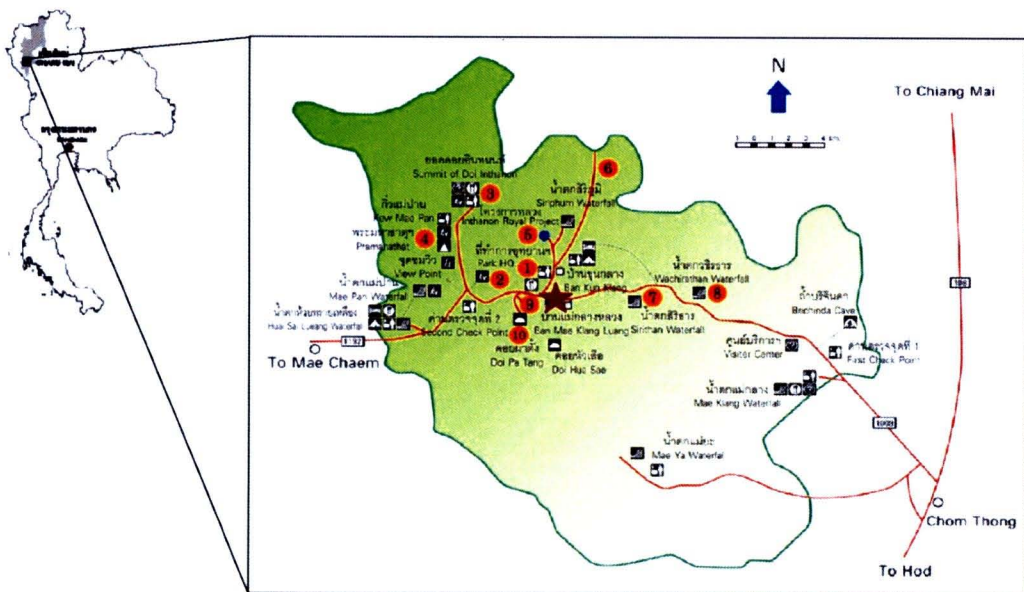


อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

3.1 ขอบเขตการศึกษา

ระยะเวลาและสถานที่ทำการศึกษา

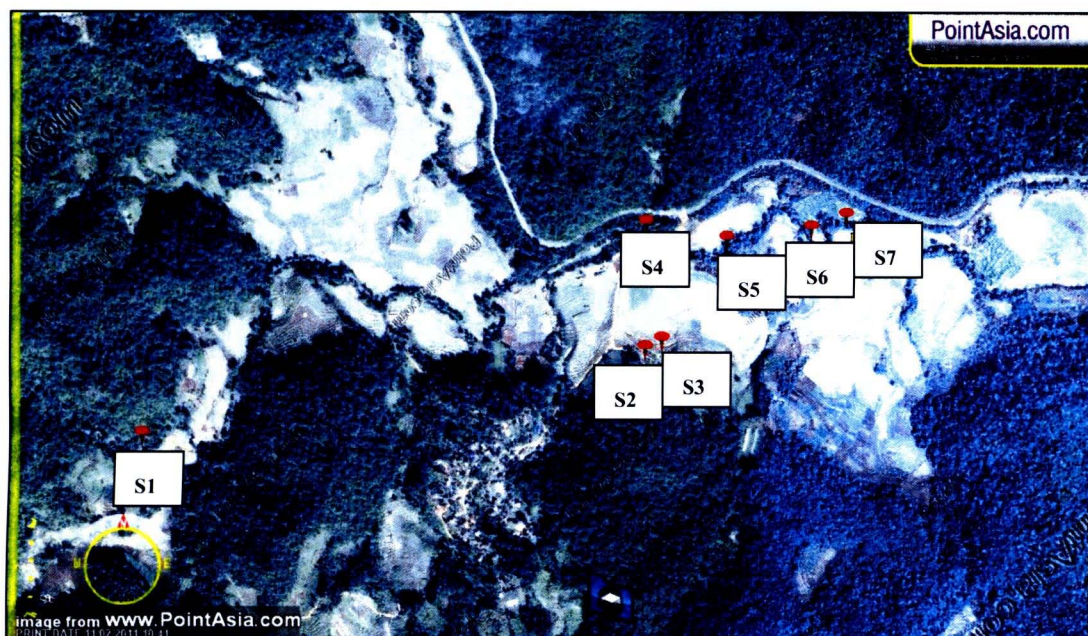
เริ่มดำเนินการศึกษาดังแต่เดือนกันยายน 2553 ถึง เมษายน 2554 โดยทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 6 ครั้ง แบ่งออกเป็นตัวแทนของ 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูฝน (กันยายนและตุลาคม) ฤดูหนาว (ธันวาคมและมกราคม) และฤดูร้อน (มีนาคมและเมษายน) บริเวณแม่น้ำแม่กลาง และฟาร์มสาธิตการเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ (ปลาเรนโบว์เทราต์) บนพื้นที่สูงบ้านแม่กลางหลวง ตำบลบ้านหลวง อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอยู่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ (ภาพ 3.1) โดยแบ่งจุดศึกษาออกเป็น 7 จุดศึกษา (ภาพ 3.2) ดังนี้



ภาพ 3.1 อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่

(ที่มา: http://www.tourdoi.com/travel/map/chiangmai_map.htm และ

<http://inthanon.sadoodta.com/scoop/data/upimages/map002.jpg>)



ภาพ 3.2 แผนที่จุดศึกษาทั้ง 7 บริเวณแม่น้ำแม่กลาง (ที่มา: <http://www.pointasia.com>)

จุดศึกษา 1 (S1) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.027' E 98° 32.571' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,091 เมตร มีลักษณะเป็นจุดที่มีการกักน้ำไว้โดยมีลักษณะเป็นฝายคอนกรีตเพื่อส่งน้ำผ่านท่อพีวีซีและรางส่งน้ำซีเมนต์ไปยังฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยทรายและกรวดเป็นหลัก พืชพรรณริมฝั่งส่วนใหญ่เป็นไม้ยืนต้น โดยใช้จุดศึกษานี้เป็นจุดอ้างอิง (reference site) ส่วนพื้นที่บริเวณโดยรอบเป็นพื้นที่เกษตรกรรมของชาวเขาเผ่ากระเหรี่ยง ส่วนใหญ่เป็นนาข้าวรองมาเป็นแปลงปลูกผักที่เพาะปลูกตามฤดูกาล (ภาพ 3.3ก)

จุดศึกษา 2 (S2) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.300' E 98° 33.170' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,038 เมตร มีลักษณะเป็นบ่อคอนกรีตสำหรับพักน้ำที่รับน้ำจากจุดศึกษา 1 ก่อนนี้จะปล่อยเข้าสู่ฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ ซึ่งในจุดศึกษานี้ได้ทำตรวจสอบคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีเท่านั้น (ภาพ 3.3ข)

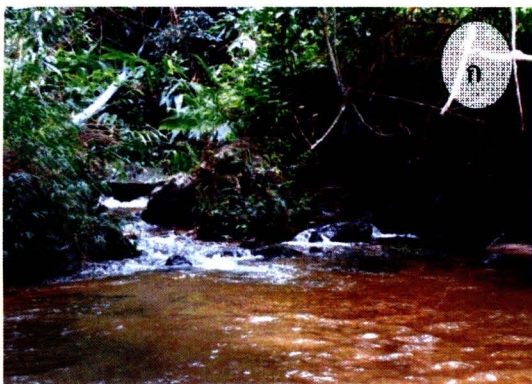
จุดศึกษา 3 (S3) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.302' E 98° 33.194' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,023 เมตร มีลักษณะเป็นบ่อคอนกรีตสำหรับพักน้ำที่รับน้ำจากฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ก่อนนี้จะระบายน้ำผ่านนาข้าวและบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามแดงและปล่อยลงสู่แม่น้ำแม่กลาง อีกทางหนึ่งก็ระบายน้ำผ่านทางคลองส่งน้ำไปลงสู่แม่น้ำแม่กลางยังจุดศึกษา 7 ซึ่งในจุดศึกษานี้ได้ทำตรวจสอบคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีเท่านั้น (ภาพ 3.3ค)

จุดศึกษา 4 (S4) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.437' E 98° 33.181' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,007 เมตร มีลักษณะเป็นจุดรับน้ำที่ผ่านการใช้ประโยชน์จากชุมชนหมู่บ้านแม่กลางหลวงทั้งการอุปโภคและบริโภค รวมถึงการใช้น้ำในพื้นที่เกษตรกรรมโดยเฉพาะนาข้าว ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วย กรวด และก้อนหินขนาดกลางและขนาดใหญ่ พืชพรรณริมฝั่งส่วนใหญ่เป็นไม้ยืนต้น (ภาพ 3.3ง)

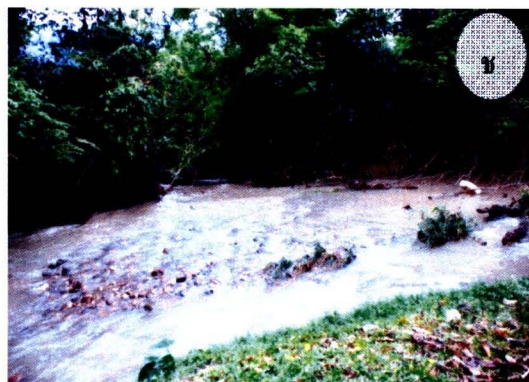
จุดศึกษา 5 (S5) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.410' E 98° 33.281' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,002 เมตร มีลักษณะเป็นทางน้ำขนาดเล็กที่เชื่อมต่อระหว่างทางน้ำที่ระบายจากบ่อเลี้ยงกึ่งก้ามแดงลงสู่แม่น้ำแม่กลาง โดยพืชพรรณริมฝั่งส่วนใหญ่เป็นไม้ยืนต้น มีเรือนยอดหนาทึบ นอกจากนี้ยังพบไม้ล้มลุกขึ้นปกคลุมทางน้ำอีกด้วย จึงทำให้ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำส่วนใหญ่เป็นเศษซากของใบไม้ที่ตกลงมาทับถมกัน (ภาพ 3.3จ)

จุดศึกษา 6 (S6) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.445' E 98° 33.393' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 993 เมตร มีลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วย ก้อนกรวด และก้อนหินขนาดกลาง โดยพืชพรรณริมฝั่งมีต้นไม้ใหญ่เรือนยอดเบาบาง ไม้ล้มลุก และมีหญ้าขึ้นปกคลุมริมฝั่ง สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นแปลงปลูกดอกไม้ และนาข้าว นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงกระบืออีกด้วย (ภาพ 3.3ฉ)

จุดศึกษา 7 (S7) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.424' E 98° 33.422' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 992 เมตร มีลักษณะเป็นจุดที่รับน้ำจากคลองส่งน้ำที่ระบายจากฟาร์มปลาเรนโบว์เทราต์ลงสู่แม่น้ำแม่กลาง ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วย ทราย กรวด และก้อนหินขนาดกลาง ส่วนพืชพรรณริมฝั่งมีต้นไม้ใหญ่และไม้ล้มลุก (ภาพ 3.3ช)



ภาพ 3.3 จุดศึกษาทั้ง 7 บริเวณแม่น้ำแม่กลางและฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์บ้านแม่กลางหลวง



ภาพ 3.2 (ต่อ) จุดศึกษาทั้ง 7 บริเวณแม่น้ำแม่กลางและฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์
บ้านแม่กลางหลวง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
2. ลูกเทนนิสผูกเชือกยาว 2 เมตร

3. สวิง (pond net) ความถี่ขนาดช่องตา (mesh size) 0.5 ตารางมิลลิเมตร
4. Turbidity meter ยี่ห้อ HANNA instruments รุ่น HI 93703
5. Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400
6. Lux/FC light meter ยี่ห้อ TENMARS รุ่น DL-204
7. Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET
8. Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ Consort รุ่น C933
9. ขวดพลาสติก (polyethylene) และถังน้ำแข็ง
10. เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปีกเกอร์ กระบอกตวง บิวเรตต์ ปิเปต หลอดหยด เป็นต้น
11. ขวดดีโอ (DO) และ ขวดบีโอดี (BOD) ขนาด 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร
12. กระบะพลาสติก ถูเก็บตัวอย่าง และยางรัด
13. กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereomicroscope
14. ปากกาเคมี ดินสอ กระดาษ label
15. กระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman
16. เครื่องกรองน้ำ ยี่ห้อ Rocker รุ่น 300
17. Incubator
18. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล
19. อุปกรณ์อื่นๆ Petri dish forceps จาน ช้อน และเข็มฉีดยา
20. หนังสือที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดแมลงน้ำ

สารเคมี

1. Formalin 10%
2. Ethyl alcohol 70%
3. Alkali iodide azide (AIA)
4. Conc. Sulfuric acid (H_2SO_4)
5. 0.025 M Sodiumthiosulfate ($Na_2S_2O_3$)
6. Manganous sulfate ($MnSO_4$)
7. น้ำแข็ง
8. Nessler reagent
9. Mineral stabilizer
10. Polyvinyl alcohol dispersing agent

11. HACH, NitraVer 5 Nitrate reagent powder pillow
12. HACH, PhosVer 3 Phosphate reagent powder pillow
13. Methyl orange
14. Phenolphthalein
15. 0.02 N Sulfuric acid (H_2SO_4)

3.3 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมี

การศึกษาภาคสนาม

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมีบางประการ ตามจุดศึกษาที่ได้ระบุไว้ข้างต้นทั้ง 7 จุดศึกษา ดังนี้

1. อุณหภูมิอากาศ (Air temperature) วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) แขนงกับต้นไม้เหนือแม่น้ำทั้งประมาณ 5 นาที มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
2. อุณหภูมิน้ำ (Water temperature) วัดโดยใช้ Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำประมาณ 10 เซนติเมตร มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
3. ความเร็วกระแสน้ำ (Velocity) วัดโดยใช้ลูกเทนนิสผูกเชือกยาว 2 เมตรปล่อยบริเวณผิวน้ำกลางแม่น้ำ แล้วจับเวลา มีหน่วยเป็น เมตรต่อวินาที (m/s)
4. ความเข้มแสง (Light intensity) วัดโดยใช้ Lux/FC light meter ยี่ห้อ TENMARS รุ่น DL-204 มีหน่วยเป็น ลักซ์ (Lux)
5. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดโดยใช้ Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำประมาณ 10 เซนติเมตร
6. ค่าการนำไฟฟ้า (Electric conductivity) วัดโดยใช้ Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำประมาณ 10 เซนติเมตร มีหน่วยเป็น ไมโครซีเมนต่อเซนติเมตร ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
7. ค่าปริมาณของแข็งรวมที่ละลายน้ำ (Total Dissolved Solid: TDS) วัดโดยใช้ Multi-parameter analyzer ยี่ห้อ Consort รุ่น C933 ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำประมาณ 10 เซนติเมตร มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

8. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen: DO) วัดโดยใช้วิธี Azide modification Method มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (APHA, AWWA และ WPCE, 1992) (ภาคผนวก ก)

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

1. ค่าความขุ่น (Turbidity) วัดโดยใช้ Turbidity meter ยี่ห้อ HANNA instruments รุ่น HI 93703 มีหน่วยเป็น Formazin Turbidity Units (FTU)
2. ค่าของแข็งแขวนลอย (Suspended Solid) วัดโดยใช้ Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400 มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
3. ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Biochemical Oxygen Demand: BOD₅) วัดโดยใช้วิธี Azide modification มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (APHA, AWWA and WPCE, 1992) (ภาคผนวก ก)
4. ความเป็นด่างของน้ำ (Alkalinity) วัดโดยใช้วิธี Phenolphthalein methyl orange indicator มีหน่วยเป็น mg/L as CaCO₃ (APHA, AWWA and WPCE, 1992) (ภาคผนวก ก)
5. ปริมาณสารอาหาร วัดโดยใช้ Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400 มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (APHA, AWWA and WPCE, 1992) (ภาคผนวก ก) ได้แก่
 - 1) ไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen: NO₃⁻-N) วัดโดยใช้ HACH, NitraVer 5 Nitrate reagent powder pillow ด้วยวิธี Cadmium reduction
 - 2) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen: NH₃-N) วัดโดยใช้ Nessler reagent, Mineral stabilizer และ Polyvinyl Alcohol Dispersing agent ด้วยวิธี Nesslerization
 - 3) ออร์โธ-ฟอสเฟต (Ortho-phosphate: O-PO₄³⁻) หรือ Soluble reactive phosphorus วัดโดยใช้ HACH, Phos Ver 3 Phosphate reagent powder pillow ด้วยวิธี Ascorbic Acid

3.4 การศึกษาคุณภาพน้ำทางชีวภาพ

เพื่อการศึกษาเชิงคุณภาพในการบ่งชี้คุณภาพน้ำโดยใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (Biotic Index) ซึ่งจำเป็นที่จะต้องมีการเก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิตออกจากพื้นที่เพื่อใช้ในการศึกษา โดยทำการเก็บตัวอย่างของแมลงน้ำที่อาศัยอยู่ในลำน้ำแม่กลาง เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณ โดยวิธี Kick method (Furse และคณะ, 1981 และ Mustow, 2002) ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมกับถิ่น

ที่อยู่อาศัยแบบต่างๆ เช่น โคลน ทราย กรวด ดิน หิน และวัชพืชริมน้ำ เป็นต้น โดยใช้สวิง (pond net) ความถี่ขนาดช่องตา (mesh size) 0.5 ตารางมิลลิเมตร ทำการเก็บตัวอย่างจุดศึกษาละ 5-10 นาที จากจุดศึกษา 5 จุด (จุดศึกษา 1 และจุดศึกษา 4 ถึง 7) จากทั้งหมด 7 จุดศึกษา จากนั้นทำการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงน้ำด้วยน้ำยาฟอรัมาลิน 10% แล้วจึงนำมาระบุเอกลักษณ์ (identification) จนถึงระดับวงศ์ (Family; morphotaxa) โดยใช้หนังสือจัดจำแนกของ McCafferty (1981), Merritt และ Cummins (2008), Sangpradub และ Boonsoong (2006), Morse และคณะ (1994), Wiggins (1996) และ Dudgeon (1992) เป็นต้น ทำการจัดจำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ (Stereomicroscope) พร้อมทั้งทำการนับจำนวนตัวของแมลงน้ำในทุกวงศ์ที่พบในห้องปฏิบัติการ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

- 1) วิเคราะห์ความหลากหลายของแมลงน้ำ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Diversity Index) ของ Shannon-Weaver Diversity Index (H') และดัชนีการกระจายตัว (Evenness Index) โดยใช้ $\log_e$ ซึ่งใช้ข้อมูลจำนวนวงศ์ (Family; morphotaxa) และจำนวนตัวที่พบทั้งหมดของทุกครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่างในการคำนวณ
- 2) วิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพโดยใช้ $BMWP^{Thai}$ Score ให้คะแนนแมลงน้ำแต่ละวงศ์ที่พบตามตาราง $BMWP^{Thai}$ Score (Mustow, 2002) แล้วนำคะแนนของสัตว์แต่ละวงศ์มารวมกัน นับจำนวนวงศ์ของสัตว์ที่พบและสามารถให้คะแนนได้นำค่าจำนวนวงศ์ที่พบแต่ละจุดศึกษามาหารคะแนนรวมของสัตว์แต่ละวงศ์ ค่าที่ได้จัดเป็นคะแนนเฉลี่ย Average Score Per Taxa (ASPT) ซึ่งคะแนนเฉลี่ยนี้เป็นค่าที่บ่งบอกคุณภาพน้ำ ตามกลุ่มของแมลงน้ำ และสามารถนำค่าคะแนนดังกล่าวไปเปรียบเทียบกับตารางคุณภาพน้ำต่อไป

$$ASPT = \frac{\text{ค่า } BMWP^{Thai} \text{ score}}{\text{จำนวนวงศ์ทั้งหมดที่พบและมีคะแนน}}$$

- 3) วิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพโดยใช้ EPT ratio เป็นการศึกษาสิ่งมีชีวิตที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสภาพแวดล้อมโดยใช้แมลงน้ำ 3 อันดับ ได้แก่ แมลงชีปะขาว (Ephemeroptera) แมลงเกาะหิน (Plecoptera) และ แมลงหนอนปลอกน้ำ (Trichoptera) โดยใช้จำนวนตัวรวมของทุกอันดับรวมกันหารด้วยจำนวนตัวของแมลงน้ำที่พบ

ทั้งหมด และนำค่าคะแนนที่ได้ไปเปรียบเทียบกับตาราง EPT to total ratio (Department of Environmental Services, 2002)

- 4) วิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพโดยใช้ Hilsenhoff Biotic Index (HBI) เป็นการประเมินคุณภาพน้ำโดยใช้แมลงน้ำในการประเมิน (Hilsenhoff, 1988) โดยมีการให้คะแนนแมลงน้ำและคำนวณตามสูตรของ Hilsenhoff ถ้าแมลงกลุ่มใดทนต่อมลพิษได้มากจะมีค่าคะแนนสูง แต่กลุ่มใดทนต่อมลพิษได้น้อยจะมีค่าคะแนนต่ำ โดยผลรวมของคะแนนวิธีนี้ถ้าได้คะแนนสูงแสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีสิ่งเจือปนมากกว่า โดยวิธีการคำนวณดังนี้

$$HBI = \frac{\sum[(xi)(ti)]}{ni}$$

โดย X_i = จำนวนตัวที่พบ

t_i = ค่าคะแนนของสิ่งมีชีวิต

n_i = จำนวนตัวทั้งหมดที่พบในแต่ละครั้ง

- 5) วิเคราะห์สัดส่วนแมลงน้ำตามบทบาทการกินอาหาร (functional feeding groups, FFG) โดยจัดจำแนกแมลงน้ำที่พบออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ Scrapers, Shredders, Collector-gatherers, Collector-Filterers และ Predators ตามการจัดจำแนกของ Merritt and Cummins (2008) และ Morse และคณะ (1994) โดยทำการสร้างกราฟแสดงเปอร์เซ็นต์สัดส่วนของกลุ่มแมลงน้ำที่พบในแต่ละจุดศึกษาของทุกฤดูที่ทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อใช้เปรียบเทียบกับลักษณะความต่อเนื่องของลำน้ำ (The river continuum concept; RCC)
- 6) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีร่วมกับปัจจัยทางชีวภาพเพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติน้ำทั้ง 7 จุดศึกษาในฤดูต่างๆ สร้าง Dendrogram เพื่อหากลุ่มจุดศึกษาที่คล้ายคลึงกัน โดยทำการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (Cluster analysis) และตรวจสอบรูปแบบการกระจายของปัจจัยต่างๆ ด้วยวิธี Principal Component Analysis (PCA) โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic average) ซึ่งใช้ค่า Percent similarity (โดยใช้ Log 10) ในการวิเคราะห์ผลการศึกษา
- 7) วิเคราะห์หาความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation) ระหว่างปัจจัยทางกายภาพ-เคมีและชีวภาพ เพื่อบ่งชี้ถึงระดับความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยที่ได้ทำการตรวจวัดในการศึกษาครั้งนี้ในทางสถิติ