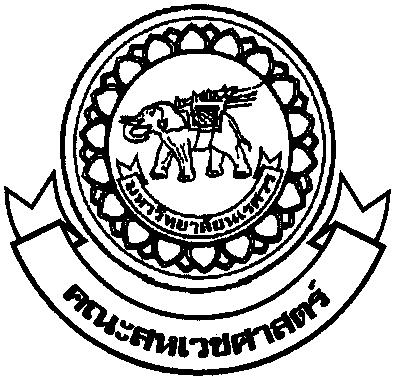


การศึกษานิติเรณูวิทยาเบื้องต้นโดยรอบตึกที่ทำการ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

Basic Forensic Palynology Study around Faculty of Allied Health Sciences Official Building, Naresuan University, Phitsanulok.

ธนวัฒน์ แต้มคม
สุรชัช มีบุญ
อรรฆเดช พั้วทัด

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีการศึกษา 2565

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษานิติเรณูวิทยาเบื้องต้นโดยรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ชื่อนิสิต ธนวัฒน์ แต้มคม
สุรชัช มีบุญ
อรรฆเดช พั้วทัด

สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์แสงชัย นทีวรนารถ

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี**นี้เป็น**ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

แสงชัย นทีวรนารถ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์แสงชัย นทีวรนารถ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ครรชิต คงรส)
หัวหน้าภาควิชาเทคนิคการแพทย์

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศุภวิทู สุขเพ็ง)
คณบดีคณะสหเวชศาสตร์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษานิติเรณูวิทยาเบื้องต้นโดยรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ชื่อนิสิต ธนวัฒน์ แต้มคม
สุรชัช มีบุญ
อรรฆเดช พั้วทัด

สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์แสงชัย นทีวรนารถ

คณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี ขอรับรองว่านิสิตผ่านการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ โดยได้มีการปรับปรุงแก้ไขรายงานตามข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการแล้ว

แสงชัย นทีวรนารถ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์แสงชัย นทีวรนารถ)
ประธานกรรมการ

ย. ทอง
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยอดหทัย ทองศรี)
กรรมการ

นภาพร อภิรัฐเมธีกุล
(ดร. นภาพร อภิรัฐเมธีกุล)
กรรมการ

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผศ. แสงชัย นทีวรนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ของการวิจัยมาตลอด

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ยอดหทัย ทองศรี และดร. นภาพร อภิรัฐเมธีกุล ที่กรุณาสละเวลาเป็นอาจารย์สอบโครงร่างวิทยานิพนธ์รวมทั้งสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณอรรณพ เทียมแก้ว คุณทัศนียา แก้วป้องปก และคุณปนัดดา เจิมศรี นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาเทคนิคการแพทย์ ที่จัดเตรียมและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์และการเตรียมสารเคมีต่างๆ เป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย จำนวน 3,000 บาท

ท้ายที่สุดคณะผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความกรุณาอันดีอย่างยิ่งจากทุกท่านที่กล่าวมา และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ธนวัฒน์ แต้มคม
สุรชัช มีบุญ
อรรฆเดช พั้วทัด

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษานิติเรณูวิทยาเบื้องต้นโดยรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ชื่อนิสิต ธนวัฒน์ แต้มคม
สุรชัช มีบุญ
อรรฆเดช พั้วทัด

สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์แสงชัย นทีวรนารถ

บทคัดย่อ

นิติเรณูวิทยาคือการศึกษาละอองเรณู เฟิร์น และสปอร์ของเชื้อรา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์หรือหักล้างความสัมพันธ์ระหว่างวัตถุ บุคคล และสถานที่ที่อาจเกี่ยวข้องกับคดีอาญาและทางแพ่ง เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลเรื่องการใช้นิติเรณูในมหาวิทยาลัยนเรศวร การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกละอองเกสรและสปอร์ของพืชบริเวณคณะสหเวชศาสตร์และอาคารห้องปฏิบัติการ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก มีการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษานำร่องและการศึกษาทางนิติเรณูวิทยาขั้นพื้นฐาน ในการศึกษานำร่อง พบว่า Wet mount adhesive tape technique เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการเก็บตัวอย่างละอองเกสรและตัวอย่างสปอร์ และยังพบว่า Safranin O ที่เจือจาง 1:2 และ 1:4 มีความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการย้อมสีละอองเรณู และระยะเวลาในการย้อมสีไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการติดสีย้อม นอกจากนี้ผลจากตัวอย่างแบบจำลองแนวตั้งและแนวนอนยังบ่งชี้ว่าการเคลื่อนไหวของตัวอย่างเสื้อเป็นกระบวนการสำคัญในการเก็บละอองเรณู สำหรับการศึกษาทางเรณูวิทยาและการศึกษาทางนิติวิทยาศาสตร์ในการใช้เสื้อเป็นหลักฐาน พบว่าพืช 44 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์เด่นคือ *Murraya paniculata.*, *Ixora coccinea.*, *Alternaria alternata.*, *Cleome viscosa.* และ *Asplenium nidus.* ความเข้มข้นของละอองเรณู 69.58%, 8.15%, 4.57%, 1.99%, 1.79% ตามลำดับ ลักษณะรูปร่างละอองเรณูที่ติดอยู่บนเสื้อคือ ลักษณะพื้นผิวทั้งแบบ Striate และ Rugulate ส่วนโครงสร้างละอองเรณูเป็นแบบ Tricolporate ลักษณะพื้นผิวแบบ Microreticulate โครงสร้างละอองเรณูแบบ Tricolporate สปอร์ขนาดใหญ่สีน้ำตาลรวมทั้งมีตุ่มขนาดเล็กตรงปลายสปอร์และภายในสปอร์มี Long septate ลักษณะพื้นผิวทั้งแบบ Striato-Microreticulate และ Striato-reticulate โครงสร้างละอองเรณูแบบ Tricolporate ลักษณะพื้นผิวแบบ Foveolate โครงสร้างสปอร์แบบ Monolete ตามลำดับ การศึกษานิติเรณูวิทยาควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในสถานที่อื่นๆ ภายในมหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในทางคดีความประกอบการเชื่อมโยงบุคคลหรือวัตถุพยานกับสถานที่เกิดเหตุ หรือแม้กระทั่งเป็นข้อมูลพิจารณาสถานที่พบละอองเรณูนั้นเป็นสถานที่แรกที่เกิดเหตุ รวมทั้งสามารถระบุได้ว่าบุคคลหรือวัตถุพยานอาจมีการถูกขนย้ายมาจากสถานที่ก่อเหตุเดิมหรือไม่

คำสำคัญ : ละอองเรณู, นิติวิทยาศาสตร์, นิติเรณูวิทยา, สถานที่เกิดเหตุ

Project Title	Basic Forensic Palynology Study around Faculty of Allied Health Sciences Official Building, Naresuan University, Phitsanulok.
By	Tanawat Tamkhom
	Surachat Meebun
	Akadech Puatad
Program Title	Medical technology
Advisor	Assistant Professor Saengchai Nateeworanart

Abstract

Forensic palynology is the study of pollen grains, fern and fungal spores that aims to prove or disprove a relationship among objects, people, and places that may pertain to both criminal and civil cases. There is no information about this in Naresuan University. The objective of this study was to identify the pollen and spore of the plant around the faculty of Allied health sciences official and laboratory building, Naresuan University, Phitsanulok province. The experiment was separated into 2 parts; the pilot and basic forensic palynological. In the pilot study, we found that wet mount adhesive tape technique was the best procedure to collect the pollen and spore sample. Safranin O at the dilution of 1:2 and 1:4 were proper concentration for pollen staining and not depended on time of the dye staining. The result from the cloth model indicated that movement of the model was important process for pollen grain collection. For the palynological study of cloth for forensic evidence, 44 plants were collected. The dominant species were *Murraya paniculata.*, *Ixora coccinea.*, *Alternaria alternata.*, *Cleome viscosa.* and *Asplenium nidus.* For the morphology of pollens on the shirt were striate and regulate surface and tricolporate structure, microreticulate surface and tricolporate structure, large and appear dark also have short beaks and fine long septate, striato-microreticulate and striato-reticulate surface and tricolporate structure, and foveolate surface and monolete structure, respectively. The concentration of those species were 69.58%, 8.15%, 4.57%, 1.99%, 1.79%, repectively. The study of palynomorphs should be performed in different location of Naresuan University which can then be used in a forensic case to relate a person or object to a crime scene, or even to determine whether the scene at which the pollen was found was the primary or the secondary scene.

Keywords : pollen, forensic sciences, forensic palynology, crime scene.

สารบัญ

บทที่		หน้า
	กิตติกรรมประกาศ	ก
	บทคัดย่อ (ไทย)	ข
	บทคัดย่อ (อังกฤษ)	ค
1	**บทนำ**	
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์	3
	ขอบเขตการวิจัย	3
2	**ทบทวนวรรณกรรม**	
	ละอองเรณู	4
	การสำรวจละอองเรณูทั่วโลก	10
	ละอองเรณูกับบทบาทในการก่อภูมิแพ้	11
	นิติวิทยาศาสตร์	13
	นิติเรณูวิทยา	14
	สีย้อมและการตรวจละอองเรณู	14
	ตัวอย่างกรณีศึกษาที่นิติเรณูมีส่วนในการคลี่คลายคดี	15
	นิติเรณูวิทยากับการช่วยระบุตัวบุคคลและสถานที่เกิดเหตุ	15
	นิติเรณูวิทยากับการระบุที่มาของวัตถุพยาน	16
3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	
	ระเบียบวิธีวิจัย	18
	อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	18
	อุปกรณ์	18
	สารเคมี	18
	เครื่องมือ	18

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

3 (ต่อ)

การเก็บตัวอย่าง 19

การศึกษานำร่อง 19

การศึกษาเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เก็บตัวอย่างของละอองเรณู 19

Wet mount technique 19

Scotch tape technique 19

Wet scotch tape adhesion technique 19

Swab technique 20

การหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของ สีย้อม Safranin O ในการย้อมละอองเรณู 20

ศึกษาละอองเรณูบนตัวอย่างเสื้อเพื่อจำลองตัวบุคคลหรือวัตถุพยานในแนวตั้งและแนวราบ 21

วิธีการเก็บตัวอย่าง 21

การเก็บตัวอย่างเกสรตัวผู้ของพืชดอกเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมผลการทดสอบ 21

การศึกษานิติเรณูเบื้องต้น 21

การวางแผนการศึกษาและสำรวจสถานที่เก็บตัวอย่าง 21

การเก็บและศึกษาละอองเรณู 21

4 ผลการวิจัย

4.1 การศึกษานำร่อง 25

4.1.1 การศึกษานำร่องเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจละอองเรณู 25

4.1.2 การหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของ สีย้อม Safranin O ในการย้อมละอองเรณู 26

4.2 ศึกษาละอองเรณูบนตัวอย่างเสื้อเพื่อจำลองตัวบุคคลหรือวัตถุพยานในแนวตั้งและแนวราบ 27

4.3 ผลการศึกษาละอองเรณูและสปอร์ที่เป็นตัวอย่างควบคุม 27

4.4 ผลการศึกษาทางนิติเรณูวิทยาโดยการใช้วิธีการลากเสื้อ 33

4.5 พืชเด่นและละอองเรณูที่พบบนเสื้อ 37

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
5	อภิปรายและวิจารณ์ผลการวิจัย	41
6	สรุปผลการวิจัย	47
เอกสารอ้างอิง		48
ภาคผนวก		
	ภาคผนวก ก วิธีการเตรียมละอองเรณูและสีย้อม	54
	ภาคผนวก ข ขั้นตอนการทำความสะอาดเพื่อกำจัดละอองเรณูที่ปนเปื้อนก่อนทำการทดลอง	55
	ภาคผนวก ค พืชเด่น ณ สถานที่เก็บตัวอย่างละอองเรณูพืชดอกและเฟิร์น 4 แห่งรอบอาคารคณะสหเวชศาสตร์	58
	ภาคผนวก ง การวัดขนาดละอองเรณูด้วย Micrometer	65
	ภาคผนวก จ พืชเด่นที่พบบนเสื้อตัวอย่างในสถานที่เก็บตัวอย่างละอองเรณูพืชดอกและเฟิร์น 4 แห่งรอบอาคารคณะสหเวชศาสตร์	67
	ภาคผนวก ฉ ขั้นตอนในการทำงานและผลการทดลองใช้สีย้อมธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกรแดง	70
ประวัติผู้วิจัย		75

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	พิกัดทางภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ความชื้น และความเร็วลมของพื้นที่ ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง	24
2	ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม	28
3	ชนิดและร้อยละของจำนวนละอองเรณูที่พบอยู่บนเสื้อตัวอย่างทดสอบด้วยแบบจำลองการเก็บละอองเรณูด้วยวิธีการลาก และเก็บละอองเรณูด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique	35
4	ลักษณะของละอองเรณูที่เด่นบนเสื้อตัวอย่างและสถิติ	40

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	การเกิดของละอองเรณู	4
2	โครงสร้างของผนังละอองเรณู	5
3	รูปปั้นดินเผาในสุสานของมหาจักรพรรดิจิ๋นซีฮ่องเต้	6
4	ช่องเปิดบนผนังละอองเรณู แบบ Prorate และแบบ Colpate และแบบ Colporate	7
5	รูปแบบของละอองเรณู	8
6	ลวดลายบนผนังของละอองเรณู	9
7	ละอองเรณูของหญ้าที่ปลิวไปในอากาศ	10
8	ดอกของ *Cryptomeria japonica* และละอองเรณูของ *Cryptomeria japonica*	11
9	ละอองเรณูของกกแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L., *Rotundus* spp.) และละอองเรณูของกระถินณรงค์ (*Acacia auriculformis A. Cunn. ex. Bth.*)	13
10	ดอกของ*Taxus cuspidata (Japanese yew)* และละอองเรณูของ *Taxus cuspidata (Japanese yew)*	13
11	สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Wet mount technique	19
12	สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Scotch tape technique	19
13	สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique	20
14	สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Swab technique	20
15	บริเวณพื้นที่เก็บละอองเรณูบนเสื้อตัวอย่าง	22
16	รูปบริเวณที่เก็บตัวอย่าง 5x5 m	23
17	ละอองเรณูของดอกเข็มสดและแห้งบนสไลด์วิธีการ Wet scotch tape adhesion technique	25
18	A ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:1; B ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:2; C ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:4; D ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:8; E ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:16	26
19	ต้นดอกแก้ว (*Murraya paniculate*) และละอองเรณูของดอกแก้ว	37
20	ต้นดอกเข็ม *(Ixora coccinea*) และละอองเรณูของดอกเข็ม	37
21	ต้นผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*) และละอองเรณูของต้นผักเสี้ยนผี	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
22	เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย (*Asplenium nidus*) และสปอร์ของเฟิร์นข้าหลวงหลังลาย	38
23	เชื้อรา *Alternaria alternata*	38
24	Unidentified pollen grain	38
25	เห็ดกระโดงตีนต่ำ (*Chlorophyllum molybdites*) และสปอร์ของเห็ดกระโดงตีนต่ำ	39
26	เห็ดตระกูลเห็ดขี้ควาย (Psilocybin or magic mushroom) และสปอร์ของเห็ดขี้ควาย	39
27	ต้นดอกเข็ม (*Ixora coccinea*) และละอองเรณูของดอกเข็ม	59
28	ต้นพวงชมพู (*Antigonon leptopus*) และละอองเรณูของดอกพวงชมพู	59
29	ต้นพุดศุภโชค (*Gardenia jasminoides*) และละอองเรณูของดอกพุดศุภโชค	59
30	ต้นแพรเซี่ยงไฮ้ (*Portulaca oleracea*) และละอองเรณูของดอกแพรเซี่ยงไฮ้	60
31	ต้นโมก (*Wrightia religiosa*) และละอองเรณูของดอกโมก	60
32	ต้นเฟิร์นฮาวาย (*Phymatosonus grossus*) และ สปอร์ของเฟิร์นฮาวาย	60
33	ต้นมะลิลา (*Jasminum sambac*) และละอองเรณูของดอกมะลิลา	61
34	ต้นกาสะลอง (*Millingtonia hortensis*) และละอองเรณูของดอกกาสะลอง	61
35	ต้นถั่วพินตอย (*Arachis pintoi*) และละอองเรณูของดอกถั่วพินตอย	61
36	ต้นเสลดพังพอน (*Barleria lupulina*) และละอองเรณูของดอกเสลดพังพอน	62
37	ต้นฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) และละอองเรณูของดอกฟ้าทะลายโจร	62
38	ต้นสาละ (*Shorea robusta*) และละอองเรณูของดอกสาละ	62
39	ต้นละมุด (*Manikara zapota*) และละอองเรณูของดอกละมุด	63
40	ต้นอัญชัน (*Clitoria ternatea*) และละอองเรณูของดอกอัญชัน	63
41	ต้นเฟื่องฟ้า (*Bougainvillea glabra*) และละอองเรณูของดอกเฟื่องฟ้า	63
42	ต้นชมพู่ (Eugenia javanica) และละอองเรณูของดอกชมพู่	64
43	ต้นหางนกยูง (*Caesalpinia pulcherrima*) และละอองเรณูของดอกหางนกยูง	64
44	การเทียบขนาดช่องของ Micrometer	66
45	ต้นดอกแก้ว (*Murraya paniculate*) และละอองเรณูของดอกแก้ว	68
46	ต้นดอกเข็ม (*Ixora coccinea*) และละอองเรณูของดอกเข็ม	68
47	ต้นผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*) และละอองเรณูของต้นผักเสี้ยนผี	68

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
48	เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย (*Asplenium nidus*) และสปอร์ของเฟิร์นข้าหลวงหลังลาย	69
49	เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้และผลเน่าในพืช (*Alternaria alternata*)	69
50	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างควบคุม	71
51	ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์สำหรับทำแบบจำลองแนวตั้ง	71
52	ขั้นตอนการวางแบบจำลองแนวตั้ง	72
53	ขั้นตอนการย้อมสี Safranin O	72
54	ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างควบคุม	73
55	การเจือจางสีย้อมจากเนื้อแก้วมังกร	73
56	การนำสีย้อมจากเนื้อแก้วมังกรมาย้อมละอองเรณู	73
57	A ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสีธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกร ความเข้มข้น 1:1; B ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสีธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกร ความเข้มข้น 1:2; C ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสีธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกร ความเข้มข้น 1:4; D ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสีธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกร ความเข้มข้น 1:8; E ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสีธรรมชาติจากเนื้อแก้วมังกร ความเข้มข้น 1:16	74

สัญลักษณ์และคำย่อ

AHS	คณะสหเวชศาสตร์ (Allied Health Sciences)
AM	ก่อนเที่ยง (Ante meridiem)
DW	น้ำกลั่น (Distilled water)
cm	เซนติเมตร (Centimeter)
cm^2	ตารางเซนติเมตร (Square centimeter)
Covid-19	(Coronavirus disease 2019)
E	ทิศตะวันออก (East)
E	เส้นผ่าศูนย์กลาง (Equatorial axis)
km/h	กิโลเมตรต่อชั่วโมง (Kilometre per hour)
m	เมตร (Meter)
Max	ค่าสูงสุด (Maximum)
Min	ค่าต่ำสุด (Minimum)
ml	มิลลิลิตร (Milliliter)
mm	มิลลิลิตร (Millimeter)
N	ทิศเหนือ (North)
NU	มหาวิทยาลัยนเรศวร (Naresuan University)
LM	กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
P	เส้นผ่าแกนขั้ว (Polar axis)
RH	ความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity)
S.D.	ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)
SEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)
spp.	สายพันธุ์ (Species)
TEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)
T	อุณหภูมิ (Temperature)
WV	อัตราความเร็วลม (Wind velocity)
µm	ไมโครเมตร (Micrometer)
µl	ไมโครลิตร (Microliter)
°C	องศาเซลเซียส (Degree celsius)

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ละอองเรณูเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของพืชดอก โดยละอองเรณูจะอยู่บริเวณอับเรณู และเมื่ออับเรณูแก่เต็มที่อับเรณูจะแตกออกและจะถูกนำพาไปโดยปัจจัยหรือตัวนำพาละอองเรณู เช่น กระแสลม กระแสน้ำ แมลง มนุษย์ และปัจจัยอื่นๆ ในการที่จะระบุชนิดและลักษณะของละอองเรณูต้องพิจารณาหลายอย่างด้วยกัน เช่น ขนาด รูปร่าง ขั้ว และสมมาตรของเรณูรวมถึงช่องเปิดต่างๆ ของละอองเรณู ได้แก่ รูเปิด ร่องเปิด ช่องเปิดแบบผสม และลวดลายของพื้นผิวละอองเรณู และเรณูวิทยา คือ การศึกษาเกี่ยวกับเรณูของพืชดอกรวมถึงสปอร์ของพืช เช่น พืชในกลุ่มเฟิร์น ไบรโอไฟต์ สาหร่าย และเห็ด โดยการศึกษาละอองเรณูนั้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้านด้วยกัน เช่น อนุกรมวิธาน พันธุศาสตร์ วิวัฒนาการ นิติวิทยาศาสตร์ ซากดึกดำบรรพ์ การเกิดภูมิแพ้ การประเมินด้านสิ่งแวดล้อม และความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตกับสิ่งแวดล้อม (1)

ส่วนนิติวิทยาศาสตร์ คือ การนำเอาความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ในด้านกฎหมาย เช่น การเก็บและตรวจสอบหลักฐาน สถานที่เกิดเหตุเพื่อค้นหาความจริงและพิสูจน์การกระทำความผิดของผู้ต้องหาหรือจำเลย ซึ่งจะนำไปใช้เป็นหลักฐานในการวินิจฉัยผู้ต้องหาหรือจำเลยที่กระทำความผิด (2)

นิติเรณูวิทยาเป็นการศึกษารูปร่างลักษณะละอองเรณูและสปอร์พืช รวมทั้งเห็ดราเพื่อใช้เป็นหลักฐานประกอบการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อบังคับใช้ในทางกฎหมาย โดยศาสตร์นี้สามารถใช้ในการระบุสถานที่เกิดเหตุ สืบหาผู้ต้องหาและเหยื่อและที่มาของวัตถุพยาน (3-7)

สำหรับตัวอย่างจากกรณีศึกษาที่ใช้นิติเรณูในการระบุสถานที่เกิดเหตุในประเทศออสเตรีย ปี ค.ศ. 1959 เพื่อสืบหาผู้กระทำความผิด โดยมีผู้ชายสูญหาย แต่ไม่พบร่างของผู้สูญหาย ทางตำรวจจึงได้นำตัวอย่างโคลนจากรองเท้าบูทส่งไปยัง Dr. Wilhelm Klaus เพื่อทำการวิเคราะห์โคลนบนรองเท้าบูทดังกล่าว พบละอองเกสรของต้น modern spruce, willow และ alder และละอองเรณู miocene age fossil hickory โดย Dr. Klaus ได้ระบุตำแหน่งของละอองเรณูที่ติดบนรองเท้าบูทคือทางตอนเหนือของเวียนนา ใกล้กับแม่น้ำดานูป และทำให้ฆาตกรยอมรับสารภาพ (8) และกรณีศึกษา Baby Doe ในรัฐแมสซาซูเซส ประเทศสหรัฐอเมริกา พบศพของเด็กผู้หญิงซึ่งถูกห่อเอาไว้ด้วยถุงขยะ ใบหน้าและลายนิ้วมือบิดเบี้ยว จากนั้นเจ้าหน้าที่จึงทำการวิเคราะห์ทางนิติเรณูวิทยา ทำให้ทราบว่าเด็กน่าจะอาศัยอยู่บริเวณตะวันออกเฉียงใต้ของ Arnold Arboreturn ของเมืองบอสตัน เนื่องจากพบละอองเรณูของต้น Cedrus (9)

ส่วนการใช้นิติเรณูในการช่วยระบุตัวตนของบุคคลเป็นกรณีศึกษา ในประเทศนิวซีแลนด์เกิดเหตุเด็กหญิงถูกลักพาตัวขณะเดินอยู่บนถนน มีการทำร้ายร่างกายและข่มขืนเหยื่อ ในที่เกิดเหตุพบพุ่มไม้ Coprosma ที่มีอยู่ทั่วไปในประเทศนิวซีแลนด์ โดยพืชชนิดนี้มีเกสรที่ถูกลมพัดพากระจายออกไปได้ง่าย และในพื้นที่เกิดเหตุเป็นพื้นที่ที่มีความชื้นสูงและยังมีเห็ดราเจริญเติบโตอยู่เป็นจำนวนมาก จึงทำให้พบ Fungal hyphae ของเชื้อราเข้าไปปะปนและติดกับละอองเกสรของพืชได้ เหตุนี้จึงทำให้ละอองเรณูในพื้นที่นี้มีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์แตกต่างจากที่อื่น โดยละอองเรณูเหล่านี้ยังพบบนเสื้อผ้าของเหยื่อ และผู้ต้องหาจากการทำ Vaginal swabs สามารถยืนยันว่าเหยื่อได้ถูกข่มขืนจริง (10)

นอกจากนี้เกสรดอกไม้ยังสามารถใช้เป็นหลักฐานในวัตถุพยานได้ โดยตัวอย่างละอองเกสรที่เก็บได้จากวัตถุพยานสามารถบ่งบอกประวัติการเดินทางของวัตถุพยานได้ ไม่ว่าจะเป็นประวัติการขนถ่ายยาเสพติด เงิน และวัตถุโบราณที่มีคุณค่าทางประวัติศาสตร์หรือแม้กระทั่งที่มาของอาหารและผลิตภัณฑ์อาหาร (8)

เนื่องจากในปัจจุบันมีคดีความเกิดขึ้นมากมายและในบางคดีการใช้งานด้านนิติวิทยาศาสตร์เข้ามามีส่วนช่วยในการตรวจสอบเบาะแสของคดี ในบางครั้งเงื่อนงำที่ได้อาจไม่ได้ช่วยให้เจ้าหน้าที่ตำรวจสามารถสืบหาเพื่อระบุตัวผู้กระทำผิดและเหยื่อ ร่องรอยของหลักฐานและสถานที่เกิดเหตุ นิติเรณูจึงเข้ามาเป็นส่วนหนึ่งของการระบุตัวผู้เกี่ยวข้องในคดี หลักฐานที่จะนำไปสู่การจับกุมผู้กระทำความผิด รวมทั้งการระบุสถานที่เกิดเหตุ เพื่อให้หลักฐานมีความสมบูรณ์มากขึ้นจึงมีการใช้สาขาวิชานี้ร่วมกับหลักฐานหลักทางนิติวิทยาศาสตร์อื่นเช่น DNA การระบุคราบเลือดและหมู่เลือด ลายนิ้วมือ เป็นต้น ดังนั้น การศึกษางานด้านเรณูวิทยาโดยทำการเก็บตัวอย่างละอองเรณูเพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลในงานด้านนิติเรณูวิทยาเบื้องต้นของสถานที่ที่ทำการศึกษาจึงมีความสำคัญ เนื่องจากข้อมูลด้านนิติเรณูสามารถใช้เป็นหลักฐานหลักฐานเพื่อระบุสถานที่เกิดเหตุ ตัวผู้เกี่ยวข้องในคดีและหลักฐานที่เป็นประโยชน์ในคดีความ ดังนั้นข้อมูลชนิดละอองเรณูบริเวณรอบคณะสหเวชศาสตร์สามารถเพื่อเป็นหลักฐานข้อมูลด้านนิติเรณูของบริเวณนี้ เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาชนิดละอองเรณูในสถานที่แห่งนี้มาก่อน ดังนั้นการจำลองรูปแบบบุคคลและหลักฐานโดยใช้เสื้อที่ทำจากผ้าฝ้าย (3) จึงมีความเหมาะสมในการเก็บละอองเรณูของพืชดอกรอบบริเวณคณะสหเวชศาสตร์เนื่องจากข้อมูลด้านนิติเรณูบนเสื้อบริเวณนี้ไม่เคยมีการรายงาน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ได้ในการศึกษานี้เป็นข้อมูลสำหรับการสนับสนุนหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทยต่อไป เนื่องจากในต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา บางประเทศในทวีปยุโรป นิวซีแลนด์ ได้ใช้นิติเรณูวิทยาในการช่วยไขคดีร่วมกับใช้เป็นหลักฐานอื่นๆ เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีความ โดยใช้ละอองเรณูจากพืชดอกและสปอร์เฟิร์นและราในการประกอบคำให้การและหลักฐานจากบุคคลที่เกี่ยวข้อง อันจะนำไปซึ่งการบังคับทางกฎหมายทั้งทางแพ่งหรือทางอาญาเพื่อนำตัวกระทำความผิดมารับโทษทางกฎหมายเพื่อความยุติธรรมต่อไป (11) และละอองเรณูยังสามารถใช้สืบหาที่มาที่ไปของสิ่งของ และในบางกรณียังช่วยในการไขคดี เกี่ยวกับแหล่งที่มาของยาเสพติด เงิน วัตถุโบราณ และอาหารบางชนิด (12)

นิติเรณูวิทยามีประโยชน์อย่างยิ่งในกรณีที่เป็นหลักฐานเพื่อที่จะระบุการเคลื่อนย้ายหรือมีการเกิดเหตุอาชญากรรมในภูมิรัฐศาสตร์ โดยการใช้รูปร่างลักษณะและขนาดรวมถึงคุณสมบัติอื่นๆ ของละอองเรณูของพันธุ์พืชที่แตกต่างกันช่วยระบุพิกัดของสถานที่เกิดเหตุหรือการเคลื่อนย้ายศพ สำหรับตัวอย่างการใช้นิติเรณูวิทยาใช้เป็นหลักฐานประกอบการสืบสวนคดีแพ่งและคดีอาญาในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา นิวซีแลนด์ ออสเตรีย แต่ส่วนใหญ่ในหลายประเทศทั่วโลกยังมีการใช้ความรู้ทางด้านนิติเรณูวิทยาอยู่น้อยมาก รวมทั้งประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในจังหวัดพิษณุโลกยังไม่มีการศึกษาเรื่องนี้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาละอองเรณูของพืชและละอองเรณูที่ติดอยู่บนเสื้อผ้าหรือเครื่องแต่งกายและทำการเปรียบเทียบลักษณะละอองเรณูของพืชกับละอองเรณูที่อยู่บนเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย โดยได้ทำการศึกษาในบริเวณพื้นที่รอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ และเพื่อวิเคราะห์ละอองเรณู ได้แก่ pollen concentration และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของละอองเรณูของพืชดอก สปอร์ของพืชจำพวกเฟิร์นรวมทั้งเห็ดรากับละอองเรณูที่ติดอยู่บริเวณเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย โดยกรณีศึกษาจะทำการศึกษาบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ รวมทั้งมีการศึกษานำร่องเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจละอองเรณูและหาความเข้มข้นและระยะเวลาของสี Safranin O ที่เหมาะสมในการย้อมตัวอย่างละอองเกสรของพืช อีกทั้งยังศึกษาละอองเรณูที่นำโดยลมในแบบจำลองในแนวตั้งและแนวราบเพื่อเป็นประโยชน์ในทางนิติเวชศาสตร์ของพื้นที่ที่ทำการศึกษาต่อไป

วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์

1.เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบลักษณะละอองเรณูของพืชรอบบริเวณที่ศึกษากับละอองเรณูที่อยู่บนตัวอย่างเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย โดยได้ทำการศึกษาในบริเวณพื้นที่รอบตึกอาคารที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นทางนิติวิทยาของคณะต่อไป

2.เพื่อวิเคราะห์ละอองเรณู ได้แก่ pollen concentration และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของละอองเรณูของพืชดอก สปอร์ของพืชจำพวกเฟิร์นรวมทั้งเห็ดรากับละอองเรณูที่ติดอยู่บริเวณเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย โดยกรณีศึกษาบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์

3.การศึกษานำร่องเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจละอองเรณูและหาความเข้มข้นและระยะเวลาของสี Safranin O ที่เหมาะสมในการย้อมตัวอย่างละอองเกสรของพืช อีกทั้งยังศึกษาละอองเรณูที่นำโดยลมในแบบจำลองในแนวตั้งและแนวราบเพื่อเป็นประโยชน์ในทางนิติเวชศาสตร์ของพื้นที่ที่ทำการศึกษาต่อไป

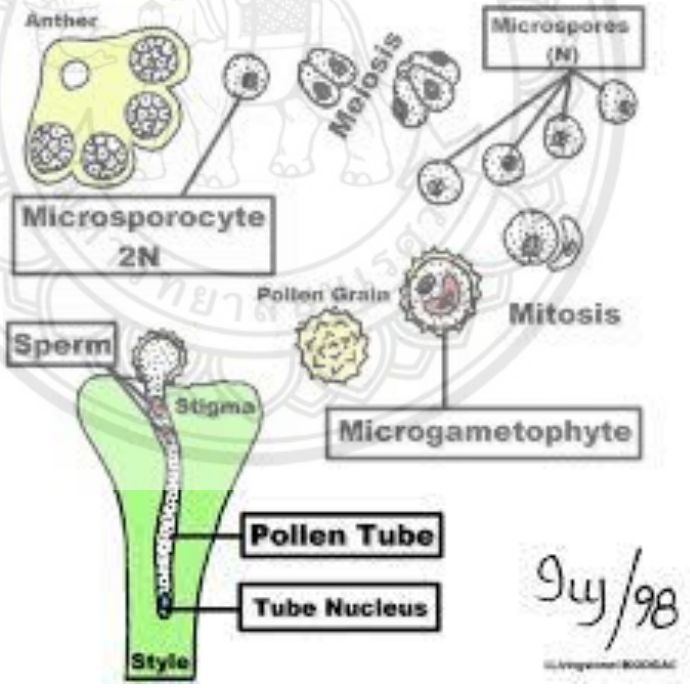
ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของละอองเรณูของพืชดอกที่ติดอยู่บนเสื้อผ้าบริเวณรอบที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก โดยทำการเก็บตัวอย่างช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2565

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ละอองเรณูจัดเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ตามลำดับวิวัฒนาการจะพบอยู่ในพืช 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสน (Gymnosperms) และกลุ่มพืชดอก (Angiosperms) ละอองเรณูกำเนิดมาจากไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ แบ่งเซลล์แบบ ไมโอซิส ให้ 4 ไมโครสปอร์แต่ละ ไมโครสปอร์มีการแบ่งเซลล์แบบ ไมโทซิสอีกครั้ง หนึ่งให้เซลล์เจเนเรทีฟ และเซลล์ทิวป์ ต่อมาผนังของไมโครสปอร์จะหนาขึ้นและปรากฏลวดลายบนผิวชั้นนอก ในระยะนี้จะเรียกไมโครสปอร์ว่า ละอองเรณูหรือละอองเกสร (ภาพ 1) จะพบละอองเรณูได้ในอับละอองเรณู (Anther) ของเกสรเพศผู้ ในเฉพาะพืชที่มีเมล็ดเท่านั้นที่จะมีละอองเรณู ขนาดของละอองเรณูของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันมีตั้งแต่เส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 µm จนถึงมากกว่า 200 µm

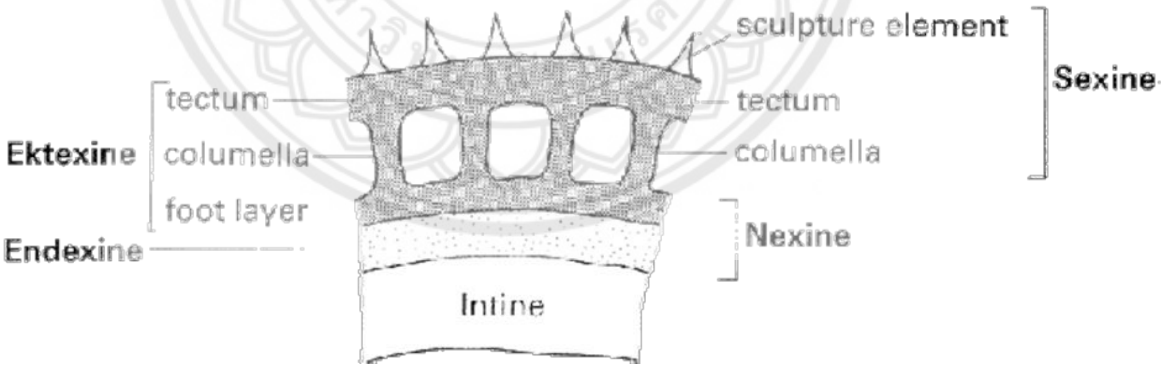


ภาพ 1 การเกิดของละอองเรณู (14)

ได้ศึกษาขนาดของละอองเรณูโดยการวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่ยาว ที่สุดของละอองเรณู ไม่วัดรวมส่วนต่างๆ ที่ยื่นออกมาจากผนังของละอองเรณูและได้จัดกลุ่มไว้ ดังนี้

ละอองเรณูขนาดเล็กมาก	น้อยกว่า 10 µm
ละอองเรณูขนาดเล็ก	10 - 25 µm
ละอองเรณูขนาดกลาง	25 - 50 µm
ละอองเรณูขนาดใหญ่	50 - 100 µm
ละอองเรณูขนาดใหญ่มาก	100 - 200 µm
ละอองเรณูขนาดยักษ์	มากกว่า 200 µm

โครงสร้างของผนังละอองเรณูจะมีส่วนประกอบหลักอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นผนังชั้นนอกเรียกเอกซีน (exine) และส่วนที่เป็นผนังชั้นในเรียกอินทีน (intine) ในชั้นของเอกซีนจะแบ่งเป็นชั้นย่อย อีก 2 ชั้น คือ เนกซีน (nexine) เป็นขั้นที่อยู่ติดกับชั้นอินทีนในชั้นนี้ไม่มีลวดลาย และชั้นเซกซีน (sexine) ซึ่งในชั้นนี้ยังแบ่งออกเป็นชั้นย่อยได้อีก 2 ชั้น คือ คอลัมเมลลา (columellae) อยู่ติดกับชั้นเนกซีน เป็นชั้นที่มีส่วนประกอบตั้งตรงคล้ายเสา และชั้นเทกทัม (tectum) มีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายหลังคาอยู่เหนือชั้นคอลัมเมลลา ซึ่งลวดลายต่างๆ ของละอองเรณูจะปรากฏอยู่บนชั้นนี้ (ภาพ 2) องค์ประกอบของชั้น เอกซีนจะเป็นสารสปอร์โรพอลเลนิน (sporopollenin) เป็นพอลิเมอร์ (polymer) ของ mono หรือ dicarboxylic fatty acid ซึ่งมีคุณสมบัติทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้ง อุณหภูมิสูง และความเป็นกรดด่าง จึงไม่เน่าสลายผุพังง่าย ดังนั้นสารสปอร์โรพอลเลนินจึงเป็นสารที่รักษาร่องรอยของละอองเรณูในซากดึกดำบรรพ์ของพืชให้คงอยู่มาได้จนถึงทุกวันนี้ แม้ว่าองค์ประกอบทางชีววิทยาอื่นๆ ได้สูญสลายไปหมดแล้วก็ตาม ส่วนในชั้นอินทีนจะประกอบด้วยสารจำพวก เซลลูโลส (cellulose) และโปรตีน (protein) พบสารประกอบทั้ง 2 ชนิดนี้ในผนังเซลล์ปฐมภูมิทุกแห่ง



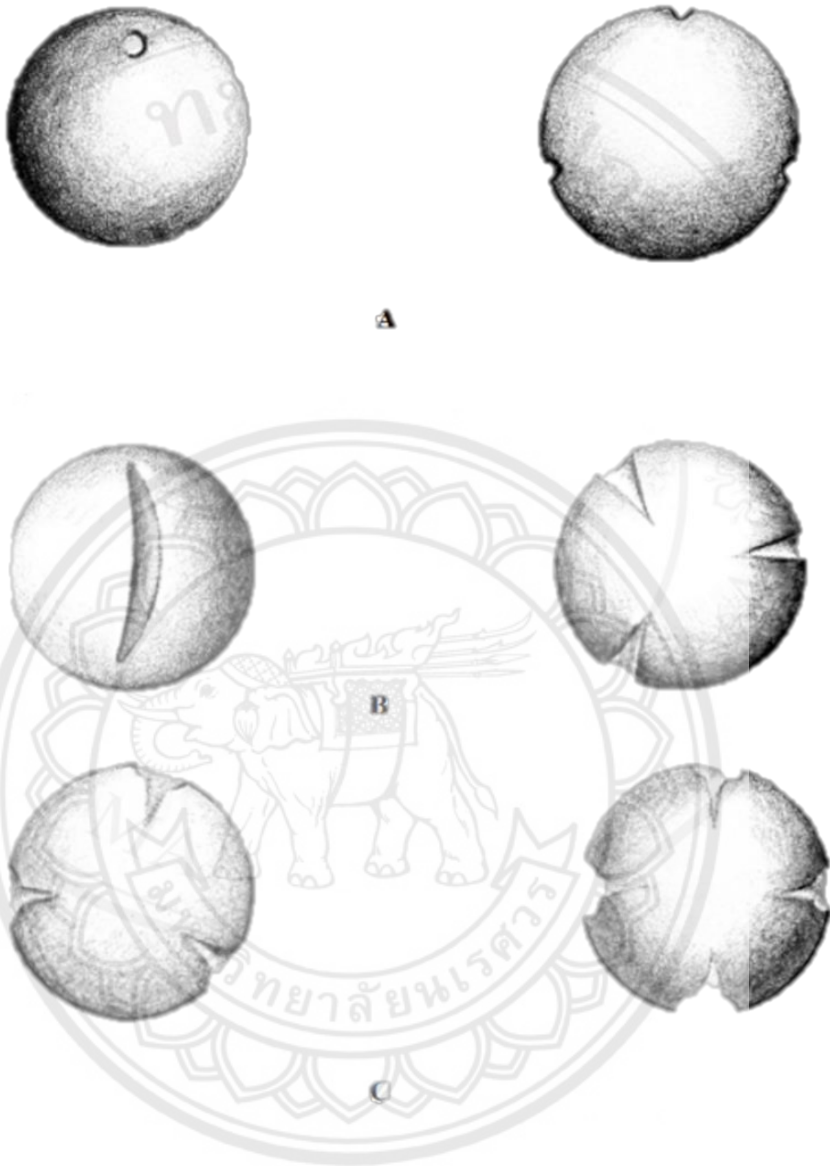
ภาพ 2 โครงสร้างของผนังละอองเรณู (14)

ได้สำรวจพบซากดึกดำบรรพ์ของละอองเรณูของพืช สกุล *Aquilapollenite* ในภาคตะวันตกเฉียงเหนือประเทศปากีสถานทั้งหมด 3 ชนิด คือ *Aquilapollenites amplus, A. reductus* และ *Aquilopollenits* sp. แล้วได้ใช้วิธีทางเรณูวิทยา พิสูจน์พบว่า พืชชนิดนี้มีต้นกำเนิดอยู่ในยุค upper cretacious และการทำวิจัยในครั้งนี้ยังสนับสนุนสมมติฐานที่ว่าโลกในยุคก่อนมีแผ่นดินติดกันเป็นแผ่นเดียว (pangaea) ส่วน Hu et al. (2006) ก็ได้ใช้วิธีทางเรณูวิทยา ตรวจสอบละอองเรณูที่อยู่ในเศษชิ้นส่วนที่แตกออกของรูปปั้นดินเผาของทหารและม้าในสุสานของมหาจักรพรรดิจิ๋นซีฮ่องเต้ (ภาพ 3) เพื่อค้นหาว่าเตาเผาที่ใช้ในการปั้นรูปปั้นพวกนี้อยู่ที่ไหนโดยสกัดเอาซากดึกดำบรรพ์ของ

ละอองเรณูในรูปปั้นออกมาแล้วนำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างละอองเรณูจาก Pollen Flora of China และตัวอย่างละอองเรณูของพืชบริเวณรอบๆ สุสาน จากผลการวิจัยสันนิษฐานว่า เตาที่ใช้ปั้นรูปปั้นม้าอยู่บริเวณป่าใกล้ๆ กับสุสาน ส่วนเตาที่ปั้นรูปปั้นทหารอยู่ในพื้นที่ป่าที่ไกลออกไปและเตาที่ใช้ในการปั้นน่าจะมีมากกว่า 4 เตา และน่าจะปั้น โดยช่างฝีมือจากหลายสำนัก

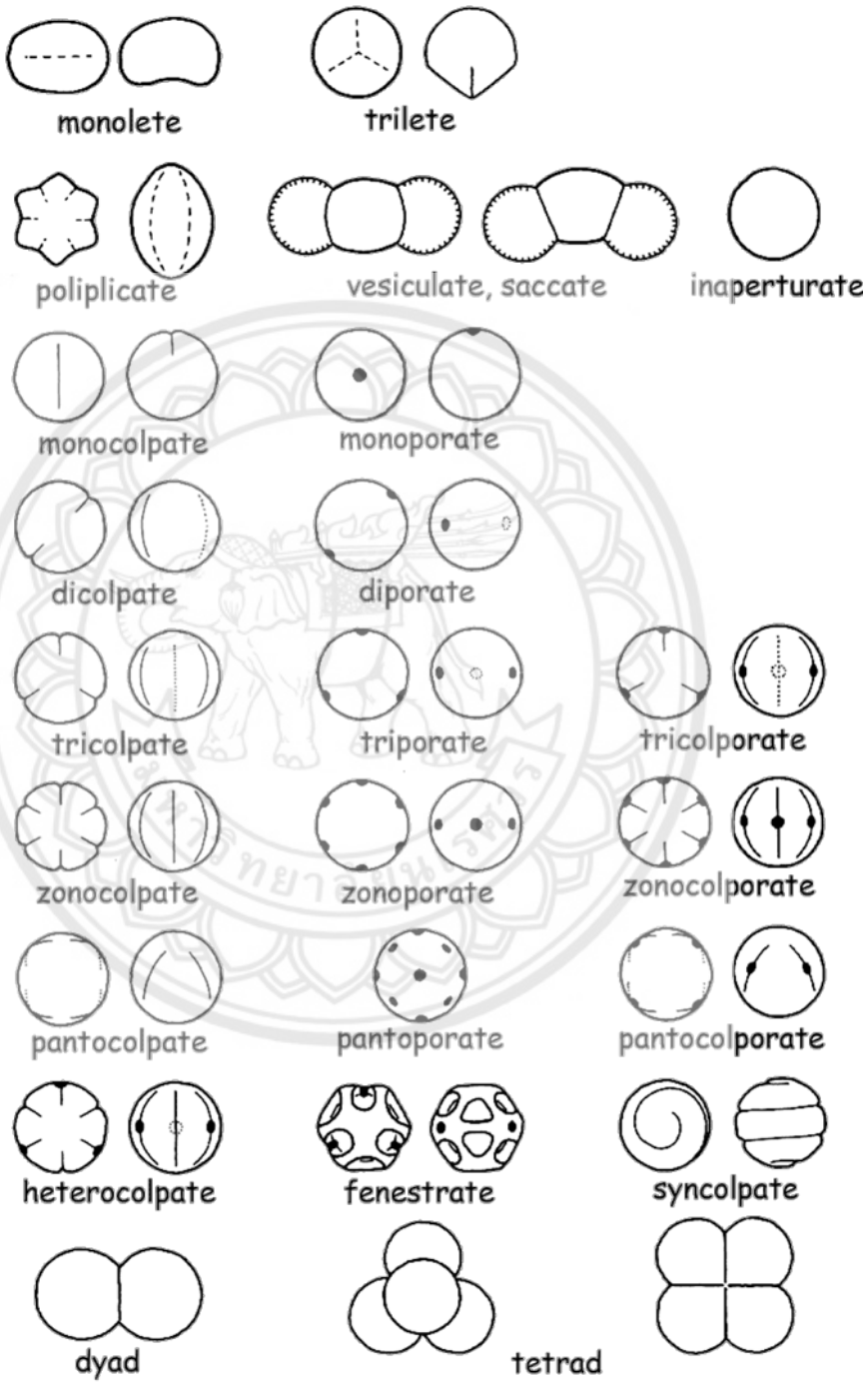
ภาพ 3 รูปปั้นดินเผาในสุสานของมหาจักรพรรดิจิ๋นซีฮ่องเต้ (14)

ตรงผนังส่วนที่บางที่สุดของชั้นเอกซีนจะเกิดเป็นรอยยุบให้หลอดเรณู (pollen tube) โผล่ออกมาในช่วงการงอก เรียกบริเวณนี้ว่าช่องเปิดบนผนังละอองเรณู (aperture) มีอยู่ด้วยกัน 2 แบบ คือช่องเปิดแบบธรรมดา (simple aperture) และช่องเปิดแบบผสม (compound aperture : colporate, ora) สำหรับช่องเปิดแบบธรรมดา ยังแบ่งย่อยออกไปได้อีก 2 แบบ คือ แบบ colpate หรือ colpi มีลักษณะเป็นร่องยาว มีความยาวมากกว่า 2 เท่าของความกว้าง และแบบ porate หรือ pore มีลักษณะเป็นรูกลมหรือรี ส่วนช่องเปิดแบบผสม (colporate) ประกอบด้วยช่องเปิดแบบ และแบบ porate รวมกัน (ภาพ 4)



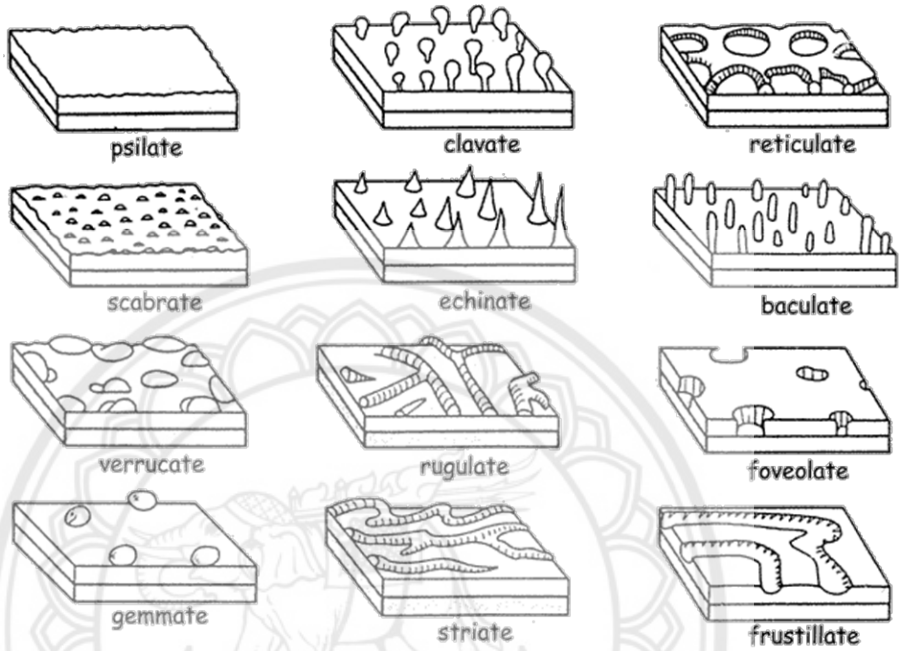
ภาพ 4 ช่องเปิดบนผนังละอองเรณู A แบบ porate; B แบบ colpate; C แบบ colporate (14)

เมื่อนำรูปร่างลักษณะของช่องเปิด ตำแหน่งและรูปร่างของละอองเรณูมาประกอบกัน ทำให้ได้ละอองเรณูรูปแบบต่าง ๆ (ภาพ 5)



ภาพ 5 รูปแบบของละอองเรณู (14)

ลวดลายบนผนังละอองเรณู คือ ลวดลายที่ปรากฏบนพื้นผิวของละอองเรณู หรือ โครงสร้างที่ปกคลุมอยู่บนชั้นเทคทัมของละอองเรณู ซึ่งอาจมีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ กันแล้วแต่ชนิดของละอองเรณู (ภาพ 6)



ภาพ 6 ลวดลายบนผนังของละอองเรณู (14)

มีนักพฤกษศาสตร์หลายท่านได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเรณู ดังเช่นได้มีศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเรณูของพืชวงศ์ Anacardiaceae พบว่าละอองเรณูส่วนมากจะมีรูปแบบ trizonocolporate และมีขั้วแบบ isopolar จะมีละอองเรณูส่วนน้อยที่มีรูปแบบ tetrazonocolporate และมีขั้วแบบ heteropolar ขนาดเฉลี่ยจะพบอยู่ในช่วง 17.4 ถึง 101.6 μm ละอองเรณูมีรูปร่างด้านข้างแบบ spheroidal และ prolate และมีรูปร่างด้านขั้วหลายแบบ คือ circular triangular interhexagonal ผนังนั้นเอกซีนจะประกอบด้วยชั้นเซกซีนและเนกซีน ในชั้นเทคทัมจะปรากฏลวดลายแบบ psilate striate regulate reticulate suprastriate และ microechinate และยังได้นำเอาละอองเรณูที่ทำการศึกษาในข้างต้นมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic relationship) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ DELTA (Description Language for Taxonomy พบว่าลักษณะของละอองเรณูที่ทำการศึกษาสามารถนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ของพืชวงศ์ Anacardiaceae ได้ในปี พ.ศ. 2524 ได้ศึกษาละอองเรณูของพืชวงศ์ Bignoniaceae ของไทยทั้งหมด 12 สกุล 22 ชนิด 2 วาไรตี สามารถจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะของช่องเปิดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ tricolpate inaperturate และ perisyncolpate และเมื่อใช้ขนาดของลวดลายบนผนังละอองเรณู ซึ่งเป็นแบบ perreticulate ก็สามารถแบ่งละอองเรณูออกได้อีก 3 กลุ่ม คือ microreticulatc finely-medium reticulate และ very coarsely reticulate ส่วนการศึกษาในปี พ.ศ. 2539 ได้ทำการศึกษาละอองเรณูของผัก

พื้นเมืองในจังหวัดเชียงใหม่ 5 ชนิด ได้แก่ ผักเสี้ยวดอกแดง ผักเสี้ยวดอกขาว ผักสะแล ผักนางแลว และผักหวานป่า โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ผักเสี้ยวดอกแดงและผักเสี้ยวดอกขาวมีลักษณะที่คล้ายกันคือ polar shape เป็นแบบ inter-subangular ถึง circular equatorial shape แบบ prolate-spherical ช่องเปิดเป็นแบบ tricolpate พื้นผิวของผักเสี้ยวดอกแดงเป็นแบบ finger print และ reticulate ส่วนผักเสี้ยวดอกขาวเป็นแบบ finger print อย่างเดียว ผักสะแล polar shape และ equatorial shape เป็นแบบ spherical ช่องเปิดไม่ชัดเจน มีพื้นผิวแบบ knobby structure ผักนางแลว มี polar shape เป็นแบบ circular-lobate มี equatorial shape เป็นแบบ suboblate ช่องเปิดเป็นแบบ dicolpate พื้นผิวเป็นแบบ fine-knobby structure ผักหวานป่ามี polar shape เป็นแบบ circular-lobate มี equatorial shape เป็นแบบ perprolate-prolate ช่องเปิดเป็นแบบ tricolpate พื้นผิวเป็นแบบ net structure

ละอองเรณูที่มีลวดลายบนผนังเรียบ ทำให้ยึดเหนี่ยวเกาะกันยากจึงฟุ้งกระจายในบรรยากาศได้ดี (airborne pollen grains) การผสมเกสรจึงอาศัยลมพัดพาไป ส่วนละอองเรณูของพืชบางชนิดมีลวดลายบนผนังเป็นหนามหรือตุ่ม ทำให้เกาะติดกับแมลงที่มาเก็บน้ำหวานได้ง่าย ดังนั้นการผสมเกสรจึงอาศัยแมลงเป็นพาหะ (1) ละอองเรณูของหญ้ามีรูปร่างกลม มีช่องเปิดกลมหนึ่งช่อง (monoporate) ขนาดเล็กและผิวเรียบ (ภาพ 7) ทำให้ปลิวฟุ้งกระจายไปในอากาศได้ดี และหญ้าเป็นพืชที่มีจำนวนชนิดมากออกดอกตลอดทั้งปีทำให้ปริมาณของละอองเรณูในอากาศในกรุงเทพมหานครปี พ.ศ. 2512 เป็นของพืชวงศ์หญ้ามากกว่าร้อยละ 70 ของปริมาณละอองเรณูทั้งหมด

ภาพ 7 ละอองเรณูของหญ้าที่ปลิวไปในอากาศ (14)

การสำรวจละอองเรณูทั่วโลก

การสำรวจปริมาณละอองเรณูในอากาศ ในเมือง Delhi ประเทศอินเดีย ตั้งแต่เดือนกันยายน ปี ค.ศ. 1990 ถึงเดือนสิงหาคม ปี ค.ศ.1997 โดยใช้ลักษณะของรูปร่าง จำนวนช่องเปิด ขนาด และลักษณะของพื้นผิว ในการจัดจำแนก พบละอองเรณูทั้งหมด 94 รูปแบบ ทั้งนี้สามารถจำแนกได้ถึงระดับสกุล 75 รูปแบบ อีก 19 รูปแบบจำแนกได้ถึงระดับวงศ์เท่านั้น ปริมาณละอองเรณูในรอบปี ค.ศ.1990 มีปริมาณมากที่สุด เมื่อเทียบกับปีอื่นๆ และพบละอองเรณูมากที่สุดในเดือนกุมภาพันธ์ น้อยที่สุดในเดือนธันวาคม ในประเทศสเปน ปี ค.ศ. 2000 สำรวจปริมาณละอองเรณูในอากาศ ที่เมือง

Badajoa ตั้งแต่วันที่ 7 มีนาคม ปี ค.ศ. 2003 ถึงวันที่ 26 กุมภาพันธ์ ปี ค.ศ. 2004 โดยติดตั้งเครื่องดักละอองเรณูบริเวณใจกลางเมืองและในแถบชานเมือง พบละอองเรณู 76 รูปแบบ ละอองเรณูของพืชวงศ์หญ้ามีปริมาณมากที่สุดและ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทั้ง 2 บริเวณที่ทำการสำรวจ ในปี ค.ศ. 2005 ณ ประเทศโครเอเชีย ได้มีการสำรวจปริมาณละอองเรณูในอากาศ ที่เมืองซาเกร็บ (Zagreb) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2002 ถึงปี ค.ศ. 2004 พบพืช 3 สกุลที่มีปริมาณละอองเรณูมากที่สุดในทุกๆ ปี คือ *Alnus Corylus* และ *Betula* ในประเทศญี่ปุ่น สำรวจในปี ค.ศ. 2001 ได้ทำการสำรวจละอองเรณูในอากาศของ *Cryptomeria japonica* ที่เมืองโตยามา (Toyama) และนีกะตะ (Nigala) ในเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน ของทุกปี ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1988 ถึงปี ค.ศ. 1998 พบว่า จำนวนละอองเรณูในอากาศของ *Crypiomeria japonica* ที่เมืองโตยามา จะมากที่สุดในปี ค.ศ.1995 และน้อยที่สุดในปี ค.ศ.1989 ส่วนที่เมืองนีกะตะ พบมากที่สุดในปี ค.ศ. 1995 เช่นเดียวกันแต่น้อยที่สุดในปี ค.ศ. 1996 (ภาพ 8)

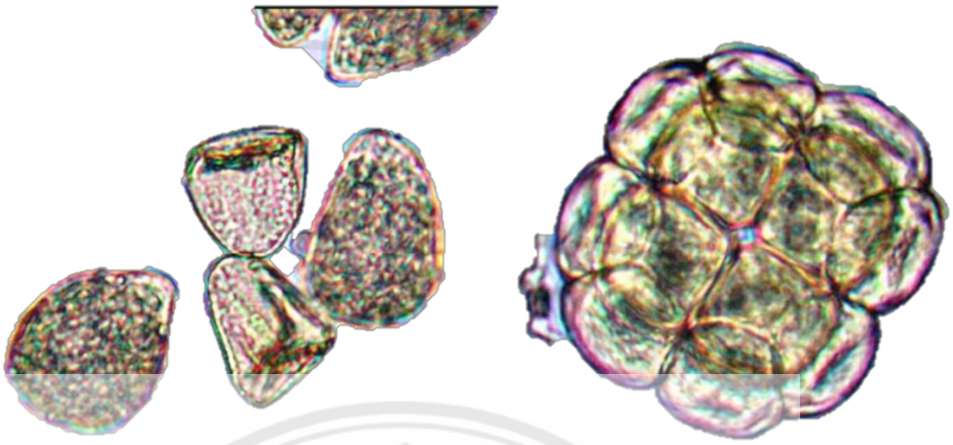
A B

ภาพ 8 ดอกของ *Cryptomeria japonica* **(A)** และละอองเรณูของ *Cryptomeria japonica* **(B)** (14)

ละอองเรณูกับบทบาทในการก่อภูมิแพ้

คุณค่าอีกอย่างหนึ่งในการศึกษาเรื่องราวของละอองเรณู ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการแพ้อากาศหรือโรคภูมิแพ้ (allergy) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นกับผู้ที่มีอาการไวผิดปกติต่อสิ่งซึ่งสามารถก่อให้เกิดภูมิแพ้ (allergen) ในธรรมชาติสารเหล่านี้อาจไม่ก่อให้เกิดภูมิแพ้กับคนปกติทั่วไป โรคนี้เกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ฝุ่น น้ำมันหอมระเหย (กลิ่น) ละอองเรณูของหญ้า ละอองเรณูของดอกไม้ หรือสปอร์ของรา เป็นต้น โดยปกติเมื่อร่างกายได้รับสารก่อให้เกิดภูมิแพ้เข้าไปในร่างกายบ่อย ๆ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะทำการจดจำและสร้างภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่งมีสมบัติเป็นโปรตีน เรียกว่า IgE (ไอจีอี) และเมื่อร่างกายได้รับสารก่อภูมิแพ้เข้าไปอีก สารก่อภูมิแพ้จะไปจับกับ IgE ซึ่งอยู่บนเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวนี้จะแตกออกและปล่อยสารชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ฮิสตามีน (histamine) ออกมา สารอิสตามีนนี้จะเป็นตัวที่ทำให้เยื่อบุอวัยวะต่าง ๆ เกิดการอักเสบและสร้างเมือกออกมามากกว่าปกติ ทำให้เกิดอาการผิดปกติต่างๆตามมา (13) การทดสอบว่าเป็นภูมิแพ้สารก่อภูมิแพ้ชนิดไหน โดยส่วนมากจะใช้วิธีทดสอบทางผิวหนังมีอยู่ 2 แบบ คือ 1. แบบสะกิด (skin prick test) เป็นการ

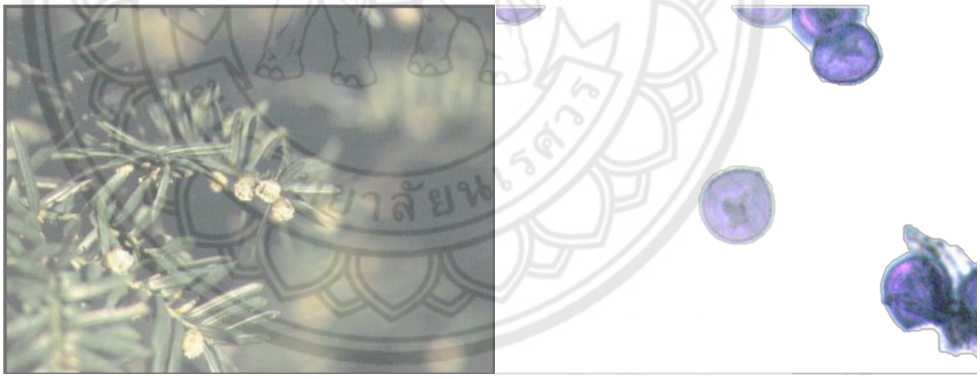
ทดสอบโดยหยดน้ำยาลงบนผิวหนังที่แขนและใช้เข็มสะกิดลงบนปลายหยดน้ำยา ซึ่งทำง่าย เร็ว ไม่เจ็บและใช้อุปกรณ์น้อย เสี่ยงต่อการแพ้ทั่วร่างกายน้อย 2. แบบฉีดเข้าผิวหนัง (intradermal test) เป็นการฉีดน้ำยาเข้าผิวหนังเป็นจุดเล็ก ๆ ซึ่งทำยากกว่า และเสียเวลามากกว่า ใช้อุปกรณ์มากกว่า เสี่ยงต่อการแพ้ทั่วร่างกายได้มากกว่า ก่อนการทดสอบผู้ทดสอบจะได้คำแนะนำให้งดรับประทานยาบางชนิดตามระยะเวลาที่กำหนด มีผู้ป่วยจำนวนไม่น้อยที่เป็นโรคภูมิแพ้ ในประเทศไทยพบว่าเด็กประมาณร้อยละ 40 เป็นโรคภูมิแพ้ ส่วนในผู้ใหญ่พบประมาณร้อยละ 26 หากประมาณจากประชากรไทยทั้งประเทศเชื่อว่ามีคนไทยกว่า 18 ล้านคน ที่เป็นโรคภูมิแพ้ สารก่อภูมิแพ้ในอากาศ (outdoor allergen) ของประเทศไทยมีอยู่หลายชนิด เช่น หญ้าแพรก หญ้าพง หญ้าขน กก อ้อย ข้าวโพด ผักโขม ผักกาดนา กระถินณรงค์ เป็นต้น (ภาพ 9) เมื่อได้ทำการศึกษาการเกิดภูมิแพ้ละอองเรณูของพืชกลุ่มสน *Taxus cuspidata* (apanese yew) (ภาพ 10) ในปี ค.ศ. 1999 ส่วนในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2540 ได้ทำการทดสอบภูมิแพ้ทางผิวหนังโดยวิธีสะกิดในคนไข้หอบหืดซึ่งมีอายุไม่เกิน 16 ปี ที่มาตรวจที่หน่วยภูมิแพ้ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลศิริราช ด้วยน้ำยาทดสอบภูมิแพ้ 14 ชนิด ได้แก่ 1) ไรฝุ่นตัวผู้ (*Dermatophagoides farinae*) 2) ไรฝุ่นตัวเมีย (*Dermatophagoides pteronyssimus*) 3) แมลงสาบ (*American cockroach*) 4) หญ้าพง 5) รังแคแมว 6) รังแคสุนัข 7) นม 8) ไข่ขาว 9) ถั่วเหลือง 10) กุ้ง 11) *Cladosporium clarosporoides* 12) *Altemaria temuis* 13) *Penicilium mis* และ 14) *Aspergillus mix* การทดสอบที่ให้ผลบวก หมายถึง มีตุ่มนูนที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 3 mm หลังการสะกิดเป็นเวลา 20 นาที ผลการศึกษาพบว่ามีคนไข้ชาย 68 ราย หญิง 32 ราย อายุระหว่าง 0-2 ปี จำนวน 1 ราย 2-5 ปี จำนวน 19 ราย 5-10 ปี จำนวน 49 ราย และ 10-16 ปี จำนวน 31 ราย เมื่อแบ่งตามความรุนแรงของโรคพบว่า รุนแรงน้อย 22 ราย รุนแรงปานกลาง 74 ราย และรุนแรงมาก 4 ราย คนไข้ที่ให้ผลการทดสอบบวกต่อน้ำยาทดสอบภูมิแพ้ อย่างน้อย 1 ชนิด มีจำนวน 74 ราย (ร้อยละ 74) และให้ผลบวกต่อน้ำยาทดสอบภูมิแพ้อย่างน้อย 2 ชนิดมี จำนวน 66 ราย (ร้อยละ 66) อัตราการทดสอบที่ให้ผลบวกต่อ allergen ต่างๆ มีดังนี้ ไรฝุ่นตัวเมีย ร้อยละ 67 ไรฝุ่นตัวผู้ ร้อยละ 62 แมลงสาบ ร้อยละ 44 กุ้ง ร้อยละ 14 หญ้าพง ร้อยละ 14 รังแคแมว ร้อยละ 10 *Aternaria tenis* ร้อยละ 7 *Cladosporium clarosporoides* ร้อยละ 7 รังแคสุนัข ร้อยละ 5 ถั่วเหลือง ร้อยละ 4 *Penicilium mix* ร้อยละ 3 *Aspergilhs mix* ร้อยละ 2 นม ร้อยละ 2 และไข่ขาว ร้อยละ 1 โดยขนาดของตุ่มนูนของ *Dematophagoides pteronyssins* ไม่มีความสัมพันธ์กับอายุของคนไข้ ปี ค.ศ. 2000 การสำรวจปริมาณละอองเรณูในอากาศ ในประเทศสิงคโปร์ พบทั้งหมด 23 ชนิด (ฟังไจ เฟิร์น และละอองเรณู) จากนั้นนำมาสกัดเอา สารสกัดหยาบ (crude extracts) แล้วนำมาทดสอบกับคนไข้ที่เป็น โรคหอบหืด จำนวน 231 คน และคนปกติอีก 76 คน โดยวิธีการสะกิด (SPT) และวัดระดับของสาร IgE โดยวิธี Fluorescence Allergosorbent Test (FAST) พบว่าสารสกัดจากสปอร์และละอองเรณูทั้ง 23 ชนิด โพสซิทีป (positive) ต่อ SPT (มีตุ่มนูนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 3 mm หลังการสะกิดเป็นเวลา 20 นาที) สารสกัดจากละอองเรณูของปาล์มน้ำมัน โพสซิทีปสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 40 สารสกัดจากสปอร์ของเฟิร์นร้อยละ 34 และ sea – teak pollen ร้อยละ 33.8 สปอร์ของฟังไจที่ตอบสนองต่อ SPT มากที่สุด คือ *Curvularia* spp. ร้อยละ 26 – 32 และ *Drechslera* - like spores ร้อยละ 31



A B

ภาพ 9 ละอองเรณูของกกแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L., *Rotundus* spp.) และละอองเรณูของกระถินณรงค์ (*Acacia auriculformis A. Cunn. ex. Bth.*)

A ละอองเรณูของกกแห้วหมู (*Cyperus rotundus L.* ssp. *rotundus*); **B** ละอองเรณูของกระถินณรงค์ (*Acacia auriculformis* A. Cunn. *ex Bth*.) (14)



A **B**

ภาพ 10 ดอกของ*Taxus cuspidata (Japanese yew)* **(A)** และละอองเรณูของ *Taxus cuspidata (Japanese yew)* **(B)** (14)

นิติวิทยาศาสตร์

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) คือ การนำวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ในทางกฎหมาย โดยจำแนกกว้างๆ ได้เป็นสองประเภทได้แก่ นิติวิทยาศาสตร์ธรรมชาติ (Natural Sciences) และ นิติวิทยาศาสตร์ประยุกต์ (Apply Sciences) ซึ่งโดยสรุป นิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย จะหมายถึงงานต่างๆดังนี้ งานตรวจสถานที่เกิดเหตุและถ่ายรูป งานพิสูจน์หลักฐาน

งานนิติเวชศาสตร์ งานนิติทันตะวิทยา งานนิติจิตเวชศาสตร์ งานนิติเภสัชศาสตร์ งานนิติมนุษยวิทยา งานนิติวิศวกรรมศาสตร์ (15)

นิติเรณูวิทยา

นิติเรณูวิทยาเป็นการศึกษารูปร่างลักษณะละอองเรณูและสปอร์พืช รวมทั้งเห็ดราเพื่อใช้เป็นหลักฐานประกอบการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อบังคับใช้ในทางกฎหมาย โดยศาสตร์นี้สามารถใช้ในการระบุสถานที่เกิดเหตุ สืบหาผู้ต้องหาและเหยื่อและที่มาของวัตถุพยาน (3-7)

การศึกษาทางนิติวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันจึงมีความสำคัญ เพราะในจำนวนการเกิดปัญหาทางด้านอาชญากรรมเพิ่มขึ้น ซึ่งการที่จะนำตัวผู้กระทำผิดที่แท้จริงมาลงโทษตามกระบวนการยุติธรรมนั้นเป็นเรื่องที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยต้องมีการรวบรวมพยานหลักฐานมายืนยันให้สามารถพิสูจน์ความผิดได้อย่างชัดเจนในประเทศที่พัฒนาแล้ว อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น ยุโรปและสหรัฐอเมริกา จึงมีการนำเอาความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่างๆ มาพัฒนาใช้ในการตรวจพิสูจน์หลักฐานต่างๆ ให้ได้ผลที่ถูกต้องแท้จริงตามหลักวิทยาศาสตร์ ซึ่งได้ผลอย่างดียิ่งในการสืบสวนติดตามหาคนร้ายโดยเมื่อเกิดคดีฆาตกรรมขึ้น สามารถจับกุมคนร้ายที่ถูกต้องและแม่นยำถึง 90% จากการใช้หลักฐานด้านเรณูที่ผสานกับหลักนิติวิทยาศาสตร์ เรณูบนเสื้อผ้าสามารถเป็นตัวอย่างที่แสดงความสัมพันธ์ โดยมีหลายประเทศที่ศึกษาด้านเรณูและนำไปใช้ในการร่วมพิจารณาคดีด้านอาชญากรรม ได้แก่ ประเทศนิวซีแลนด์ เหตุการณ์เด็กหญิงคนหนึ่งกำลังเดินอยู่ตามถนนในประเทศนิวซีแลนด์ ถูกข่มขืน ที่เกิดเหตุพบพุ่มไม้ Coprosma จำนวนมาก มีการเก็บตัวอย่างเกสรจากพุ่มไม้และพบลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ และตรวจสอบเสื้อผ้าของเหยื่อ พบเกสรดอกไม้ Coprosma และเมื่อตรวจสอบเพิ่มเติมพบว่า เรณูบนเสื้อผ้าของเด็กผู้หญิงตรงกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรุปได้ว่าสถานที่นี้เป็นสถานที่เกิดเหตุอาชญากรรม (16) จากการพิสูจน์หลักฐาน (Evidence) สถานที่เกิดเหตุหรือคดีต่างๆ พบว่าเสื้อผ้ามีโอกาสที่ละอองเรณูจะติดเป็นปริมาณมาก ซึ่งสามารถสนับสนุนการโต้แย้งว่าผู้ต้องสงสัยได้รับในที่เกิดเหตุอาชญากรรมที่ถูกกล่าวมา (17) ดังนั้นวิธีนี้ถือเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้หน่วยงานสามารถตรวจสอบความถูกต้องตามกฎหมายในการระบุประวัติความเป็นอาชญากรรม (18)

สีย้อมและการตรวจละอองเรณู

ลักษณะของละอองเรณูที่แยกออกมาได้มักจะตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงได้ยาก และโดยส่วนมากละอองเรณูสดมักเป็นสีเหลืองอ่อนทำให้แยกออกจากเศษสิ่งสกปรกได้ยาก ดังนั้น ละอองเรณูจึงมักถูกนำมาย้อมสีเพื่อเพิ่มความละเอียดสำหรับการถ่ายภาพและการระบุชนิด exine ซึ่งเป็นผิวชั้นนอกของละอองเรณูสามารถดูดซับสีได้ ละอองเรณูที่มี exine หนา เช่น ฝ้าย จะดูดซับสีได้ดีกว่าละอองเรณูที่มี exine แบบบาง เช่น Poaceae (หญ้า) เมื่อย้อมสีแล้วละอองเรณูจะสามารถทำการตรวจสอบได้ง่ายกว่าแม้จะใช้กำลังขยายต่ำ อีกทั้งยังมีสีจำนวนมากที่สามารถนำมาใช้ช่วยในการเพิ่มความคมชัดของละอองเรณู เช่น สี methyl-green fuchsin nigrosin และอื่นๆ อย่างไรก็ตาม Safranin O เป็นสีที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานทาง palynological โดยส่วนมากสี

Safranin O มักจะอยู่ในรูปแบบคริสตัลและสามารถละลายได้ง่ายในน้ำและเอทานอล ละอองเรณูจะติดสีชมพูถึงแดงขึ้นอยู่กับชนิดของละอองเกสร สีชมพูหรือสีแดงทำให้ดูสบายตา มีความโดดเด่น และมีความละเอียดสูง (19)

ตัวอย่างกรณีศึกษาที่นิติเรณูมีส่วนในการคลี่คลายคดี

สำหรับในประเทศออสเตรีย ปี ค.ศ. 1959 ซึ่งเป็นคดีแรกที่ได้รับความสนใจอย่างมาก ในการเริ่มมีบทบาทของวิชานิติเรณูวิทยา ในการใช้ละอองเรณูในการระบุตำแหน่งสถานที่ที่เกิดเหตุขึ้น และเพื่อสืบหาผู้กระทำความผิด โดยเบื้องต้นมีข้อมูลเพียงแค่ มีผู้ชายไปเที่ยวในวันหยุด และได้หายไปแถวแม่น้ำดานูบ ทางตอนเหนือของเวียนนา แต่ไม่พบร่างของผู้สูญหาย และเมื่อสืบสวน ผู้ต้องสงสัยที่มีแรงจูงใจในการฆาตกรรม ตำรวจได้ออกหมายค้นบ้านของผู้ต้องหา ไม่พบสิ่งผิดปกติ ยกเว้นแต่รองเท้าบูทที่เปื้อนโคลนติดอยู่ ทางตำรวจจึงสืบสวนได้นำตัวอย่างโคลนจากรองเท้าบูทส่งไปยัง Dr. Wilhelm Klaus นักธรณีวิทยาที่มีความรู้ ความสามารถในการระบุตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ของออสเตรีย Dr. Klaus ได้วิเคราะห์โคลนบนรองเท้าบูทดังกล่าว พบละอองเกสรของต้น modern spruce, willow และalder และละอองเรณู miocene age fossil hickory ดังกล่าวเป็นชนิดที่พบเมื่อ 20 ล้านปีก่อน ซึ่งสามารถระบุสถานที่เกิดเหตุได้ได้ชัดเจน โดย Dr. Klaus ได้ระบุตำแหน่งของละอองเรณูที่ติดบนรองเท้าบูท ว่าพบได้เพียงสถานแห่งเดียวเท่านั้น คือทางตอนเหนือของเวียนนาใกล้กับแม่น้ำดานูบ และเมื่อไปทำการตรวจพบดินบริเวณดังกล่าวพบว่า มีความใกล้เคียงสูง และในที่สุด ฆาตกรได้ยอมรับสารภาพ และนำตำรวจไปยังสถานที่ที่ตนได้ฆ่าและฝังเหยื่อซึ่งตรงกับตำแหน่งที่ Dr. Klaus กล่าวไว้ในรายงานการสืบสวน (8)

นิติเรณูวิทยากับการช่วยระบุตัวบุคคลและสถานที่เกิดเหตุ

ส่วนการใช้นิติเรณูในการช่วยระบุตัวตนของบุคคลเป็นกรณีศึกษา Baby doe ในรัฐแมสซาชูเซส ประเทศสหรัฐอเมริกา มีการพบศพของเด็กผู้หญิงซึ่งถูกห่อเอาไว้ด้วยถุงขยะสีดำ บริเวณชายฝั่งซึ่งศพถูกคลื่นทำให้ใบหน้าและลายนิ้วมือบิดเบี้ยวยากที่จะระบุตัวตนของเด็กได้ จากการคาดการณ์เด็กน่าจะมีอายุประมาณ 3-4 ขวบ มีวัตถุพยานเพียงสองชิ้นคือกางเกงลายจุดสีดำที่เด็กสวมอยู่และผ้าห่มลายม้าลายที่ห่อเด็กไว้ ตำรวจบอสตันจึงได้ส่งกางเกงและผ้าห่มเพื่อทำการวิเคราะห์ทางนิติเรณูวิทยา จึงทำให้ทราบว่าเด็กน้อยน่าจะอาศัยอยู่บริเวณตะวันออกเฉียงใต้ของ Arnold Arboreturn ของเมืองบอสตันเพราะพบละอองเรณูของต้น Cedrus ซึ่งเป็นหลักฐานชิ้นสำคัญในการระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ที่เด็กอาศัยอยู่ จากข้อมูลที่ได้มานี้จึงทำให้กรมตำรวจบอสตันเริ่มทำการค้นหาทารกที่หายตัวไปในบริเวณ Arnold Arboreturn จนทำให้ได้เบาะแสที่จำเป็นในการจับกุมแม่ของเด็กและสามีของเธอ (9) และในประเทศนิวซีแลนด์เกิดเหตุเด็กหญิงถูกลักพาตัวขณะเดินอยู่บนถนน มีการทำร้ายร่างกายและข่มขืนเหยื่อ ในที่เกิดเหตุพบพุ่มไม้ Coprosma ที่มีอยู่ทั่วไปในประเทศนิวซีแลนด์ โดยพืชชนิดนี้มีเกสรที่ถูกลมพัดพากระจายออกไปได้ง่าย และในพื้นที่เกิดเหตุเป็นพื้นที่ที่มีความชื้นสูงและยังมีเห็ดราเจริญเติบโตอยู่เป็นจำนวนมาก จึงเกิดการที่ fungal hyphae ของเชื้อราเข้าไปปะปนและติดกับละอองเกสรของพืชได้ เหตุนี้จึงทำให้ละอองเรณูในพื้นที่นี้มีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์แตกต่างจากที่

อื่น โดยละอองเรณูเหล่านี้ยังพบบนเสื้อผ้าของเหยื่อ และผู้ต้องหา เมื่อจากการทำ vaginal swabs สามารถยืนยันจากผลการตรวจ swab เหยื่อได้ถูกข่มขืนจริง (10)

นิติเรณูวิทยากับการระบุที่มาของวัตถุพยาน

นอกจากนี้เกสรดอกไม้ยังสามารถใช้เป็นหลักฐานในวัตถุพยานได้ ดังกรณีศึกษาที่กระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา (United States Department of Agriculture; USDA) ที่เป็นกระทรวงของรัฐบาลกลางแห่งสหรัฐ มีหน้าที่รับผิดชอบในการพัฒนาและการดำเนินงานของรัฐบาลกลางนโยบายเกี่ยวกับการทำฟาร์มเกษตรป่าไม้และอาหาร โดยในปี ค.ศ. 1970 ถึง 1980 USDA ได้ใช้ชนิดของละอองเรณูในการหาแหล่งที่มาของน้ำผึ้งที่จำหน่ายภายใต้ The US Farm Subsidy purchase program เพื่อระบุน้ำผึ้งที่นำเข้าสหรัฐอย่างผิดกฎหมาย จากละอองเรณูที่ตรวจพบสามารถทำให้ทราบถึงแหล่งที่มาของน้ำผึ้งและสถานที่ทางภูมิศาสตร์ของน้ำผึ้งจากตัวอย่างน้ำผึ้งที่เจ้าหน้าที่กระทรวงที่เก็บมา ซึ่งผลปรากฏว่ามีน้ำผึ้งที่นำเข้าอย่างผิดกฎหมาย 6 % ของน้ำผึ้งในสหรัฐ (8)

เจ้าหน้าที่ตำรวจทำการยึดโคเคนจากการจับกุมสารเสพติดในมหานครนิวยอร์ก หลังจากนั้นเจ้าหน้าที่จึงส่งโคเคนไปยังห้องปฏิบัติการทางนิติเวชศาสตร์เพื่อทำการวิเคราะห์หาแหล่งที่ปลูกหรือผลิตโคเคนรวมถึงสถานที่ขนส่ง และมีโคเคนบางส่วนถูกส่งไปให้กับ Ed Stanley ซึ่งเป็นนักเรณูวิทยาเพื่อที่จะทำการตรวจสอบละอองเรณู ซึ่งจากการตรวจสอบละอองเรณูสามารถบอกได้ถึงเส้นทางที่ใช้ขนส่งรวมถึงแหล่งผลิตและแหล่งปลูกโคเคน โดยจากข้อมูลทางละอองเรณูบ่งบอกได้ว่าโคเคนมาจากพื้นที่ทางอเมริกาใต้ ละอองเรณูบางส่วนเป็นของต้น sub alpine, cold-adapted plants including Jack pine *(Pinus banksiana)* และ Canadian hemlock (*Tsuga canadensis*) และละอองเรณูบางส่วนจากแหล่งที่โคเคนถูกนำไปแปรรูป โดยสรุปจากข้อมูลทางละอองเรณูที่ได้มาสามารถช่วยระบุได้ว่าต้นโคเคนถูกปลูกอยู่แถบประเทศแคนนาดาและถูกส่งไปที่อเมริกาเหนือเพื่อแปรรูปหลังจากนั้นจึงถูกนำเข้ามาขายในมหานครนิวยอร์ก (8)

ชายคนนึงถูกจับที่ชายแดนระหว่างรัฐเทกซัสกับประเทศเม็กซิโก ที่เมือง Lerado พร้อมกับรถบรรทุกที่ภายในบรรจุไปด้วยกล่อง โดยภายในกล่องพบโบราณวัตถุของชนพื้นเมืองชาวอเมริกันผู้ต้องหาอ้างว่า ได้พบโบราณวัตถุอยู่ภายในถ้ำในพื้นที่ฟาร์มปศุสัตว์ของตนบริเวณทางตะวันตกของรัฐเทกซัส โดยได้ทำการเคลื่อนย้ายไปประเทศเม็กซิโก เพื่อไปหานักสะสมเพื่อดูถึงความเหมือนหรือแตกต่างของวัสดุที่พบในประเทศเม็กซิโก ถ้าหากที่ผู้ต้องหากล่าวมาเป็นเรื่องจริง โบราณวัตถุที่อยู่ท้ายรถบรรทุกก็จะถูกกฎหมาย สายสืบที่อยู่แถบชายแดนเชื่อว่าโบราณวัตถุนั้นผิดกฎหมายโดยได้ทำการเคลื่อนย้ายจากประเทศเม็กซิโกไปขายที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โบราณวัตถุที่พบโดยจะประกอบไปด้วย รองเท้าแตะ ตะกร้า ปลายหอก ตาข่าย เครื่องปั้นดินเผา ถูกส่งไป Texas A&M เพื่อค้นหาผู้ประดิษฐ์หรือแหล่งกำเนิด โดยโบราณวัตถุจากทิศตะวันตกเฉียงใต้ของรัฐเทกซัส และโบราณวัตถุจากทางทิศเหนือของประเทศเม็กซิโก ได้ถูกประดิษฐ์โดยชนเผ่าที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น ในการระบุแหล่งที่มาของโบราณวัตถุโดยใช้รูปร่างหรือลักษณะในการจำแนกค่อนข้างยาก โดยวิธีการที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ จะใช้เครื่องดูดฝุ่นในการเก็บละอองเรณูจากสิ่งสกปรกและเส้นใย ข้อมูลของละอองเรณูจากโบราณวัตถุใกล้เคียงกับข้อมูลจากตัวอย่างควบคุมของประเทศเม็กซิโก โดยข้อมูลไม่ตรงกับ

ตัวอย่างควบคุมละอองเรณูจากปศุสัตว์ของผู้ต้องหาใกล้กับเมือง Pecos สรุป โบราณวัตถุถูกสร้างโดยชาวเม็กซิกันที่อยู่บริเวณนั้น และผู้ต้องหาได้นำเข้าโบราณวัตถุแบบผิดกฎหมาย (8)

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงสามารถใช้ในการตรวจหาสาเหตุการตายที่อาจมีสาเหตุมาจากการบริโภคพืชที่มีพิษได้ โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงในการตรวจหาละอองเรณูพืชและเห็ดราภายในลำไส้ของเหยื่อหลังการตาย อาจจะมีส่วนช่วยในการตรวจหาทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อหาสาเหตุการตายที่ผิดธรรมชาติที่อาจเกิดจากการบริโภคพืชที่มีสารออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ดังตัวอย่างกรณีศึกษาที่จะกล่าวถึงต่อไป ประมาณสี่วันก่อนการตายของผู้เสียชีวิตรายหนึ่ง โดยก่อนหน้านั้นผู้เสียชีวิตได้เข้าร่วมงานเฉลิมฉลองที่ถูกจัดขึ้นโดยกลุ่มของลัทธิเชมัน (Shaman) ซึ่งในงานได้มีการให้ผู้ร่วมงานบริโภคอายาวัสกา (Ayahuasca) (สมุนไพรที่มีออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท) ทำให้ผู้เสียชีวิตเกิดอาการกระวนกระวาย ประสาทหลอน และเกิดอาการรุนแรงจนทำให้เกิดโคม่าและเสียชีวิตในที่สุด จากการสืบสวนพบว่าผู้เสียชีวิตมีการบริโภคอายาวัสกา จากการตรวจสอบโดย biochemical analysis ที่บริเวณลำไส้พบสาร DMT ซึ่งพบในเชื้อรากลุ่ม basidiomycete โดยทางตำรวจคาดว่าในอายาวัสกา อาจจะมีส่วนประกอบของ magic mushroom (*Psilocybe semilanceata*) ทางตำรวจได้รับคำแนะนำให้ส่งตัวอย่างจากลำไส้จากส่วนต่างๆ ให้นักเรณูวิทยาในการช่วยตรวจสอบและผลจากการตรวจสอบพบซากพืช สปอร์ รวมถึงละอองเรณู จากกัญชาและเห็ดขี้ควาย จากการสอบสวนสาเหตุการตายพบว่าหลังจากมีการบริโภคอายาวัสกา (Ayahuasca) แต่ผู้ร่วมงานคนอื่นไม่มีอาการผิดปกติและตำรวจยังพบเห็ดในห้องของผู้เสียชีวิตซึ่งถูกยืนยันว่าเป็น *Psilocybe semilanceata* หรือเห็ดขี้ควาย Magic mushroom และยังพบละอองเรณูของกัญชา และการตายอาจจะเกิดจากการที่มีการบริโภคสาร DMT ที่เกินขนาด จึงสรุปได้ว่าการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงในการตรวจสอบตัวอย่างจากลำไส้ในแต่ละส่วนสามารถใช้การคาดเดาการบริโภคสิ่งที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตของผู้ตายได้ และยังช่วยในการประเมินระยะเวลาการตายจากการบริโภคได้ (20)

การตรวจหาบุหรี่ปลอมโดยการใช้ละอองเรณูเพื่อตรวจหาแหล่งผลิต โดยทั่วโลกมีบุหรี่ปลอมอยู่มากถึง 11.6 % ของตลาดบุหรี่ ทำให้ภาครัฐสูญเสียรายได้ถึง 4 แสนล้านดอลล่าสหรัฐ โดยการผลิตบุหรี่ปลอมเหล่านี้ถูกผลิตโดยไม่ได้รับการควบคุมตามมาตรฐานทำให้มีโลหะหนักปนเปื้อนอยู่ในบุหรี่เกินมาตรฐาน ส่งผลเสียต่อสุขภาพมากขึ้นด้วยเหตุนี้การตรวจจับบุหรี่ปลอมจึงเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างมาก โดยการทดลองนี้ทำโดยการนำตัวอย่างบุหรี่ปลอมจาก Bureau of Alcohol, Tobacco, Firearms and Explosives (ATF) และบุหรี่จริงจากร้านค้าที่ได้รับมาตรฐานและทำการตรวจสอบแล้ว มาตรวจหาละอองเรณูโดยวิธีของ Williams จะพบว่า ในบุหรี่จริงที่มีการปลูกใบยาสูบในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยผู้วิจัยเลือกใช้ละอองเรณูของ *Ambrosia artemisiifolia* ซึ่งพบมากในแถบอเมริกาเหนือโดยจะใช้พืชชนิดนี้เป็นตัวชี้วัด ผลการวิจัยพบว่าในตัวอย่างพบละอองเรณูของ *Ambrosia artemisiifolia* มากถึง 39% และยังพบละอองเรณูของพืชในพื้นที่ แต่ในส่วนของบุหรี่ปลอมกลับไม่พบละอองเรณูของพืชชนิดนี้ (21)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

1. รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research)

2. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

พืชดอกที่บานในช่วงปลายฤดูร้อนต้นฤดูฝนของประเทศไทยช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2565 จากบริเวณใกล้เคียงและโดยรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่ ตึกธาราบำบัด คณะสาธารณสุขศาสตร์ คณะพยาบาลศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ และบริเวณหอพักบุคลากร เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมผลทดสอบตัวอย่าง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

อุปกรณ์

15.1.1 Glass slide

15.1.2 Cover glass 22x22 mm

15.1.3 Dropper

15.1.4 Beaker ขนาด 250 ml

15.1.5 Cotton swab

15.1.6 Adhesive tape ขนาด 2.54 x 7.62 cm^2

15.1.7 Autopipete ขนาด 100 µl

15.1.8 Microtube 1.5 ml

15.1.9 Micrometer

สารเคมี

15.2.1 Safranin O stain

15.2.2 Distilled water

เครื่องมือ

15.3.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) รุ่น CH30 (Olympus)

15.3.2 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) รุ่น ECLIPSE E100 (Nikon)

15.3.3 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) รุ่น ECLIPSE Ci-L (Nikon)

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดอกพืชทุกชนิดทั้งออกดอกและบาน ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2565 บริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมผล ส่วนการศึกษานิติเรณูวิทยาเก็บตัวอย่างบนเสื้อเชิ้ตที่ทอจากผ้าฝ้าย บริเวณไหล่ทั้งสองข้าง กลางลำตัว ชายเสื้อทั้งสองข้าง และบริเวณด้านหลังกลางลำตัว โดยประยุกต์ตามวิธีของ Wu Chun Liang (2006) และคณะ และ อิสมะแอ เจ๊ะหลง และคณะ (2562) (19, 23)

การศึกษานำร่อง

การศึกษาเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการใช้เก็บตัวอย่างของละอองเรณู

วิธี Wet mount technique

ทำการหยดน้ำ 1- 2 หยดลงบนสไลด์แก้ว แล้วเลือกดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ โดยนำมาแยกกลีบดอกออกให้เหลือแต่เกสรเพศผู้ แล้วนำไปทำการสเมียร์บนสไลด์ที่มีหยดน้ำและปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศแล้วนำมาตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ภาพ 11 สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Wet mount technique

วิธี Scotch tape technique

ทำการเลือกดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ โดยนำมาแยกกลีบดอกออกให้เหลือแต่เกสรเพศผู้ แล้วนำสก็อตเทปใสติดลงบนเกสรเพศผู้ เสร็จแล้วจึงนำไปติดบนสไลด์ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศแล้วนำตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ภาพ 12 สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Scotch tape technique

วิธี Wet scotch tape adhesion technique

หยดน้ำ 1- 2 หยดลงบนสไลด์แก้ว แล้วเลือกดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ โดยนำมาแยกกลีบดอกออกให้เหลือแต่เกสรเพศผู้ แล้วนำสก็อตเทปใสติดลงบนเกสรเพศผู้ เสร็จแล้วจึงนำไปติดบนสไลด์ที่มีหยดน้ำ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ แล้วนำตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ภาพ 13 สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique

วิธี Swab technique

ทำการหยดน้ำ 1- 2 หยดลงบนสไลด์แก้ว แล้วเลือกดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ โดยนำมาแยกกลีบดอกออกให้เหลือแต่เกสรเพศผู้ แล้วนำไม้สวอบชุบน้ำกลั่น หมุนกับขอบบีกเกอร์ให้พอหมาดเสร็จแล้วจึงนำไปติดบนเกสรเพศผู้โดยการหมุน 2-3 รอบ แล้วนำไม้สวอบไปสเมียร์บนสไลด์ที่มีหยดน้ำ จากนั้นทำการปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศแล้วนำตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ภาพ 14 สไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี Swab technique

การหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของ สีย้อม Safranin O ในการย้อมละอองเรณู

หยดสีย้อม Safranin O ที่เตรียมไว้ลงบนสไลด์แก้ว แล้วเลือกดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ โดยนำมาแยกกลีบดอกออกให้เหลือเฉพาะเกสรเพศผู้ แล้วนำสก็อตเทปใสติดลงบนเกสรเพศผู้ จากนั้นนำด้านเหนียวที่เก็บตัวอย่างติดลงบนสไลด์ที่หยดสีย้อม Safranin O โดยระวังอย่าให้มีฟองอากาศแล้วทำการเจือจางสีย้อม Safranin O โดยเตรียมการเจือจางที่ความเข้มข้นแบบ two fold dilution ได้ความเข้มข้น ดังนี้ คือ 1:1 1:2 1:4 1:8 และ 1:16 ตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่เวลา 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที เพื่อหาความเข้มข้นของสีย้อม Safranin O และระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถมองเห็นรูปร่าง ลักษณะละอองเรณูได้ง่ายขึ้น

ศึกษาละอองเรณูบนตัวอย่างเสื้อเพื่อจำลองตัวบุคคลหรือวัตถุพยานในแนวตั้งและแนวราบ

ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบการเก็บละอองเรณูบนเสื้อเชิ้ตตัวอย่างทั้งหมด 2 วิธีคือ การเก็บตัวอย่างที่ตั้งอยู่กับที่แบบแนวตั้งและแบบแนวนอน และควบคุมผลการเคลื่อนที่ของเสื้อตัวอย่างโดยการเก็บแบบจำลองการลากเสื้อตัวอย่างไปกับพื้น ทั้งนี้เพื่อให้ได้วิธีเหมาะสมกับเก็บละอองเรณูบนเสื้อแบบจำลอง

(1) การเก็บตัวอย่างแบบแนวตั้ง จะเป็นการจำลองโดยใช้เสื้อทำเป็นหุ่นไล่กาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
(2) การเก็บตัวอย่างแบบแนวนอน เป็นการเก็บตัวอย่างโดยการนำเสื้อวางไว้กับพื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
(3) การเก็บตัวอย่างแบบจำลองการลาก เป็นการเก็บตัวอย่างโดยการทำการจำลองการลากเสื้อไปกับพื้นในระยะที่กำหนดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

วิธีการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเกสรตัวผู้ของพืชดอกเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมผลการทดสอบ

การเก็บตัวอย่างการศึกษาเรณูวิทยาของพืชบริเวณใกล้เคียงรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก ได้แก่ ตึกธาราบำบัด คณะสาธารณสุขศาสตร์ คณะพยาบาลศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ บริเวณหอพักบุคลากร มน. นิเวศน์ 5-6 จากนั้นนำส่วนอื่นของดอกออก ให้เหลือเพียงส่วนก้านชูละอองเรณูที่มีเกสรตัวผู้อยู่แล้วนำสก็อตเทปใสติดลงบนเกสรเพศผู้ และนำไปติดบนสไลด์ที่มีหยดน้ำ จากนั้นจึงทำการตรวจดูรูปร่างละอองเรณู และบันทึกภาพด้วยกล้องจาก Ipad รุ่น air 4 และทำการบันทึกซ้ำอีกครั้งด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Nikon รุ่น ECLIPSE Ci-L

การศึกษานิติเรณูเบื้องต้น

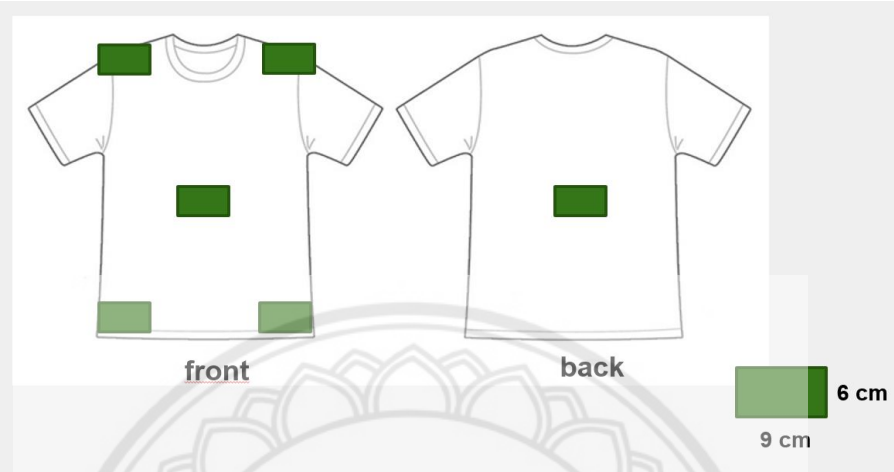
การวางแผนการศึกษาและสำรวจสถานที่เก็บตัวอย่าง

การศึกษาเรณูวิทยาของพืชและเรณูบนเสื้อเพื่อสนับสนุนหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ : กรณีศึกษาบริเวณพื้นที่รอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ ทำการกำหนดระยะเวลาและพื้นที่ในการศึกษาทั้งหมด 10×10 m จำนวน 4 จุดโดยอ้างอิงวิธีของ Wu Chun Liang (2006) (23) ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน

การเก็บและศึกษาละอองเรณู

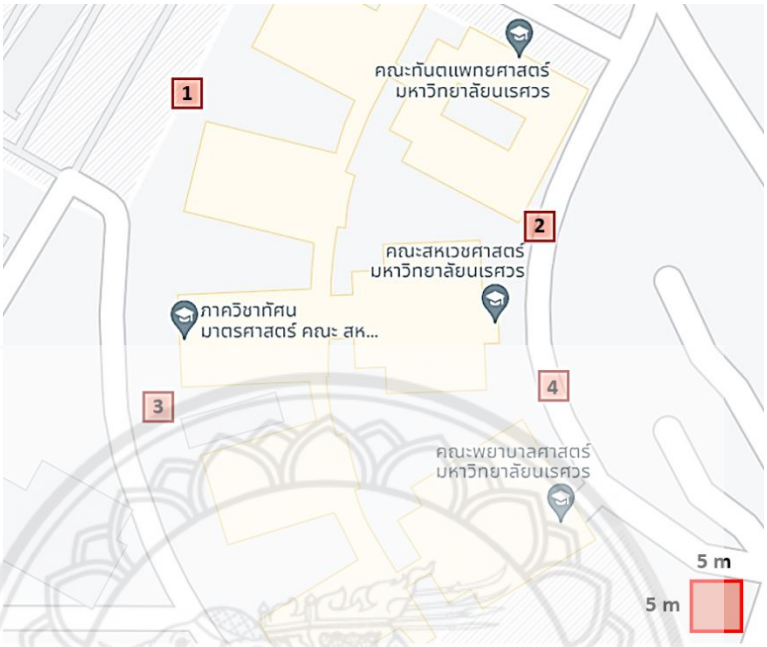
การศึกษาเรณูวิทยาของพืชบริเวณพื้นที่รอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์และเรณูที่ติดบนเสื้อตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างดอกและสปอร์ของพืชที่เจริญในพื้นที่ศึกษา จากนั้นนำมาแยกเฉพาะเกสรเพศผู้แล้วทำการตรวจหาละอองเรณูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ส่วนละอองเรณูที่อยู่บนเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกายเก็บโดยการจำลองตัวบุคคลโดยใช้เสื้อวางราบกับพื้นและทำการลากไปบนพื้นเพื่อให้เสื้อสัมผัสกับในพื้นที่ 5x5 m เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง บริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ (ภาพ 16) เพื่อให้ละอองเรณูได้สัมผัสกับเสื้อ จากนั้นทำการเตรียมเทปใสขนาด 6x9 cm มา

เก็บตัวอย่างละอองเรณูที่บริเวณไหล่ทั้งสองข้าง กลางลำตัว ชายเสื้อทั้งสองข้าง และบริเวณด้านหลังกลางลำตัว (ภาพ 15)



ภาพ 15 บริเวณพื้นที่เก็บละอองเรณูบนเสื้อตัวอย่าง

โดยอ้างอิงวิธีของ Chun Liang Wu และคณะ (2006) และ อิสมะแอ เจ๊ะหลง และคณะ (2562) (19,23) โดยจะใช้วิธีเก็บตัวอย่างละอองเรณู ด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique แล้วนำมาติดบนสไลด์ที่หยดสีย้อม Safranin O ไว้แล้ว จากนั้นจึงทำการตรวจหาละอองเรณู ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง รุ่น CH30 ยี่ห้อ Olympus แล้วทำการบันทึกภาพด้วยกล้องจาก Ipad รุ่น air 4 โดยสังเกตุลักษณะ รูปร่างและวัดขนาดของละอองเรณู ทำการบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Nikon รุ่น ECLIPSE Ci-L แล้วนำมาเปรียบเทียบรูปร่างละอองเรณูบนเสื้อกับตัวอย่างละอองเรณูของพืชที่ทำการเก็บตัวอย่างควบคุมก่อนหน้าหาชนิดของพืช และทำการหาค่า Pollen concentration พร้อมทั้งวัด P/E ratio ด้วยไมโครมิเตอร์ (Micrometer)



ภาพ 16 รูปบริเวณที่เก็บตัวอย่าง 5x5 m

การเก็บตัวอย่างละอองเรณูด้วยวิธีการลากเสื้อรอบตึกที่ทำการคณะสหเวช**ศาสตร์ ได้ทำการวัดพิกัดทา**งภูมิศาสตร์ด้วย Google Maps โดยสถานที่เก็บตัวอย่างทั้ง 4 ตำแหน่งมี**สภาพแวดล้อมที่ต่างกัน เช่น** ลานจอดรถ สนามหญ้า ซึ่งจะทำการอ้างอิงสภาพอากาศจากกรมอุตุนิย**มวิทยาดังตาราง** 1 (25)

ตาราง 1 พิกัดทางภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ความชื้น และความเร็วลมของพื้นที่ ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

บริเวณ	สถานที่	พิกัดภูมิศาสตร์	สภาพแวดล้อม	เวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง	ข้อมูลสภาพอากาศ
จุดที่ 1	หลังห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์คณะสหเวชศาสตร์	16°44'47.4"N 100°11'18.7"E	หลังตึกคณะสหเวชศาสตร์หน้าลานจอดรถติดถนนคณะแพทยศาตร์	10:00-11:00 AM	T: 33.6 °c, RH: 75%, WV: 18.5 km/h
จุดที่ 2	ห้องปฏิบัติการคอมพิวเตอร์ คณะสหเวชศาสตร์	16°44'46.0"N 100°11'22.1"E	ตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ติดลานจอดรถหน้าคณะทันตแพทย์	07:00-08:00 AM	T: 26.5 °c, RH: 62%, WV: 0 km/h
จุดที่ 3	สนามหญ้าข้างภาควิชาทัศนมาตรศาสตร์	16°44'44.6"N 100°11'18.2"E	สนามหญ้าข้างภาควิชาทัศนมาตรศาสตร์ติดลานจอดรถหอพักบุคลากร	10:00-11:00 AM	T: 28.0 °c, RH: 81%, WV: 5.0 km/h
จุดที่ 4	หน้าคณะสหเวชศาสตร์ติดคณะพยาบาล	16°44'44.7"N 100°11'22.2"E	ลานจอดรถหน้าคณะสหเวชศาสตร์ติดถนนข้างสวนหย่อมคณะพยาบาลศาสตร์	07:00-08:00 AM	T: 31.0 °c, RH: 73%, WV: 0 km/h

หมายเหตุ : อ้างอิงสภาพอากาศจากกรมอุตุนิยมวิทยา (25)

N = North

E = East

AM = Ante meridiem

T = Temperature

°c = Degree Celsius

RH = Relative humidity

WV = Wind velocity

Km/h = Kilometre per hour

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การศึกษานำร่อง

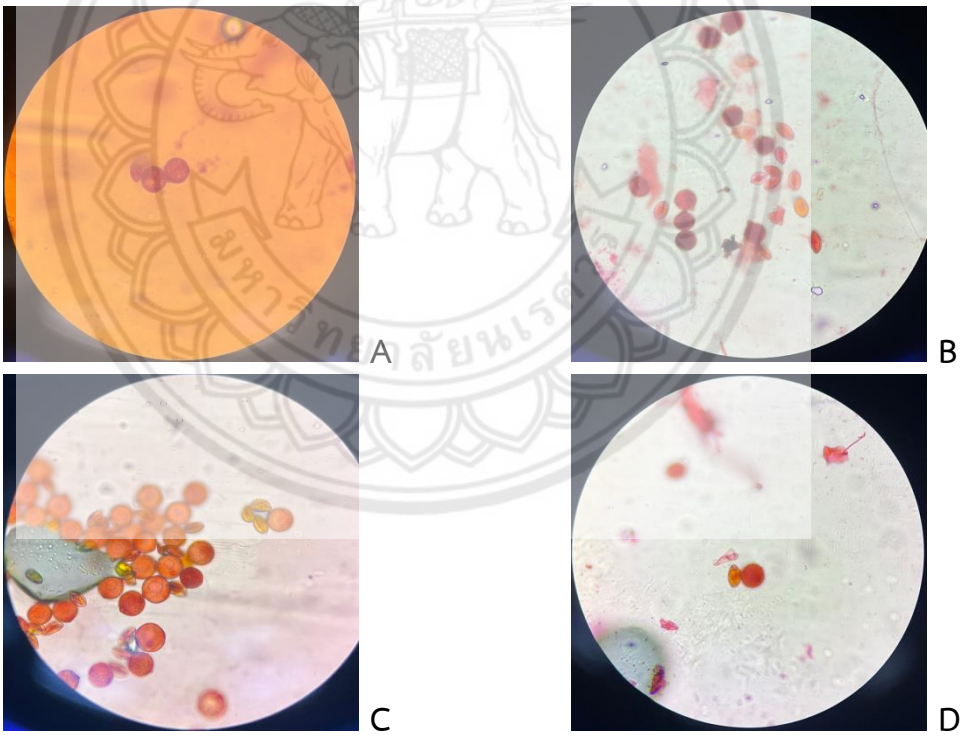
4.1.1 การศึกษาเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจละอองเรณู

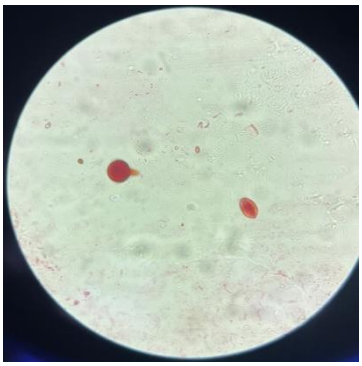
ผลการศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจละอองเรณู ด้วยวิธี Wet mount technique, Scotch tape technique, Wet scotch tape adhesion technique และ Swab technique พบว่าวิธีการ Wet scotch tape adhesion technique จะสามารถเก็บตัวอย่างละอองเรณูได้ดีกว่าการใช้เทคนิค Wet mount technique, Scotch tape technique และ Swab technique โดย Wet Scotch adhesion technique จะสามารถเห็นได้ทั้งละอองเรณูแบบทั้งชนิดสด (fresh) และแห้ง (dry) ดังแสดงในภาพที่ 17 ซึ่งแตกต่างจากวิธี Wet mount technique, Scotch tape technique และ Swab technique ที่สามารถพบเพียงละอองเรณูแบบแห้งเป็นจำนวนมาก แต่พบละอองเรณูแบบสดน้อย

ภาพ 17 ละอองเรณูของดอกเข็มสดและแห้งบนสไลด์วิธีการ Wet scotch tape adhesion technique

4.1.2 การหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของสีย้อม Safranin O ในการย้อมละอองเรณู

ผลการทดสอบความเข้มข้นและระยะเวลาของสี Safranin O ที่เหมาะสมในการย้อมตัวอย่างละอองเรณูของพืช เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดลักษณะผิวและรูเปิดของละอองเรณู จากงานวิจัยของ Gretchen D. Jones (19) ที่ใช้สี Safranin O เพื่อช่วยในการศึกษารายละเอียดพื้นผิวละอองเรณู โดยผู้วิจัยได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของสี Safranin O ตั้งแต่ความเข้มสูงสุด และเจือจางแบบเป็นลำดับส่วนแบบ Two-fold dilution ได้ความเข้มข้นที่ 1:1 1:2 1:4 1:8 และ 1:16 เป็นเวลา 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที เสร็จแล้วจึงนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดสอบพบว่าความเข้มข้นของสี Safranin O ที่เหมาะสมในการศึกษาลักษณะภายนอกของละอองเรณูคือ 1:2 และ 1:4 โดยความเข้มข้น 1:1 ไม่สามารถเห็นรายละเอียดของพื้นผิวละอองเรณูได้ชัดเจน ในขณะที่ความเข้มข้นที่ถูกเจือจางมากเกินไป (ความเข้มข้น 1:8 และ 1:16) จะทำให้ยากต่อการศึกษารายละเอียดรูปร่างและพื้นผิวของละอองเรณู นอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม (ความเข้มข้นที่ 1:2 และ 1:4) โดยระยะเวลาไม่มีผลต่อการพบรายละเอียดของรูปร่างละอองเรณู (ภาพ B และ C)





E

ภาพ 18A ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:1
B ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:2
C ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:4
D ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:8
E ละอองเรณูที่ย้อมด้วยสี Safranin O ความเข้มข้น 1:16

4.2 การศึกษาละอองเรณูบนตัวอย่างเสื้อเพื่อจำลองตัวบุคคลหรือวัตถุพยานในแนวตั้งและแนวราบ

การศึกษาละอองเรณูบนตัวอย่างเสื้อเพื่อจำลองตัวบุคคลหรือวัตถุพยานในแนวตั้งและแนวราบ ทำการทดลองเก็บตัวอย่างละอองเรณูเพื่อใช้แนวทางในการเลือกวิธีเก็บตัวอย่างละอองเรณู ผลการศึกษาพบการใช้การเก็บตัวอย่างในแบบจำลองแนวตั้งและแบบจำลองแนวราบโดยไม่เคลื่อนที่ไม่มีความเหมาะสมในการเก็บตัวอย่างละอองเรณู กล่าวคือผู้วิจัยไม่พบละอองเรณูบนเสื้อตัวอย่าง

4.3 ผลการศึกษาละอองเรณูและสปอร์ที่เป็นตัวอย่างควบคุม

การศึกษาในครั้งนี้ทางผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างละอองเรณูและสปอร์จากพืชที่เจริญอยู่บริเวณรอบคณะสหเวชศาสตร์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในงานด้านนิติเรณูวิทยาในอนาคต ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	P	E	P/E ratio
1	*Adenium obesum.*	105.36	98.91	1.07
2	*Alloplectus* spp.	48.04	45.11	1.07
3	*Alpinia galangal.*	126.58	115.52	1.10
4	*Amaranthus viridis.*	40.23	35.87	1.12
5	*Andrographis paniculata.* (dry)	74.15	50.58	1.47
6	*Andrographis paniculata.* (fresh)	85.07	76.92	1.11
7	*Annona squamosa.*	86.40	77.10	1.12
8	*Antigonon leptopus.*	102.65	91.26	1.12
9	*Arachis pinto.*	52.72	49.51	1.06
10	*Asplenium nidus.*	84.75	57.48	1.47
11	*Asystasia gangetica.*	83.90	123.01	0.68
12	*Barleria lupulina.*	162.65	157.89	1.03
13	*Boerhavia diffusa L.*	131.73	128.14	1.03
14	*Borreria latifolia.*	68.46	65.10	1.05
15	*Caesalpinia pulcherrima.*	151.23	142.79	1.06
16	*Canna indica.*	148.40	141.05	1.05
17	*Carmona retusa.*	46.57	30.61	1.52
18	*Cassia fistula.* (dry)	67.67	39.89	1.10
19	*Cassia fistula.* (fresh)	72.36	66.60	1.09
20	*Catharanthus roseus.*	124.36	118.57	1.05
21	*Celosia argentea.*	48.53	47.9	1.01
22	*Celosia argentea.*	55.47	47.74	1.16
23	*Centranthus Ruber.*	29.23	25.85	1.13

ตาราง 2 ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	P	E	P/E ratio
24	*Cerbera manghas.*	209.21	198.68	1.05
25	*Chloris barbata.*	56.09	47.27	1.19
26	*Cleome viscosa. (dry)*	39.62	28.25	1.40
27	*Cleome viscosa. (fresh)*	39.67	37.52	1.06
28	*Crossandra infundibuliformis.*	130.91	42.40	3.09
29	*Cuphea hyssopifolia.*	38.97	32.23	1.21
30	*Eugenia javanica Lam.*	125.96	126.13	1.00
31	*Eupatorium odoratum.*	34.15	26.78	1.27
32	*Euphorbia heterophylla.*	81.10	75.04	1.08
33	*Euphorbia hirta L.*	47.32	24.05	1.97
34	*Evolvulus nummularius.*	51.14	46.74	1.09
35	*Evolvulus nuttallianus.*	75.73	66.85	1.13
36	*Gardenia jasminoides.*	51.53	48.12	1.07
37	*Gomphrena celosides.*	36.45	32.91	1.11
38	*Graptophyllum pictum.*	98.12	83.19	1.18
39	*Guaiacum officinale.*	24.32	20.84	1.17
40	*Hamelia patens.*	52.72	50.45	1.05
41	*Heliconia spp.*	135.99	117.32	1.16
42	*Hibiscus rosa-sinensis.*	149.19	133.32	1.12
43	*Hygrophila guadrivalvis Nees.*	142.86	140.35	1.02
44	*Ixora chinensis.*	41.93	35.01	1.20
45	*Ixora coccinea. (dry)*	53.41	28.32	1.89
46	*Ixora coccinea. (fresh)*	60.47	55.10	1.10

ตาราง 2 ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	P	E	P/E ratio
47	*Jacaranda mimosifolia.*	66.75	51.48	1.30
48	*Jasminum sambac.*	45.05	38.42	1.17
49	*Kyllinga brevifolia.*	52.32	47.92	1.10
50	*Lagerstroemia loudonii.*	60.73	57.18	1.06
51	*Lagerstroemia speciose.*	71.23	65.03	1.10
52	*Leucaena leucocephala.*	94.33	78.97	1.19
53	*Macroptilium atropurpureum.*	46.5	39.63	1.17
54	*Mangifera indica.*	54.57	48.70	1.12
55	*Manikara zapota.*	83.62	76.32	1.10
56	*Mayodendron igneum.*	47.41	44.40	1.07
57	*Mimosa pudica.*	108.18	93.57	1.16
58	*Mucuna pruriens.*	80.87	74.29	1.09
59	*Murraya paniculata.*	63.00	54.28	1.16
60	*Nymphaea lotus Linn.*	86.39	76.47	1.13
61	*Ochna serrulate.*	56.15	33.99	1.65
62	*Ocimum tenuiflorum.*	68.85	66.47	1.04
63	*Ocimum basilicum.*	100.52	97.02	1.04
64	*Oxalis corniculate.*	54.39	52.94	1.03
65	*Oxalis corymbosa.*	37.19	28.36	1.33
66	*Passiflora foetida.*	102.68	98.21	1.05
67	*Petrea volubilis.*	102.65	97.03	1.06
68	*Petunia Hybrida.*	55.54	51.08	1.09
69	*Phymatosorus scolopendria.*	110.73	73.53	1.51

ตาราง 2 ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	P	E	P/E ratio
70	*Plumeria rubra Linn.*	67.98	56.38	1.21
71	*Portulaca grandiflora.*	107.68	99.55	1.08
72	*Portulaca grandiflora.*	99.20	86.03	1.15
73	*Rhinacanthus nasutus.*	82.5	52.22	1.58
74	*Rivina humilis L.*	67.99	62.11	1.10
75	*Rosa spp.*	77.54	57.99	1.34
76	*Ruellia Prostrata.*	233.30	215.81	1.08
77	*Ruellia simplex.*	136.31	124.19	1.10
78	*Sagitaria latifolia.*	28.70	25.93	1.11
79	*Sanchezia speciosa Leonard.*	189.59	184.59	1.03
80	*Seuderanthemum carruthersii*	57.54	52.20	1.10
81	*Shorea robusta.*	62.47	54.60	1.14
82	*Solannum virginianum L.*	57.54	54.03	1.07
83	*Strobilanthes callosa.*	179.04	170.05	1.05
84	*Tabernaemontana divaricate.*	55.31	52.37	1.06
85	*Tagetes patula.*	46.19	43.67	1.06
86	*Tecoma stans. (dry)*	75.23	55.27	1.36
87	*Tecoma stans. (fresh)*	70.01	66.39	1.05
88	*Torennia fournieri.*	64.91	59.53	1.09
89	*Tridax procumber.*	54.43	52.55	1.04
90	Unidentified pollen 1	42.87	31.37	1.38
91	Unidentified pollen 2	47.75	35.97	1.37
92	Unidentified pollen 3	42.53	38.28	1.11

ตาราง 2 ตารางแสดงผลการวัด P/E ratio ของละอองเรณูจากตัวอย่างละอองเรณูควบคุม (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	P	E	P/E ratio
93	Unidentified pollen 4	58.05	51.74	1.12
94	Unidentified pollen 5	52.26	47.20	1.11
95	Unidentified pollen 6	66.61	64.31	1.04
96	Unidentified pollen 7	113.43	69.78	1.63
97	Unidentified pollen 8	61.66	36.48	1.69
98	Unidentified pollen 9	41.64	39.47	1.05
99	Unidentified pollen 10	38.39	35.21	1.09
100	Unidentified pollen 11	158.05	138.96	1.14
101	*Vernonia cinerea Less.*	75.95	67.97	1.12
102	*Wrightia religiosa.*	72.77	60.64	1.20
103	*Zephyranthes minuta.*	153.69	84.47	1.82

หมายเหตุ : ค่า P, E และ P/E ratio หน่วยวัดเป็น μm
P = Polar axis
E = Equatorial axis

4.4 ผลการศึกษาทางนิติเรณูวิทยาโดยการใช้วิธีการลากเสื้อ

การศึกษาละอองเรณูของพืชดอกและสปอร์ของเฟิร์นและเห็ดรา ที่ติดอยู่บนเสื้อผ้าบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก โดยทำการเก็บตัวอย่างช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2565 และทำการตรวจสอบและระบุชนิดของละอองเรณูที่พบโดยแยกจากรูปร่างและขนาดของละอองเรณู

การศึกษานี้ผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างควบคุมบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์โดยประกอบด้วย คณะสหเวชศาสตร์ คณะพยาบาลศาสตร์ คณะทันตแพทย์ศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ อาคารธาราบำบัด และหอพัก มน. นิเวศ 5-6 โดยผู้วิจัยจะทำการเก็บข้อมูลพืชที่พบบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ ซึ่งมีพืชเด่นที่พบได้มากได้แก่ ดอกเข็ม, ดอกพวงชมพู, ดอกพุดศุภโชค พืชเด่นที่พบบริเวณรอบคณะพยาบาลศาสตร์ได้แก่ ดอกแพรเซี่ยงไฮ้ ดอกโมก, ต้นเฟิร์นฮาวาย พืชเด่นที่พบบริเวณรอบคณะทันตแพทย์ศาสตร์ได้แก่ ดอกมะลิลา, ดอกกาสะลอง พืชเด่นที่พบบริเวณรอบคณะสาธารณสุขศาสตร์และอาคารธาราบำบัดได้แก่ ถั่วพินตอย (หญ้าบาร์ซิล), เสลดพังพอน, ฟ้าทลายโจร พืชเด่นที่พบบริเวณรอบคณะเภสัชศาสตร์ได้แก่ ต้นสาละ, ต้นละมุด พืชเด่นที่พบบริเวณรอบคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้แก่ ดอกอัญชัน, ดอกแพรเซี่ยงไฮ้ ดอกเฟื่องฟ้า พืชเด่นที่พบบริเวณรอบหอพัก มน.นิเวศ 5-6 ได้แก่ ต้นชมพู่, ดอกทองอุไร

ผลการศึกษานี้พบว่าพืชเด่นบริเวณที่เก็บตัวอย่างคณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่ ตีนตุ๊กแก, เข็ม, ตะแบก, เสลา, มะลิ, หญ้าดอกขาว, ใบต่างเหรียญ โดยพืชเด่นจุดเก็บตัวอย่างที่ 1 พบ ตีนตุ๊กแก, ส้มกบ, มะลิ และราชพฤกษ์ จุดที่ 2 พบ บัวดิน, ดอกเข็ม, ตีนตุ๊กแก, เสลา จุดที่ 3 พบ ลีลาวดี, ตีนตุ๊กแก, ดอกเข็ม (ระหว่างการทดลองมีการตัดต้นเข็มทิ้งและกองส่วนที่ตัดไว้บนพื้น) และจุดที่ 4 พบพืชชนิดเดียวกับจุดที่ 3

ส่วนพืชที่เด่นบนตัวอย่างเสื้อ คือ ดอกแก้ว, ดอกเข็ม, เชื้อรา *Alternaria alternata* และ Unidentified pollen grain โดยสามารถจำแนกเป็นแต่ละจุดได้ดังนี้

การศึกษาบริเวณจุดที่ 1 โดยชนิดของละอองเรณูที่พบมากที่สุด คือ ดอกแก้ว (88.60%) (ภาพ 19) และดอกเข็ม (5.82%) (ภาพ 20)

บริเวณจุดที่ 2 โดยชนิดของละอองเรณูที่พบมากที่สุด คือ ผักเสี้ยนผี (6.36%)(ภาพ 21) และเชื้อรา *A. alternata* (7.64%) (ภาพ 23)

บริเวณจุดที่ 3 โดยชนิดของสปอร์ที่พบมากที่สุด คือ เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย (17.30%) (ภาพ 22) และเชื้อรา *A.* alternata (5.76%)

บริเวณจุด 4 โดยชนิดของละอองเรณูที่พบมากที่สุด คือ ดอกเข็ม (6.52%) (ภาพ 20) และเชื้อรา *A. alternata* (4.34%)

ผู้วิจัยพบละอองเรณูทั้งหมด 40 ชนิด (ตาราง 4) ตามสถานที่เก็บที่แสดงในตาราง 1 ส่วนพืชที่เด่นบนตัวอย่างเสื้อ คือ ดอกแก้ว, ดอกเข็ม, เชื้อรา *A. alternata* และ Unidentified pollen grain

จุดที่ 1 ดอกแก้ว (*Murraya paniculate*) ขนาด 23.02 µm ลักษณะพื้นผิวแบบ Striate, Rugulate โครงสร้างละอองเรณูแบบ Tricolporate, ดอกเข็ม (*Ixora coccinea*) ขนาด 53.41 µm ลักษณะ Spheroidal 60.47 µm ลักษณะพื้นผิวแบบ Microreticulate โครงสร้างละอองเรณูแบบ Tricolporate

จุดที่ 2 ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*) ขนาด 40.19 µm ลักษณะพื้นผิวแบบ Striato-microreticulate, Striato-reticulate แบบตาข่าย โครงสร้างละอองเรณูแบบ Tricolporate, เชื้อรา *A. alternata*

จุดที่ 3 เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย (*Asplenium nidus*) ขนาด 84.74 µm ลักษณะพื้นผิว Foveolate โครงสร้างสปอร์แบบ Monolete, เชื้อรา *A. alternata*

จุดที่ 4 ดอกเข็ม (*Ixora coccinea*), เชื้อรา *A. alternata*

โดยรายละเอียดเกี่ยวกับรูปร่างลักษณะละอองเรณูได้เพิ่มเติมจากข้อมูลออนไลน์ PalDat. Palynological Database an online publication on recent pollen (26)

ละอองเรณูและสปอร์ทั้งหมดของพืชที่พบบนเสื้อผู้วิจัยได้ทำการนับจำนวนละอองเรณูทั้งหมดที่พบแล้วจึงนำมาคำนวณเป็นค่าร้อยละของละอองเรณูทั้งหมดที่พบบนเสื้อ ดังแสดงในตาราง 3

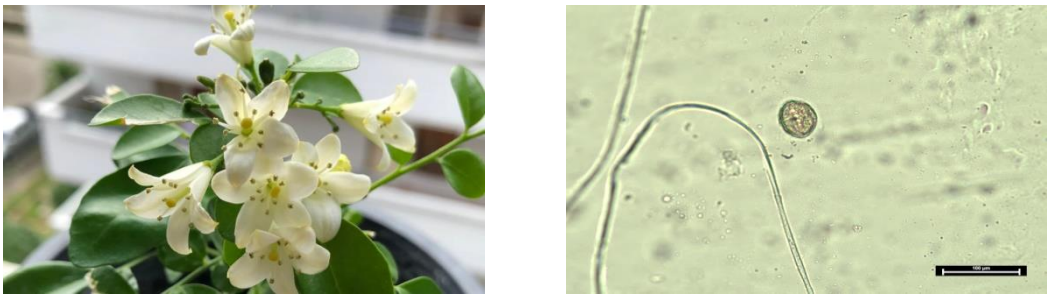
ตาราง 3 ชนิดและร้อยละของจำนวนละอองเรณูที่พบอยู่บนเสื้อตัวอย่างทดสอบด้วยแบบจำลองการเก็บละอองเรณูด้วยวิธีการลาก และเก็บละอองเรณูด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique

จำนวนละอองเรณูที่พบบนเสื้อตัวอย่างจากสถานที่ทั้ง 4 แห่ง			
ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวน (ละอองเรณู)	ร้อยละที่พบ
1	*Murraya paniculata.*	350	69.58
2	*Ixora coccinea.*	41	8.15
3	*Alternaria alternata.*	23	4.57
4	*Cleome viscosa.*	10	1.99
5	*Asplenium nidus.*	9	1.79
6	*Centranthus Ruber.*	5	0.99
7	Lagerstroemia floribunda.	5	0.99
8	*Lagerstroemia speciosa.*	4	0.8
9	*Nephrolepis biserrata.*	4	0.8
10	*Canna indica.*	3	0.6
11	*Sagitaria latifolia.*	3	0.6
12	*Annona squamosa.*	3	0.6
13	*Oxalis corymbosa.*	3	0.6
14	*Melampodium divaricatum.*	3	0.6
15	*Petunia hybrida.*	3	0.6
16	*Arachis pinto.*	2	0.4
17	*Evolvulus nuttallianus.*	2	0.4
18	*Guaiacum officinale.*	2	0.4
19	*Andrographis paniculata.*	2	0.4
20	*Euphorbia heterophylla.*	2	0.4
21	*Adenium obesum.*	1	0.2
22	Eugenia javanica Lam	1	0.2
23	*Vernonia cinerea Less.*	1	0.2
24	*Carmona retusa.*	1	0.2
25	*Rosa* spp.	1	0.2
26	*Macroptilium atropurpureum.*	1	0.2
27	*Jacaranda mimosifolia.*	1	0.2
28	Grass	1	0.2

ตาราง 3 ชนิดและร้อยละของจำนวนละอองเรณูที่พบอยู่บนเสื้อตัวอย่างทดสอบด้วยแบบจำลองการเก็บละอองเรณูด้วยวิธีการลาก และเก็บละอองเรณูด้วยวิธี Wet scotch tape adhesion technique (ต่อ)

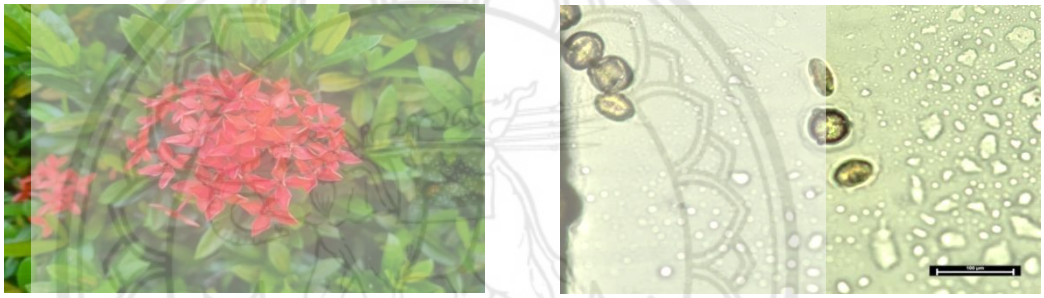
จำนวนละอองเรณูที่พบบนเสื้อตัวอย่างจากสถานที่ทั้ง 4 แห่ง			
ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวน (ละอองเรณู)	ร้อยละที่พบ
29	*Gardenia jasminoides.*	1	0.2
30	*Euphorbia hirta.*	1	0.2
31	*Rhinacanthus nasutus.*	1	0.2
32	*Cassia fistula.*	1	0.2
33	*Amaranthus viridis.*	1	0.2
34	*Zephyranthes spp.*	1	0.2
35	*Chrysothemis pulchella.*	1	0.2
36	*Torennia fournieri.*	1	0.2
37	*Portulaca grandiflora.*	1	0.2
38	*Mayodendron igneum.*	1	0.2
39	*Heliconia spp.*	1	0.2
40	*Crossandra infundibuliformis.*	1	0.2
	รวม	503	100

4.5 พืชเด่นและละอองเรณูที่พบบนเสื้อ



A B

ภาพ 19 ต้นดอกแก้ว (*Murraya paniculate*) **(A)** และละอองเรณูของดอกแก้ว **(B)**



A B

ภาพ 20 ต้นดอกเข็ม *(Ixora coccinea)* **(A)** และละอองเรณูของดอกเข็ม **(B)**

A B

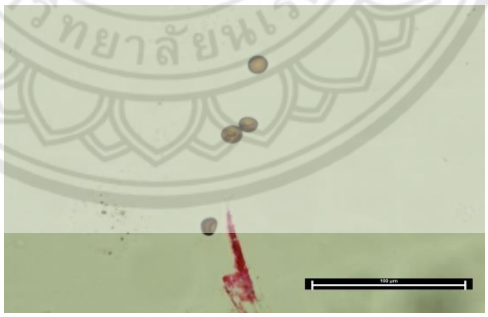
ภาพ 21 ต้นผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*) **(A)** และละอองเรณูของต้นผักเสี้ยนผี **(B)**

A

B

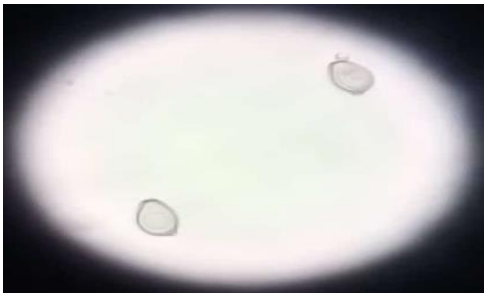
ภาพ 22 เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย (*Asplenium nidus*) **(A)** และสปอร์ของเฟิร์นข้าหลวงหลังลาย **(B)**

ภาพ 23 เชื้อรา *Alternaria alternata*



ภาพ 24 Unidentified pollen grain

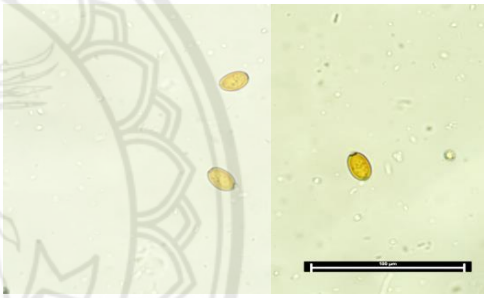
A



B

ภาพ 25 เห็ดกระโดงตีนต่ำ (*Chlorophyllum molybdites*) **(A)** และสปอร์ของเห็ดกระโดงตีนต่ำ **(B)**

A



B

ภาพ 26 เห็ดตระกูลเห็ดขี้ควาย (Psilocybin or magic mushroom) **(A)** และสปอร์ของเห็ดขี้ควาย **(B)**

ตาราง 4 ลักษณะของละอองเรณูที่เด่นบนเสื้อตัวอย่างและสถิติ

ชื่อสามัญ และ ชื่อวิทยาศาสตร์	รูปร่างลักษณะของละอองเรณู	ลักษณะพื้นผิวของละอองเรณู	P/E Ratio	Max	Min	Means	S.D.
ดอกแก้ว *Murraya paniculata.*	colporate	striate, rugulate	1.16	67.44	59.75	63.00	3.98
ดอกเข็ม *Ixora coccinea*.	colporate	reticulate	Dry 1.10	59.61	48.95	53.41	5.54
			Fresh 1.89	63.51	58.64	60.47	2.65
ผักเสี้ยนผี *Cleome viscosa.*	colporate	striate	Dry 1.40	42.34	34.55	39.62	4.40
			Fresh 1.06	41.58	36.67	39.67	2.63
เฟิร์นข้าหลวงหลังลาย *Asplenium nidus.*	monolete	foveolate	1.47	86.11	84.05	84.74	1.18

หมายเหตุ : ค่า P, E และ P/E ratio หน่วยวัดเป็น µm

P = Polar axis

E= Equarial axis

S.D. = Standard deviation

บทที่ 5

อภิปรายและวิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษานี้ ผู้วิจัยพบละอองเรณูของพืชดอกบางชนิดที่สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา เช่น ละอองเรณูต้นตีนตุ๊กแกบนตัวอย่างเสื้อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อิสมะแอ เจ๊ะหลง และคณะ (18) แต่การพบละอองเรณูของต้นตีนตุ๊กแก ไม่สามารถใช้เป็นหลักฐานที่ดีในทางนิติเรณูวิทยาในประเทศไทย เพราะพืชชนิดนี้สามารถพบได้ทุกท้องที่ไม่ว่าจะเป็นเขตเมืองหรือเขตชนบท และพบได้ทั้งอาคารที่มนุษย์สร้างขึ้น แม้กระทั่งป่ารกข้างถนน และป่าที่ติดกับเขตชุมชน (35) อย่างไรก็ตาม ละอองเรณูจะใช้เป็นหลักฐานในการสืบค้นที่มาของสิ่งของที่เป็นวัตถุพยานและการเดินทางของหลักฐานวัตถุระหว่างประเทศได้เนื่องจากตีนตุ๊กแกเป็นวัชพืชที่พบทุกท้องที่ของประเทศไทย แต่อาจจะไม่พบในประเทศที่ห่างไกลออกไป เช่น ในประเทศแถบยุโรป และในการศึกษาของ Wu Chun-Liang (2006) บนเกาะไต้หวัน ไม่พบละอองเรณูของพืชชนิดนี้เช่นเดียวกัน ดังนั้นต้นตีนตุ๊กแกจะมีประโยชน์ในการบอกที่มาและการเดินทางวัตถุพยาน การขนส่งในกรณีของประเทศที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์และอากาศที่แตกต่างจากประเทศไทยมากเท่านั้น

การศึกษาความสัมพันธ์ของละอองเรณูของพืชดอก สปอร์ของพืชจำพวกเฟิร์นรวมทั้งเห็ดรากับละอองเรณูที่ติดอยู่บริเวณเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกายโดยกรณีศึกษาบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ พบว่าละอองเรณูที่มีรูปร่างช่องเปิดแบบ Tricolporate และมีลักษณะผนังละอองเรณูแบบ striate, rugulate ขนาดประมาณ 51-60 µm จะติดอยู่บนตัวอย่างเสื้อผ้าได้ดีกว่าละอองเรณูที่มีรูปร่างกลม และลักษณะผนังของละอองเรณูแบบหนาม (Echinate) ขนาดประมาณ 35 – 45 µm ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Webb JC และคณะ (2018) (3) ที่กล่าวว่าละอองเรณูที่มีรูปร่างร่างกลมและมีลักษณะผนังของละอองเรณูแบบหนามจะสามารถยึดติดบนผ้าได้ดีกว่าละอองเรณูที่มีผนังละอองเรณูแบบเรียบ สำหรับการศึกษานี้พบว่าละอองเรณูทรงกลมผิวเรียบจะพบบนเสื้อได้มากกว่า โดยละอองเรณูของต้นแก้ว ที่มีรูปร่างละอองเรณูแบบ Tricolporate ซึ่งมีลักษณะผิวของละอองเรณูแบบ striate, rugulate ขนาด 23 µm พบได้ถึง 88.60% และสปอร์ของเฟิร์นข้าหลวงหลังลาย โดยมีรูปร่างละอองเรณูแบบ monolete ซึ่งมีลักษณะผิวของละอองเรณูแบบ foveolate ขนาด 84 µm พบ 17.30%

โดยทั่วไปแล้วนิติเรณูวิทยามีประโยชน์อย่างมากในการระบุสถานที่เกิดเหตุเช่นในคดี Baby Doe และคดีเหยื่อผู้สูญหายที่แม่น้ำดานูป รวมทั้งการระบุตัวเหยื่อและคนร้าย เช่น คดีในประเทศนิวซีแลนด์ รวมทั้งการจับกุมสินค้าผิดกฎหมายในสหรัฐ เช่น คดีลักลอบนำเข้าน้ำผึ้ง, บุหรี่ผิดกฎหมาย , การหาที่มาของวัตถุพยานจากเส้นทางการขนส่งยาเสพติด เช่น การหาที่มาของโคเคน นอกจากนี้ยังมี การใช้ละอองเรณู เพื่อเป็นหลักฐานในการทวงคืนวัตถุโบราณระหว่างรัฐบาลสหรัฐอเมริกากับเม็กซิโก (8)

นิติเรณูวิทยาสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับหลายๆ คดี เช่น ในปี ค.ศ. 1959 ที่ประเทศสวีเดน มีคดีฆาตกรรมหญิงสาวคนหนึ่งเกิดขึ้น เจ้าหน้าที่จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างของดินบนเสื้อผ้าของเหยื่อและส่งให้กับนักเรณูวิทยาเพื่อทำการตรวจสอบ และทำการเก็บตัวอย่างของละอองเรณูจากพืชในบริเวณที่เกิดเหตุเพื่อนำมาทำเป็นตัวอย่างควบคุม หลังจากได้ผลการวิเคราะห์ละอองเรณูจากดินบนเสื้อของเหยื่อก็พบว่า ละอองเรณูที่ได้มาจากเหยื่อนั้นไม่ตรงกับละอองเรณูที่เป็นตัวอย่างควบคุมที่เก็บมาจากพืชบริเวณสถานที่เกิดเหตุ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เจ้าหน้าที่ได้ทราบว่าเหยื่อได้ถูกฆาตกรรมจากสถานที่อื่นและถูกนำศพมาทิ้งไว้ยังจุดเกิดเหตุ ซึ่งเป็นตัวอย่างของคดีที่นำงานด้านนิติเรณูวิทยามาใช้ประโยชน์ (8, 10)

นอกจากนี้นิติเรณูวิทยายังถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการสืบหาว่าวัตถุพยานถูกขนย้ายหรือเคยอยู่ ณ แหล่งใดมาก่อนได้อีกด้วย ดังในคดีที่เกิดการโจรกรรมรถยนต์สามารถระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ได้จากดินและโคลนจากที่วางรองเท้าและล้อรถ ดังเช่น หากเกิดคดีในลักษณะเดียวกันบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ ละอองเรณูที่พบจะสามารถระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ ได้จากละอองเรณูที่พบ (8, 10) นอกจากนั้นชนิดของละอองเรณูที่นำโดยแมลง (Entomophily) น้ำ (Hydrophily) และลม (Anemophily) มีผลต่อผลการทดสอบทางนิติเรณูวิทยา เช่นเดียวกับงานทบทวนวรรณกรรมของ Kumari Mayuri และคณะ (2017) ที่ระบุว่าละอองเรณูที่นำโดยลม มีประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์มากที่สุด เนื่องจากพืชที่อาศัยลมในการนำละอองเรณู (Anemophilous) มีความสามารถในการผลิตเกสรตัวผู้จำนวนมากและมีขนาดเล็กทำให้สามารถถูกนำพาไปในสถานที่ต่างๆ ได้ดี (27) ดังนั้นข้อมูลจากการศึกษานี้จึงสามารถใช้ระบุสถานที่เกิดเหตุและวัตถุพยานได้ อย่างไรก็ตามการปลูกเพิ่มหรือรื้อทำลายต้นไม้รอบบริเวณที่ทำการศึกษามีผลต่อข้อมูลที่เป็นหลักฐานทางนิติเรณูวิทยาที่ได้มาก ดังนั้นการปรับปรุงข้อมูลของพืชดอกและพืชตระกูลเฟิร์นในสถานที่ที่ทำการศึกษาทางนิติเรณูวิทยาให้เป็นปัจจุบันเสมอ(update) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง สำหรับตึกและอาคารที่ตั้งอยู่รายล้อมคณะสหเวชศาสตร์มีการปลูกเพิ่มหรือตัดทำลายพืชดอกหลายชนิดในบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะซึ่งจะมีผลต่อการศึกษาด้านนี้ในอนาคต ดังนั้นควรมีการเก็บข้อมูลที่เป็นปัจจุบันของพืชดอกและเฟิร์นเพื่อผลที่ถูกต้องแม่นยำทางนิติเรณูวิทยาบริเวณอาคารเหล่านี้เช่นเดียวกัน

ในประเทศเม็กซิโก มีความพยายามใช้ละอองเรณูจากหนังและขนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมใน New Mexico Museum of Natural History สำหรับระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ เพื่อนักนิติเรณูจะใช้เป็นข้อมูลในการระบุสถานที่ ในกรณีที่สถานที่เกิดเหตุเป็นสถานที่เกิดศึกสงคราม หรือเขตของผู้ก่อการร้าย ซึ่งมีข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพ นอกจากนั้นในงานวิจัยนี้ยังได้กล่าวอีกว่ามีพืชบางชนิดที่ละอองเรณูจะถูกปล่อยออกมาเมื่อสัมผัสกับน้ำจะมีประโยชน์ในการตรวจบนหลักฐานที่เป็นเสื้อผ้า, น้ำในปอด, น้ำล้างกระเพาะของผู้ตายด้วยการจมน้ำ ศพที่ถูกทิ้งลงในทะเลสาบหรือกระแสน้ำ อย่างไรก็ตามผู้เรียบเรียงชี้ให้เห็นว่า มีความน่าเชื่อถือน้อย เพราะละอองเรณูอาจถูกย่อยสลาย และถูกทำลายได้ง่าย เมื่อเทียบกับละอองเรณูของพืชที่นำโดยแมลงหรือสัตว์ (Entomophilous) เพราะพืชดอกเหล่านี้จะมีไขมันเหนียวที่ใช้ยึดติดไปกับร่างกายของแมลง ขนสัตว์และมนุษย์ ส่วน exine (sporopollenin และ pollenkitt) จะทำให้ละอองเรณูมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมและติดแน่น

กับวัตถุพยาน (28) อย่างไรก็ตาม ผู้เรียบเรียงได้สรุปว่าโดยทั่วไปแล้ว ละอองเรณูที่นำโดยแมลงกับละอองเรณูที่นำโดยลมมักจะมีประโยชน์อย่างมากในการสืบสวนสอบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์

เนื่องจากบริเวณที่ผู้ทำวิจัยทำการเก็บตัวอย่างโดยการจำลองการลากเสื้อไปกับพื้นนั้นพบว่าได้มีการปนเปื้อนของละอองเรณูที่อยู่นอกการเก็บตัวอย่างควบคุมที่อาจมาจากกระแสลมและยานพาหนะที่มีการผ่านบริเวณทำการเก็บตัวอย่างอยู่ตลอดเวลาไม่ว่าจะเป็นรถจักรยานยนต์ หรือรถยนต์ ทำให้อาจมีละอองเรณูจากสถานที่อื่นติดมาในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างด้วย ซึ่งทำให้พบละอองเรณูที่ไม่มีอยู่ในข้อมูลของละอองเรณูที่เป็นตัวอย่างควบคุม รวมทั้งในช่วงที่ผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างมีพายุฤดูร้อนเกิดขึ้นทำให้ละอองเรณูของพืชดอกจากบริเวณที่ไกลออกไปปนเปื้อนมาในการเก็บตัวอย่างได้

การเก็บตัวอย่างของ Wu Chun-Liang และคณะ (2006) (22) นั้นได้มีการเก็บตัวอย่างจากเสื้ออาสาสมัครที่เดินรอบบริเวณที่เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างบริเวณด้านหน้าเสื้อเป็นบริเวณ 5 จุดด้านหน้าของเสื้อเท่านั้น แต่ในการศึกษานี้ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างจากเสื้อที่ได้ทำการจำลองการลากไปกับพื้น ดังนั้นจึงควรมีการเก็บทั้งบริเวณด้านหน้าและด้านหลังเสื้อตัวอย่างเพื่อเป็นการเก็บละอองเรณูให้ครบจากพื้นที่ที่เสื้อสัมผัสกับพื้นสถานที่เกิดเหตุได้มากที่สุด โดยละอองเรณูที่เก็บมาได้หากยิ่งเก็บได้มากก็อาจจะสามารถช่วยในการระบุตำแหน่งได้แม่นยำมากยิ่งขึ้น

ปัญหาและอุปสรรคของการใช้นิติเรณูวิทยาในการช่วยระบุสถานที่เกิดเหตุและวัตถุพยานคือการขาดความรู้และข้อมูลรวมถึงผู้เชี่ยวชาญด้านนี้ ทำให้ข้อมูลด้านนี้มีอยู่อย่างจำกัดทั่วโลก (28) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่ผู้ทำการศึกษายังคงมีความชำนาญทางด้านนิติเรณูวิทยาที่น้อยจึงอาจทำให้เกิดการแยกชนิดของละอองเรณูจากการเก็บตัวอย่างที่ได้มาน้อย ทำให้อาจจะทำการระบุตัวอย่างของละอองเรณูที่ได้มาคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาด้านความรู้ด้านพฤษศาสตร์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรณูวิทยาเพิ่มเติมเพื่อให้ผลการจำแนกชนิดของละอองเรณูที่ได้มามีความผิดพลาดน้อยที่สุด

การศึกษานี้สำรวจรอบอาคารบริหารและปฏิบัติการที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งเป็นการศึกษาแรกที่ศึกษางานด้านนิติเรณูวิทยาในสถานศึกษาแห่งนี้ สำหรับการศึกษาในอนาคตควรมีการศึกษาสถานที่อื่นๆ ในมหาวิทยาลัยแห่งนี้ ซึ่งอาจจะสามารถนำไปใช้ได้ในคดีต่างๆที่เกิดขึ้นในมหาวิทยาลัย ที่นักศึกษาอัตวินิบาตกรรมบริเวณทางเข้าบึงน่าล่ม หลักฐานทางนิติเรณูจะสามารถระบุเส้นทางที่คนร้ายหลบหนี โดยพิจารณาจากละอองเรณูบนร่างคนร้ายและอาวุธปืน (29)

นอกจากนี้ละอองเรณูยังสามารถระบุสถานที่เกิดเหตุ และการเคลื่อนย้ายศพอาจารย์คณะมนุษย์กระโดดตึกฆ่าตัวตาย (30) และคดีจับกุมคนร้ายค้ายาบ้าที่หลบหนีเข้ามาในบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวร ละอองเรณูสามารถระบุที่มาของยาเสพติด ที่มาของหลักฐานก็สามารถพิจารณาจากละอองเรณู พืชดอก และเชื้อรา ในคดีบุกรุกห้องพักและขโมยชุดชั้นในบริเวณหอพักอาจารย์ (31-33)

ดังนั้นการมีข้อมูลทางนิติเรณูวิทยาเพื่อประกอบคำให้การของพยานบุคคล รวมถึงการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์และวิทยาเวชศาสตร์อื่นๆ ซึ่งผู้ทำวิจัยคาดว่าจะสามารถนำมาใช้ประกอบหลักฐานอื่นๆ เพื่อประโยชน์ในการสืบสวน เพื่อบังคับในทางกฎหมายต่อไปโดยเฉพาะข้อมูลการระบุสถานที่เกิดเหตุและการเคลื่อนย้ายศพและวัตถุพยานหรือยานพาหนะในการก่อเหตุ ของคดีที่เกิดขึ้นใน

มหาวิทยาลัยและจังหวัดพิษณุโลกต่อไป จากคดีบางส่วนที่กล่าวมาการเก็บหลักฐานทางนิติเรณูจะมีส่วนช่วยในการสืบสวนสอบสวนหาสาเหตุการตายและสถานที่เกิดเหตุร่วมกับหลักฐานที่เป็นบุคคลกับวัตถุพยานและหลักฐานอื่นๆ ทางนิติชีโลวิทยาและนิติเวชศาสตร์สาขาอื่นเพื่อสืบสวนคดีในมหาวิทยาลัยนเรศวรได้

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยพบเชื้อรา *A. alternate* ที่สามารถใช้เป็นหลักฐานทางนิติเรณูได้ในพื้นที่ที่ศึกษา นอกจากนี้ยังพบเห็ดกระโดงตีนต่ำ และเห็ดในตระกูลเห็ดขี้ควาย (Psilocybin or magic mushroom) โดยจากงานวิจัยของ Wiltshire และคณะ (2014) (4) ซึ่งได้ระบุว่าสปอร์ของเห็ดและเชื้อราสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกสถานที่เกิดเหตุได้อย่างดี รวมทั้งยังสามารถใช้ในการคาดเดาเพื่อระบุฤดูกาลและระยะเวลาของการเกิดเหตุเพื่อประโยชน์ในการสอบสวนได้ด้วย ในการใช้ละอองเรณูเพื่อประกอบการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ต้องคำนึงถึงปัจจัยเกี่ยวข้องกับฤดูกาล โดยฤดูกาลมีผลต่อชนิดของพืชและละอองเรณูที่พบ โดยในแต่ละฤดูกาลก็จะมีพืชที่เจริญและผลิตละอองเรณูแตกต่างกันออกไป เช่น ดอกแก้วที่ดอกจะบานเฉพาะในช่วงฤดูฝนหรือดอกซากุระที่จะบานเฉพาะในช่วงฤดูใบไม้ผลิเท่านั้น (9) จากการศึกษานี้ ผู้วิจัยพบว่าเห็ดราซึ่งเป็นวัตถุพยานทางนิติเรณูวิทยาที่ดีในช่วงฤดูฝนสอดคล้องกับงานวิจัยเห็ดที่พบบนสนามหญ้าคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบเห็ดในตระกูลเห็ดขี้ควายและเห็ดกระโดงตีนต่ำซึ่งแตกต่างกับการศึกษาเห็ดที่พบบนสนามหญ้าคณะสหเวชศาสตร์ที่ผ่านมา ที่เห็ดจาวมะพร้าว (*Calvatia boninensis*) และเห็ดใน family Polyporales อย่างไรก็ตาม การพบเห็ดกระโดงตีนต่ำในการศึกษานี้สอดคล้องกับการรายงานชนิดเห็ดที่ผ่านมา ทำให้สามารถใช้เป็นข้อมูลทางเห็ดราวิทยาเพื่อระบุตำแหน่งของคณะสหเวชศาสตร์ได้ ดังนั้นหากจะนำสปอร์ของเห็ดมาเป็นหลักฐานในทางนิติเรณูวิทยาจะต้องมีการศึกษาให้มีข้อมูลเป็นปัจจุบันเพิ่มเติม รวมทั้งข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวกับเห็ดที่พบบนสนามหญ้าข้างตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ของสปอร์เห็ด เช่น ความคงทนของสปอร์ในสภาพแวดล้อมเพื่อประโยชน์ในการระบุสถานที่ในทางนิติเรณูวิทยาต่อไป นอกจากนี้การบุกรุกและรุกล้ำสิ่งแวดล้อมที่เห็ดรานั้นเจริญอยู่อาจมีผลต่อการพบสปอร์ของเห็ด โดยพบว่าในช่วงฤดูฝนปี พ.ศ. 2563 ซึ่งสนามหญ้าถูกรบกวนจากมนุษย์น้อยเพราะมีการระบาดของเชื้อไวรัส COVID-19 ทำให้มีการกักตัวของผู้คนจึงพบเห็ดได้หลายชนิด รวมถึงช่วงเวลาการศึกษาครั้งนี้เป็นช่วงเวลาที่มีการรบกวนจากมนุษย์มีน้อย จึงทำให้พบเห็ดขี้ควาย เห็ดจาวมะพร้าว เห็ด family Polyporales ซึ่งเป็นเห็ดที่ไม่มีการรายงานมาก่อนถูกพบบนสนามหญ้าข้างคณะสหเวชศาสตร์ (34)

เนื่องจากการศึกษานี้ทำในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อนต่อกับต้นฤดูฝน จึงพบพืชเช่น ดอกเข็ม ดอกแก้ว และเชื้อรา *A. alternata* เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์นอกจากรูปร่าง และความคงทนสปอร์ของเห็ดราแล้ว การศึกษาความจำเพาะต่อองค์ประกอบของดินรวมถึงจุลชีพในดิน รวมทั้งผู้วิจัยคาดว่ามีปัจจัยที่ส่งผลต่อเอกลักษณ์ของพืชและเห็ดราในพื้นที่นั้นๆ ไม่ว่าจะเป็น ปริมาณน้ำฝน ความชื้น อุณหภูมิ ล้วนมีผลต่อการพบละอองเรณูที่ผู้ทำการศึกษานิติเรณูควรมีการศึกษาและบันทึกไว้เพื่อประโยชน์ในการศึกษาในอนาคตต่อไป (22)

การศึกษานี้มีละอองเรณูพืชดอกบางส่วนที่พบสอดคล้องกับผลการวิจัยของ อิสมะแอ เจ๊ะหลง และคณะ (2562) (18) โดยพบละอองเรณูของต้นตีนตุ๊กแกที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ตำบลระแว้ง อำเภอยะรัง จังหวัดปัตตานี พบพืชเด่นคือ มะพร้าว จิงจ้อขาว

ตีนตุ๊กแก และน้ำนมราชสีห์ และการศึกษาที่ถนนทางหลวงแผ่นดินหมายเลข 4071 (สายยะลา-ทุ่งยางแดง) (35) พบพืชเด่นคือ หญ้าตีนกา หญ้าคา สาบแร้งและหญ้ารังนก ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ โดยจะสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้พิกัดทางภูมิศาสตร์และสามารถใช้ระบุสถานที่เกิดเหตุได้ดี สำหรับความแตกต่างของชนิดของละอองเรณูที่พบอาจเนื่องมาจากบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่างอยู่ติดกับบริเวณถนนซึ่งมีรถสัญจรไปมา จึงอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของละอองเรณูที่มาจากสถานที่ไกลๆ ได้ นอกจากนี้ระยะเวลาและฤดูกาลยังมีผลต่อการพบละอองเรณู เพราะการศึกษานี้ทำการศึกษาในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูร้อนของประเทศไทย ในขณะที่การศึกษาอื่นทำการศึกษาในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝนของประเทศไทย นอกจากนี้ในช่วงเวลาที่ศึกษาทีการตัดและแต่งสนามหญ้าบริเวณรอบตึกที่ทำการทำให้ไม่พบละ องเรณูของหญ้าตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษานี้

สำหรับการศึกษาในอนาคต ควรทำการศึกษาลักษณะของละอองเรณู โดยผู้วิจัยได้ใช้สี Safranin O เนื่องจากเพื่อให้สามารถเห็นลักษณะของละอองเรณูได้ชัดเจนมากขึ้นและเป็นสีที่สามารถเตรียมได้ง่าย แต่การศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีการใช้สี Methyl-green, Fuchsin, Nigrosin ถึงแม้การย้อมสีจะทำให้เห็นรายละเอียดรูปร่างและพื้นผิวของละอองเรณูได้มากขึ้น แต่เป็นศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) เท่านั้น แต่หากต้องการเห็นรูปร่างและพื้นผิวที่ชัดเจน ควรใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope) เนื่องจากจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) สามารถทำกำลังขยายได้เพียง 40 100 และ 400 เท่านั้น ในขณะที่กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope) สามารถทำการขยายได้สูงสุดถึง 10,000,000 เท่า (36) และหากต้องการข้อมูลที่มีความสมบูรณ์ ควรมีการศึกษาลักษณะโดยการใช้กล้องแบบส่องผ่าน (TEM) รวมถึงการศึกษาระดับอณูวิทยารวมทั้งเทคโนโลยีชั้นสูงอื่นๆ เพื่อให้ข้อมูลที่มีถูกต้องแม่นยำในการสืบสวนสอบสวน ไปสู่การบังคับใช้ในทางกฎหมายที่น่าเชื่อถือต่อได้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาละอองเรณูรอบอาคารที่ทำการ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นครั้งแรกเพื่อให้เป็นข้อมูลทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ โดยก่อนหน้านี้มีการศึกษาด้านนี้ที่ตำบลระแว้ง อำเภอยะรัง จังหวัดปัตตานี (18) และที่ถนนทางหลวงแผ่นดินหมายเลข 4071 (สายยะลา-ทุ่งยางแดง) (35) ซึ่งเป็นจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย ดังนั้นควรมีการศึกษาละอองเรณูในสถานที่ที่อาจเป็นสถานที่เกิดเหตุ อื่นๆ ในมหาวิทยาลัยนเรศวร เช่น อาจารย์มหาวิทยาลัยนเรศวรกระโดดตึกฆ่าตัวตาย, นักศึกษามหาลัยยิงตัวตาย เป็นต้น ยิ่งไปกว่านั้นควรมีการศึกษาในสถานที่อื่นๆ ในจังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดอื่นๆ ของประเทศ โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเกี่ยวกับละอองเรณูอาจมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป รวมทั้งต้องมีการศึกษาในแต่ละฤดูกาล เนื่องจากในแต่ละฤดูกาลนั้นพืชแต่ละชนิดจะมีการออกดอกหรือมีการสร้างละอองเรณูหรือสปอร์ที่แตกต่างกันไปตามแต่ละสายพันธุ์ นอกจากนี้องค์ประกอบของดินและจุลชีพในดินยังมีส่วนช่วยในการสืบสวนหาความจริงเพื่อผลบังคับทางนิติวิทยาศาสตร์ (27)

ในแต่ละพื้นที่ทั่วโลกนั้นมีความหลากหลายทางชีวภาพที่มีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ และความแตกต่างเหลานี้นั้นอาจจะช่วยในการระบุที่มาของวัตถุต่างๆ ได้ โดยหากวัตถุหรือสิ่งของที่สงสัยถึงแหล่งที่มาของวัตถุชนิดนั้นหากพบละอองเรณูติดอยู่บนวัตถุอาจจะใช้ในการสืบหาแหล่งที่มา

ได้ และจากการที่มนุษย์เข้าไปรบกวนความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศเดิมที่มี ความโดดเด่นอยู่แล้ว โดยการนำพืชที่ไม่พบในพื้นที่หรือพืชต่างถิ่นมาปลูกในแต่ละพื้นที่อาจทำให้เกิดความสับสนในการระบุตำแหน่งได้ ดังนั้นควรมีการปรับปรุงข้อมูลของพืชและละอองเรณูในพื้นที่ให้ทันสมัย (update) อยู่ตลอด ซึ่งข้อมูลของพืชที่ทำการนำมาปลูกใหม่หรือทำการรื้อถอนออกไปนั้นจึงมีความสำคัญอย่างมาก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจทำให้เกิดอคติ (bias) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอคติในการรับรู้ (Cognitive bias) ซึ่งหมายถึง ข้อมูลที่ได้รับรู้รับทราบซึ่งส่งผลต่อความจำ กระบวนการคิด การให้เหตุผล รวมถึงการตัดสินใจให้คลาดเคลื่อนไปจากเดิม (37, 38) โดยทั่ว ไป cognitive bias เป็นสิ่งที่เหมือนจะหลีกเลี่ยงไม่ได้จนกลายเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการคิด การให้เหตุผลและการตัดสินใจ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ผู้วิจัยต้องตระหนักและระมัดระวังไม่ให้อคติเหล่านั้นส่งผลกระทบต่อความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์และการแปลผลการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์ Cognitive bias ที่พบได้บ่อยและมักจะส่งผลต่อการการปฏิบัติงาน การแปลผลและการตัดสินใจของผู้วิจัย โดยการศึกษาในประเทศไทยยังมีน้อยอยู่ ทำให้ข้อมูลที่ทำมีความน่าเชื่อถือน้อย การศึกษาอาจมีอคติในการรับรู้ และผู้วิจัยอาจมี Cognitive bias ในการจำแนกของละอองเรณู เนื่องจากมีพื้นฐานความรู้ในด้านเรณูวิทยาไม่มากนัก โดยอาจมีการลำเอียงในการแยกชนิด รวมถึงไม่มีผู้เชี่ยวชาญด้านนิติเรณูในการชี้จำเพาะชนิดของละอองเรณู ผู้วิจัยได้จำแนกละอองเรณูโดยใช้รูปร่างลักษณะภายนอก ขนาดของละอองเรณู อ้างอิงข้อมูลจากลาวัลย์ รักสัตย์ ละอองเรณู เล่ม 1 (1)

การศึกษาการคงอยู่ของละอองเรณูบนผิวหนังของคนพบว่าละอองเรณูสามารถตรวจพบบนมือคน แม้จะผ่านการล้างมือด้วยสบู่แม้จะผ่านการล้างถึง 26 ครั้ง ด้วยเหตุผลนี้ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำความสะอาดเสื้อตัวอย่างด้วยการซักเสื้อตัวอย่างด้วยมือ (hand washing) เพื่อการกำจัดละอองเรณูรวมถึงสิ่งสกปรกบนเสื้อก่อนทำการเก็บตัวอย่างทุกครั้ง จากงานวิจัยของ Zavada S. Michael (39) พบว่าการซักเสื้อตัวอย่างด้วยมือมีประสิทธิภาพในการกำจัดละอองเรณูและสิ่งปนเปื้อนอื่นๆได้มากถึง 99.9% ดังนั้นผู้วิจัยเชื่อว่าเสื้อตัวอย่างที่ทดสอบที่ซักล้างด้วยมือในการศึกษานี้สามารถลดการปนเปื้อนของละอองเรณูจากสถานที่เก็บตัวอย่างจากการทำการเก็บตัวอย่างก่อนหน้านี้ได้ (40)

การศึกษาทางนิติเรณูวิทยามักใช้ประโยชน์เพื่อประกอบการระบุสถานที่เกิดเหตุที่เป็นพื้นที่กลางแจ้ง (outdoor) เท่านั้น อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้นิติเรณูวิทยาในพื้นที่ปิด (indoor) โดยมีงานวิจัยที่มุ่งศึกษาเกี่ยวกับการตรวจสอบละอองเรณูภายในตัวอาคาร ซึ่งละอองเรณูเหล่านั้นอาจจะเป็นประโยชน์ในการตรวจสอบทางนิติเวชศาสตร์ โดยผู้วิจัยได้ทำการจำลองลักษณะห้องแบบต่างๆ และนำดอกไม้สดสำหรับตกแต่งบ้านวางไว้ตามแต่ละจุดภายในห้อง โดยจากผลการศึกษาพบว่าละอองเรณูของดอกไม้เหล่านั้นมีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในห้อง แต่ระยะห่างของการกระจายตัวที่ชัดเจน และเมื่อผู้วิจัยนำดอกไม้ออกจากห้องก็ยังจะสามารถพบละอองเรณูของดอกไม้เหล่านั้นได้เป็นระยะเวลาหลายสัปดาห์ และจากการศึกษานี้สามารถนำมาปรับใช้กับทางนิติเรณูวิทยาได้ โดยผู้ทำการวิจัยได้กล่าวไว้ในงานวิจัยว่า มีความเป็นไปได้สูงที่ถ้าหากมีบุคคลภายนอกเข้ามาภายในห้องจะทำให้เสื้อผ้าของบุคคลนั้นได้รับละอองเรณูจากดอกไม้ประดับที่อยู่ภายในห้องนั้นติดไปด้วยโดยที่บุคคลนั้นอาจไม่ได้สัมผัสกับดอกไม้โดยตรง และระยะที่ละอองเรณูมีการกระจายตัวไปได้สูงมีรัศมีอยู่ที่ประมาณ 0.8 m จากแหล่งกำเนิดละอองเรณู นอกจากนี้ละอองเรณูยังสามารถพบได้หลาย

วันหรือหลายสัปดาห์หลังจากที่ดอกไม้ได้ถูกนำออกไปแล้ว อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้ระบุว่าควรมีการศึกษาในลักษณะเดียวกันนี้เพิ่มเติมเพื่อผลที่น่าเชื่อถือก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในการสืบสวนสอบสวนทางนิติศาสตร์ต่อไป (41) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่เป็นเพียงการศึกษากลางแจ้ง ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากขึ้นจึงควรมีการศึกษาละอองเรณูในที่ร่มเพิ่มเติมในอนาคต

ในการเก็บตัวอย่างควบคุมและการเก็บตัวอย่างละอองเรณูจากเสื้อในการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้ทำการทดลองย้อมละอองเรณูด้วยสี Safranin O พบว่าละอองเรณูที่พบบริเวณตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์นั้น สามารถมองเห็นได้ชัดเจนมากเพียงพอในการแยกชนิดละอองเรณู ซึ่งละอองเรณูพืชดอกบางชนิดจะมีละอองทั้งชนิดสดและแห้ง อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยจึงทำการทดลองเก็บตัวอย่างโดยไม่ได้มีการย้อมละอองเรณูด้วยสี Safranin O เพื่อช่วยในการแยกชนิดละอองเรณู แต่สามารถระบุชนิดของพืชเด่นบนตัวอย่างเสื้อได้ เนื่องจากมีการทำการศึกษาละอองเรณูกลุ่มควบคุมไว้ในพื้นที่ที่กว้างออกไปกว่าบริเวณที่เก็บบนเสื้อตัวอย่างเพื่อสามารถระบุชนิดได้อย่างถูกต้องยิ่งขึ้น

การเก็บตัวอย่างละอองเรณูบนแบบจำลองแนวตั้งและแนวราบ โดยแบบจำลองไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่เหมาะสมในการเก็บละอองเรณู ดังนั้นผู้วิจัยจึงใช้วิธีการลากเสื้อแบบจำลองแนวราบโดยลากไปตลอดเวลาในพื้นที่ที่กำหนดภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง สอดคล้องกับการเก็บตัวอย่างละอองเรณูที่ผ่านมาที่ให้อาสาสมัครเดินรอบบริเวณที่ต้องการเก็บตัวอย่างละอองเรณู 1 ชั่วโมง นอกจากนี้ในการศึกษาทางภาคใต้ของประเทศไทยมีการลากเสื้อจำลองโดยลากเสื้อไปด้วยพาหนะที่เป็นจักรยานยนต์รอบบริเวณที่ศึกษาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (18, 22, 35)

ในการศึกษาละอองเรณูโดยทั่วไปจะมีการล้างและทำการย้อมสีของละอองเรณู เพื่อที่จะสามารถทำให้มองเห็นลักษณะต่างๆ ของละอองเรณูได้ชัดเจน แต่ในการศึกษานี้ไม่ได้มีขั้นตอนที่จะนำละอองเรณูมาล้างและกำจัดสิ่งแปลกปลอม หากมีการศึกษาลักษณะเดียวกันในอนาคตควรมีขั้นตอนของการกำจัดสิ่งแปลกปลอม โดยนำเสื้อมาวางบนโต๊ะและทำการทุบด้วยไม้เพื่อให้ฝุ่นและสิ่งสกปรกหลุดออกมา โดยจะทำการรวบรวมฝุ่นเหล่านั้นไว้ใน 70% ethylalcohol หลังจากนั้นใช้ตะแกรงแบบตาข่ายละเอียดกรองแยกละอองเรณูออกมาใส่หลอดทดลอง เสร็จแล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ทำการดูด supernatant ทิ้งและเติมน้ำกลั่นเพื่อทำการล้าง เมื่อทำการล้างเสร็จให้ทำการเติม glacial acetic acid และทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลังจากนั้นจึงทำการเติม 48% hydrofluoric acid และทำการล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง เสร็จแล้วจึงเติม 36.5% hydrochloric acid แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นและล้างซ้ำด้วยสเปรย์ ethanol หลังจากนั้นจึงทำการย้อมด้วยสี Safranin O เมื่อเสร็จแล้วจึงเติม glycerin จากนั้นสามารถนำละอองเรณูไปเก็บไว้ได้ (9, 42)

ในศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผู้วิจัยได้ทำการการศึกษาเพิ่มเติมในการย้อมสีละอองเรณูด้วยสีธรรมชาติ โดยผู้วิจัยได้ทดลองการใช้สีจากเนื้อของแก้วมังกรสีแดง ในการย้อมสีละอองเรณูของดอกเข็มแดง พบว่าสีย้อมจากเนื้อสีแดงของแก้วมังกรสีแดงแบบเตรียมสดไม่สามารถย้อมเพื่อรูปร่างลักษณะของละอองเรณูได้ อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการย้อมสีแก้วมังกรเพื่อละอองเรณูด้วยวิธีการอื่นเพิ่มเติมเช่นการเตรียมสีด้วยสารสกัดเช่นเอธานอลและเตรียมสีจากน้ำให้อยู่ในรูปของผงเพื่อลดการรบกวนจากน้ำที่ทำให้เกิดการเจือจางของรงควัตถุจากสีที่ทำให้ประสิทธิภาพการย้อมลดลง (43)

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่าวิธีที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถนำมาใช้ในการเก็บตัวอย่างละอองเรณูคือ Wet scotch tape adhesion technique และจากการทดสอบการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สี Safranin O ในการย้อมละอองเรณูพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1:2 และ 1:4 โดยไม่ขึ้นอยู่กับเวลาที่ใช้ย้อม ส่วนในการทดลองใช้การเก็บตัวอย่างละอองเรณูจากแบบจำลองแนวตั้งและแนวราบ พบว่าหากไม่มีการเคลื่อนที่ของแบบจำลองจะทำให้ไม่พบละอองเรณู ในส่วนของข้อมูลพืชเด่นที่พบบริเวณรอบตึกที่ทำการคณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่ ดอกเข็ม ดอกพุดศุภโชค ต้นตีนตุ๊กแก ดอกเสลา และพืชเด่นที่พบละอองเรณูบนเสื้อตัวอย่างที่สามารถใช้เป็นข้อมูลทางนิติเรณูวิทยาของพื้นที่ที่ศึกษา ได้แก่ ดอกแก้ว ดอกเข็ม ต้นผักเสี้ยนผี ต้นเฟิร์นข้าหลวงหลังลาย เชื้อรา *Alternaria alternata*