หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

บริเวณที่ศึกษาและระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง

1. อ่าวไทยตอนบน

ลักษณะของอ่าวไทยตอนบนเป็นอ่าวสี่เหลี่ยมรูปตัว ก ที่มีฝ่ายฝั่งทะเลทั้งสาม ด้านยาวด้านละประมาณ 90 กิโลเมตร ลักษณะพื้นท้องทะเลมีความลาดเอียงลงจากฝ่ายฝั่งทะเลด้านเหนือลงมาถึงปากอ่าวตอนใต้ โดยทางฝั่งตะวันตกจะมีความลาดเอียงลงน้อยกว่าฝั่งทะเลด้านตะวันออก และมีความลึกมากที่สุดอยู่บริเวณทิศตะวันตกของเกาะคราม อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ซึ่งมีความลึก 48 เมตร ลักษณะของพื้นท้องทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนบนนี้โดยทั่วไปจะเป็นทรายปนโคลน หรือเปลือกหอย ทางตอนเหนือมีแม่น้ำสายใหญ่ที่สำคัญ 4 สาย นำน้ำจืดไหลลงสู่อ่าวไทยตอนบนเป็นปริมาณมาก (คงวัฒน์ นิละศรี, 2524)

กระแสน้ำในบริเวณอ่าวไทยตอนบนมีลักษณะเป็นแบบกระแสน้ำขึ้น น้ำลง (Tidal Current) อันเกิดเนื่องจากอิทธิพลของแรงดึงดูดของดวงจันทร์และดวงอาทิตย์ กล่าวคือ ระหว่างเวลาน้ำขึ้นกระแสน้ำจะมีทิศทางเฉลี่ยอยู่ในทิศเหนือ ส่วนในระหว่างเวลาน้ำลงกระแสน้ำจะมีทิศทางเฉลี่ยอยู่ทางทิศใต้ โดยกำลังแรงของกระแสน้ำจะเปลี่ยนแปลงไปตามคาบเวลาน้ำขึ้นน้ำลง (ถาวร พงศ์พิพัฒน์, 2521)

การเก็บตัวอย่างในอ่าวไทยตอนบน ใช้เรือสำรวจประมง 2 ของกองสำรวจแหล่งประมง กรมประมง มีสถานีเก็บตัวอย่างรวม 25 สถานี (รูปที่ 2) โดยเก็บตัวอย่างในระหว่างวันที่ 15 มีนาคม 2527 ถึงวันที่ 29 มีนาคม 2527

2. อ่าวไทยตอนล่าง

ลักษณะของอ่าวไทยตอนล่างมีส่วนที่กว้างที่สุดประมาณ 555กิโลเมตร ยาวประมาณ 838 กิโลเมตร พื้นท้องทะเลมีลักษณะคล้ายรูปกะทะกล่าวคือ บริเวณที่มีความลึกมากที่สุดจะอยู่กลางอ่าวแล้วค่อย ๆ ตื้นขึ้นตามแนวความลาดชันของขอบฝ่ายฝั่งทะเล มีความลึกมากที่สุดไม่เกิน

85 เมตร หากแบ่งเขตอ่าวไทยตอนล่างตามการสำรวจของกองสมุทรศาสตร์ กองทัพเรือ (2526) จะแบ่งออกได้เป็น 3 เขตคือ

2.1 เขตอ่าวไทยฝั่งตะวันตก ได้แก่ บริเวณชายฝั่งทะเลด้านตะวันตกของอ่าวไทยตอนบน คือจากอำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ลงไปถึงอำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส โดยครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่เขตน้ำขึ้น น้ำลงออกไปประมาณ 50 กิโลเมตร พื้นท้องทะเลค่อนข้างตื้น โดยทั่วไปจะเป็นโคลน หรือโคลนปนทราย และเปลือกหอย

2.2 เขตอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ได้แก่ บริเวณชายฝั่งทะเลด้านตะวันออกของอ่าวไทยตอนบน กล่าวคือ จากอำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ไปทางทิศตะวันออกจนถึงเกาะกูด จังหวัดตราด โดยครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่เขตน้ำขึ้น น้ำลง ออกไปประมาณ 50 กิโลเมตรเช่นกัน ลักษณะของพื้นท้องทะเลโดยทั่วไป จะมีลักษณะเป็นโคลนหรือโคลนปนทราย

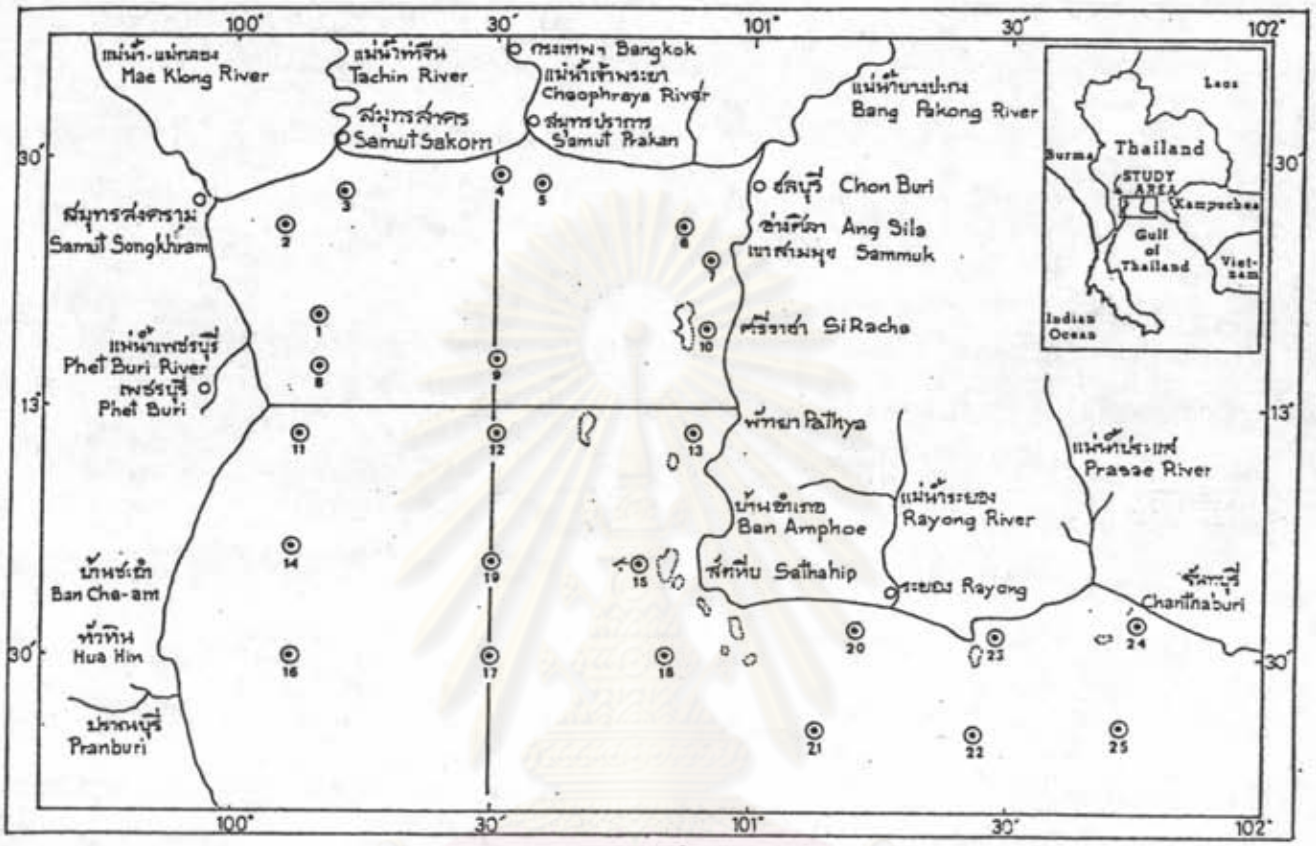
2.3 เขตกลางอ่าวไทย ได้แก่ บริเวณพื้นที่นอกชายฝั่งทะเลต่อจากเขตอ่าวไทยตอนบน เขตอ่าวไทยฝั่งตะวันตกและเขตอ่าวไทยฝั่งตะวันออกไปจนถึงขอบเขตเศรษฐกิจจำเพาะของประเทศไทย ลักษณะของพื้นท้องทะเลจะเป็นแอ่งลงไป และมีลักษณะเป็นโคลนประมาณครึ่งหนึ่งของพื้นที่ทั้งหมด ที่เหลือจะเป็นทรายหรือทรายปนโคลน

กระแสน้ำในบริเวณอ่าวไทยตอนล่างมีลักษณะเป็นกระแสน้ำขึ้น น้ำลง เช่นเดียวกับในอ่าวไทยตอนบน (กองสมุทรศาสตร์ กองทัพเรือ, 2526) ค่ากระแสน้ำเฉลี่ยหรือลักษณะกระแสน้ำประจำมีความสัมพันธ์กับลักษณะการแพร่กระจายของอุณหภูมิและความเค็ม

การเก็บตัวอย่างในอ่าวไทยตอนล่างใช้ ร.ล.คุ้กร์ ของกรมอุทกศาสตร์ทหารเรือ มีสถานีเก็บตัวอย่างรวม 54 สถานี (รูปที่ 3) โดยเก็บตัวอย่างในระหว่างวันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2527 ถึงวันที่ 7 มีนาคม 2527

3. บริเวณอ่าวไทยทางชายฝั่งทะเลด้านตะวันออก

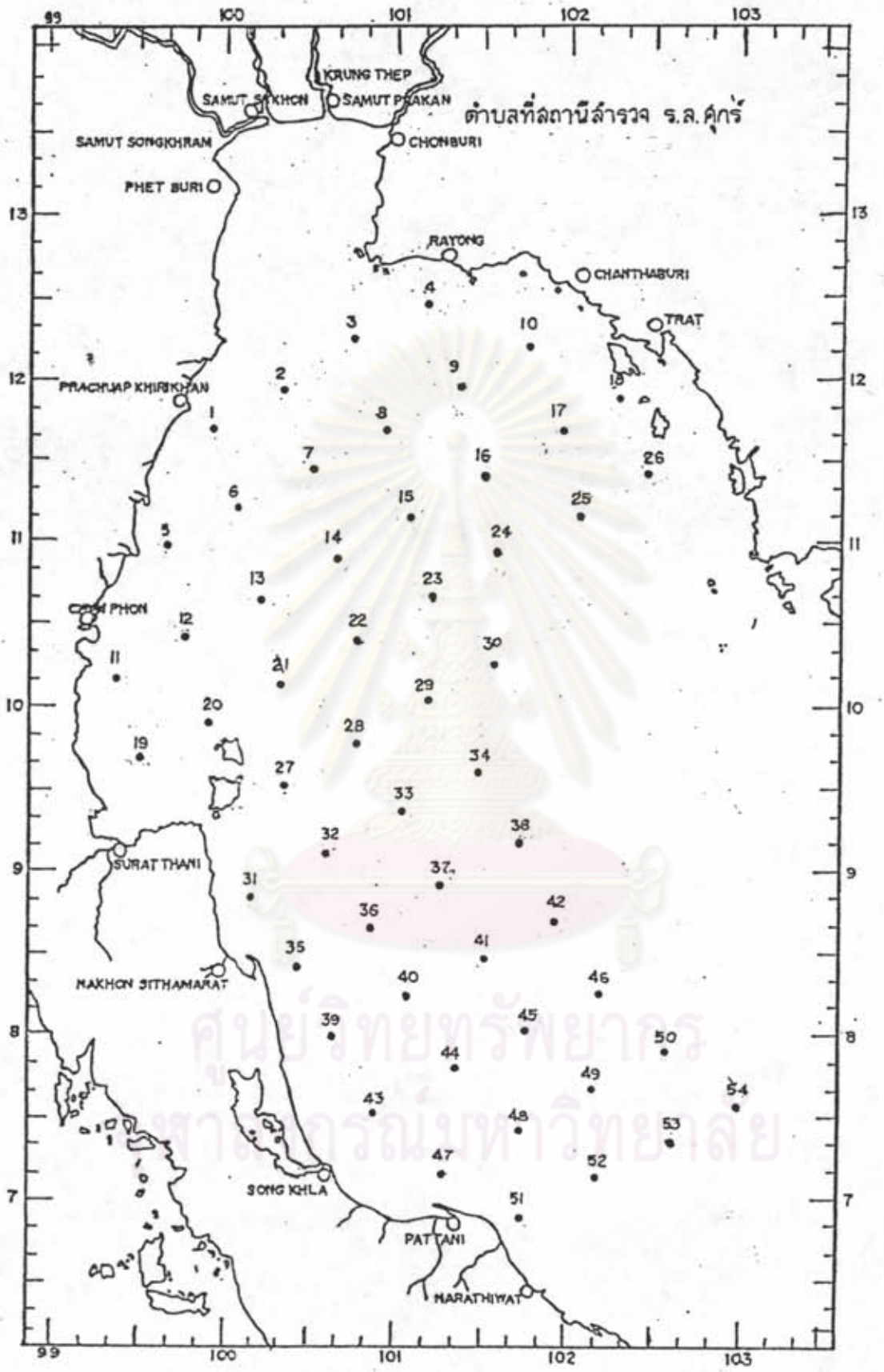
การเก็บตัวอย่างในบริเวณนี้ใช้เรือสำรวจประมง 1 ของกองประมงทะเล กรมประมง ได้วิเคราะห์ตัวอย่างในสถานีที่ 1, 2, 6, 7, 13, 18, 20, 21, 31, 32, 33 และ 34 รวม 12 สถานี (รูปที่ 4) โดยเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2526 ถึงเดือนธันวาคม 2526 ยกเว้นเดือนมีนาคม และเดือนตุลาคม ซึ่งไม่ได้ออกสำรวจ



รูปที่ 2 แผนที่แสดงสถานีสำรวจเก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวไทยตอนบน โดยเรือสำรวจ ประมง 2 ระหว่างวันที่ 15 มีนาคม 2527 ถึง 29 มีนาคม 2527

⊙ 1-25 สถานีสำรวจเก็บตัวอย่าง

012373

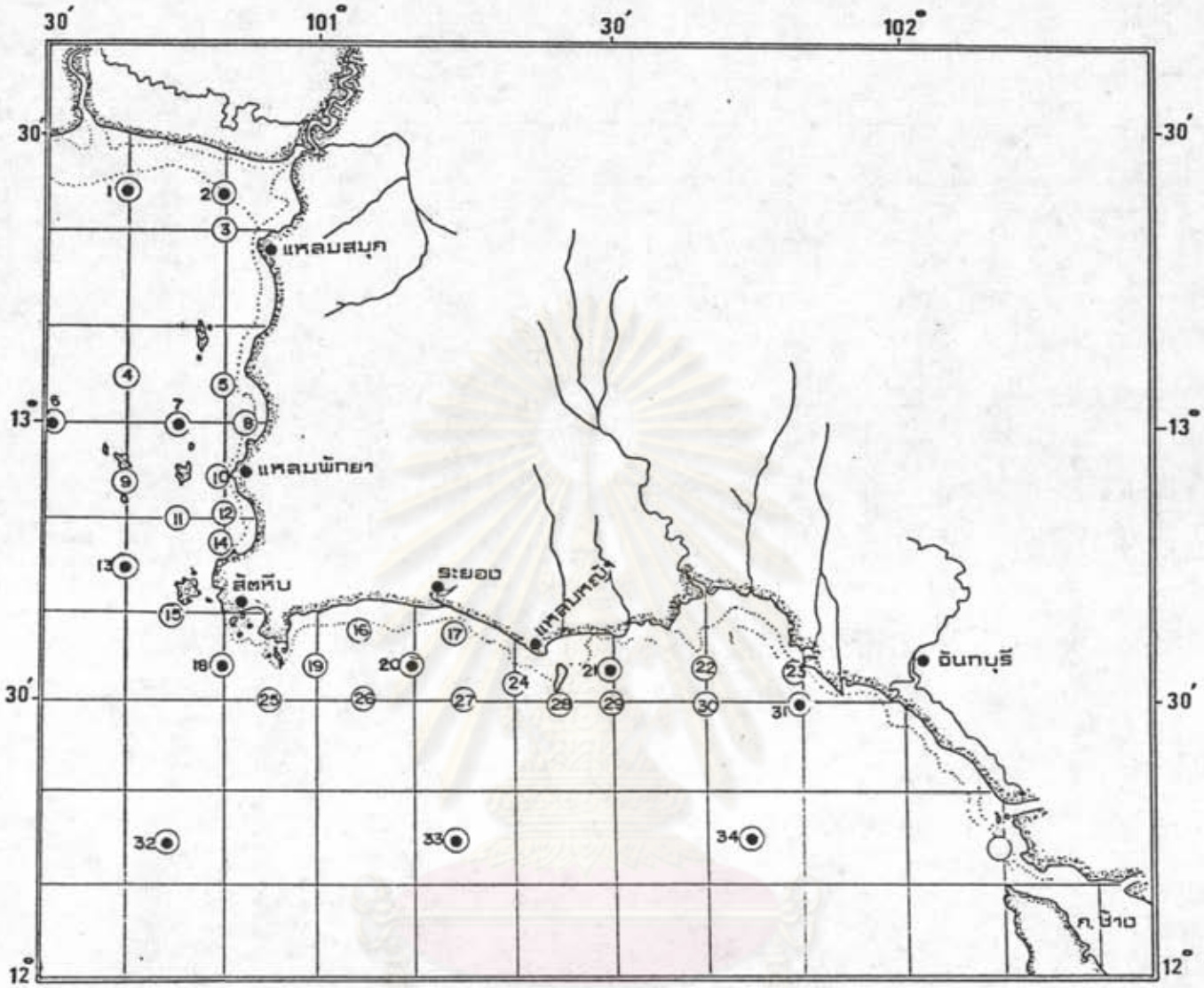


รูปที่ 3 แผนที่แสดงสถานีสำรวจเก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง

โดย ร.ล.ศุกร์ ระหว่างวันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2527 ถึง 7 มีนาคม 2527

• 1-45 สถานีสำรวจเก็บตัวอย่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4 แผนที่แสดงสถานีสำรวจเก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวไทยทางฝั่งทะเลด้านตะวันออก โดยเรือสำรวจประมง 1 ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2526 ถึง เดือนธันวาคม 2526

◉ สถานีที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง

○ สถานีสำรวจเก็บตัวอย่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างแพลงค์ตอนพืชที่เก็บโดย ร.ล.คุ้กร์ และเรือสำรวจประมง 2 ใช้ถุงแพลงค์ตอนที่มีขนาดตาอวน 20 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลางของปากถุง 30 เซนติเมตร ลากถุงแพลงค์ตอนในแนวดิ่งที่ระดับความลึกไม่เกิน 20 เมตร สำหรับตัวอย่างแพลงค์ตอนพืชที่เก็บโดยเรือสำรวจประมง 1 ของกองประมงทะเล กรมประมง ใช้ถุงแพลงค์ตอนที่มีขนาดตาอวน 63 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลางของปากถุง 20 เซนติเมตร ลากถุงแพลงค์ตอนในแนวดิ่งที่ระดับความลึกไม่เกิน 5 เมตร เก็บรักษาตัวอย่างไว้ในฟอร์มาลิน ที่มีความเข้มข้นประมาณ 4-10 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งเก็บข้อมูลคุณภาพของน้ำทะเลในแต่ละสถานี

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การวิเคราะห์ตัวอย่างแพลงค์ตอนพืช

นำตัวอย่างแพลงค์ตอนพืชที่เก็บมาแยกชนิด ลักษณะเฉพาะ ตลอดจนรูปแบบต่าง ๆ ของไดโนแฟลกเจลเลตที่อยู่ในครอบครัว Dinophysiaceae, Gonyaulacaceae และ Peridiniaceae พร้อมทั้งวาดรูปแสดงลักษณะสำคัญของแต่ละชนิด โดยใช้กล้องคาเมรา ลูซิดา (camera lucida) ช่วย เอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดของไดโนแฟลกเจลเลตเหล่านี้ได้แก่ Abé (1981), Dodge (1982), Kofoid (1911), Kofoid and Skogsberg (1928), Lebour (1925), Schiller (1933, 1937), Steidinger and Williams (1970), Subrahmanyan (1968, 1971), Tai and Skogsberg (1934) และ Taylor (1976) สำหรับการวัดขนาดของไดโนแฟลกเจลเลตในครอบครัว Dinophysiaceae วัดตามวิธีของ Kofoid and Skogsberg (1928) (ดังรูปที่ 5) การศึกษาองค์ประกอบ และการเรียงตัวของ plate (plates configulation) ของไดโนแฟลกเจลเลตในครอบครัว Gonyaulacaceae และ Peridiniaceae ทำได้โดยใช้เทคนิคในการแยกองค์ประกอบของ plate (thecal dissociation) ในกรณีที่ตัวอย่างไม่อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการอันเนื่องมาจากขาดความสมดุลย์ อาจทำให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการได้โดยใช้ glycerine jelly นอกจากนี้ทำการนับไดโนแฟลกเจลเลตแต่ละชนิดที่แยกได้ โดยใช้ Sedgwich Rafter Cell ที่มีความจุ 1 มิลลิลิตร และนำไดโนแฟลกเจลเลตบางชนิดไปถ่ายภาพโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope/SEM) ของ JSM-35 CF

1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการแยกองค์ประกอบของ plate (thecal dissociation)

1.1.1 ดูดตัวอย่างที่ต้องการดู plates configuration โดยใช้ pasture pipette ไปวางลงบนสไลด์ที่มีน้ำทะเลกรองอยู่ 1 หยด ปิด cover slip ทับลงบนหยดน้ำนั้น

1.1.2 กด cover slip เบา ๆ ด้วยความระมัดระวัง โดยใช้เข็มเขี่ย เพื่อแยกกลุ่มของ thecal plate ออกจาก protoplasm

1.1.3 ถ้า thecal plate แยกออกจากกันยาก ใช้ 5 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ หยดลงไปบนขอบของ cover slip แล้วจึงใช้เข็มเขี่ยกดเบา ๆ

1.1.4 ถ้า thecal plate บางและยากแก่การมองเห็น อาจใช้การย้อมสีเข้าช่วย สำหรับองค์ประกอบของสีที่ใช้ย้อม plate ของไดโนแฟลกเจลเลตประกอบด้วย Iodine 2.6 กรัม Potassium iodide 5.0 กรัม Chloral hydrate 4.0 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น และทำให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร

หมายเหตุ ทุกขั้นตอนในการทำ thecal dissociation จะทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยายประมาณ 40 ถึง 100 เท่า

1.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด

1.2.1 แบ่งตัวอย่างแพลงค์ตอนพืชออกเป็นส่วนต่าง ๆ โดยกรองด้วยตะแกรงที่มีขนาดตา 125, 37 และ 20 ไมครอน ตามวิธีของ Yasumoto et. al. (1980)

1.2.2 นำตัวอย่างในแต่ละส่วนที่กรองได้มาล้างด้วย 0.1 M ของ phosphate buffer (pH 6.8) 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที แล้วนำไปแช่ใน 400 u/ml ของ β-glucuronidase solution ที่ 35 องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง นำไป post-fixation ใน 2 เปอร์เซ็นต์ของ Osmium tetroxide เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง แล้วนำไป dehydration ใน ethanol ตามลำดับขั้นและในขั้นสุดท้ายใช้ isoamyl acetate แทน absolute ethyl alcohol

1.2.3 ใช้ pasture pipette ดูดตัวอย่างไปฉีดลงบน nucleopore polycarbonate membrane ที่มีขนาดตา 1 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งในที่ ๆ ไม่มีฝุ่นประมาณ 1-2 วัน แล้วจึงนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบสแกนของ JSM-35 CF

2. การวิเคราะห์ปัจจัยทางนิเวศน์วิทยา

ข้อมูลนิเวศน์วิทยาของน้ำทะเลในอ่าวไทยตอนบนนั้นได้มาจากกองสำรวจแหล่งประมง กรมประมง ข้อมูลนิเวศน์วิทยาของน้ำทะเลในอ่าวไทยตอนล่างได้มาจากกรมอุทกศาสตร์ทหารเรือ และข้อมูลนิเวศน์วิทยาของน้ำทะเลในบริเวณอ่าวไทยทางฝั่งทะเลด้านตะวันออกได้มาจากกองประมงทะเล กรมประมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การคำนวณปริมาณแพลงค์ตอนพืช

นำปริมาณของแพลงค์ตอนพืชที่นับได้จากการสุ่มตัวอย่าง มาคำนวณหาว่ามีจำนวนเท่าใดในน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร โดยคำนวณจากปริมาตรน้ำที่กรองผ่านถุงแพลงค์ตอนในขณะที่เก็บตัวอย่างโดยใช้สูตร

$$N_A = \frac{N_o \times V}{\pi r^2 d}$$ เซลล์ต่อลูกบาศก์เมตร

N_A = ปริมาณของแพลงค์ตอนพืชที่พบต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร

N_o = ปริมาณของแพลงค์ตอนพืชที่นับได้ในน้ำ 1 มิลลิลิตร

V = ปริมาตรน้ำและแพลงค์ตอนพืชในขวดเก็บตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

r = รัศมีปากถุงแพลงค์ตอน (เมตร)

d = ระยะทางที่ลากถุงแพลงค์ตอนขึ้นมาในแนวดิ่ง (เมตร)

2. เขียนแผนที่แสดงการกระจายของไดโนแฟลกเจลเลตแต่ละชนิดในแต่ละครอบครัว

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.1 การวิเคราะห์หาความแตกต่างและนัยสำคัญของปริมาณไดโนแฟลกเจลเลตในแต่ละครอบครัวของแต่ละเดือน โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-way Analysis of Variance) ที่มีค่าสังเกตุไม่เท่ากัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียวที่มีค่าสังเกตุไม่เท่ากัน

Source of Varince	df	Sum of Square (SS)	Mean Square (MS)	F	F_{table}
Between	k-1	$SS_B=\Sigma_i x_i^2/r_i-(\Sigma_{ij}x_{ij})^2/\Sigma_i r_i$	$MS_B=\frac{SS_B}{k-1}$	$\frac{MS_B}{MS_W}$	F; df = k-1
within	N-k	$SS_w = SS_T - SS_B$	$MS_W=\frac{SS_w}{N-k}$		df = N-k
Total	N-1	$SS_T = \Sigma_{ij}x_{ij}^2-(\Sigma_{ij}x_{ij})^2/\Sigma_i r_i$			α = 0.05, 0.01

เมื่อ x_{ij} = ข้อมูลที่ i ในเดือนที่ j

i = เลขที่ของข้อมูล

j = หมายเลขของแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง

r = ข้อมูลในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง

k = จำนวนเดือนที่เก็บตัวอย่าง

N = จำนวนข้อมูลทั้งหมด

x = ข้อมูลปริมาณของไดโนแฟลกเจลเลตในแต่ละครอบครัว (แทนค่าด้วย log (x+10,000) เพื่อให้การกระจายของข้อมูลเป็นแบบโค้งปกติ)

3.2 การวิเคราะห์หาความแตกต่างและนัยสำคัญของปริมาณไดโนแฟลกเจลเลต ในแต่ละฤดูลมมรสุมและในแต่ละสถานี โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง (Two-way classification) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง

Source of Variance	df	Sum of Square (SS)	Mean Square (MS)	F
A	(a-1)	$SS_A = \sum_i x_{i.}^2/b - (\sum_{ij} x_{ij})^2/ab$	$MS_A = \frac{SS_A}{a-1}$	$\frac{MS_A}{MS_E}$
B	(b-1)	$SS_B = \sum_j x_{.j}^2/a - (\sum_{ij} x_{ij})^2/ab$	$MS_B = \frac{SS_B}{b-1}$	$\frac{MS_B}{MS_E}$
Error	(a-1)(b-1)	$SS_E = SS_T - SS_A - SS_B$	$MS_E = \frac{SS_E}{(a-1)(b-1)}$	
Total	(ab-1)	$SS_T = \sum_{ij} x_{ij}^2 - (\sum_{ij} x_{ij})^2/ab$		

เมื่อ X_{ij} = ข้อมูลของปริมาณไดโนแฟลกเจลเลตในฤดูลมมรสุมที่ i ในสถานีที่ j

i = เลขที่ของฤดูลมมรสุม

j = เลขที่ของสถานีที่เก็บตัวอย่าง

a = จำนวนฤดูลมมรสุม

b = จำนวนสถานีที่เก็บตัวอย่าง

x = ข้อมูลปริมาณของไดโนแฟลกเจลเลตของแต่ละครอบครัวในแต่ละฤดูลมมรสุมและในแต่ละสถานี (แทนค่าด้วย log (x+10,000))

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 ทดสอบคู่ของค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย Fisher's least significant difference (LSD) จากสูตร

$$LSD = t\alpha/2\sqrt{\frac{2S_w^2}{n}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย