

บทที่ 2

วิธีการศึกษา

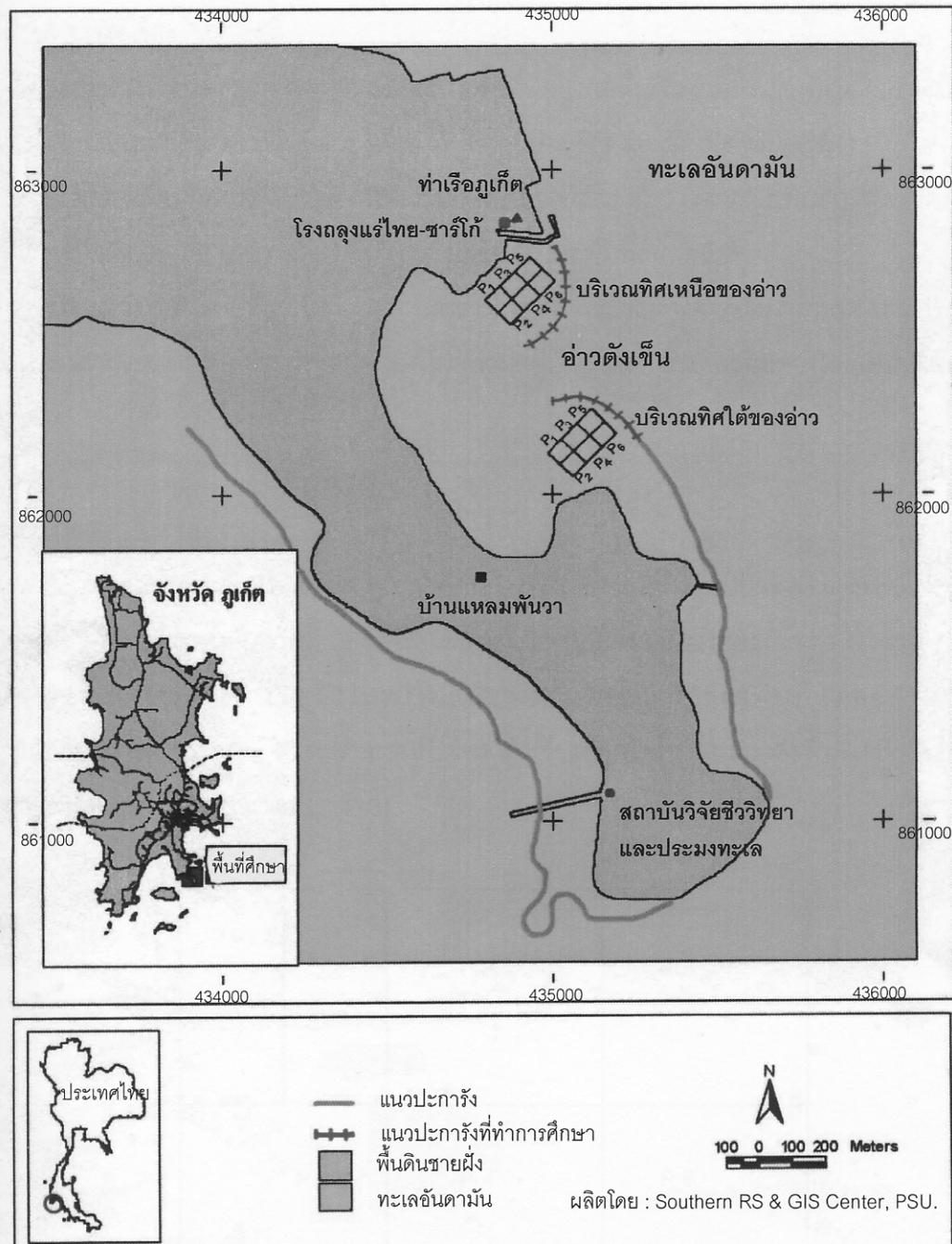
1. บริเวณศึกษา

สำรวจและเก็บตัวอย่างบนทิ่กไม้โครงแอลจีที่อาศัยอยู่ในแนวปะการังบริเวณอ่าวดังเข็น ซึ่งมีพื้นที่ประมาณ 0.42 ตารางกิโลเมตร ตั้งอยู่ในเขตอำเภอเมืองทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ของ เกาะภูเก็ต (รูปที่ 2) สภาพภูมิประเทศมีลักษณะเป็นช่องแคบหุบเขา กำแพงลimestone ประกอบไปด้วยระบบ น้ำทะเลแบบต่างๆ ได้แก่ระบบน้ำเคหาดทราย หาดหิน กрут์พะรูนไม้ชายเลน แหล่งน้ำทะเลขและ แนวปะการัง ซึ่งทรัพยากรธรรมชาติตั้งกล่าวเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์ทะเลนานาชนิด (สถาบัน วิจัยวิทยาและประมงทะเล, 2540) สำหรับระบบน้ำเคหะแนวปะการังมีการกระจายตัวตั้งแต่เขต ชายฝั่งไปจนถึงระดับความลึก 2-3 เมตร ปะการังโดยทั่วไปอยู่ในสภาพสมบูรณ์ปานกลาง มีปะการังที่มีชีวิตประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (นรรษา จรวยแสง และคณะ, 2542)

แนวปะการังที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นแนวปะการังบริเวณพื้นราบ (reef flat) ที่มีความ กว้างประมาณ 240 เมตร มีความยาวประมาณ 500 เมตร ปะการังเหล่านี้จะผลิตพื้นน้ำเมื่อน้ำลง เต็มที่ในช่วงน้ำเกิด (spring tide) การศึกษาแบบทิ่กไม้โครงแอลจีที่อาศัยอยู่ในแนวปะการังนี้ได้แบ่ง พื้นที่ศึกษาออกเป็น 2 บริเวณ (รูปที่ 2) คือ

บริเวณที่หนึ่ง เป็นบริเวณที่อยู่ติดกับโรงกลุ่มแร่ไทยชาร์โกและท่าเที่ยนเรือภูเก็ต ลักษณะ พื้นที่แนวปะการังส่วนใหญ่เป็นแพ่น้ำหากปะการังเก่าที่ทับถมต่อกันเป็นโครงสร้างหินปูนขนาดใหญ่ ปะการังที่พบเป็นชนิดเด่น ได้แก่ ปะการังสมองร่องลึก (*Platygyra* sp.) ปะการังเห็ด (*Fungia* sp.) และปะการังโขด (*Porites lutea*)

บริเวณที่สอง เป็นแนวปะการังที่อยู่ทางทิศใต้และแยกออกจากบริเวณแรกโดยร่องน้ำ ลักษณะพื้นที่เป็นแนวปะการังเก่าที่ทับถมกันเป็นหย่อม ๆ ปะการังที่พบเป็นชนิดเด่น ได้แก่ ปะการัง เนากวาง (*Acropora* sp.) และปะการังเห็ด (*Fungia* sp.)



รูปที่ 2 แผนที่แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวตังเข็น จังหวัดภูเก็ต

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

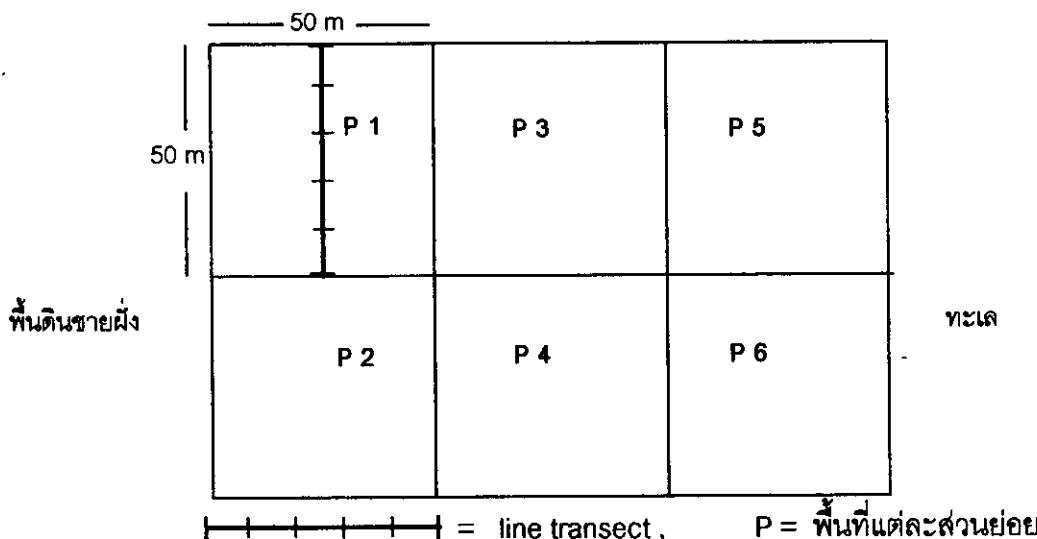
ระยะทางที่ห่างจากผู้สำรวจ 0 – 50 เมตร เป็นพื้นที่ที่อยู่ใกล้พื้นดินชายฝั่งมากที่สุด ในช่วงน้ำเขื่อนน้ำลง ระดับน้ำจะลดลงก่อนส่วนอื่น ๆ ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 1 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 2

ระยะทางที่ห่างจากผู้สำรวจ 50 – 100 เมตร เป็นเขตที่มีระยะห่างจากผู้สำรวจเพิ่มขึ้น ถัดจากระยะทางที่ห่างจากผู้สำรวจ 0 – 50 เมตร ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 3 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 4

ระยะทางที่ห่างจากผู้สำรวจ 100 – 150 เมตร เป็นเขตที่มีระยะห่างจากผู้สำรวจมากที่สุด บางครั้งเมื่อระดับน้ำลงต่ำสุดบางบริเวณของเขตน้ำจะยังมีน้ำท่วมอยู่บ้าง ได้แก่ พื้นที่ส่วนย่อยที่ 5 และพื้นที่ส่วนย่อยที่ 6

2. การเก็บตัวอย่าง

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



รูปที่ 3 พื้นที่ส่วนย่อยทั้ง 6 ส่วน และการวางแผน line transect ในพื้นที่แต่ละส่วนย่อย

การเก็บตัวอย่างจากปะการัง ดินและทราย ที่อยู่ใน quadrat จะให้วิธีการเก็บที่แตกต่างกันไปตามลักษณะของตัวอย่างดังนี้ :

2.1 ตัวอย่างจากปะการัง

หากเป็นชาจากปะการังที่แยกหักออกยุบบันพื้นและสามารถเก็บได้จะเก็บชาจากปะการังนั้นใส่ถุงพลาสติก หากชาจากปะการังนั้นมีขนาดใหญ่ หรือเป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ เก็บโดยการใช้ส่วนหัวหน้าของปะการังเฉพาะส่วนที่อยู่ภายใต้ quadrat เก็บใส่ถุงพลาสติก

2.2 ตัวอย่างดินและทราย

เก็บตัวอย่างดินหรือทรายที่อยู่ใน quadrat ในระดับความลึกจากผิวดินลงไปประมาณ 1 เซนติเมตร โดยใช้แผ่นเหล็กอะลูมิเนียมที่มีขนาดเท่ากับ quadrat สองเส้นทางด้านล่างของ quadrat เพื่อรองรับตัวอย่างดินและทรายไว้ นำตัวอย่างดินหรือทรายใส่ถุงพลาสติก

ตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดจะนำมาเติมน้ำทะเลที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง Macherey Nagel filter paper (MN 615) เปอร์ 1 ชิ้น มีขนาดตา 0.45 มิลลิเมตร เพื่อกรองเอาสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นและตะกอนออกไป เก็บรักษาสภาพตัวอย่างโดยเติมสารละลายฟอร์มอลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างกลับมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจิ

การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจิออกจากการวัดคุณภาพด้วยประ nefath ต่างๆ มีขั้นตอนดังนี้

3.1.1 การแยกตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจิออกจากการปะการัง

- นำชาจากปะการังมาแบ่งที่ผิวด้วยแบ่งสีพื้นเพื่อแยกเบนทิกไมโครแอลจิออกจากการปะการังให้ได้มากที่สุด

- นำน้ำตัวอย่างที่มีเบนทิกไมโครแอลจิปะปนอยู่ไปเทผ่านชั้นกรองที่มีขนาดตา 1 มิลลิเมตร และ 22 มิลลิเมตร ตามลำดับ เพื่อแยกตะกอนที่มีขนาดใหญ่และขนาดเล็กออก ชี้ลดการบดบังจากตะกอนขณะทำการจำแนกชนิด หรือตรวจนับจำนวน

- นำตะกอนที่ติดอยู่บนชั้นกรองขนาด 22 มิลลิเมตร ไปเติมน้ำทะเลกรองและเติมสารละลายฟอร์มอลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ บันทึกปริมาณตัวอย่างตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างเบนทิกในโครงแอลจีที่ได้จากการใช้สิ่วแซฟิวหน้าของปะการังที่มีขนาดใหญ่แยกเป็นหิกในโครงแอลจีโดยการใช้ sonicator เพื่อทำให้ตัวอย่างเบนทิกในโครงแอลจีหลุดออกจากผิวปะการัง หลังจากนั้นทำการขันตอนเช่นเดียวกับการแยกตัวอย่างเบนทิกในโครงแอลจีออกจากชากปะการังในข้อ 1. ถึงข้อ 3.

3.1.2 การแยกตัวอย่างเบนทิกในโครงแอลจีออกจากตัวอย่างดิน และทราย

แยกตัวอย่างเบนทิกในโครงแอลจีจากตัวอย่างดิน และทรายทำโดยนำตัวอย่างที่มีดินและทรายคนในบิกเกอร์ ซึ่งแช่อยู่ใน sonicator เป็นเวลาประมาณ 1 - 2 นาที เพื่อให้เบนทิกในโครงแอลจีหลุดจากตะกอนดินและทราย หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปผ่านชั้นกรองที่มีขนาดตา 1 มิลลิเมตร และ 22 ไมโครเมตร ตามลำดับ นำตะกอนที่ติดอยู่บนชั้นกรองขนาดตา 22 ไมโครเมตร ไปตีบิณ้ำหะเลกรองและเติมสารละลายฟอร์มอลินให้มีความเข้มข้นสูดท้ายประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ บันทึกปริมาตรสูดท้ายของตัวอย่าง

3.2 การจำแนกชนิดและนับจำนวนเบนทิกในโครงแอลจี

จำแนกชนิดของเบนทิกในโครงแอลจีที่มีโครงสร้างไม่ขับข้อนสามารถมองเห็นและจำแนกความแตกต่างของลักษณะต่าง ๆ ได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (compound microscope) และสำหรับเบนทิกในโครงแอลจีบางชนิดที่มีโครงสร้างที่ใช้ในการจำแนกชนิดขนาดเล็ก ไม่สามารถจำแนกได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบได้จะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกล้อง (scanning electron microscope หรือ SEM)

3.2.1 การจำแนกชนิดของเบนทิกในโครงแอลจีด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ

ตรวจสอบชนิดของเบนทิกในโครงแอลจีจากสไลด์ที่เตรียมจากตัวอย่างที่รักษาสภาพในสารละลายฟอร์มอลิน และตัวอย่างที่กำจัดสารอินทรีย์ออกแล้ว (ภาชนะแก้ว) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่ติดอุปกรณ์ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 40 ถึง 1,000 เท่า พร้อมทั้งถ่ายรูปเพื่อประกอบการวินิจฉัย

3.2.2 การจำแนกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกล้อง

การตรวจสอบชนิดของเบนทิกในโครงแอลจีโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกล้องช่วยให้สามารถเห็นรายละเอียดของโครงสร้างที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเบนทิกในโครงแอลจีได้ชัดเจนยิ่งขึ้น และช่วยให้การตรวจสอบชนิดเบนทิกในโครงแอลจีมีความถูกต้องยิ่งขึ้น

โดยนำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ภาคผนวก) มาถ่ายรูปโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ วิเล็กตรอนแบบสองกราด 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), Kuyljenstiema (1989), Simonsen (1992), Snoijs และ Potapova (1995), Tomas (1996) และ Yamaji (1986)

3.2.3 นับจำนวนของเบนทิกไมโครแอลจีในระดับสกุล โดยการสูมตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Sedgwick - Rafter counting slide นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ ที่กำลังขยาย 100 เท่า โดยสูมน้ำบดตัวอย่างเบนทิกไมโครแอลจีในแต่ละชุด จำนวน 2 ครั้ง

4. การหาพื้นที่วัสดุยึดเกาะของเบนทิกไมโครแอลจี

เนื่องจากวัสดุยึดเกาะของเบนทิกไมโครแอลจีที่ได้จากการเก็บตัวอย่างมีรูปแบบที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องคำนวณหาพื้นที่ผิวของวัสดุยึดเกาะโดยวิธีที่แตกต่างกันไปดังนี้

4.1 การคำนวณหาพื้นที่ของชากรปะการังที่เป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ ดินและทราย

เนื่องจากพื้นที่ของชากรปะการังที่เป็นแผ่นหินปูนขนาดใหญ่ ดินและทรายมีลักษณะแบบราบ การคำนวณหาพื้นที่จึงสามารถใช้ขนาดของ quadrat ซึ่งมีขนาดพื้นที่เท่ากับ 100 ตารางเซนติเมตร

4.2 การคำนวณหาพื้นที่ชากรปะการังแบบกึงก้าน ก้อน และเศษขนาดเล็ก

ชากรปะการังที่เป็นกึงก้าน ก้อน และเศษขนาดเล็กสามารถนำมาคำนวณหาพื้นที่ ผิวได้โดยใช้การแทนที่ของพื้นที่ผิวปะการังด้วย aluminum foil และวัดจึงนำ aluminum foil ไปปั้นน้ำหนัก นำค่าน้ำหนักที่ซึ่งได้ไปเปรียบเทียบกับสมการจากกราฟมาตราชูนของน้ำหนักและพื้นที่ของ aluminum foil (ตารางภาคผนวกที่ 1)

5. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

5.1 เปรียบเทียบปริมาณเบนทิกไมโครแอลจีแต่ละสกุล ในแต่ละบริเวณที่ศึกษา ระหว่างจากผู้สำรวจวัสดุยืดเก้าะ และช่วงเวลาในแต่ละเดือน โดยใช้ Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) ข้อมูลที่ใช้วิเคราะห์ผ่านการแปลงข้อมูลโดยใช้ Log (X+1) เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 10.0

5.2 วิเคราะห์ความคล้ายคลึงระหว่างบริเวณที่ศึกษา ระหว่างจากผู้สำรวจ วัสดุยืดเก้าะ และเดือนที่ทำการศึกษา โดยใช้ข้อมูลปริมาณเบนทิกไมโครแอลจีในแต่ละสกุล โดยการวิเคราะห์ Detrended Correspondence Analysis (DCA) และ Cluster Analysis (CA) ข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ผ่านการแปลงข้อมูลโดยใช้ Log (X+1) เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.20