

การประเมินการตายของเซลล์จากอาการสะท้อนหนาวเชิงปริมาณโดยใช้ สีย้อมอีแวนส์บลู

วิริญญ์ ลิงท์โทราช และอุษาวดี ชนสุต

วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 46 (3/1 พิเศษ): 32-35. 2558.

บทคัดย่อ

การตรวจสอบอาการสะท้อนหนาว (Chilling injury; CI) สามารถทำได้หลายวิธี เช่น ประเมินและกำหนดดัชนีอาการสะท้อนหนาว (Chilling injury index; CI index), วัดการรั่วไหลของประจุ (Electrolyte leakage; EL) และวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA content) นั้น แต่วิธีการเหล่านี้จะสามารถตรวจพบ CI หลังจากผลิตผลแสดงอาการผิดปกติ เช่น ผิวยุบตัว (surface pitting), ฉ่ำน้ำ (water soaking) และเปลือกหรือเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning) เป็นต้น ทำให้ไม่สามารถป้องกันการเกิด CI ก่อนที่ผลิตผลจะแสดงอาการดังกล่าวได้ สีย้อมอีแวนส์บลู (Evans blue) สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ เซลล์ที่ตายแต่เยื่อหุ้มเซลล์ไม่เสียหายจะไม่สามารถขับสีออกจากเซลล์ได้และถูกเก็บไว้ในเซลล์นั้น ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงนิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นพัฒนาเทคนิคที่ใช้ในการตรวจสอบ CI โดยใช้สี Evans blue ที่สามารถตรวจสอบความเสียหายระดับเซลล์เชิงปริมาณ ซึ่งอาจตรวจสอบการตายของเซลล์ได้ก่อนที่ผลิตผลจะแสดงอาการ CI โดยนำผลแดงกว่าไทยและผลมะเขือม่วงมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 °C แล้วสุ่มตัวอย่างทุกวัน นำตัวอย่างมาแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปประเมินค่า CI index, วัดค่า EL และปริมาณ MDA ส่วนที่สองนำมาตัดให้มีขนาด 5x5 มิลลิเมตร ที่มีความหนาขนาดต่างๆ แล้วย้อมด้วยสี Evans blue ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 3 นาที จากนั้นนำเนื้อเยื่อไปสกัดสีและวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ CI index, EL และปริมาณ MDA เพื่อหาความสัมพันธ์กับ CI ที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่าค่า OD ที่วัดได้มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ CI, EL และปริมาณ MDA จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคนี้ตรวจสอบการตายของเซลล์เชิงปริมาณ