บทที่ 3

วิธีการศึกษาวิจัย

การเตรียมอุปกรณ์และการปฏิบัติการในภาคสนาม

1. การศึกษาการย่อยสลายของพืชน้ำในบึงบอระเพ็ด (Wetzel และLikens,1979)

1.1 การสำรวจสภาพโดยทั่วไปของบึงบอระเพ็ดภายหลังที่มีการลดระดับน้ำ ทำการสำรวจด้วยเรือตามแนวคลองเดิมและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง ในบริเวณอาณาเขต 3 เขตของบึงบอระเพ็ด คือ บริเวณท้ายน้ำ (หน้าเกาะวัด) บริเวณกลางน้ำ (บ้านหัวดง) และบริเวณต้นน้ำ (บ้านเนินระมัง) แสดงในรูปที่ 9 โดยวางแนวเส้นตรงจากชายฝั่งออกสู่แหล่งน้ำในบริเวณที่แสงส่องถึงซึ่งถือว่าเป็นแหล่งผลิตอินทรีย์คาร์บอนกับแหล่งน้ำ (Wetzel 1975) ในทั้ง 3 บริเวณ โดยเลือกบริเวณที่พาดผ่านตัวแทนของพืชน้ำ 3 จำพวกตามลำดับความลึกที่พบมากตามรายงานของเข็มชาติ (2535) จึงคัดเลือกพืชน้ำ 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 5-7 คือ

1.1.1 กกสามเหลี่ยม (Scirpus grossus) เพื่อเป็นตัวแทนของพืชน้ำในกลุ่มที่โผล่พ้นน้ำ (emergent) ดังรูปที่ 5

ลักษณะโดยทั่วไปของกกสามเหลี่ยม (*Scirpus grossus*)

กกสามเหลี่ยมหรือกกสามเหลี่ยมแห้วกระดาน เป็นพืชน้ำที่ขึ้นได้ทั้งน้ำนิ่งและน้ำไหล ลำต้นเป็นสามเหลี่ยมสูงใหญ่ประมาณ 1-2 เมตร มีไหล ๆ นั้นพอถึงฤดูแล้งปลายไหลจะเป็นหัวแห้งสีดำและมีขนคล้ายรากฝอยคลุม หัวนี้รับประทานได้ ใบยาวเกือบถึงช่อดอก กว้างประมาณ 1-5 ซม. ช่อดอกแตกกลางต้น ก้านช่อดอกเป็นสามเหลี่ยม ก้านใหญ่มีใบประดับ 3 ใบรองรับช่อดอก ช่อดอกสีน้ำตาล ส่วนก้านสีเขียว เนื่องจากกกนี้ช่อดอกยาวนิยมตัดช่อดอกจักทอเสื่อ ออกดอกฤดูฝน

1.1.2 บัวสาย (Nymphaea lotus) เพื่อเป็นตัวแทนของพืชน้ำในกลุ่มที่มีใบลอยน้ำ (floating-leaved) ดังรูปที่ 6

ลักษณะโดยทั่วไปของบัวสาย (*Nymphaea lotus*)

บัวสายหรือบัวแดง เป็นพืชน้ำที่พบในแหล่งน้ำจืดทั่วไปในประเทศไทย เป็นพืชที่มีใบลอยน้ำ ลำต้นอยู่ใต้ดินมีลักษณะเป็นไหลเลื้อยอยู่ตามพื้นดิน ใบมีลักษณะเป็นใบลอยน้ำ ผิวใบเรียบเป็นมัน ก้านใบยาวสีออกแดงน้ำตาล ดอกสีแดงบานเย็นเป็นดอกเดี่ยวมีเกสรตัวเมียสีแดง มีเกสรตัวผู้อยู่ตรงกลางดอก ดอกบานตอนเช้า ก้านดอกยาวสีแดงนิยมนำมารับประทาน

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 5 แสดงต้นกกสามเหลี่ยม (Scirpus grossus)

ภาพที่ 6 แสดงต้นบัวสาย (Nymphaea lotus)

1.1.3 ดีปลีน้ำ (Potamogeton malaianus) เป็นตัวแทนของพืชน้ำในกลุ่มที่อยู่จมน้ำ (Submerged) ดังรูปที่ 7

ลักษณะโดยทั่วไปของดีปลีน้ำ (*Potamogeton malaianus*) หรือ pond weed

ดีปลีน้ำเป็นพืชน้ำซึ่งพบในน้ำจืดมากกว่าน้ำเค็ม เป็นพืชใต้น้ำหรือพืชลอยน้ำที่มีอายุปีเดียวหรือหลายปี ลำต้นมีทั้งที่อยู่ในน้ำและในดินใต้น้ำ ลำต้นในน้ำนั้นมีทั้งที่เป็นไหล (stolon) เลื้อยทอดตามพื้นดินและลำต้นที่เป็นสายทอดตามระดับความลึกของน้ำ ส่วนลำต้นที่อยู่ใต้ดินนั้นมีทั้งที่เป็นเหง้า (rhizome) ยาวแตกเป็นกิ่งก้านอยู่ในดินเป็นเหง้าสั้น ๆ เก็บสะสมอาหารไว้ ลำต้นทุกแบบเป็นข้อ (node) และปล้อง (internode) ชัดเจน รากแตกจากข้อของลำต้นใต้ดิน บนดินและที่เป็นสายลอยทอดในน้ำ ใบเดี่ยวบางชนิดอาจจะมี 2 ลักษณะ (dimorphic form) คือใบลอยน้ำลักษณะใบหนาเรียบเป็นมันสีเขียวสดและใบใต้น้ำลักษณะแผ่นบางใส สีออกเขียวปนน้ำตาล ก้านใบ (petiole) กลมเรียวแต่บางชนิดก็ไม่มีหูใบ (stipule) เป็นแผ่นบางค่อนข้างแข็ง ดอกออกเป็นช่อแบบ spike คือมีดอกย่อยเรียงติดอยู่กับก้านดอก (pedduncle) โดยไม่มีก้านดอกย่อย (pedicel) ช่อดอกเมื่อยังอ่อนมีก้านหุ้มช่อดอกไว้ ดอกย่อยเป็นดอกสมบูรณ์เพศประกอบด้วยกลีบรวม (perianth) 4 กลีบ เกสรตัวผู้มี 4 อันมีอับเรณู (anther) ติดอยู่ที่โคนกลีบรวม เกสรตัวเมียประกอบด้วยรังไข่แบบ superior ovary ชนิด apocarpous คือ carpel แยกกันอยู่จำนวน carpelมีทั้งหมด 4 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน (ovule) เพียง 1ใบ ผลเป็นผลเดี่ยวชนิดเปลือกชั้นนอกอ่อน ส่วนเปลือกชั้นในสุดเหนียวและแข็ง(drupe) ลักษณะโค้งงอปลายด้านหนึ่งเป็นจงอย ภายในเมล็ดไม่มี endosperm

1.2 การเตรียมพืชน้ำสำหรับบรรจุในถุงตาข่ายไนลอน

เก็บรวบรวมทุกส่วนที่โผล่พ้นดินของพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด นำมาตัดเป็นท่อน ๆ ยาวประมาณ 15-20 ซม. ผสมให้ทั่วกันทุกส่วน แล้วนำไปอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน บรรจุพืชน้ำที่อบแห้งแล้วลงในถุงตาข่ายไนลอนขนาด 2 มม. พื้นที่ขนาด 15x20 ซม. ชนิดละ 15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อถุง เย็บปากถุงด้วยสายไนลอนให้แน่น

1.3 การวางถุงตาข่ายไนลอนที่บรรจุพืชน้ำแล้วที่บึงบอระเพ็ด

นำเอาถุงตาข่ายไนลอนที่บรรจุพืชน้ำแต่ละชนิดที่อบแห้งแล้ว ไปวางในบึงบอระเพ็ดตามจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 3 บริเวณตามข้อ 1.1 ตามตำแหน่งดังนี้ (รูปที่ 8)

1.3.1 สำหรับพืชที่จมน้ำ (ดีปลีน้ำ) และพืชที่มีใบลอยน้ำ (บัวสาย) จะผูกถุงตาข่ายไว้กับเสาหลักไม้โดยให้ระดับของถุงตาข่ายอยู่ที่ผิวของตะกอนท้องน้ำและให้แขวนอยู่เหนือ

ภาพที่ 7 แสดงต้นตีปลีน้ำ (Potamogeton malaianus)

ภาพที่ 8 แสดงการแขวนถุงตาข่ายกับหลักไม้ในบึงบอระเพ็ด

ผิวตะกอน 50 ซม. ตามลำดับ

1.3.2 สำหรับพืชที่โผล่พ้นน้ำ (กกสามเหลี่ยม) จะผูกถุงดำข่ายไว้กับเสาหลักไม้โดยให้อยู่ในระดับผิวน้ำและสัมผัสกับอากาศ

1.4 การเก็บตัวอย่าง

ทำการทดลอง 3 ซ้ำกับพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด ซึ่งจะทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 7 ครั้งในช่วงเวลา 6 เดือน โดยในช่วง 2 เดือนแรกจะเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 สัปดาห์ และในช่วง 4 เดือนหลังจะเก็บตัวอย่างทุก ๆ 4 สัปดาห์

1.5 การวิเคราะห์การย่อยสลายของพืชน้ำ

เมื่อนำถุงดำข่ายไนลอนมาจากบึงบอระเพ็ดแล้วจะนำมานับจำนวนสิ่งมีชีวิตที่พบมากซึ่งอาศัยอยู่ในถุงดำข่ายของพืชแต่ละชนิด นับจำนวนและแช่ในแอลกอฮอล์ 70 % เพื่อแยกชนิด พืชน้ำที่เหลือล้างด้วยน้ำประปา เพื่อล้างให้ดินตะกอนและสิ่งที่ติดมาด้วยอื่น ๆ ออกให้หมด แล้วจึงนำไปวางลงบนถาดอลูมิเนียมอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน ทำให้เย็นโดยปราศจากความชื้น (desicator) ชั่งน้ำหนักแห้ง บันทึกน้ำหนักที่เหลืออยู่ แล้วนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาอัตราการย่อยสลายและค่าคงที่ของการย่อยสลายของพืชน้ำแต่ละชนิด

2. <u>การเก็บตัวอย่างน้ำและวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำในบึงบอระเพ็ด</u>

เก็บตัวอย่างน้ำจากจุดเก็บตัวอย่างน้ำ 3 จุด ในช่วงหลังที่มีการลดระดับน้ำคือหน้าเกาะวัด บ้านหัวดง บ้านเนินระมัง และเพิ่มจุดเก็บตัวอย่างอีก 3 จุดในช่วงที่มีระดับน้ำเพิ่มขึ้น คือ หลังเกาะวัด บ้านปลวกสูง บ้านรางบัว ดังรูปที่ 9 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำดังนี้

2.1 ปริมาณออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen) โดยวิธี Winkler

2.2 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้ pH meter

2.3 อุณหภูมิ (temperature) โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

2.4 ความโปร่งใส (transparency) โดยใช้ secchi disc

2.5 ความเป็นด่าง (total alkalinity)

2.6 คาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide)

3. <u>การศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อการย่อยสลาย</u> มี 2 ขั้นตอน คือ

3.1 ทำการสำรวจชนิดของจุลินทรีย์ โดยวิธีการเก็บตัวอย่างพืชน้ำทั้งสามชนิดที่กำลังมีการย่อยสลายอยู่ตามธรรมชาติจากบริเวณจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 6 จุด ชนิดละ 3 ซ้ำใส่ลงขวดแก้วที่มีฝาปิด และมีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อบรรจุอยู่ 100 มิลลิลิตร เติมฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นประมาณ 5 % เก็บไว้ในที่เย็น แล้วนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 9 แสดงจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 6 จุดในบึงบอระเพ็ด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ทำการเก็บตัวอย่างชนิดของจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำในบริเวณที่มีพืชน้ำที่กำลังย่อยสลาย โดยวิธีการจุ่มแผ่นสไลด์ (submerged slide culture) (Rodina, 1972) ซึ่งจะนำเอาแผ่นสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วไปแขวนไว้ให้ลอยอยู่ในระดับผิวน้ำลึกประมาณ 30 ซม. ทิ้งไว้นาน 1-3 วัน หลังจากนั้นเก็บขึ้นมาใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อซึ่งมีสารละลายฟอร์มาลินเข้มข้นประมาณ 5 % บรรจุอยู่ เก็บไว้ในที่เย็นและนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ

<u>การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ</u>

1. <u>การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำ</u> โดยวิธีของไมตรี และจาจุวรรณ (2528) ดังนี้

   1.1 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_4-N) โดยวิธี Phenate

   1.2 ไนไตรท์-ไนโตรเจน (NO_2-N) โดยวิธี photometric method

   1.3 ไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3-N) โดยวิธี cadmium reduction

   1.4 ฟอสเฟต (ortho-phosphruos) โดยวิธี ascorbic acid method

2. <u>การวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารของน้ำ</u> โดยวิธีของ APHA (1985) ดังนี้คือ

   2.1 โซเดียมและโปแตสเซียม (Na,K) โดยวิธี flame photometric

   2.2 แคลเซียมและแมกนีเซียม (Ca,Mg) โดยวิธี EDTA titration

   2.3 ไนโตรเจน (total nitrogen) โดยวิธี Kjedahl method

   2.4 ฟอสฟอรัส (total phosphorous) โดยวิธี digestion method

3. <u>การวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อการย่อยสลาย</u>

3.1 นำเอาพืชน้ำแต่ละชนิดมาคัดแยกเป็นส่วน ๆ ตามลำดับการย่อยสลาย ซึ่งจะสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าจากสีของพืชน้ำ (ส่วนที่ยังสดอยู่จะมีสีเขียวและแข็ง ส่วนที่เริ่มมีการย่อยสลายจะมีสีเหลือง และส่วนที่มีการย่อยสลายแล้วจะมีสีน้ำตาลและอ่อนนิ่ม) เอาพืชน้ำแต่ละส่วนมาย้อมสีด้วยสีย้อมและตรวจดูรูปร่างลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 นำเอาแผ่นสไลด์ที่เก็บมาจากบึงบอระเพ็ดไปย้อมสี โดยการแช่แผ่นสไลด์ในสีย้อมเป็นเวลานาน 30-40 นาที แล้วนำมาทิ้งไว้ให้แห้ง และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การหาอัตราการย่อยสลายของพืชน้ำและค่าคงที่ของการย่อยสลาย โดยใช้วิธีของ Olson (1963) อ้างถึงใน Gopal et. al. (1982) มีสูตรการคำนวณ คือ

$$W_t = W_o \times e^{-kt}$$

โดยที่ W_t คือ น้ำหนักแห้งของอินทรีย์วัตถุที่เหลืออยู่ที่เวลา t

W_o คือ น้ำหนักแห้งของอินทรีย์วัตถุที่เวลาเริ่มต้น (t=o)

k คือ ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลาย

e คือ ค่าฐานของ natural logarithym

t คือ เวลา

2. การหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารอาหารทั้ง 6 ชนิดกับระดับน้ำและเวลาโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน F-test (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข) รวมทั้งวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย