ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Precia 1620) มีหน่วยเป็นกรัม
2. วัดความกว้าง ความยาว และความหนาของผลด้วยเวอร์เนีย แคลลิเปอร์ส มีหน่วยเป็นเซนติเมตร และนำมาคำนวณรูปร่างของผล (1. round 2. ovoid oblong 3. oblong elongate พิจารณาจากค่าของความยาวต่อความกว้างของผล < 1.2, 1.2-2.0 และ > 2.0 ตามลำดับ)
3. วัดสีของเปลือก 3 จุด คือ ขั้ว กลาง และปลายผล ระบบ CIE 1976 ( $L^* a^* b^*$ ) (ภาคผนวกที่ 2 และภาพภาคผนวกที่ 2.1) โดยใช้เครื่องอ่านสี (color reader, Minolta CR-10) พร้อมสังเกตและบันทึกความสม่ำเสมอของสีเปลือกผลเป็นเปอร์เซ็นต์
4. บันทึกลักษณะ ผลรูปทรงคิปกติ ลักษณะการติดของขั้วผล (1. elevated 2. level) ลักษณะของไหลผลด้านหลัง (1. slope down 2. slight curve 3. level) ลักษณะของไหลผล ด้านนอก (1. curve upwards 2. level 3. slope down) ลักษณะจะงอยผล (beak) (1. absent 2. a point 3. two points 4. prominent) ลักษณะฐานผล (base) (1. tapered 2. extended 3. necked 4. rounded 5. rounded oblique 6. tapered+rounded 7. necked+rounded) ลักษณะส่วนเว้าผล (sinus) (1. absent 2. shallow 3. deep) รูปร่างของปลายผลเมื่อมองจาก ด้านข้างผล (1. asymmetric 2. symmetric) รูปร่างของปลายผลเมื่อมองจากด้านหน้าผล (1. acute 2. round) โพรงที่ขั้วผล (basal cavity) (1. absent 2. shallow 3. deep)
5. วัดสีของเนื้อผลเมื่อแก่จัด วัดทั้ง 2 ด้านของผลด้านละ 1 จุด โดยใช้เครื่องอ่านสี
6. วัดความแน่นเนื้อไม่รวมเปลือก โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ แล้วนำมาคำนวณ ให้มีหน่วยเป็นกิโลกรัม/ตารางเซนติเมตร
7. วัดปริมาณน้ำมะม่วง ปอกเปลือกมะม่วง ด้วยมีด 2 คม ชั่งน้ำหนักส่วนเนื้อ แล้วนำไปปั่นโดยใช้เครื่องปั่นแยกกาก (juicer, National MJ-GBM) บันทึกปริมาณน้ำมะม่วงที่ แยกได้ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร
8. วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ นำน้ำมะม่วงที่แยกได้ มาวัดปริมาณของของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Digital refractometer, Atago PR-101) มีหน่วยเป็น องศาบริกซ์ วัด 3 ครั้ง

9. วัดความเป็นกรดเป็นด่าง ปีเปิดต้นน้ำมะม่วง 10 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันดีแล้วนำไปวัดความเป็นกรดเป็นด่าง โดยเครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter, Beckman)

10. วัดปริมาณกรดทั้งหมด ปีเปิดต้นน้ำมะม่วงที่ผสมกับน้ำกลั่นข้างต้น ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 25 มิลลิลิตร 3 ขวด ขวดละ 10 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ (วิธีการเตรียมแสดงในภาคผนวกที่ 2) โดยใช้อินดิเคเตอร์คือ phenolphthalein 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 30 ไมโครลิตร (วิธีการเตรียมแสดงในภาคผนวกที่ 2) ไทเทรตจนถึงจุดยุติ (ประมาณ pH 8.3-10.3) เมื่อสารละลายในขวดเป็นสีชมพูโดยไม่เปลี่ยนสี นาน 10 นาที บันทึกปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของกรดทั้งหมด เมื่อเทียบเป็นกรดซิดริก (วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวกที่ 2)

11. วัดความกว้าง ความยาว และความหนาของเมล็ด

ชุดที่ 2 ผลสุก เลือกผลมะม่วง 12 ผล โดยเลือกตามอัตราส่วนน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักผล บ่มด้วย ethrel นาน 5 วัน (ผสม ethrel 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร หรือ ethephon 900 ส่วนต่อล้านส่วน) จากนั้นนำมะม่วงทุกผล บันทึกผลตามลำดับ ดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักผลเมื่อสุกหลังบ่ม
2. วัดสีของเปลือก 3 จุด คือ ขั้ว กลาง และปลายผล เมื่อผลสุกหลังบ่ม โดยใช้เครื่องอ่านสี พร้อมสังเกตและบันทึกความสม่ำเสมอของสีเปลือกผลเหมือนในผลดิบแก่จัด
3. บันทึกลักษณะผลเหมือนในผลดิบแก่จัด (ข้อ 4.)
4. วัดสีของเนื้อผลเมื่อผลสุกหลังบ่ม วัดทั้ง 2 ด้านของผลด้านละ 1 จุด โดยใช้เครื่องอ่านสี
5. วัดความแน่นเนื้อไม่รวมเปลือกเมื่อผลสุกหลังบ่ม โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ
6. วัดปริมาณน้ำมะม่วง ปอกเปลือกมะม่วง ด้วยมีด 2 ซม ชั่งน้ำหนักส่วนเปลือกเนื้อ แล้วนำส่วนเนื้อไปปั่นโดยใช้เครื่องปั่นแยกกาก บันทึกปริมาณน้ำมะม่วงที่แยกได้
7. วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ นำน้ำมะม่วงที่แยกได้มา วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ วัด 3 ครั้ง

8. วัดความเป็นกรดเป็นด่าง ปิเปตต์น้ำมะม่วง 10 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มี น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันดีแล้ววัดความเป็นกรดเป็นด่าง โดยเครื่องวัดความเป็น กรดเป็นด่าง

9. วัดปริมาณกรดทั้งหมด ปิเปตต์น้ำมะม่วงที่ผสมกับน้ำกลั่นข้างต้นลงในขวดรูป ชมพู่ ขนาด 25 มิลลิลิตร 3 ขวด ขวดละ 10 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ โดยใช้อินดิเคเตอร์คือ phenolphthalein 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 30 ไมโครลิตร ไทเทรตจนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายในขวดเป็นสีชมพูโดยไม่เปลี่ยนสี นาน 10 นาที บันทึก ปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดเมื่อเทียบ เป็นกรดซิตริก

10. ชั่งน้ำหนักของเมล็ดรวมทั้งผนังผลชั้นใน หลังจากเอาเนื้อมะม่วงออกจากผนังผล ชั้นในจนหมด และนำไปล้างน้ำแล้ว

11. วัดน้ำหนักเส้นใย กากที่แยกได้ของมะม่วงจะถูกล้างออกจากเครื่องปั่นแยกกาก แล้วนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น อบให้แห้ง เพื่อชั่งและคำนวณหาน้ำหนักเส้นใย โดยลบส่วนที่เป็นผ้าขาวบางออก ทำสายต้นละ 3 ผล

นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และค่าความแปรปรวน ของแต่ละ ลักษณะในแต่ละสายต้น ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละ ลักษณะ

### การศึกษารูปแบบของไอโซไซมในใบมะม่วงโดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซิส

ดัดแปลงจากวิธีการของ เพิ่มพงษ์และคณะ (2538) (วิธีการเตรียมสารเคมีแสดงใน ภาคผนวกที่ 3)

#### 1. การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บใบของมะม่วงที่สะอาดไม่เป็นโรค อายุ 7 เดือน จากจำนวน 52 สายต้น ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วเช็ดให้แห้ง ตัดเส้นใบออกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่ง 3 กรัม บรรจุในถุง พลาสติก เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 2. การสกัดเอนไซม์

2.1 นำตัวอย่างใบมะม่วงที่เตรียมไว้ บดใน โกร่งที่แช่เย็น โดยใส่ไนโตรเจน เหลวขณะบดเพื่อช่วยให้บดง่ายขึ้น เติม extraction buffer ในอัตราส่วน ตัวอย่าง 3 กรัม ต่อ

extraction buffer 5 มิลลิลิตร และเติม polyvinyl-pyrrolidone (PVP) 0.36 กรัม (12 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัวอย่าง) บดให้ละเอียดและเข้ากันดี

2.2 นำส่วนผสมที่ได้จากข้อ 2.1 ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงสารชนิดควบคุมความเย็นได้ (refrigerated centrifuge) ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที แยกสารละลายใสด้านบนที่ได้ใส่ในหลอดใส่สารขนาดเล็ก (eppendrof tube) ความจุ 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อแยกตะกอนที่ตกค้างออกไป นำสารสกัดเอนไซม์ด้านบนที่ได้ใส่ในหลอดใส่สารขนาดเล็ก ความจุ 1.5 มิลลิลิตร เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 3. การเตรียม slab gel

3.1 ค่อยๆ แฉกแผ่นกระจกใสสำหรับทำ slab gel โดยใช้ spacer ที่หนา 1.00 มิลลิเมตร เป็นตัวปรับความหนาของเจล

3.2 เทสารเคมี ส่วนประกอบของเจล ที่เรียกว่า seperating gel (lower gel) ใส่ลงระหว่างแผ่นกระจกใส 2 แผ่นที่เตรียมไว้ โดยเทให้มีความสูง 12.5 เซนติเมตร จากนั้นค่อยๆ หยคน้ำกลั่นให้คลุมผิวเจลทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อเจลแข็งตัวจะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและน้ำที่คลุมผิวเจลได้ชัดเจน เทน้ำกลั่นด้านบนออก

3.3 ค่อยๆ ล้างส่วนของ seperating gel ด้วยน้ำกลั่น แล้วเท stacking gel (upper gel) ลงบน seperating gel สอดหัว (comb) แบบ 15 ช่อง ลงไประหว่างแผ่นกระจกใส ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเกิดบริเวณขอบของหัว ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 1. ความเข้มข้นของเจลที่ใช้ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

ไอโซไซม์ที่ศึกษา	% ความเข้มข้นของเจล	
	stacking gel	seperating gel
acid phosphatase	4	7.5
esterase	4	22
peroxidase	4	22

3.4 ค่อย ๆ ดึงหรือออกจาก stacking gel หยอดน้ำกลั่นเพื่อล้างช่องสำหรับใส่เอนไซม์ ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากดึงหัวออก หลังจากนั้นดูดน้ำกลั่นออกจนหมด

4. การประกอบเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิสชนิดแผ่น (slab gel electrophoresis)

ประกอบเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส เข้ากับเครื่องทำความเย็น และเครื่องจ่ายกระแสไฟจากนั้นเติม electrode buffer ลงใน chamber

5. การผ่านกระแสไฟฟ้าเพื่อจะทำ pre run

ต่อขั้วไฟฟ้าและเปิดสวิทช์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า ตั้งค่าความต่างศักย์คงที่ที่ 200 โวลต์ ทำ pre run เป็นเวลานาน 30 นาที เพื่อไล่สารที่ไม่ต้องการออกไป ปิดเครื่องเมื่อครบกำหนดเวลา

6. การใส่เอนไซม์

ใส่สารสกัดเอนไซม์ที่ผสม marker dye solution (ในอัตราส่วน marker dye solution 10 : ตัวอย่าง 90) ลงในช่องบน stacking gel โดยใช้ micro syringe ค่อย ๆ หยอดผ่าน buffer ลงในช่องเจล หลังจากนั้นเท electrode buffer ให้สูงเท่ากับระดับขอบด้านบนของแผ่นกระจกใส

ตารางที่ 2. ปริมาณสารสกัดเอนไซม์ที่ใช้ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

ไอโซไซม์ที่ศึกษา	ปริมาณสารสกัดเอนไซม์ที่ใช้ (ไมโครลิตร)
acid phosphatase	70
esterase	70
peroxidase	50

7. การผ่านกระแสไฟฟ้า

เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า จนกว่าระดับของ marker จะเคลื่อนที่มาจนห่างจากขอบด้านล่างของเจลประมาณ 2 เซนติเมตร ปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า

ตารางที่ 3. กระแสไฟฟ้า ค่าความต่างศักย์ และเวลาที่ใช้ในการผ่านกระแสไฟฟ้าในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

ไอโซไซม์ที่ศึกษา	stacking gel	separating gel	เวลาที่ใช้ในการผ่านกระแสไฟฟ้า
acid phosphatase	กระแสไฟคงที่ 30 mA	กระแสไฟคงที่ 60 mA	5 ชั่วโมง 40 นาที
esterase	กระแสไฟคงที่ 30 mA	กระแสไฟคงที่ 60 mA	4 ชั่วโมง
peroxidase	กระแสไฟคงที่ 30 mA	ค่าความต่างศักย์คงที่ 250 V	3 ชั่วโมง 36 นาที

7.1 ค่อย ๆ นำแผ่นกระจกใสออกจาก chamber และนำแผ่นเจลที่อยู่ระหว่างแผ่นกระจกใสออกมาวางบน ถาดพลาสติก เพื่อย้อมเอนไซม์ต่อไป

#### 8. การย้อมสีไอโซไซม์

เตรียมสารเคมีย้อมสีไอโซไซม์แต่ละชนิด เติลงบนถาดพลาสติก ที่มีเจลอยู่ นำไปเก็บในที่มืดในอุณหภูมิห้อง ที่ไว้จนปรากฏแถบสี (ระยะเวลา 25-120 นาที ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์) หลังจากนั้นนำแผ่นเจลล้างผ่านน้ำประปาเพื่อกำจัดสารส่วนเกินออก

ตารางที่ 4. เวลาในการย้อมเจลที่ใช้ในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

ไอโซไซม์ที่ศึกษา	เวลาในการย้อม (นาที)
acid phosphatase	120
esterase	50
peroxidase	25

#### 9. การเก็บรักษาเจล

นำแผ่นเจลใส่ในถาดพลาสติกใสที่มีน้ำยาเก็บรักษาสภาพเจล

#### 10. การบันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล

นำเจลที่ย้อมสีแล้วมาศึกษาารูปแบบของแถบโปรตีนของไอโซไซม์ สามารถกำหนดตำแหน่ง จำนวน ขนาดของแถบสีที่เกิดขึ้น บันทึกภาพถ่ายของแถบสีที่ปรากฏบนเจล เขียนแผนภาพ zymogram จากแถบโปรตีนของไอโซไซม์แต่ละชนิด แสดงค่าการเคลื่อนที่

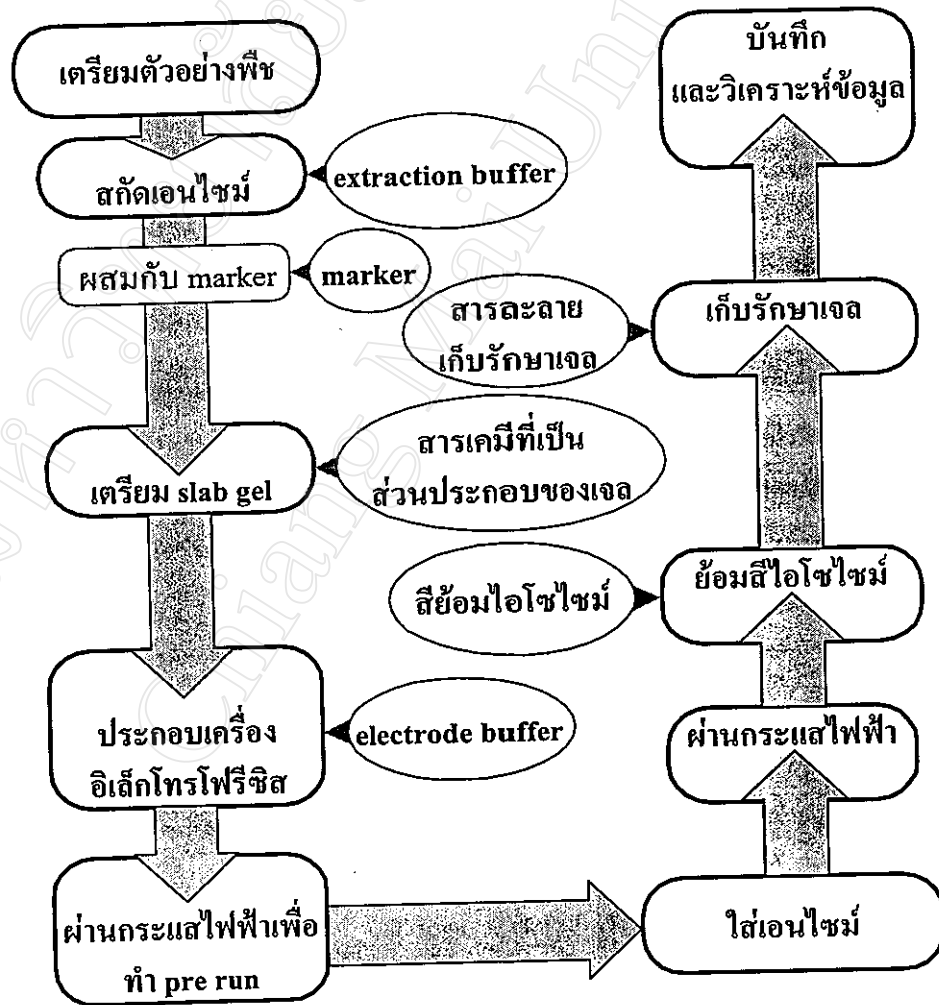


สัมพัทธ์ (relative migration, Rf) ของแถบ โปรตีนของไอโซไซม์ทั้งหมด พิจารณาการมีและ

$$\text{ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์} = \frac{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของแถบสี}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของ marker}}$$

ไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสายต้น (cluster analysis) ด้วยโปรแกรม SPSS release 6.0

ลำดับขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1. ลำดับขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

**สถานที่ทำการวิจัย**

1. สวนมะม่วงของเกษตรกรเจ้าของมะม่วงสายพันธุ์ดีท้องถิ่น 24 อำเภอใน 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน
2. แปลงปลูกมะม่วงในสถานีวิจัยเกษตรเขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University