

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

อุปกรณ์

1. ตาข่ายกั๊บดั๊ก(Surber Sampler) ขนาด 30x30 ตารางเซนติเมตร ขนาดรูตาข่าย 500 ไมโครเมตร
2. เทอร์โมมิเตอร์
3. กระดาษวัด pH (Merck KGaA, Germany)
4. อุปกรณ์วัดค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ Conductivity meter
5. อุปกรณ์วัดความเร็วของกระแสน้ำ Velocity meter
6. อุปกรณ์วัดปริมาณการละลายของออกซิเจนในน้ำ Dissolved Oxygen meter
7. ชุดอุปกรณ์ตัววัดปริมาณไนเตรท ภาคสนาม (AquaMerck KGaA, Germany)
8. ชุดอุปกรณ์ตัววัดปริมาณฟอสเฟต ภาคสนาม (AquaMerck KGaA, Germany)
9. เครื่องปั่นเหวี่ยง Centrifuge
10. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Spectrophotometer
11. กล้องสเตอริโอ (Stemi DV4, Zeiss, Germany)
12. เครื่องมือค้นหาตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ Global Position System(GPS)
13. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (EOS 400D, Cannon, Japan)
14. กระดาษกรอง GF/C (Whatman)
15. กระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร
16. แท่งแก้วคนสาร
17. ปากคืบ
18. หลอดหยด
19. ขวดรูปชมพู่
20. กรวยกรองสาร
21. หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร
22. Cuvette ขนาด 1x1 เซนติเมตร
23. อลูมิเนียมฟอล์ย
24. สายวัด
25. ถังพลาสติกแบบมีซีปส์ล็อก
26. ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างแมลงพร้อมฉลาก

27. ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำขนาด 150 มิลลิลิตร
28. ถาดพลาสติก รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า
29. 70% เอทิลแอลกอฮอล์
30. 95% เมทิลแอลกอฮอล์

วิธีการศึกษา

การสำรวจและเก็บตัวอย่างตัวอย่างอ่อนแมลงซีปะชาวภาคสนาม

1. พื้นที่ทำการศึกษา

อุทยานแห่งชาติศรีน่าน มีพื้นที่ครอบคลุมอยู่ในท้องที่อำเภอเวียงสา อำเภอนาน้อย และอำเภอนาหมื่น จังหวัดน่าน(ภาพที่ 4) กำหนดลักษณะแหล่งน้ำเป็น 2 ประเภทคือ

1.1 แหล่งน้ำที่ไม่ถูกรบกวน หรือถูกรบกวนน้อย (Undisturbed area) ซึ่งเป็นต้นน้ำ ได้แก่

- ห้วยเหล็ก พิกัด 690054E 2028834N ความสูง 378 เมตรจากระดับน้ำทะเล
- ห้วยกุ่ม พิกัด 694930E 2029648N ความสูง 572 เมตรจากระดับน้ำทะเล
- ห้วยศอก พิกัด 709984E 2035546N ความสูง 414 เมตรจากระดับน้ำทะเล

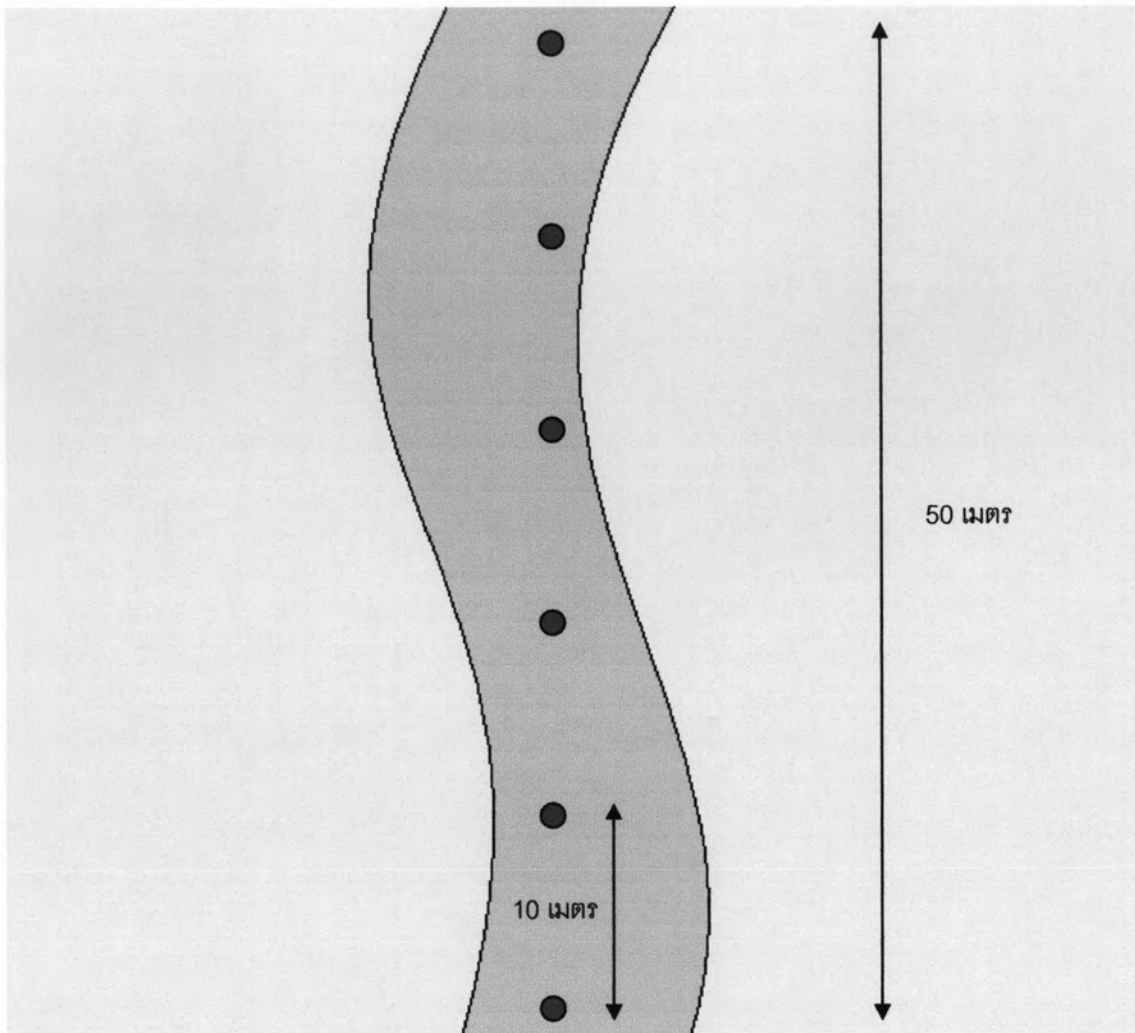
1.2 แหล่งน้ำที่ถูกรบกวน (Disturbed area) เป็นแหล่งน้ำที่อยู่ในบริเวณที่มีกิจกรรมของชุมชน ได้แก่

- ห้วยสลี พิกัด 709401E 2032756N ความสูง 344 เมตรจากระดับน้ำทะเล
- ห้วยคู พิกัด 709408E 2035755N ความสูง 345 เมตรจากระดับน้ำทะเล
- ห้วยน้ำปี พิกัด 706808E 2041169N ความสูง 328 เมตรจากระดับน้ำทะเล

โดยกำหนดจุดสำรวจในแต่ละแหล่งน้ำจำนวน 6 จุด แต่ละจุดห่างกัน 10 เมตร รวมระยะทาง 50 เมตร(ภาพที่ 5)



ภาพที่ 4 แสดงแผนที่ประเทศไทยระบุอุทยานแห่งชาติศรีน่าน จังหวัดน่าน



● จุดเก็บตัวอย่างตัวอ่อนแมลงซีปะขาว

ภาพที่ 5 แสดงตำแหน่งเก็บตัวอย่างตัวอ่อนแมลงซีปะขาวในแหล่งน้ำที่กำหนดไว้

2. ระยะเวลาในการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างตัวอ่อนแมลงซีปะขาวในแหล่งน้ำบริเวณอุทยานแห่งชาติศรีน่าน ทั้งหมด 4 ครั้ง ตั้งแต่ในเดือนธันวาคม พ.ศ.2549 ถึงในเดือนธันวาคม พ.ศ.2550 โดยแบ่งได้ดังนี้
 เดือนธันวาคม พ.ศ.2549 และเดือนธันวาคม พ.ศ.2550 เป็นการเก็บตัวอย่างในฤดูหนาว
 เดือนเมษายน พ.ศ.2550 เป็นการเก็บตัวอย่างในฤดูร้อน
 เดือนสิงหาคม พ.ศ.2550 เป็นการเก็บตัวอย่างในฤดูฝน



ภาพที่ 6 แสดงสภาพแหล่งน้ำที่ทำการศึกษาในเดือนเมษายน พ.ศ.2549 (ฤดูร้อน) (1=ห้วยเหล็ก 2=ห้วยกุ่ม 3=ห้วยคู 4=ห้วยน้ำปี 5=ห้วยศอก 6=ห้วยสลี)



1



2



3



4



5



6

ภาพที่ 7 แสดงสภาพแหล่งน้ำที่ทำการศึกษาในเดือนสิงหาคม พ.ศ.2549 (ฤดูฝน) (1=ห้วยเหล็ก 2=ห้วยกุ่ม 3=ห้วยคู 4=ห้วยน้ำปี 5=ห้วยศอก 6=ห้วยสลี)



1



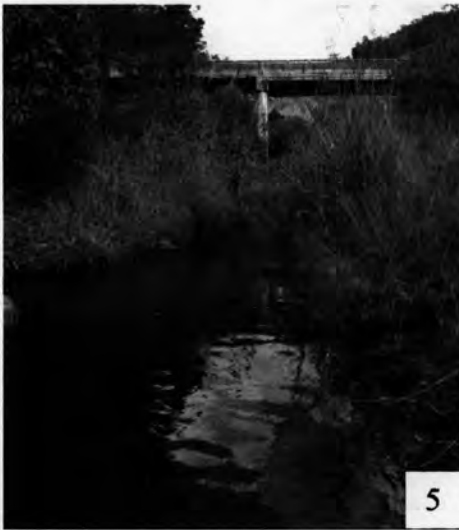
2



3



4



5



6

ภาพที่ 8 แสดงสภาพแหล่งน้ำที่ทำการศึกษาในเดือนธันวาคม พ.ศ.2550 (ฤดูหนาว) (1=ห้วยเหล็ก 2=ห้วยคอก 3=ห้วยกุ่ม 4=ห้วยน้ำปี 5=ห้วยคู 6=ห้วยสลี)

3. การปฏิบัติงานในภาคสนาม

3.1 การเก็บตัวอย่างตัวอย่างแมลงซีปะขาวในพื้นที่ทำการศึกษ

ทำการเก็บตัวอย่างแมลงซีปะขาวในพื้นที่ที่กำหนด โดยใช้ตาข่ายกับดัก (Surber Sampler) ขนาดพื้นที่กรอบ 0.30×0.30 ตารางเมตร ขนาดรูตาข่าย 500 ไมโครเมตร วางตาข่ายกับดักให้ราบกับพื้นลำธาร ให้ปากถุงอยู่ในทิศทางทวนกระแสน้ำ ใช้มือชูดพรวนภายในกรอบของเครื่องมือให้ทั่วในระดับความลึก 10 เซนติเมตร เพื่อให้สัตว์หลุดจากพื้นที่อาศัย ลอยขึ้นมา และถูกน้ำพัดพาเข้าไปอยู่ในถุงตาข่าย และใช้มือลูบก้อนหินที่อยู่ในพื้นที่กรอบเครื่องมือเพื่อให้ตัวอย่างที่คลานหรือเกาะอยู่บนก้อนหินหลุดและถูกพัดเข้าไปในถุงตาข่าย เก็บรักษาตัวอย่างแมลงซีปะขาวในขวดที่มีเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70%

3.2 การเก็บข้อมูลทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำ

3.2.1 อุณหภูมิ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

3.2.3 ความนำไฟฟ้า โดยใช้ Conductivity meter

3.2.3 ความเร็วของกระแสน้ำ โดยใช้ Velocity meter

3.2.4 ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำ โดยใช้กระดาษวัดค่า pH

3.2.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยใช้เครื่อง Dissolved Oxygen meter

3.2.6 ปริมาณสารไนเตรท โดยใช้ชุดเครื่องมือตรวจภาคสนาม

3.2.7 ปริมาณสารฟอสเฟต โดยใช้ชุดเครื่องมือตรวจภาคสนาม

3.3 การเก็บตัวอย่างสารแขวนลอยเพื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

กรองน้ำตัวอย่างจากแหล่งน้ำปริมาณ 250 มิลลิลิตร โดยใช้กระดาษกรอง Whatman GF/C ใช้แผ่นอลูมิเนียมฟอล์ยห่อกระดาษกรองแล้วพับเก็บในซองพลาสติกแบบมีซิปล็อค แช่ไว้ในถังน้ำแข็งเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.4 การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ใช้ขวดแก้วขนาดบรรจุ 150 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างน้ำแล้วเก็บไว้ในถังน้ำแข็งเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

4. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

4.1 การ จัดจำแนก(Classification) และวินิจฉัย(Identification) ตัวอ่อนแมลง ซีปะขาว

นำตัวอย่างตัวอ่อนแมลงซีปะขาวมาทำการจัดจำแนก และวินิจฉัยตามหลัก
อนุกรมวิธานโดยใช้คู่มือการจัดจำแนกดังนี้

- Bouchard, R. W. 2004. Guide to Aquatic Invertebrates of the Upper Midwest.
- Dudgeon, D. 1999. Tropical Asian Streams: Zoobenthos, Ecology and Conseqvation.
- McCafferfy, W. P. 1981. Aquatic Entomology: The Fishermen's and Ecologists' Illustrated Guide to Insects and Their Relatives.
- Sangpradub, N. and Boonsoong, B. 2007. Identification of Freshwater Invertebrates of the Mekong River and its tributaries.
- Triplehorn, A. C., and Johnson, F. N. 2005. Borror and DeLong's Introduction to The Study of Insects.

และนำตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงซีปะขาวที่ภาควิชาชีววิทยา คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับแมลงซีปะขาวที่ยังไม่ทราบสกุล หรือไม่สามารถจัด
จำแนกชื่อได้จะใช้ชื่อชนิดเป็น sp. ตามด้วยหมายเลขที่อ้างอิงตัวอย่าง พร้อมกับการ จดบันทึก
ข้อมูลอื่นๆ ของแมลงซีปะขาวแต่ละสกุล ที่สำรวจและสังเกตได้ และทำการบันทึกภาพ ส่วน
ตัวอย่างตัวอ่อนแมลงซีปะขาวเก็บไว้ในขวดแก้วที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เพื่อศึกษาต่อไป

4.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำ

4.2.1 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

นำกระดาษกรองที่ได้จากการเก็บตัวอย่างสารแขวนลอยมาฉีกให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่
ลงไปในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำเอทิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 20 มิลลิลิตร เขย่าจนกว่า
กระดาษกรองจะถูกย่อยเป็นชิ้นเล็กลง ปิดปากหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์มแล้วแช่ในตู้แช่แข็งเป็น
เวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำหลอดทดลองมาปั่นแยกในเครื่องปั่นแยกที่ความเร็ว 3,200 รอบ
ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทของเหลวใสด้านบนลงใน cuvette ขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไป
วิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าคลื่นแสง 665 นาโนเมตร และ 750 นาโนเมตร นำ
ค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการ (Holm-Hansen, 1978)

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ } (\mu\text{g/l}) = \frac{(\text{Abs}[665\text{nm}] - \text{Abs}[750\text{nm}]) \times A \times V_m}{V_f \times L}$$

โดย

Abs = ค่าการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ เอ ในเมทิลแอลกอฮอล์

V_m = ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์

V_f = ปริมาณน้ำที่กรองผ่านกระดาษกรอง

L = ความยาวของ cuvette

A = ปริมาณตัวอย่างน้ำที่กรองผ่านกระดาษกรอง

4.2.2 การวัดความขุ่นของน้ำ โดยใช้เครื่องวัดค่าความขุ่นของน้ำ Turbidity meter

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

การหาค่าดัชนีความหลากหลายของแมลงชีปะขาว

นำข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างแมลงชีปะขาวมาคำนวณหาความหลากหลายที่แสดงด้วยค่า Shannon-Weiner's Diversity Index คำนวณได้จาก

$$H' = -\sum(P_i)(\log_2 P_i)$$

เมื่อ H' = ดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Weiner

P_i = สัดส่วนจำนวนตัวแมลงชีปะขาวแต่ละชนิดต่อจำนวนตัวแมลงชีปะขาวทุก

ชนิดรวมกัน

ถ้าค่า H' มีค่าสูงแสดงว่ามีความหลากหลายของชนิดมาก (Krebs, 1999)

การหาค่าดัชนีความเด่นของแมลงซีปะขาว

นำข้อมูลที่ได้หาค่าดัชนีความเด่น โดยแสดงด้วยค่า Index of Dominance ของ Simpson เพื่อประเมินหาสิ่งมีชีวิตที่เป็นชนิดเด่นในพื้นที่ศึกษาแต่ละช่วงเวลา (Krebs, 1999)

คำนวณได้จาก

$$D = \sum (P_i)^2$$

เมื่อ D = ดัชนีความเด่น

P_i = สัดส่วนจำนวนตัวแมลงซีปะขาวแต่ละชนิดต่อจำนวนตัวแมลงซีปะขาวทุก

ชนิดรวมกัน

การหาค่าดัชนีความเหมือนของแมลงซีปะขาว

นำจำนวนสกุลหรือวงศ์ และจำนวนตัวของตัวอ่อนแมลงซีปะขาวแต่ละกลุ่มมาคำนวณดัชนีความเหมือนของชนิด (Similarity index) โดยใช้ Sorensen Similarity Index เพื่อประเมินว่าในแหล่งน้ำทั้ง 2 ประเภทมีวงศ์หรือสกุลของแมลงซีปะขาวที่มีความคล้ายคลึงกันหรือไม่ (Krebs, 1999)

สูตร

$$S_s = \frac{2a}{2a+b+c}$$

เมื่อ S_s = Sorensen Similarity Index

a = จำนวนชนิดที่พบร่วมกันในแต่ละพื้นที่

b = จำนวนชนิดที่พบเฉพาะในพื้นที่ที่ 1

c = จำนวนชนิดที่พบเฉพาะในพื้นที่ที่ 2

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของค่าสมบัติทางกายภาพ และเคมีของน้ำ ความหลากหลาย และความหนาแน่นของประชากรต่อพื้นที่ของแมลงซีปะขาวด้วยสถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic)

เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำ ความหลากหลาย และความหนาแน่นของประชากรต่อพื้นที่ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง และในแต่ละฤดูกาล ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีของน้ำกับความหลากหลายของแมลงซีปะขาวด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation)