2. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

สถานที่ทำการศึกษา

หนองทะเลสองห้องเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติที่ตั้งอยู่ระหว่างเส้นพิกัดที่ 7° 50′ - 7° 51′ N., 99° 28′ - 99° 29′ E. (รูปที่ 1) ซึ่งอยู่ภายในบริเวณค่ายลูกเสือแห่งชาติหนองทะเลสองห้อง ในเขตตำบลบางดี อำเภอห้วยยอด จังหวัดตรัง

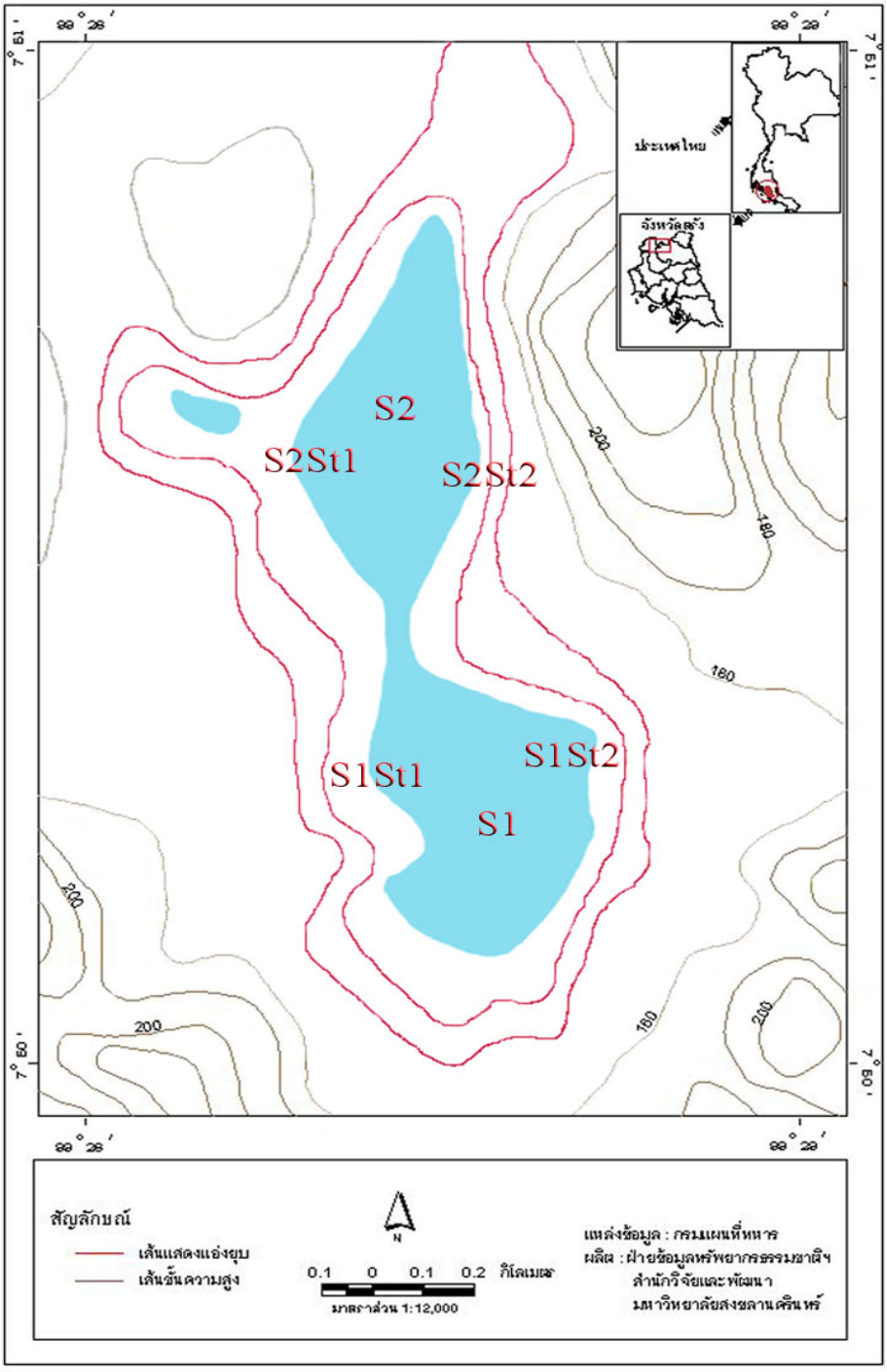
ลักษณะภูมิอากาศ

จากข้อมูลสถิติลักษณะลมฟ้าอากาศ และสาระประกอบอุตุนิยมวิทยารายเดือนประจำปีของสถานีตรวจอากาศตรัง สามารถแบ่งลักษณะภูมิอากาศของจังหวัดตรังออกเป็นฤดูกาลตามอิทธิพลของลมมรสุมได้ดังนี้

- ฤดูฝนเป็นช่วงที่ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้จากมหาสมุทรอินเดีย อยู่ในช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนกันยายน สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปปรากฏฝนฟ้าคะนอง และมีฝนตกหนักอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงเวลาดังกล่าว ในบริเวณหนองทะเลสองห้องระดับน้ำภายในแหล่งน้ำเพิ่มสูงขึ้นเหนือระดับแนวตลิ่ง และหลากเข้าสู่บริเวณพื้นที่ราบแนวตลิ่งบางส่วน สภาพแหล่งน้ำมีปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำมากและมีความขุ่นสูง
- ฤดูแล้งเป็นช่วงที่ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือจากทะเลจีนใต้และอ่าวไทย อยู่ในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม ถึงเดือนเมษายน สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปมีสภาพอากาศปลอดโปร่ง ค่อนข้างร้อน และแห้งแล้ง ปริมาณฝนที่ตกในช่วงเวลาดังกล่าวลดลงจากช่วงฤดูฝน บริเวณหนองทะเลสองห้องระดับน้ำภายในแหล่งน้ำลดลงเล็กน้อยจากระดับแนวตลิ่ง สภาพแหล่งน้ำมีปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำน้อย น้ำค่อนข้างใส

ระยะเวลาทำการศึกษา

เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่ เดือนพฤศจิกายน 2542 จนถึงเดือนพฤศจิกายน 2543 รวมระยะเวลา 12 เดือน



รูปที่ 1 สถานที่ศึกษาและเก็บตัวอย่าง บริเวณหนองทะเลสองห้อง อำเภอห้วยยอด จังหวัดตรัง
ที่มา: กรมแผนที่ทหาร มปป.

S1	แทนบริเวณศึกษาที่ 1	S2	แทนบริเวณศึกษาที่ 2
S1St1	แทนสถานีที่1 บริเวณศึกษาที่ 1	S2St1	แทนสถานีที่1 บริเวณศึกษาที่ 2
S1St2	แทนสถานีที่2 บริเวณศึกษาที่ 1	S2St2	แทนสถานีที่2 บริเวณศึกษาที่ 2

วิธีการศึกษา

1. พื้นที่ในการเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาและอาหารธรรมชาติ

กำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างปลาและอาหารธรรมชาติเป็น 2 บริเวณ ตามลักษณะทางภูมิศาสตร์ โดยกำหนดให้เป็นบริเวณที่ 1 และ บริเวณที่ 2 และในแต่ละบริเวณดังกล่าวกำหนดจุดเก็บตัวอย่างย่อยเป็น 2 สถานี (รูปที่1) แทนกลุ่มประชากรปลาและอาหารธรรมชาติทั้งหมดในหนองทะเลสองห้อง

บริเวณที่ 1 (S1) ตั้งอยู่ทางทิศใต้ของแหล่งน้ำซึ่งมีลักษณะสภาพแวดล้อมโดยทั่วไปประกอบด้วยไม้ยืนต้น พืชน้ำและพืชริมตลิ่งจำพวกหญ้า บริเวณชายฝั่งด้านตะวันออกเฉียงเหนือมีลักษณะเป็นพื้นที่ราบมีความชันน้อย บริเวณชายฝั่งด้านตะวันออกเฉียงใต้อยู่ติดกับเชิงเขา ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความชันมาก ระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 1.5-4 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

สถานีที่ 1 (S1St1) ตั้งอยู่ทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของแหล่งน้ำ สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปบริเวณชายฝั่งมีพืชน้ำพวกหญ้าคมบาง (*Scleria* sp.) และกก (*Cyperus* sp.) ขึ้นอยู่อย่างประปรายประกอบกับพืชจำพวกหญ้าหวาย (*Paspalum* sp.) ที่ทอดตัวเป็นแนวยาวตามริมตลิ่งที่ขึ้นสลับกับไม้ยืนต้นจำพวกกระถิน (*Leucaena leucocephala*) และเสม็ดขาว (*Melaleuca quinquenervia*) บริเวณชายฝั่งมีความชันค่อนข้างน้อย โดยระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 1.8 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

สถานีที่ 2 (S1St2) ตั้งอยู่ทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ของแหล่งน้ำ ลักษณะโดยทั่วไปบริเวณริมตลิ่งประกอบไปด้วยพืชจำพวกหญ้าหวายที่ขึ้นอยู่อย่างหนาแน่นทอดตัวลงไปตามแนวชายฝั่งสลับกับไม้ยืนต้นจำพวกสะตอ (*Parkia speciosa*) ซึ่งอยู่ติดกับเชิงเขา บริเวณชายฝั่งมีความลาดชันมาก โดยระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 3.5 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

บริเวณที่ 2 (S2) ตั้งอยู่ทางทิศเหนือของแหล่งน้ำ ลักษณะสภาพแวดล้อมโดยทั่วไปประกอบไปด้วยพืชน้ำ และพืชริมตลิ่งจำพวกหญ้าซึ่งทอดตัวไปตามแนวชายฝั่ง บริเวณชายฝั่งด้านตะวันตกเฉียงเหนือมีลักษณะเป็นพื้นที่ราบ ซึ่งมีความชันน้อย ส่วนบริเวณชายฝั่งด้านตะวันออกเฉียงเหนืออยู่ติดกับเชิงเขา ซึ่งมีความชันมาก ระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 1-3 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

สถานีที่ 1 (S2St1) ตั้งอยู่ทางทิศตะวันตกเฉียงเหนือของแหล่งน้ำ บริเวณโดยรอบประกอบด้วยพืชน้ำพวกหญ้าคมบาง กก และกระจูด (*Lepironia articulata*) ประกอบกับพืชริมตลิ่งพวกหญ้าหวายที่ขึ้นอยู่อย่างประปรายทอดตัวเป็นแนวยาวตามชายฝั่งที่มีความชัน

ค่อนข้างน้อย โดยระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 1.5 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

สถานีที่ 2 (S2St2) ตั้งอยู่ทางด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือของแหล่งน้ำ สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปประกอบไปด้วยพืชน้ำพวกหญ้าคมบาง กก และกระจูด ที่ขึ้นอยู่ประปรายสลับกับพืชริมตลิ่งพวกหญ้าหวายที่ทอดตัวลงไปบริเวณชายฝั่งที่มีความชันค่อนข้างมาก โดยระยะห่างจากฝั่ง 10 เมตร มีความลึกประมาณ 2.8 เมตร ลักษณะพื้นดินเป็นดินโคลน

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บตัวอย่างปลาและอาหารธรรมชาติทุก ๆ 2 เดือน เก็บตัวอย่างปลา ด้วยอวนทับตลิ่ง ขนาดตา 0.5 เซนติเมตร ยาว 20 เมตร ลึก 2.5 เมตร วางอวนขนานกับแนวตลิ่ง ห่างจากตลิ่ง 10 -15 เมตร แล้วดึงปลายทั้ง 2 ข้างลากเข้าหาฝั่ง เก็บตัวอย่างปลาที่ติดอยู่ในอวนใส่ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง แต่ละสถานีของแต่ละบริเวณจะเก็บตัวอย่างปลา 3 ซ้ำ ตัวอย่างในแต่ละซ้ำจะเก็บใส่ถุงพลาสติกแยกกัน ตัวอย่างที่รวบรวมได้จะนำไปรักษาสภาพในสารละลายฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ ทันทีเพื่อหยุดการย่อยของอาหารในกระเพาะอาหาร

เก็บตัวอย่างอาหารธรรมชาติ ได้แก่ พืชน้ำ แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ สัตว์หน้าดิน และสัตว์ที่อาศัยร่วมกับพืชริมตลิ่งจากพื้นที่ศึกษาทั้ง 2 บริเวณ ตามวิธี Standard Methods (APHA, 1985) โดยในการเก็บตัวอย่างอาหารธรรมชาติจะกระทำในบริเวณเดียวกันกับที่มีการเก็บตัวอย่างปลา

1. พืชน้ำตามแนวตลิ่ง เก็บตัวอย่างพืชน้ำด้วยวิธีเดินสำรวจชนิด พร้อมทั้งถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างพืชน้ำที่พบในแต่ละสถานีทั้ง 2 บริเวณ เพื่อนำไปวินิจฉัยชนิดในห้องปฏิบัติการ

2. แพลงก์ตอนพืช เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชโดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 นิ้ว ขนาดตา 20 ไมครอน ลากในแนวราบบริเวณผิวน้ำจำนวน 3 ซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่ได้จากการลากในแต่ละซ้ำใส่ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างในแต่ละขวด จำนวน 3 ขวด เขียนสลากระบุตำแหน่งบริเวณที่เก็บในแต่ละสถานีทั้ง 2 บริเวณ เพื่อให้ครอบคลุมจำนวนชนิดของแพลงก์ตอนพืชมากที่สุด

3. แพลงก์ตอนสัตว์ เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง14 นิ้ว ขนาดตา 60 ไมครอน ลากในแนวราบบริเวณผิวน้ำจำนวน 3 ซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ที่ได้จากการลากในแต่ละซ้ำใส่ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างในแต่ละขวด จำนวน 3 ขวด เขียนสลากระบุตำแหน่งบริเวณที่เก็บในแต่ละสถานีทั้ง 2 บริเวณ เพื่อให้ครอบคลุมจำนวนชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์มากที่สุด

4. สัตว์หน้าดินจากผิวดิน เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินโดยใช้ Ekman grab ขนาด 15x15 ตารางเซนติเมตร หย่อนลงสู่พื้นก้นที่ระดับความลึกประมาณ 1.5 เมตร จำนวน 3 ซ้ำ ในแต่ละสถานีทั้ง 2 บริเวณ เพื่อให้ครอบคลุมจำนวนชนิดของสัตว์หน้าดินมากที่สุด หลังจากนั้นนำตัวอย่างดินทั้งหมดมาแยกสิ่งมีชีวิตด้วยตะแกรงขนาดตา 500 ไมครอน ใช้ปากคีบปลายแหลม (forceps) จับสิ่งมีชีวิตที่แยกได้เก็บไว้ในขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial) ซึ่งเขียนสลากระบุตำแหน่งที่เก็บไว้เช่นเดียวกันเพื่อนำไปวินิจฉัยชนิดในห้องปฏิบัติการ

5. สัตว์ที่อาศัยร่วมกับพืชริมตลิ่ง เก็บตัวอย่างสัตว์ที่อาศัยร่วมกับพืชริมตลิ่ง โดยใช้สวิงตาข่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 นิ้ว ขนาดตา 280 ไมครอน ที่บริเวณส่วนกันของสวิงประกอบติดกับขวดพลาสติกที่เขียนสลากระบุตำแหน่งที่เก็บ ซึ่งสามารถถอดเปลี่ยนได้ ลากบนผิวน้ำบริเวณริมตลิ่งที่มีพืชน้ำและพืชริมตลิ่งขึ้นปกคลุมจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้เวลาลากนานประมาณ 30 วินาที โดยเก็บตัวอย่างสัตว์ที่ได้จากการลากในแต่ละซ้ำใส่ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างในแต่ละขวด จำนวน 3 ขวด ในแต่ละสถานีทั้ง 2 บริเวณ ตัวอย่างสัตว์ที่อาศัยร่วมกับพืชริมตลิ่งที่เก็บได้ทั้งหมดนำไปวินิจฉัยชนิดในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างอาหารธรรมชาติที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมดยกเว้นตัวอย่างพืชน้ำนำมารักษาสภาพในสารละลายฟอร์มาลิน 5 เปอร์เซ็นต์

3. การวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

3.1. การศึกษาชนิดปลา ตัวอย่างปลาทั้งหมดที่เก็บรวบรวมมาได้มาวินิจฉัยหาชนิดในห้องปฏิบัติการโดยอาศัยคู่มือจัดจำแนกตาม คณะประมง (2525), Smith (1945), Thiemmedh (1968) และ Rainboth (1996) จากนั้นนำมานับจำนวนและวัดความยาวมาตรฐาน (standard length)

3.2. การศึกษาองค์ประกอบอาหารที่พบในธรรมชาติ ตัวอย่างอาหารธรรมชาติที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมดจะนำมาวินิจฉัยชนิดและจัดจำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อเปรียบเทียบกับชนิดของอาหารในกระเพาะอาหารของปลา

3.2.1. ตัวอย่างพืชน้ำ นำมาตรวจสอบและจัดจำแนกในระดับ order ตามเอกสารของช่อทิพย์ (2531), เต็ม (2544), Nielsen (1985), Soerjani *et al.* (1987) และ Simpson and Koyama (1998) เพื่อทราบถึงชนิด และนำไปเปรียบเทียบกับชนิดของอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของปลา

3.2.2. ตัวอย่างสัตว์หน้าดิน และแมลงน้ำ นำมาตรวจสอบและจัดจำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ (stereo microscope) ในระดับ order ตามเอกสารของ Usinger (1968), Needham (1972), Chu and Cutkomp (1992), Merritt and Cummins (1996) และ McCafferty (1981) พร้อมทั้งจดบันทึกจำนวน

3.2.3. ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ นำมาตรวจสอบและจัดจำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope) ตามเอกสารของ ลัดดา (2541, 2542) พร้อมทั้งจดบันทึกจำนวน

การนับจำนวนแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ โดยนำขวดเก็บตัวอย่างทั้งแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ มาเขย่าแล้วใช้ micropipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างใส่ลงใน Sedgwick - Rafter counting chamber พร้อมทั้งนับจำนวนผ่านทางกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ ที่กำลังขยาย 100 เท่า จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาจำนวนแพลงก์ตอนทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวน

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์จำนวนของอาหารในธรรมชาติที่พบทั้งหมดในแต่ละ order จากตัวอย่างที่ศึกษา ในแต่ละเดือน

3.3. การศึกษาองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะอาหารของปลา และลักษณะการกินอาหาร ด้วยการผ่าตัดกระเพาะอาหาร โดยใช้กรรไกรผ่าตัดแบบปลายโค้งเปิดช่องท้อง หลังจากนั้นใช้กรรไกรผ่าตัดปลายแหลมตัดเอาส่วนของกระเพาะอาหารมาใส่ลงใน petri dish แล้วนำมาตรวจดูชนิดของอาหารในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ จำแนกกลุ่มอาหารที่พบในกระเพาะอาหารในระดับ อันดับ (order) และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของจำนวน เปอร์เซ็นต์ของปริมาตร และเปอร์เซ็นต์ความถี่ของอาหารแต่ละกลุ่มตามวิธีของ Hyslop (1980) ซึ่งประกอบไปด้วย

- วิธีการนับจำนวนอาหาร (numerical method)

โดยนับจำนวนตัวของสัตว์และจำนวนชิ้นของพืชในองค์ประกอบอาหารแต่ละกลุ่มที่พบในปลาแต่ละตัว นำมาคำนวณหาสัดส่วนของจำนวนอาหารแต่ละกลุ่มเป็นร้อยละของจำนวนทั้งหมด (%N)

$$\%N_i = 100\ N_i / \sum_{i=1}^{n} N_i$$

เมื่อ $\%N_i$ คือ ร้อยละของอาหารชนิด i

n คือ จำนวนชนิดของอาหารที่แตกต่างกัน

N_i คือ จำนวนตัวหรือชิ้นของอาหารชนิด i เมื่อ i แทนอาหารชนิดที่ 1 ถึงชนิดที่ n

-วิธีวัดปริมาตรอาหาร (volumetric method)

โดยการเกลี่ยอาหารในจานแก้วแล้วประเมินสัดส่วนปริมาตรของอาหารในกระเพาะอาหารจากพื้นที่ครอบคลุมขององค์ประกอบอาหารแต่ละกลุ่ม ซึ่งใช้วิธีจำแนกและจัด

กลุ่มอาหารแต่ละชนิดที่เป็นชนิดเดียวกันไว้ในกลุ่มเดียวกันแล้วจึงพิจารณาสัดส่วนพื้นที่ของอาหารแต่ละกลุ่มชนิดทั้งหมดจากสายตาเป็นร้อยละของปริมาตรทั้งหมด (%V)

$$\% V_i = 100\ V_i / \sum_{i=1}^{n} V_i$$

เมื่อ $\%V_i$ คือ ร้อยละของปริมาตรอาหารชนิด i

n คือ จำนวนชนิดของอาหารที่แตกต่างกัน

V_i คือ ปริมาตรของอาหารชนิด i เมื่อ i แทนอาหารชนิดที่ 1 ถึงชนิดที่ n

- วิธีหาความถี่ในการพบอาหาร (frequency of occurrence method)

โดยการนับจำนวนกระเพาะอาหารของปลาที่มีอาหารชนิดที่ศึกษา แล้วนำมาคำนวณหาสัดส่วนความถี่ในการพบอาหารแต่ละกลุ่มเป็นร้อยละของจำนวนกระเพาะอาหารปลาแต่ละชนิดที่ศึกษา (%F)

ร้อยละของความถี่อาหารชนิด i ในปลาแต่ละชนิด = $\frac{\text{จำนวนกระเพาะอาหารที่พบอาหารชนิด i}}{\text{จำนวนกระเพาะอาหารที่นำมาศึกษาทั้งหมด}}$

$$\% F_i = 100\ F_i / S$$

เมื่อ $\%F_i$ คือ ร้อยละของความถี่ของจำนวนกระเพาะอาหารที่พบอาหารชนิด i

F_i คือ จำนวนกระเพาะอาหารของปลาสปีชีส์เดียวกับที่พบอาหารชนิด i

S คือ จำนวนกระเพาะของปลาสปีชีส์เดียวกับที่ตรวจสอบทั้งหมด

คำนวณหาค่าดัชนีสำคัญสัมพัทธ์ (IRI; Index of Relative Importance) ตามวิธีของ Pinkas *et al.* (1971) จากสมการ

$$IRI = \%F\ (\%N+\%V)$$

3.4. การศึกษาคุณสมบัติของน้ำ โดยตรวจวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen) พีเอช (pH) และอุณหภูมิ (temperature) ของน้ำของแต่ละสถานีในแต่ละบริเวณ ซึ่งเป็นจุดเดียวกันกับที่มีการเก็บตัวอย่างปลาและอาหารในธรรมชาติโดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดคุณภาพน้ำยี่ห้อ Horiba รุ่น water analysis checker U-10 ตรวจวัดคุณสมบัติของน้ำจำนวน 3 ครั้งในแต่ละบริเวณ

ศึกษาปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และค่าความเป็นด่าง โดยเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำบริเวณผิวน้ำจำนวน 3 ซ้ำ ใส่ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างแยกกัน จำนวน 3 ขวด เขียนสลากระบุตำแหน่งบริเวณที่เก็บ แช่ตัวอย่างในถังน้ำแข็งเพื่อนำตัวอย่างน้ำไปวิเคราะห์

ภายในห้องปฏิบัติการ โดยปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง photometer รุ่น sq nova 60 วัดค่าการดูดกลืนแสง การวิเคราะห์ไนโตรเจนใช้หลักการวิธี chromotropic acid การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสใช้หลักการวิธี vanadomolybdophosphoric acid colorimetric ตาม Standard Method (APHA, 1985) ส่วนค่าความเป็นด่างวิเคราะห์โดยใช้วิธี titration ตาม Standard Method (APHA, 1985)

4. การศึกษาผลผลิตเบื้องต้น

ประเมินผลผลิตเบื้องต้นด้วยวิธีการวัดออกซิเจนในขวดมืดและขวดสว่างตาม standard method (APHA, 1985) โดยใช้ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร จำนวน 14 ขวด แบ่งเป็นขวดสว่าง (clear) 8 ขวด และขวดมืด (dark) 6 ขวด แบ่งขวดทดลองเป็น 2 ชุด สำหรับใช้ในบริเวณที่ 1 และบริเวณที่ 2 ในแต่ละชุดประกอบด้วยขวดสว่าง 4 ขวด และขวดมืด 3 ขวด นำขวดทดลองดังกล่าวบรรจุน้ำตัวอย่างที่เก็บจากบริเวณผิวน้ำในแต่ละบริเวณโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศภายในขวด นำตัวอย่างน้ำจากขวดสว่างที่เก็บจากบริเวณที่ 1 และ 2 อย่างละ 1 ขวด มาวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนเริ่มต้น (initial) นำขวดสว่างและขวดมืดไปแขวนให้ขวดจมอยู่ใต้น้ำในช่วงระดับผิวน้ำทั้งในบริเวณที่1 และบริเวณที่ 2 เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นเก็บขวดสว่างและขวดมืดในแต่ละบริเวณมาวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจน

- นำขวดสว่างมาคำนวณหาผลผลิตสุทธิ (net primary production)

จากสมการ N = Clear – Initial

โดย N คือ อัตราการผลิตออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงที่เหลือจากการใช้ในการหายใจ

Initial คือ ปริมาณออกซิเจนในขวดเริ่มต้น

Clear คือ ปริมาณออกซิเจนจากขวดสว่าง

- นำขวดมืดมาคำนวณปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการหายใจ (respiration)

จากสมการ R = Initial – Dark

โดย R คือ อัตราการใช้ออกซิเจนในการหายใจ

Initial คือ ปริมาณออกซิเจนในขวดเริ่มต้น

Dark คือ ปริมาณออกซิเจนจากขวดมืด

- นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนข้างต้นมาคำนวณหาค่าออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงทั้งหมด (gross primary productivity)

จากสมการ G = Clear – Dark

โดย G คือ อัตราการผลิตออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงทั้งหมด

Clear คือ ปริมาณออกซิเจนจากขวดสว่าง

Dark คือ ปริมาณออกซิเจนจากขวดมืด

- คำนวณค่าออกซิเจนกลับไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม คาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/วัน

จากสมการ mg. carbon/m^3/day = mg. oxygen released/L* (12/32) * 1000

เมื่อ 1 โมล ของคาร์บอนเท่ากับ 12 กรัม

และ 1 โมล ของออกซิเจนเท่ากับ 32 กรัม

5.การวิเคราะห์ผลการศึกษา

5.1.ปัจจัยสภาพแวดล้อม และผลผลิตเบื้องต้น

เปรียบเทียบค่าปัจจัยสภาพแวดล้อม และผลผลิตเบื้องต้นในแต่ละเดือน และบริเวณ โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-Ways ANOVA) ข้อมูลปัจจัยสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องทดสอบว่าข้อมูลมีการกระจายแบบปกติหรือไม่ หากการกระจายไม่ปกติต้องนำข้อมูลมาแปลงค่า โดยใช้ Log (X+1) เพื่อช่วยให้การกระจายของข้อมูลเป็นแบบปกติ รวมทั้งความแปรปรวนจะมีค่าใกล้เคียงกัน (วิภูษิต, 2540) ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของสถิติพาราเมตริก และเพื่อให้ข้อมูลอยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการแปรผล โดยกำหนดให้ เดือน และบริเวณที่ศึกษาเป็นตัวแปรอิสระ ส่วนผลผลิตเบื้องต้น และปัจจัยสภาพแวดล้อม ซึ่งประกอบไปด้วย ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ค่าความเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนละลาย พีเอช และอุณหภูมิของน้ำ เป็นตัวแปรตาม โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 10 ที่ความเชื่อมั่น 95% หากพบว่าตัวแปรอิสระมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จะทำการตรวจสอบความแตกต่างที่เกิดขึ้น โดยใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Test

5.2. องค์ประกอบอาหารในธรรมชาติและอาหารในกระเพาะอาหารของปลา

เปรียบเทียบองค์ประกอบของอาหารในธรรมชาติและเปรียบเทียบองค์ประกอบอาหารในกระเพาะอาหารของปลาแต่ละชนิด ในแต่ละเดือนและบริเวณที่เก็บตัวอย่าง โดยใช้เทคนิควิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายตัวแปร (Multivariate Analysis of Variance) เพื่อตรวจสอบสมมุติฐานอิทธิพลของเดือนและบริเวณศึกษาไม่มีผลต่อความผันแปรของความอุดมสมบูรณ์ของอาหารในธรรมชาติ และตรวจสอบสมมุติฐานอิทธิพลของเดือนและบริเวณศึกษาไม่มีผลต่อความผันแปรของเปอร์เซ็นต์ดัชนีสำคัญสัมพัทธ์ของอาหารที่พบในกระเพาะปลา ก่อนการวิเคราะห์ทางสถิติได้ทดสอบการกระจายของข้อมูล หากการกระจายไม่ปกติต้องแปลงค่าข้อมูลที่เป็นเปอร์เซ็นต์ โดยใช้ Arcsine เพื่อลดความผันแปรของค่าความแปรปรวน (วิภูษิต, 2540) และทำให้ข้อมูลมีการกระจายแบบปกติเป็นไปตามข้อกำหนดของสถิติพาราเมตริก และอยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการแปรผล โดยกำหนดให้ เดือน และบริเวณที่ศึกษาเป็นตัวแปรอิสระ และเปอร์เซ็นต์ดัชนีสำคัญสัมพัทธ์ของอาหารในธรรมชาติและอาหารที่พบในกระเพาะ

อาหารปลาของปลาแต่ละชนิดเป็นตัวแปรตาม โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 10 ที่ความเชื่อมั่น 95%

5.3. การเลือกกินอาหาร

วิเคราะห์การเลือกกินอาหารของปลาแต่ละชนิดโดยใช้ Electivity Index (Ivlev's 1961) ตามวิธีของ Krebs (1989)

จากสมการ $E = (r_i - p_i) / (r_i + p_i)$

เมื่อ E คือ ค่าดัชนีการเลือกกินอาหาร

r_i คือ สัดส่วนของอาหารชนิด i ที่พบในกระเพาะอาหารทั้งหมดของปลาชนิดต่างๆ

p_i คือ สัดส่วนของอาหารชนิด i ที่พบในธรรมชาติ

ดัชนีการเลือกกินอาหารจะแสดงค่าอยู่ในช่วง –1 ถึง 1 โดยที่

-1 แสดงว่าปลาไม่เลือกกินอาหารชนิดนั้น

0 แสดงว่าปลาเลือกกินอาหารชนิดนั้นแบบสุ่ม

+1 แสดงว่าเลือกกินอาหารชนิดนั้น

5.4. แนวโน้มการซ้อนทับอาหาร

ตรวจสอบแนวโน้มการแก่งแย่งอาหารระหว่างปลาแต่ละชนิด โดยการวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะอาหารของปลาแต่ละชนิดด้วย Detrend Correspondence Analysis (DCA) โดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.20 ในตารางวิเคราะห์ข้อมูลกำหนดให้ชนิดของปลาจัดอยู่ในแถว (row) ส่วนชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะอาหารของปลาจัดอยู่ในสดมภ์ (column) ชนิดปลาที่มีจำนวนน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนปลาทั้งหมดจะถูกตัดออกจากการวิเคราะห์ เนื่องจากอาจทำให้ผลการวิเคราะห์เกิดความคลาดเคลื่อนจากข้อมูลที่มีจำนวนน้อย ข้อมูลอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของปลาแต่ละชนิดเป็นข้อมูลที่แสดงผลในรูปของเปอร์เซ็นต์ ได้แปลงข้อมูลโดยใช้ Arcsine เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ จากนั้นทดสอบข้อมูลในขั้นต่อไปด้วย Cluster Analysis โดยเลือกการวิเคราะห์แบบ Euclidean และ Ward's Method ซึ่งใช้หลักการจัดกลุ่ม โดยพิจารณาจากผลรวมระยะห่างระหว่างตัวแปร (case) ที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด (กัลยา, 2544) เพื่อจัดกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารที่คล้ายคลึงกัน

5.5. ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อม ผลผลิตเบื้องต้น และอาหารในธรรมชาติ ต่อการกระจายของปลา

วิเคราะห์ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อม ผลผลิตเบื้องต้น และอาหารในธรรมชาติต่อการกระจายของปลาด้วย Canonical Correspondence Analysis (CCA) โดยใช้โปรแกรม PC-ORD version 3.20 ปลาที่มีจำนวนน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนทั้งหมดจะถูกตัดออกจากการวิเคราะห์ เนื่องจากอาจทำให้ผลการวิเคราะห์เกิดความคลาดเคลื่อนจากข้อมูลที่มี

จำนวนน้อย ข้อมูลจำนวนปลา ปัจจัยสภาพแวดล้อม และผลผลิตเบื้องต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ ต้องทดสอบว่าข้อมูลมีการกระจายแบบปกติหรือไม่ หากการกระจายไม่ปกติต้องแปลงข้อมูลด้วย Log (X+1) ส่วนอาหารในธรรมชาติแสดงผลในรูปของเปอร์เซ็นต์ต้องแปลงข้อมูลด้วย Arcsine เพื่อให้มีการกระจายแบบปกติ ผลการวิเคราะห์จะแสดงในรูปของกราฟแบบ Biplot โดยใช้แกนที่ 1 และแกนที่ 2 ในการอธิบายผล เนื่องจากทั้งสองแกนมีค่า eigenvalue สูงที่สุด โดยค่าดังกล่าวสามารถอธิบายความแปรปรวนของกลุ่มประชากรของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาได้อย่างครอบคลุม ชนิดของปลาจะแทนด้วยจุด ส่วนค่าปัจจัยสิ่งแวดล้อม ผลผลิตเบื้องต้น และอาหารในธรรมชาติ จะแทนด้วยลูกศรจากแกนกลางของกราฟซึ่งจะพาดผ่านชนิดของปลา ความยาวของลูกศรแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของปัจจัยสภาพแวดล้อมแต่ละค่า ทิศทางของลูกศรแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสภาพแวดล้อม ผลผลิตเบื้องต้น และอาหารในธรรมชาติ กับปลา ตำแหน่งของชนิดปลาตามแนวทิศทางลูกศร แสดงความเหมาะสมของปัจจัยสภาพแวดล้อม ผลผลิตเบื้องต้น และอาหารในธรรมชาติ ต่อปลาชนิดนั้น

5.6 สายใยอาหาร

สร้างแบบแผนสายใยอาหารภายในหนองทะเลสองห้อง โดยใช้ข้อมูลองค์ประกอบอาหารในกระเพาะอาหารของปลาแต่ละชนิด เพื่อแสดงการเชื่อมโยงในการกินอาหารของปลาชนิดต่างๆ กับอาหารแต่ละชนิดที่ปลากิน