

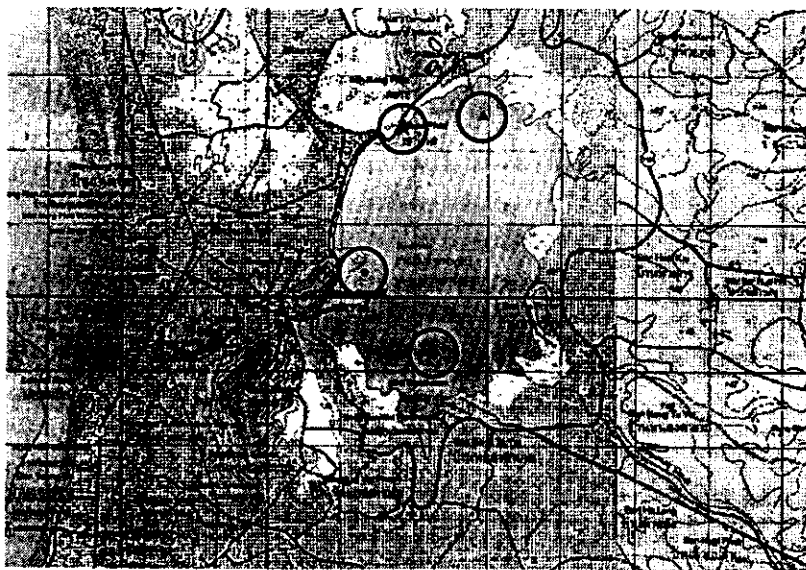
บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

พื้นที่การศึกษา

อ่างเก็บน้ำบางพระ ต. บางพระ อ. ศรีราชา จ.ชลบุรี มีความลึกเฉลี่ย 7.0 เมตรและมีความจุประมาณ 100 ล้านลูกบาศก์เมตร พื้นที่มีลักษณะเป็นดิน ดินปนทราย และหินกรวดขนาดเล็ก การศึกษาความเปลี่ยนแปลงชนิดอาหารในทางเดินอาหารปลานิล ปลาดุกเพียนขาว และปลาแขยงข้างลายที่พบในอ่างเก็บน้ำบางพระ ในเดือนมิถุนายน กันยายน พฤศจิกายน 2546 และเดือนกุมภาพันธ์ 2547 และมีการศึกษาคุณภาพน้ำ 4 สถานี ซึ่งเป็นตัวแทนคุณภาพน้ำบริเวณต่างๆ ของอ่างเก็บน้ำบางพระ จ.ชลบุรี ดังนี้

สถานี 1 พุน้ำร้อน	N 13° 12' 4.6"	E 100° 58' 6.2"
สถานี 2 โรงสูบน้ำประปา	N 13° 13' 9.1"	E 100° 58' 22.7"
สถานี 3 วัดคาโปธาราม	N 13° 11' 28.6"	E 100° 58' 38"
สถานี 4 สะพาน 1	N 13° 11' 13.6"	E 100° 59' 0.5"



ภาพที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง

- | | |
|-------------|------------------|
| ▲ สะพาน 1 | ★ โรงสูบน้ำประปา |
| ● พุน้ำร้อน | ✚ คาโปธาราม |

อุปกรณ์และสารเคมีการศึกษา

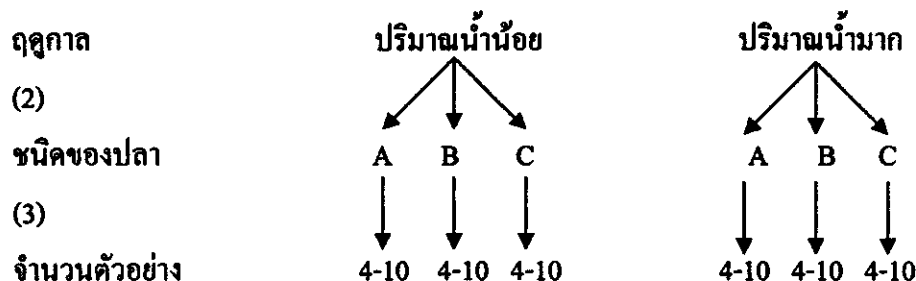
1. อุปกรณ์ภาคสนามเก็บตัวอย่างปลาและศึกษาคุณภาพน้ำ
 - 1.1 เครื่อง GPS (garmin GPS III plus)
 - 1.2 เครื่องวัดพารามิเตอร์ในน้ำ (multiprobe รุ่น YSI model 600x1)
 - 1.3 ขวดเก็บตัวอย่างปลา
2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 กุ้งกุลทธรศน์กำลังขยายต่ำ และกุ้งกุลทธรศน์กำลังขยายสูง
 - 2.2 อุปกรณ์ผ่าตัด
 - 2.3 จานเพาะเชื้อ
 - 2.4 หลอดหยด
 - 2.5 สไลด์หลุม และกระจกปิดสไลด์
 - 2.6 ขวดเก็บตัวอย่างกระเพาะอาหาร
 - 2.7 ไม้บรรทัด
 - 2.8 กล้องจุลทรรศน์
3. สารเคมี
 - 3.1 Glycerol
 - 3.2 น้ำยาทาเล็บ
 - 3.3 ฟอรัมาลิน
 - 3.4 แอลกอฮอล์
 - 3.5 น้ำกลั่น

แผนการเก็บข้อมูล

ผู้วิจัยเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำและชนิดอาหารในทางเดินอาหารของปลานิล

ปลาตะเพียนขาวและปลาแขยงข้างลายที่พบในอ่างเก็บน้ำบางพระ จ. ชลบุรี จำนวนทั้งสิ้น 4 ครั้ง ในเดือนมิถุนายน กันยายน พฤศจิกายน 2546 และเดือนกุมภาพันธ์ 2547 เป็นตัวแทนฤดูกาลต่างๆ โดยเดือนมิถุนายน และกันยายน เป็นตัวแทนฤดูน้ำน้อย (ช่วงปริมาณน้ำน้อย) เดือนพฤศจิกายน และกุมภาพันธ์ เป็นตัวแทนฤดูน้ำมาก (ช่วงปริมาณน้ำมาก) การรวบรวมตัวอย่างปลาและข้อมูลคุณภาพน้ำได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จ.ชลบุรี โดยรวบรวมตัวอย่างปลาจากการวางขาย และจากชาวประมงบริเวณอ่างเก็บน้ำบางพระ ซึ่งทำประมงโดยการวางลอบ

เมื่อได้ตัวอย่างปลาแล้วนำไปจำแนกชนิด ชนิดละ 4-10 ตัว เพื่อนำวิเคราะห์ชนิดและสัดส่วนอาหารในทางเดินอาหารตามผังการเก็บข้อมูลดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แพนผังการเก็บข้อมูล

หมายเหตุ ชนิดและขนาดของปลา A หมายถึง ปลานิลขนาดความยาวมากกว่า 15 ซม.

B หมายถึง ปลาตะเพียนขนาดความยาวมากกว่า 15 ซม.

C หมายถึง ปลาแขยงข้างลายขนาดความยาว 10-15 ซม.

วิธีดำเนินการวิจัย

1. บันทึกพิกัดโดยเครื่อง GPS (garmin GPS III plus) และวัดคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมีโดยใช้เครื่องวัดพารามิเตอร์ (multiprobe รุ่น YSI model 600x1) บริเวณอ่างเก็บน้ำบางพระ จ.ชลบุรี ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ความเป็นกรดค่าของน้ำ และปริมาณออกซิเจนที่ละลาย ในน้ำ ที่ระดับผิวน้ำจนถึงพื้นน้ำ ทุก 0.5 เมตร จำนวน 4 สถานี

2. การเก็บตัวอย่างปลาในภาคสนาม ในอ่างเก็บน้ำบางพระ ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จ.ชลบุรี โดยใช้ข่ายขนาด 2, 4, 5.5, 7, 8 และ 9 นิ้ว นอกจากนี้ยังซื้อปลาจากชาวประมงซึ่งทำประมงโดยการวางลอบบริเวณรอบอ่างเก็บน้ำบางพระ จากนั้นเก็บรักษาสภาพตัวอย่างปลาในฟอร์มาลินความเข้มข้น 10% และทำการวิเคราะห์ชนิดอาหารและสัดส่วนในทางเดินอาหารของปลาตัวอย่าง ณ ห้อง Microscopy ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

3. จำแนกชนิดปลาตามหนังสือ กรมประมง (2540) ได้แก่ ปลานิล ปลาตะเพียนขาว ปลาแขยงข้างลาย ชนิดละ 4-10 ตัว โดยปลานิล ปลาตะเพียนขาว มีขนาดความยาวมาตรฐานมากกว่า 15 ซม. ปลาแขยงข้างลาย มีความยาวมาตรฐาน 10-15 ซม. หลังจากนั้นเตรียมตัวอย่าง

สำหรับการวิเคราะห์สัดส่วนอาหาร (ภาพที่ 3) โดยล้างทำความสะอาดตัวอย่างปลา เพื่อกันการปนเปื้อนของแพลงก์ตอนที่ติดอยู่นอกตัวปลา

4. ผ่านระบบทางเดินอาหารออกจากตัวปลา โดยวัดความยาวของระบบทางเดินอาหาร ตั้งแต่หลอดอาหารถึงทวาร (ความยาวลำไส้ทั้งหมด) จากนั้นศึกษาระดับความเต็มของทางเดินอาหารด้วยวิธี Fullness Method ตามวิธีของ Williams (1981) เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการศึกษาชนิดอาหารในทางเดินอาหาร ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 คือ มีน้อยมาก

2 คือ มีน้อยกว่าครึ่งทางเดินอาหาร

3 คือ มีปานกลางครึ่งทางเดินอาหาร

4 คือ มีมากกว่าครึ่งทางเดินอาหารแต่ไม่เต็มทางเดินอาหาร

5 คือ มีมากที่สุด (อาหารเต็มทางเดินอาหาร)

5. ผ่านทางเดินอาหารตอนต้น (ระยะ 1/3 ของระบบทางเดินอาหาร) โดยใช้กรรไกรผ่าผนังทางอาหารพร้อมกับใช้น้ำกลั่นฉีดไล่อาหารออกจากทางเดินอาหาร จากนั้นนำชนิดอาหารที่ได้รักษาสภาพโดยใช้แอลกอฮอล์ 70%

6. วิจัยชนิดอาหารในทางเดินอาหารตอนต้น โดยแยกให้ถึงระดับอนุกรมวิธานต่ำสุดเท่าที่สามารถทำได้โดยใช้หนังสือและเอกสารที่เกี่ยวข้องได้แก่

แพลงก์ตอนพืช ใช้ตาม บพิธ จารุพันธุ์และนันทพร จารุพันธุ์ (2529);
ยุวดี พิรพรพิศาล (2538); นันทนา กษเสนี (2539);
ถัดดา วงศ์รัตน์ (2544); Prescott (1970); Barber & Haworth
(1981); Mizuno, T. (1979)

แพลงก์ตอนสัตว์ ใช้ตาม ถัดดา วงศ์รัตน์ (2543); ละออศรี เสนาะเมือง (2545);
Fitzpatrick (1983) ; Mamaril (1977)

แมลงน้ำและสัตว์หน้าดิน ใช้ตาม Williams and Feltmate (1992); Pennak (1989);
Dudgeon (1999)

7. วิเคราะห์ชนิดอาหารในทางเดินอาหาร

7.1 The Points Method ดัดแปลงตามวิธี Hynes (1950) เป็นการพิจารณาสัดส่วนของกลุ่มอาหารที่พบในทางเดินอาหาร โดยนำชนิดอาหารในทางเดินอาหารตอนต้นใส่ในงานเพาะเชื้อ ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง พิจารณานชนิดอาหารเป็นกลุ่ม เช่น แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ เศษพืช ไข่เคียนน้ำ ตัวอ่อนแมลงน้ำ แมลงตัวเต็มวัย

เป็นต้น โดยพิจารณาปริมาตรของกลุ่มอาหาร ซึ่งสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ 1 ชิ้น มีปริมาตรเท่ากับจำนวนสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจำนวนมาก ระดับในการพิจารณาให้คะแนน คือ 1, 2, 4 และ 8 โดยที่ 8 เป็นกลุ่มอาหารที่มีปริมาตรมากที่สุด และ 4, 2 และ 1 เป็นกลุ่มอาหารที่มีปริมาตรลดลงเป็น 2 เท่าของตัวเลขที่มากกว่า ตามลำดับ สัดส่วนของกลุ่มอาหารแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ของอาหารทั้งหมด (% P_i) ดังสมการ 1 ซึ่งการให้คะแนนของอาหารที่พบแต่ละกลุ่มอาศัย พื้นฐานขนาดจริง (biovolume) ของกลุ่มอาหารขณะมีชีวิตแทนที่เศษชิ้นส่วนที่พบในทางเดินอาหาร

$$\% P_i = [(\sum_{j=1}^n a_{ij}) / A] \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

เมื่อ $\sum_{j=1}^n a_{ij}$ คือ ผลของคะแนนของอาหารกลุ่ม i ที่พบในปลาแต่ละตัว ตั้งแต่ปลาตัวที่ 1 ถึง n ในแต่ละชนิด

n คือ จำนวนตัว

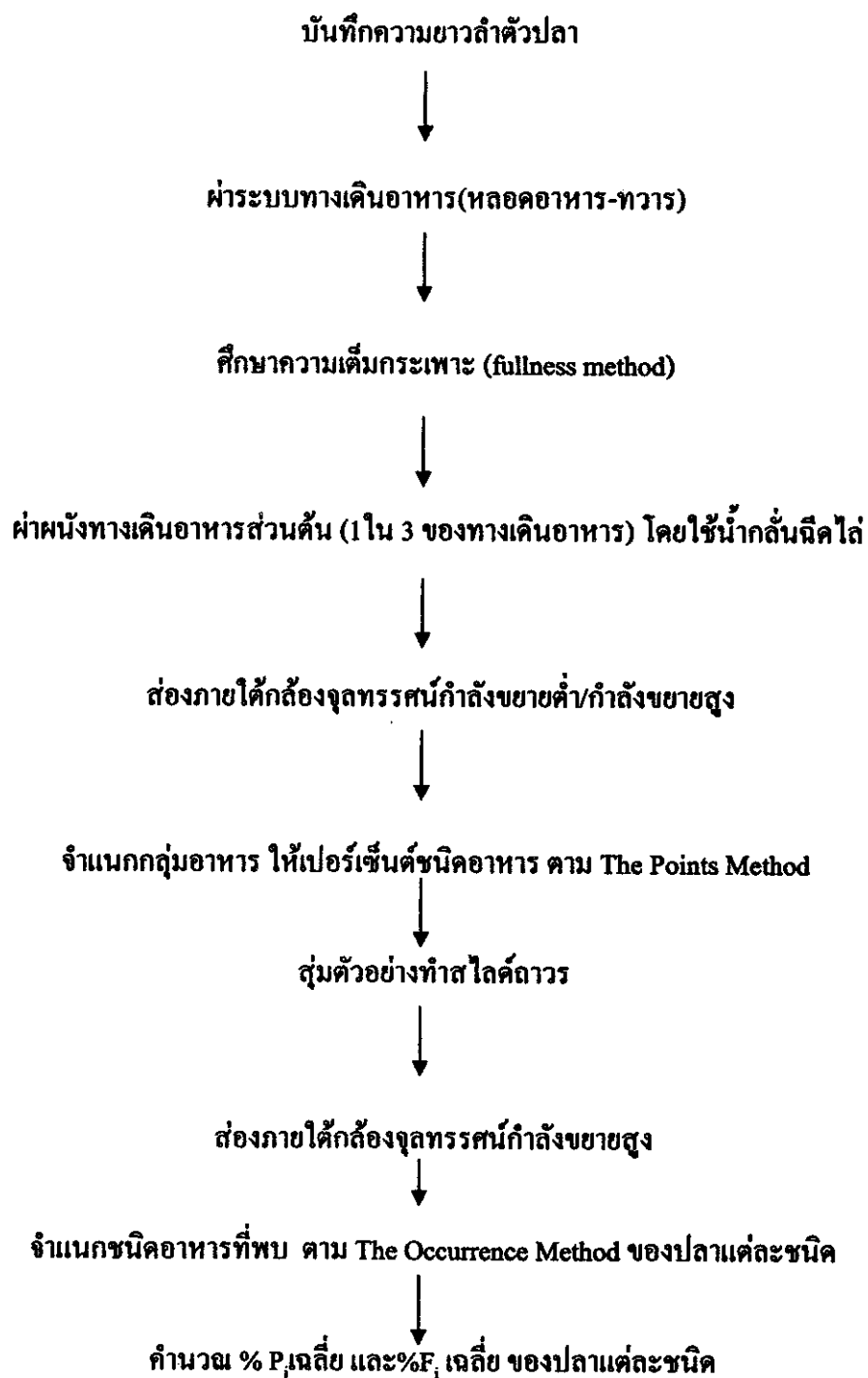
A คือ ผลรวมทั้งหมดของคะแนนของอาหารทุกกลุ่มในปลาทุกตัวในแต่ละชนิด

7.2 The Occurrence Method เป็นการศึกษาความถี่ของการพบอาหารแต่ละชนิดตามวิธี Hynes (1950) และ Williams (1981) โดยนับจำนวนทางเดินอาหารที่พบอาหารชนิดนั้นเทียบกับจำนวนทางเดินอาหารที่ทำการศึกษาทั้งหมด และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ (% F_i) ดังสมการ 2

$$\% F_i = (F_i \times 100) / S \dots \dots \dots (2)$$

เมื่อ F_i คือ จำนวนของทางเดินอาหารที่พบอาหารกลุ่ม i ในปลาแต่ละชนิด

S คือ จำนวนของทางเดินอาหารทั้งหมดที่ทำการศึกษา ในปลาแต่ละชนิด



ภาพที่ 3 แผนผังการวิเคราะห์ชนิดอาหารในทางเดินอาหารปลา

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลแบ่งเป็น 3 ส่วน ดังนี้ คือ

1. ทดสอบผลของฤดูกาลและชนิดปลาต่อความแปรปรวนของสัดส่วนกลุ่มอาหารเฉลี่ย (%P_i) ของอาหารทั้ง 6 กลุ่ม คือ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ เศษพืช ไล้เดือนน้ำ ตัวอ่อนแมลงน้ำและแมลงตัวเต็มวัย ระหว่างปลาสามชนิด โดยแบบ Two Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Spss 10.0 for Windows

2. เปรียบเทียบระดับความคล้ายคลึงของกลุ่มอาหารระหว่างปลาแต่ละชนิด โดยคำนวณสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (bray-curtis similarity coefficients; BC) คัดแปลงวิธีตามวิทยด มัชชะจิตร (2546) ดังสมการ 3 ซึ่งใช้ข้อมูล % P_i เฉลี่ย ของอาหารแต่ละกลุ่ม โดยสัมประสิทธิ์นี้ จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 โดย BC = 1 แสดงว่ามีความคล้ายคลึงกันมากที่สุด

$$BC = \{1 - (\sum |X_{1i} - X_{2i}|) / \sum [X_{1i} + X_{2i}]\} \dots \dots \dots (3)$$

เมื่อ $\sum$ = ผลรวมจาก 1 ถึง n (n = จำนวนตัว)

X_{1i} = จำนวนแตรัมของอาหารชนิด i จากปลาชนิดที่ 1

X_{2i} = จำนวนแตรัมของอาหารชนิด i จากปลาชนิดที่ 2

3. จัดระดับความคล้ายคลึงของชนิดอาหารในทางเดินอาหารปลาด้วยวิธี Ordination Multi – Dimensional Scaling (MDS) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์สถิติแบบหลายตัวแปร (multivariate) แสดงลักษณะการกระจายของข้อมูลด้วยภาพ 2 มิติ ข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้มีพื้นฐานจาก Bray–Curtis Similarity Coefficient ของสัดส่วนอาหารภายในและระหว่างชนิดปลาในเดือนที่ทำการศึกษา ระยะห่างของข้อมูลแต่ละคู่ในภาพการกระจายแสดงระดับความคล้ายคลึงกัน โดยตำแหน่งของคู่ที่อยู่ใกล้มีความคล้ายคลึงกันมากกว่าคู่ที่อยู่ห่างกัน ความแม่นยำของการกระจายตัวของข้อมูล แสดงค่าโดย Stress Value ซึ่งค่า Stress Value < 0.05 จะแสดงว่าภาพการวิเคราะห์ที่ได้มีความแม่นยำสูงมากและมีความน่าเชื่อถืออย่างยิ่ง ค่า Stress Value > 0.20 ภาพการวิเคราะห์ที่ได้แสดงความแม่นยำน้อย การวิเคราะห์ MDS นี้ใช้โปรแกรม Primer 5 (Clarke & Warwick, 2001)