

วัสดุและวิธีการในการวิจัย
(MATERIALS AND METHODS)



สถานีสุ่มตัวอย่าง (Sampling Stations)

การศึกษาไคพ้าในทะเลสาบสงขลาโดยไคแบ่งพื้นที่ทำการศึกษาในทะเลสาบและนอกทะเลสาบออกเป็น 4 บริเวณ (Figure 1) ในการแบ่งนี้โดยพิจารณาจากระดับความเค็มทั้งสี่บริเวณที่ระดับความเค็มไม่เท่ากัน จากบริเวณ I ที่มีระดับความเค็มสูงไปยังบริเวณ II, III และ IV ซึ่งมีระดับความเค็มต่ำ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากทะเลสาบสงขลามีทางคึกคอกกับทะเลนอกไคทางเดียว โดยมีบริเวณ I เป็นบริเวณที่อยู่นอกปากทะเลสาบสงขลา บริเวณ II เป็นบริเวณถัดเข้ามา จนกระทั่งถึงบริเวณ III และบริเวณ IV ตามลำดับ บริเวณเหล่านี้ส่วนใหญ่มีน้ำจืดจากทะเลสาบตอนในไหลมารวมควยโดยผ่านทางบริเวณ IV, III, II และ I ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการศึกษารายหลังที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของความเค็มระดับผิวหน้าของสถานีทำการสุ่มตัวอย่าง ทั้งในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลา สนับสนุนการแบ่งบริเวณทั้งสิ้นโดยอาศัยค่าของระดับความเค็มดังกล่าวแล้ว และในบริเวณทั้งสิ้นไคแบ่งออกเป็น 2 พวก คือ

1. สถานีเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน (Stations for Plankton Sampling) มีอยู่รวม 15 สถานี คือ สถานีที่ 1 ถึงสถานีที่ 15 และในเดือนสิงหาคมและพฤศจิกายน 2506 ได้เพิ่มขึ้นอีก 8 สถานี คือ สถานีที่ 4A, 5A, 6A, 11A, 12A, 13A, 14A และ 15A ตามลำดับ (Figure 1)

2. สถานีเก็บตัวอย่างลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย (Stations for Juvenile Shrimp Sampling) มีอยู่รวม 6 สถานี

สถานีทั้งสองพวกนี้อยู่ในบริเวณต่าง ๆ ดังนี้

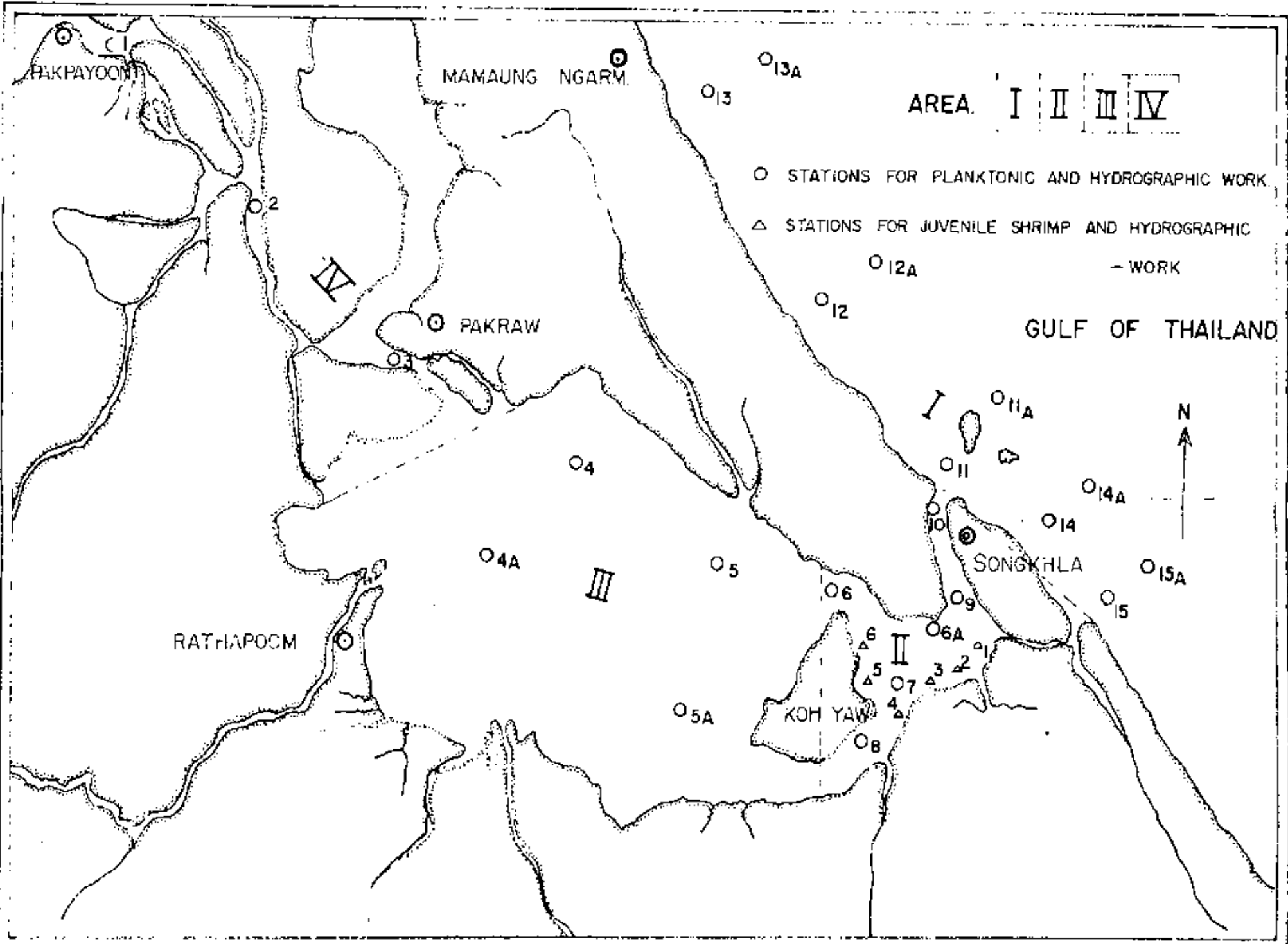


FIGURE 1. LOCATION OF SAMPLING STATIONS INSIDE AND OUTSIDE SONGKHLA LAKE.

บริเวณ I ประกอบด้วยสถานีที่เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนอยู่นอกปากทะเลสาบสงขลา ขนานตามแนวชายฝั่ง เรื่อยขึ้นไปทางคานเหนือและคานใต้ของเกาะหนูและเกาะแมว รวม 10 สถานี คือ สถานีที่ 11, 11A, 12, 12A, 13, 13A, 14, 14A, 15 และ 15A ตามลำดับ

บริเวณ II ประกอบด้วยสถานีที่เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน ตั้งแต่ปากทะเลสาบสงขลาลงมาถึงเกาะยอ รวม 6 สถานี คือ สถานีที่ 6, 6A, 7, 8, 9 และ 10 ตามลำดับ และสถานีที่เก็บตัวอย่างลูกกุ้งโตไม้เต็มวัยในบริเวณน้ำคั้น ซึ่งเป็นแหล่งเลี้ยงกุ้ง ใกล้กับเกาะยอ รวมทั้งหมด 6 สถานี คือ สถานีที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ

บริเวณ III ประกอบด้วยสถานีที่เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน ตั้งแต่เกาะยอเรื่อยขึ้นไปจนถึงปากกรอ รวม 4 สถานี คือ สถานีที่ 4, 4A, 5 และ 5A

บริเวณ IV ประกอบด้วยสถานีที่เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน ตั้งแต่ปากกรอเรื่อยขึ้นไปจนถึงปากพูน รวม 3 สถานี คือ สถานีที่ 1, 2 และ 3

วิธีดำเนินการสุ่มตัวอย่างในสนาม (Field Sampling Procedure)

ก. การศึกษาทางอุทกศาสตร์ (Hydrography) เก็บตัวอย่างน้ำทะเลเพื่อนำมาหาระดับความเค็ม และวัดอุณหภูมิที่ผิวน้ำเป็นประจำทุกสถานี ทุกเดือน ทั้งในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลา ตั้งแต่เดือนเมษายน 2505 - มกราคม 2507 ในการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลใช้ขวดแก้วขนาด 50 ลิ.บ.ช.ม. เก็บน้ำทะเลที่ระดับผิวน้ำแล้วนำมาหาการะดับความเค็มในห้องปฏิบัติการ ส่วนการวัดอุณหภูมิใช้นิโธเธอร์มอมิเตอร์ธรรมดาวัดเป็นองศาเซนติเกรด โดยใช้ถึงยาง 2 ชั้น เป็นฉนวนป้องกันการถ่ายเทความร้อนจากอากาศ เก็บน้ำทะเลที่ระดับผิวน้ำแล้ววัดทันทีขณะห้ปฏิบัติการ

ข. การสุ่มตัวอย่างแพลงก์ตอน (Plankton Sampling) เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนเป็นประจำทุกสถานี ทุกเดือน ทั้งในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลา ตั้งแต่

เดือนกุมภาพันธ์ 2505 - มกราคม 2507 การเก็บตัวอย่างลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะ
 แผลงคตอนนี้ โดยใช้ถุงแผลงคตอน Marutoku type B ขนาดปากกว้าง 45 ซม.ม.
 ถุงทำด้วย bolting silk ซึ่งมีขนาดตา 0.33 มม. ทำการลากโดยวิธี oblique
 haul โดยทำมุมประมาณ 45 องศา กับแนวตั้ง ระยะเวลาที่ใช้ในการลากประมาณ
 10 นาที ที่ปากถุงมีเครื่องวัดกระแส น้ำ (Flow meter) เพื่อบันทึกปริมาตรของน้ำ
 ทะเลที่ไหลผ่านถุงแผลงคตอน แล้วนำมาคำนวณหาจำนวนตัวของลูกกุ้งต่อปริมาตรน้ำ
 1,000 ลิ.ม.เมตร ตัวอย่างแผลงคตอนที่ได้นำมาดองใน 10 % formalin ในขวด
 แก้วปากกว้างรูปทรงกระบอก ขนาดปากกว้าง 8 ซม.ม. สูง 15 ซม.ม.

ค. การสุ่มตัวอย่างลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย (Juvenile Shrimp Sampling)

ใช้เครื่องมือรูลูกกุ้ง (Push net) ทำการเก็บตัวอย่างลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย ที่สถานีทั้ง
 6 สถานี ในทะเลสาบสงขลา ขนาดปากถุงกว้าง 35 ซม.ม. ยาว 75 ซม.ม. รูป
 สี่เหลี่ยมผืนผ้า ตาอวนมี 2 ขนาด ตอนปากถุง 0.2 ซม.ม. ตอนก้นถุง 0.1 ซม.ม. ที่
 ขอบล่างทั้งสองข้างมีไม้เลื่อนคล้ายสกีเพื่อสะดวกในการรูลไปตามพื้นท้องทะเลที่เป็นโคลน
 มีก้ามยาวทั้งสองข้างยื่นไปข้างหลังทางปลายถุง สำหรับถือในการรูล (Figure 2 A)
 ทำการรูลลูกกุ้งเป็นประจำทุกวันเดือนในเวลากลางคืน ตั้งแต่เวลาประมาณ 21.00 น.
 ถึง 24.00 น. ที่สถานีที่เก็บตัวอย่างลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย รวม 6 สถานี ในการรูลที่
 สถานีหนึ่ง ๆ นั้นให้ไต่ระยะทาง 50 เมตร ใช้คนรูล 2 คน รูลไปตามพื้นท้องทะเล
 ตัวอย่างกุ้งนำมาใส่ในกะแกรงลวด (strainer) (Figure 2 B) ก่อนเพื่อสะดวก
 ในการแยกตัวอย่างลูกกุ้งออกจากโคลนและสาหร่ายทะเล จากนั้น นำมาดองในน้ำยา
 10 % formalin เริ่มทำการรูลลูกกุ้งตั้งแต่เดือนเมษายน 2505 - มกราคม 2507
 นอกจากนั้น ยังได้ทำการเก็บตัวอย่างลูกกุ้งในเวลากลางวันอีกด้วย ตื่อนำมาเปรียบเทียบ
 ผลการจับระหว่างเวลากลางวันและเวลากลางคืน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2506 -
 มกราคม 2507

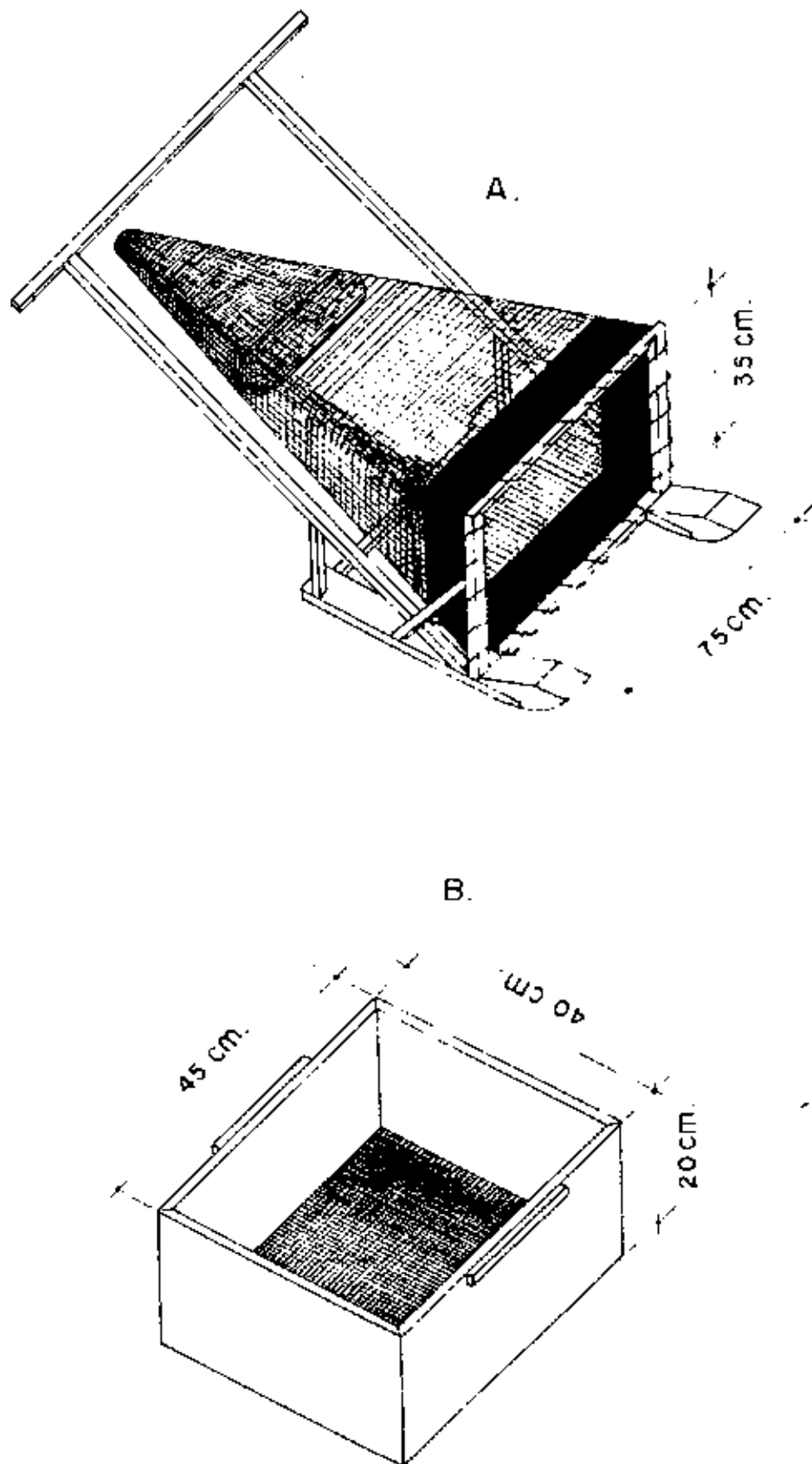


FIGURE 2 DIAGRAM OF PUSH NET (A) AND STRAINER (B)

ง. การสุ่มตัวอย่างกุ้งโตเต็มวัย (Adult Shrimp Sampling) สุ่มตัวอย่างกุ้งโตเต็มวัยจากเครื่องมือจับสัตว์น้ำของชาวประมง คือ โพงหางและอวนสามคน ซึ่ง เป็นเครื่องมือที่ทำการอยู่ในบริเวณ II เท่านั้น และสุ่มตัวอย่างจากตลาดเป็นประจำทุกเดือน ๆ ละประมาณ 5 - 8 ครั้ง ๆ ละ ประมาณ 1 ก.ก. ตัวอย่างที่ได้นอกจากกุ้งทะเลใน subfamily Penaeinae แล้ว ยังมีสัตว์น้ำอื่น ๆ รวมอยู่ด้วย เริ่มทำการตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2505 - มกราคม 2507

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (Laboratory Study)

ก. การวิเคราะห์ลักษณะของลูกกุ้งวัยอ่อนระยะแพลงคตอน (Qualitative Analyses of Planktonic Stages of Penaeid Larvae) ตัวอย่างแพลงคตอนที่นำมาศึกษา ได้มาจากตัวอย่างของสถานีที่เก็บแพลงคตอนทั้งในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลา ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่าง ๆ ของกุ้งใน subfamily Penaeinae รวม 6 ระยะที่พบจากตัวอย่าง จากนั้น ก็นำเอามาไลบน slide โดยใช้พาราฟินเป็น media แล้วใช้เข็มพยายามจัดให้ลักษณะต่าง ๆ มองเห็นใต้ง่ายที่สุด จากนั้นก็เอา cover slide ปิด แล้วนำมาวาดรูปแสดงลักษณะต่าง ๆ จาก Shadow graph พร้อมกับวัดความยาวเป็นม.ม. ด้วย micrometer ที่ eye piece ของกล้องจุลทรรศน์

ข. การวิเคราะห์ทางปริมาณ (Quantitative Analyses)

1. ข้อมูลทางอุทกศาสตร์ (Hydrographic Data)

1.1 อุณหภูมิของน้ำ (Water Temperature) ค่าอุณหภูมิของน้ำแต่ละสถานีที่ได้จากการบันทึกในสนามเป็นองศาเซนติเกรด แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของแต่ละบริเวณ

1.2 ความเค็ม (Salinity) การหาความเค็มของน้ำในทะเลสาบสงขลานั้น ใช้วิธีของ Mohr ซึ่งใช้ Standard silver nitrate titration มี Potassium chromate เป็น indicator ในการ titration

ครั้งแรกต้องหา chlorinity ก่อน จากสูตร

$$Cl = \frac{X \cdot N \cdot 35.457}{V}$$

โดย N = Normality ของ Standard Silver Nitrate Solution

V = ปริมาตรของน้ำทะเลที่ใช้ในการ titrat เป็น ml.

X = ปริมาตรของน้ำยา silver nitrate เป็น ml.

จากนั้นจึงนำมาเปลี่ยนเป็น Salinity โดยสมการของ Knudsen (Sverdrup et al., 1942) ซึ่งได้รับการรับรองจาก International Commission ดังนี้

$$S \text{ ‰} = 0.030 \cdot Cl \text{ ‰}$$

การหาระดับความเค็มโดยทำคัลคูลกันมา เป็นประจำทุกเดือนที่สถานต่าง ๆ ทั้งในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลา

2. ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะแพลงก์ตอน (Planktonic Stages of Penaeid Larvae) การนับจำนวนลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะแพลงก์ตอนนั้นได้จากตัวอย่างแพลงก์ตอน ที่ได้จากสถานีสำหรับการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนทั้ง 4 บริเวณ ในทะเลสาบและนอกทะเลสาบสงขลาเป็นประจำทุกเดือนและทุกสถานี การดำเนินการนับลูกกุ้ง ดังนี้

1. รินน้ำใส่ออกจากขวดตัวอย่างแพลงก์ตอนให้เหลือเฉพาะส่วนที่ตกตะกอน
2. นำมาเทใส่ใน Petri dish ซึ่งได้ขีดเส้นเครื่องหมายเป็นแนวขนานทางกึ่งกลางของ Petri dish เพื่อสะดวกในการเลือกลูกกุ้งออกจากตัวอย่างแพลงก์ตอน

3. นับจำนวนตัวของระยะทาง ๆ แล้วใส่ไว้ในขวดพลาสติกใสเล็ก มีระยะทาง ๆ ดังนี้ Nauplius, First protozoa, Second protozoa, Third protozoa, Mysis และ Post larva

4. นับและเลือกลูกกุ้งโดยใช้กล้อง Stereoscopic microscope ซึ่งมีกำลังขยาย x 10, x 20, x 30 และ x 40

5. จากนั้นนำเอาจำนวนลูกกุ้งทั้งหมดมาคำนวณหาจำนวนตัวของลูกกุ้งต่อน้ำ 1,000 ล.บ. เมตร โดยใช้สูตร

$$V = a \cdot \frac{n}{N}$$

โดย V = ปริมาตรของน้ำเป็น ล.บ. เมตร
 a = พื้นที่หน้าตัดของกึ่งแพลงก์ตอนเป็นตารางเมตร
 n = จำนวนรอบของ Flowmeter ที่อ่านได้
 N = จำนวนรอบของ Flowmeter ที่ได้จากการลาก ระยะทาง 1 เมตร

6. นำเอาค่าจำนวนตัวของลูกกุ้งทุกระยะ ต่อน้ำ 1,000 ล.บ. เมตร ทุกสถานี ในทะเลสาบสงขลาและนอกทะเลสาบสงขลา นำมาหาค่าเฉลี่ยของแต่ละบริเวณ

3. ลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย (Juvenile Penaeid Shrimp) ลูกกุ้งโตไม่เต็มวัยที่ได้จากเครื่องมือรุ่นลูกกุ้งนั้น นำมาแยกชนิดนับจำนวนตัวโดยเอาตัวอย่างลูกกุ้งมาใส่ในตาชั่ง จากนั้น ไซปากลิ้มแยกชนิดและนับจำนวนตัวด้วย พร้อมกับบันทึกหมายเลขขวด ความเต็ม อุณหภูมิ ตำแหน่งสถานที่ที่สุ่มตัวอย่าง การนับจำนวนลูกกุ้งนับหมดทั้งขวด การพิจารณาลักษณะของกุ้งระยะนี้ต้องใช้กล้อง Stereoscopic microscope กำลังขยาย x 10 และ x 20 จากนั้นก็นำมาคำนวณหาจำนวนตัวของลูกกุ้งต่อปริมาตรน้ำ 1,000 ล.บ. เมตร โดยทราบแล้วว่า ปริมาตรของน้ำที่ไหลผ่านจุดที่ระบุในระยะทาง 50 เมตร มีปริมาณเท่ากับ 13.125 ล.บ. เมตร ($.75 \div .35 \div 50$)

4. กุ้งโตเต็มวัย (Adult Penaeid Shrimp) กุ้งที่สุ่มตัวอย่างจาก
เครื่องมือโพงทางและอวนสามลอนนั้น นำมาดำเนินการดังนี้

1. แยกชนิดต่าง ๆ ของกุ้ง
 2. นับจำนวนตัวของกุ้งแต่ละชนิด
 3. นำมาวัดความยาว carapace ความยาว rostrum และความยาว
ลำตัว ซึ่งน้ำหนัก เพศ ของกุ้งรวม 5 species
 4. นำมาหาเปอร์เซ็นต์ของกุ้งแต่ละชนิดทุกเดือน
- ส่วนกุ้งโตเต็มวัยที่สุ่มตัวอย่างจากตลาด นำมาวัดความยาว carapace
ความยาว rostrum และความยาวลำตัว ซึ่งน้ำหนัก เพศ ของกุ้งทุกตัวรวม 5
species

ค. การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical Analyses)

1. The Student "t" Test ตัวอย่างกุ้งโตเต็มวัย รวบรวม
ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2505 - มกราคม 2507 รวม 5 species ศึกษาเกี่ยวกับ
sexual dimorphism ของความยาวทั้งหมดโดยใช้ Student "t" Test
(Fisher, 1924) เปรียบเทียบความแตกต่างของความยาวทั้งหมด ของตัวผู้และ
ตัวเมีย โดยใช้สมการดังนี้

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{Sp^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

$$d.f. = n_1 + n_2 - 2$$

$$Sp^2 = \frac{(n_1 - 1) S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

โดย \bar{X}_1 และ \bar{X}_2 เป็นความยาวเฉลี่ยของตัวผู้และตัวเมีย n_1 และ n_2 เป็นจำนวนของตัวผู้และตัวเมีย ถ้าค่า t ที่ได้น้อยกว่า $t.05$ ใน Snedecor's Table of t -distribution (1956, p46) = non significance ถ้ามากกว่า $t.05$ แต่น้อยกว่า $t.01$ = significance แต่ถ้ามากกว่า $t.01$ = highly significance

2. The "Chi-Square" Test ตัวอย่างลูกกุ้งโตไม่เต็มวัย

รวบรวมตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2506 - มกราคม 2507 รวม 4 species นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของลูกกุ้งโตไม่เต็มวัยที่จับได้ในเวลากลางวันและกลางคืน โดยใช้สูตร ดังนี้

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

โดยค่า O และ E คือค่า observed และค่า expected ของลูกกุ้งโตไม่เต็มวัยที่จับได้ในเวลากลางวันและกลางคืน

3. สหสัมพันธ์และการถดถอย (Correlation and Regression)

ตัวอย่างกุ้งที่ไล่จากเครื่องมือโพงหางและอวนสามคน ซึ่งประกอบด้วยกุ้งโตเต็มวัยและลูกกุ้งโตไม่เต็มวัยของกุ้ง Metapenaeus monoceros ทั้งตัวผู้และตัวเมีย มาศึกษาสหสัมพันธ์โดยนำมาหาความสัมพันธ์ของความสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) " r " และการถดถอย โดยนำมาหาความสัมพันธ์ของการถดถอย (Regression Coefficient) " b " ของความสัมพันธ์ระหว่างความยาวทั้งหมด ซึ่งเป็นค่า independent variable กับน้ำหนักตัว ความยาว carapace ความยาว rostrum และความยาวของลำตัว ซึ่งเป็นค่า dependent variables จากสูตร ดังนี้

$$r = \frac{\sum XY - (\sum X)(\sum Y)/n}{\sqrt{[\sum X^2 - (\sum X)^2/n][\sum Y^2 - (\sum Y)^2/n]}}$$

$$b = \frac{\sum XY - \sum X \sum Y/n}{\sum X^2 - (\sum X)^2/n}$$

โดย X เป็นความยาวทั้งหมด ส่วน Y เป็นค่าของน้ำหนักตัว ความยาว carapace ความยาว rostrum และความยาวของลำตัว ตามลำดับ n คือ จำนวนตัวของกุ้งที่นำมาศึกษา