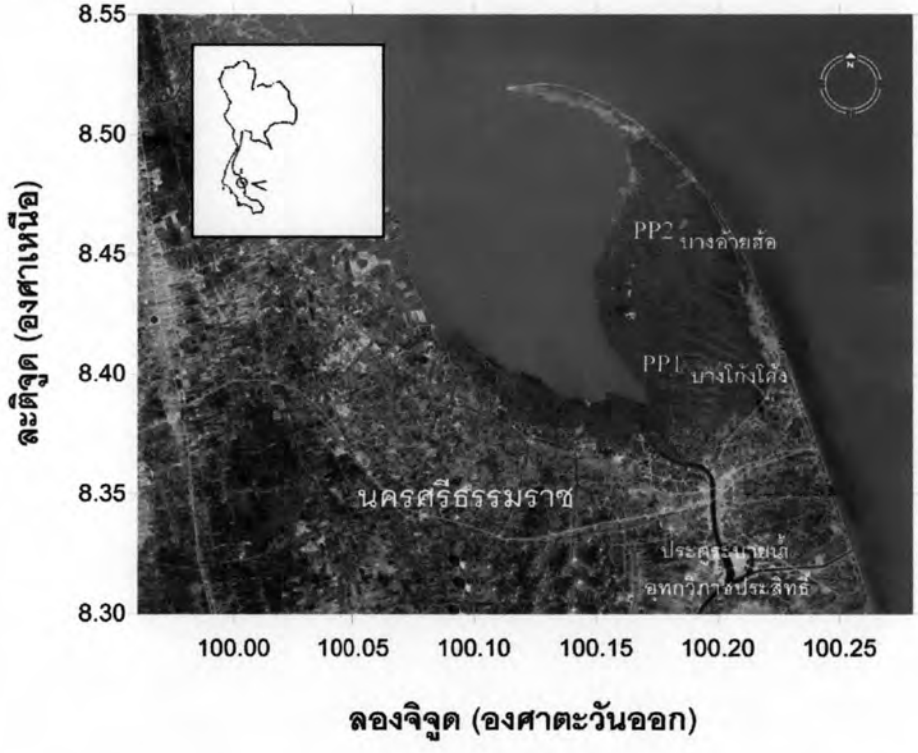
บทที่ 2

วิธีดำเนินการศึกษา

สถานที่ศึกษา

สถานที่ศึกษาอยู่ในเขตป่าชายเลนปากพนังฝั่งตะวันออก จังหวัดนครศรีธรรมราชโดยแบ่งเป็น 2 บริเวณ ตามช่วงเวลาที่มีการปลูกและฟื้นฟูป่าชายเลนในบริเวณนี้ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 พื้นที่ศึกษาในป่าชายเลนอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

ป่าชายเลนคลองโก้งโค้ง

ป่าชายเลนคลองโก้งโค้ง (รูปที่ 6) เป็นป่าชายเลนปลูกในปี พ.ศ. 2530 หลังจากได้รับการแปรสภาพป่าชายเลนไปเป็นนากุ้ง อายุของป่าชายเลนประมาณ 20 ปี พันธุ์ไม้ที่ปลูกบริเวณนี้คือ โกงกางใบเล็กและโกงกางใบใหญ่ ความหนาแน่นรวมของพันธุ์ไม้ในบริเวณนี้เท่ากับ 10 ต้น/100 ตารางเมตร พันธุ์ไม้แสดงลักษณะการแก่งแย่งแสงสว่างโดยต้นไม้มีความสูงมากและเริ่มมีการล้ม

ตาย พื้นที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำขึ้นน้ำลงตลอดเวลา สภาพดินมีลักษณะเป็นดินเลนค่อนข้างอ่อนมีสีดำและมีกลิ่นเหม็นของสารประกอบซัลไฟด์ มีการตกทับถมของซากใบไม้ค่อนข้างสูง มีความหนาแน่นเฉลี่ยของปูแสมเท่ากับ 14 ตัวต่อ 1000 ตารางเมตร (บัญชา สบายตัว, 2549)

A. คลองที่เก็บตัวอย่างบริเวณด้านหน้าป่าชายเลนคลองโก้งโค้ง

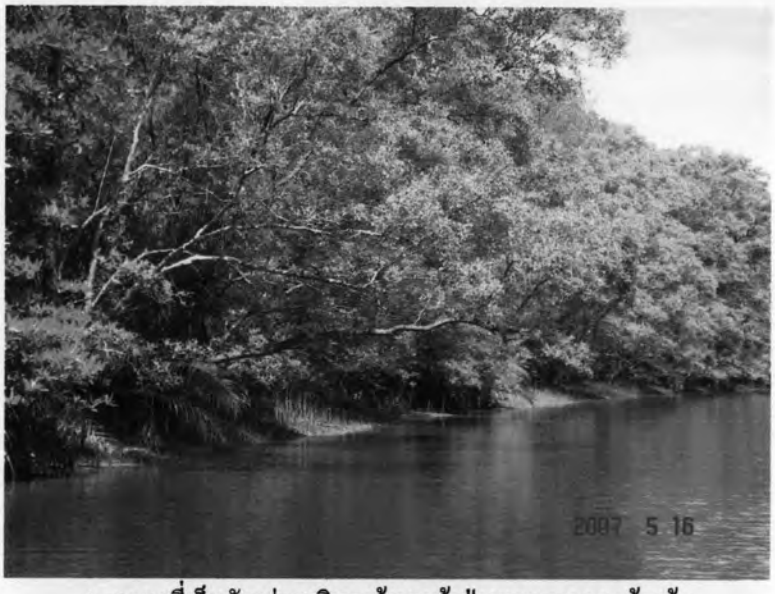
B. การตกทับถมของซากใบไม้ในแปลง

รูปที่ 6 พื้นที่ศึกษาในคลองโก้งโค้ง ป่าชายเลนอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

ป่าชายเลนคลองอ้ายฮ้อ

ป่าชายเลนคลองอ้ายฮ้อ (รูปที่ 7) เป็นป่าชายเลนปลูกในปี พ.ศ. 2534 อยู่ทางด้านเหนือของคลองโก้งโค้งใกล้ปากอ่าว อายุของป่าชายเลนประมาณ 16 ปี พันธุ์ไม้เด่น คือ แสมขาว (*Avicennia*

alba) ความหนาแน่นของพันธุ์ไม้ในบริเวณนี้เท่ากับ 5 ต้นต่อ 100 ตารางเมตร มีไม้พุ่มพวกปรงทะเลและเหงือกปลาหมอขึ้นบริเวณนี้มีการปลูกโกงกางใบใหญ่แซมโดยมีความหนาแน่นเท่ากับ 28 ต้นต่อ 100 ตารางเมตร สภาพของพื้นที่อยู่สูงจากระดับน้ำทะเล มีลักษณะเป็นป่าโปร่งมีแสงส่องถึงพื้นดิน ลักษณะดินเป็นดินเลนค่อนข้างแข็ง ซากใบไม้ที่ตกทับถมในบริเวณนี้ส่วนใหญ่มักถูกพัดพาออกนอกพื้นที่ในช่วงน้ำขึ้นสูงสุด บริเวณนี้เป็นแหล่งทำการประมงปูแสมที่สำคัญในอ่าวปากพนัง ความหนาแน่นเฉลี่ยของปูแสมเท่ากับ 66 ตัวต่อ 1000 ตารางเมตร (บัญชา สบายตัว, 2549)



A. คลองที่เก็บตัวอย่างบริเวณด้านหน้าป่าชายเลนคลองอ้ายฮ้อ

B. การล่องลอยของซากใบไม้ออกนอกแปลงในช่วงน้ำขึ้นสูงสุด

รูปที่ 7 พื้นที่ศึกษาในคลองอ้ายฮ้อ ป่าชายเลนอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

ในการศึกษาพัฒนาการและการทดแทนประชากรปูแสม *Neoepisesarma mederi* (H. Milne Edward, 1853) ในป่าชายเลนอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังรูปที่ 8

รูปที่ 8 ขั้นตอนการศึกษาพัฒนาการและการทดแทนประชากรปูแสม *Neoepisesarma mederi* (H. Milne Edward, 1853) ในป่าชายเลนอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

1. ศึกษาการพัฒนาการของลูกปูจากการเพาะเลี้ยงเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปจำแนกชนิดในธรรมชาติ

1.1 การเตรียมน้ำทะเล

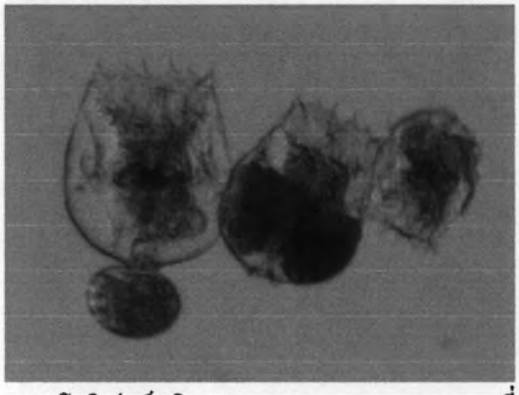
เตรียมน้ำทะเลที่ใช้มีความเค็มเท่ากับ 25 psu โดยนำน้ำทะเลมาผสมน้ำจืดให้ได้ความเค็มที่ต้องการแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนผงในอัตราส่วน คลอรีน 5 กรัมต่อปริมาณน้ำ 100 ลิตร ให้อากาศแรงๆ จากนั้นทิ้งไว้โดยมีฝาปิด 2-3 วัน เพื่อให้คลอรีนหมดฤทธิ์ ก่อนนำน้ำทะเลที่เตรียมไว้มาอนุบาลลูกปูแสมต้องตรวจสอบการตกค้างของคลอรีนด้วยโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) และกรองน้ำผ่านถุงกรองน้ำขนาดตา 20 ไมครอนเพื่อแยกสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นออกก่อนนำน้ำไปอนุบาลทุกครั้ง

1.2 การเตรียมอาหารสำหรับอนุบาลลูกปูแสมในระยะต่างๆ

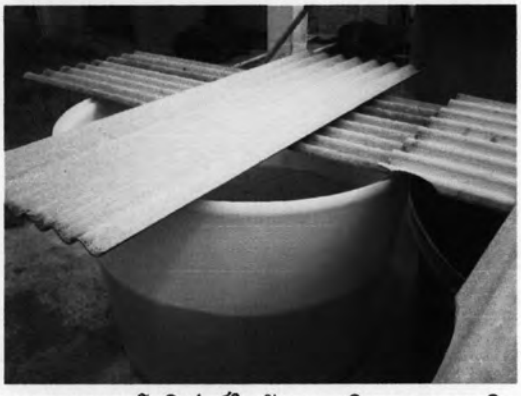
เพาะพันธุ์สาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* สำหรับเป็นอาหารของลูกปูในระยะ zoea I โดยนำหัวเชื้อสาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* มาจากหลอดทดลองมาขยายต่อในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร (รูปที่ 9) และจากขวดรูปชมพู่ ขนาด 1 ลิตรมาขยายต่อในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร โดยใช้น้ำทะเลที่เตรียมไว้ เติมปุ๋ยที่เป็นอาหารของสาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 100 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน แคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต 15 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน และยูเรีย 5 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน

รูปที่ 9 สาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* ที่เลี้ยงในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร

การเพาะโรติเฟอร์ชนิด *Brachionus rotundiformis* (รูปที่ 10 A) เพื่อเป็นอาหารของลูกปูแสม โดยเตรียมถังพลาสติกขนาด 120 ลิตร (รูปที่ 10 B) แล้วนำสาหร่าย *Chlorella* sp. มาใส่ประมาณ 60 ลิตร นำโรติเฟอร์ชนิด *B. rotundiformis* ที่ความหนาแน่น 150-200 ตัวต่อน้ำ 1 ลิตร มา 15 ลิตร เมื่อโรติเฟอร์ชนิด *B. rotundiformis* มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นเท่ากับ 150-200 ตัวต่อน้ำ 1 ลิตรจึงใช้สวิงที่มาขนาดตา 100 ไมครอน ทำการเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์ชนิด *B. rotundiformis* (รูปที่ 10 C) เพื่อเป็นอาหารของลูกปูในโอกาสต่อไป



A. โรติเฟอร์ชนิด *Branchionus rotundiformis* ที่ใช้เป็นอาหารของลูกปูระยะ zoea



B. การเพาะโรติเฟอร์ในถังพลาสติคขนาด 120 ลิตร

C. การเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์

รูปที่ 10 การเพาะโรติเฟอร์ชนิด *Brachionus rotundiformis* เพื่อเป็นอาหารของลูกปูแสม

ซึ่งในการเพาะพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. สำหรับเป็นอาหารของโรติเฟอร์ โดยนำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. มาจากหลอดทดลองมาขยายต่อในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร (รูปที่ 11 A) และจากขวดรูปชมพู่ ขนาด 1 ลิตรมาขยายต่อในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร (รูปที่ 11 B) และไปขยายต่อในถังไฟเบอร์ขนาด 1 ตัน (รูปที่ 11 C) โดยใช้น้ำทะเลที่เตรียมไว้ เติมปุ๋ยที่เป็นอาหารของสาหร่าย *Chlorella* sp. คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 100 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน แคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต 15 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน และยูเรีย 5 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน เพื่อสำหรับการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์

A. สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในขวดแก้ขนาด 1 ลิตร

B. สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในโหลแก้ขนาด 10 ลิตร

C. สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 1 ตัน

รูปที่ 11 การเพาะพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. สำหรับเป็นอาหารของโรติเฟอร์

การเพาะอาร์ทีเมีย *Artemia* sp. (รูปที่ 12 A) สำหรับลูกปูระยะ zoea IV และลูกปูระยะ megalopa นำไข่อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. ยี่ห้อ San farncisco Bay Brand แช่คลอรีนไว้ประมาณ 5 นาทีจากนั้นล้างคลอรีนออกให้หมดแล้วนำไปเพาะในโหลแก้วขนาด 10 ลิตรโดยใช้น้ำทะเลที่เตรียมไว้ให้อากาศแรงๆ เพื่อให้ไข่อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. กระจายทั่วภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. จะพัฒนาเข้าสู่ระยะ Nauplius จึงทำการรวบรวมอาร์ทีเมีย *Artemia* sp. (รูปที่ 12 B) เพื่อไปใช้ในการอนุบาลลูกปู

A. อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. อายุ 12 ชั่วโมง

B. อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. ที่ถูกรวบรวมเพื่อนำไปอนุบาลลูกปู

รูปที่ 12 อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. 12 ชั่วโมงที่ใช้เป็นอาหาร ของลูกปูระยะ zoea IV และลูกปูระยะ megalopa

1.3 การอนุบาลลูกปูแสมในระยะต่างๆ

นำแม่ปูแสม *Neoepisesarma mederi* ระยะไข่แก่ที่มีขนาดกระดองตั้งแต่ 34 ถึง 40 มิลลิเมตร จากบริเวณป่าชายเลนอ่าวปากพนังมาเลี้ยงในกล่องโฟมขนาด 40 ลิตร ที่บรรจุน้ำทะเลที่เตรียมไว้ที่ระดับความเค็ม 25 psu น้ำปริมาตร 20 ลิตร และปิดฝาเพื่อป้องกันการหลบหนีของแม่พันธุ์ปูแสม โดยปล่อยแม่พันธุ์ปูแสมลงในกล่องโฟมในความหนาแน่น 4 ตัวต่อกล่อง (รูปที่ 13 A) หลังจากนั้นเฝ้าสังเกตการวางไข่ของแม่พันธุ์ปูแสม ซึ่งโดยทั่วไปพบว่าแม่พันธุ์ปูแสมจะวางไข่ในเวลากลางคืนช่วง 20.00 น. ถึง 24.00 น.

หลังจากที่ลูกปูจะฟักออกจากไข่ใช้สายยางดูดแยกลูกปูออกเพื่อนำไปอนุบาลในกล่องโฟม ขนาด 40 ลิตร ภายในบรรจุน้ำทะเลที่เตรียมไว้ที่ระดับความเค็ม 25 psu น้ำปริมาตร 30 ลิตร และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 28-32 องศาเซลเซียส โดยให้อากาศปานกลาง (รูปที่ 13 B)

A. ภาชนะที่ใช้เลี้ยงแม่ปู *N. mederi* ไข่แก่

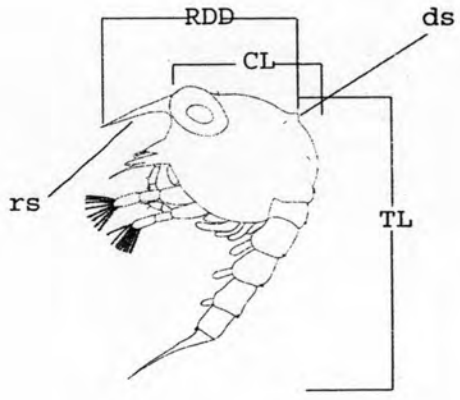
B. การเลี้ยงลูกปู *N. mederi* ระยะ zoea ถึงระยะ young crab

รูปที่ 13 การเพาะเลี้ยงแม่ปูแสมไข่แก่ และลูกปูในระยะต่าง ๆ

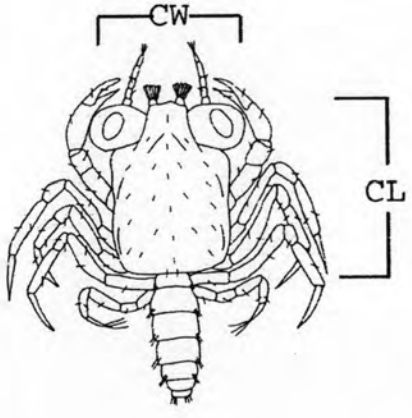
สังเกตพฤติกรรมของลูกปูทุกระยะโดยอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปูจะแปรเปลี่ยนไปตามแต่ละระยะ ลูกปูในวันแรก (ระยะ zoea I) ให้อาหารเป็น *Chaetoceros calcitrans* มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง 1,000-1,500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นเมื่อลูกปูพัฒนาเข้าสู่วันที่ 2 คือระยะ zoea I-III ให้โรติเฟอร์ชนิด *Brachionus rotundiformis* ที่ความหนาแน่น 10-15 ตัวต่อมิลลิลิตรจำนวน 1 ลิตร เป็นอาหารของลูกปูโดยที่ยังมี *C. calcitrans* เหลืออยู่ในน้ำด้วย จากนั้นเมื่อลูกปูพัฒนาสู่ระยะ zoea IV และระยะ megalopa ให้อาหารเป็น อาร์ทีเมีย *Artemia* sp. ยี่ห้อ San farncisco Bay Brand อายุ 12 ชั่วโมงในระยะ Nauplius ที่ความหนาแน่น 1-5 ตัวต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.2 ลิตร (Schubart and Cuesta, 1998) และภายใน 7 วัน ลูกปูจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ young crab

การศึกษาพัฒนาการของลูกปูในแต่ละระยะทำการเก็บตัวอย่างลูกปู เพื่อนำมาสุ่มนับจำนวนตัวลูกปูและสังเกตระยะการพัฒนาของลูกปูโดยดูจากขนาดและจำนวนของ setae บนรยางค์ (Rice,1980) โดยทำการวัดความยาว ตั้งแต่ rostral spine ถึง dorsal spine (rostrodorsal length), ความยาวกระดอง (carapace length), ความกว้างกระดอง (carapace width), ความยาวของ rostral spine (rostral spine length), ความยาวของ dorsal spine (dortral spine length), ความยาวของ antennal protopod (antennal protopod length), ความยาวของ antenna endopod (antenna endopod length) และความยาวของ antenna exopod (antenna exopod length) ของระยะzoea และระยะ

megalopa (รูปที่ 14) และวาดรูปเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางสัณฐานวิทยาของลูกปูแสมในชนิดที่ทำการศึกษา



A.



B.

รูปที่ 14 สัดส่วนความยาวของลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa – ด้านข้าง (A); และด้านบนของระยะ megalopa (B) โดย CL= carapace length, TL= Total length, CW = carapace width, ds = dorsal spine length, rs = rostral spine length, RDD = rostrodorsal length

2. การศึกษานิเวศวิทยาของลูกปูแสม *Neoepisesarma mederi* ในป่าชายเลนอ่าวปากพนัง

ทำการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ทุกเดือนในช่วงเวลาน้ำขึ้น ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2549 เพื่อดูชนิดและความชุกชุมตามฤดูกาลของลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa ในป่าชายเลนบริเวณคลองหน้าป่าชายเลนคลองโก้งโค้ง และคลองอ้ายฮ้อ

2.1 นิเวศวิทยาของลูกปูแสม *Neoepisesarma mederi* ในระยะ zoea และระยะ megalopa

การเก็บตัวอย่างทุกเดือนในช่วงเวลาน้ำขึ้นตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2549 โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอน ขนาดปากถุงกว้าง 0.30 เมตร ยาว 1.50 เมตร ขนาดตา 103 และ330 ไมโครเมตร ติดมาตรวัดอัตราการไหลของน้ำ (flowmeter) เก็บตัวอย่างลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa เวลาในการเก็บตัวอย่าง 3 นาที ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำ 50 เซนติเมตรจากนั้นนำไปจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ทำการจำแนกลูกปูออกเป็นกลุ่มโดยอ้างอิงตามเอกสาร Smith (1977), Rice (1980), Davis (1985) , Wear and Fielder (1985) และGurney (1960) และนับตัวอย่างทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา ตัวอย่างที่มีความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์สูงจะถูกแบ่งด้วยอุปกรณ์แบ่งส่วนแพลงก์ตอนแบบ Folsom's splitter และสุ่มนับเพียงบางส่วน คำนวณความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์เป็นจำนวนตัวต่อปริมาตรน้ำ 100 ลูกบาศก์เมตร ดังสมการข้างล่างนี้

การคำนวณความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์ใช้สมการดังนี้

$$T = 100t/v$$

เมื่อ T แทน จำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ทั้งหมดต่อน้ำปริมาตร 100 ลูกบาศก์เมตร
t แทน จำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ที่นับได้
V แทน ปริมาตรน้ำที่ถูกกรองผ่านถุงลากแพลงก์ตอน ซึ่งคำนวณได้จาก

$$V = N_1 \times n \times a$$

เมื่อ a แทน พื้นที่หน้าตัดของถุงแพลงก์ตอน (ตารางเมตร)
n แทน จำนวนรอบที่มาตรวัดอัตราการไหลของน้ำหมุน
N แทน จำนวนรอบที่อ่านได้จากมาตรวัดอัตราการไหลหมุนเมื่อถูกลากไปเป็นระยะ1เมตร
N_1 แทน ระยะทาง (เมตร) ที่มาตรวัดอัตราการไหลหมุน 1 รอบ

จากนั้นนำข้อมูลความหนาแน่นของลูกปูแต่ละระยะที่ได้จากการเก็บด้วยถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตาต่างกันมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนของความหนาแน่นของลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa

2.2 ปริมาณอาหารของลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa

อาหารของลูกปูจะแปรเปลี่ยนไปตามระยะของลูกปู โดยลูกปูระยะ zoea I-III จะกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร และเมื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะ zoea IV และระยะ megalopa ก็จะกินแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีขนาดเล็กกว่าเป็นอาหาร

2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ

ลูกปูระยะ zoea I-III กินแพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายขนาดเล็กโดยเฉพาะไดอะตอมเป็นหลัก(Rabalais and Cameron, 1985; Schwamborn *et al,* 2002) จึงทำการศึกษามวลชีวภาพในรูปของปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณอาหารของลูกปูระยะ zoea I-III โดยศึกษาจากแพลงก์ตอนพืชสองกลุ่มขนาด คือ กลุ่มขนาด >20 ไมโครเมตร และกลุ่มขนาด <20 ไมโครเมตร โดยใช้วิธี size fraction เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของแพลงก์ตอนพืชทั้งสองขนาด ทำการเก็บน้ำที่ระดับความลึก 0.5 เมตรจากผิวน้ำและจากพื้นท้องน้ำ กรองน้ำที่ได้ผ่านผ้ากรองขนาดตา 200 ไมโครเมตร เพื่อกำจัดสารแขวนลอยขนาดใหญ่และแพลงก์ตอนสัตว์ออก แบ่งน้ำที่ได้ปริมาตร 20 ถึง 100 มล. กรองด้วยกระดาษกรองใยแก้ว GF/F จะได้ตัวอย่าง fraction 0.7 ถึง 200 ไมโครเมตร (เป็นตัวแทนของแพลงก์ตอนพืชทุกขนาด) กรองน้ำที่เหลือด้วยผ้ากรองขนาดตา 20 ไมโครเมตร แบ่งน้ำที่ได้ปริมาตร 20 ถึง 100 มิลลิลิตร มากรองด้วยกระดาษกรองใยแก้ว GF/F ซึ่งเป็นตัวอย่าง fraction 0.7 ถึง 20 ไมโครเมตร (เป็นตัวแทนของแพลงก์ตอนพืชขนาดนาโนแพลงก์ตอนและพิโคแพลงก์ตอน) จากนั้นเก็บกระดาษกรองทั้งหมดแช่แข็งไว้จนกว่าจะทำการวิเคราะห์มวลชีวภาพในรูปของปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ โดยสกัดคลอโรฟิลล์_เอ ด้วยสารละลายอะซิโตน 90% และวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง Fluorometer (Turner Design model 10-AU) เทียบกับสารละลายคลอโรฟิลล์_เอมาตรฐาน (Parson *et al.*, 1984) จากนั้นคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ ของแพลงก์ตอนพืชทั้งสองขนาดจากปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ ของ fractions ต่างๆ และปริมาณแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็กนั้นทำการเก็บตัวอย่างพร้อมกันกับการเก็บตัวอย่างลูกปูระยะ zoea และระยะ Megalopa และนำข้อมูลความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์แต่ละขนาดที่ได้จากการเก็บด้วยถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตาต่างกันมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนของความหนาแน่นของแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็กที่เป็นอาหารของลูกปู

2.3 ผลปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสกายะและเคมีต่อความหนาแน่นของลูกปูแสม *Neoepisesarma mederi* ระยะ zoea และระยะ megalopa ในบริเวณป่าชายเลนอ่าวปากพนัง

ลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa นั้นดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอนดังนั้นปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความหนาแน่นของลูกปูจึงเป็นปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่อยู่ในมวลน้ำ ดังนั้นจึงทำการตรวจวัดปัจจัยสภาพแวดล้อมทางกายภาพในขณะเก็บตัวอย่างตามลำดับดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่ศึกษาและวิธีการตรวจวัดในภาคสนาม

ปัจจัยสภาพแวดล้อมทางกายภาพ	วิธีการ / เครื่องมือที่ใช้
ความลึกของน้ำ	ตุ้มน้ำหนักสำหรับหย่งน้ำ
ความโปร่งแสงของน้ำ	แผ่น Secchi disc
อุณหภูมิและความเค็มของน้ำ	เครื่อง SCT meter (YSI model 30) ที่ปรับเครื่องมือให้ได้มาตรฐานด้วยน้ำทะเลสังเคราะห์ที่ทราบความเค็ม
ปริมาณออกซิเจนละลาย	เครื่อง DO meter (YSI model 55) ที่ปรับเครื่องมือให้ได้มาตรฐานกับน้ำที่มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว และน้ำที่ไม่มีออกซิเจนละลาย
ความเป็นกรด-เบส ของน้ำ	เครื่อง Pocket pH meter ปรับเทียบเครื่องมือด้วยสารละลาย pH 4 และ pH 10

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นลูกปูกับปริมาณอาหารและปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสกายะและเคมี ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักสองมิติ (PCA) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ PRIMER (Clarke and Warwick, 1994)

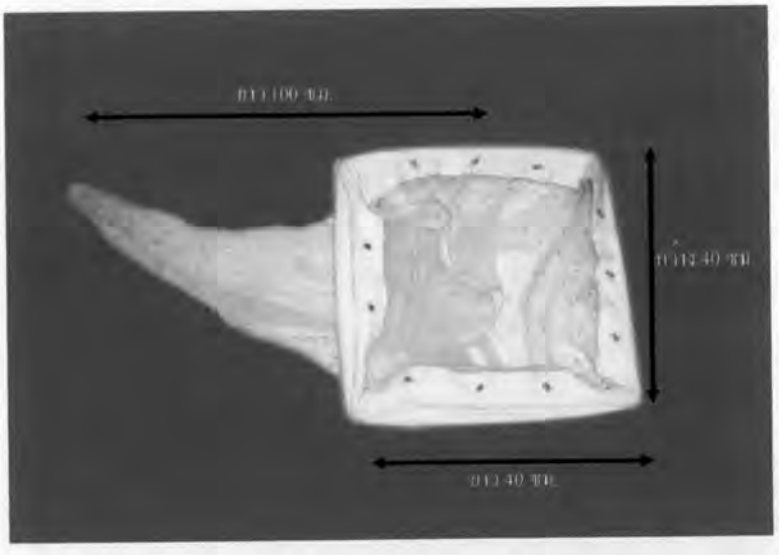
3. การศึกษาการทดแทนประชากรของปูแสม โดยศึกษาความหนาแน่นลูกปู

เนื่องจากบริเวณที่ทำการศึกษาเป็นแหล่งทำการประมงปูแสมจากการศึกษาองค์ประกอบชนิดของปูแสมสกุล *Neoepisesarma* ที่พบในแปลงป่าชายเลนอ่าวปากพนังปลูกที่มีอายุต่างกันของบัญชา สบายตัว (2549) พบว่าปูแสม *Neoepisesarma mederi* เป็นปูแสมชนิดเด่นพบกระจายอยู่ทุกบริเวณที่ทำการศึกษา ปูแสมชนิด *Neoepisesarma singaporensis* ก็สามารถพบได้ทั่วไปแต่ในปริมาณที่น้อยกว่า ปูแสมที่พบได้น้อยในพื้นที่ป่าชายเลนอ่าวปากพนังได้แก่ ปูแสมชนิด *Neoepisesarma chengtongense* ซึ่งพบบางบริเวณเท่านั้น ดังนั้นในศึกษาครั้งนี้จึงเน้นศึกษาความ

หนาแน่นของลูกปูแสม *N. mederi* ในระยะ zoea ถึงระยะ megalopa ในระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2549 และศึกษาความหนาแน่นของลูกปูแสม *N. mederi* ในระยะ megalopa ถึงระยะ young crab ในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ของปูแสม *N. mederi* คือ ในเดือนพฤษภาคม 2549 และในเดือนตุลาคม 2549 เนื่องจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad Somatic Index, GSI) ของปูแสม *N. mederi* พบว่ามีค่าสูง 2 ช่วงในรอบปี ช่วงแรกคือ เดือนเมษายน มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.60 ส่วนค่าเฉลี่ย GSI มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งในเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.89 -4.81 แต่อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ย GSI ในเดือนเมษายนยังมีค่าต่ำกว่ามากเมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ย GSI ในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน (บัญชา สบายตัว, 2549)

3.1 การศึกษาความหนาแน่นของลูกปูระยะ megalopa ในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์

การเก็บตัวอย่าง megalopa โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 450 ไมโครเมตร (รูปที่ 15) ลากในบริเวณชายน้ำหน้าป่าชายเลน เป็นระยะทาง 20 เมตร ลากในบริเวณคลองหน้าป่าชายเลนทั้ง 2 บริเวณ เก็บรักษาสภาพตัวอย่างด้วยฟอร์มาลินที่เป็นกลางความเข้มข้นสุดท้าย 4% จากนั้นวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ



รูปที่ 15 ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 450 ไมโครเมตร

จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นลูกปูระยะ zoea และระยะ megalopa กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสกายะและเคมี ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักสองมิติ (PCA) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ PRIMER (Clarke and Warwick, 1994) และการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation)

3.2 นิเวศวิทยาของของลูกปูแสม *Neoepisesarma mederi* ขนาดเล็ก (young crab)

3.2.1 การศึกษาบริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยย่อยของลูกปูระยะ young crab

โดยวิธีการกวนน้ำให้บริเวณหน้าดินฟุ้งขึ้นมาในมวลน้ำแล้วจึงใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาด 450 ไมโครเมตร ช้อนเก็บตัวอย่างลูกปูระยะ young crab ที่บริเวณใกล้ผิวหน้าดิน ซึ่งทำการศึกษาในบริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยย่อย ได้แก่ แอ่งดินที่มีน้ำขัง บริเวณรากโกงกาง รากแสม ซากใบไม้ทับถม ริมคลอง และพื้นท้องน้ำบริเวณกลางคลอง

3.2.2 การศึกษาการลงเกาะของลูกปูระยะ young crab

โดยวางอุปกรณ์ล่อการลงเกาะเป็นแผ่นกรองใยแก้ว สำหรับกรองน้ำในตู้ปลา (รูปที่ 16) ขนาด 50×50 ตารางเซนติเมตร ลงบนดินตามเส้นทางสำรวจ 2 แนว ตั้งฉากไปกับชายฝั่งลึกเข้าไปในป่าเป็นจำนวน 5 อัน แต่ละอันห่างกัน 2 เมตร เพื่อดูการลงเกาะของลูกปูขนาดเล็ก ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือ ในเดือนพฤษภาคม 2549 และในเดือนตุลาคม 2549 ทำการเก็บตัวอย่างที่ติดอุปกรณ์ล่อการลงเกาะ รักษาสภาพตัวอย่างด้วยฟอร์มาลินที่เป็นกลางความเข้มข้นสุดท้าย 10% จากนั้นวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ทำการฝังถังพลาสติคกลมมีรัศมี 13 เซนติเมตร มีความสูง 18 เซนติเมตร ลงบนพื้นป่าชายเลนทั้งสองเป็นจำนวน 3 ถัง บริเวณที่ทำการศึกษาในเดือนมิถุนายน 2548 เพื่อศึกษาความหนาแน่นของลูกปู young crab

รูปที่ 16 อุปกรณ์ล่อการลงเกาะ (แผ่นกรองน้ำ) ขนาด 50×50 ตารางเซนติเมตร

3.2.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน

วิเคราะห์คุณสมบัติของดินโดยทำการศึกษาเฉพาะในช่วงที่เป็นตัวแทนของแต่ละฤดูกาลสืบพันธุ์ ได้แก่ในเดือนพฤษภาคม 2549 และในเดือนตุลาคม 2549 ทำการเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำในดินในแต่ละบริเวณโดยทำการวัดอุณหภูมิและความเค็มด้วยเครื่อง Salt meter (Merbabu รุ่น NS-3P) วัดความเป็นกรด-เบสด้วยเครื่อง Pocket pH meter (HANNA) เก็บตัวอย่างดินในแต่ละแปลงที่ผิวดินลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร แปลงละประมาณ 1 กิโลกรัม ทำมาตากให้แห้งสนิทแล้วบดให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างดินที่บดแล้วผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร จำนวน 50 กรัม เพื่อนำมาวิเคราะห์ขนาดอนุภาคตะกอนดิน (grain size) โดยวิธี Hydrometer Method (ณรงค์ ชินบุตร และจักรพงษ์ เจิมศิริ, 2536) และนำตัวอย่างดินอีกส่วนหนึ่งจำนวน 0.5 กรัม เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์สารในดิน (organic content) โดยวิธี Wet Oxidation ของ Walkley Black (อ้างถึงประไพ ชัยโรจน์, 2536)

วิเคราะห์ความหนาแน่นลูกปู young crab กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมโดยใช้การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation)