

เทคนิคการถ่ายภาพสำหรับงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Photographic Technique for Plant Tissue Culture

ธนากร วงษ์ศา*

โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร 62000

Thanakorn Wongsu*

Program in Biology, Faculty of Science and Technology.

Rajabhat Kamphaeng Phet University, Kamphaeng Phet, 62000

บทคัดย่อ

ภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์เป็นหลักฐานเชิงประจักษ์อย่างหนึ่งที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งงานวิจัยทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่ต้องใช้เทคนิคการถ่ายภาพทางวิทยาศาสตร์สำหรับผลิตภาพถ่ายที่สามารถแสดงความแตกต่างของกลุ่มทดลองในงานวิจัยได้ชัดเจน ซึ่งต้องอาศัยทักษะ ความเข้าใจ อุปกรณ์ และเทคนิคต่าง ๆ เพื่อให้ได้ภาพถ่ายที่มีคุณภาพที่ชัดเจน บทความวิชาการนี้ ได้รวบรวมเทคนิคการถ่ายภาพบางประการที่เหมาะสมสำหรับงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อเป็นแนวทางในการพิจารณาเลือกใช้เทคนิคการถ่ายภาพที่ความเหมาะสมสำหรับการผลิตภาพถ่ายในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : เทคนิคการถ่ายภาพ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Abstract

Scientific illustration is one of important evidence, especially in research on the plant tissue culture of which requiring the use of scientific illustration techniques to generate images that clearly demonstrate the differences between experimental treatments. An understanding in the use of suitable photographic techniques, photographic accessories and skills can enhance the quality of plant tissue culture illustration. This academic article provides guidance on selecting suitable photographic

* Corresponding author : thanakorn_wo@kpru.ac.th

techniques are informed and explained for guiding suitable selection of equipment and techniques in plant tissue culture photography in order to produce high-quality scientific illustration.

Keywords : Photographic technique, Plant tissue culture

บทนำ

ภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์ (scientific photography) เริ่มโดย Louis-Jacques-Mandé Daguerre ได้ทำการสร้างสรรค์เทคโนโลยีของภาพถ่ายขึ้นในปี ค.ศ. 1839 ซึ่งได้เรียกว่า daguerreotype ตามชื่อของผู้ผลิตผลงานนั่นเอง ต่อมาได้มีองค์ความรู้ที่มีการพัฒนาขึ้นและเป็นที่รู้จักกันว่าถ่ายภาพ โดยถูกนำมาใช้สำหรับการบันทึกภาพทางสถาปัตยกรรม แต่ส่วนเล็ก ๆ ของงานดังกล่าวนี้ ได้เป็นส่วนสำคัญของงานทางด้านวิทยาศาสตร์ ซึ่งนับเป็นจุดเริ่มของการผลิตผลงานของภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์ ส่วนใหญ่เมื่อกล่าวถึงภาพถ่ายแล้วนั้น มักมีความเข้าใจถึงการภาพที่ได้จากการถ่ายภาพบุคคลเป็นหลัก ภาพถ่ายสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลายโดยเฉพาะภาพถ่ายในงานวิทยาศาสตร์ ส่วนใหญ่ภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์เหล่านี้มักถูกสร้างขึ้นจากนักถ่ายภาพทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งภาพถ่ายเหล่านี้จำเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากวัตถุบางอย่างนั้นไม่สามารถสังเกตหรือมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังตัวอย่างเช่น ดวงดาวขนาดเล็กบนท้องฟ้า หรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กต่าง ๆ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น สำหรับชนิดของภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์ นั้นมีหลากหลายด้าน เช่น การถ่ายภาพทางดาราศาสตร์ (Astronomy photography) ภาพถ่ายทางชีววิทยา (Biology photography) ภาพถ่ายด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence photography) ภาพถ่ายของวัตถุที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูง (High-speed photography) ภาพถ่ายทางนิติวิทยาศาสตร์ (Forensic photography) ภาพถ่ายอินฟราเรด (Infrared photography) ภาพถ่ายขนาดเท่าของจริง (Photomacrography) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (Photomicrography) ภาพถ่ายระบบชลีเรน (Schlieren photography) ภาพถ่ายอุณหภูมิของพื้นผิว (Thermography) ภาพถ่ายด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet photography) และภาพถ่ายสัตว์ป่า (Wildlife photography) เป็นต้น [1] ซึ่งศาสตร์หลายแขนงทางวิทยาศาสตร์มีการนำเสนอภาพถ่ายเพื่อสร้างความเข้าใจให้กับความซับซ้อนของเนื้อหาต่าง ๆ [2] ภาพถ่ายที่มีคุณภาพนั้นส่งผลให้งานวิจัยที่น่าเสนอมีคุณภาพและช่วยดึงดูดความสนใจอีกด้วย [3, 4] ซึ่งการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์นั้นมีการบันทึกผลการทดลอง โดยเฉพาะการวิจัยทางชีววิทยานั้น มีรูปแบบการนำเสนอผลการทดลองที่หลากหลายรูปแบบ เพื่อแสดงถึงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนั้น ๆ อย่างเป็นลำดับของขั้นตอนที่ชัดเจน เทคนิคและวิธีการในการนำเสนอผลการทดลองที่มีความสำคัญและช่วยให้เกิดความเข้าใจของผลการทดลองให้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง “ภาพถ่าย” เนื่องจากผลการศึกษาวิจัยและทดลองทางชีววิทยาในหลายสาขามักมีการนำเสนอผลการทดลองเป็นภาพถ่ายกำกับไว้ด้วย เพื่อเพิ่มระดับความน่าเชื่อถือของผลการทดลองนั้น ๆ รวมถึงภาพถ่ายจากการทดลองในงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยเช่นกัน ได้มีการใช้ภาพถ่ายเพื่อแสดงผลการทดลองหรือแสดงพัฒนาการต่าง ๆ ของพืชที่ทำการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ ยังแสดงการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชหรือชิ้นส่วนของพืชเพาะเลี้ยงได้ชัดเจน สามารถสนับสนุนผลการทดลองเชิงปริมาณของค่าเฉลี่ยตัวเลขในตารางผลการทดลองต่าง ๆ ดังนั้นการถ่ายภาพการทดลองในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น จึงมีเทคนิคที่ควรคำนึงถึงการถ่ายภาพเพื่อให้ได้ภาพถ่ายผลการทดลองที่สามารถใช้สื่อความหมายและแสดงผลการทดลองได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยวัตถุประสงค์

ของบทความวิชาการนี้ เพื่อรวบรวมเทคนิคและวิธีการถ่ายภาพสำหรับผู้มีพื้นฐานของการถ่ายภาพเบื้องต้นมาแล้ว เพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการพิจารณาเทคนิคเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพสำหรับงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อไป

อุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการถ่ายภาพในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

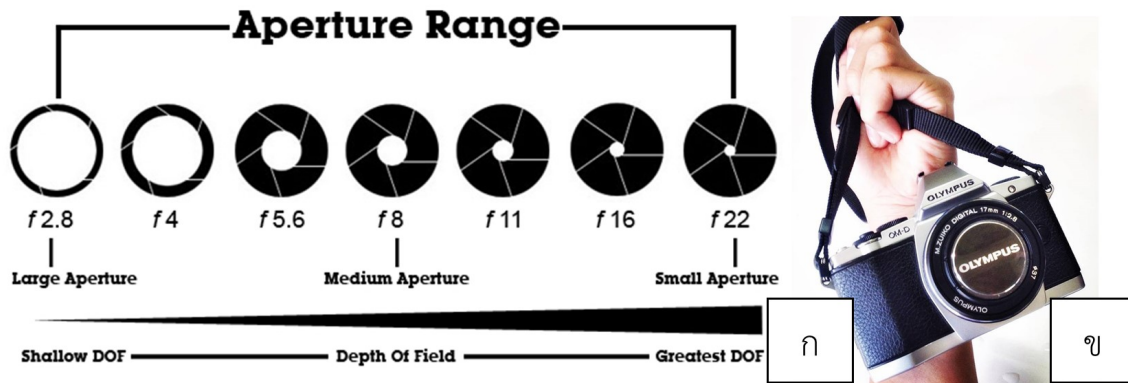
1. กล้องถ่ายภาพ เป็นอุปกรณ์หลักที่ควรคำนึงถึง เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่ต้องใช้และเข้าใจการควบคุมวิธีหรือรูปแบบการทำงานของกล้องถ่ายภาพให้ได้ภาพตรงตามความต้องการมากที่สุด โดยทั่วไปแล้วกล้องถ่ายภาพมีหลายประเภท กล้องถ่ายภาพที่ควรเลือกใช้ควรเป็นกล้องถ่ายภาพแบบ digital single-lens reflex (DSLR) ซึ่งเป็นกล้องถ่ายภาพที่สามารถเปลี่ยนเลนส์ได้ ควบคุมรูรับแสง (aperture) ความเร็วของชัตเตอร์ (shutter speed) การปรับความชัดลึกชัดตื้นของภาพ (depth of field) ได้ (ภาพที่ 1ก) เพื่อให้ได้ภาพถ่ายที่มีคุณภาพอย่างน้อย 12 megapixels (Mp) โดยบันทึกภาพได้ด้วยนามสกุลของภาพถ่ายแบบ .RAW หรือ .TIFF [5] โดยภาพส่วนใหญ่ในบทความนี้ได้ใช้กล้องมิเรอร์เลส (mirrorless camera) Olympus OM-D E-M5 (ภาพที่ 1ข) เป็นอุปกรณ์หลักในการถ่ายภาพ อีกส่วนประกอบหนึ่งของกล้องถ่ายภาพคือ เลนส์ที่ควรมีอย่างน้อย 2 แบบคือ เลนส์ถ่ายภาพแบบกว้าง (wide-angle lens) และเลนส์มาโคร (macro lens) ซึ่งเลนส์ถ่ายภาพแบบกว้าง อาจใช้เลนส์ในช่วง 24-70 mm [5] เพื่อนำมาถ่ายตัวอย่างของพืชในภาคสนาม หรือตัวอย่างของพืชที่เป็นต้นแม่พันธุ์ (mother plant) ที่นำมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น (explants) ในการฟอกฆ่าเชื้อ และเลนส์มาโครเป็นเลนส์พิเศษที่ช่วยขยายวัตถุที่ต้องการถ่ายภาพเพื่อแสดงรายละเอียดของพืชเพิ่มมากขึ้นกว่าเลนส์ธรรมดาทั่วไป เพื่อนำมาใช้ถ่ายภาพตัวอย่างของพืชในสภาพปลอดเชื้อที่ทำการเลี้ยงภาชนะเลี้ยง (culture vessels) แบบต่าง ๆ และภาพส่วนใหญ่ในบทความได้ใช้เลนส์มาโครรุ่น M.ZUIKO DIGITAL ED 60mm F2.8 Macro ในการถ่ายภาพในบทความนี้

2. อุปกรณ์สำหรับให้แสงสว่าง เนื่องจากการถ่ายภาพหรือ photography หมายถึงการเขียนหรือวาดภาพด้วยแสง แสงสว่างที่ให้กับวัตถุที่ต้องการถ่ายภูมุนั้น จึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง เนื่องจากอุปกรณ์สำหรับให้แสงสว่างในปัจจุบันนิยมใช้แสงสว่างจากหลอดไฟ LED (light-emitting diode) ซึ่งให้แสงสว่างมากและมีการปล่อยความร้อนเพียงเล็กน้อย ส่งผลให้ตัวอย่างของพืชที่ถ่ายไม่ได้รับความร้อนมาก และแสงสว่างมากส่งผลให้สามารถแสดงรายละเอียดของพืชได้ดีมากยิ่งขึ้น

3. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่ช่วยให้การถ่ายภาพ เช่น ขาตั้งกล้อง ไม้บรรทัด กระดาษกราฟ ผ้ากำมะหยี่สีดำหรือชุดสตูดิโอถ่ายภาพแบบสำเร็จรูป

4. กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ สำหรับการถ่ายภาพชิ้นส่วนของพืชที่มีขนาดเล็กจนไม่สามารถใช้เลนส์มาโครถ่ายภาพได้

5. คอมพิวเตอร์สำหรับการจัดการรูปภาพหลังจากทำการถ่ายภาพ เพื่อปรับแสงเงา ความคมชัด และจัดการความละเอียด ขนาดของภาพถ่าย และการสร้างสเกลเพื่อระบุขนาดในภาพถ่าย



ภาพที่ 1: ความสัมพันธ์ของขนาดรูรับแสงกับความคมชัดแบบชัดลึกชัดตื้นของภาพ (ก) และกล้องถ่ายภาพ (ข) ที่มาภาพ ก: Surmabojov [6]

เทคนิคบางประการสำหรับการถ่ายภาพในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในสภาพปลอดเชื้อในภาชนะเลี้ยงที่นิยมใช้ขวดแก้วใสสำหรับใช้เป็นภาชนะในการเพาะเลี้ยงพืช ดังนั้น การถ่ายภาพจึงต้องคำนึงถึงเทคนิคการถ่ายภาพขวดแก้ว ซึ่งจำเป็นต้องระมัดระวังในการถ่ายภาพมากกว่าการถ่ายภาพวัตถุธรรมดา ด้วยการควบคุมส่วนที่เกี่ยวข้องสองประการ คือ การใช้แสงและโครงสร้างของวัตถุที่จัดถ่าย ซึ่งผิวแก้วสามารถเกิดเงาสะท้อนของสิ่งที่อยู่รอบข้าง ซึ่งอาจรวมกล้อง อุปกรณ์ให้แสงและสิ่งอื่น ๆ ไว้ด้วย ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเกิดการตัดกันจากการสะท้อนของแสงนี้มาก ทำให้เกิดการรบกวนรูปทรง ตลอดจนความสมบูรณ์ของวัตถุ ดังนั้นหลักการเบื้องต้นในการถ่ายภาพวัตถุนี้ประเภทนี้ คือ ต้องควบคุมให้มีการสะท้อนบนผิวของวัตถุเฉพาะตัวมันเองเท่านั้น ส่วนเงาสะท้อนอื่น ๆ ที่ปรากฏบนผิวของวัตถุนั้นต้องควบคุมไม่ให้เกิดขึ้นหรือกำจัดออกไป [7] โดยมีเทคนิคที่ควรพิจารณาดังต่อไปนี้

1. เทคนิคในขั้นตอนของการจัดเตรียมฉากหลังและวัตถุที่ต้องการถ่ายภาพ

1) สีของฉากหลัง เป็นสิ่งที่ควรพิจารณาเป็นลำดับแรก เนื่องจากสีของฉากหลังของภาพเป็นสิ่งที่ช่วยให้วัตถุหรือตัวอย่างของพืชที่ถ่ายภาพมีความชัดเจนแสดงรายละเอียดชัดเจนยิ่งขึ้น โดยทั่วไปแล้วมักเลือกใช้ฉากหลังสีดำหรือสีขาว ซึ่งเป็นสีพื้นฐานที่สามารถแสดงความแตกต่างได้เป็นอย่างดีในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยพิจารณาจากวัตถุที่เราต้องการถ่าย เช่น หากต้องการถ่ายภาพที่แสดงส่วนของเมล็ดพืชที่มีสีดำประกอบอยู่ในภาพ ไม่ควรเลือกฉากหลังสีดำเนื่องจากทำให้สีของวัตถุลื่นไปกับสีของฉากหลัง ดังนั้นจึงควรเลือกฉากหลังสีขาวเพื่อแสดงความแตกต่างของวัตถุให้มีความชัดเจน (ภาพที่ 2ก และ 2ข) และควรจัดแสงของฉากหลังให้เรียบและมีโทนสีตรงข้ามกับวัตถุที่ถ่าย เช่น หากวัตถุที่มีสีขาว ควรจัดฉากให้มีดทึบ หรือถ้าวัตถุสีเข้ม ควรจัดฉากเป็นสีขาว (ภาพที่ 2ค) ทำให้ช่วยแยกวัตถุให้มีความชัดเจนจากฉากหลังได้ดี อาจใช้ฉากหลังที่มีสีอื่น เช่น สีแดง ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในงานวิจัยของประเทศอินเดีย (ภาพที่ 2ค)

2) แหล่งกำเนิดแสง มักนิยมใช้ไฟจากหลอดไฟ tungsten-halogen (3200 °K) เป็นแหล่งกำเนิดแสง แต่ในปัจจุบันได้เปลี่ยนมาใช้แสงจากหลอดไฟแบบ LED กันมากขึ้น [5] โดยใช้โคมไฟแบบ LED 2-3 ตัว สำหรับจัดวางโคมไฟให้แสงในทิศทางจากด้านบน ขวา และซ้ายของวัตถุที่ต้องการถ่ายภาพ หรือใช้ชุดหลอดไฟวงแหวนแบบ



ภาพที่ 2: การเลือกสีของพื้นหลังให้ที่มีสีตรงข้ามกับวัตถุที่ต้องการถ่ายภาพ เช่นพื้นหลังสีดำ (ก) พื้นหลังสีขาว (ข) และตัวอย่างภาพงานวิจัยที่ใช้พื้นหลังสีแดง [8] (ค)



ภาพที่ 3: ตัวอย่างของภาพที่ทำการปรับสมดุลแสงขาวของกล้องถ่ายภาพ (Olympus OM-D E-M5) ให้ตรงกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกันส่งผลต่อสีของภาพที่ถ่ายได้

LED สำหรับถ่ายภาพ แต่สิ่งที่ควรพิจารณาต่อมาคือ การปรับค่าสมดุลแสงขาว (white balance) ของกล้องถ่ายภาพ ให้ตรงกับแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นสิ่งที่ควรปฏิบัติในขั้นตอนถัดมาเพื่อให้ภาพที่ถ่ายได้มีความสมจริงมากที่สุด หากไม่ทำการปรับสมดุลแสงขาวส่งผลให้สีของวัตถุที่ถ่ายได้ต่างกับสีวัตถุจริงที่นำมาเป็นแบบถ่ายภาพ (ภาพที่ 3) ในกรณีเลือกใช้แหล่งกำเนิดแสงจากหลอดไฟ fluorescent จึงควรเลือกปรับสมดุลแสงขาวของกล้องถ่ายภาพให้เป็นแบบ fluorescent เพื่อให้ภาพถ่ายเป็นสีขาวใส และแสดงสีของวัตถุได้สมจริง (ภาพที่ 4)

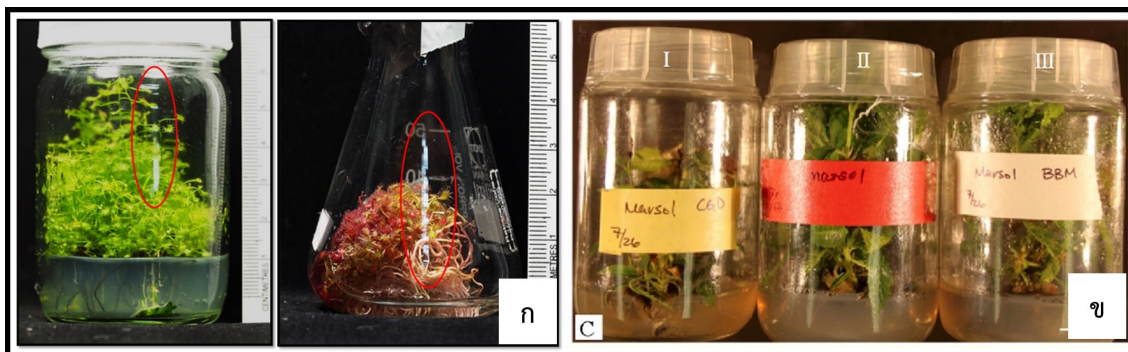
2. เทคนิคในขั้นตอนของการถ่ายภาพ

1) ทำการจัดอุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพ ติดตั้งกล้องถ่ายภาพบนขาตั้งกล้อง การจัดวางแหล่งกำเนิดแสง การปรับค่าสมดุลแสงขาวของกล้องถ่ายภาพ (ทำการตั้งค่าวันที่และเวลาในกล้องถ่ายภาพให้ถูกต้อง เพื่อการแสดงรายละเอียดของภาพที่ถูกต้อง ในกรณีที่ต้องการทราบข้อมูลของภาพถ่ายดิจิทัล)

2) นำตัวอย่างพืช ขึ้นส่วนของต้นแม่พันธุ์หรือขวดเพาะเลี้ยงพืช สำหรับกรณีแรกเป็นการถ่ายภาพของพืชแม่พันธุ์ เพื่อใช้ประกอบในส่วนของบริษัทฯ ทำได้โดยจัดวางขึ้นส่วนของพืชบนฉากหลังหลายแบบเพื่อถ่ายภาพ (ภาพที่ 2) กรณีที่สองสำหรับการให้แสงกับพืชที่เลี้ยงภายในภาชนะเลี้ยงที่เป็นวัตถุที่มีลักษณะโปร่งแสง (lighting transparent object) วัตถุที่เป็นมันวาวมักเกิดการสะท้อนเงาโดยวัตถุที่อยู่รอบ ๆ สำหรับวัตถุโปร่งใสนั้นสามารถแสดงให้เห็นฉากหลังด้วย (ภาพที่ 5) ในการเลือกตัวอย่างพืชจากค่ากลางในแต่ละกลุ่มทดลอง จึงควรพิจารณาภาชนะเลี้ยงพืชให้มีความใสสะอาดเป็นอย่างดี เพื่อให้แสงผ่านไปยังตัวอย่างของพืชภายในภาชนะเลี้ยงได้ดี อีกทั้งการถ่ายภาพ



ภาพที่ 4: ภาพที่ได้จากการปรับสมดุลแสงขาวแบบต่าง ๆ จากแหล่งกำเนิดแสงจากหลอดไฟ fluorescent ซึ่งให้โทนสีของภาพแบบโทนสีแดง (ก) สีฟ้า (ข) และขาวใส (ค)



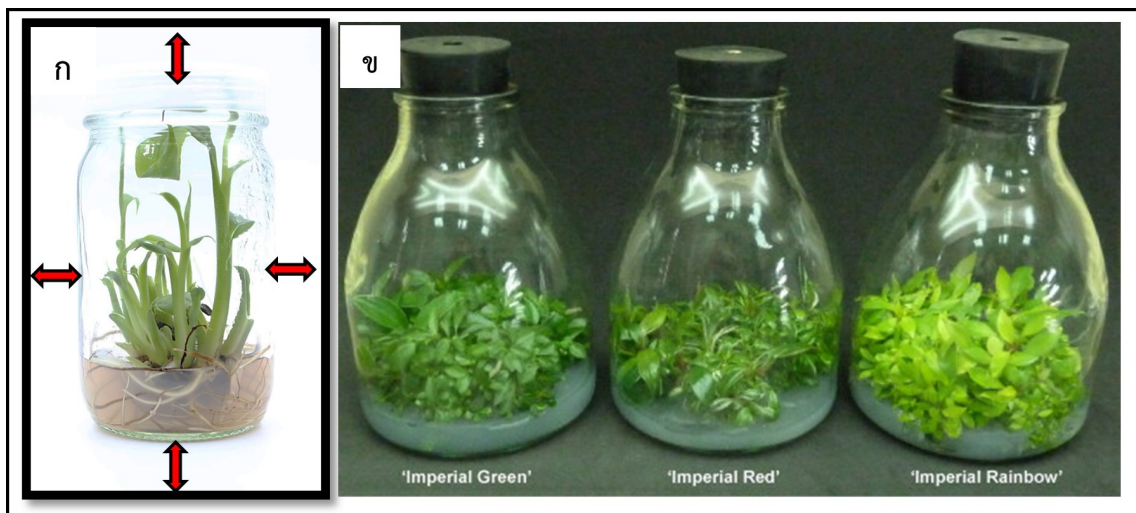
ภาพที่ 5: สัญลักษณ์ของวงรีแสดงการสะท้อนของแสงรบกวนที่ตกกระทบบนผิวของภาชนะเลี้ยงที่เป็นแก้ว (ก) และตัวอย่างภาพงานวิจัยของ Song et al. [9] (ข)

วัตถุที่มีลักษณะโปร่งใสมีข้อควรระวัง ทั้งในเรื่องการสะท้อนแสงเงาที่พื้นผิวและส่วนประกอบของฉากหลังไปพร้อม ๆ กัน การจัดแสงถ่ายวัตถุโปร่งแสงนั้น หากมีชุดสตูดิโอถ่ายภาพแบบสำเร็จรูปจะช่วยให้การถ่ายภาพได้สะดวกมากขึ้น โดยวางวัตถุไว้ด้านหน้าฉากทาบกับฉากหลัง ทำให้เห็นส่วนขอบหน้าของแก้วเกิดขึ้น ถ้าหากใช้กระดาษแข็งสีดำหรือผ้ากำมะหยี่สีดำมาวางไว้ด้านหลังวัตถุ เนื่องจากอาจเกิดเส้นดำปรากฏที่ขอบข้างวัตถุ ช่วยแยกวัตถุโปร่งใสออกจากตัวแบบได้ดี ในทางปฏิบัตินั้น สามารถช่วยสร้างฉากหลังสีขาวให้กับวัตถุโปร่งแสงได้โดยใช้กระดาษสะท้อนสีขาว (หรือสีเงิน) ตัดเป็นรูปเท่ากับวัตถุหรือเล็กกว่าเล็กน้อย นำไปวางซ่อนไว้ข้างหลังวัตถุ ฉากหลังที่เป็นสีขาวนี้จะเน้นให้วัตถุที่มีสีโปร่งใสมีความสว่างสดใสขึ้น [7] ขั้นตอนนี้ควรนำขวดเพาะเลี้ยงพืชวางไว้ในห้องถ่ายภาพ บางครั้งอาจจะเกิดไอน้ำขึ้นในขวดเพาะเลี้ยง ควรไล่ไอน้ำที่ผิวขวดแก้วด้วยการใช้ลมร้อนจากเครื่องเป่าลมร้อน แต่ควรระวังความร้อนที่ใช้ ไม่ควรมากเกินไปจนทำให้ต้นพืชภายในขวดได้รับผลกระทบจากลมร้อน

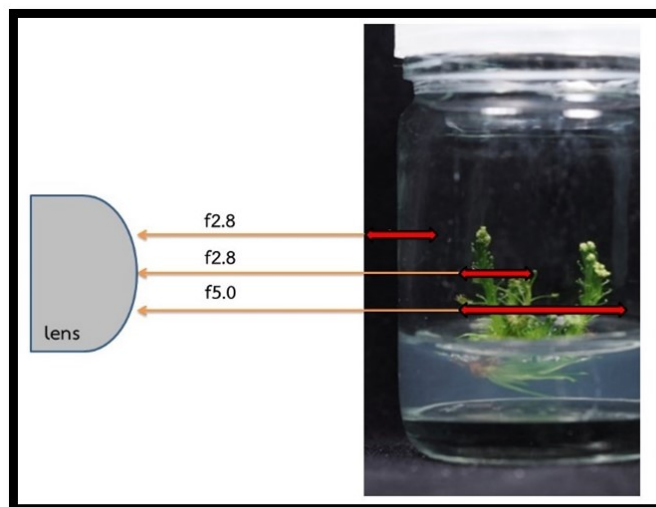
3) ตำแหน่งของวัตถุ (composition) การจัดตำแหน่งของวัตถุที่ต้องการถ่ายภาพนั้นมีหลายแบบ แต่สำหรับการถ่ายภาพในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ควรวางวัตถุหรือขวดแก้วหรือภาชนะที่ใช้เลี้ยงไว้ตรงกลางภาพ เพื่อเน้นความสำคัญของสิ่งที่เราต้องการแสดงในภาพ และควรคำนึงถึงระยะที่ว่างของวัตถุตรงกลางและพื้นที่ว่างใน

ภาพให้มีความสมดุลกันทั้ง 4 ด้าน (ภาพที่ 6) เพื่อกระบวนการจัดการภาพหากต้องการตัดภาพให้มีขนาดที่ต้องการ

4) ตำแหน่งของความคมชัด (focusing) สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงอย่างมากในการถ่ายภาพคือความชัดของวัตถุที่เราต้องการแสดงให้เห็นในภาพถ่าย ซึ่งควรแสดงความชัดให้ตรงความต้องการที่แสดงในภาพ เช่น ภาพถ่ายที่ต้องการแสดงดอกที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยง ควรเลือกขวดเพาะเลี้ยงพืชที่นำมาถ่ายภาพให้สามารถแสดงความชัดบริเวณของพืชที่เราต้องการแสดงในภาพให้ชัดเจน แต่อาจมีความยากมากขึ้นหากใช้กล้องที่ไม่สามารถควบคุมการปรับจุดเน้นของความคมชัดได้ เนื่องจากการโฟกัสของกล้องมักจะปรับจุดเน้นของความคมชัดที่ผิวขวดมากกว่าส่วนของดอกที่อยู่ในระนาบหลังของผิวขวด จึงควรเลือกใช้กล้องถ่ายภาพที่สามารถควบคุมการปรับตำแหน่งของความคมชัดของภาพได้ อีกทั้งควรคำนึงถึงการปรับระยะการชัดลึกชัดตื้นโดยการปรับค่า F (F-number หรือ F-stop) ให้เหมาะสม แต่ไม่ควรลืมปรับค่าชดเชยแสงหากมีการปรับค่า F ให้เพิ่มมากขึ้น เมื่อต้องการให้ภาพถ่ายมีความชัดลึกเพิ่มขึ้นตามความต้องการ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 6: การวางวัตถุในตำแหน่งกลางภาพ (ก) และตัวอย่างภาพงานวิจัยของ Chen, Wang & Fang (2012) [10] (ข)



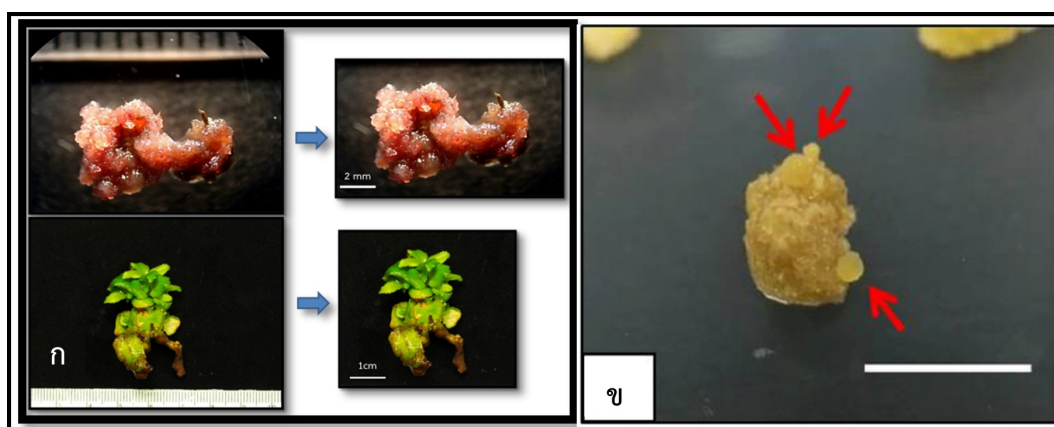
ภาพที่ 7: การปรับค่าความชัดลึกให้สามารถแสดงความชัดของพืชที่ต้องการถ่ายภาพ

5) การถ่ายภาพตัวอย่างของพืชเมื่อสิ้นสุดการทดลองแล้ว เช่น การเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดตามระยะเวลาที่วางแผนการทดลองไว้แล้วนั้น การถ่ายภาพผลการทดลองควรดำเนินการถ่ายภาพไว้ 2 รูปแบบด้วยกัน คือ แบบแรกเป็นการถ่ายภาพของตัวแทนพืชที่เลือกจากค่ากลางของในแต่ละกลุ่มทดลองนั้น ๆ โดยถ่ายพืชที่อยู่ในภาชนะเลี้ยง แบบที่สองคือนำพืชออกมาด้านนอกภาชนะเลี้ยง วางลงบนชุดถ่ายภาพที่จัดไว้ โดยมีการถ่ายด้วยฉากหลังสีขาวหรือดำพร้อมทั้งมีไม้บรรทัดเพื่อบอกขนาดของตัวอย่างพืชที่ทำการถ่ายภาพ (ภาพที่ 8)

6) การถ่ายภาพตัวอย่างของกลุ่มเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชเพาะเลี้ยงที่มีขนาดเล็ก กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ สำหรับการถ่ายภาพชิ้นส่วนของพืช เช่น ลักษณะของแคลลัส (callus) ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนพืชเพาะเลี้ยง พร้อมโปรแกรมสำหรับชุดถ่ายภาพสำเร็จรูป หากไม่มีโปรแกรมสำหรับชุดถ่ายภาพสำเร็จรูป ควรถ่ายภาพโดยใช้ไม้บรรทัด หากมีการแสดงภาคตัดขวางของเนื้อเยื่อพืชเพื่อแสดงรายละเอียดของรูปแบบในการเกิดพัฒนาการนั้น ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงเลนส์ประกอบทำการระบุขนาดในภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย ocular micrometer

3. เทคนิคในขั้นตอนหลังของการถ่ายภาพ

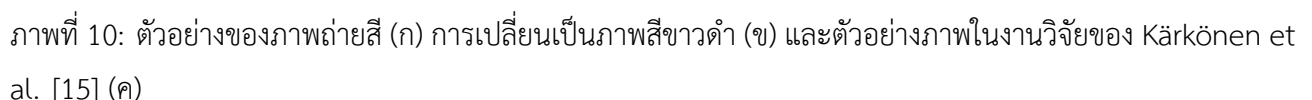
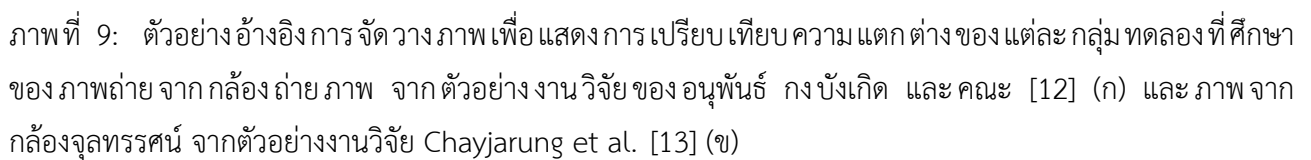
1) กระบวนการจัดการถ่ายภาพ หลังจากถ่ายโอนไฟล์ภาพจากกล้องดิจิทัลสู่เครื่องคอมพิวเตอร์แล้ว ทำการจัดทำรูปเพื่อนำไปใช้ประกอบในผลการทดลองโดยทำการลากเส้นเพื่อสร้างสเกลเพื่อระบุขนาดใหม่จากส่วนของไม้บรรทัดที่ถ่ายติดมาในภาพ จากนั้นตัดขอบภาพที่มีส่วนของไม้บรรทัดออก เพื่อให้ได้ภาพใหม่เพื่อนำไปใช้แสดงในผลการทดลองต่อไป (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8: ชิ้นส่วนของแคลลัสถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอซึ่งไม่มีโปรแกรมถ่ายภาพสำเร็จรูป และภาพถ่ายจากกล้องถ่ายภาพ สามารถระบุขนาดของชิ้นส่วนได้โดยไม้บรรทัดเพื่อแสดงขนาดของวัตถุในภาพและเพื่อใช้อ้างอิงขนาดของสเกลเมื่อทำการรูปภาพเพื่อแสดงในผลการทดลอง (ก) และตัวอย่างภาพในงานวิจัยของ Haradzi et al. [11] (ข)

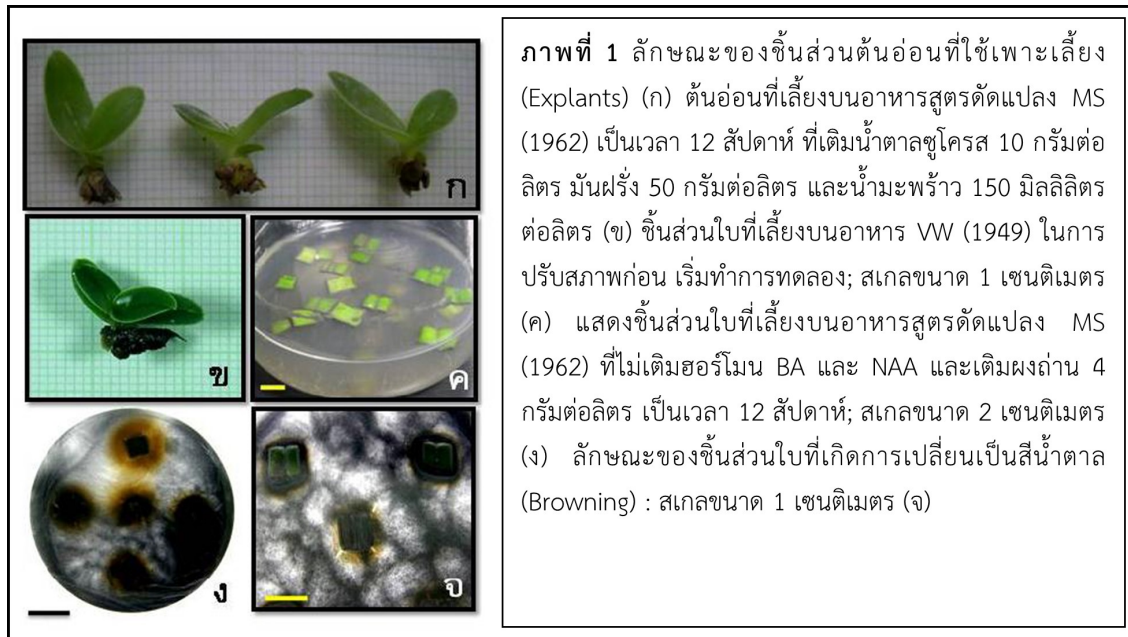
2) การจัดการภาพถ่ายสำหรับแสดงผลการทดลอง หลังจากจัดการภาพถ่ายโดยใส่สเกลระบุขนาดในภาพเรียบร้อยแล้ว ให้ออกแบบจัดวางภาพที่ได้เพื่อแสดงภาพถ่ายให้สอดคล้องกับเนื้อหาในผลการทดลองหรือตารางผลการทดลองที่อาจมีการแสดงเป็นตารางตัวเลขหรือกราฟ เพื่อนำเสนอภาพถ่ายสำหรับแสดงรายละเอียดของการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในการทดลอง เช่น การเจริญเติบโตพืช ลักษณะการตายของพืชหรือชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง การเจริญเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงเป็นโครงสร้างใหม่ การเกิดเป็นแคลลัส ซึ่งภาพถ่ายของการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

3) การเปลี่ยนภาพถ่ายสีเป็นภาพสีขาวดำสำหรับการเผยแพร่ผลงานที่กำหนดไม่ให้ใช้ภาพถ่ายสี เนื่องจากในบางวารสารกำหนดให้ใช้ภาพขาวดำในผลการทดลอง (ภาพที่ 10ค) จึงจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนภาพถ่ายสีที่ได้เป็นภาพสีขาวดำเพื่อตรงกับข้อกำหนดของวารสารนั้น ๆ ซึ่งสามารถทำได้โดยด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop ด้วยการเปลี่ยนจากภาพสีเป็นภาพแบบ grayscale [5] หรือการใช้เครื่องมือแก้ไขรูปภาพในโปรแกรมสำเร็จรูปอื่น ๆ เป็นต้น (ภาพที่ 10) หรือทำการถ่ายภาพแบบ monochrome ต้องทำการตั้งค่าไฟล์ภาพให้เป็น .RAW ทำให้ผู้ถ่ายภาพสามารถมองภาพบนจอ LCD (liquid crystal display) ของกล้องถ่ายภาพเป็นขาวดำ โดยที่ไฟล์ภาพยังเก็บรักษาข้อมูลของสีไว้ตามเดิม แต่หากถ่ายเป็นไฟล์ .JPEG ข้อมูลสีของภาพจะถูกทำลายไป [14]



สำหรับภาพถ่ายที่เลือกมาเป็นตัวอย่างในการเสนอเทคนิคในการถ่ายภาพนั้น เป็นภาพจากงานวิจัยของธนากร วงษ์ศา และคณะ [16] ซึ่งได้มีการนำเสนอจัดเรียงภาพของผลการทดลองของภาพชิ้นส่วนเริ่มต้นที่

นำมาใช้ในการทดลองโดยใช้ฉากหลังเป็นกระดาษกราฟเพื่อแสดงขนาดของชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ใช้ในภาพที่ 11 ก และ ข สำหรับภาพ ค ได้มีนำเสนอภาพของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ โดยเน้นถ่ายภาพที่ต้องการแสดงชิ้นส่วนของใบในอาหารเหลว ต่อมาในภาพที่ 11 ง และ จ เป็นภาพของชิ้นส่วนใบที่เลี้ยงบนอาหารแข็งในจานเพาะเชื้อ เนื่องจากการถ่ายภาพด้านบนของจานแก้วเพาะเชื้อ มักพบปัญหาการสะท้อนเป็นเงาของกล้องถ่ายภาพ เทคนิคการถ่ายภาพนี้ทำได้โดยการใช้ตู้ไฟที่ใช้หลักการเดียวกับตู้ไฟอ่านฟิล์ม x-ray (x-ray film illuminators) โดยนำจานแก้วเพาะเชื้อวางบนตู้ไฟและถ่ายภาพ ภาพที่ถ่ายได้แสดงการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนใบพืชที่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 11)

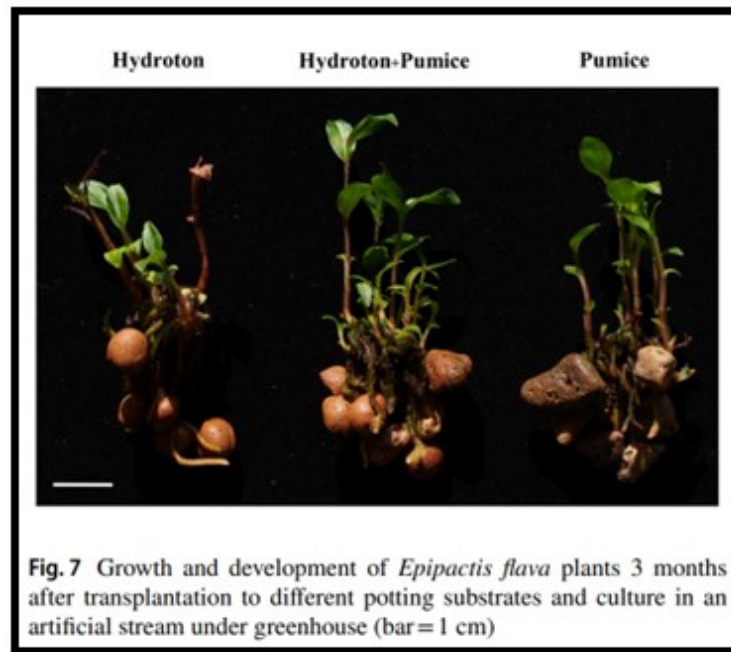


ภาพที่ 11: ตัวอย่างภาพถ่ายในผลการทดลองของงานวิจัยที่มีการเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการ จากงานวิจัยของ ธนากร วงศา และคณะ [16]

ภาพถ่ายจากงานวิจัยของ Kunakhonnuruk, Inthima & Kongbangkerd [17] แสดงผลการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Epipactis flava Seidenf.) ที่ได้รับการอนุบาลเป็นระยะเวลา 3 เดือน ด้วยวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน การถ่ายภาพใช้ฉากหลังสีดำเพื่อเน้นความแตกต่างของส่วนต้นพืชและต้องการให้ส่วนที่ไม่จำเป็นในการแสดงผลการทดลองกลืนไปกับฉากหลัง (ภาพที่ 12)

สรุปผลการวิจัย

เทคนิคการถ่ายภาพสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นสิ่งสำคัญอย่างมาก ซึ่งภาพถ่ายของผลการทดลองที่แสดงความแตกต่างของกลุ่มทดลองในการทดลองนั้น ต้องมีการพิจารณาถึงหลายกรณี เช่น สีของฉากหลัง แหล่งกำเนิดแสง การควบคุมค่าต่าง ๆ ของกล้องถ่ายภาพ กระบวนการจัดการถ่ายภาพ และการจัดการภาพถ่ายสำหรับแสดงผล



ภาพที่ 12: ตัวอย่างภาพถ่ายในงานวิจัยที่มีการเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการ ที่มีการแสดงภาพถ่ายของพืชที่มีการอนุบาลต้นพืชสำหรับการย้ายออกปลูก จากงานวิจัยของ Kunakhonnuruk, Inthima & Kongbangkerd [17]

การทดลอง ซึ่งส่งผลให้ได้ภาพถ่ายที่มีคุณภาพและสามารถแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงพัฒนาการของพืชในสภาพปลอดเชื้อได้ อีกทั้งปัจจัยที่เกี่ยวกับชนิดของพืช รูปแบบของการเพาะเลี้ยง ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง เป็นต้นดังนั้นสิ่งสำคัญคือการสังเกตและการเลือกใช้เทคนิคเทคนิคการถ่ายภาพสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ให้ความเหมาะสมสำหรับการผลิตภาพถ่ายให้มีคุณภาพอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ผู้ให้พื้นฐานความรู้ของการถ่ายภาพในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างต่อเนื่องเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน รวมถึง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมจิตต์ หอมจันทร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร สำหรับเอกสารอ้างอิงเรื่องเอกสารคำสอนวิชา AG-EXT 461 การถ่ายภาพเทคนิค และ รองศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ ลิ้มมงคล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ผู้สร้างแรงบันดาลใจในการผลิตบทความวิชาการนี้จนสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Bhatoa, S. (2021). Scientific photography ultimate guide: An introduction the best techniques and tips in 2021. 12 August 2021 <https://www.splento.com/blog/photography/scientific-photography->

ultimate-guide-an-introduction/

- [2] Perkins, M. (2018). Macro flower photography: An introduction to photographic principles and techniques. In book: Orchid Propagation: From Laboratories to Greenhouses—Methods and Protocols. Lee, Y.I. & Yeung, E.C.T. (eds). DOI: 10.1007/978-1-4939-7771-0_25 © Springer Science+Business Media. LLC, part of Springer Nature, 2018. pp. 463-476.
- [3] Swan, D.G. & Burrill, L.C. (1990). Plant Photography Techniques. Weed Technology, 4(3), 666-670.
- [4] Winchester, A. M. (1950). Biological Photography. Bios, 21(4), 260-272.
- [5] Gaba, V., Tam, Y., Shavit, D. & Steinitz, B. (2018). Digital photography as a tool of research and documentation in plant tissue culture. in book: Plant cell protocols, methods in molecular biology. Loyola-Vargas V.M. & Ochoa-Alejo, N. (eds.). (2018)., Vol. 1815, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_5, © Springer Science+Business Media. LLC, part of Springer Nature, 2018. pp. 89-101.
- [6] Surmabojov, S. (2011). Understanding the factors that affect depth of field. Online: <http://photography.tutsplus.com/articles/understanding-the-factors-that-affect-depth-of-field-photo-6844>
- [7] ณรงค์ สมพงษ์. (2530). เอกสารคำสอนวิชา AG-EXT 461 การถ่ายภาพเทคนิค. ฝ้ายสื่อสารการศึกษา สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ. 169 หน้า.
- [8] Ahmad, A., Ansari, F.A. Anis, M. & Khan, A.S. (2023). Micropropagation of *Pterocarpus marsupium* Roxb. through synthetic seeds and its novel antibiofilm activities against ESKAPE pathogens, Industrial Crops and Products, 198, 116681.
- [9] Song, G., Chen, Q., Callow, P., Mandujano, M., Han, X., Cuenca, B., et al. (2021). Efficient micropropagation of Chestnut hybrids (*Castanea* spp.) using modified woody plant medium and zeatin riboside. Horticultural Plant Journal, 7(2), 174-180,
- [10] Chen, F.C., Wang, C.Y. & Fang, J.Y. (2012). Micropropagation of self-heading *Philodendron* via direct shoot regeneration, Scientia Horticulturae, 141, 23-29,
- [11] Haradzi, N.A. Khor, S.P. Subramaniam, S. & Chew, B.L. (2021). Regeneration and micropropagation of Meyer lemon (*Citrus x meyeri*) supported by polymorphism analysis via molecular markers. Scientia Horticulturae, 286, 110225,
- [12] อนุพันธ์ กงบังเกิด, ธนากร วงษ์ศา และแสงเดือน วรณชาติ. (2555). ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) ที่เลี้ยงในระบบแช่ชั่วคราว. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย, 4(ฉบับพิเศษ), 159-168.

- [13] Chayjarung, P., Phonherm, M., Inmano, O., Kongbangkerd, A., Wongsat T. & Limmongkon, A. (2022). Influence of peanut hairy root cultivars on prenylated stilbenoid production and the response mechanism for combining the elicitors of chitosan, methyl jasmonate, and cyclodextrin. *Planta*, 256, 32.
- [14] แบตเตอร์ฟ, จอห์น. (2556). Black and white snapshots to great shots. กรุงเทพฯ: ทูริ ดิจิตอล คอนเท้นท์ แอนด์ มีเดีย, 200 หน้า.
- [15] Kärkönen, A., Simola, L. K., & Koponen, T. (1999). Micropropagation of several Japanese woody plants for horticultural purposes. *Annales Botanici Fennici*, 36(1), 21–31.
- [16] ธนากร วงษ์ศา, สุวรรณ เนื่องเกิด, ธิชาภา ทองเหลือง และอนุพันธ์ กงบังเกิด. (2555). ผลขององค์ประกอบอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้พญาอินทน์ (*Vandopsis gigantea* (Lindl.) Pfitz.) ในสภาพปลอดเชื้อ. *สัปดาห์ : วารสารมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์*, 18(2), 11-21.
- [17] Kunakhonnuruk, B., Inthima, P. & Kongbangkerd, A. (2018). In vitro propagation of *Epipactis flava* Seidenf., an endangered rheophytic orchid: a first study on factors affecting asymbiotic seed germination, seedling development and greenhouse acclimatization. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 135, 419–432.