บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. การเก็บตัวอย่างแพลงตอนสัตว์

การศึกษาแพลงตอนสัตว์บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน เริ่มตั้งแต่เดือนมีนาคม 2522 ถึงเดือนเมษายน 2523 โดยทำการเก็บตัวอย่างตามฤดูกาลได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว รวม 4 ครั้งดังนี้

ครั้งที่ 1	วันที่	19 – 21	มีนาคม 2522
ครั้งที่ 2	วันที่	25 – 27	สิงหาคม 2522
ครั้งที่ 3	วันที่	18 – 20	ธันวาคม 2522
ครั้งที่ 4	วันที่	19 – 20	เมษายน 2523

การเก็บตัวอย่างครั้งที่ 4 เป็นการทำซ้ำฤดูเดียวกันกับครั้งที่ 1 ซึ่งได้ตัวอย่างและข้อมูลไม่ครบ เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาชำรุด สถานีที่เก็บตัวอย่างมี 6 สถานี แต่ละสถานีจะเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง คือ ช่วงที่น้ำขึ้น 2 ครั้ง ช่วงน้ำลง 2 ครั้ง วิธีการเก็บตัวอย่างโดยใช้ถุงลากแพลงตอน (Plankton net) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของปากถุง 45 ซ.ม. มีขนาดตา 0.3 ม.ม. จุดประสงค์ต้องการลากตามแนวดิ่ง แต่เนื่องจากน้ำไหลเชี่ยวถุงลากแพลงตอนจึงเอียงจากแนวดิ่ง ดังนั้นจึงติด Flow meter (Tsurumi - Seiki - Kosakusho - Flow meter) เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาตรของน้ำที่ไหลผ่านถุงในการลากแต่ละครั้ง การเก็บรักษาตัวอย่างแพลงตอนสัตว์ทำได้โดยใช้สารละลาย ก. และสารละลาย ข. ซึ่งมีส่วนผสมดังต่อไปนี้ (Thakur, 1960)

สารละลาย ก.	โปตัสเซี่ยมไฮดรอกไซด์	8.75	กรัม
	กลีเซอรีน	25.5	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
สารละลาย ข.	ฟอร์มาลีน	5	มิลลิลิตร
	กลีเซอรีน	5	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	90	มิลลิลิตร

สารละลายนี้เหมาะสำหรับ crustacean larvae โดยเฉพาะลูกกุ้ง และสามารถใช้ได้กับแพลงตอนสัตว์ทั่ว ๆ ไป เมื่อได้ตัวอย่างแพลงตอนสัตว์มาแล้ว พยายามรินน้ำออกให้เหลือเพียงเล็กน้อย แล้วหยดสารละลายก.ลงไป 4 – 5 หยดเพื่อฆ่าแพลงตอนสัตว์ และเพื่อทำให้แพลงตอนสัตว์ตายในสภาพที่ระยางค์เหยียดออก ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที ล้างสารละลาย ก. ออกโดยใช้สารละลาย ข. 2 – 3 ครั้ง เสร็จแล้วเก็บรักษาตัวอย่างแพลงตอนสัตว์ไว้ในสารละลาย ข.

ต่อมาทำการวัดหาคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำบางประการ โดยทำทันทีในขณะที่เก็บตัวอย่าง คุณสมบัติของน้ำที่ทำการวัดได้แก่

1. <u>ความเค็มและอุณหภูมิ</u> (Salinity and temperature) ทำได้โดยใช้ Electrodeless induction salinometer ของ Beckman model ซึ่งสามารถวัดอุณหภูมิได้ในช่วง 0° – 40°ซ. (ค่าความถูกต้อง ± 0.50°ซ.) และวัดความเค็มได้ในช่วง 0 – 40%. (ค่าความถูกต้อง ± 0.50%.) เครื่องมือนี้ Calibrate โดยใช้ Know salinity method (Beckman's manual,1976)

2. <u>ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ</u> (Dissolved oxygen)หาได้โดยใช้ KAHLSICO model TDO-2 dissolved oxygen meter (ค่าความถูกต้อง ± 2%) เครื่องมือ calibrate โดยใช้ Winkler calibration method (KAHLSICO's manual, 1977)

3. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) หาได้โดยใช้ portable digital pH meter ของ KAHLSICO

4. ความลึกของน้ำ วัดโดยใช้เชือกสำหรับวัดความลึกที่ปลายมีตุ้มน้ำหนักสำหรับถ่วง ค่าที่วัดได้เป็นเมตร

สถานีที่เก็บตัวอย่างมี 6 สถานี โดยเริ่มจากปากแม่น้ำขึ้นไปทางต้นน้ำ ระยะทางที่ศึกษาจากสถานีแรกถึงสถานีสุดท้ายห่างกันประมาณ 10.6 ก.ม. สถานีที่ศึกษา (ภาพที่ 1 และ 2) มีจุดสังเกต (Land mark)ดังต่อไปนี้

สถานีที่ 1 เป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างสถานีวัดน้ำของกรมเจ้าท่า บริเวณนี้แม่น้ำกว้างประมาณ 1.30 ก.ม. ชายฝั่งทั้งสองข้างเป็นหาดเลน (Mud Flat) และมีการสะสมของดินตะกอนมาก น้ำบริเวณนี้จึงตื้นกว่าสถานีอื่น ๆ

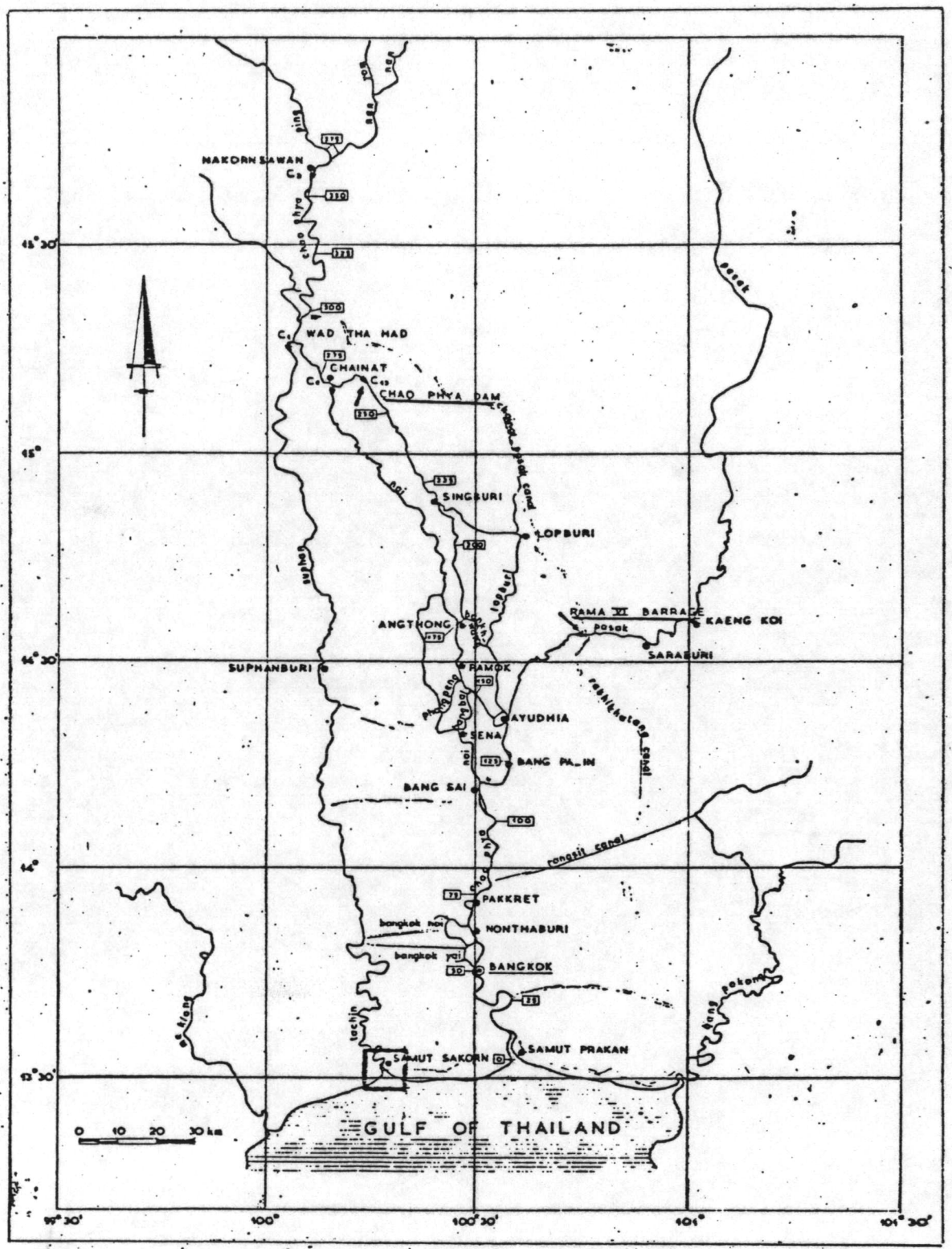
สถานีที่ 2 เป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างวัดกำพร้าซึ่งอยู่ฝั่งซ้าย (สังเกตโดยหันหน้าออกสู่ทะเล) และต้นไม้ใหญ่ซึ่งอยู่บนฝั่งขวา แม่น้ำบริเวณนี้กว้างประมาณ 625 เมตร

สถานีที่ 3 เป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างวัดสุทธิวาตวราราม (วัดช่องลม) ซึ่งอยู่ฝั่งขวา และบ้านสีเขียวซึ่งอยู่ฝั่งซ้าย แม่น้ำบริเวณนี้กว้างประมาณ 345 เมตร

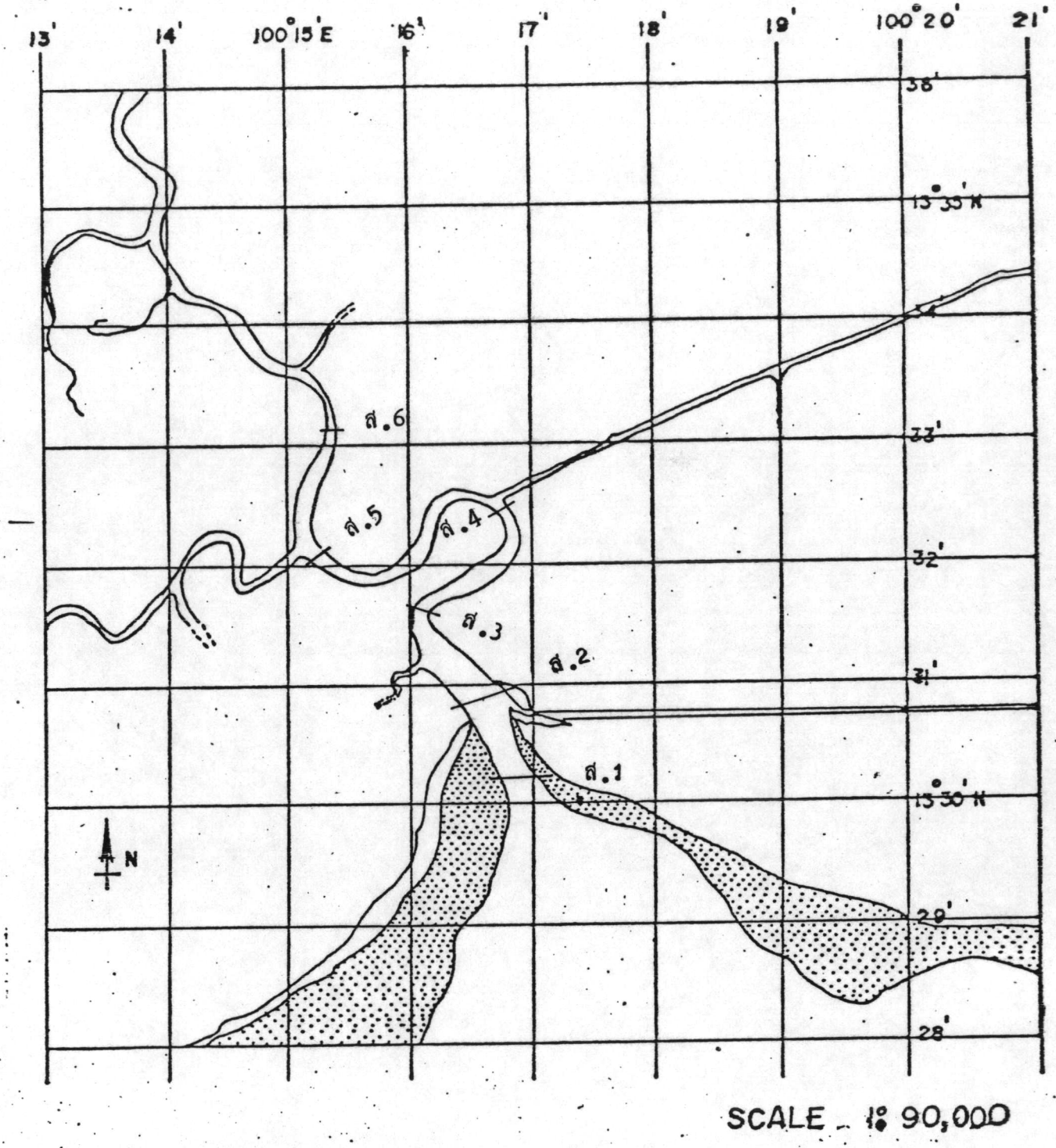
สถานีที่ 4 บริเวณใต้คลองมหาชัย ซึ่งอยู่ระหว่างถังประปาหน้าตึกกับวัดตึก แม่น้ำบริเวณนี้กว้างประมาณ 260 เมตร

สถานีที่ 5 บริเวณใต้คลองสุนัขหอน ซึ่งอยู่ระหว่างวัดหลังศาลประสิทธิ์ ซึ่งอยู่ฝั่งขวากับต้นไม้ใหญ่ซึ่งอยู่ฝั่งซ้าย แม่น้ำบริเวณนี้กว้างประมาณ 300 เมตร

สถานีที่ 6 บริเวณเหนือสะพานพุทธเลิศหล้านภาลัย ซึ่งอยู่ระหว่างวัดท่าทรายและบริษัทเอ็ม ไทย อินดัสเทรียล จำกัด แม่น้ำบริเวณนี้กว้างประมาณ 330 เมตร



ภาพที่ 1 แผนที่ปากแม่น้ำท่าจีนแสดงบริเวณที่ศึกษา (จาก NEDECO, 1965)



ภาพที่ 2 ปากแม่น้ำท่าจีนแสดงสถานีที่เก็บตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำตัวอย่างแพลงตอนสัตว์มาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เริ่มจากวัดปริมาตรของแพลงตอนสัตว์ทุกตัวอย่าง โดยทิ้งให้แพลงตอนสัตว์ตกตะกอนในกระบอกตวง แล้วอ่านปริมาตรของแพลงตอน นำแพลงตอนมาแบ่งออกเป็นส่วน ๆ (Fraction) โดยใช้ Folsm's Plankton divider เพื่อแบ่งแพลงตอนออกเป็น $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ แล้วแต่ความเหมาะสม ในกรณีที่แพลงตอนทั้งหมดมีปริมาณน้อยก็นำมาแยกชนิดได้เลย โดยไม่ต้องแบ่งเป็นส่วนย่อย

ตัวอย่างแพลงตอนที่แบ่งแล้วนี้นำมาแยกเอา Decapod larvae ออกโดยนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์ชนิดสองตา (Binocular sterioscopic microscope) ต่อมานำแพลงตอนที่เหลือมาแยกออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ โดยใช้เอกสารของ Davis (1955), Gosner (1971), Hardy (1971), Mori (1937), Newell (1963), Shirota (1966) และ Smith (1977) ประกอบการศึกษา

ต่อมาทำการนับจำนวนของแต่ละกลุ่ม เมื่อแยกชนิดและนับจำนวนทุกสถานีเรียบร้อยแล้ว นำ Decapod larvae ที่แยกไว้มาแบ่งกลุ่มแบ่งประเภทให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้เอกสารของ Williamson (1957) และ Rice (1980) ประกอบ ต่อจากนั้นทำการวาดรูปแพลงตอนสัตว์และ Decapod larvae อย่างละเอียด โดยใช้Camera Lucida ช่วย รูปทุกรูปที่วาดต้องมีสเกลบอกขนาดเป็นมิลลิเมตรไว้ ซึ่งแสดงได้โดยใช้ Stage Micrometer นำแพลงตอนสัตว์และ decapod larvae ที่วาดรูปเรียบร้อยแล้วมาทำเป็นสไลด์ถาวร (Permanent slides) โดยใช้ Fast green เป็นสีย้อม ต่อจากนั้นนำข้อมูลทั้งสอง replication มาหาค่าเฉลี่ยและคำนวณหาค่าต่อไปนี้

2.1 มวลชีวภาพและปริมาณของแพลงตอนสัตว์ นำปริมาตรและจำนวนของแพลงตอนสัตว์ที่วัดและนับได้จากตัวอย่างมาคำนวณหาว่ามีปริมาตรและจำนวนเท่าไร ในน้ำ 1,000 ลบ.ม. เพื่อใช้เป็นมาตรฐานเดียวกัน โดยใช้สูตร

$N_s = \frac{1,000\ N_o}{Rap}$ เมื่อ

N_s = ปริมาตรหรือจำนวนของแพลงตอนสัตว์ที่พบในสถานีนั้น ๆ ต่อน้ำ 1,000 ลบ.ม.

N_o = ปริมาตรหรือจำนวนของแพลงตอนสัตว์ที่ได้ในตัวอย่าง

R = จำนวนรอบของ Flow meter

a = พื้นที่หน้าตัดของปากถุงลากแพลงตอน

p = ระยะทางเป็นเมตรที่ทำให้ Flow meter หมุน 1 รอบ

กำหนดให้ $\frac{1,000}{Rap}$ เป็น Standard factor ของแต่ละสถานี

2.2 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้หลักการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of Variance) แบบ Split Plot design (Steel and Torrie, 1960) ดังตารางที่ 1

2.3 คำนวณหาดัชนีความแตกต่าง (Index of Species Diversity) ของ Decapod larvae ของแต่ละสถานีในแต่ละฤดูกาล โดยใช้สูตร

$$\bar{H} = - \sum_{i=1}^{s} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

เมื่อ $\bar{H}$ = ดัชนีความแตกต่าง

n_i = จำนวน Decapod larvae ต่อชนิด

N = จำนวน Decapod larvae ทั้งหมด

s = จำนวนชนิดต่อหน่วยพื้นที่

ตารางที่ 1 สูตรการวิเคราะห์ว่าเรียนซ์แบบ Split Plot Design

Source of Variation	df	Sum of Squares	Mean Squares	F	F_{α}
Whole unit					
Replications	r-1	$\frac{\sum_i X_{i..}^2}{ab} - \frac{T_{...}^2}{abr}$	$\frac{SS(R)}{r-1}$	$\frac{MS\ (R)}{MS\ (E)}$	$F_{0.05}\ (r-1),\ (a-1)\ (r-1)$
Factor A	a-1	$\frac{\sum_j X_{.j.}^2}{rb} - \frac{T_{...}^2}{abr}$	$\frac{SS(A)}{a-1}$	$\frac{MS\ (A)}{MS\ (E)}$	$F_{0.05}\ (r-1),\ (a-1)\ (r-1)$
Error (a)	(a-1)(r-1)	$\frac{\sum_{i,j} X_{ij}^2}{r} - \frac{T_{...}^2}{abr} - SS(R) - SS(A)$	$\frac{SS\ (E)}{(a-1)\ (r-1)}$		
Whole unit total	ar-1	$\frac{\sum_{i,j} X_{ij}^2}{b} - \frac{T_{...}^2}{abr}$			
Subunit					
Factor B	b-1	$\frac{\sum_{i,j} X_{ij.}^2}{b} - \frac{T_{...}^2}{abr}$	$\frac{SS(B)}{b-1}$	$\frac{MS\ (B)}{MS\ (E)}$	$F_{0.05}\ (b-1),\ a(r-1)\ (b-1)$
A x B	(a-1)(b-1)	$\frac{\sum_{j,k} X_{.jk}^2}{r} - \frac{T_{...}^2}{abr} - SS(A) - SS(B)$	$\frac{SS(AB)}{(a-1)\ (b-1)}$	$\frac{MS\ (AB)}{MS\ (E)}$	$F_{0.05}\ (a-1)\ (b-1),\ a(r-1)\ (b-1)$
Error (b)	a(r-1)(b-1)	$\sum_{i,jk} X_{ijk}^2 - T_{...}^2 - SS(\text{whole unit total}) - SS(B) - SS(AB)$	$\frac{SS(E)}{a(r-1)\ (b-1)}$		
Subunit total	ar(b-1)	SS (Total) - SS (Whole unit total)			
Total	abr - 1	$\sum_{i.j.k} X_{ijk}^2 - \frac{T_{...}^2}{abr}$			

2.4 <u>คำนวณหาความคล้ายคลึงกันของแต่ละสถานี</u> (Index of Similarity) โดยใช้ชนิดของแพลงตอนสัตว์ที่พบเป็นลักษณะที่นำมาศึกษา โดยใช้สูตร Similarity of Jaccard (Beers and Lockhart, 1962; Beers et al, 1962)

$$S_j = \frac{2C}{A + B}$$ เมื่อ

A = จำนวนชนิดที่พบในสถานี A

B = จำนวนชนิดที่พบในสถานี B

C = จำนวนชนิดที่พบทั้งสถานี A และสถานี B

จากนั้นนำเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันของแต่ละสถานีทั้งน้ำขึ้นและน้ำลงมาแสดงในรูป Dendrogram แล้วนำมาเปรียบเทียบกันในแต่ละฤดูกาล

2.5 <u>เขียนกราฟ</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของแพลงตอนสัตว์กับปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำ

2.6 <u>เขียนแผนภูมิ</u> แสดงการแพร่กระจายของแพลงตอนสัตว์และ Decapod larvae แต่ละชนิดทุกสถานีเปรียบเทียบระหว่างน้ำขึ้นน้ำลงในแต่ละฤดูกาล