

บทที่ 2

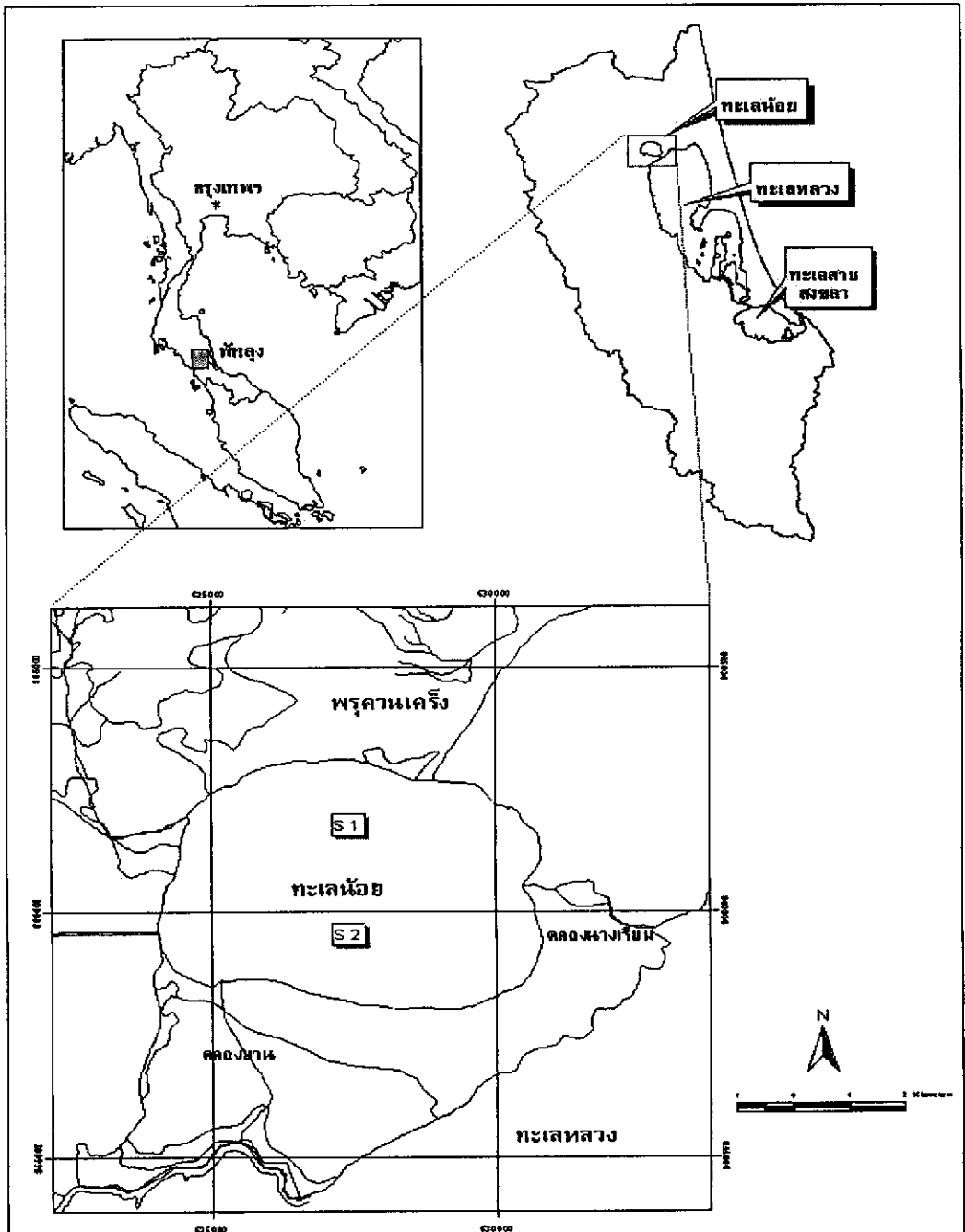
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 การสำรวจและสถานีเก็บตัวอย่าง

2.1.1 การสำรวจเบื้องต้นสถานีเก็บตัวอย่าง

กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างแบ่งตามความแตกต่างทางลักษณะภูมิประเทศ และการแพร่กระจายของพืชน้ำ แบ่งออกเป็น 2 สถานี คือ ทางทิศเหนือและทิศใต้ (ภาพที่ 1) แต่ละสถานีประกอบด้วย 5 แหล่งที่อยู่อาศัยย่อย (microhabitats) คือ ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) จูดหนู (*Eleocharis ochrostachys*) บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) บัวสาย (*Nymphaea lotus*) และสาหร่าย และเก็บตัวอย่าง 10 ซ้ำในแต่ละแหล่งที่อยู่อาศัยย่อย โดยใช้สวิงเก็บตัวอย่างขนาด 30x30 ตารางเซนติเมตรและใช้ผ้าขนาดตาประมาณ 300 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างสูงจากพื้นดิน 10 เซนติเมตรเป็นระยะทาง 90 เซนติเมตร ยกเว้นผักตบชวาจะเก็บ 3 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง (พื้นที่หน้าตัดรวมเท่ากับ 30x90 ตารางเซนติเมตร)

นำข้อมูลชนิดและจำนวนตัวอย่างในแต่ละแหล่งที่อยู่อาศัยย่อยจากการสำรวจเบื้องต้น มาวิเคราะห์หาจำนวนซ้ำที่เหมาะสมและกำหนดแหล่งที่อยู่อาศัยย่อย เก็บตัวอย่างทั้ง 2 สถานี เนื่องจากบัวสายพบไม่ตลอดทั้งปีและมีจำนวนมากในฤดูแล้ง (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) การเก็บตัวอย่างจึงเลือกเพียง 4 แหล่งที่อยู่อาศัยย่อย คือ ผักตบชวา จูดหนู บัวหลวง และสาหร่าย เมื่อพิจารณารูปภาพการเพิ่มขึ้นของจำนวนชนิดตัวอย่างที่ได้จากการเก็บจำนวนซ้ำสะสม พบว่า ผักตบชวามีความหลากหลายและจำนวนของตัวอ่อนแมลงปอมากที่สุด และจำนวนชนิดจะเริ่มคงที่เมื่อเก็บตัวอย่าง 6 ซ้ำ (ภาคผนวก 1) ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้จึงเก็บตัวอย่าง 8 ซ้ำทั้ง 4 แหล่งที่อยู่อาศัยย่อย (รวมทั้งหมด 64 ตัวอย่างต่อครั้ง) แต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างจะหลีกเลี่ยงเส้นทางการเดินเรือและผลกระทบจากชุมชนและน้ำเค็มจากทะเลสาบสงขลา และเก็บตัวอย่างกระจายให้ทั่วตลอดทั้งสถานี ซึ่งพืชน้ำในแต่ละสถานีจะมีลักษณะการแพร่กระจายแตกต่างกัน



ภาพที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง S1 คือ สถานี 1 และ S2 คือ สถานี 2

2.1.2 สถานที่เก็บตัวอย่าง

สถานี 1 อยู่ทางทิศเหนือตั้งแต่บ้านบนกลางถึงคลองนางเรียม (ภาพที่ 2) มีพืชน้ำชนิดต่างๆขึ้นปกคลุมเป็นบริเวณกว้างจากริมฝั่งจนเกือบถึงกลางทะเลน้อย ซึ่งผักตบชวาและสาหร่ายจะพบตลอดทั้งแนว โดยเฉพาะสาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillata*) และสาหร่ายพวงชะโด (*Ceratophyllum demersum*) พบมากในบริเวณใกล้บ้านบนกลาง ส่วนสาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea*) จะพบบริเวณใกล้พรวนเครื่อง แต่จุดหนูและบัวหลวงส่วนใหญ่พบอยู่บริเวณใกล้คลองนางเรียม นอกจากนี้สถานี 1 ยังพบบัวสายเป็นจำนวนมากในช่วงฤดูแล้ง และน้ำในบริเวณนี้จะมีลักษณะขุ่นและมีตะกอนสีน้ำตาล เนื่องจากอยู่ติดกับป่าพรวนเครื่อง

สถานี 2 อยู่ทางทิศใต้ตั้งแต่บ้านทะเลน้อยถึงคลองนางเรียม (ภาพที่ 3) มีพืชน้ำขึ้นปกคลุมน้อยกว่าสถานี 1 พืชน้ำส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่ใกล้ริมฝั่งและแพร่กระจายอยู่บริเวณใกล้คลองนางเรียมมากกว่าบ้านทะเลน้อย ผักตบชวาพบกระจายอยู่ทั่วไปและพบสาหร่ายข้าวเหนียวเป็นส่วนใหญ่ ส่วนจุดหนูและบัวหลวงจะพบอยู่บริเวณใกล้คลองนางเรียม บัวสายพบค่อนข้างน้อย นอกจากนี้บริเวณริมฝั่งยังมีต้นกง (*Hanguana malayana*) ขึ้นหนาแน่น

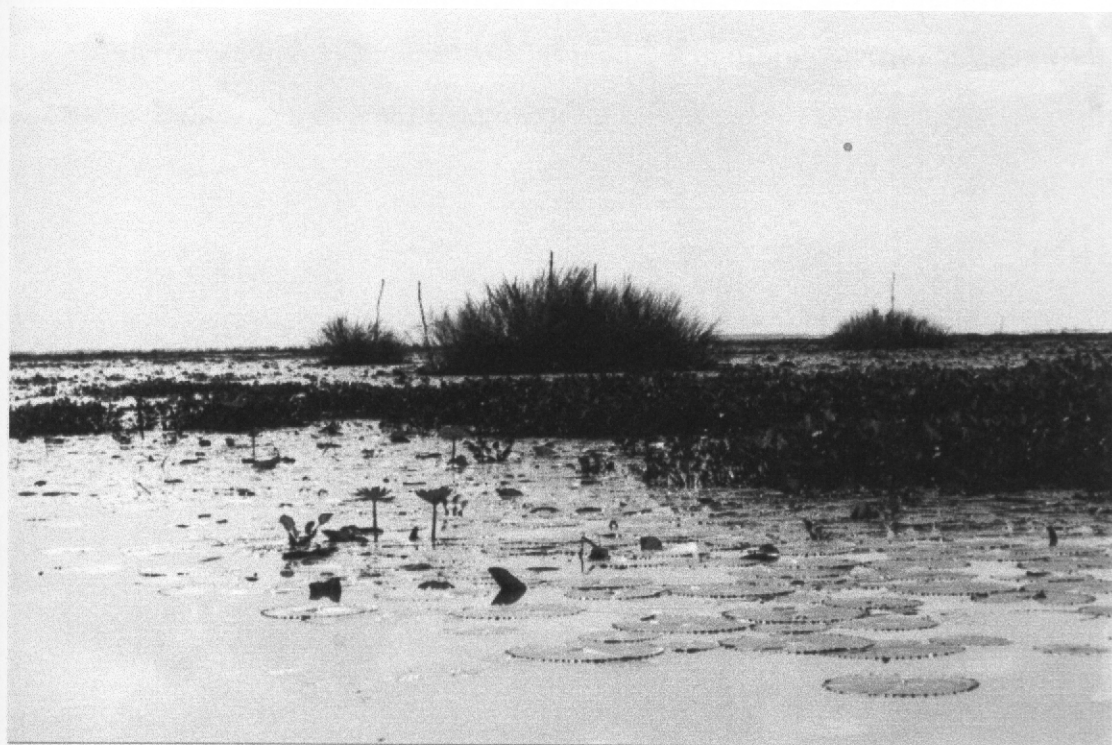
2.2 วิธีการศึกษา

2.2.1 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ทำการวัดคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำในทั้ง 2 สถานีทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง โดยเลือกบริเวณกึ่งกลางของแต่ละสถานีเป็นจุดเก็บตัวอย่างคุณภาพน้ำ สำหรับปริมาณน้ำฝนจะใช้ข้อมูลจากศูนย์อุทกวิทยาและบริหารน้ำภาคใต้ จังหวัดพัทลุง วัดความลึกด้วยแท่งเหล็กวัดระดับความลึก และวัดค่าพารามิเตอร์ต่างๆทั้งระดับผิวน้ำและพื้นท้องน้ำ โดยการเก็บตัวอย่างน้ำด้วยกระบอกเก็บน้ำขึ้นมานบนเรือแล้วทำการวัดพารามิเตอร์ต่างๆทันที ได้แก่ อุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ความเป็นกรด-ด่างด้วยพีเอชมิเตอร์ (pH meter) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำด้วยเครื่องมือวัดดีไอมิเตอร์ (DO meter) การนำไฟฟ้าด้วยเครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า (Conductivity meter) และความเค็มด้วยเครื่องมือวัดความเค็ม (Salinometer)



ภาพที่ 2 สถานีเก็บตัวอย่าง : สถานี 1 (S1)



ภาพที่ 3 สถานีเก็บตัวอย่าง : สถานี 2 (S2)

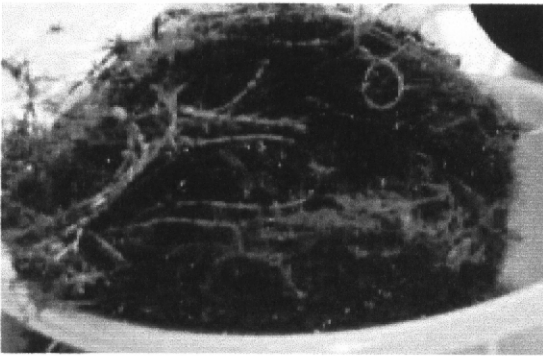
2.2.2 การเก็บตัวอย่างในภาคสนาม

การสุ่มเก็บตัวอย่างเป็นแบบเชิงกึ่งปริมาณโดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือนเป็นเวลา 1 ปี จาก 2 สถานี 4 แหล่งที่อยู่อาศัยย่อย (ภาพที่ 4) จำนวน 8 ซ้ำต่อแหล่งที่อยู่อาศัยย่อยเพื่อศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนแมลงปอ ในการเก็บตัวอย่างจะใช้กรอบเหล็กขนาด 50x100 ตารางเซนติเมตรผูกด้วยท่อนว้างให้ลอยบนผิวน้ำในบริเวณที่ต้องการเก็บตัวอย่าง แล้วใช้สวิงเก็บตัวอย่างมีขนาดพื้นที่หน้าตัด 30x30 ตารางเซนติเมตรทำด้วยผ้าขนาดตาประมาณ 300 ไมโครเมตร ลากในแนวระนาบตามระดับความลึกที่มีพืชน้ำชนิดนั้นๆ ขึ้นอยู่ในพื้นที่ที่กำหนดไว้ สำหรับการเก็บตัวอย่างในผักตบชวาจะใช้สวิงช้อนใต้รากแล้วตั้งต้นที่อยู่นอกกรอบเหล็กสวิงเก็บตัวอย่างออกทิ้ง นำตัวอย่างที่ได้มาล้างและแช่ยาฟิซน้าภายในสวิงและกะละมัง เพื่อให้ตัวอ่อนแมลงปอหลุดออก และตรวจซ้ำตามลำดับและรากของพืชน้ำทุกครั้งก่อนนำไปทิ้ง กรองตัวอย่างที่ล้างในกะละมังด้วยสวิงกรองตัวอย่าง นำตัวอ่อนแมลงปอและตัวอย่างที่ได้ใส่ในถุงพลาสติกแยกกัน แช่ในกระติกน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างไปแยกตัวอ่อนแมลงปอทั้งที่ยังมีชีวิตอยู่ในห้องปฏิบัติการ ตัวอ่อนของแมลงปอบางส่วนจะถูกนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต ส่วนที่เหลือเก็บรักษาด้วยแอลกอฮอล์ 70% เช่นเดียวกับตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างจะนำไปแยกตัวอ่อนแมลงปอภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโออีกครั้ง

ในการศึกษาวัฏจักรชีวิตและการเจริญเติบโต ทำการเก็บตัวอย่างเฉพาะในผักตบชวาและสาหร่าย โดยเก็บทุก 2 สัปดาห์เป็นเวลาประมาณ 3 เดือน



(ก.) ผักตบชวา



(ข.) พืชใต้น้ำ



(ค.) บัวหลวง



(ง.) พืชใต้อาบน้ำ

ภาพที่ 4 แหล่งที่อยู่อาศัยย่อย (ก. ผักตบชวา ข. พืชใต้น้ำ ค. บัวหลวง ง. พืชใต้อาบน้ำ)

2.2.3 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

- การจำแนกชนิด

นำตัวอ่อนระยะสุดท้ายของแมลงปอมาชนิดละ 5 ตัวเลี้ยงในตู้เลี้ยงตัวอ่อนแมลงปอ (Aquarium) ตู้ละ 1 ตัวจนเป็นตัวเต็มวัย เก็บคราบไว้เพื่อใช้ยืนยันชนิดของตัวอย่าง ส่วนตัวเต็มวัยนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนแห้งและเก็บในกล่องเก็บแมลง จำแนกชนิดแมลงปอถึงระดับสกุล (genus) หรือชนิด (species) เท่าที่จะสามารถเป็นไปได้ โดยใช้เอกสารอนุกรมวิธาน (พิสุทธ์, 2538; Pritchard and Smith, 1956; Needham and Needham, 1962; Bland and Jaques, 1978; Westfall, 1978; Williams, 1980; McCafferty, 1981; Eak-Amnuay, 1982; Hawking, 1986; Westfall, 1987; Watson *et al.* 1991; Chu and Cutkomp, 1992; Williams and Feltmate, 1992; Asahina, 1993; Westfall and Tennessen, 1996; Dudgeon, 1999; Hamalainen and Pinratana, 1999) และนำตัวอย่างของตัวเต็มวัยที่ได้ไปตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์กับตัวอย่างแมลงปอในพิพิธภัณฑ์ส่วนตัวของภราดรอำนวย ปิ่นรัตน์ ที่โรงเรียนเซนต์คาเบรียล ดุสิต กรุงเทพมหานคร

- อัตราการเจริญเติบโต

นำตัวอ่อนของแมลงปอ 4 ชนิดชนิดละ 10 ตัวที่มีขนาดเล็กมาเลี้ยงในตู้เลี้ยงตัวอ่อนแมลงปอ Aquarium ตู้ละ 1 ตัว วัดขนาดความกว้างส่วนหัวเริ่มต้น แล้วนำไปเลี้ยงในน้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส โดยใส่พืชน้ำเพื่อให้ตัวอ่อนแมลงปอเกาะและให้ลูกน้ำยุงและแพลงก์ตอน เช่น ไรน้ำ (cladocera) และโคพีพอด (copepoda) เป็นอาหาร หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการลอกคราบทุกวันหากมีการลอกคราบจะเก็บคราบและวัดขนาดความกว้างส่วนหัวของตัวอ่อนพร้อมทั้งบันทึกระยะเวลาทุกครั้ง เพื่อใช้ในการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตของแต่ละชนิด โดยพิจารณาจากอัตราการเพิ่มขนาดความกว้างส่วนหัว (Growth rate in the form of head width increases, GHW) เนื่องจากขนาดความกว้างส่วนหัวมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต เพราะการเพิ่มขนาดและความยาวของลำตัวมีผลทำให้ขนาดความกว้างส่วนหัวเพิ่มขึ้นด้วย (Corbet, 1999; Salmah *et al.*, 1999) อีกทั้งยังสามารถใช้ในการแบ่งระยะ (instar) ของตัวอ่อนแต่ละชนิด (Benke and Benke, 1975) แล้วใช้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของตัวอ่อนแมลงปอชนิดเด่นในธรรมชาติ

อัตราการเจริญเติบโตสามารถคำนวณได้จากอัตราการเพิ่มขนาดความกว้างส่วนหัว (Growth rate in the form of head width increases, GHW) (Hauer and Benke, 1987) ดังสมการ

$$GHW = \frac{(HW_2/HW_1)}{t}$$

โดยที่ GHW คือ อัตราการเพิ่มขนาดความกว้างส่วนหัว (มิลลิเมตรต่อมิลลิเมตรต่อวัน)

HW_1 คือ ขนาดความกว้างส่วนหัวเริ่มต้น (มิลลิเมตร)

HW_2 คือ ขนาดความกว้างส่วนหัวสุดท้าย (มิลลิเมตร)

t คือ จำนวนวัน (วัน)

- วัฏจักรชีวิต

วัดขนาดความกว้างส่วนหัวของตัวอ่อนแมลงปอแต่ละชนิดทั้งหมดที่ได้จากการเก็บตัวอย่างในภาคสนาม และนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนตัวและขนาดความกว้างส่วนหัวของแต่ละชนิด แล้วนำข้อมูลขนาดความกว้างส่วนหัวของตัวอย่างที่เลี้ยงแล้วลอกคราบมาเปรียบเทียบเพื่อกำหนดช่วงขนาดความกว้างส่วนหัวของตัวอ่อนแมลงปอในการเจริญเติบโตแต่ละระยะ (size classes) ของแต่ละชนิด (Ferrerias-Romero, 1991; Bennett and Mill, 1993; Salmah *et al.*, 1999)

นับจำนวนตัวอย่างแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของแต่ละชนิดในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่าง แล้วนำมาเขียนกราฟแท่งความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความกว้างส่วนหัวของแต่ละชนิดกับเวลาที่เก็บตัวอย่าง (Size Frequency Histogram, SFH) โดยความถี่ของจำนวนตัวอย่างคือ สัดส่วนของจำนวนตัวอ่อนแมลงปอในแต่ละระยะต่อจำนวนตัวอ่อนทั้งหมดของแต่ละชนิดในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่าง

- องค์ประกอบของชนิดอาหารในทางเดินอาหาร (Gut contents)

สุ่มตัวอ่อนของแมลงปอ 4 ชนิดเด่น (อันดับย่อย Anisoptera และ Zygoptera อย่างละ 2 ชนิดที่พบจำนวนมากที่สุด) ในระยะสุดท้ายหรือก่อนสุดท้ายจากตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูแล้ง (เดือนมกราคมถึงพฤษภาคม) และฤดูฝน (เดือนมิถุนายนถึงธันวาคม) โดยแบ่งฤดูกาลตามลมมรสุมที่พัดผ่านทางภาคใต้ฝั่งตะวันออก (อุทกวิทยาและบริหารน้ำภาคใต้, ม.ป.ป.; พัชรี, 2542) มาฤดูละ 6 ตัวต่อชนิด เพื่อศึกษาองค์ประกอบของชนิดอาหารในทางเดินอาหารโดยใช้ปากคืบส่วนหัวของสัตว์ตัวอย่างออกจากอกปล้องแรก (prothorax) ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริ

โอแล้วนำส่วนของทางเดินอาหารมาเกลี่ยลงบนสไลด์และทำเป็นสไลด์แบบกึ่งถาวร (semi-permanent) บันทึกและจำแนกชนิดอาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมปาวด์ตามประเภทของอาหารแยกออกเป็น 3 กลุ่ม คือ สัตว์ ชิ้นส่วนพืช และเศษซากต่างๆ (detritus) (Peckarsky, 1996) สำหรับสัตว์ให้จำแนกชนิดจนถึงระดับวงศ์หรือระดับต่ำสุดที่เป็นไปได้ โดยพิจารณาจากชิ้นส่วนที่เหลืออยู่ใช้เปรียบเทียบกับชนิดของเหยื่อที่พบในธรรมชาติ แล้วบันทึกความถี่ของเหยื่อแต่ละชนิดที่พบในทางเดินอาหาร และคำนวณผลรวมของความถี่ทั้งหมดของเหยื่อแต่ละชนิดที่พบในตัวอ่อนแมลงปอแต่ละชนิด แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าดัชนี Overlap index (Oxy)

2.2.4 การคำนวณและการวิเคราะห์ข้อมูล

- ค่าดัชนีการซ้อนทับ Overlap index (Oxy)

ค่าดัชนีการซ้อนทับ Overlap index (Oxy) แสดงถึงโอกาสที่สิ่งมีชีวิต 2 ชนิดจะทรัพยากรร่วมกันหรือมีความต้องการใช้ทรัพยากรเหมือนกัน เช่น กินอาหารชนิดเดียวกัน หรือแพร่กระจายอยู่ตามแหล่งที่อยู่อาศัยย่อยเหมือนกัน หรือเจริญเติบโตในช่วงเวลาเดียวกัน สามารถคำนวณได้ดังสมการ (Pianka, 1973 อ้างโดย Blois, 1985a; Dudgeon, 1989) (ภาคผนวก 2)

$$Oxy = \frac{\sum_i^n P_{xi} P_{yi}}{\sqrt{\sum_i^n P_{xi}^2 \sum_i^n P_{yi}^2}}$$

โดยที่ P_{xi} คือ สัดส่วนในการใช้ทรัพยากร (แหล่งที่อยู่อาศัยย่อยหรือเหยื่อ) ประเภท i ของตัวอ่อนแมลงปอชนิด x

P_{yi} คือ สัดส่วนในการใช้ทรัพยากร (แหล่งที่อยู่อาศัยย่อยหรือเหยื่อ) ประเภท i ของตัวอ่อนแมลงปอชนิด y

n คือ จำนวนของประเภททรัพยากร

ซึ่งค่าของดัชนี Oxy จะอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 นั่นคือ ค่าดัชนีที่ได้เท่ากับ 0 แสดงว่าตัวอ่อนแมลงปอทั้ง 2 ชนิดไม่ใช้ทรัพยากรร่วมกัน แต่ถ้ามีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่าตัวอ่อนแมลงปอ 2 ชนิดนั้นใช้ทรัพยากรร่วมกัน (overlap) อย่างสมบูรณ์แบบ หรือหากมีค่ามากกว่า 0.75 แสดงว่าตัวอ่อนแมลงปอ 2 ชนิดมีโอกาสใช้ทรัพยากรร่วมกันสูง

- การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เปรียบเทียบชนิดและจำนวนของตัวอ่อนแมลงปอระหว่างแต่ละแหล่งที่อยู่อาศัยย่อย โดยใช้การวิเคราะห์แบบ Cluster Analysis เพื่อจัดกลุ่มแหล่งที่อยู่อาศัยย่อยที่มีองค์ประกอบของตัวอ่อนแมลงปอคล้ายคลึงกัน