

รูปที่ 2 แผนที่แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวตั้งเขิน จังหวัดภูเก็ต

การแบ่งพื้นที่ศึกษาในแต่ละบริเวณจะแบ่งออกเป็น 6 ส่วนย่อย โดยในแต่ละส่วนย่อยมีขนาดพื้นที่ 50×50 ตารางเมตร และในแต่ละส่วนย่อยจะสามารถแบ่งออกตามระยะทางที่ห่างจากฝั่งได้ 3 เขต คือ

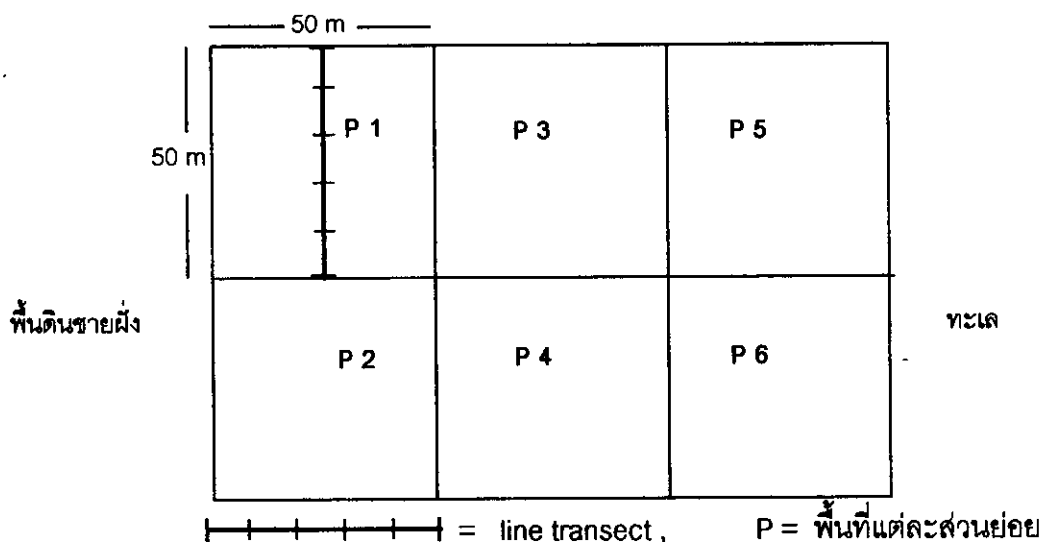
ระยะทางที่ห่างจากฝั่ง 0 – 50 เมตร เป็นพื้นที่ที่อยู่ใกล้พื้นดินชายฝั่งมากที่สุด ในช่วงน้ำขึ้นน้ำลง ระดับน้ำจะลดลงก่อนส่วนอื่น ๆ ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 1 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 2

ระยะทางที่ห่างจากฝั่ง 50 – 100 เมตร เป็นเขตที่มีระยะห่างจากฝั่งเพิ่มขึ้น ถัดจากรยะทางที่ห่างจากฝั่ง 0 – 50 เมตร ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 3 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 4

ระยะทางที่ห่างจากฝั่ง 100 – 150 เมตร เป็นเขตที่มีระยะห่างจากฝั่งมากที่สุด บางครั้งเมื่อระดับน้ำลงต่ำสุดบางบริเวณของเขตนี้จะยังมีน้ำท่วมอยู่บ้าง ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 5 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 6

2. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ที่ศึกษา ทุก 2 เดือน โดยเก็บในขณะที่ระดับน้ำลงต่ำสุดหรือเกือบต่ำสุดของเดือน ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2542 ถึง เดือนธันวาคม 2543 เป็นระยะเวลา 1 ปี รวม 7 ครั้ง โดยสุ่มวาง line transect ยาว 50 เมตร ในแนวขนานกับชายฝั่งของพื้นที่แต่ละส่วนย่อย ใช้ quadrat ขนาดพื้นที่ 10×10 ตารางเซนติเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างซากปะการัง ดินและทรายตาม line transect ทุกระยะ 10 เมตร (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 พื้นที่ส่วนย่อยทั้ง 6 ส่วน และการวาง line transect ในพื้นที่แต่ละส่วนย่อย

การเก็บตัวอย่างซากปะการัง ดินและทราย ที่อยู่ใน quadrat จะใช้วิธีการเก็บที่แตกต่างกันไปตามลักษณะของตัวอย่างดังนี้

2.1 ตัวอย่างซากปะการัง

หากเป็นซากปะการังที่แตกหักอยู่บนพื้นและสามารถเก็บได้จะเก็บซากปะการังนั้นใส่ถุงพลาสติก หากซากปะการังนั้นมีขนาดใหญ่ หรือเป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ เก็บโดยการใช้สิ่วแซะผิวหน้าของปะการังเฉพาะส่วนที่อยู่ภายใน quadrat เก็บใส่ถุงพลาสติก

2.2 ตัวอย่างดินและทราย

เก็บตัวอย่างดินหรือทรายที่อยู่ใน quadrat ในระดับความลึกจากผิวดินลงไปประมาณ 1 เซนติเมตร โดยใช้แผ่นเหล็กอะลูมิเนียมที่มีขนาดเท่ากับ quadrat สอดเข้าทางด้านล่างของ quadrat เพื่อรองรับตัวอย่างดินและทรายไว้ นำตัวอย่างดินหรือทรายใส่ถุงพลาสติก

ตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดจะนำมาเติมน้ำทะเลที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง Macherey Nagel filter paper (MN 615) เบอร์ 1 ซึ่งมีขนาดตา 0.45 มิลลิเมตร เพื่อกรองเอาสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นและตะกอนออกไป เก็บรักษาสภาพตัวอย่างโดยเติมสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างกลับมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจี

การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีออกจากวัสดุยึดเกาะประเภทต่าง ๆ มีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

3.1.1 การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีออกจากซากปะการัง

1. นำซากปะการังมาแปรงที่ผิวด้วยแปรงสีฟันเพื่อแยกเบนทิกไมโครแอลจีออกจากซากปะการังให้ได้มากที่สุด

2. นำน้ำตัวอย่างที่มีเบนทิกไมโครแอลจีปะปนอยู่ไปเทผ่านชั้นกรองที่มีขนาดตา 1 มิลลิเมตร และ 22 ไมโครเมตร ตามลำดับ เพื่อแยกตะกอนที่มีขนาดใหญ่และขนาดเล็กออก ซึ่งลดการบดบังจากตะกอนขณะทำการจำแนกชนิด หรือตรวจนับจำนวน

3. นำตะกอนที่ติดอยู่บนชั้นกรองขนาด 22 ไมโครเมตร ไปเติมน้ำทะเลกรองและเติมสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ บันทึกปริมาตรสุดท้ายของตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีที่ได้จากการใช้สปีวและผิวหน้าของปะการังที่มีขนาดใหญ่แยกเบนทิกไมโครแอลจีโดยใช้ sonicator เพื่อทำให้ตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีหลุดออกจากผิวปะการัง หลังจากนั้นทำตามขั้นตอนเช่นเดียวกับการแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีออกจากซากปะการังในข้อ 1. ถึงข้อ 3.

3.1.2 การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีออกจากตัวอย่างดิน และทราย

แยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีจากตัวอย่างดิน และทรายทำโดยนำตัวอย่างที่มีดินและทรายคนในบีกเกอร์ ซึ่งแช่อยู่ใน sonicator เป็นเวลาประมาณ 1 - 2 นาที เพื่อให้เบนทิกไมโครแอลจีหลุดจากตะกอนดินและทราย หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปผ่านชั้นกรองที่มีขนาดตา 1 มิลลิเมตร และ 22 ไมโครเมตร ตามลำดับ นำตะกอนที่ติดอยู่บนชั้นกรองขนาดตา 22 ไมโครเมตร ไปเติมน้ำทะเลกรองและเติมสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ บันทึกรูปภาพสุดท้ายของตัวอย่าง

3.2 การจำแนกชนิดและนับจำนวนเบนทิกไมโครแอลจี

จำแนกชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนสามารถมองเห็นและจำแนกความแตกต่างของลักษณะต่าง ๆ ได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (compound microscope) แต่สำหรับเบนทิกไมโครแอลจีบางชนิดที่มีโครงสร้างที่ใช้ในการจำแนกชนิดขนาดเล็กไม่สามารถจำแนกได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบได้จะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope หรือ SEM)

3.2.1 การจำแนกชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ

ตรวจสอบชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีจากสไลด์ที่เตรียมจากตัวอย่างที่รักษาสภาพในสารละลายฟอร์มาลิน และตัวอย่างที่กำจัดสารอินทรีย์ออกแล้ว (ภาคผนวก) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่ติดอุปกรณ์ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 40 ถึง 1,000 เท่า พร้อมทั้งถ่ายรูปเพื่อประกอบการวินิจฉัย

3.2.2 การจำแนกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การตรวจสอบชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดช่วยให้สามารถเห็นรายละเอียดของโครงสร้างที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีได้ชัดเจนยิ่งขึ้น และช่วยให้การตรวจสอบชนิดเบนทิกไมโครแอลจีมีความถูกต้องยิ่งขึ้น

โดยนำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ภาคผนวก) มาถ่ายรูปโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หลังจากนั้นจึงตรวจสอบชนิดของเบนทิกไมโครแอลจี

การตรวจสอบชนิดของเบนทิกไมโครแอลจีจะใช้เอกสารดังนี้ Archibald (1971) Chin และคณะ (1984), Desikachary (1959), Dodge (1975), Faust และคณะ (1999), Giffen (1971), Giffen (1973), Hartley (1996), Hasle และ Lange (1992), Hendey (1964), Humm and Wicks (1980), Kaas (1985), Kuylenstierna (1989), Simonsen (1992), Snoijs และ Potapova (1995), Tomas (1996) และ Yamaji (1986)

3.2.3 นับจำนวนของเบนทิกไมโครแอลจีในระดับสกุล โดยการสุ่มตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Sedgwick - Rafter counting slide นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่กำลังขยาย 100 เท่า โดยสุ่มนับตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีในแต่ละขวด จำนวน 2 ครั้ง

4. การหาพื้นที่วัสดุยึดเกาะของเบนทิกไมโครแอลจี

เนื่องจากวัสดุยึดเกาะของเบนทิกไมโครแอลจีที่ได้จากการเก็บตัวอย่างมีรูปแบบที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องคำนวณหาพื้นที่ผิวของวัสดุยึดเกาะโดยวิธีที่แตกต่างกันไปดังนี้

4.1 การคำนวณหาพื้นที่ของซากปะการังที่เป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ ดินและทราย

เนื่องจากพื้นที่ของซากปะการังที่เป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ ดินและทรายมีลักษณะแบนราบ การคำนวณหาพื้นที่จึงสามารถใช้ขนาดของ quadrat ซึ่งมีขนาดพื้นที่เท่ากับ 100 ตารางเซนติเมตร

4.2 การคำนวณหาพื้นที่ซากปะการังแบบกิ่งก้าน ก้อน และเศษขนาดเล็ก

ซากปะการังที่เป็นกิ่งก้าน ก้อน และเศษขนาดเล็กสามารถนำมาคำนวณหาพื้นที่ผิวได้โดยใช้การแทนที่ของพื้นที่ผิวปะการังด้วย aluminium foil แล้วจึงนำ aluminium foil ไปชั่งน้ำหนัก นำค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ไปเปรียบเทียบกับสมการจากกราฟมาตรฐานของน้ำหนักและพื้นที่ของ aluminium foil (ตารางภาคผนวกที่ 1)

5. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

5.1 เปรียบเทียบปริมาณเบนทิกไมโครแอลจีแต่ละสกุล ในแต่ละบริเวณที่ศึกษา ระยะห่างจากฝั่ง ประเภทของวัสดุยึดเกาะ และช่วงเวลาในแต่ละเดือน โดยใช้ Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) ข้อมูลที่ใช้วิเคราะห์ผ่านการแปลงข้อมูลโดยใช้ $\text{Log}(X+1)$ เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 10.0

5.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างบริเวณที่ศึกษา ระยะห่างจากฝั่ง วัสดุยึดเกาะ และเดือนที่ทำการศึกษา โดยใช้ข้อมูลปริมาณเบนทิกไมโครแอลจีในแต่ละสกุล โดยการวิเคราะห์ Detrended Correspondence Analysis (DCA) และ Cluster Analysis (CA) ข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ผ่านการแปลงข้อมูลโดยใช้ $\text{Log}(X+1)$ เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.20