

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

อุปกรณ์การศึกษา

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง
 - 1.1 กรรไกรตัดกิ่งไม้
 - 1.2 ถุงพลาสติก
 - 1.3 กระดาษหนังสือพิมพ์
 - 1.4 เครื่องมือวัดระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (altimeter)
 - 1.5 อุปกรณ์บันทึกข้อมูลต่าง ๆ
2. อุปกรณ์ในการปลูกตัวอย่าง
 - 2.1 กระถางไม้ และไม้หุ้มกาบมะพร้าว
 - 2.2 ขุยมะพร้าว
 - 2.3 ปุ๋ยบำรุงดิน
 - 2.4 ป้าย label
 - 2.5 ดินผสมทราย
3. อุปกรณ์ในศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา
 - 3.1 ไม้บรรทัด
 - 3.2 เครื่องมือวัดมุม ไคน์โบและปลายโบ
 - 3.3 vernier caliper
 - 3.4 eyepiece และ stage micrometer
 - 3.5 กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมพาวด์
 - 3.6 กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ
4. อุปกรณ์ในการศึกษาลักษณะกายวิภาค
 - 4.1 แผ่นสไลด์ และแผ่นแก้วมีดสไลด์
 - 4.2 plant microtome automatic MT-3
 - 4.3 จานแก้ว
 - 4.4 พู่กัน
 - 4.5 เข็มเย็บ
 - 4.6 ปากคีบ

- 4.7 หลอดหยด
- 4.8 แผ่นโฟม
- 4.9 สีย้อม safranin-o
- 4.10 ยาทาเล็บ
- 4.11 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิด trinocular
- 4.12 camera lucida
- 4.13 ชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพ จากกล้องจุลทรรศน์
- 4.14 फिल्मतीและफिल्मस्लाइड
5. อุปกรณ์ในการศึกษาทักษะขั้นพื้นฐานวิชาของสปอร์
 - 5.1 บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
 - 5.2 เครื่องเซนทริฟิวจ์ ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที
 - 5.3 หลอดเซนทริฟิวจ์
 - 5.4 warm plate
 - 5.5 หลอดเก็บสปอร์
 - 5.6 แผ่นสไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์
 - 5.7 หลอดหยด
 - 5.8 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
 - 5.9 กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมพาวด์
 - 5.10 ชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์
 - 5.11 फिल्मतीและफिल्मस्लाइड
6. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ข้อมูล
 - 6.1 เครื่องคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะ CPU Pentium 120 Mhz
 - 6.2 ชุดโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS/PC+ FOR WINDOWS

วิธีการศึกษา

1. การศึกษาภาคสนาม

1.1 การกำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง

ศึกษาข้อมูลหาแหล่งที่มีการพบเฟิร์นถิ่นกุ่มในประเทศไทย จากหนังสือ Flora of Thailand vol.3 part 4 และจากตัวอย่างพันธุ์ไม้แห้ง ที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชต่าง ๆ ดังนี้

- พิพิธภัณฑ์พืช ศักดิ์พืชพรรณ กรมวิชาการเกษตร
- พิพิธภัณฑ์พืช หอพรรณไม้ กรมป่าไม้
- พิพิธภัณฑ์พืชศาสตราจารย์กสิณ สุวตะพันธุ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะ

วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานำมาพิจารณา เขตการกระจายพันธุ์ของเฟิร์นถิ่นกุ่มในบริเวณต่าง ๆ ของประเทศไทย และกำหนดแหล่งที่เก็บตัวอย่างในภาคต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงบริเวณและที่ตั้งของสถานที่ที่เก็บตัวอย่างเฟิร์นถิ่นกุ่มในประเทศไทย

ประชากร	สถานที่	ที่ตั้ง	ความสูงจากระดับน้ำทะเล	ดินอาศัย
1	ห้วยน้ำค้าง	จ.แม่ฮ่องสอน	> 1700 ม.	อิงอาศัย
2	ภูหินร่องกล้า	จ.พิษณุโลก	> 1200 ม.	บนก้อนหิน
3	คอยสุเทพ-ปุย	จ.เชียงใหม่	> 1600 ม.	อิงอาศัย
4	ภูเรือ	จ.เลย	> 1400 ม.	บนก้อนหิน
5	ป่าหินงาม	จ.ชัยภูมิ	< 800 ม.	บนก้อนหิน
6	เขาใหญ่ (เขาเขียว)	จ.นครนายก	> 800 ม.	อิงอาศัย
7	เขาพ่อตาหลวงแก้ว	จ.พังงา	< 800 ม.	อิงอาศัย

1.2 การเก็บตัวอย่าง

1.2.1 การเลือกเก็บตัวอย่างเฟิร์นถิ่นกุ่มในกลุ่มใบที่ไม่สร้างสปอร์ โดยเก็บตัวอย่างทั้งลำต้นและใบที่ยังไม่สร้างสปอร์ให้ได้อย่างน้อย 30 ใบ ตัดป้ายบอกรายละเอียดการเก็บ ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ถุงพลาสติกเพื่อเก็บรักษาสภาพตัวอย่าง และนำไปปลูกต่อไป

1.2.2 การเก็บตัวอย่างเฟิร์นถิ่นกุ่มในกลุ่มใบที่สร้างสปอร์ โดยเก็บลำต้นและใบในลักษณะที่มีการสร้างสปอร์แก่เต็มวัยและอับสปอร์ยังไม่แตก สังเกตจากอับสปอร์มีสีน้ำตาลแกมแดง เก็บตัวอย่างแยกใส่ถุง พร้อมติดป้ายบอกรายละเอียดเพื่อนำไปทำตัวอย่างแห้งเป็นถ้ำดับต่อไป

1.3 การปลูกตัวอย่างในแปลงทดลอง

1.3.1 ปลูกตัวอย่างเฟิร์นถิ่นกุ่ม แยกตามพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง และลักษณะนิสัยในธรรมชาติ โดยตัวอย่างที่มีลักษณะนิสัยอยู่บนดินหรือหิน แยกปลูกในกระถางที่มีส่วนผสมของดินปนทรายกับปุ๋ยมะพร้าวในอัตราส่วน 1 : 1 และแยกตัวอย่างที่มีลักษณะนิสัยแบบอิงอาศัยแยกปลูก โดยให้เกาะเลื้อยพันไม้ที่ห่อหุ้มด้วยกาบมะพร้าว

1.3.2 รดน้ำเป็นประจำทุกเช้าและเย็น พร้อมทั้งใส่ปุ๋ยสูตร 16:21:27 ในอัตราส่วนผสมน้ำ 1 ลิตร : ปุ๋ย 3 กรัม

1.4 การศึกษาลักษณะนิเวศวิทยาของเฟิร์นถิ่นกุ่ม

1.4.1 ศึกษาลักษณะภูมิประเทศ โดยสังเกตลักษณะบริเวณที่เฟิร์นถิ่นกุ่มสามารถเจริญอยู่ได้ ทั้งในกลุ่มประชากรทั่วไป และกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา บันทึกลักษณะต่างๆ ดังนี้

- สภาพป่า
- ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (altitude)
- ปริมาณแสง
- ลักษณะถิ่นอาศัย (habitat)

1.4.2 ศึกษาลักษณะภูมิอากาศ โดยศึกษาข้อมูลที่ได้รับจากกองภูมิอากาศ กรมอุตุนิยมวิทยา ซึ่งเป็นข้อมูลที่เก็บจากสถานีตรวจอากาศ ที่ตั้งอยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกับพื้นที่ที่ทำการศึกษาระหว่างช่วงปี พ.ศ. 2526 - 2536 ในรายละเอียดต่างๆ ดังนี้

- ข้อมูลปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยแต่ละเดือน
- ข้อมูลอุณหภูมิเฉลี่ยแต่ละเดือน
- ข้อมูลปริมาณความชื้นสัมพัทธ์แต่ละเดือน

2. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเฟิร์นถิ่นกุ่มที่เจริญในสภาพธรรมชาติ โดยศึกษาจากตัวอย่างใบที่ไม่สร้างสปอร์ ที่เก็บมาจากในพื้นที่ต่างๆ ศึกษาในรายละเอียด ดังนี้

2.1.1 วัดความกว้างของใบ (leaves width, lw) โดยใช้ไม้บรรทัดวางในแนวตั้งฉากกับเส้นกลางใบ วัดขนาดจากขอบใบด้านหนึ่งไปยังขอบใบอีกด้านหนึ่ง ในตำแหน่งที่กว้างที่สุดของใบ

2.1.2 วัดความยาวของใบ (leaves length, ll) โดยใช้ไม้บรรทัดทาบทับเส้นกลางใบ วัดความยาวของใบจากตำแหน่งฐานใบไปยังปลายสุดของใบ

2.1.3 ระยะห่างของตำแหน่งที่กว้างที่สุดกับปลายใบ (distance from apex at the widest portion of leaf, da) โดยใช้ไม้บรรทัดทาบทับเส้นกลางใบ วัดระยะห่างจากตำแหน่งที่กว้างที่สุดของใบกับปลายใบ

2.1.4 วัคนุมฐานใบ (leaves base angle, lba) โดยใช้เครื่องมือวัคนุมใบ วัดขนาดของนุมฐานใบ ในขณะที่ใบแผ่กางและบิดยาวเต็มที่

2.1.5 วัคนุมปลายใบ (leaves tip angle, lta) โดยใช้เครื่องมือวัดปลายใบ วัดขนาดของนุมปลายใบ ในขณะที่ใบแผ่กางและบิดยาวเต็มที่

2.1.6 บันทึกรายงานเส้นใบ (lateral main vein number, vn) โดยการนับจำนวนเส้นใบที่มองเห็นชัดด้วยตาเปล่าในแต่ละใบ

2.1.7 วัดความยาวของก้านใบ (stipe length, sl) โดยใช้ไม้บรรทัดวัดขนาดความยาวของก้านใบ จากตำแหน่งโคนที่ติดกับลำต้นไปจนถึงตำแหน่งตำแหน่งฐานใบ

2.1.8 วัดความกว้างของสเกล (scales width, scw) โดยการวัดขนาดของสเกล ที่ขึ้นอยู่บนผิวของลำต้น วัดในตำแหน่งที่กว้างที่สุดของสเกล

2.1.9 วัดความยาวของสเกล (scales length, scl) โดยการวัดขนาดของสเกล ที่ขึ้นอยู่บนผิวของลำต้น วัดในตำแหน่งจากฐานของสเกลไปยังปลายสุดของสเกล

2.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเฟิร์นถิ่นกุ่มที่ปลูกในแปลงทดลอง

โดยศึกษาจากตัวอย่างใบที่ไม่สร้างอับสปอร์ (sterile frond) ของพืชที่งอกใหม่ในแปลงทดลอง ศึกษารายละเอียดต่างๆ เช่นเดียวกับ การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเฟิร์นถิ่นกุ่มที่เจริญในสภาพธรรมชาติ

2.3 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์

2.3.1 การเตรียมโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์เพื่อนำมาทำการศึกษา โดยการนำใบเฟิร์นสดที่สร้างอับสปอร์ (fertile frond) มาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เพื่อต้องการให้ขนและอับสปอร์หลุดออกจากแผ่นใบ จนกระทั่งเหลือเฉพาะแผ่นใบ ตัดแผ่นใบออกจากสารละลายดังกล่าว แล้วนำของผสมที่เหลือไปเซนทรีฟิวจ์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เพื่อให้ สปอร์ อับสปอร์ และขน ตกตะกอน แยกเอาส่วนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ทิ้ง ล้างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ติดอยู่กับตะกอน ด้วยน้ำกลั่น นำไปเซนทรีฟิวจ์ แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นอีก 2-3 ครั้ง ตั้งเกดจนกระทั่งของเหลวใส ไม่มีสี แสดงว่าน้ำได้ชะล้างโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกหมดแล้ว นำตะกอนที่ได้ซึ่งประกอบด้วยสปอร์ อับสปอร์ และขนที่ปกคลุมหลังแผ่นใบ มาเตรียมสไลด์แบบ whole mouth เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาโครงสร้างต่างๆ เป็นลำดับต่อไป

2.3.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ โดยการนำสไลด์ที่เตรียมไว้ มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 40X ศึกษารายละเอียดของสปอร์ดังนี้

2.3.2.1 วัดความกว้างของสปอร์ (spore width, spw) โดยใช้ไมโครมิเตอร์ วัดความกว้างของสปอร์ตำแหน่งที่กว้างที่สุดในแนว polar view

2.3.2.2 วัดความยาวของสปอร์ (spore length, spl) โดยใช้ไมโครมิเตอร์ วัดความยาวของสปอร์ ตำแหน่งที่ยาวที่สุดในแนว lateral view

2.3.3 ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของอับสปอร์ โดยการนำสไลด์ที่เตรียมไว้ มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 10X ศึกษารายละเอียดและวัดขนาดลักษณะต่างๆ โดยใช้ไมโครมิเตอร์ ดังนี้

2.3.3.1 วัดความกว้างของอับสปอร์ (sporangium width, sgw) โดยวัดความกว้างของอับสปอร์ ในแนวตามขวาง (transverse) ในตำแหน่งที่กว้างที่สุด

2.3.3.2 วัดความยาวของอับสปอร์ (sporangium length, sgl) โดยวัดความยาวของอับสปอร์ในแนวตามยาว (longitudinal) จากตำแหน่งบนสุดของอับสปอร์ถึงรอยต่อก้านชูอับสปอร์

2.3.3.3 นับจำนวน annulus cell (number of annulus cell in each sporangium, nas) โดยนับจำนวน annulus cell ที่พบในแต่ละอับสปอร์

2.3.4 ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของขนที่ปกคลุมกลุ่มอับสปอร์ และแผ่กระจายอยู่ห่อหุ้ม โดยการนำสไลด์ที่เตรียมไว้ มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 10X ศึกษารายละเอียดและขนาดของลักษณะต่างๆ โดยใช้ไมโครมิเตอร์ ดังนี้

2.3.4.1 วัดความกว้างของขน (hair width, hw) โดยวัดขนาดความกว้างของขน ในตำแหน่งที่กว้างที่สุด

2.3.4.2 วัดความยาวของขน (hair length, hl) โดยวัดขนาดความยาวของขน จากโคนถึงปลายสุดของขน

ตารางที่ 3.2 ลักษณะสัมถฐานวิทยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และการวิเคราะห์การจัดจำแนก

ลักษณะ	ที่มาของข้อมูล
ตัวอย่างใบ และลำต้น	
LW	ความกว้างของใบ
LL	ความยาวของใบ
DA	ความยาวจากตำแหน่งที่กว้างที่สุดถึงปลายใบ
LBA	มุมโคนใบ
LTA	มุมปลายใบ
VN	จำนวนเส้นใบ
SL	ความยาวของก้านใบ
SCW	ความกว้างของสเกล
SCL	ความยาวของสเกล
โครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์	
SPW	ความกว้างของสปอร์
SPL	ความยาวของสปอร์
SGW	ความกว้างของอับสปอร์
SGL	ความยาวของอับสปอร์
ตัวอย่างขน	
HW	ความกว้างของขน
HL	ความยาวของขน

2.4 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างทั่วไป ใช้ตัวอย่างสดที่ปลูกในแปลงทดลอง นำมาตัดด้วยเครื่อง Plant Microtome Automatic MT-3 โดยตัดตัวอย่างสดให้มีความหนา 3-5 ไมครอน นำชิ้นส่วนที่ตัดได้มาย้อมสีด้วย safranin-o แล้วเตรียมสไลด์แบบ whole mouth เพื่อนำไปใช้ศึกษาในรายละเอียดต่อไป

2.4.2 ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของใบ โดยเลือกใบที่ทางแผ่เต็มที่มาตัดใบบริเวณที่กว้างที่สุดในแนวตามขวาง แล้วทำชิ้นส่วนในแนวยาวโดยมีเส้นกลางใบอยู่ตรงกลางขนาด 1 X 5 ซม. นำไปตัดด้วยเครื่อง microtome ศึกษาตัวอย่างที่มาจากสถานที่เดียวกันอย่างน้อยชุดละ 5 ใบ ใบละ 5 ซ้ำ ศึกษารายละเอียดและวัดขนาดต่างๆ โดยใช้ไมโครมิเตอร์ ดังนี้

2.4.2.1 วัดความหนาของแผ่นใบ (leaf thickness, lt) โดยวัดขนาดจากผิวใบชั้นบนถึงผิวใบชั้นล่าง

2.4.2.2 วัดความหนาของชั้น spongy cell (thickness of spongy layer, tsl) โดยวัดความหนาของบริเวณที่เป็นชั้นของ spongy mesophyll

2.4.2.3 วัดความหนาของชั้น palisade cell (thickness of palisade layer, tpl) โดยวัดความหนาของบริเวณที่เป็นชั้นของ palisade mesophyll

2.4.3 ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของก้านใบ โดยนำก้านใบมาตัดเอาเฉพาะตรงบริเวณกึ่งกลางของความยาวของก้านใบ พร้อมทั้งศึกษารายละเอียดและวัดขนาดของลักษณะต่างๆ โดยใช้ไมโครมิเตอร์ ดังนี้

2.4.3.1 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของก้านใบ (diameter of stipe, ds) โดยวัดขนาดจากขอบผิวด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งของก้านใบ ในตำแหน่งที่มีขนาดกว้างที่สุดของก้านใบ

2.4.3.2 วัดความหนาของชั้น sclerenchyma ของก้านใบ (thickness of sclerenchyma layer of stipe, tss) โดยวัดขนาดความหนาของกลุ่ม sclerenchyma ที่เรียงตัวเป็นชั้นอยู่บริเวณใกล้ชั้นผิวของก้านใบ สังกัดย้อมติดสีแดงของ safranin-o

2.4.3.3 นับจำนวนกลุ่มท่อลำเลียงของก้านใบ (number of vascular bundle of stipe, nvs) โดยการนับจำนวนกลุ่มท่อลำเลียงทั้งหมดทั้งกลุ่มเล็กและกลุ่มใหญ่ของก้านใบ

2.4.4 ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของลำต้น โดยการคัดเลือกลำต้นที่มีใบเจริญเต็มที่มาตัดด้วยเครื่อง microtome ตัดชิ้นส่วนมีขนาด 30 ไมครอน เลือกชิ้นส่วนที่ตัดได้ขนาดแล้วมาย้อมสีด้วย safranin-o เพื่อนำมาศึกษาและวัดขนาด โดยใช้ไมโครมิเตอร์ ในลักษณะต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.4.4.1 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น (diameter of rhizome, dr) โดยการวัดขนาดจากขอบผิวด้านหนึ่งไปยังขอบผิวอีกด้านหนึ่ง ในตำแหน่งที่กว้างที่สุดของลำต้น

2.4.4.2 วัดความหนาของชั้น sclerenchyma ที่พบในลำต้น (thickness of sclerenchyma layer of rhizome, tsr) โดยการวัดขนาดความหนาของกลุ่ม sclerenchyma ซึ่งเรียงตัวเป็นวงล้อมรอบกลุ่มท่อลำเลียงทั้งหมดภายในลำต้น

2.4.4.3 วัดความหนาของชั้น cortex ของลำต้น (thickness of cortex of rhizome, tcr) โดยวัดขนาดความหนาของกลุ่มเซลล์ parenchyma ที่เรียงอยู่ระหว่างชั้น sclerenchyma กับชั้นผิวของลำต้น

2.4.4.4 นับจำนวนกลุ่มท่อลำเลียงของลำต้น (number of vascular bundle of rhizome, nvr) โดยการนับจำนวนกลุ่มท่อลำเลียงทั้งหมดทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ของลำต้น

ตารางที่ 3.3 ลักษณะกายวิภาคศาสตร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์ การจัดกลุ่ม และการวิเคราะห์การจัดจำแนก

ลักษณะ	ที่มาของข้อมูล
ตัวอย่างใบ	
LT	ความหนาของแผ่นใบ
TSL	ความหนาของ spongy mesophyll
TPL	ความหนาของ palisade mesophyll
ตัวอย่างก้านใบ	
DS	เส้นผ่านศูนย์กลางของก้านใบ
TSS	ความหนาของ sclerenchyma ของก้านใบ
NVS	จำนวนกลุ่มท่อลำเลียงของก้านใบ
ตัวอย่างลำต้น	
DR	เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น
TSR	ความหนาของ sclerenchyma ของลำต้น
TCR	ความหนาของชั้น cortex ของลำต้น
NVR	จำนวนกลุ่มท่อลำเลียงของลำต้น

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์

นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาลักษณะต่างๆ ที่สนใจศึกษามาวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบความแปรผันภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มประชากร ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์พหุคูณ 3 เทคนิค คือ

- การวิเคราะห์ปัจจัย (Factor Analysis)
- การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (Cluster Analysis)
- การวิเคราะห์การจัดจำแนก (Discriminant Analysis)

ในการวิเคราะห์ดังกล่าว ใช้ชุดโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS/PC⁺ For WINDOWS และเพื่อให้การวิเคราะห์มีความครอบคลุมมากที่สุด ได้กำหนดขอบเขตของกลุ่มประชากรในหลายรูปแบบ ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ขอบเขตการวิเคราะห์ความแปรผันของประชากรเฟิร์นถิ่นกุ่ม ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และการวิเคราะห์การจัดจำแนก

เกณฑ์ในการจัดกลุ่มประชากร	ที่มาของข้อมูล			
	ลักษณะพื้นฐาน วิทยาของเฟิร์นที่ เจริญในธรรมชาติ	ลักษณะพื้นฐานวิทยา ของเฟิร์นที่เจริญ ในแปลงทดลอง	ลักษณะพื้นฐานวิทยา ของโครงสร้างที่ใช้ ในการสืบพันธุ์	ลักษณะกายวิภาค ของพืชที่เจริญ ในแปลงทดลอง
1. ระหว่างพื้นที่	/	/	/	/
2. ระหว่างกลุ่มที่จัดใหม่	/	/	/	/
3. ระหว่างภูมิภาค	/	/	/	/
4. ระหว่าง altitude	/	/	/	/
5. ระหว่าง habitat	/	/	/	/