

การเตรียมตัวอย่างพืชอวบน้ำและพืชน้ำสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

SEM Preparation technique for Succulent plant and Aquatic plant

ยุพดี เผ่าพันธ์

นักวิจัยเชี่ยวชาญ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ตุลาคม 2564)

ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) มีความจำเป็นที่จะต้องเลือกวิธีการในการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมกับตัวอย่างประเภทนั้นๆ เพื่อให้สามารถศึกษารายละเอียดของตัวอย่างได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ สำหรับพืชที่มีความอวบน้ำ และพืชน้ำจะมีเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างแตกต่างจากพืชทั่วไปเนื่องจากพืชในกลุ่มนี้มีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมาก และเซลล์ของพืชชนิดนี้ส่วนใหญ่มีผนังเซลล์บาง การเตรียมตัวอย่างที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อของพืชกลุ่มนี้มีความผิดปกติหรือเกิดการเหี่ยว เซลล์แตก และเนื้อเยื่อฉีกขาด ทำให้ไม่สามารถศึกษารายละเอียดของตัวอย่างได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ การเตรียมตัวอย่างพืชอวบน้ำสามารถทำได้หลายวิธีการขึ้นกับผู้วิจัยจะเลือกใช้ ซึ่งวิธีการหนึ่งที่ทำให้สามารถเตรียมตัวอย่างพืชอวบน้ำและพืชน้ำได้ดี คือการทำให้ชิ้นส่วนพืชอวบน้ำและพืชน้ำให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง (Freeze drying method) ซึ่งได้มีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีการดังกล่าวกับวิธีการเตรียมตัวอย่างทางเคมีโดยการคงสภาพเนื้อเยื่อด้วย 2.5% glutaraldehyde ใน sodium phosphate buffer และ 1% osmiumtetroxide พบว่าการเตรียมตัวอย่างให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง จะทำให้เนื้อเยื่อพืชกลุ่มนี้มีลักษณะที่ค่อนข้างสมบูรณ์อยู่ที่ 89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เวลา 36 ชั่วโมง ส่วนการเตรียมตัวอย่างทางเคมีจะทำให้เนื้อเยื่อมีความสมบูรณ์ประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเตรียมตัวอย่างทางเคมีสำหรับพืชกลุ่มนี้ให้ผลให้มีความสมบูรณ์ของเซลล์น้อยกว่าการทำให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง หากใช้เวลาเพียงพอหรือเหมาะสมก็จะทำให้สามารถรักษาลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชกลุ่มนี้ไว้ได้ดีพอสมควร แต่มีข้อควรระวังหากใช้เวลาน้อยจนเกินไปวิธีการทำให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง ก็อาจจะไม่สามารถรักษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชกลุ่มนี้ไว้ได้เช่นกัน จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้เวลาต่ำกว่า 36 ชั่วโมง มีแนวโน้มว่าเซลล์พืชกลุ่มนี้จะเกิดการเหี่ยวและเสีรูปร่างมากขึ้นตามระยะเวลาที่น้อยลง ใน ซึ่งจะเห็นได้ว่าเทคนิคการทำให้ตัวอย่างพืชอวบน้ำและพืชน้ำ ให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำได้ง่าย เพียงแค่นำชิ้นส่วนของพืชไปใส่ในเครื่อง Freeze dryer ควบคุมเวลาให้เหมาะสม ก็จะได้ชิ้นส่วนพืชที่แห้งและมีโครงสร้างที่ค่อนข้างสมบูรณ์ แล้วจึงนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้อย่างมีประสิทธิภาพ วิธีนี้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ดีสำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาด และพื้นผิวของชิ้นส่วนพืชกลุ่มนี้ได้ นอกจากนี้ยังมีความปลอดภัยต่อนักวิจัยหรือผู้ที่ปฏิบัติงาน ลดอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นจากสารเคมีอีกด้วย

อ้างอิง

1. Y. Paopun and P. Thanomchat. 2017. Freeze Drying versus Chemical Fixation Technique for Scanning Electron Microscope of Succulent and Aquatic Plant Leaves, in *Microsc. Microanal. Res.* 2017, 1 (1) 28-32
2. Hayat M.A. 2000. *Principle and Techniques of Electron Microscopy Biological Applications.* Cambridge University Press. Cambridge. 543 p.