บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 วัสดุ อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์แพลงก์ตอนพืช

- ถุงลากแพลงก์ตอน (plankton net) ขนาดตา 20 ไมโครเมตร
- ขวดสีชา ขนาด 300 มิลลิลิตร
- เครื่องนับจำนวนแพลงก์ตอนพืช
- น้ำยา Lugol's solution
- น้ำยาฟอร์มาลิน
- กล้องจุลทรรศน์แบบเลนซ์ประกอบ (compound microscope)
- กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (inverted microscope)
- อุปกรณ์ตกตะกอนและนับจำนวนสาหร่าย(sediment and counting chamber)

2.1.2 วัสดุ อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ (Rattner water sampler) ขนาดปริมาตร 1 ลิตร
- กระดาษกรอง GF/C
- เครื่องมือวัดความโปร่งแสง (Secchi disc)
- เครื่องมือวัดอุณหภูมิน้ำ แบบ digital ID 1090 ของบริษัท INDEX ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) model 15 ของบริษัท Denver Instrument ประเทศอังกฤษ

- เครื่องมือวัดค่าการนำไฟฟ้า ใช้ microprocessor–precision–conductivity Meter ของบริษัท (LF 3000) ประเทศสหรัฐอเมริกา
- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) model 7800 บริษัท Jasco ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัดความเร็วกระแสน้ำ mechanical flowmeters model 2030 serial B 15766 บริษัท General Oceanics ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องมือวัดความขุ่นของน้ำ laboratory turbidimeter model 2100 AN ของบริษัท HACH ประเทศ สหรัฐอเมริกา
- เครื่องแก้ว เช่น บิกเกอร์ (beaker), ฟลาสก์ (flask), ปิเปต (pipette), บิวเรต (burette), ขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร, ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25, 50, 100, 250, 500 และ1,000 มิลลิลิตร
- ขวด polyethylene ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- ถังน้ำแข็ง
- สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี ปริมาณไนไตรท์ ปริมาณไนเตรท ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำและปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (ภาคผนวก ก)

2.2 วิธีการ

2.2.1 สถานีเก็บตัวอย่าง

อ่างเก็บน้ำเขื่อนบางลาง เป็นเขื่อนหินทิ้งแกนเป็นดินเหนียว ตั้งอยู่บนเส้นรุ้ง 6^{0} 09' 12.83" เหนือ เส้นแวง 101^{0} 16' 32.91" ตะวันออก กั้นแม่น้ำปัตตานี ที่บ้านบางลาง ตำบลบาเจาะ อำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา มีพื้นที่รับน้ำเหนือเขื่อน 2,080 ตารางกิโลเมตร ระดับสันเขื่อนสูง 120 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง สันเขื่อนยาว 430 เมตร ระดับน้ำที่รับได้สูงสุดจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 115 เมตร ต่ำสุด 83 เมตร ความจุของอ่างเก็บน้ำ 1,420 ล้านลูกบาศก์

เมตรที่ระดับ 115 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง พื้นที่ผิวน้ำที่ระดับสูงสุดปกติ 51 ตารางกิโลเมตร ความยาวอ่างเก็บน้ำที่ระดับสูงสุดปกติ 41 กิโลเมตร ปริมาณการตกตะกอนในอ่าง 0.4 ล้านลูกบาศก์เมตรต่อปี คิดเป็นอายุการใช้งานเขื่อนประมาณ 700 ปี เอื้อประโยชน์ให้การชลประทานในเขตจังหวัดปัตตานีและจังหวัดยะลา รวมพื้นที่ 380,000 ไร่ (การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย, 2524) อ่างเก็บน้ำเขื่อนบางลางตั้งอยู่ทางตอนใต้ของประเทศไทย ซึ่งสภาพอากาศจะมีฝนตกเกือบตลอดปี (รูปภาพผนวก ข ที่ 2) โดยได้รับลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2532) และได้รับอิทธิพลจากป่าบาลาฮาลา ทำให้การแบ่งฤดูกาลในพื้นที่นี้ไม่เด่นชัดนัก (รูปภาคผนวก ข ที่ 2) ดังนั้นการศึกษาแพลงก์ตอนพืชในอ่างเก็บน้ำเขื่อนบางลางแบบรอบปีน่าจะเหมาะสมกว่าการศึกษาแบบฤดูกาล ซึ่งการศึกษาแบบฤดูกาล ควรมีความแตกต่างของฤดูกาลชัดเจน เช่น บริเวณเขตอบอุ่น (Harris, 1986)

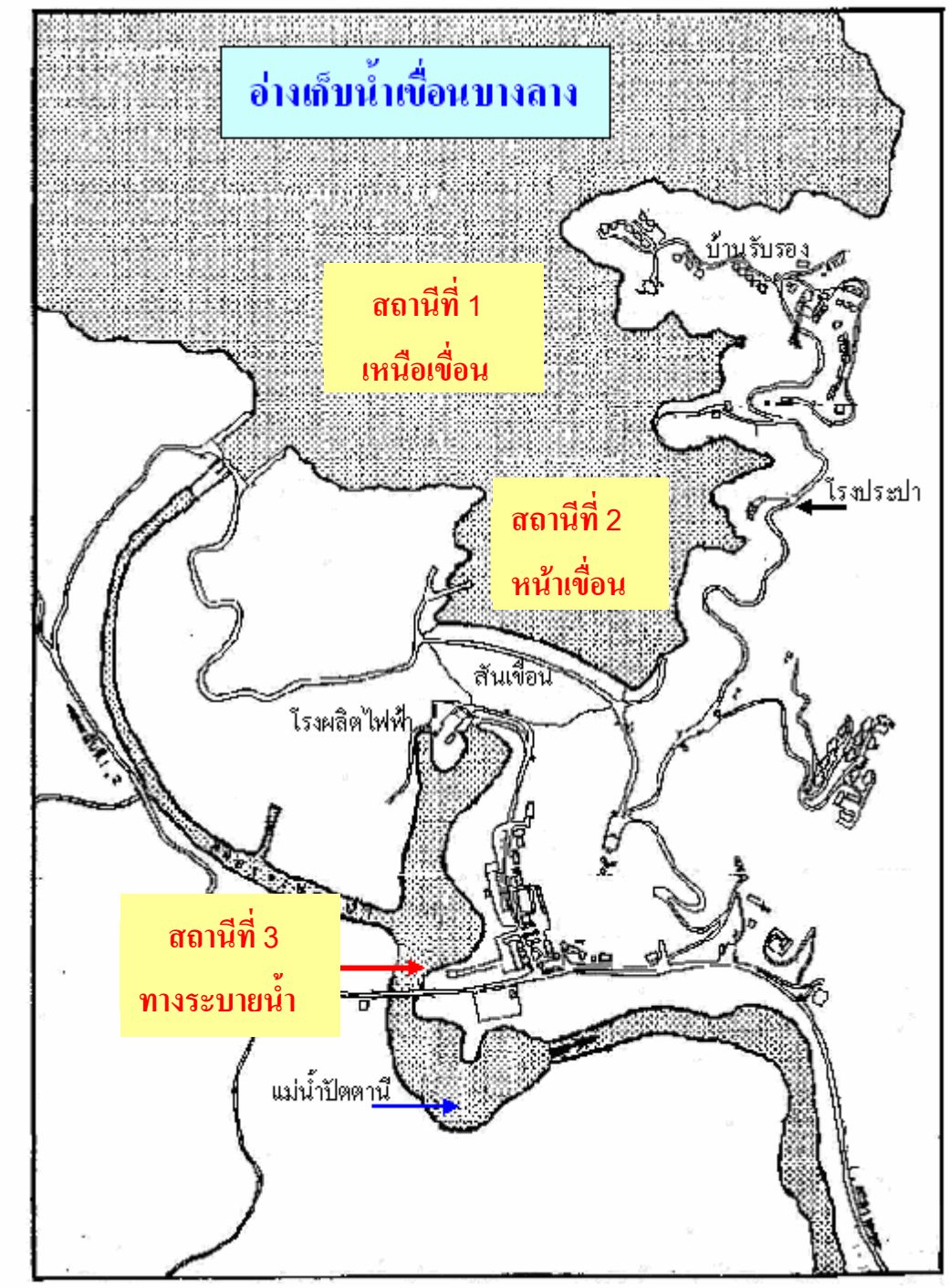
กำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง บริเวณเขื่อนบางลาง 3 สถานี (รูปที่ 2)

สถานีที่ 1. บริเวณเหนือเขื่อน เป็นสถานีรับน้ำจากรอบๆอ่างเก็บน้ำ ก่อนน้ำเข้ามายังหน้าเขื่อน (รูปที่ 3ก)

สถานีที่ 2. บริเวณหน้าเขื่อน เป็นสถานีพักน้ำ เลือกเก็บตัวอย่างบริเวณสถานีที่ลึกที่สุดเป็นตัวแทน (Interlandi *et al*., 1999 และ Evans and Prepas, 1998) ซึ่งเป็นแนวแม่น้ำเดิม (รูปที่ 3ข)

สถานีที่ 3. บริเวณทางระบายน้ำ เป็นสถานีรับน้ำจากเขื่อนที่ผ่านการนำน้ำไปใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าและระบายน้ำเพื่อการชลประทาน (รูปที่ 3ค) จากสถานีนี้น้ำจะไหลไปตามแม่น้ำปัตตานีและไหลลงสู่อ่าวไทยที่จังหวัดปัตตานี

2.2.2 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างน้ำเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2543 ถึง เดือนเมษายน 2544 รวม 12 ครั้ง



รูปที่ 2 แผนผังแสดงสถานีเก็บตัวอย่างน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนบางลาง จังหวัดยะลา

ที่มา : การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (2542)

สถานีที่ 1. บริเวณเหนือเขื่อน

สถานีที่ 2. บริเวณหน้าเขื่อน

สถานีที่ 3. บริเวณทางระบายน้ำ

รูปที่ 3 สถานีเก็บตัวอย่างน้ำ ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนบางลาง จังหวัดยะลา

2.2.3. การเก็บตัวอย่าง

2.2.3.1 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชแต่ละสถานี เพื่อใช้ในการจำแนกชนิด โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร ลากในแนวดิ่งจากระดับความลึก 30 เมตร ถึงระดับผิวน้ำที่สถานีที่ 1 และ 2 ส่วนสถานีที่ 3 ซึ่งมีความลึกไม่ถึงระดับ 10 เมตร สถานีนี้จะลากจากพื้นท้องน้ำที่ลึกที่สุด (กำหนดสถานีนี้จากช่วงที่น้ำแห้ง) รักษาสภาพแพลงก์ตอนพืชด้วยฟอร์มาลิน โดยปรับความเข้มข้นของฟอร์มาลินในน้ำตัวอย่างให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณร้อยละ 4 (APHA, 1992)

ส่วนการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชเพื่อหาความหนาแน่น เก็บตัวอย่างโดยใช้อุปกรณ์เก็บน้ำ Ruttner water sampler ปริมาตร 1 ลิตร เก็บตัวอย่างน้ำที่ระดับผิวน้ำ 10 เมตร และ 30 เมตร ใส่ในขวดสีชารักษาสภาพด้วยน้ำยา Lugol's solution (ภาคผนวก ก ที่ 1) โดยปรับความเข้มข้นของน้ำยาในน้ำตัวอย่างให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณร้อยละ0.3 (APHA, 1992)

2.2.3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำ 3 สถานี โดยใช้อุปกรณ์เก็บน้ำ Ruttner water sampler ปริมาตร 1 ลิตร แต่ละสถานีเก็บที่ระดับผิวน้ำ ที่ระดับความลึก 10 เมตร และ 30 เมตร ยกเว้นสถานีที่ 3 เก็บที่ระดับผิวน้ำระดับเดียว เนื่องจากมีความลึกไม่ถึง 10 เมตร เก็บน้ำใส่ขวดพอลิเอทิลีน ขนาด 1 ลิตร จำนวน 3 ขวดต่อระดับต่อสถานีเก็บตัวอย่าง แล้วแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หา ปริมาณไนไตรท์ ปริมาณไนเตรท ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำและปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ส่วนปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเก็บใส่ในขวดบีโอดี รักษาสภาพด้วยการเติมแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และอัลคาไลด์ไอโอไดเอไซด์ 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมีในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ APHA (1992) นอกจากนี้ ในระหว่างการเก็บตัวอย่างน้ำ ได้มีการวัดความโปร่งแสงของน้ำ โดยใช้ Secchi disc วัดความเร็วของกระแสน้ำบริเวณผิวน้ำโดยใช้เครื่องวัดความเร็วกระแสน้ำ model 2030 Serial B 15766 ของบริษัท General Oceanics อุณหภูมิของน้ำโดยใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิน้ำ แบบ digital ID 1090 ของบริษัท INDEX, วัดความเป็นกรด-เบสของน้ำโดยใช้เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส model 15 ของบริษัท Denver Instrument

2.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

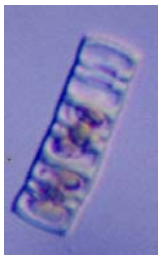
2.3.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืช

2.3.1.1 **การวิเคราะห์ชนิดของแพลงก์ตอนพืช** นำตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช มาหยดลงบนแผ่นสไลด์หลุม (chamber slide) ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ หลังจากนั้นนำไปจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนซ์ประกอบกำลังขยาย 400-1,000 เท่า ตามแนววินิจฉัยของ Desikachary (1959); Prescott (1973); Smith (1951); Withford and Schumacher (1969) และ John *et al*. (2002) เป็นต้น ถ่ายภาพแพลงก์ตอนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนซ์ประกอบ พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ เพื่อใช้ในการตรวจสอบความถูกต้อง

2.3.1.2 **การวิเคราะห์ปริมาณของแพลงก์ตอนพืช** การหาปริมาณของแพลงก์ตอนพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณหาปริมาตรชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช โดยนำตัวอย่างน้ำมาเขย่าและเทใส่อุปกรณ์ตกตะกอน ขนาด 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 1 คืน ตามวิธีของ Utermohl (1958) แล้วนำไปนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (inverted microscope) โดยนับแพลงก์ตอนพืชทุกตัวในสไลด์

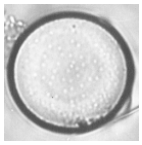
2.3.1.3 **การวิเคราะห์มวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช** การวิเคราะห์มวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช (determination of biomass หรือ standing crop) วิเคราะห์จากข้อมูลปริมาตรชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช ตามวิธีการของ Rott (1981) โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้ นำตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช มาหยดลงบนแผ่นสไลด์ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นับจำนวนและวัดขนาดแพลงก์ตอนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนซ์ประกอบกำลังขยาย 400-1,000 เท่า แล้วนำไปคำนวณหาปริมาตรของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดตามสูตรการคำนวณรูปทรงเรขาคณิต (ภาคผนวก ก ที่ 3) แล้วนำค่าปริมาตรของแต่ละชนิด มาคูณกับค่าความหนาแน่นของแต่ละชนิด เพื่อหาค่าปริมาตรชีวภาพ ยกตัวอย่าง เช่น

Melosira varians Agardh



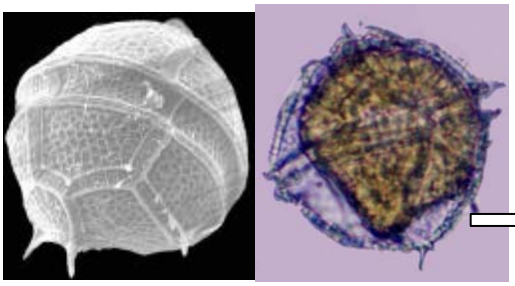
Filament

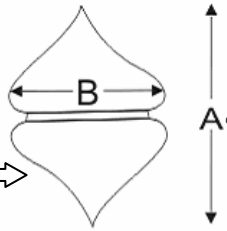
A



Valve View

: มีลักษณะทรงกระบอกกลมสูตรที่ใช้หาปริมาตร $V = \pi AB^2/4$ โดย A=เส้นผ่าศูนย์กลาง B= ความสูงของเซลล์



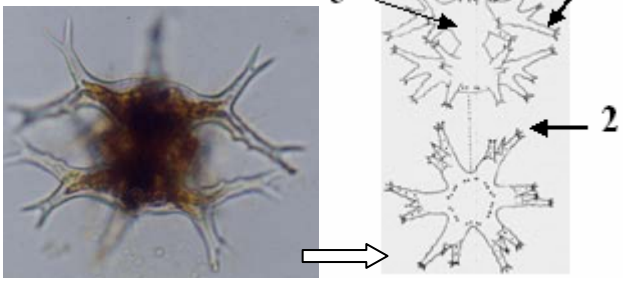


Peridinium aciculiferum Lemm.

ใช้สูตร $V = \pi AB^2/9$

แพลงก์ตอนพืชบางชนิดใช้สูตรในการคำนวณหลายสูตรประกอบกันในการหาปริมาตร เนื่องจากส่วนต่างๆของเซลล์มีรูปทรงเรขาคณิตที่แตกต่างกัน เช่น *Stuarastrum* spp. บางชนิดหนามจะมีรูปร่างทรงกรวย ลำตัวเป็นรูปทรงปิระมิดฐานสามเหลี่ยมหรือกลม ซึ่งต้องใช้สูตรในการคำนวณมากว่าหนึ่งสูตรในการหาปริมาตรเป็นต้น สูตรการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก ก ที่ 3

Staurastrum sexangulare **ใช้หลายสูตรร่วมกัน คือ**



สูตรรูปทรงกระบอก $V=\P r^2h$

สูตรรูปทรงกรวย $V=\P r^2h/3$

สูตรทรงกรวยปลายตัด $V=\P (R^2+rR+r^2) h/3$

2.3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ตามวิธีการของ (APHA, 1992) นำตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์หา

2.3.2.1 ความเป็นเบส (alkalinity) โดยวิธี Tritration method (ภาคผนวก ก ที่ 2.7)

2.3.2.2 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen; DO.) โดยใช้ Azide modification of Iodometric method หรือ Winlker method (ภาคผนวก ก ที่ 2.1)

2.3.2.3 ไนโตรเจน (nitrogen): NO_2-N ใช้วิธี Colorimetric method (ภาคผนวก ก ที่ 2.4), NO3-N ใช้วิธี Cadmium Reduction Method (ภาคผนวก ก ที่ 2.5), NH_3-N ใช้วิธี Phenate method (ภาคผนวก ก ที่ 2.6)

2.3.2.4 ฟอสฟอรัส (phosphorus): (soluble reactive phosphorus และ total phosphorus) ใช้วิธี Ascorbic acid method (ภาคผนวก ก ที่ 2.2 และ ภาคผนวก ก ที่ 2.3 ตามลำดับ)

2.3.2.5 การนำไฟฟ้า (conductivity) นำตัวอย่างน้ำมาวัดค่าการนำไฟฟ้าในห้องปฏิบัติการ วัดค่าโดยใช้ microprocessor–precision–conductivity meter (LF 3000) ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2.4.1 วิเคราะห์หาความชุกชุมของแพลงก์ตอนพืช

ใช้ปริมาตรชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชในการวิเคราะห์ความชุกชุมของแพลงก์ตอนพืช (Margalef, 1978) วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Multivariate Statistical Package (MVSP) ของ Kovach Computing Services ตามวิธีการของ Clarke and Warwick (1994) แสดงผลด้วย Principal Components Analysis (PCA) ตามวิธีการของ Chatfield and Collins (1980) วิธีนี้เป็นการแสดง ordination ที่ดีที่สุดและมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย (Jackson, 1993) โดยข้อมูลในการวิเคราะห์ผ่านการแปลงข้อมูลโดยถอดล็อกฐาน 10 โดยแกนที่ 1 จะแสดงผลมากที่สุด รองลงมาคือแกนที่ 2 โดยตำแหน่งที่อยู่ห่างแกนที่ 1 มากที่สุด จะแสดงผลเป็นชนิดที่มีความชุกชุมมากที่สุด

2.4.2 วิเคราะห์การจัดกลุ่มแพลงก์ตอนพืช

การวิเคราะห์การจัดกลุ่มแพลงก์ตอนพืชโดย Cluster Analysis ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MVSP แปลงข้อมูลโดยถอดล็อกฐาน 10 จัดแบ่งโดย Squared Euclidean แสดงความคล้ายคลึงจากค่าความแตกต่างกันน้อยของความแปรปรวน (minimum variance)

2.4.3 วิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดและมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช

การวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดและมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชใช้ Canonical Correspondence Analysis (CCA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Multivariate Statistical Package (MVSP) ของ Kovach Computing Services ทำการวิเคราะห์โดยใช้ชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่มีความชุกชุมมากที่สุด 20 ชนิดจากค่า PCA ของแต่ละสถานี (ตารางภาคผนวก ข ที่ 1-7) กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม 13 ปัจจัย (ทางกายภาพมี อุณหภูมิของน้ำ ความลึกที่แสงส่องถึง ความเร็วของกระแสน้ำ ความขุ่นของน้ำ ทางเคมี คือ ออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นกรด-เบส ความเป็นด่าง ค่าการนำไฟฟ้า และสารอาหารพวก ไนไตรท์ ไนเตรท แอมโมเนีย ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ และ ฟอสฟอรัสทั้งหมด) แปลงข้อมูลมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชและ

ปัจจัยสภาพแวดล้อมด้วยการถอดล็อกฐาน 10 เพื่อให้มีการกระจายปกติ ค่า intra set correlation ของ Ter Braak (1986) เพื่อศึกษาผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อชนิดและมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช โดย CCA เป็นการวิเคราะห์ direct gradient analysis ซึ่งวิเคราะห์ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆต่อชนิดของสิ่งมีชีวิตโดยตรง เป็นวิธีที่เริ่มมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยา (Palmer, 1993) โดยแต่ละขั้นตอนการวิเคราะห์จะเขียนกราฟ joint plot ของแกนที่ 1 และแกนที่ 2 แสดงความสัมพันธ์มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ โดยชนิดของแพลงก์ตอนพืชแทนด้วยคำย่อ (abbreviation) ส่วนค่าปัจจัยสภาพแวดล้อมแทนด้วยลูกศร ซึ่งจะพาดผ่าน species score (Ter Braak, 1986) ตามความยาวลูกศร แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของปัจจัยในสภาพแวดล้อมแต่ละค่า ทิศทางของลูกศรแสดงให้เห็นว่าปัจจัยสภาพแวดล้อมมีความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ โดยชนิดที่อยู่ใกล้บริเวณลูกศร จะมีความสัมพันธ์กับปัจจัยมากกว่าชนิดที่อยู่ไกล ตำแหน่งของ species score แต่ละสถานีตามลูกศรปัจจัยสภาพแวดล้อมแสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น (Palmer, 1993)