

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการศึกษาวิจัย

1. แนวทางการศึกษาวิจัย

ศึกษาทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์โดยการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างพรรณไม้ มาศึกษาอย่างละเอียดทั้ง ราก ลำต้น ใบและดอก สำหรับการศึกษาทางวิภาคศาสตร์ของลำต้นและ ใบ ใช้วิธีการศึกษาเปรียบเทียบ 2 วิธีคือ การศึกษาโดยใช้กรรมวิธีลอกผิวและกรรมวิธีแบบ พาราฟิน

2. อุปกรณ์การศึกษา

2.1 อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างพรรณไม้

2.1.1 แวนชอย

2.1.2 ถุงพลาสติก

2.1.3 กระดาษแข็ง

2.1.4 กรรไกรตัดกิ่ง

2.1.5 กระดาษลูกฟูก

2.1.6 ขวดสำหรับดอง

2.1.7 สมุดบันทึกข้อมูล

2.1.8 กระดาษหนังสือพิมพ์

2.1.9 แฝงไม้สำหรับอัดตัวอย่างพืช และเชือก

2.1.10 กล้องถ่ายรูป ฟลิ้มสีและฟลิ้มสไลด์

2.1.11 เข็ม ค้ายสำหรับเข็บตัวอย่างพรรณไม้แห้ง กระดาษขาวและกระดาษสีน้ำตาล

2.2 อุปกรณ์การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 กล้องจุลทรรศน์

2.2.1 กล้องสเตอริโอ

2.2.3 เครื่องตัดไมโครทอม

2.2.4 เตาสำหรับอบพาราฟิน

2.2.5 ค้อนและเอกสารต่างๆ

2.2.6 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการลอกผิวใบและกรรมวิธีแบบพาราฟิน

3. วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย

3.1 ศึกษาและเก็บข้อมูลจากตัวอย่างพรรณไม้แห้งที่เก็บอยู่ในพิพิธภัณฑ์ระดับนานาชาติในประเทศไทย

3.2 ศึกษาสภาพป่า ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในอุทยานแห่งชาติภูพาน

3.3 ตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชและลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของลำต้นและใบดังนี้

3.3.1 การศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาโดยการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างพรรณไม้มาศึกษาอย่างละเอียดทั้ง ราก ลำต้น ใบและดอก เก็บตัวอย่างชนิดละ 3-4 ชิ้น ส่วนของดอกที่บอบบางใช้กระดาษไขรองหุ้มไว้และดองใน FAA 70% (formalin-acetic acid-al. 70%) บันทึกลักษณะพืช วัน เวลาและสถานที่ ตัวอย่างพรรณไม้ที่เก็บได้ นำมาอัดลงในแผ่นไม้ อบหรือผึ่งแดดให้แห้ง เย็บติดกระดาษแข็ง บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะพืช เก็บตัวอย่างพรรณไม้แห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.3.2 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของลำต้นและใบใช้วิธีการศึกษาเปรียบเทียบ 2 วิธีคือ

3.3.2.1 การศึกษากรรมวิธีดัดผิว นำส่วนของแผ่นใบ ก้านใบและลำต้น มาชุบผิวแผ่นใบชุบด้านบนและด้านล่าง ก้านใบชุบด้านที่ติดกับลำต้น ส่วนลำต้นลอกเฉพาะผิวของลำต้น โดยชุบแต่ละส่วนให้บางที่สุด ล้างน้ำให้สะอาด ย้อมด้วยสีซาฟรานิน (safranin) 1% ในน้ำประมาณ 1-5 นาที นำไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์คือ นำไปแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 15% 30% 50% 70% 95% แอลกอฮอล์บริสุทธิ์และแอลกอฮอล์บริสุทธิ์กับไซลีน อัตราส่วน 1:1 และไซลีนตามลำดับ ขึ้นคอนตะประมาณ 15 นาที นำชิ้นตัวอย่างไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสไลด์ด้วย DPXและบันทึกผล

3.3.2.2 การศึกษากรรมวิธีแบบพาราฟิน โดยการรักษาเซลล์ของชิ้นตัวอย่างด้วย FAA 70% นำไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ ด้วยการแช่ในแอลกอฮอล์ 50% ครั้งละประมาณ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง แช่ใน TBA (Tertiary butyl alcohol) เกรด 1, 2 และ 3 ครั้งละประมาณ 24 ชั่วโมง TBA เกรด 4, 5 และ TBAกับ paraffin oil ครั้งละ 3 ชั่วโมง แช่ในพาราฟิน 24 ชั่วโมง ผิงชิ้นตัวอย่างในพาราฟินบริสุทธิ์ คัดชิ้นตัวอย่างด้วยไมโครทอม (microtome) ให้มีความหนาประมาณ 10-15 ไมโครเมตร นำไปย้อมสีซาฟรานิน 1%ในแอลกอฮอล์ ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95% กับกรดพิคริก (picric acid) แอลกอฮอล์ 95%กับสารละลายแอมโมเนียและแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ย้อมด้วยสีฟาสกรีน (fast green) ล้างสีด้วยโคลฟอยล์ (clove oil) แอลกอฮอล์ 100% และไซลีน

ในอัตราส่วน 50:25:25 ไซลีนกับแอลกอฮอล์ 100% อัตราส่วน 1:1 และแช่ในไซลีนตามลำดับ (อัจฉรา, 2538) นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผกึ่กสไลด์ด้วย DPXและบันทึกผล

3.4 บรรยายลักษณะพืชตามหลักการทางอนุกรมวิธาน และลักษณะภูมิประเทศที่พบพืชวงศ์ผักปราบ

4. ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของพืชวงศ์ผักปราบทุกชนิดที่พบในอุทยานแห่งชาติภูพาน โดยการตรวจสอบลักษณะพืชอย่างละเอียด และใช้วิธีการศึกษาเปรียบเทียบทางกายวิภาคศาสตร์ของลำต้น ใบ ด้วยการลอกผิวและกรรมวิธีแบบพาราฟิน เพื่อใช้ตรวจสอบโครงสร้างภายในเซลล์

5. สถานที่ทำการวิจัย

5.1 อุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดสกลนคร

5.2 ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

6. แผนการดำเนินการเกี่ยวกับกิจกรรมและระยะเวลาทำการวิจัย

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย ตั้งแต่ วันที่ 1 ตุลาคม 2539 ถึงวันที่ 1 มีนาคม 2541