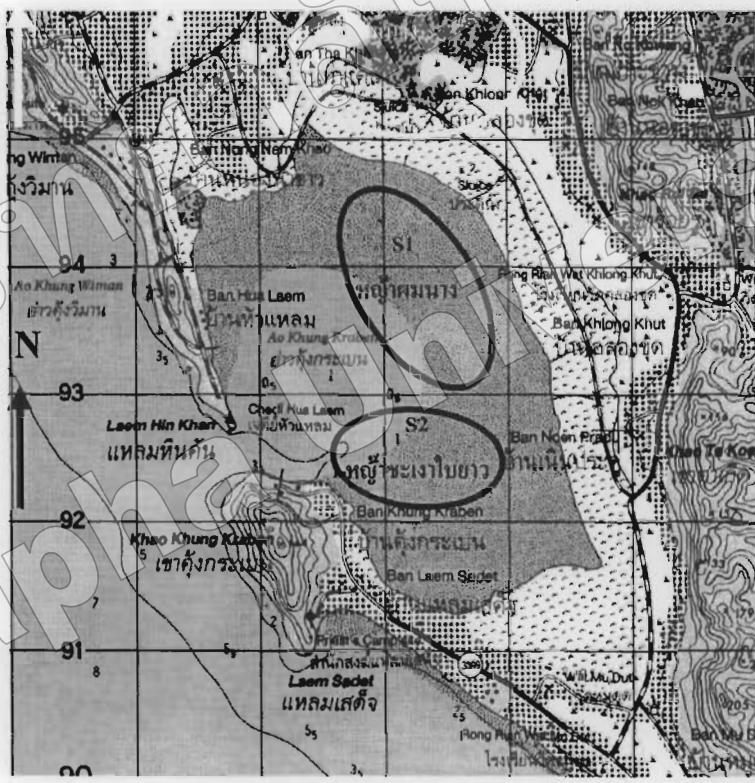


บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง

การศึกษาความหลากหลายของหอยฝ่าเดียวและหอยสองฝ่าบริเวณแหล่งหญ้าทะเลเลือด 2 ชนิด ในอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี คือ แหล่งหญ้าพมนาง (*Halodule pinifolia*) พบริเวณทางทิศเหนือของอ่าว และแหล่งหญ้าชาจะเงาใบยา (*Enhalus acoroides*) พบริเวณทางทิศใต้ของอ่าว

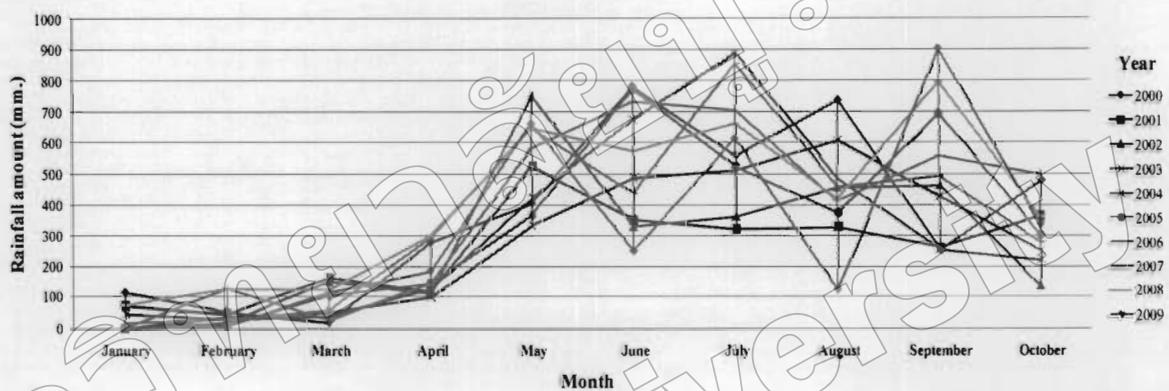


ภาพที่ 3-1 บริเวณแนวหญ้าทะเลที่ทำการเก็บตัวอย่างในอ่าวคุ้งกระเบนจังหวัดจันทบุรี

S1 หญ้าพมนาง (*H. pinifolia*), S2 หญ้าชาจะเงาใบยา (*E. acoroides*)
(ที่มา: กรมแผนที่ทหาร)

3.2 สภาพภูมิอากาศ (Climate)

จังหวัดจันทบุรีตั้งอยู่ในเขตตอนชื่น มีฝนตกติดต่อกันประมาณ 6 เดือนต่อปี (เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม) ปริมาณฝนเฉลี่ยรวมในรอบ 10 ปี (มกราคม 2543 - ตุลาคม 2552) ปริมาณ 3,350.86 มิลลิเมตร จากปริมาณน้ำฝนในรอบ 10 ปีของจังหวัดจันทบุรี สามารถแบ่งได้เป็น 2 ฤดูกาล (ภาพที่ 3-2) ได้แก่ ฤดูฝน (เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม) และฤดูแล้ง (เดือนพฤษภาคมถึงเดือนเมษายน)



ภาพที่ 3-2 ปริมาณฝนในรอบ 10 ปี (เดือนมกราคม พ.ศ. 2543 ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2552)
ที่มา: สถานีตรวจอากาศเกษตรพลว (2552)

3.3 อุปกรณ์และสารเคมี

(1.) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง

- (1.1) เครื่องวัดความชื้นแบบพินพื้นโลก (GPS) Garmin
- (1.2) เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (thermometer)
- (1.3) เครื่องวัดความเค็ม (salt refractometer)
- (1.4) น้ำวนกระดาษทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH indicator paper)
- (1.5) ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง (zip lock plastic bags)
- (1.6) กรอบ (quadrat) ขนาด 0.25×0.25 ตารางเมตร
- (1.7) ขวดเก็บตัวอย่าง (collection boxes)
- (1.8) สายวัดระยะ (measuring tapes)
- (1.9) แผ่นป้ายบันทึกข้อมูล (labeling papers)
- (1.10) ปากกาบันทึกข้อมูล (permanent labelling pens)
- (1.11) พลั่วตักดิน (spades)

(2.) อุปกรณ์ในการปฏิบัติการ

- (2.1) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ รุ่น Olympus BX50
- (2.2) ตะแกรงร่อนดิน (soil sieves) ขนาด 1.00 (1000 micrometer), 0.425 (425 micrometer), 0.250 (250 micrometer), 0.125 (125 micrometer), 0.063 (63 micrometer) มิลลิเมตร
- (2.3) เครื่องเขย่าตะแกรงร่อนอัตโนมัติ (sieve shaker)
- (2.4) ตู้อบความร้อน (hot air oven)
- (2.5) เตาเผา (muffle furnace)
- (2.6) ที่ดูดความชื้น (desiccator)
- (2.7) เครื่องซึ่ง 2 ตำแหน่ง
- (2.8) เครื่องซึ่ง 4 ตำแหน่ง
- (2.9) ถ้วยเซรามิก (crucible)
- (2.10) แปรงปัดคืนแบบหยาบและละเอียด (hard and soft sieve brush)
- (2.11) ภาชนะใส่ดิน (Plate)
- (2.12) อุปกรณ์การเขียนต่างๆ (writing instruments and materials)

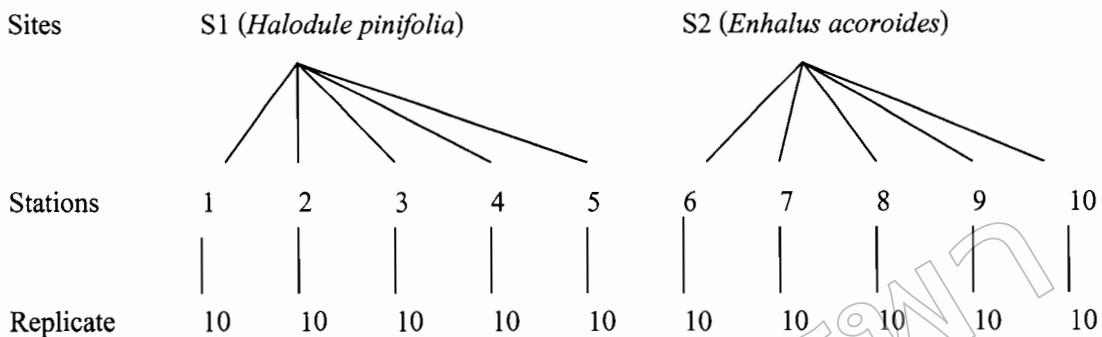
(3.) สารเคมี

- (3.1) แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซนต์

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างหอยและหญ้าทะเลช่วงน้ำลงต่ำสุดในเวลากลางวัน ในแนวหญ้า พมนาง (*Halodule pinifolia*) และหญ้าชาใบขาว (*Enhalus acoroides*) ในอ่าวสีงกระบนจังหวัด จันทบุรี ด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างแบบมีระบบ (Stratified Sampling) ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2552 โดยแบ่งพื้นที่การเก็บตัวอย่างหญ้าทะเลและตัวอย่างคินในแนวหญ้าแต่ละชนิดออกเป็น 5 สถานี แต่ละสถานีแบ่งจุดเก็บตัวอย่างออกเป็น 10 จุด ใช้กรอบ (quadrat) ขนาด 0.25×0.25 ตารางเมตร ดังแผนภาพ 3-3 หน้า 22



ภาพที่ 3-3 แผนการศึกษาอยุ่ในแหล่งหญ้าทะเลบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี
 $(S1 (H. pinifolia)) = \text{หญ้าพมนาง}, S2 (E. acoroides) = \text{หญ้าชาจะเงาใบขาว})$

1.1 ตัวอย่างหญ้าทะเล

ทำการสำรวจแนวหญ้าพมนาง พบร่องรอยห่างจากแนวป่าชายเลนด้านในอ่าวทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือประมาณ 200 เมตร แนวหญ้าชาจะเงาใบขาวอยู่ห่างจากชายฝั่งทางทิศใต้ประมาณ 100 เมตร เก็บตัวอย่างหญ้าทะเลในการอบที่ทำการสุ่มแต่ละจุดเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกที่ติดป้ายแสดงจุดเก็บตัวอย่าง นำหญ้าทะเลไปล้างให้สะอาดในกระมัง และเก็บเศษคินและหอยที่ล้างออกจากหญ้าทะเลไว้ นำหญ้าทะเลที่ล้างแล้วไปผึ่งลมหรือซับน้ำออก นำหั้งต้นไปชั่งน้ำหนักเปียกและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักจะคงที่ หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งนำไปหาค่าชีวมวล

1.2 ตัวอย่างคินตะกอน

1.2.1 หาปริมาณสารอินทรีย์ในคิน

หลังเก็บตัวอย่างหญ้าทะเล บุคคินในการอบลีกประมาณ 10 เซนติเมตร ใส่ถุงเก็บตัวอย่างที่ติดป้ายแสดงจุดเก็บตัวอย่าง นำมาร่อนแยกคินออกจากเศษอื่น ๆ นำคินที่ถูกแยกแล้วไปอบให้แห้งในตู้อบ (convection oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักจะคงที่หลังจากอบแห้ง ชั่งคินประมาณ 50 กรัม นำไปเผาด้วยอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำคินมาชั่งหลังการเผาเพื่อหาปริมาณสารอินทรีย์

1.2.2 การหาอนุภาคของคินตะกอน

การหาอนุภาคของคินตะกอนดัดแปลงมาจากวิธีการศึกษาของ Pitty (1971) และ Briggs (1977) โดยชั่งตัวอย่างคินตะกอนที่ผ่านการอบแห้งแล้วประมาณ 100 กรัม นำมา_r่อนผ่านตะแกรงเพื่อแยกขนาดอนุภาคคินตะกอนด้วยเครื่อง sieve shaker ที่มีขนาดรูตะแกรงเท่ากับ (mesh size)

1.00, 0.425, 0.250, 0.125, 0.063 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยเรียงตามเกรงซ่องกรว้างที่สุดอยู่ด้านบน หลังจากนั้นปัดเศษคินที่ค้างบนตะแกรงแต่ละขนาดด้วยแปรงลงบนถาด แล้วเหตุนจากถาดลงในเพลส (plate) นำตัวอย่างอนุภาคคินไปชั่งน้ำหนัก (กรัม) บันทึกค่าที่ได้

1.3 ตัวอย่างหอย

หอยที่แยกออกจากตัวอย่างหญ้าทะเลและคิน ล้างให้สะอาดนำไปคงไว้ในเอกสารอชอส์ 70 เปอร์เซ็นต์นำไปแยกชนิดภายในได้ก่อตั้งจุลทรรศน์สเตอริโอ โดยใช้หลักการจำแนกของ Robba et al. (2003) คูณกับจำนวนทางสัณฐานวิทยาของเปลือก เพื่อจำแนกชนิดและนับจำนวน และหาความหลากหลายชนิดของชนิด โดยใช้ Shannon-Wiener Diversity Index

3.4.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การหาค่าชีวมวลของหญ้าทะเล (biomass)

$$\text{ชีวมวลของหญ้าทะเล (กรัม)} = \text{น้ำหนักเปียก (กรัม)} - \text{น้ำหนักแห้ง (กรัม)}$$

2. น้ำหนักเปียกต่อพื้นที่

$$\text{น้ำหนักเปียกต่อพื้นที่ (กรัมต่อตารางเมตร)} =$$

$$\frac{\text{น้ำหนักเปียก(กรัม)}}{\text{ขนาดของพื้นที่ (ตารางเมตร)}}$$

$$\frac{\text{น้ำหนักเปียก(กรัม)}}{\text{ขนาดของพื้นที่ (ตารางเมตร)}}$$

3. การหาปริมาณสารอินทรีย์ในคิน (organic content)

$$\text{ร้อยละของสารอินทรีย์ในคิน (\%OC)} = \frac{\text{น้ำหนักคินก่อนเผา (กรัม)} - \text{น้ำหนักคินหลังเผา (กรัม)} * 100}{\text{น้ำหนักคินก่อนเผา (กรัม)}}$$

4. การคำนวณหาร้อยละของอนุภาคดินตะกอนที่ค้างบนตะแกรง (percent retained)

4.1 ร้อยละของผลรวมของน้ำหนักอนุภาคดินแต่ละขนาดที่ซึ่งได้ = $W_s \times 100$

W_d

W_s = น้ำหนักของอนุภาคดินตะกอนที่ค้างบนตะแกรงแต่ละขนาด (กรัม)

W_d = น้ำหนักของอนุภาคดินตะกอนทั้งหมด (กรัม)

4.2 เปอร์เซ็นต์ค้างสะสม (cumulative percent retained)

เปอร์เซ็นต์ค้างสะสม = ผลรวมสะสมของเปอร์เซ็นต์ของดินค้างบนตะแกรงที่มีขนาด
ช่องใหญ่กว่าถึงตะแกรงที่ต้องการทราบ

5. การคำนวณหาค่าดัชนีความหลากหลาย (diversity index)

$$H(S) = \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$$

$P_i = n_i/N$ (เมื่อ P_i = สัดส่วนความชุกชุมของชนิด i เมื่อเทียบกับความชุกชุมรวม)

N = ผลรวมจำนวนตัวของตัวอย่าง

n_i = จำนวนตัวของสิ่งมีชีวิตชนิด i

6. การวิเคราะห์การแบ่งกลุ่ม (cluster analysis)

การแบ่งกลุ่มหรือการจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ทำการเก็บตัวอย่าง เป็นการวิเคราะห์ข้อมูล
ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม โดยการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (หรือแตกต่าง) เพื่อนำมา
จัดกลุ่มตามลำดับชั้น (ordination) ด้วยวิธีพีซีเอ (principal components analysis ; PCA) วิเคราะห์
จากค่าความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วมของข้อมูล (variance-covariance) และผลด้วย
โปรแกรม PC-ORD (วิภูมิศาสตร์ มัณฑะจิตร, 2546)