

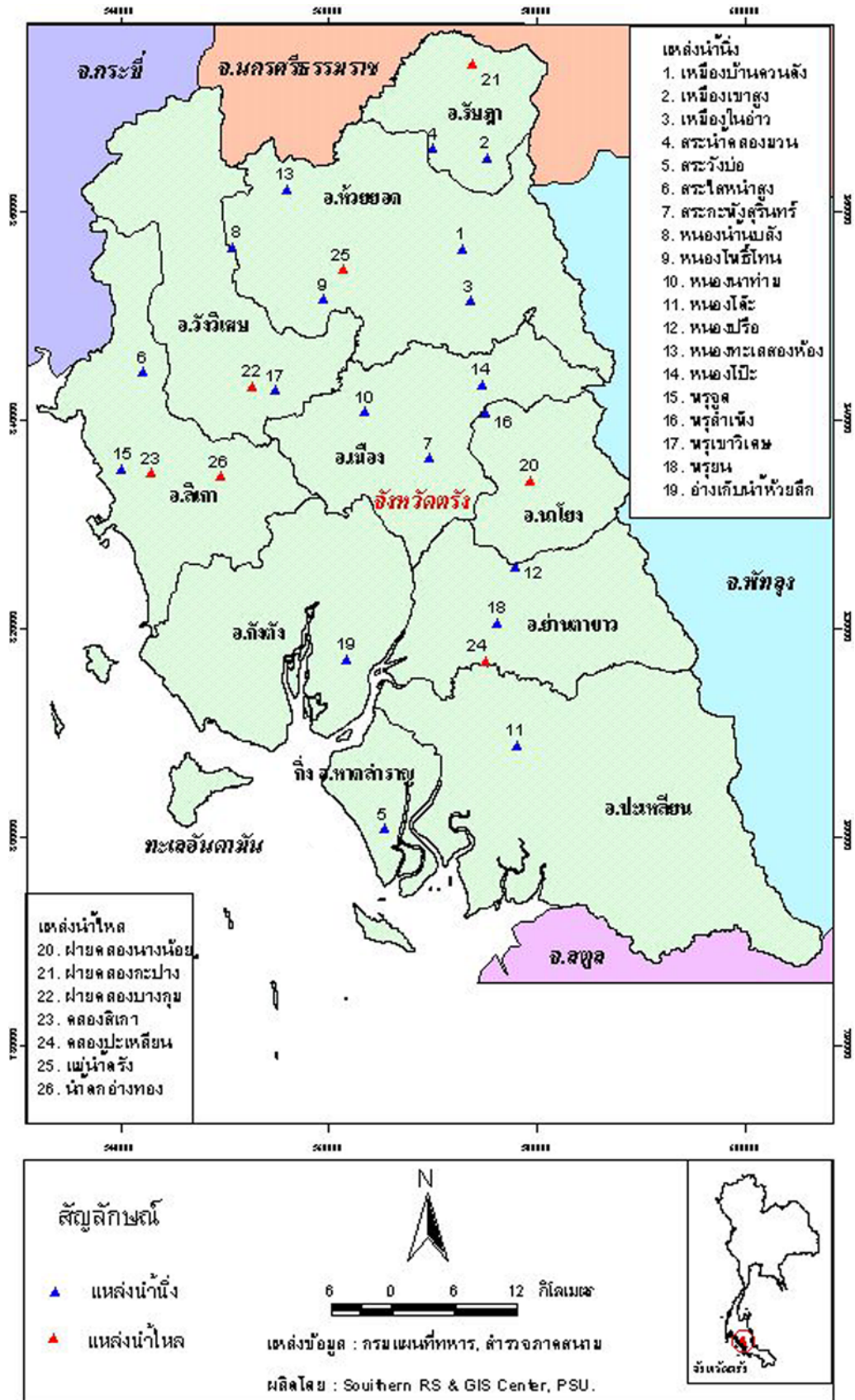
## บทที่ 2

### วิธีการศึกษา

#### 1. สถานที่ศึกษา

จังหวัดตรังตั้งอยู่ทางฝั่งทะเลด้านตะวันตกในภาคใต้ของประเทศไทย เป็นจังหวัดที่มีพื้นที่มากที่สุดของภาคใต้ฝั่งตะวันตก (รังสรรค์ อาภาคัพทะกุล, 2526) มีพิกัดทางภูมิศาสตร์อยู่ที่ ละติจูด 07° 33' 23" เหนือ ลองจิจูด 99° 36' 49" ตะวันออก หรือระหว่างเส้นรุ้งที่ 7 องศาถึง 8 องศาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 15 ลิปดา ถึง 100 องศา 5 ลิปดาตะวันออก มีพื้นที่ 4,917.519 ตารางกิโลเมตร (กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2541 ; กิตติพร วีรสฐิฎกุล และพิณกนก วีรสฐิฎกุล, 2541 ; สำนักงานสถิติแห่งชาติ สำนักนายกรัฐมนตรื, 2543) สภาพพื้นที่ส่วนใหญ่จะเป็นเนินสูงๆต่ำๆสลับด้วยเขาเล็กๆกระจายอยู่ทั่วไป มีแหล่งของทรัพยากรป่าไม้และแร่ธาตุหลายชนิด ได้แก่ ดิบุก โคลัมไบต์ แทนทาไลต์ แบไรท์ และซีไลท์ เป็นต้น (ประสิทธิ์ สุวรรณประทีป และสมบัติ โกยศิริพงศ์, 2520) เนื่องจากจังหวัดตรังตั้งอยู่ในคาบสมุทรที่เป็นแหลมยื่นออกไปในทะเล จึงทำให้ได้รับลมมรสุมทั้งสองฤดูอย่างเต็มที่ คือ ลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้จากมหาสมุทรอินเดียตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือจากทะเลจีนใต้และอ่าวไทยตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนมกราคม (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2532) พื้นที่ในบริเวณนี้จึงได้รับไอน้ำปริมาณมาก ทำให้มีความชุ่มชื้นและความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูงเป็นเวลานาน (ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยตลอดปีประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์) อุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงน้อยและอุณหภูมิเฉลี่ยไม่สูงมาก (เฉลี่ยตลอดปีประมาณ 27 องศาเซลเซียส) อากาศไม่ร้อนจัดในฤดูร้อนแต่อากาศจะอุ่นในช่วงฤดูฝนและจะเย็นบางครั้ง ในฤดูหนาวปริมาณฝนเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 2,228 มิลลิเมตร ทำให้จังหวัดตรังมีแหล่งน้ำธรรมชาติและแม่น้ำลำคลองอยู่หลายสาย (มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตหาดใหญ่ และกรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2539)

พื้นที่ทั้งหมดในจังหวัดตรังสามารถจัดแบ่งตามการแบ่งเขตการปกครองได้เป็น 9 อำเภอ 1 กิ่งอำเภอ คือ อำเภอเมือง กันตัง สีเกา วังวิเศษ ปะเหลียน ห้วยยอด ย่านตาขาว นาโยง รัชฎา และกิ่งอำเภอสทิงพระ (กิตติพร วีรสฐิฎกุล และพิณกนก วีรสฐิฎกุล, 2541) แหล่งน้ำจืดที่ใช้ในการศึกษาและเก็บตัวอย่างจะกระจายครอบคลุมอยู่ทุกพื้นที่ที่อยู่ในเขตการปกครองของจังหวัดตรัง ซึ่งประกอบไปด้วยแหล่งน้ำประเภทต่างๆรวมทั้งสิ้น 26 แหล่งน้ำ (รูปที่ 11) ซึ่งแหล่งน้ำเหล่านี้สามารถจัดแบ่งออกได้เป็น 2 ระบบ คือ ระบบนิเวศน้ำนิ่ง ได้แก่ สระน้ำ หนอง อ่างเก็บน้ำ และ



รูปที่ 11 แผนที่แสดงตำแหน่งจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำจืดประเภทต่างๆในจังหวัดตรัง

ระบบนิเวศน้ำไหล ได้แก่ แม่น้ำ ลำคลอง ซึ่งสามารถจำแนกรายละเอียดของแหล่งน้ำได้ดังนี้

ระบบนิเวศน้ำนิ่งที่ใช้ในการศึกษา คือ

1. เหมือง ได้แก่ เหมืองบ้านควนตัง (1) เหมืองบ้านเขาสูง (2) เหมืองบ้านในอ่าว (3)
2. สระน้ำ ได้แก่ สระน้ำคลองมวน (4) สระน้ำบ้านวังบ่อ (5) สระน้ำไสนาสูง (6) สระกะพังสุรินทร์ (7)
3. หนองน้ำ ได้แก่ หนองน้ำบลัง (8) หนองโพธิ์โทน (9) หนองนาท่าม (10) หนองโต๊ะ (11) หนองปรือ (12) หนองทะเลสองห้อง (13) หนองโป๊ะ (14)
4. พรุ ได้แก่ พรุจูด (15) พรุลำเพ็ง (16) พรุเขาวีเศษ (17) พรุยน (18)
5. อ่างเก็บน้ำ ได้แก่ อ่างเก็บน้ำห้วยลึก (19)

ระบบนิเวศน้ำไหลที่ใช้ในการศึกษา คือ

1. แม่น้ำ ได้แก่ แม่น้ำตรัง (25)
2. ลำคลอง ได้แก่ คลองสิเกา (23) คลองปะเหลียน (24)
3. ฝาย ได้แก่ ฝายคลองนางน้อย (20) ฝายคลองกะปาง (21) ฝายคลองบางกุ่ม (22)
4. น้ำตก ได้แก่ น้ำตกอ่าทอง (26)

## 2. ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนในแหล่งน้ำจืดของจังหวัดตรังทั้งหมด 26 แหล่งน้ำ ทุกๆ 3 เดือน เป็นระยะเวลา 1 ปี รวม 5 ครั้ง คือ ในเดือนสิงหาคม (2542) เดือนพฤศจิกายน (2542) เดือนกุมภาพันธ์ (2543) เดือนพฤษภาคม (2543) และเดือนสิงหาคม (2543)

## 3. การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มคลาโดเซอรา

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนโดยใช้ถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20, 26 หรือ 60 ไมครอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของแหล่งน้ำ โดยลากถุงแพลงก์ตอนในน้ำตามแนวตั้ง แนวระดับ และแนวเฉียง เพื่อให้ได้ตัวอย่างแพลงก์ตอนมากที่สุดและครอบคลุมประชากรคลาโดเซอราทุกชนิดที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำแต่ละประเภท โดยถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมครอน ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนในมวลน้ำที่ค่อนข้างลึกและอยู่ห่างจากชายฝั่งในบริเวณที่ไม่มีพืชน้ำหรือสาหร่ายขึ้นอยู่ ส่วนถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 26 และ 60 ไมครอน ใช้สำหรับเก็บแพลงก์ตอนในมวลน้ำบริเวณใกล้ฝั่งและบริเวณที่มีพืชน้ำหรือสาหร่าย ตัวอย่างที่ได้จะนำมาคงสภาพทันทีภายหลังการเก็บตัวอย่างด้วยสารละลายฟอร์มาลินที่ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 5% (Battish, 1992) พร้อมทั้งตรวจวัดคุณภาพน้ำและปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมบางประการด้วยเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ยี่ห้อ Horiba รุ่น

water analysis checker U-10 โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) การนำไฟฟ้า (conductivity) ความขุ่น (turbidity) อุณหภูมิ (temperature) และความเค็ม (salinity) บันทึกลักษณะทางกายภาพของแหล่งน้ำและบริเวณรอบๆ แต่ละแหล่งที่เก็บตัวอย่างเพื่อให้ประกอบการวิเคราะห์ผล

#### 4. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

##### 4.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการจำแนกชนิดและนับจำนวน

นำตัวอย่างแพลงก์ตอนที่เก็บจากภาคสนามมาตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 7 วัน เพื่อให้ตัวอย่างที่แขวนลอยอยู่ตกตะกอนลงสู่ก้นภาชนะ หลังจากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้งไป นำตะกอนทั้งหมดที่เหลืออยู่บริเวณด้านล่างของขวดเก็บตัวอย่างใส่ใน chamber และนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) โดยแยกเอาเฉพาะแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มคลาโดเซอรามาจำแนกชนิดและนับจำนวนต่อไป สำหรับคลาโดเซอราที่ต้องการจำแนกชนิดจะเตรียมไว้เป็นสไลด์ โดยใช้กลีเซอรินผสมฟอรัมาลินเล็กน้อยหยดลงบนแผ่นสไลด์ กลีเซอรินจะช่วยให้ตัวอย่างไม่แห้งและเปลือกไม่เสียรูประหว่างการตรวจสอบ (Haney & Hall, 1973 อ้างโดย Duigan, n.d.) และปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slide) ซึ่งรองด้วยดินน้ำมันที่มุมของแผ่นปิดสไลด์ทั้งสี่ด้านเพื่อป้องกันการก่อกวนและการผิดรูปร่างของตัวอย่าง (Korovchinsky and Smirnov, 1996) รวมทั้งสามารถจัดระนาบของตัวอย่างตามที่ต้องการระหว่างการศึกษ ทำให้ง่ายต่อการจำแนกชนิดอีกด้วย

##### 4.2 การจำแนกชนิดและนับจำนวน

นำสไลด์ของคลาโดเซอราที่จัดทำไว้มาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบ (compound microscope) ที่กำลังขยาย 400 เท่าและ 1000 เท่า การจำแนกชนิดของคลาโดเซอราส่วนใหญ่จะใช้ลักษณะภายนอกในการจำแนกชนิด โดยใช้เอกสารอ้างอิงในการจำแนกชนิดของ Idris (1983), Korovchinsky (1992), Smirnov (1992 และ 1996), Smirnov and Timms (1983) รวมทั้งเอกสารตีพิมพ์จากวารสารต่างๆ สำหรับคลาโดเซอราบางชนิดที่จะต้องมีการตรวจสอบรอยางค์ต่างๆที่อยู่ภายใน จำเป็นต้องมีการตัด (dissection) รอยางค์ส่วนต่างๆ ออกมาเพื่อความสะดวกและชัดเจนในการตรวจสอบลักษณะเพื่อการจำแนกชนิด โดยใช้เข็มปักแมลงเบอร์เล็กค่อยๆ ตัดรอยางค์ส่วนที่ออกทีละส่วน นับจำนวนของคลาโดเซอราทุกชนิดที่พบในตัวอย่างทั้งหมด โดยบันทึกเป็นจำนวนตัวที่พบในแต่ละชนิดของแต่ละแหล่งน้ำ วาดภาพประกอบของคลาโดเซอราบางชนิด โดยใช้ camera lucida ที่ต่อกับกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบ (compound eye) โดยวาดที่

กำลังขยาย 1000 เท่า และนำตัวอย่างคลาโดเซอราบางชนิดไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM)

#### 4.3 การศึกษาตัวอย่างคลาโดเซอราด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

สำหรับตัวอย่างคลาโดเซอราบางชนิดที่ต้องการรายละเอียดทางสัณฐานวิทยาภายนอกเพิ่มเติมเพื่อความชัดเจนในการจำแนกชนิด จะศึกษาเพิ่มเติมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีคุณสมบัติพิเศษให้รายละเอียดและกำลังขยายสูง สามารถให้ภาพสามมิติอันจะก่อให้เกิดความชัดเจนและง่ายต่อการเข้าใจในสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิต และเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาลักษณะภายนอกของตัวอย่าง (เสาวภา อังสุภาณิช, 2528) การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จะทำตามวิธีของ Duigan (1992 อ้างโดย Korovchinsky and Smirnov, 1996 ) ดังนี้

ตัวอย่างที่ได้จากภาคสนามและคงสภาพด้วยสารละลายฟอร์มาลิน



นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษามาล้างในน้ำกลั่นให้สะอาดประมาณ 7 - 8 ครั้ง



กำจัดน้ำออก (dehydration) จากเซลล์ โดยใช้หลักการแทนที่น้ำด้วยสารละลายอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ระเหยง่าย เช่น แอลกอฮอล์ โดยใส่ตัวอย่างคลาโดเซอราใน

แอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นลำดับ คือ 30%, 50%, 70%, 90%,

และ 100% ขึ้นตอนละ 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที



ทำตัวอย่างให้แห้งโดยวิธี critical point drying (CPD)



นำตัวอย่างจัดวางและติดบน stub ขนาดประมาณ 10 มิลลิเมตร



ฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก โดยใช้ทอง



นำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น JSM 5800 LV

ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## 5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลชนิดและปริมาณคลาโดเซอราที่ตรวจพบในแหล่งน้ำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของคลาโดเซอรา สถานที่ เวลา และปัจจัยสภาวะแวดล้อมในแหล่งน้ำ โดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.2 ซึ่งใช้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลทางนิเวศวิทยาซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรหลายตัวแปร (multivariate analysis) สถิติที่ใช้ในโปรแกรม PC-ORD เกี่ยวข้องกับการจัดลำดับ (ordination technique) และการจัดกลุ่ม (classification technique) ของข้อมูลที่ศึกษา การวิเคราะห์ข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้ประกอบไปด้วย

- 5.1 การหาความหลากหลายชนิด (species richness) ของคลาโดเซอราที่พบในแหล่งน้ำจืดแต่ละประเภทของจังหวัดตรังทั้ง 26 แหล่งน้ำ
- 5.2 วิเคราะห์หาความหลากหลายชนิดของคลาโดเซอราที่พบในแต่ละเดือนที่ศึกษา
- 5.3 นำข้อมูลชนิดและปริมาณคลาโดเซอราที่พบในแต่ละแหล่งน้ำ มาวิเคราะห์ในโปรแกรมโดยการจัดลำดับและจัดกลุ่มของแหล่งน้ำด้วยวิธี DCA (detrended correspondence analysis) และ cluster analysis ตามลำดับ เพื่อจัดประเภทของแหล่งน้ำที่ศึกษา (ในเชิงสถานที่) โดยอาศัยความคล้ายคลึงกันของชนิดและปริมาณคลาโดเซอราที่อาศัยอยู่ในแต่ละแหล่งน้ำ
- 5.4 นำข้อมูลชนิดและปริมาณคลาโดเซอราที่พบในแหล่งน้ำทุกประเภทและทุกเดือนที่ศึกษา มาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลของปัจจัยสภาวะแวดล้อมภายในแหล่งน้ำที่ศึกษา ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเค็ม ค่าการนำไฟฟ้า และความขุ่น มาวิเคราะห์ในโปรแกรมด้วยวิธี CCA (canonical correspondence analysis) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของคลาโดเซอรา กับปัจจัยสภาวะแวดล้อมภายในแหล่งน้ำที่คลาโดเซอราอาศัยอยู่