

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายของเทอริโดไฟต์ การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในเฟิร์นและดินในอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว โดยทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549

#### พื้นที่ศึกษา

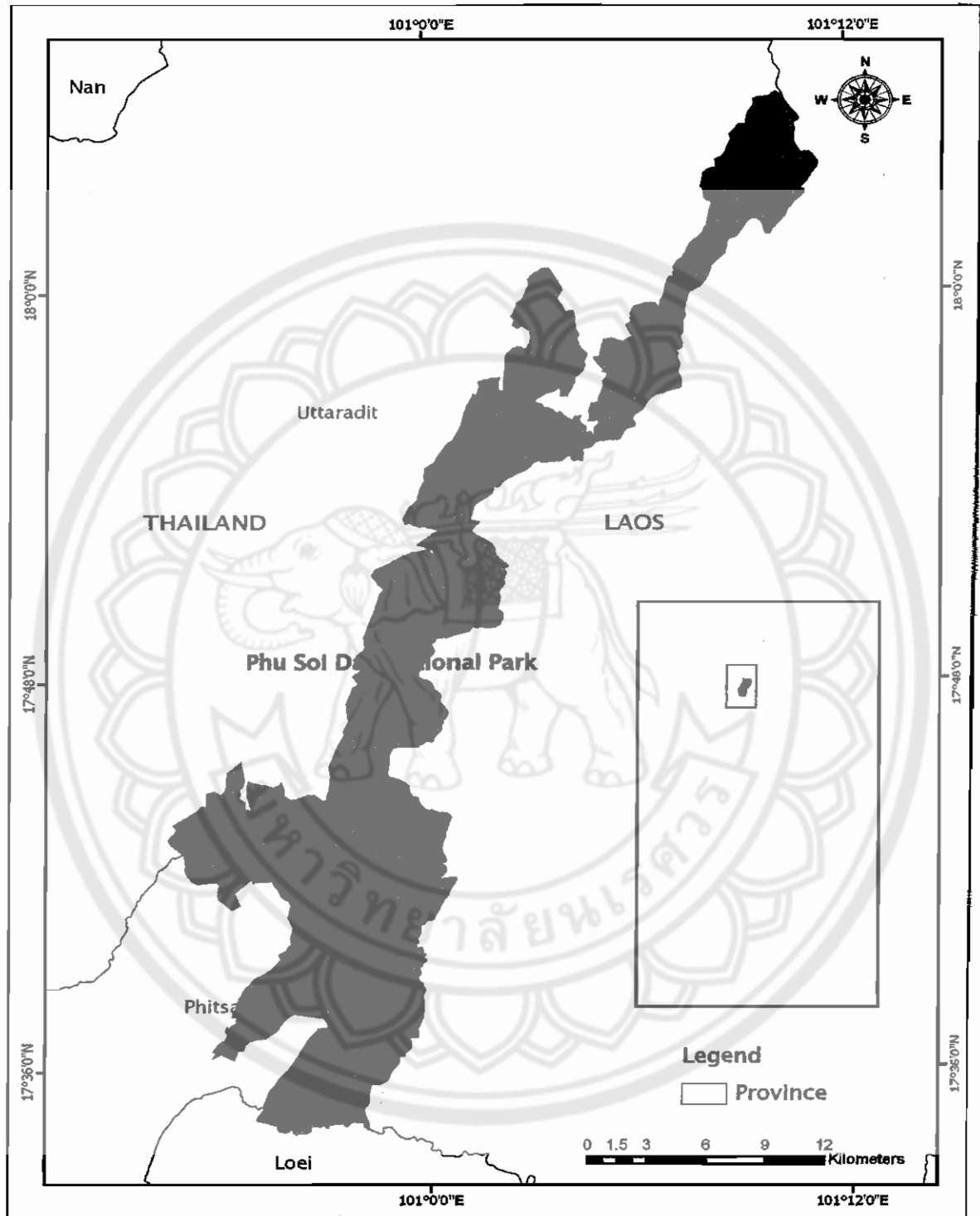
อุทยานแห่งชาติภูสอยดาว มีพื้นที่ครอบคลุมอยู่ในท้องที่ป่าสงวนแห่งชาติป่าน้ำปาด ท้องที่ตำบลม่วงเจ็ดต้น ตำบลนาขุม ตำบลบ้านโคก อำเภอบ้านโคก อำเภอห้วยมุ่น อำเภอน้ำปาด จังหวัดอุดรธานี ตำบลปอภาค อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก ตั้งอยู่ระหว่างละติจูด  $17^{\circ} 41' N$  ถึง  $18^{\circ} 04' N$  และอยู่ระหว่างลองจิจูด  $100^{\circ} 56' E$  ถึง  $101^{\circ} 09' E$  มีความสูงจากระดับน้ำทะเล ตั้งแต่ 500 - 2,102 เมตร ครอบคลุมพื้นที่ 149,375 ไร่ ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ภูเขาและป่าไม้ประมาณร้อยละ 85 เป็นพื้นที่ราบประมาณร้อยละ 15 ของพื้นที่ทั้งหมด พื้นที่รับผิดชอบอยู่ในแผนที่สภาพภูมิประเทศ มาตราส่วน 1:50,000 หมายเลขระวาง 5144I, 5144II, 5244III, 5244IV และ 5245III (ภาพ 6) (กรมป่าไม้, 2545)

#### วิธีการศึกษา

ในการวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาเป็น 4 ด้าน ได้แก่ การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายของเทอริโดไฟต์ การวิเคราะห์ลักษณะและคุณสมบัติของดิน การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในเฟิร์นขึ้นบนดิน การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างธาตุในดินกับการสะสมธาตุในใบเฟิร์นขึ้นบนดิน โดยมีรายละเอียดดังนี้

##### 1. การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายของเทอริโดไฟต์

1.1 สำรวจและเก็บตัวอย่างเทอริโดไฟต์ที่ขึ้นในสภาพพื้นที่ต่างๆ ทั้งบนพื้นดิน พกไม้ อากาศ และพวกที่ขึ้นบนหิน ตามเส้นทางเดินป่าเป็นระยะทาง 6,500 เมตร ซึ่งมีความสูงจากระดับน้ำทะเล 500 - 1,633 เมตร โดยเก็บตัวอย่างเทอริโดไฟต์ทุกชนิดที่พบตลอดเส้นทางเดิน ในสภาพที่สมบูรณ์ ประกอบด้วยราก ลำต้น และใบทั้งที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์ให้ได้ตัวอย่างเทอริโดไฟต์ไม่น้อยกว่า 3 ตัวอย่าง



ภาพ 6 แสดงลักษณะที่ตั้งและอาณาเขตของอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว (มาตราส่วน 1:250,000)

1.2 วัดความสูงจากระดับน้ำทะเลในจุดที่พบเทอร์ริดไฟต์ด้วยเครื่อง GPS

1.3 บันทึกรายละเอียดที่จำเป็นในการวิเคราะห์ชื่อ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา นับจำนวนชนิด ลักษณะวิสัย ถิ่นที่อยู่ สภาพแวดล้อมทั่วไป พร้อมทั้งบันทึกภาพพรรณไม้ที่เก็บตัวอย่าง

1.4 การจำแนกชนิดของเทอร์ริดไฟต์

1.4.1 จำแนกโดยใช้เกณฑ์การจัดรูปวิธานของ Tagawa and Iwatsuki (1979; 1985; 1988; 1989)

1.4.2 ศึกษาส่วนของลำต้น ขนาด รยางค์ รูปแบบและขนาด

1.4.3 ศึกษาส่วนของใบ ชนิด ขนาด รูปทรง การจัดเรียงเส้นใบ ก้านใบ ความยาว ร่องบนก้านใบ รอยต่อของก้านใบและลำต้น

1.4.4 ศึกษารูปร่างลักษณะและการเรียงตัวของกลุ่มอับสปอร์ อับสปอร์

1.4.5 นำพรรณไม้ที่ได้ทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง (Herbarium) โดยอัดในแผงอัดพรรณไม้ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 - 55 ° เป็นเวลาประมาณ 4 วัน เพื่อนำไปจัดจำแนกชนิด

1.4.6 ตรวจสอบและวิเคราะห์หาชื่อวิทยาศาสตร์ โดยตรวจสอบจากเอกสารอ้างอิงต่างๆ และยืนยันความถูกต้องโดยเทียบเคียงกับตัวอย่างพรรณไม้ต้นแบบที่ระบุชื่อชนิดแล้ว ในตัวอย่างจากหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพรรณพืช จ.กรุงเทพฯ และหอพรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่

2. การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในเฟิร์นขึ้นบนดิน

2.1 การวางแผนการวางตัวอย่าง

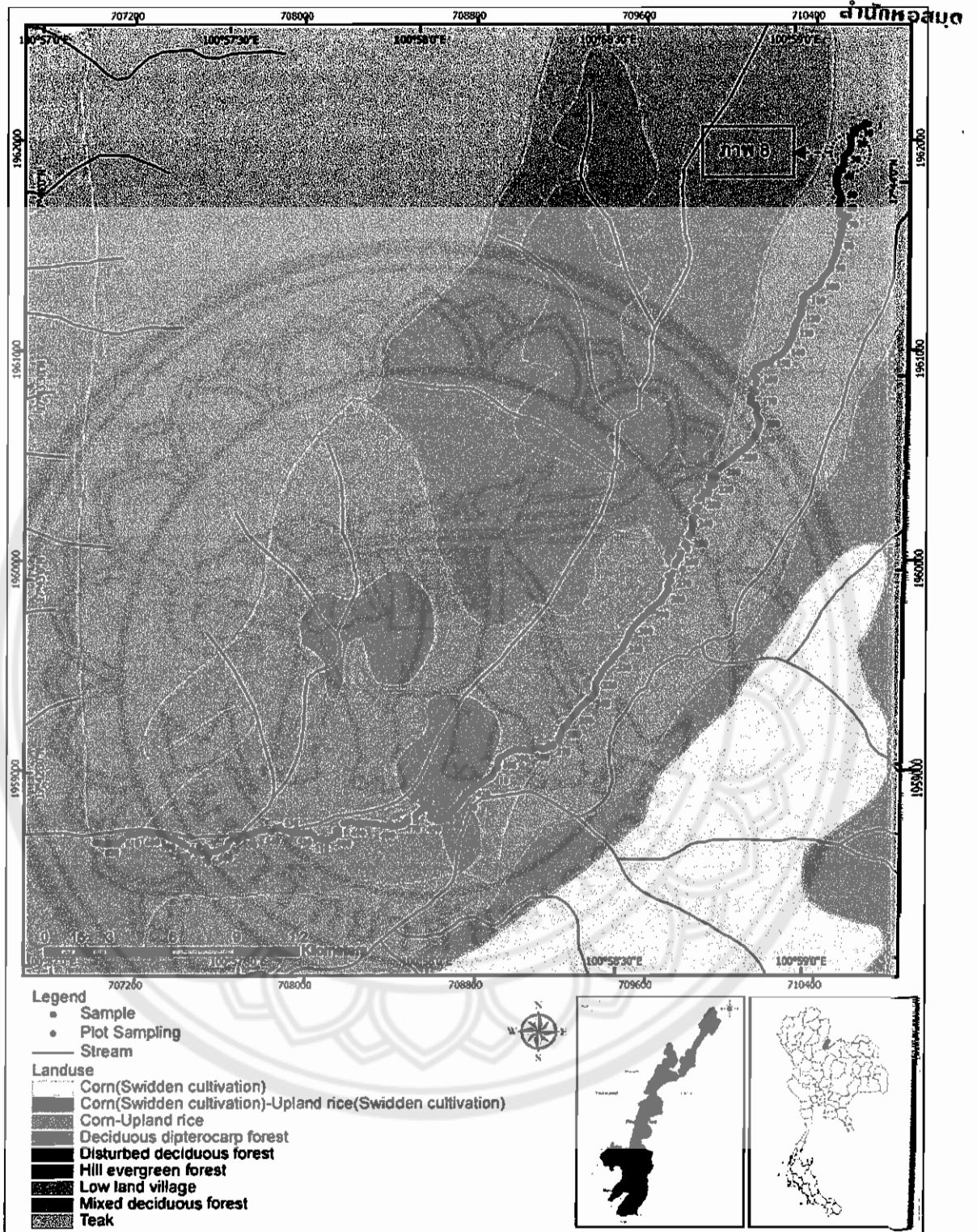
2.1.1 การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในเฟิร์นจะทำการเก็บตัวอย่างในเดือนธันวาคม 2548 โดยเก็บตัวอย่างแบบเส้นตรง (Line transects) ตามเส้นทางเดิน ร่วมกับการสุ่มตัวอย่างพืชโดยใช้แปลงตัวอย่างรูปสี่เหลี่ยมขนาด 1 ตารางเมตร (1x1 เมตร) ซึ่งเป็นการวางแผนสำหรับเก็บไม้พื้นล่างหรือไม้ล้มลุก (Herbaceous) (รัตนวัฒน์ ไชยรัตน์, 2547; เสวียนเปรมประสิทธิ์, 2538) โดยวางแผนวางแปลงทุกระยะ 10 เมตรจากแนวเส้นทางเดิน (ภาพ 7 และ ภาพ 8)

2.1.2 เลือกเก็บตัวอย่างเฟิร์นที่ขึ้นบนดินที่มีขนาดตั้งแต่ 5 เซนติเมตรขึ้นไปให้ได้ ตัวอย่างอย่างน้อย 3 ครั้ง (แปลง) ขึ้นไป ทำการเก็บตัวอย่างโดยขุดขึ้นมาทั้งต้นให้รากติดมาด้วย

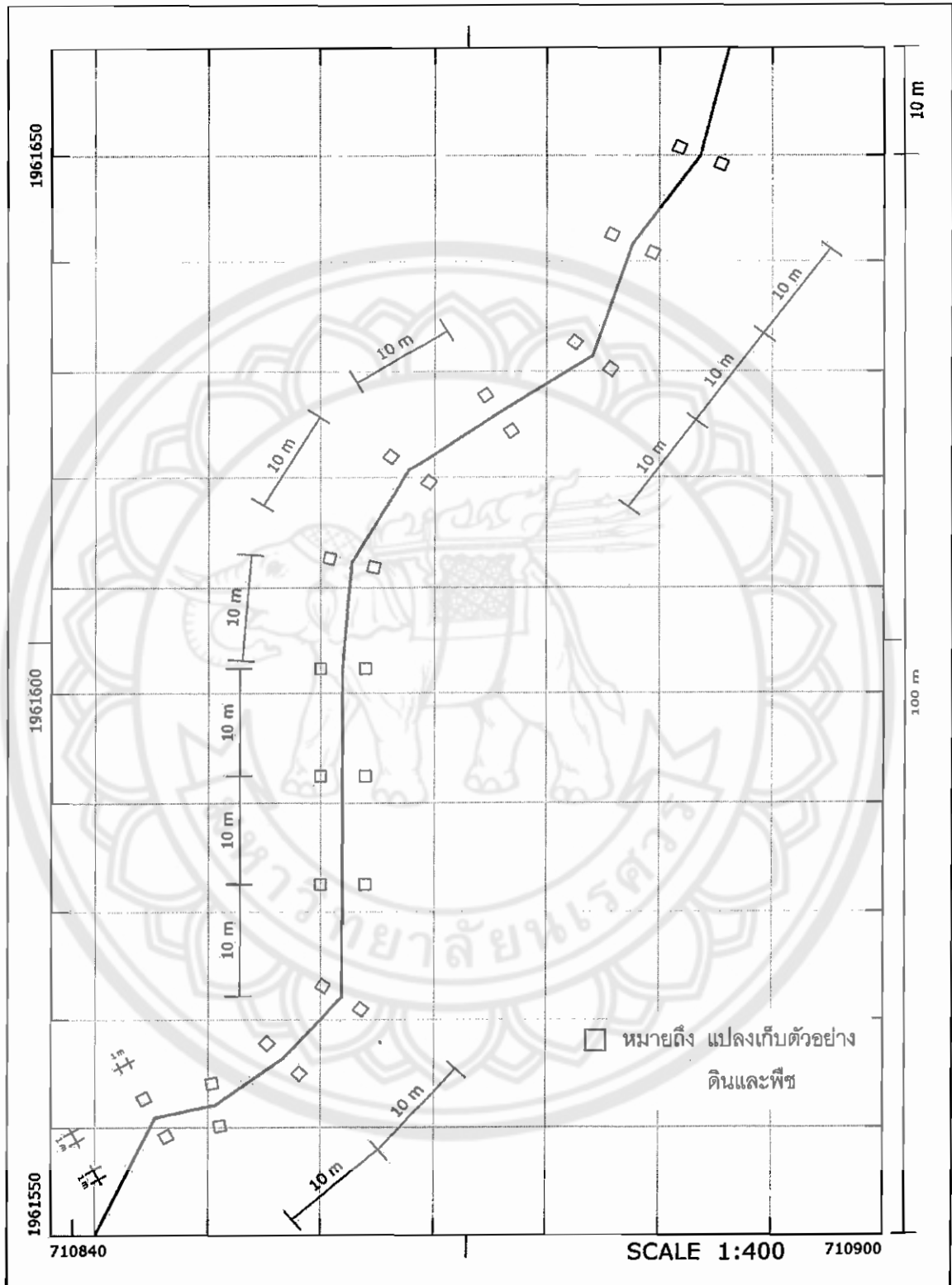
2.1.3 จำแนกชนิดและแยกส่วนใบของตัวอย่างเฟิร์นมาวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนัก

QH  
541.5  
.F6  
ส8387  
2551

4426332  
16 ส.ค. 2554



ภาพ 7 ตำแหน่งวางแปลงเก็บตัวอย่างแบบเส้นตรงตามเส้นทางเดินในอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว



ภาพ 8 แสดงลักษณะการวางแปลงเก็บตัวอย่างขนาด 1 ตารางเมตรในอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว

## 2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

เตรียมตัวอย่างพืชโดยทำความสะอาดตัวอย่างพืชทุกตัวอย่างที่เก็บมาล้างด้วยน้ำสะอาดและน้ำกลั่นเพื่อลดการปนเปื้อนที่ผิวนอกของพืช และชั่งน้ำหนักสดของตัวอย่างพืชทั้งหมด นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งและบันทึกผลไว้แยกส่วนใบของเฟิร์นแล้วนำมาบดด้วยครกกระเบื้องเคลือบให้ละเอียดแล้วเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารพืชและโลหะหนักได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส โซเดียม แคลเมียม โคบอลต์ โครเมียม ทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

2.2.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยการย่อยสลายตัวอย่างด้วยสารละลายผสมของกรด  $H_2SO_4 : Na_2SO_4 : SE$  ตามวิธีการของ Kjeldahl Method ด้วย Kjeldahl digestion apparatus (ยี่ห้อ VELP รุ่น DK42/26).

2.2.2 ปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส โซเดียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี แคลเมียม ตะกั่ว นิกเกิล โคบอลต์ และโครเมียม ทำการย่อยสลายตัวอย่างพืชในกรดผสมเข้มข้น Conc.  $HNO_3$  และ Conc.  $HClO_4$  ในอัตราส่วนเท่ากับ 4:1 โดยปริมาตร (Zhao *et al.*, 1994 ; Simmons *et al.*, 2004) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารและโลหะหนักทั้งหมด

1) ฟอสฟอรัส (P) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 nm (ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Lambda 20 S/N 7030A26) (HACH, DR 4000U).

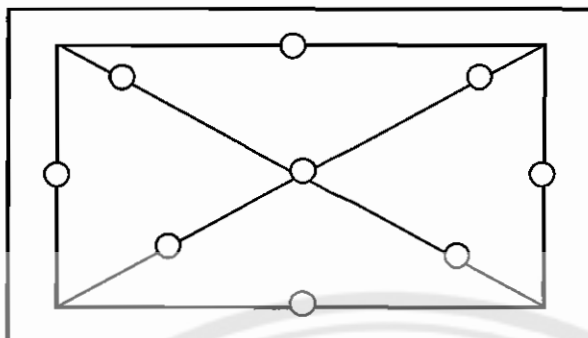
2) โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส โซเดียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี แคลเมียม ตะกั่ว นิกเกิล โคบอลต์ และโครเมียม ใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS ยี่ห้อ GBC Avanta รุ่น PM 05593)

## 3. การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในดิน

### 3.1 การเก็บตัวอย่างดิน

3.1.1 การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารและโลหะหนักในดินจะทำการเก็บตัวอย่างดินในแปลงเดียวกันกับแปลงเก็บตัวอย่างพืช (ภาพ 7 และ ภาพ 8)

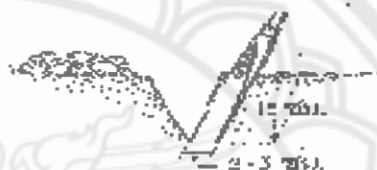
3.1.2 เก็บตัวอย่างดินบน (Top soil) ที่ระดับความลึก 0 -15 เซนติเมตร ตลตท ทั้งแปลงทุกแปลงที่ทำการเก็บตัวอย่างเฟิร์น โดยทำการเก็บตามเส้นทะแยงมุมโดยเว้นระยะเท่าๆ กัน (Equal interval on diagonal lines) ด้วยพลั่วที่สะอาดให้ได้ตัวอย่างดินประมาณ 1 กิโลกรัม แล้วนำมารวมเป็นตัวอย่างรวม (Composite sample) บรรจุใส่ถุง (ภาพ 9)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพ 9 การเก็บตัวอย่างดินบน (Top soil) ในอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว

(ก) การสุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลง 1x1 เมตร

(ข) ระดับความลึกในการเก็บตัวอย่างดิน

(ค) เก็บตัวอย่างดินในระดับ 0-15 เซนติเมตร

3.1.3 นำตัวอย่างดินมาผึ่งลมให้แห้ง (Air dried) แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

3.1.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดิน (193 ตัวอย่าง) ที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างมาผึ่งลมให้แห้ง หลังจากนั้นจึงร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์ลักษณะสมบัติของดินตามรายละเอียดของพารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

1) ความเป็นกรด-ด่าง ใช้เครื่อง pH meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น MPC 227 ใช้อัตราส่วนตัวอย่างดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:5 (Rayment and Higginson, 1992)

- 2) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ใช้วิธีวิเคราะห์ของ Walkley and Black Method (Nelson and Sommers, 1996) แบบ Wet oxidation ย่อยสลายสารอินทรีย์ในดินด้วย 1N  $K_2Cr_2O_7$  ในกรด  $H_2SO_4$  เข้มข้นและไตเตรตด้วย  $FeSO_4$
- 3) ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดิน (CEC) โดย Ammonium Saturation method วิธี leaching (Kimble *et al.*, 1993)
- 4) ปริมาณเนื้อดิน โดยวิธีไฮโดรมิเตอร์ (Hydrometer method) (Jones, 2001)
- 5) ปริมาณความชื้นในดิน โดยการอบตัวอย่างดินที่  $105^{\circ}C$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก
- 6) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยการย่อยสลายตัวอย่างด้วยสารละลายผสมของกรด  $H_2SO_4 : Na_2SO_4 : SE$  ตามวิธีการของ Kjeldahl Method ด้วย Kjeldahl digestion apparatus (ยี่ห้อ VELP รุ่น DK42/26).
- 7) ปริมาณฟอสฟอรัส ใช้ดิน 2 กรัม สกัดด้วย Bray II หาปริมาณฟอสฟอรัสด้วย Ascorbic and Reduction โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 825 nm (ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Lambda 20 S/N 7030A26) (HACH, DR 4000U).
- 8) ปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียมตามวิธีการของกองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร โดยใช้น้ำยาสกัด 1N  $NH_4OAc$  แล้วนำไปหาปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียมด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS model GBC Avanta PM 05593)
- 9) แมงกานีส เหล็ก ทองแดง สังกะสี แคดเมียม ตะกั่ว นิกเกิล โคบอลต์ และโครเมียม สกัดโดยใช้สารละลาย Diethylene Triamine Penta Acetic Acid (DTPA) วิเคราะห์โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS model GBC Avanta PM 05593)

#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

##### 1. ลักษณะและคุณสมบัติทางเคมีของดิน

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของธาตุที่พบในดินอธิบายโดยนำค่าของปัจจัยต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติเบื้องต้น โดยใช้ Descriptive Statistics เพื่อหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

##### 2. ปริมาณค่าความเข้มข้นของธาตุและโลหะหนักที่พบในใบพืช

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของธาตุและโลหะหนักที่พบในใบ



พืชโดยใช้สถิติ t-distribution และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยตามวิธีการ Duncan's New multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01, 0.05 และ 0.1 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

### 3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในการสะสมธาตุระหว่างในดินกับพืช

เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการสะสมธาตุในดินกับการสะสมธาตุในใบพืช และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพกับการสะสมธาตุในดินโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation coefficients) เพื่อหาขนาดความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรของปัจจัยต่างๆ โดยความสัมพันธ์นั้นอาจจะเป็นไปในทิศทางบวก (ในทิศทางเดียวกัน) หรือทิศทางลบ (ในทิศทางตรงกันข้าม)

