

## 2. วิธีการศึกษา

### 2.1 สถานที่ศึกษาและบริเวณที่เก็บตัวอย่าง

พื้นที่ศึกษาตั้งอยู่ระหว่างอำเภอจะนะ และ อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา มีพิกัดทางภูมิศาสตร์อยู่ระหว่างละติจูดที่ 6 องศา 56 ลิปดาเหนือ ถึง 6 องศา 58 ลิปดาเหนือ และ ลองจิจูดที่ 100 องศา 47 ลิปดาตะวันออก ถึง 100 องศา 52 ลิปดาตะวันออก ลักษณะโดยทั่วไปของชายฝั่งบริเวณที่ศึกษามีสภาพเป็นที่ราบชายฝั่ง ตามชายฝั่งทะเลมีสภาพเป็นดินทรายหรือทรายล้วน ซึ่งบางบริเวณของพื้นที่ชายหาดมีกลุ่มพืชที่เรียกว่าป่าชายหาดขึ้นอยู่ (สहनัฐ, 2542) ด้านทิศตะวันออกมีภูเขาเตี้ย ๆ ได้แก่ เขาเขียวและเขาล่อน และมีเกาะขามตั้งอยู่ทางด้านทิศตะวันออกเฉียงใต้ของพื้นที่ศึกษา (กองวางแผนการใช้ที่ดิน, 2530)

การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์และตรวจวัดคุณภาพน้ำบางประการได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 9 สถานี (รูปที่ 1) โดยกำหนดสถานีที่ศึกษาเป็น 3 บริเวณ คือ

1. บริเวณลำคลองสะกอม มีทั้งหมด 3 สถานี คือ สถานีที่ 1, 2 และ 3 โดย  
สถานีที่ 1 อยู่ห่างจากปากคลองประมาณ 3 กิโลเมตร พื้นที่โดยรอบสองฝั่งคลองเป็นป่าจาก  
สถานีที่ 2 อยู่ห่างจากปากคลองประมาณ 2 กิโลเมตร เป็นบริเวณที่อยู่พื้นที่นาทุ่ง  
สถานีที่ 3 อยู่ห่างจากปากคลองประมาณ 100 เมตร พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นแหล่งชุมชนและทำเทียบเรือ
2. บริเวณแนวชายฝั่งที่ระยะห่างฝั่ง 100 เมตร มีสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี คือ  
สถานีที่ 4 อยู่บริเวณบ้านโคกสัก อ. จะนะ  
สถานีที่ 5 อยู่บริเวณบ้านปากบาง อ. จะนะ  
สถานีที่ 6 อยู่ระหว่างบ้านปากบางสะกอม อ. เทพา และบ้านเขาเขียว อ. เทพา
3. บริเวณแนวชายฝั่งที่ระยะห่างฝั่ง ประมาณ 1 กิโลเมตร มี 3 สถานี คือ สถานีที่ 7, 8 และ 9 โดย  
สถานีที่ 7 อยู่บริเวณบ้านโคกสัก อ. จะนะ  
สถานีที่ 8 อยู่บริเวณบ้านปากบาง อ. จะนะ  
สถานีที่ 9 อยู่ระหว่างบ้านปากบางสะกอม อ. เทพา และบ้านเขาเขียว อ. เทพา

## 2.2 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

การศึกษาครั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลทุกฤดูกาล คือ ฤดูร้อน (กลางเดือนกุมภาพันธ์ถึงกลางเดือนพฤษภาคม) ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ (กลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนตุลาคม) และฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (กลางเดือนตุลาคมถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์) ทำการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ในแต่ละสถานี ทุกๆ 2 เดือนเริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2545 ถึงเดือนมีนาคม 2546 ซึ่งเดือนที่ทำการศึกษาคือ

ครั้งที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ 2545

ครั้งที่ 2 เดือนเมษายน 2545

ครั้งที่ 3 เดือนมิถุนายน 2545

ครั้งที่ 4 เดือนสิงหาคม 2545

ครั้งที่ 5 เดือนตุลาคม 2545

ครั้งที่ 6 เดือนธันวาคม 2545

ครั้งที่ 7 เดือนมีนาคม 2546

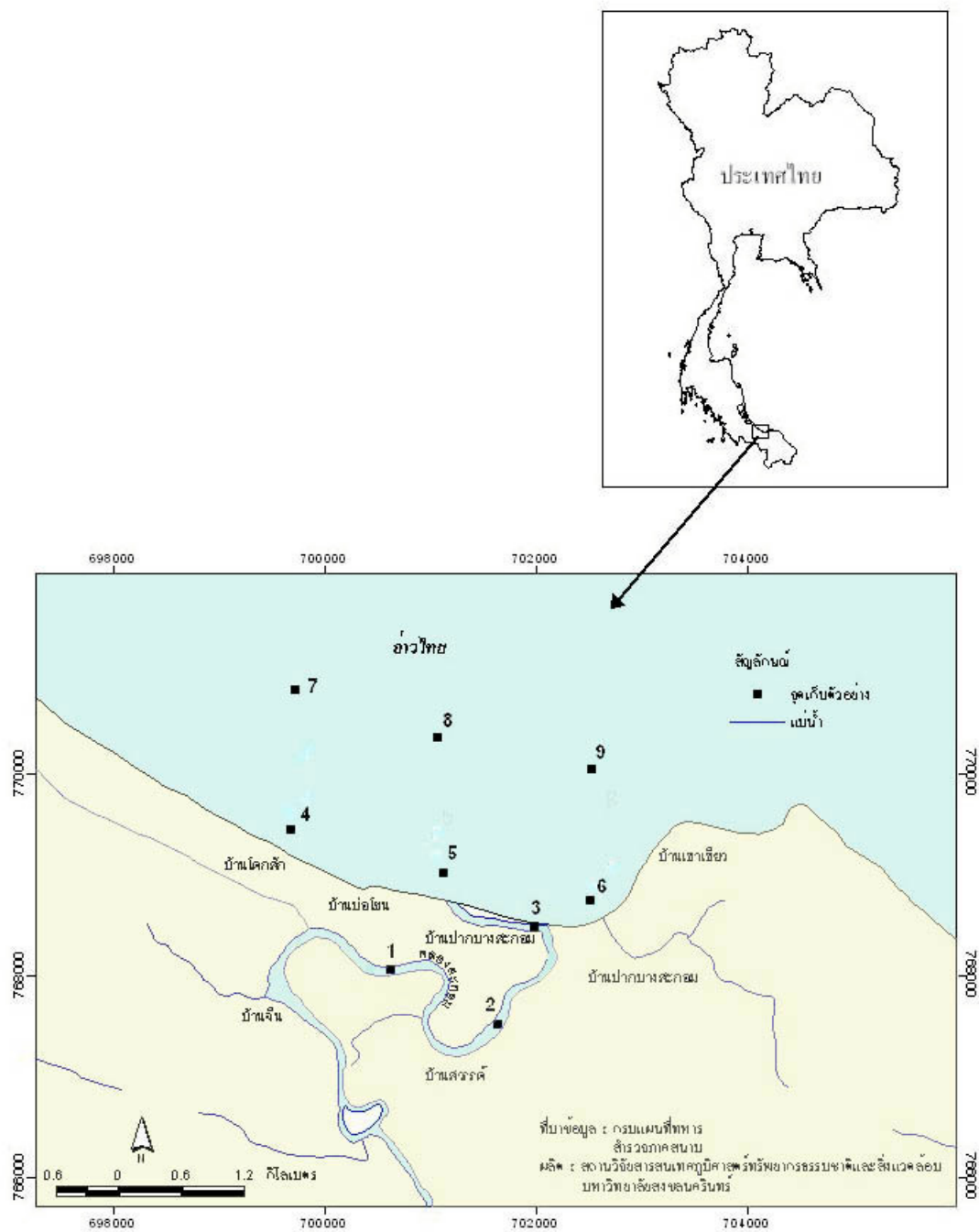
## 2.3 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์และตัวอย่างน้ำ

### 2.3.1 .การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์

เพื่อให้การเก็บตัวอย่างครอบคลุมชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดต่าง ๆ จึงใช้วิธีเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ 2 วิธีด้วยกันคือ

วิธีที่ 1 ตักน้ำที่ระดับความลึก 0 – 30 เซนติเมตร จำนวน 100 ลิตร กรองผ่านถุงกรองแพลงก์ตอนที่มีขนาดตา 60 ไมครอน เก็บตัวอย่างสถานีละ 3 ซ้ำ เก็บรักษาตัวอย่างทันทีด้วยฟอร์มาลินโดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์

วิธีที่ 2 ใช้ถุงแพลงก์ตอนที่มีขนาดตา 200 ไมครอน ติดมาตรวัดน้ำ (flow meter) ไว้ที่ปากถุงเพื่อวัดปริมาตรของน้ำที่ไหลผ่านถุงแพลงก์ตอน ลากถุงแพลงก์ตอนในแนวเฉียงด้วยเรือที่ความเร็วต่ำประมาณ 3 นาที ในระหว่างที่ลากตัวอย่างต้องระวังไม่ให้ถุงแพลงก์ตอนไพล่พื้นเหนือน้ำเพราะจะทำให้การคำนวณหาปริมาณน้ำผิดพลาดได้ เก็บตัวอย่างสถานีละ 3 ซ้ำ เก็บรักษาตัวอย่างทันทีด้วยฟอร์มาลินโดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 1 แผนที่แสดงสถานีเก็บตัวอย่างแหล่งกักต่อนและตัวอย่างน้ำในคลองสะกอมและบริเวณ  
แนวชายฝั่งของหาดสะกอม จังหวัดสงขลา

### 2.3.2 การตรวจวัดคุณภาพน้ำในบริเวณที่ศึกษา

การศึกษาคุณภาพน้ำทั้งทางกายภาพและทางเคมีบางประการนั้น ต้องมีการตรวจวัดและเก็บตัวอย่างน้ำก่อนการลากตัวอย่างแพลงก์ตอน คุณภาพน้ำที่ตรวจวัดโดยทันทีในภาคสนามได้แก่ ความลึก (Depth), ความโปร่งแสง (Transparency), อุณหภูมิ (Temperature), ความเค็ม (Salinity), ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำยี่ห้อ Horiba รุ่น water analysis checker U-10 สำหรับการตรวจวัดคุณภาพน้ำเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen) ปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำ (Total suspended solid) และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) จะเก็บตัวอย่างน้ำในแต่ละสถานีด้วยกระบอกเก็บน้ำแบบ Ruttner's flushed sampler ที่ระดับกึ่งกลางของความลึก โดยใส่ตัวอย่างลงในขวด BOD ที่มีขนาดความจุ 300 มิลลิลิตร เพื่อหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และใส่ในขวดพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเก็บตัวอย่างน้ำจำนวน 3 ชั่วโมงในแต่ละสถานี นำตัวอย่างที่ได้เก็บไว้ในที่มืดและเย็น โดยเก็บไว้ในถังที่มีน้ำแข็งและมีฝาปิดมิดชิดก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

## 2.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 2.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

นำตัวอย่างน้ำที่เก็บกลับมาห้องปฏิบัติการ มาวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำด้วยวิธี Azied Modification method ตามวิธีของ Strickland และ Parsons (1972) วิเคราะห์หาปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำทั้งหมด โดยการนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 °C ตามวิธีของ APHA *et al.* (1998) และวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ด้วยวิธี Spectrophotometric method ตามวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

### 2.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์

#### 2.4.2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการจำแนกชนิดและนับจำนวน

นำตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ที่เก็บด้วยถุงแพลงก์ตอนที่มีขนาดตา 60 และ 200 ไมโครเมตร มาตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน เพื่อให้ตัวอย่างที่แขวนลอยอยู่ตกลงสู่ก้นภาชนะเป็นเวลา 1-2 วัน หลังจากนั้นจะคูดน้ำใสส่วนบนทิ้งไป วัดปริมาตรสุดท้ายที่เหลือโดยใช้กระบอกตวง แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจสอบและจำแนกชนิดถึงระดับสกุลหรือวงศ์เท่าที่จะทำได้ โดย

แพลงก์ตอนสัตว์ที่เก็บด้วยถุงขนาดตา 60 ไมครอน จะนำไปตรวจสอบชนิดและนับจำนวนแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก เช่นแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่ม Protozoa Rotifera และ แพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่ม nauplius เป็นต้น โดยใช้ Sedgewick-Rafter Slide ที่มีความจุ 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตรวจดูและนับจำนวนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบ (compound microscope) สุ่มนับประมาณ 10% ของปริมาตรน้ำสุดท้ายที่เหลือ คำนวณหาความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์ต่อปริมาตรน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร โดยใช้สูตร

$$T = (Nx1000)/V \text{ เมื่อ}$$

T คือ จำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ในน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร

N คือ จำนวนแพลงก์ตอนสัตว์ในน้ำตัวอย่างทั้งหมด

V คือ ปริมาตรน้ำที่กรองผ่านถุงแพลงก์ตอน (100 ลิตร)

สำหรับแพลงก์ตอนสัตว์ที่เก็บด้วยถุงขนาดตา 200 ไมครอน นำไปตรวจสอบแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งไม่พบหรือมีอยู่น้อยในตัวอย่างที่เก็บด้วยถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 60 ไมครอน เช่นแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่ม Cnidaria Ctenophora copepod ตัวเต็มวัย และตัวอ่อนของสัตว์น้ำต่างๆ เป็นต้น โดยจะเทตัวอย่างลงใน chamber ครั้งละ 3-5 มิลลิลิตร นำไปจำแนกชนิดและนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอแบบสองตา (binocular stereo microscope) แพลงก์ตอนสัตว์ชนิดที่มีความหนาแน่นมากจะสุ่มนับประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่าง ส่วนชนิดที่พบเพียงจำนวนน้อยให้นับทั้งหมด แล้วคำนวณหาความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์ต่อปริมาตรน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตรเช่นกัน โดยใช้สูตร

$$T = N/V \text{ เมื่อ}$$

T คือ จำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ในน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร

N คือ จำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ที่นับได้จากตัวอย่าง

V คือ ปริมาตรน้ำทั้งหมดที่ไหลผ่านถุงแพลงก์ตอนที่ติดมาตรวัดน้ำ คิดเป็นลูกบาศก์เมตร

โดย  $V = \pi a^2 n l d$  เมื่อ

V คือ ปริมาตรน้ำทั้งหมดที่ไหลผ่านถุงแพลงก์ตอนคิดเป็นลูกบาศก์เมตร

a คือ พื้นที่หน้าตัดของถุงแพลงก์ตอนเป็นตารางเมตร

n คือ ค่าคงที่ที่ได้จากการ calibrate มาตรวัดน้ำ โดยมาตรวัดน้ำหมุน

1 รอบ คิดเป็นระยะทาง 0.031 เมตร

d คือ จำนวนรอบที่อ่านได้จากมาตรวัดน้ำ

### 2.4.2.2 การจำแนกชนิดแพลงก์ตอนสัตว์

การจำแนกชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์ส่วนใหญ่จะใช้ลักษณะภายนอกในการจำแนก โดยใช้เอกสารอ้างอิงในการจำแนกของ สุนีย์ สุวภิพันธ์ (2527), ลัดดา วงรัตน์ (2543), ละออศรี เสนาะเมือง (2545), Idris (1983), Yamaji (1986), Zhong (1989), Todd และ Laverack (1991), Korovchinsky (1992), Smirnov (1992), Santhanam และ Srinivasan (1994), Nogrady และ Pourriot (1995), Segers (1995), Segers (1996), Smirnov (1996), Bradford-Grieve (1999) และ Alekseev (2002)

สำหรับแพลงก์ตอนสัตว์บางชนิด การจัดจำแนกจนถึงระดับสกุลจำเป็นต้องมีการตรวจสอบลักษณะภายใน หรือเรียกอีกอย่างว่า ที่อยู่ภายใน เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มโรติเฟอร์ กลุ่มที่มีผนังลำตัวบาง (illoricate) นอกจากตรวจสอบลักษณะของ foot และ toe โดยละเอียดแล้ว บางครั้งยังจำเป็นต้องตรวจสอบลักษณะของ trophi ควบคู่ไปด้วย การตรวจสอบลักษณะของ trophi นั้นจำเป็นต้องย่อยเอาส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อออกไปก่อน ซึ่งทำได้โดยการใช้ Sodium hypochlorite (NaOCl หรือ Bleaching water) ที่มีความเข้มข้นของสารประมาณ 5% หยดลงที่ขอบของสไลด์ กับ coverslip ส่วนของ trophi จะหลุดออกมา สำหรับแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มของ โคพีพอด หรือ คลาโดเซอราน ต้องมีการตรวจสอบรูปร่างต่างๆ จึงจำเป็นต้องมีการตัด (dissection) รูปร่างส่วนต่างๆ ออกมาเพื่อความสะดวกและชัดเจนในการตรวจสอบลักษณะเพื่อการจำแนกชนิด โดยใช้เข็มปักแมลงเบอร์เล็กค่อยๆ ตัดรูปร่างส่วนต่างๆ ออกทีละส่วน แล้วนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบตามกำลังขยายที่เหมาะสม

## 2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนสัตว์แต่ละสกุลที่ตรวจพบในแต่ละสถานี บริเวณที่ศึกษา ช่วงเวลาในแต่ละเดือน และปัจจัยสภาวะแวดล้อม มาวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างแพลงก์ตอนสัตว์กับตัวแปรที่ศึกษา โดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.2 ซึ่งสถิติที่ใช้ในโปรแกรม PC-ORD ครั้งนี้ประกอบด้วย

2.5.1 การวิเคราะห์หลายตัวแปร (Multivariate analysis) ของสังคมแพลงก์ตอนสัตว์ เพื่อแสดงการจัดกลุ่มโครงสร้างทางสังคมโดยวิเคราะห์ Cluster analysis ในการจัดกลุ่มตัวอย่าง เพื่อเปรียบเทียบระหว่างสถานีเก็บตัวอย่าง และเวลาที่แตกต่าง

2.5.2 วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเพลงก่ตอสัตว์กับคุณภาพน้ำที่สำคัญบางประการ โดยนำข้อมูลชนิดและปริมาณของเพลงก่ตอสัตว์แต่ละสกุลที่พบในแต่ละสถานีและช่วงเวลาในแต่ละเดือนที่ศึกษามาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมในแต่ละสถานีซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเค็ม ความโปร่งแสง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มาวิเคราะห์ในโปรแกรม ด้วยวิธี CCA (canonical correspondence analysis)