



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

การเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการศึกษาทางสัตววิทยา

1. น้ำยาดองพยาธิและตัวอย่างสัตว์

1.1 4% formalin

40% formaldehyde	4	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนครบ	100	มิลลิลิตร

1.2 5% formalin

40% formaldehyde	5	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนครบ	100	มิลลิลิตร

2. สีย้อม

Delifield alum Haematoxylin

aluminium alum	3	กรัม
haematoxylin	0.6	กรัม

glycerine 15 มิลลิลิตร

methanol 15 มิลลิลิตร

95% ethanol 4 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร

เตรียม haematoxylin ละลายผสมกับ 95% ethanol (1)

เตรียม aluminium alum ผสมกับ น้ำกลั่น (2)

นำสารละลาย (1)+(2) มาผสมกันแล้วเติม glycerine และ methanol นำไปเก็บแล้วทำการบ่มด้วยแดดเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน ก่อนนำมาใช้

การเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการศึกษาทางอณูชีววิทยา

1. 10X TBE

Tris. Base	108	กรัม
Boric acid	57.1	มิลลิกรัม

นำสารทั้ง 2 ชนิดมาผสมกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไป autoclave

2. 0.5 M EDTA

Ethylenediaminetetraacetic acid, disodium dihydrate	136.1	กรัม
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร

ผสมและคนให้เข้ากัน ทำการปรับค่าความเป็นกรดด้วย NaOH จนได้สารละลายที่ pH 8.0 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตรแล้วนำไป autoclave

3. 1M Tris-HCl

Trisbase	121.1	กรัม
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร

ผสมและคนให้เข้ากัน ทำการปรับค่าความเป็นกรดจนได้สารละลายที่ pH 7.0-8.0 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตรแล้วนำไป autoclave

4. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิตร

Ethidium bromide	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

นำมาผสมกัน คนจนกระทั่งสารละลายละลายจนหมด จากนั้นเก็บไว้ในขวดสีเข้ม หรือห่อขวดด้วยกระดาษฟรอยด์เพื่อไม่ให้ถูกแสง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



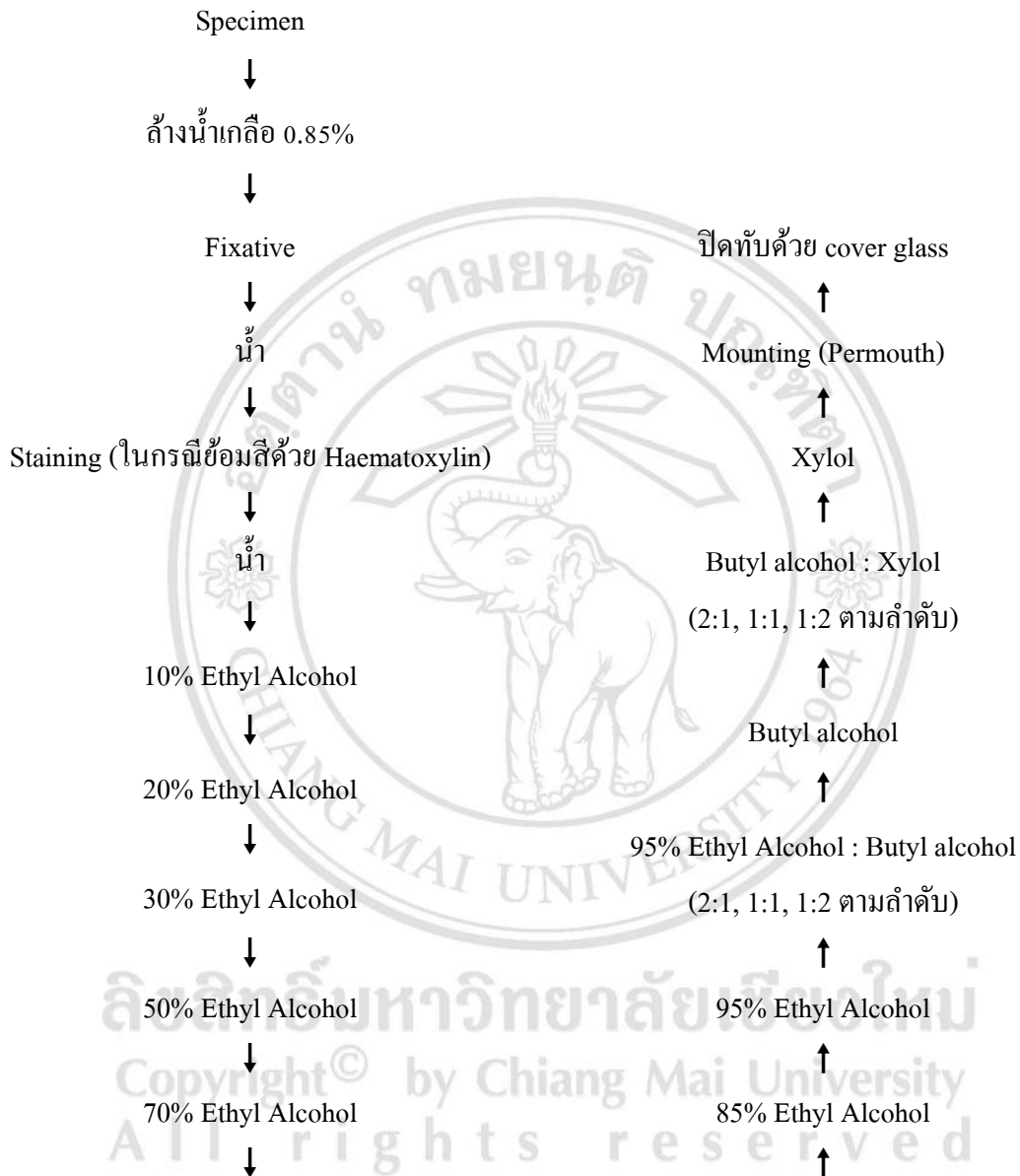
ภาคผนวก ข

การทำสไลด์ถาวร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แสดงขั้นตอนการเก็บรักษาหอนพยาธิ

การทำสไลด์ถาวร (Permanent Slide)



**Destained 70% ethyl alcohol (ในกรณีย้อมสีด้วย borax carmine)

**หมายเหตุ : destained เป็นการทำให้สีย้อม specimen ในสไลด์จางลงโดยใช้ 1 % HCl ใน 70% ethyl alcohol เมื่อจางมากและอยากให้ส่วนต่างๆ ของ specimen ติดสีให้มีลักษณะเด่นที่ต่างออกไปก็ทำการย้อมได้อีก เมื่อได้สีที่ต้องการแล้วใช้ stop destained solution ซึ่งเป็นสารละลาย 1% KOH ใน 70% ethyl alcohol



ภาคผนวก ก

การคำนวณค่าความชุกและความหนาแน่นของการติดเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณค่าความชุก (Prevalence of infection)

Prevalence of infection หมายถึง อัตราเป็นร้อยละของประชากรของโฮสต์ที่พบพยาธิชนิดที่กำลังศึกษา เป็นค่าที่บอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์และพยาธิโดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\% \text{ prevalence} = \frac{\text{จำนวนโฮสต์ที่ตรวจพบพยาธิ}}{\text{จำนวนประชากรโฮสต์ทั้งหมด}} \times 100$$

ตัวอย่าง การคำนวณค่าความชุก

จากการสุ่มจับปลาหมอไทยเพื่อนำมาตรวจสอบหาหนอนพยาธิ พบปลาที่มีการติดเชื้อของ *Gyrodactylus elegans* จำนวน 19 ตัว จากปลาทั้งหมดที่ทำการตรวจจำนวน 120 ตัว จะได้

$$\begin{aligned} \text{Prevalence} &= \frac{19}{120} \times 100 \\ &= 15.8 \% \end{aligned}$$

นั่นคือผลจากการตรวจปลาหมอไทยทั้งหมดจำนวน 120 ตัว จะพบปลาที่มี *Gyrodactylus elegans* จำนวน 19 ตัว

ถ้าตรวจปลาจำนวน 100 ตัว จะพบปลาที่มี *G. elegans* เป็นจำนวน 15.8 ตัว

เพราะฉะนั้น ค่าความชุกของปลาหมอไทยทั้งหมดที่ตรวจพบ *G. elegans* มีค่าเท่ากับร้อยละ 15.8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางคำนวณค่าความหนาแน่นของการติดเชื้อ (Intensity of infection)

Intensity of infection หมายถึง จำนวนพยาธิชนิดใดชนิดหนึ่งทั้งหมด ที่พบในโฮสต์ 1 ตัว เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความรุนแรงของการติดเชื้อพยาธิในโฮสต์ โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\text{Intensity} = \frac{\text{จำนวนทั้งหมดของพยาธิชนิดใดชนิดหนึ่ง}}{\text{จำนวนประชากรโฮสต์ที่ติดเชื้อหนอนพยาธิชนิดนั้นที่ได้รับการตรวจ}}$$

ตัวอย่าง

การคำนวณค่าความหนาแน่นที่มีค่าสูงสุด โดยพบ *Gyrodactylus elegans* จำนวน 269 ตัว ในปลาหมอไทยที่ตรวจพบทั้งหมด 19 จะได้

$$\begin{aligned}\text{Intensity} &= \frac{269}{19} \\ &= 14.1\end{aligned}$$

นั่นคือ จากการตรวจปลาหมอไทยทั้งหมด 19 ตัว พบ *Gyrodactylus elegans* จำนวน 269 ตัว

ถ้าตรวจปลาหมอไทยจำนวนทั้งหมดจำนวน 1 ตัว จะพบ *G. elegans* จำนวน 14.1 ตัว

เพราะฉะนั้นพบ *G. elegans* มีค่าความหนาแน่นจำนวน 14.1 ตัวหรือประมาณ 14 ตัว ในปลาหมอไทยจำนวน 1 ตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาคผนวก ง

ลำดับเบส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลำดับเบสดำแหน่ง ITS2 จากการศึกษาในครั้งนี้

Clinostomum sp. จาก ปลาหมอไทย

NNANNANAGTGNAGCCNNTGTGTNANNAATGTGACCTGCATACTGCTTTGAACATCGA
CCTCTTGAACGCATATTGCGGCCGCAGGATATCCTGTGGCCACGCCTGGCCGAGGGTCG
GCTTATAATCTATCACGACGCACAATAAGTCGTGGCTTGGATGTGTGCCAGCTGGCGTG
ATTTCCCGCTTGCTTAAAGTGGGGTGCCGGATCTATGGCTCCTTCCTAATGTGTCCAGCT
ACACCCAAGTCCAAAGATTATATTTGATGGACAGGGTTGTGGTGGTGGAGAATGCTCG
GGTCGTGGCTTAATGAGAATGTGATAAACGTTACGCCTGATGTCATTGTCTATCATTG
CACTCATGTTCTGGGCTTGCTCTGTAAGTACGAATATATACAATACCCTGACCTCGGAT
CAGACGTGATTACCCGCTGAATTTAAGCATAAG

Clinostomum sp. จาก ปลากะดี่หม้อ

CNNNATTGNNGTANNTNAATGTGACCTGCATACTGCTTTGAACATCGACCTCTTGAACG
CATATTGCGGCCGCAGGATATCCTGTGGCCACGCCTGGCCGAGGGTCGGCTTATAAACT
ATCACGACGCACAATAAGTCGTGGCTTGGATGTGTGCCAGCTGGCGTGATTTCTGCTT
CTTTGAAGTGGGGTGCCAGATCAATGGCTCCTTCCTAATGTGTCCAGCTACACCCAAGT
CCGAAAATGATAAATAGCGGATAGGGTTGTGGTGGTGGATAGTGCTCAGGTCGTGGCT
TAATGAGAACGGTAGAAACGTTACGCCTGATGTCATTGTCTGTTGCCTCGCCCAAATT
TGGACTGGCTCTGTAAGTATGATTTTATATATATGACCCTGACCTCGGATCAGACGTG
ATTACCCGCTGAATTTAAGCATAAC

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล (ไทย)	นางสาวภิรนนท์ กันธิยะ	
วัน เดือน ปี เกิด	26 กรกฎาคม พ.ศ. 2532	
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2550	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนจักรคำคณาทร จังหวัดลำพูน
	ปีการศึกษา 2554	วิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา (สัตววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
	ปีการศึกษา 2557	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved