

การตัดชิ้นเนื้อเยื่อพืชด้วยวิธี Free-hand Section เพื่อการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

Free-hand Sectioning of Plant Tissues for Light Microscopy

นางพัชรี อารุง

นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (มิถุนายน 2569)

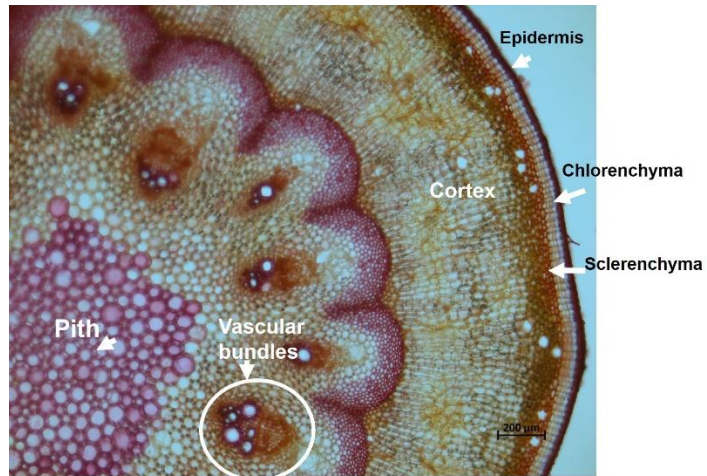
Free-hand sectioning หรือ **การตัดชิ้นเนื้อเยื่อพืชด้วยมือ** เป็นเทคนิคการเตรียมชิ้นตัดที่ใช้ใบมีดตัดตัวอย่างสดด้วยมือโดยไม่อาศัยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome) วิธีการนี้เหมาะสำหรับการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของพืชเบื้องต้น เนื่องจากมีขั้นตอนไม่ซับซ้อน ใช้อุปกรณ์พื้นฐาน และสามารถเตรียมตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วเหมาะสำหรับการเรียนงานสอนลักษณะทางกายวิภาคของพืชเบื้องต้น

- หลักการของการตัดชิ้นเนื้อด้วยมือ (free-hand sectioning) ที่สำคัญคือการตัดชิ้นตัวอย่างให้ได้ชิ้นที่มีความบางและสม่ำเสมอเพียงพอสำหรับให้แสงผ่าน เพื่อให้สามารถสังเกตโครงสร้างภายในของเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงได้อย่างชัดเจน
- คุณภาพของชิ้นเนื้อเยื่อที่ตัดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ความคมของใบมีด ความมั่นคงในการจับยึดตัวอย่าง มุมและทิศทางของการตัด ตลอดจนทักษะของผู้ปฏิบัติงาน ที่สำคัญการตัดควรดำเนินการอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ เพื่อลดการฉีกขาด การบีบอัด หรือการเสียรูปของเนื้อเยื่อ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาทางกายวิภาคของพืช
- การเตรียมตัวอย่างลำต้นบอระเพ็ด ทำการล้างส่วนเกินด้วยน้ำกลั่นโดยเบาที่สุด จากนั้นใช้ใบมีดตัดตามขวางของลำต้นให้บางที่สุดโดยตั้ง 90 องศาเซลเซียส เทคนิคที่สำคัญขณะตัดนั้นให้หยดน้ำลงบนใบมีดเล็กน้อยเพื่อเวลาที่ตัดชิ้นเนื้อเยื่อออกมาลอยติดกับใบมีดเพื่อง่ายต่อการนำชิ้นเนื้อเยื่อมาวางในจานเพาะเชื้อที่มี Sodium phosphate buffer (pH 7.2) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ อยู่ จากนั้นทำการคัดเลือกโดยใช้พู่กันแตะชิ้นเนื้อเยื่อขึ้นที่สมบูรณ์และต้องบางที่สุด ย้ายไปไว้ในจานเพาะเชื้อที่มี Sodium phosphate buffer (pH 7.2) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์เหี่ยว) นำไปทำการย้อมด้วย สีย้อม Safranin O ความเข้มข้น 1% ในน้ำกลั่น แช่ประมาณ 10 ถึง 30 นาที ล้างส่วนเกินด้วยน้ำกลั่นจนไม่มีสีละลายออกมา จากนั้นใช้พู่กันแตะชิ้นเนื้อเยื่อวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ทำการปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ซับน้ำส่วนเกินออกแล้วนำไปศึกษาโครงสร้างภายในของเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ภาพที่บันทึกด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ชนิด Compound light microscope ยี่ห้อ Carl Zeiss
รุ่น Axioscope 5 ในโหมด bright field

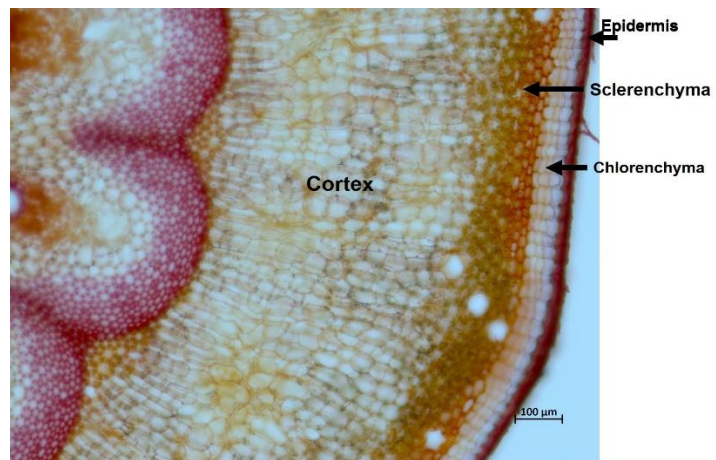
ภาพที่ 1

ภาคตัดขวางลำต้นบอระเพ็ด
ที่กำลังขยาย 5X
สเกลบาร์บนภาพ
ขนาด 200 ไมโครเมตร



ภาพที่ 2

ภาคตัดขวางลำต้นบอระเพ็ด
ที่กำลังขยาย 5X
สเกลบาร์บนภาพ
ขนาด 200 ไมโครเมตร



เอกสารอ้างอิง

- 1.ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2551). เทคนิคเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 289 หน้า.
- 2.ลินลี กาวิตะ. (2559). โครงสร้างพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 156 หน้า.