

## การดองใส

สุลักษณ์ นามโชติ

การดองใสเป็นเทคนิคที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างสิ่งมีชีวิต เพื่อศึกษาโครงสร้างภายใน โดยการทำให้น้ำเยื่อตัวอย่างใส และย้อมสีส่วนที่ต้องการศึกษา เช่น

- การดองใสตัวอย่างสัตว์มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของกระดูกอ่อน กระดูกแข็ง และศึกษาความผิดปกติของโครงสร้างกระดูกเนื่องจากได้รับสารเคมี โดยกระดูกอ่อนติดสีฟ้าของ alcian blue และกระดูกแข็งติดสีแดงของ alizarin red S ส่วนลำตัวใส ได้แก่ ตัวอ่อนหนู ปลา กบ หรือ โครงกระดูกตัวอ่อนสัตว์ที่อยู่ในท้อง

- การดองใสตัวอย่างสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก เพื่อศึกษาอวัยวะภายใน โดยลำตัวใสอวัยวะภายในสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ได้แก่ หนอนพยาธิ ลูกน้ำ เห็บ ไร แมลงและแมลงใต้ดิน หรือศึกษาผนังหุ้มลำตัว (เปลือก) โดยเปลือกอ่อนติดสีฟ้าของ alcian blue และเปลือกแข็งติดสีแดงของ alizarin red S ได้แก่ กุ้ง กิ้ง

- การดองใสตัวอย่างพืช เพื่อศึกษาระบบท่อลำเลียง สปอร์ รูปแบบโครงสร้างของเส้นใบต่างๆ ได้แก่ ใบ ลำต้นของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่

### การดองใสตัวอย่างสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีหลายชนิด และขั้นตอนการดองใสก็แตกต่างกันไปตามความเหมาะสมของตัวอย่าง ซึ่งต้องคำนึงถึงขนาดของตัวอย่างประกอบไปด้วย เช่น ตัวอย่าง ขนาดเล็ก และลำตัวไม่หนาเกินไป ก็จะเก็บรักษาตัวอย่างแบบทั้งตัว (Whole mount) บนสไลด์อย่างถาวร ได้แก่ แมลงตัวเล็ก ตัวอ่อนระยะต่างๆของพยาธิใบไม้ ตัวเต็มวัยของหนอนพยาธิขนาดเล็ก ส่วนตัวอย่างขนาดใหญ่จะเก็บรักษาในขวดดอง แต่มีข้อเสียอยู่อย่างหนึ่งที่ต้องคอยเปลี่ยนสารละลายที่แช่เก็บอยู่ เมื่อสารละลายระเหยไปหมด เพราะจะทำให้

ให้ตัวอย่างแห้งและเสียบได้

ในการศึกษาบางตัวอย่างที่ต้องการให้เห็นอวัยวะชัดเจนมากยิ่งขึ้นเพื่อการจำแนกชนิด หรือการศึกษาถึงความผิดปกติของตัวอย่าง โดยการทดลองสารเคมีเพื่อเน้นรายละเอียดของอวัยวะภายใน ควรย้อมสีเพิ่มเติมตามความเหมาะสม

วัตถุประสงค์ เพื่อให้รู้จักเทคนิคการเก็บรักษาตัวอย่างสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก แบบการดองใสและการเตรียมตัวอย่างได้ถูกต้อง

**ตัวอย่างสัตว์ที่มีเปลือกหุ้ม** เช่น กุ้ง กิ้ง

#### วิธีทำ

1. นำตัวอย่างล้างด้วยน้ำให้สะอาด
2. แช่ใน FAA นาน 40 นาทีถึง 2 ชั่วโมง
3. ล้าง FAA ออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 10 นาที
4. ย้อมสีกระดูกอ่อนด้วย alcian blue solution นาน 36-48 ชั่วโมง หรือตามขนาดของตัวอย่าง

โดยสังเกตเปลือกหุ้มตัวติดสีฟ้า ประมาณ 7 วัน

5. เปลี่ยนมาแช่ใน 95% alcohol, 70% alcohol, 50 % alcohol, 30 % alcohol และ น้ำกลั่นตามลำดับ

ขึ้นตอนละ 2 ชั่วโมง

6. เปลี่ยนมาแช่ใน trypsin solution นาน 6-72 ชั่วโมง แล้วแต่ขนาดตัวอย่าง โดยสังเกตเห็นเนื้อเยื่อใส

จากบริเวณขอบด้านนอกของลำตัวเข้าด้านในของลำตัว (ลักษณะเนื้อเยื่อของลำตัวสัตว์มีสีขาวขุ่น) ปล่อยให้เนื้อเยื่อใสประมาณครึ่งหนึ่งของลำตัว และถ้าเนื้อเยื่อใสมากเกินไปอาจจะเปื่อยในขั้นตอนต่อไป

7. เปลี่ยนมาแช่ใน 0.5% KOH ที่เติม alizarin red S ที่ละลายจนเป็นสารละลายสีม่วงเข้มเพื่อย้อม

สีกระดูกแข็ง นาน 24 ชั่วโมง หรือกระดูกแข็งติดสีแดงเข้มตามต้องการ และ 0.5% KOH ช่วยให้เนื้อเยื่อ  
ลำตัวใสเพิ่มขึ้นอีก

8. เปลี่ยนมาแช่ในสารละลาย 0.5% KOH: glycerol (3:1) นาน 24 ชั่วโมง

เปลี่ยนมาแช่ในสารละลาย 0.5% KOH: glycerol (1:1) นาน 24 ชั่วโมง

เปลี่ยนมาแช่ในสารละลาย 0.5% KOH: glycerol (1:3) นาน 24 ชั่วโมง

9. เปลี่ยนมาแช่ใน glycerol เก็บรักษาและใส่ thymol 2-3 เกล็ด เพื่อป้องกันเชื้อรา

**ผล**

เปลือกหุ้มลำตัวอ่อน ติดสีฟ้า

เปลือกหุ้มลำตัวแข็ง ติดสีแดง

เนื้อเยื่อลำตัว ใส

