

ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ภาคตัดขวางของใบพืช ด้วยเทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

พัชรี อ่ำรุ่ง

นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2568)

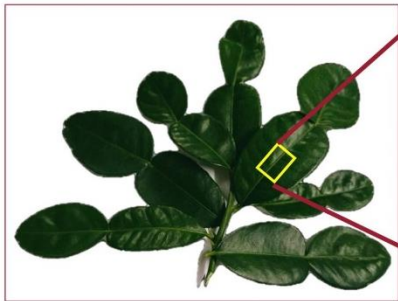
การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของใบพืชนั้นนอกจากจะนำตัวอย่างมาเตรียมด้วยเทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์ โดยมีการเตรียมตัวอย่างสไลด์ถาวรด้วยเรซิน แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องเนื้อเยื่อแบบบางพิเศษ ชนิด Ultramicrotome (ภาพที่ 1) เหมาะสำหรับตัดชิ้นงานเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะมีขีดจำกัดในการตัดชิ้นงานและมีระบบควบคุมกลไกในการตัดให้ตัวอย่างได้ความบางสม่ำเสมอ สามารถตัดได้ความบาง อยู่ช่วง 500 ถึง 1,500 นาโนเมตร วางบนแผ่นสไลด์แก้วตรึงตัวอย่างให้ติดบนแผ่นสไลด์ แล้วย้อมสีด้วย Toluidine blue และ Basic fuchsin แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ชนิด Compound Microscope พบว่าใบพืชเลี้ยงคู่ประกอบด้วยชั้นเอพิเดอร์มิส มีทั้งด้านบนและล่าง (Upper epidermis and Lower epidermis) ส่วนเนื้อเยื่อระหว่างชั้น Epidermis ทั้ง 2 ด้าน เรียกว่า มีโซฟิลล์หรือพาเรงคิมา ส่วนใหญ่เป็นเนื้อเยื่อพาเรงคิมาที่มีคลอโรพลาสต์เป็นจำนวนมากโดยทั่วไป พาเรงคิมาของพืชใบเลี้ยงคู่ เป็นเนื้อเยื่อมีเซลล์อยู่ 2 แบบด้วยกัน ทำให้กายวิภาคศาสตร์ของใบพืชแบ่งเป็น 2 ชั้น คือ ชั้น แพลซิเดมีโซฟิลล์ (Palisade mesophyll) มักพบได้ชั้น Upper epidermis ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาว เรียงตัวเป็นแถวตั้งฉากกับผิวใบคล้ายรั้วอาจมีแถวเดียว หรือหลายแถวภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์ค่อนข้างหนาแน่นมาก ส่วนที่ชั้นของสปันจีมีโซฟิลล์ (Spongy mesophyll) อยู่ถัดจาก Palisade mesophyll ลงมาจนถึง Lower epidermis ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างไม่แน่นอนเรียงตัวในทิศทางต่างกัน ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์มาก ภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์หนาแน่นแต่น้อยกว่าชั้น Palisade mesophyll ส่วนเส้นกลางใบมีมัดท่อลำเลียง (vascular bundle) คือส่วนที่เรามองเห็นเป็นเส้นใบและเส้นกลางใบ จะสังเกตเห็นมัดท่อลำเลียง ประกอบด้วยท่อไซเลมและโฟลเอ็ม อีกทั้งสามารถศึกษาลักษณะของปาก และศึกษาการสะสมของผลิตภัณฑ์สะสมในชั้นเซลล์ ที่บันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิด Compound Microscope (ภาพที่ 2)



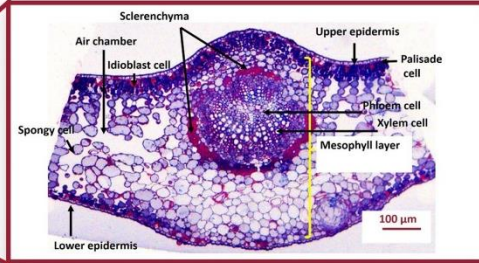
ภาพที่ 1 Ultramicrotome

Ultramicrotome เป็นเครื่องตัดชิ้นตัวอย่างให้บางพิเศษ สามารถตั้งค่าการตัดตัวอย่างให้บางพิเศษระดับนาโนเมตรสำหรับนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนได้

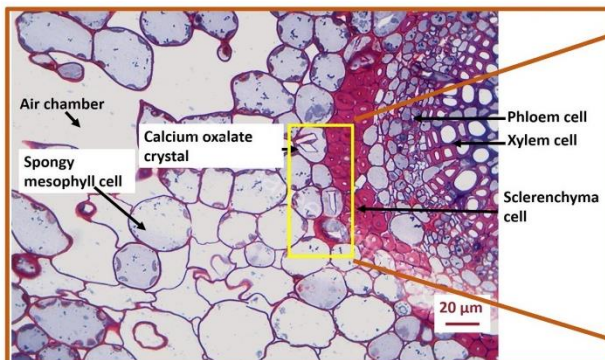
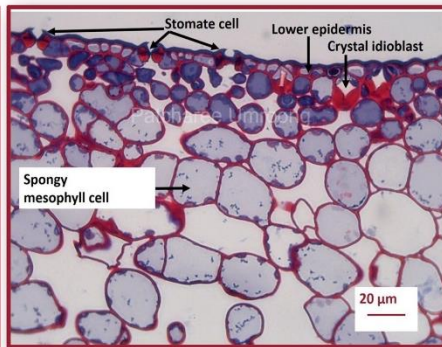
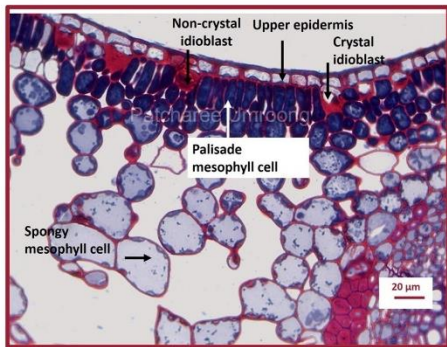
ภาคตัดขวางแกนกลางของใบมะกรูด



ใบประกอบแบบขนนกปลายใบคู่
(even - pinnately compound leaf)



ภาคตัดขวางแกนกลางใบมะกรูด หนา 1,000 นาโนเมตร
ด้วยเครื่อง Ultramicrotome ยี่ห้อ Leica รุ่น EM UC7
บันทึกภาพจากจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิด Compound
Microscope กำลังขยาย 10X สเกลบาร์ 100 ไมโครเมตร



บันทึกภาพจากจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิด Compound Microscope
กำลังขยาย 40X สเกลบาร์ 20 ไมโครเมตร

ภาพที่ 2 แสดงภาพถ่ายภาคตัดขวางแกนกลางของใบมะกรูดจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิด Compound Microscope

เอกสารอ้างอิง

1. Arthur R. Spurr, A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy, J. Ultrastructure. Res., 26, 31-43 (1969).
2. J.J. Bozzola, Electron Microscopy Principles and Techniques for Biologists, second ed., Jones and Bartlett publishers, Massachusetts, 1992.
3. Umroong P., Changjan D. and Sangsawang J. Comparative of the Morphology and Ultrastructure of Kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) leaves attacked by Citrus Canker symptoms with microscopic techniques. Microscopy and Microanalysis Research the Journal of The Microscopy Society of Thailand Res. 2022 35 (1) 21-25 pp. Published 30 June 2022.