



Embed ใน tissuemat ตัด section ด้วย microtome นำ section มาติดบนสไลด์เป็น serial section โดยใช้ Haupt's adhesive<sup>1</sup> การตัด section ส่วนต่าง ๆ ของเนื้อมัดหนาไม่เท่ากัน และการย้อมสีก็มีหลายวิธี ดังจะได้อธิบายเป็นส่วน ๆ ไป

การเตรียม section ของบริเวณยอด (shoot apex) ได้ตัด shoot apex ยาว 5 มม. นับจากปลายลำต้น การตัด section บริเวณยอดได้ตัดตามยาว (longisection) หนา 4  $\mu$  และย้อมด้วย Harris' haematoxylin<sup>2</sup> กับอีกพวกหนึ่งย้อมสองสีด้วย safranin<sup>3</sup> กับ aniline blue<sup>4</sup>

---

<sup>1</sup>Haupt's adhesive ประกอบด้วย Knox gelatin 1 gm., phenol crystal 2 gm., glycerine 15 cc. และน้ำกลั่น 100 cc.

<sup>2</sup>Harris' haematoxylin เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) ดังนี้:

Haematoxylin	5	gm.
Aluminium ammonium sulphate	3	gm.
50% Ethyl alcohol	1000	cc.

<sup>3</sup>Safranin เตรียมตาม Johansen (1940) ดังนี้:

Safranin O	4	gm.
Methyl cellosolve	200	cc.
Ethyl alcohol	100	cc.
Sodium acetate	4	gm.
Formalin	8	cc.

<sup>4</sup>Aniline blue เตรียม 1% ใน 95% ethyl alcohol.

ลำต้นส่วนปล้องและบริเวณข้อ ได้ตัดเป็นท่อนเพื่อ fix ยาวประมาณ 6 มม. ถ้าจะ fix บริเวณ node จะตัดส่วน lamina ทั้งโดยเหลือโคนของ ก้านไว้ข้างละ 2 มม. ในลำต้นและบริเวณข้อได้ตัดตามขวาง (trans-section) และตามยาวหนา 8 $\mu$  และการย้อมสีในลำต้นและบริเวณข้อย้อมด้วยสอง สีคือ safranin<sup>1</sup> กับ fast green<sup>2</sup> และบางสไลด์ย้อมด้วย safranin กับ aniline blue<sup>3</sup>

เพื่อศึกษานิกของ vessel member และ perforation plate ได้ทำ maceration ของลำต้น โดยนำลำต้นมาตัดตามยาวท่อนละ 4 มม. แช่ในน้ำยา Jeffrey's solution เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นอกนั้นทำตาม Jeffrey's method (Johansen, 1940, p. 104) ย้อมด้วยสี safranin<sup>5</sup>

1.<sup>5</sup> Safranin เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) เหมือนที่ ไซย้อม shoot apex

2. Fast green เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) ดังนี้:

Methyl cellosolve	1	ส่วน
Absolute alcohol	1	ส่วน
Clove oil	1	ส่วน
Fast green	0.5	%

3. Aniline blue เหมือนที่ไซย้อม shoot apex

4. Jeffrey's solution ประกอบด้วย 10% aqueous nitric acid และ 10% aqueous chromic acid อย่างละเท่ากัน

ในการศึกษา anatomy ของใบที่เจริญเต็มที่แล้ว ได้ใช้ใบที่มีขนาด 6-7 ซม. นำมาตัดเป็นท่อน ๆ ตามยาว ๆ ท่อนละ 1 ซม. เนื่องจากใบที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วมีส่วนกว้างตรงที่กว้างราว 5.5-6 ซม. ถ้านำไป fix ทั้งหมด จะทำให้ตัด section ลำบาก ก่อนตัดเป็นท่อนจึงตัดแผ่นใบสองข้างของเส้นกลางใบออกบ้าง เหลือไว้อีกข้างละ 5 มม. เท่านั้น ได้ตัด section ของใบที่เจริญเต็มที่แล้วทั้งตามขวางและตัดให้ขนานกับผิวใบ (paradermal section) หนา  $5\mu$  ส่วนการย้อมสีย้อมและเตรียมสไลด์เกี่ยวกับที่ใช้ย้อมลำต้นและบริเวณข้อ คือย้อมควยสองสีโดยใช้ safranin กับ fast green และใช้ safranin กับ aniline blue

ใบอ่อนที่เพิ่งเกิดขึ้นจนถึงขนาดประมาณ 2 มม. ได้ใช้จากที่ติดมากับยอด โดย fix ทั้งยอด เพราะใบขนาดดังกล่าวมีขนาดเล็กมาก ไม่สะดวกที่จะนำไป fix หรือ dehydrate ต่างหาก

ส่วนใบอ่อนขนาดอื่น ๆ ที่เหลือนำเฉพาะส่วนของใบมา fix โดยไม่ต้องตัดให้ติดกับลำต้น ได้ใช้ใบขนาด 2 มม. - 1 ซม. มา fix ทั้งใบ เพราะสามารถนำใบขนาดนี้มา fix และทำคอนอื่น ๆ ได้สะดวก สำหรับใบขนาด 2 ซม. ได้นำมาตัดเป็นสองท่อน ส่วนใบขนาด 3.5 ซม. นำมาตัดเป็นสี่ท่อน เนื่องจากใบขนาด 3.5 ซม. มีส่วนกว้างตรงที่กว้างที่สุดราว 2 ซม. ถ้านำไป fix ทั้งหมดจะทำให้ตัด section ไม่สะดวก จึงได้ตัดส่วนของแผ่นใบออกบ้าง คงเหลือแผ่นใบไว้สองข้างของเส้นกลางใบข้างละ 5 มม. เช่นเดียวกับใบที่เจริญเต็มที่แล้ว ส่วนวิธีทำอื่น ๆ ทำเหมือนในใบที่เจริญเต็มที่แล้วทุกประการ รวมทั้งการย้อมสีควย ยกเว้นการตัด section อย่างเดียว คือได้ตัด section ของใบอ่อนที่มีขนาดประมาณ  $50\mu$  - 1 มม. ทั้งตามยาวและตามขวางหนา  $4\mu$  ใบขนาดอื่น ๆ ได้ตัด section ตามขวางอย่างเดียวนำขนาด 2 มม. - 1 ซม. ได้ตัดหนา  $4\mu$  และตัดใบขนาด 2 ซม. และ 3.5 ซม. หนา  $5\mu$

รากที่นำมาศึกษาเป็นรากแบบ adventitious root ซึ่งได้จากการตัดกิ่งปัก การปลูกหรือแพร่พันธุ์ของพืชนี้ก็นิยมใช้วิธีตัดกิ่งปัก เพราะการหาเมล็ดของพืชนี้ยากมาก ดังนั้นการจะเพาะเมล็ด เพื่อให้ได้ primary root จึงยากมากด้วย ได้เลือกราก adventitious root ที่มีลักษณะอวบ นำมาตัดเป็นท่อนเพื่อ fix ยาวท่อนละประมาณ 8 มม. และที่ไม่ตัดเป็นท่อนก็มี โดย fix รากทั้งยาว 2 ซม. การทำเช่นนี้เพื่อสะดวกในการทรวาระยะจากปลายรากตอนตัด section สำหรับรากได้ตัด section หนา 5µ และได้ย้อมสีสีตามวิธีที่เรียกว่า Conant's quadruple stain<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Conant's quadruple stain ประกอบด้วยสี่สีคือ safranin, crystal violet, fast green และ orange G. สูตรที่ใช้มีดังนี้:

Safranin เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) เหมือนที่ใช้ย้อม shoot apex

Crystal violet เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) ดังนี้:  
1% ในน้ำกลั่น

Fast green เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) เหมือนที่ใช้ย้อมลำต้นและบริเวณข้อ

Orange G เตรียมตามวิธีของ Johansen (1940) ดังนี้:  
1% ใน clove oil

นอกจากนี้ได้มีการทดสอบน้ำมัน (oil) ใน section สดของใบและ  
ลำต้นควายสี oil blue NA<sup>1</sup> สีเตรียมตาม King<sup>2</sup> (1947)

---

<sup>1</sup> Oil blue NA มีชื่อทางเคมีว่า 1, 4 bis amy lamino anthro-  
quinone สีที่ผลิตจากบริษัท Hartman-Leddon Company, Philadel-  
phia.

<sup>2</sup> ใช้สี oil blue NA 0.05% ละลายในส่วนผสมของ 30:30:40  
ethyl alcohol, acetone และน้ำกลั่นตามลำดับ.