

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

**3.1 การศึกษาความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไลเคนส์ ที่บ่งชี้ความสมบูรณ์ของป่า ในพื้นที่ป่า
เมี่ยง พระบาทสี่รอย**

เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการศึกษาไลเคน

3.1.1 สายวัดความยาว 150 เซนติเมตร

3.1.2 เครื่องวัดพิกัดและตำแหน่ง (Global Positioning System ; GPS) ยี่ห้อ GARMIN รุ่น
Oregon 750

3.1.3 กล้องถ่ายรูป

3.1.4 ตลับเมตร

3.1.5 เชือก

3.1.6 ดินสอ ปากกา สมุดจดบันทึก

3.2 แหล่งข้อมูลที่ใช้ระบุสกุลไลเคน

3.2.1 Guide to the Family of Lichens. 100 Lichens from Thailand: a tutorial for
students. (Nimis et al, 2017)

3.2.2 คู่มือการจำแนกสกุลไลเคน ความหลากหลายของไลเคนในเขตบริการและเขตนันทนาการอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาอนุรักษ์อุทยาน
แห่งชาติ จังหวัดเชียงใหม่, 2559)

3.2.3 คู่มือการจำแนกสกุลไลเคน ไลเคนในหุบเขาลำพญา (ศูนย์วิจัยความหลากหลายทาง
ชีวภาพ เฉลิมพระเกียรติ, 2558)

3.2.4 คู่มือการจำแนกชนิดของไลเคน นักสำรวจธรรมชาติกระเป่าไลเคนในอุทยานแห่งชาติ
เขาใหญ่ (หน่วยวิจัยไลเคน, 2556)

3.2.5 คู่มือการจำแนกสกุลไลเคน กุญแจสำคัญในการปลูกไลเคนปักเป้าของภาคเหนือ
(มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2555)

3.2.6 เว็บไซต์รูปภาพไลเคนและสกุลไลเคน (ไลเคนเด่นในประเทศไทย, หน่วยวิจัยไลเคน)

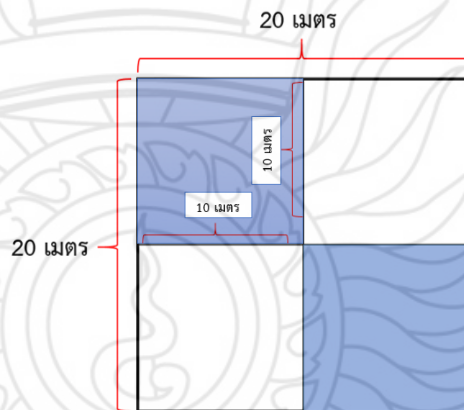
<http://www.lichen.ru.ac.th/index.php/lichen>

3.3 วิธีดำเนินการวิจัยในการเก็บตัวอย่างไลเคนส์

ศึกษาหนังสือ เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับไลเคนส์ สํารวจและศึกษาพื้นที่บริเวณป่าชุมชนพระพุทธรบาทสี่รอย อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่

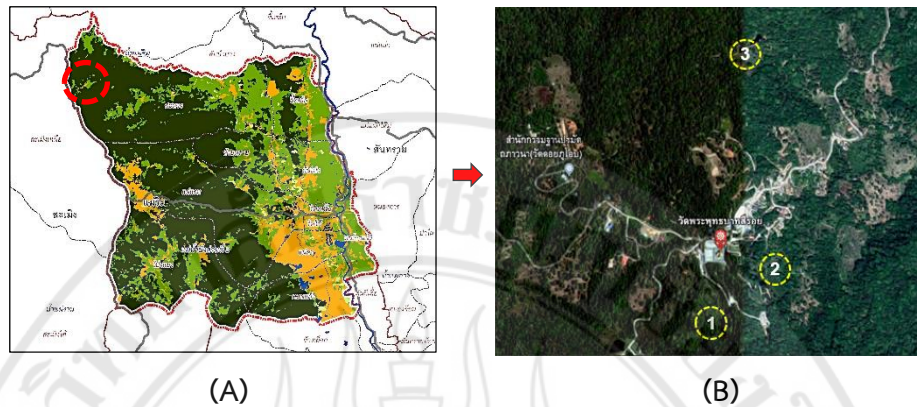
3.4 การกำหนดพื้นที่การศึกษา

ศึกษาบริเวณป่าชุมชนพระพุทธรบาทสี่รอย อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยเลือกพื้นที่ในการสำรวจป่าชุมชน 3 แห่ง โดยแต่ละบริเวณจะมีการวัดขนาดของพื้นที่ 20 x 20 ตารางเมตร แล้วมีการแบ่งออกเป็น 4 ส่วนให้เท่ากัน จากนั้นเลือกทำการสำรวจ 2 ส่วน 10 x 10 ตารางเมตร และทำการบันทึกข้อมูลต้นไม้ทุกต้นที่มีอยู่ในแปลงนั้น (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 การกำหนดพื้นที่สำรวจ

3.4.1 การเลือกพื้นที่ 3 บริเวณที่ศึกษาป่าชุมชนพระพุทธรบาทสี่รอย อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่ มีความสูงจากระดับน้ำประมาณ 1,100 เมตร พื้นที่เป็นลักษณะป่าดิบเขา อุณหภูมิต่ำกว่าบริเวณอื่นของ ตำบลสะลวง ในการศึกษาได้คัดเลือกพื้นที่ 3 บริเวณ คือ บริเวณที่ 1 ละติจูด 19.015241 ลองจิจูด 98.762189 บริเวณที่ 2 ละติจูด 19.023275 ลองจิจูด 98.763258 และบริเวณที่ 3 ละติจูด 19.015739 ลองจิจูด 98.764205 (ภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 แผนที่แสดงตำแหน่ง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

A. แผนที่แสดงตำแหน่ง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

ที่มา : <http://gis.chiangmai.go.th/อำเภอแมริม>

B. แผนที่ดาวเทียมแสดงตำแหน่งป่าชุมชนพระพุทธรบาทสี่รอย อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

ที่มา : <https://www.google.co.th/maps/place/วัดพระพุทธรบาทสี่รอย>

3.4.2 การคัดเลือกต้นไม้

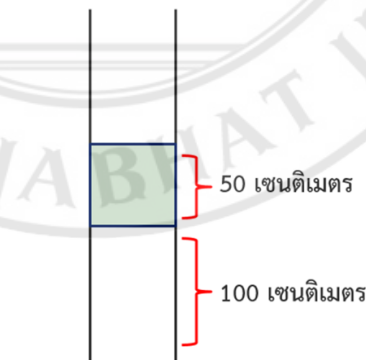
สำรวจต้นไม้ทุกต้นในบริเวณที่กำหนด ยกเว้นต้นเมี่ยง

3.4.3 การสำรวจสกุลไม้

การสำรวจสกุลไม้บนต้นไม้แบ่งเป็น 4 ขั้นตอนดังนี้

1) นำสายวัด วัดต้นไม้จากพื้นดินขึ้นไปยังลำต้นจนถึง 100 เซนติเมตร แล้วนำเชือกผูกกับต้นไม้เพื่อทำสัญลักษณ์ไว้ ณ จุด 100 เซนติเมตร

2) นำสายวัด วัดต่อจากเชือกที่ทำสัญลักษณ์ไว้ ขึ้นไปอีก 50 เซนติเมตร แล้วนำเชือกผูกกับต้นไม้ (ภาพที่ 3.3)



ภาพที่ 3.3 การกำหนดพื้นที่สำรวจบนต้นไม้

3) บันทึกภาพลำต้นและบริเวณของต้นไม้ก่อน เพื่อไม่เป็นการสับสนในการบันทึกภาพต้นไม้ต้นต่อไป ต่อมาบันทึกภาพไลเคนบริเวณรอบต้นไม้ที่มีการกำหนดไว้ 50 เซนติเมตร

3.4.4 การเก็บข้อมูลปัจจัยสิ่งแวดล้อม

- 1) เส้นรอบวงของต้นไม้ที่ระดับความสูง 100 เซนติเมตร จากพื้นดิน
- 2) ลักษณะเปลือกไม้ (ผิวเรียบ หรือ ขรุขระ)
- 3) การรับแสง (ทึบแสง หรือ ไม่ทึบแสง)

3.5 การจำแนกสกุลของไลเคน

3.5.1 คัดแยกกลุ่มไลเคนจากรูปแบบการเติบโต

แยกโดยใช้รูปแบบการเติบโต (growth form) โดยทั่วไป ไลเคนแบ่งรูปแบบการเติบโตเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มครัสโตส (crustose), กลุ่มโฟลิโอส (foliose) และกลุ่มฟรุติโคส (fruticose)

3.5.2 คัดแยกกลุ่มไลเคนจากโครงสร้างสืบพันธุ์

- 1) โครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproductive structure)
 - แอโพเทียแบบจาน (disc-like apothecia)
 - แอโพเทียแบบริมฝีปากหรือลายเส้น (lirellate apothecia)
 - เพอริเทีย (perithecia)
- 2) โครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproductive structure)
 - ซอริเดีย (soredia)
 - ไอซิดีย (isidia)

3.5.3 วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอก

- 1) สีและลักษณะของเทลลัส
- 2) ขนาดและลักษณะของโลบ
- 3) มีขน (cilia) ที่ขอบโลบ หรือไม่มี
- 4) มี rhizine หรือ holdfast หรือไม่มี

3.6 การศึกษาความหลากหลายของชนิดพันธุ์สาหร่าย และแมลงน้ำที่บ่งชี้ความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำไหล ที่บ่งชี้ความสมบูรณ์ของป่า ในพื้นที่ป่าเมี่ยง พระบาทสีร้อย

3.6.1 การกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

กำหนดจุดเก็บตัวอย่างระบบนิเวศน้ำไหลในบริเวณพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสีร้อย ตำบลสะลวง อ.แม่อรม จ.เชียงใหม่ ซึ่งเก็บตัวอย่างในห้วยบ้านท่าแม้ว โดยทำการกำหนดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 4 จุด โดยเก็บตัวอย่างในเดือนมิถุนายนและพฤศจิกายน 2561 รายละเอียดเกี่ยวกับจุดเก็บตัวอย่าง แสดงในภาพที่ 3.4 และตารางที่ 1



ภาพที่ 3.4 ภาพถ่ายทางอากาศจุดเก็บตัวอย่างระบบนิเวศน้ำไหลในบริเวณพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสีร้อย ตำบลสะลวง อ.แม่อรม จ.เชียงใหม่



ภาพที่ 3.5 ภาพถ่ายจุดเก็บตัวอย่างห้วยบ้านท่าแม่ 4 จุด บริเวณพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสี่รอย ตำบลสะलग อ.แม่อริม จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 3.1 พิกัดของจุดเก็บตัวอย่างในบริเวณพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสี่รอย ตำบลสะलग อ.แม่อริม จ.เชียงใหม่

จุดเก็บตัวอย่าง	ละติจูดและลองจิจูด	ความสูงจากระดับน้ำทะเล (m asl)
จุดเก็บตัวอย่างที่ 1	N 19°01'38.06" E 98°45'23.33"	1175
จุดเก็บตัวอย่างที่ 2	N 19°01'40.40" E 98°45'25.28"	1173
จุดเก็บตัวอย่างที่ 3	N 19°01'11.67" E 98°45'28.03"	1032
จุดเก็บตัวอย่างที่ 4	N 19°01'3.86" E 98°45'48.15"	1020

3.6.2 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี

- 1) อุณหภูมิของน้ำและอากาศ (Water and Air temperature) ใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิของน้ำและอากาศ หน่วยเป็นองศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
- 2) อัตราความเร็วของกระแสน้ำ (Velocity) โดยใช้ Velocity meter
- 3) วัดค่าความขุ่นของน้ำ โดยใช้เครื่อง Colorimeter รุ่น DR890 หน่วยเป็น FAU (Formazin Attenuation Unit)
- 4) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง Multi-parameter analyzer
- 5) ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) โดยใช้เครื่อง Conductivity Meter มีหน่วยเป็นไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
- 6) วัดปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen: DO) และปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายอินทรีย์สารที่มีอยู่ในน้ำ (Biochemical Oxygen Demand: BOD) โดยใช้วิธี Azide Modification of iodometric Method
- 7) วัดปริมาณสารอาหาร โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาปริมาตร 1 ลิตร แล้วทำการวิเคราะห์สารอาหารในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-Nitrogen) โดยวิธี Cadmium reduction แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (Ammonium-Nitrogen) โดยวิธี Nesslerization และออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) โดยวิธี Ascorbic acid โดยใช้อุปกรณ์และสารเคมีเฉพาะกับเครื่อง Spectrophotometer (รุ่น DR 890 Colorimeter ของบริษัท HACH)

3.6.3 การศึกษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต

การเก็บตัวอย่างและการวินิจฉัยชนิดไดอะตอมพื้นท้องน้ำ

- 1) ไดอะตอมพื้นท้องน้ำ (Renberg, 1990; Vilbaste, 1994; Kelly et al., 1998)
เก็บตัวอย่างไดอะตอมโดยเลือกเก็บตัวอย่างไดอะตอมชนิดที่เกาะอยู่บนสิ่งยึดเกาะ (substrate) ซึ่งอาจจะเป็นก้อนหิน กิ่งไม้หรือพืชน้ำที่มีเมือกกลื่นสีน้ำตาลเข้มหรือมีสีดำ ใช้แผ่นพลาสติกเจาะรูเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 3x3 เซนติเมตรหรือประมาณ 10 ตารางเซนติเมตร วางทาบไปที่ผิวหน้าของตัวอย่าง ปิดตัวอย่างไดอะตอมที่ติดบนสิ่งยึดเกาะเหล่านั้นในช่องสี่เหลี่ยมจัตุรัสที่เจาะไว้ด้วยแปรงสีฟันใหม่ลงในขันจากนั้นเทตัวอย่างที่ปิดได้ใส่ลงในกระป๋องพลาสติก หลังจากปิดแล้วจะเห็นพื้นที่ที่ปิดตัวอย่างออกไป จากนั้นในห้องปฏิบัติการนำตัวอย่างมาปั่นเพื่อแยกเอาตะกอนหนักพวกกรวด หทราย และอนุภาคที่ปะปนมาออกด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วรอบ 2500 รอบ/นาทีเป็น

เวลา 15 นาที หลังจากนั้นดูดเอาส่วนสีน้ำตาลที่อยู่ระหว่างส่วนใสด้านบน (supernatant) และตะกอนหนักออกมาซึ่งจะประกอบด้วยเซลล์ของ ไดอะตอมจำนวนมาก นำไปใส่บีกเกอร์ขนาด 50 ml. นำตัวอย่างที่ได้มาต้มกับ conc.Nitric acid หรือ conc.Hydrochloric acid บนเตาความร้อน เพื่อขจัดเอาสารอินทรีย์ออก ที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C เป็นเวลา 15 นาที หรืออาจต้มกับ Hydrogenperoxide เข้มข้น 30 % หลังจากครบเวลาอาจเติม Potassiumpermanganate หรือ Potassiumdichromate ในปริมาณเล็กน้อยลงไปด้วย แล้วต้มต่อไปพอเดือดเป็นเวลาประมาณ 5 นาที หรือในกรณีที่เติม Potassiumdichromate ให้สังเกตสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าสารอินทรีย์ถูกกำจัดออกหมดแล้ว จากนั้นนำตัวอย่างที่ทำการกำจัดสารอินทรีย์ออกหมดแล้วมาล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อแยกกรดและ oxidizing agent ออกโดยปั่นที่ 2500-3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ทำการล้างตัวอย่าง 3-5 ครั้ง จนตัวอย่างมี pH เป็นกลาง จากนั้นเตรียมสไลด์ถาวร โดยหยดตัวอย่างที่ได้จากการทำความสะอาดบนกระจกปิดสไลด์ ทำให้แห้งอย่างช้าๆ บนเตาความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 60 °C ใช้ Naphrax เป็น mounting agent โดยหยดลงบนกระจกปิดสไลด์ รอจน mounting agent เริ่มเดือดแล้วคว่ำกระจกปิดสไลด์ลงบนสไลด์ กดเบาๆ ด้วยคีมคีบเพื่อไล่ฟองอากาศ นำสไลด์ไปวางลงบนเตาความร้อนอีกครั้งจน mounting agent เดือดสัก 2-3 วินาทีเพื่อไล่ toluene ซึ่งเป็นตัวทำละลายออกให้หมดแล้วนำสไลด์ออกมาวางจนเย็นจากนั้นติดกระดาษ label และนำไปนับจำนวนในแต่ละชนิดที่พบเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคำนวณหาค่าดัชนีความหลากหลายต่อไป

2) การวินิจฉัยชนิดไดอะตอมพื้นท้องน้ำ

นำตัวอย่างสาหร่ายทั้งสาหร่ายขนาดใหญ่และไดอะตอม มาทำการวินิจฉัยชนิดจนถึงระดับจีนัสหรือ สปีชีส์ โดยใช้เอกสารที่เกี่ยวข้องในประเทศได้แก่ ยุวดี (2549; 2556) และเอกสารต่างประเทศ ได้แก่ Krammer and Lange-Bertalot (1986, 1988, 1991a,b), Lange-Bertalot (2001), Kelly and Haworth (2002), Kumano (2002), Taylor et al. (2007), Ahn (2012) และ Wehr et al. (2015) ถ่ายรูปตัวอย่างสาหร่ายจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบในกำลังขยายต่างๆ

3.6.4 การเก็บตัวอย่างและการวินิจฉัยชนิดแมลงน้ำ

1) เก็บตัวอย่างแมลงน้ำ โดยใช้วิธี Sweep sampling ใช้สวิงน้ำที่มีความกว้างของปากสวิงประมาณ 50 เซนติเมตร นำสวิงกวาดแกว่งไปบริเวณโคนกอหญ้าใต้น้ำหรือภายใต้รากของพืช

ริมฝั่ง การทำในแต่ละตำแหน่งใช้เวลา 3 นาที โดยแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างจะทำการเก็บฝิ่งซ้ายและฝิ่งขวาของแม่น้ำ แต่ละฝิ่งจะทำการเก็บตัวอย่างฝิ่งอีกละ 3 จุด (3 ซ้ำ) ระยะห่างแต่ละจุด 3 เมตร รวมทั้งหมด 6 จุดต่อจุดเก็บตัวอย่างหนึ่งจุด

2) ทำการแยกแอมलगน้ำออกจาก เศษใบไม้ เศษขยะ หรือเศษก้อนหินขนาดใหญ่ออก นำตัวอย่างจากสวิงใส่ลงในถุงพลาสติก และเติมสารละลาย Formaldehyde 10% ลงในถุงพลาสติก เพื่อใช้เป็นตัวรักษาสภาพของตัวอย่างแอมलगน้ำที่จะนำไปศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

3) นำตัวอย่างแอมलगน้ำที่ได้มาล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อเจือจางกลิ่นของฟอร์มาลินให้หมดแล้วทำการแยกแอมलगน้ำออกจาก กรวด โคลน ใบไม้ เศษก้อนหินต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo microscope) เพื่อความละเอียดในการแยกแอมलगน้ำออกมา เพราะแอมलगน้ำบางชนิดอาจจะเล็กมากจนมองด้วยตาเปล่าได้ไม่ชัดเจน ทำให้ไม่สามารถแยกเอาตัวสัตว์ออกจากเศษกรวด หรือเศษอินทรีย์ต่างๆ ได้

4) นำแอมलगน้ำที่แยกเศษใบไม้ สิ่งปฏิกูลต่างๆ มาทำการรักษาสภาพในขวดพลาสติกด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 80% โดยทำการแยกเป็นแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง

5) นำตัวอย่างแอมलगน้ำมาจัดจำแนกถึงระดับวงศ์ (Family) โดยใช้การอ้างอิงจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ McCafferty (1983), Merritt and Cummins (2009), Stehr (1991), Dudgeon (1992), Wiggins (1996) and Sangpradub and Boonsoong (2006) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo microscope) และถ่ายรูปตัวอย่างแอมलगน้ำที่ร่างกายครบสมบูรณ์เก็บไว้

6) นำตัวอย่างแอมलगน้ำที่ได้รับการจัดจำแนกแล้วใส่ลงในขวดเก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งระบุอันดับ (Order) ระดับวงศ์ (Family) สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่เก็บตัวอย่างนั้น และนับจำนวนตัวของแต่ละชนิด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคำนวณค่าดัชนีความหลากหลายต่อไป

3.7 การศึกษาความหลากหลายของชนิดพันธุ์ของแพลงก์ตอน ที่บ่งชี้ความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำนิ่ง ในพื้นที่ป่าเมี่ยง พระบาทสร้อย

3.7.1 กำหนดจุดเก็บตัวอย่างในการเก็บตัวอย่างน้ำในพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสร้อยตำบลสะลง อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่ แหล่งน้ำนิ่ง PB1 เป็นแหล่งเก็บขนาดใหญ่ที่สุดเมื่อเทียบกับ PB2 และ PB3 ลักษณะแหล่งน้ำอยู่บริเวณหุบเขา ริมฝั่งน้ำมีต้นไม้ปกคลุมหนาแน่นรอบแหล่งเก็บน้ำ แหล่ง

น้ำนิ่ง PB2 เป็นแหล่งน้ำขนาดกลางเมื่อเทียบกับแหล่งน้ำ PB1 และ PB3 ลักษณะทั่วไปของแหล่งน้ำตั้งอยู่ที่ราบลุ่มระหว่างเขตพื้นที่ป่าไม้กับชุมชน บริเวณขอบริมฝั่งแหล่งเก็บน้ำฝั่งหนึ่งจะมีต้นไม้ขึ้นหนาแน่น ส่วนอีกฝั่งจะเป็นพื้นที่โล่งติดกับเส้นทางที่ชาวบ้านใช้สัญจรไปมาและแหล่งน้ำนิ่ง PB3 เป็นแหล่งน้ำขนาดเล็กที่สุดเมื่อเทียบกับแหล่งน้ำ PB1 และ PB2 ลักษณะทั่วไปของแหล่งน้ำตั้งอยู่ที่ลุ่มเชิงเขา ริมฝั่งด้านหนึ่งติดกับเนินเขา อีกด้านหนึ่งติดกับสวนของชาวบ้าน ดังภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.6 จุดเก็บตัวอย่าง แหล่งน้ำนิ่งในพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสร้อย ตำบลสะลวง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ (ที่มา: Google Earth Pro, 2019)

ตารางที่ 3.2 จุดเก็บตัวอย่างน้ำ และตำแหน่งที่ตั้งของจุดเก็บ ที่ได้ทำการศึกษา

แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำ	จุดเก็บน้ำ	ตำแหน่งเครื่องหมายจุดเก็บตัวอย่างน้ำ	
		Latitude(N)	Longitude(E)
PB1	1	19 ° 02.86.81"	98 ° 75.58.24"
	2	19 ° 02.92.58"	98 ° 75.59.06"
	3	19 ° 02.91.01"	98 ° 75.62.31"
PB2	1	19 ° 02.09.15"	98 ° 76.25.84"
	2	19 ° 02.10.28"	98 ° 76.23.87"

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำ	จุดเก็บน้ำ	ตำแหน่งเครื่องหมายจุดเก็บตัวอย่างน้ำ	
	3	19 ° 02.11.16"	98 ° 76.25.73"
PB3	1	19 ° 02.37.80"	98 ° 76.34.53"
	2	19 ° 02.38.94"	98 ° 76.36.50"
	3	19 ° 02.40.04"	98 ° 76.38.09"

3.7.2 ศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านชีวภาพ

1) ศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านชีวภาพ ณ จุดเก็บตัวอย่างแต่ละจุดเก็บ

การเก็บแพลงก์ตอนพืช ณ จุดเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช โดยตักน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่างโดยทำการเก็บแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด 3 แหล่งน้ำ แหล่งน้ำละ 3 จุดเก็บ กรองน้ำปริมาตร 30 ลิตรจาก 3 จุดเก็บจุดเก็บละ 10 ลิตรของแต่ละแหล่งน้ำ กรองผ่านถุงตาข่าย กรองแพลงก์ตอน (Plankton net) ขนาดความถี่ 10 μm นำแพลงก์ตอนพืชที่ได้จากการกรองผ่าน Plankton net ขนาดความถี่ 10 μm ใส่ในขวดแก้วสีชาแล้วการรักษาแล้วเก็บรักษาสภาพเซลล์ด้วย Lugol's solution 0.3 - 0.7 ml (2-3 หยด) เก็บตัวอย่างน้ำไว้ในที่มืด และที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) โดยทำการเก็บไว้ในถังน้ำแข็งเพื่อนำไปจำแนกชนิดและนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการต่อไป

การเก็บ Coliform bacteria ณ จุดเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำที่ระดับความลึกจากผิวน้ำลงไป 30 เซนติเมตรโดยใช้ขวดแก้วที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจากเครื่อง Autoclave แล้วทำการเปิด - ปิดได้น้ำแล้วใช้พาราฟิล์มพันปิดฝาขวด ปริมาตรของตัวอย่างปริมาณของตัวอย่างน้ำที่เก็บ เพื่อทำการตรวจสอบทางแบคทีเรีย ไม่ควรน้อยกว่า 100 มิลลิลิตร และไม่ควรเก็บตัวอย่างน้ำจนเต็มขวดเก็บตัวอย่าง แต่ให้เหลือที่ว่างไว้ประมาณ 2.5 เซนติเมตร เพื่อความสะดวกในการเขย่าตัวอย่างน้ำก่อนทำการวิเคราะห์ เก็บตัวอย่างน้ำไว้ในที่มืด และที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) โดยทำการเก็บไว้ในถังน้ำแข็งเพื่อตรวจ Coliform bacteria ในตัวอย่างน้ำในห้องปฏิบัติการต่อไป

2) การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านชีวภาพในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ ตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ของแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound microscope) ที่กำลังขยาย

400 เท่า จำแนกชนิดและนับจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่พบ โดยใช้เอกสารประกอบที่ใช้ในการตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ของแพลงก์ตอนพืช ได้แก่ เช่น แพลงก์ตอนพืช (ลัดดา, 2542), สหราชอาณาจักร (ยูวดี, 2549), Freshwater Algae of North America (JOHN D. WEHR) และเว็บไซต์ <http://www.algaebase.org> ทำการวิเคราะห์หาความอุดมสมบูรณ์ของแพลงก์ตอนพืช โดยนับจำนวนแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดที่พบทั้งหมดได้กล้องจุลทรรศน์ โดยทำการนับจำนวนแพลงก์ตอนพืชตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาจำนวนตัวของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในน้ำ 1 ลิตร ทำการตรวจสอบแบบที่เรียกกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดด้วยเทคนิค (Multiple Tube Fermentation Technique)

3.8 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางชีวภาพ และการกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตกับพื้นที่พระบาทสรอย

3.8.1 การวิเคราะห์ผลการวิจัย การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติพรรณนา เพื่ออธิบายข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและความหลากหลายแพลงก์ตอนพืชของแหล่งน้ำนิ่งในพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสรอย ตำบลสะลง อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่โดยค่าการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติดังนี้

1) AARL-PC SCORE (Applied Algal Research Laboratory) (Peerapornpisal et al., 2007) เป็นการวิเคราะห์คะแนนจากคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมี โดยดัชนีชี้วัดที่ใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำ ได้แก่ ค่า DO ค่า BOD ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณไนโตรเจนในโตรเจน ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน และปริมาณออร์โธฟอสเฟต

2) AARL-PP Score (Peerapornpisal et al., 2007) เป็นการประเมินคุณภาพน้ำในระบบนิเวศน้ำนิ่งโดยใช้ลำดับคะแนนอย่าง เพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำนิ่งต่างๆ (Peerapornpisal et al., 2007)

3) การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง (Two Way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เป็นวิธีการเปรียบเทียบดัชนีชี้วัด เช่น ค่าเฉลี่ย (μ) ค่าความแปรปรวน (σ^2) ของกลุ่มประชากรตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป

4) % relative abundance (Krobket, 1999) เพื่อหาความชุกชุมสัมพัทธ์ (relative abundance) จากสูตร

$$\text{ความชุกชุมสัมพัทธ์ (relative abundance)} = \frac{\text{ชนิดที่พบ} \times 100}{\text{จำนวนแพลงก์ตอนพืชที่พบทั้งหมด}}$$

3.8.2 ดัชนีความหลากหลาย (Diversity Index) ใช้ในการบ่งชี้ระดับความหลากหลายของไลเคนที่พบในพื้นที่ศึกษา โดยใช้สูตรของ Shannon-Wiener Diversity Index ดังนี้

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i (\ln p_i)$$

H' คือ ดัชนีความหลากหลายของสกุล

P_i คือ สัดส่วนความหนาแน่นของสกุล

n คือ จำนวนสกุลของไลเคนที่พบทั้งหมด

3.8.3 ดัชนีความสม่ำเสมอ (Evenness Index) ใช้บ่งชี้การกระจายตัวของสกุลไลเคน และปริมาณไลเคนที่มีบริเวณสำรวจแตกต่างกัน ใช้วิธีของ Pielou's evenness index ดังนี้

$$J' = \frac{H'}{\ln S}$$

J' คือ ดัชนีความสม่ำเสมอ

H' คือ ดัชนีความหลากหลายของสกุล

S คือ จำนวนสกุลของไลเคนที่พบในบริเวณสำรวจนั้น

3.8.4 ดัชนีความชุกชุม (Richness Index) เป็นค่าที่พิจารณาจากจำนวนสกุลทั้งหมดของไลเคนที่พบ ส่วนใหญ่สกุลของไลเคนมักขึ้นอยู่กับขนาดของตัวอย่างที่เก็บในการสำรวจ ถ้าเก็บตัวอย่างมากก็มักจะพบจำนวนสกุลมาก ใช้วิธีของ Margalef's index ดังนี้

$$R = \frac{(S - 1)}{\ln N}$$

R คือ ค่าดัชนีมาร์กาเลฟ

S คือ จำนวนสกุลของไลเคนที่พบในบริเวณสำรวจนั้น

N คือ จำนวนสกุลไลเคนที่พบทั้งหมด

3.8.5 วิเคราะห์การถดถอย (Regression analysis) การนำข้อมูลเส้นรอบวงของต้นไม้ มาทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับจำนวนแทลล์ของไลเคน ในพื้นที่ที่สำรวจทั้งหมด