ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

การเตรียมสาร

1.Buffer

0.2 M phosphate buffer saline (PBS) pH 7.8 (100 ml)

NaH_2PO_4	1.902 g
Na_2HPO_4	1.082 g
NaCl	1.700 g
Distilled water	100 ml

2.Fixative

น้ำยาคงสภาพ 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M PBS, pH 7.8 (100 ml)

25% glutaraldehyde	10 ml
0.2 M PBS	50 ml
Distilled water	100 ml

น้ำยาคงสภาพ 1% osmium tetroxide ใน 0.1 M PBS, pH 7.8 (10 ml)

2% osmium tetroxide	10 ml
0.2 M PBS	5 ml

3.Araldite 502

Araldite 502	27 g
DDSA	20 g
DMP-30	1 ml

นำ araldite 502 และ DDSA มาผสมโดยการคนให้เข้ากันนาน 15 นาที แล้วเติม DMP-30 ลงไปแล้วคนต่ออีก 15 นาที จากนั้นนำไปไล่ฟองอากาศประมาณ 5 ชั่วโมงแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $-10^{\circ}C$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.สีย้อม

1% aqueous mcthylene blue (200 ml)

Methylene blue	2 g
$Na_2B_4O_7.10H_2O$	3.8 g
Distilled water	200 ml

นำ methylene blue และ $Na_2B_4O_7.10H_2O$ มาละลายให้เข้ากันในน้ำกลั่น จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง เก็บไว้ในขวดที่ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ ห้ามโดนแสง

Mayer's hematoxylin (1000 ml)

Hematoxylin	1 g
Sodium iodate	0.2 g
Potassium alum	50 g
Aeetic acid	1 g
Chacoal hydrate	50 g
Distilled water	1000 ml

ผสม hematoxylin ให้เข้ากันในน้ำกลั่น จากนั้นเติม sodium iodate และ potassium alum แล้วนำไปต้มเพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติม acetic acid และ chacoal hydrate ผสมให้เข้ากัน

Eosin (1% alcohol eosin stock solution)

Eosin Y	1 g
Distilled water	20 ml
95% ethylalcohol	80 ml

ละลายสีในน้ำกลั่นคนให้เข้ากันแล้วค่อยเติม 95% ethylalcohol คนให้เข้ากันเก็บไว้เพื่อใช้เตรียม ต่อไป

Eosin working solution

Eosin Y stock solution	25 ml
95% Ethanol	75 ml
Glacial acetic acid	0.5 ml

ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Saturated urenyl acetate ใน 70% methanol

urenyl acetate	2 g
70% methanol	30 ml

นำ urenyl acetate มาละลายใน 70% methanol จนหมด จากนั้นเก็บสารละลายไว้ในขวดที่ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ ห้ามโดนแสง

0.1% aqeous lead citrate

Lead nitrate	1.33 g
Sodium citrate	1.76 g
1N NaOH	8 ml
CO_2-frec distilled water (น้ำกลั่นต้มเดือด)	30 ml

นำ lead citrate และ sodium citrate มาละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มและทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยด 1N NaOH จนกระทั่งสารละลายใส

การหาค่าความชุก (Prevalance) ของ *Nematopsis*

$$\text{ความชุก (\%)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งกุลาลายที่พบ } \textit{Nematopsis} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งทั้งหมด}}$$

การหาค่าความหนาแน่น (Intensity of infection) ของ *Nematopsis*

$$\text{ความหนาแน่น} = \frac{\text{จำนวน } \textit{Nematopsis} \text{ ที่พบในกุ้ง 20 ตัวของแต่ละเดือน}}{20}$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University