

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยเรื่องมาตรการปรับปรุงการทำประมง เพื่อการจัดการทรัพยากรปูม้า และสัตว์น้ำพลอยได้อย่างยั่งยืน บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี มีหัวข้อย่อยทั้งหมด 4 เรื่องย่อย ดังนี้

3.1 การศึกษาพลวัตประชากรปูม้า ภายหลังการเข้าสู่มาตรการการปรับปรุงการทำประมงปูม้า

วิธีการศึกษา

- 1) ศึกษารายงานวิจัยก่อนที่จะมีมาตรการการปรับปรุงการทำประมงปูม้า ในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน เพื่อเปรียบเทียบกับสถานภาพ (stock) ในปัจจุบัน (ชุตานา คุณสุข, 2549; กุศล เรืองประเทืองสุข, 2553, ชุตานา คุณสุข, 2557; Bhatrasataponkul et al., 2007; Kunsook et al., 2014)
- 2) ออกเก็บตัวอย่างประชากรปูม้า บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน เป็นเวลาทั้งสิ้น 1 ปี โดยใช้เครื่องมือประมงทั้ง 2 ชนิด พร้อมทั้งทำการวัดปัจจัยทางกายภาพที่เกี่ยวข้อง
- 3) วิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์การเติบโต การตาย การเข้าทดแทนที่ ค่าขนาดแรกจับ และค่าอัตราการใช้ประโยชน์
- 4) วิเคราะห์ค่าดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่บ่งบอกสถานภาพของปูม้า เช่น ความตกไข่ ขนาดของปูม้าที่มีขนาดเล็กที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ อัตราส่วนแม่ปูไข่นอกกระดองต่อปูม้าเพศเมียทั้งหมด (Miller, 2001)
- 5) วิเคราะห์ความหลากหลายชนิดของสัตว์น้ำพลอยได้ จากการทำประมงปูม้า สำหรับกลุ่มปู นอกเหนือจากการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะภายนอก จะใช้วิธีในการศึกษาหัวข้อที่ 3 ด้วย

3.2 ความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเชีย และมอลลัสก์

วิธีการศึกษา

- 1) กำหนดจุดเก็บตัวอย่างในอ่าวคุ้งกระเบน ทั้งหมด 6 สถานี ได้แก่ ในบริเวณหญ้าทะเล 3 สถานี และในบริเวณป่าชายเลน 3 สถานี โดยใช้เครื่องวัดพิกัดทางภูมิศาสตร์กำหนดจุด
- 2) เก็บตัวอย่าง 3 วิธี ได้แก่ 1) โดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างจากการวางตารางสุ่มสัตว์ (Quadrat) ขนาด 50x50 cm ทั้งหมด 3 ครอบคลุมในแต่ละสถานี 2) เก็บตัวอย่างโดยการวางลอบแบบพับได้ ขนาดตา 2.5 นิ้ว และอวนจมนปูขนาดตา 10 เซนติเมตร ในช่วงน้ำขึ้นสูงสุด 3) เก็บตัวอย่างโดยการจับด้วยมือ และใช้สวิง และวัดปัจจัยทางกายภาพที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเค็ม ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ เป็นต้น
- 3) ตัวอย่างที่เก็บมาได้จากสถานีต่าง ๆ จัดบันทึก และทำการรักษาสภาพตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ 70%

4) การจัดจำแนก โดยใช้คู่มือดังต่อไปนี้

พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา (2554)

ศรินันท์ ไชยวาที (2555)

ศุภรักษ์ วิรัชพินทุ (2532)

ชัยดำรงค์ สิงหเจริญวัฒน์ และคณะ (2554)

จริญญา เกษมศรี และคณะ (2556)

ตัวอย่างที่มีการจำแนกแล้ว นำมาบันทึกข้อมูลต่าง ๆ เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ สถานที่เก็บตัวอย่าง วันเวลาที่เก็บ เป็นต้น เพื่อเก็บไว้ใช้ในการเรียนการสอนของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตลอดจนเป็นฐานข้อมูลของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีต่อไป

5) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลการแพร่กระจายของคริสต์เตเซีย และมอลลัสก์แต่ละชนิด โดยใช้โปรแกรม Arc View GIS

6) นำเสนอแนวทางการจัดการร่วมกันกับผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง เช่น กลุ่มชาวประมง เจ้าหน้าที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน ในการอบรมสัมมนา

7) สรุปผล อภิปราย และจัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของคริสต์เตเซีย และมอลลัสก์

3.3 การจำแนกชนิดของปูน้ำเค็ม (Marine crab) ที่พบในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ด้วยข้อมูลระดับโมเลกุล

วิธีการศึกษา

1) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

1.1 เก็บเนื้อเยื่อตัวอย่างปูน้ำเค็มจากขาเดินคู่ที่ 1 หรือ 2 น้ำหนักประมาณ 50-70 มิลลิกรัม ใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวก์ ขนาด 1.5 ml เพื่อเตรียมสำหรับนำมาสกัดดีเอ็นเอ

1.2 สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเนื้อเยื่อโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป

1.3 ตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี Gel electrophoresis และการวัดการดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer

1.4 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยืนในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ อย่างน้อย 1 ยืน โดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

1.5 ทำผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ได้ให้บริสุทธิ์ (Purified) โดยใช้ชุดน้ำยา PCR purification Kit

1.6 หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ (Automated sequencer)

2) การวิเคราะห์ข้อมูล

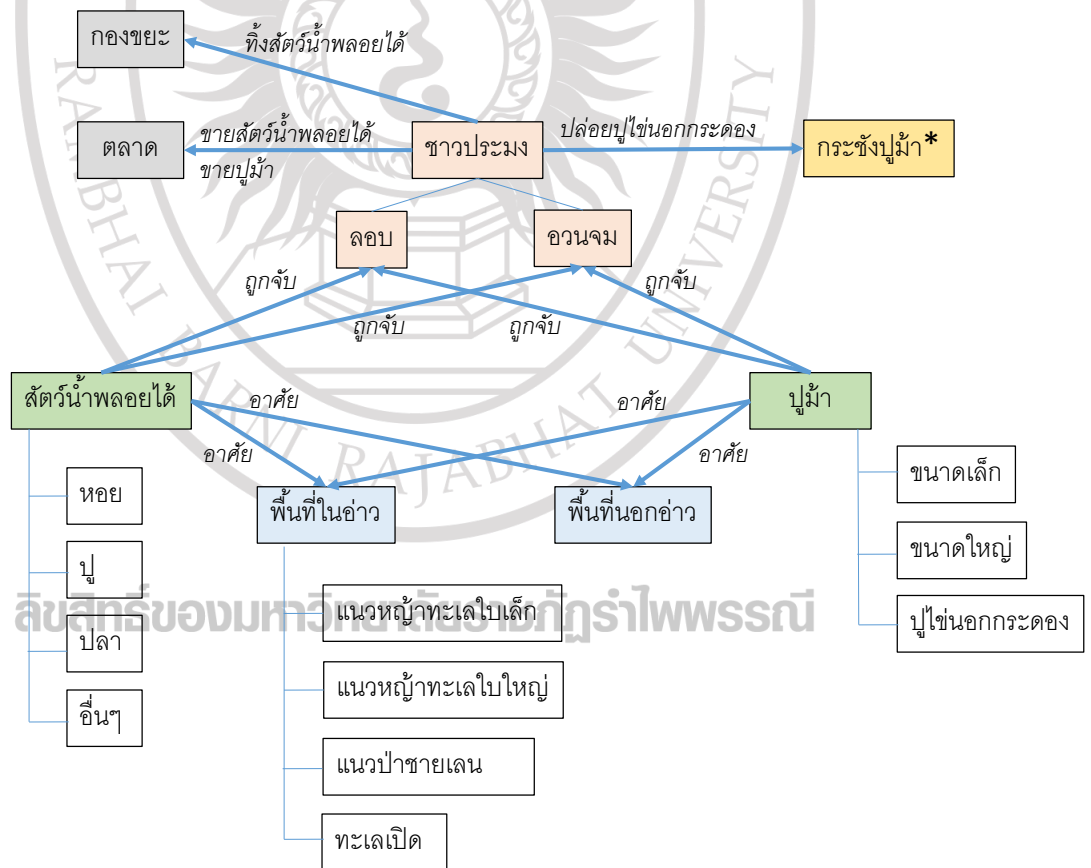
2.1 ระบุชนิดของตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบข้อมูลรหัสพันธุกรรม นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลพันธุกรรมสากล GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) โดยใช้โปรแกรม Blastn (Basic Local Alignment Search Tool)

2.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในระดับโมเลกุล (molecular phylogeny) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เช่น MEGA หรือ PAUP

3.3 การสร้างแบบจำลองทางนิเวศวิทยา เพื่อการจัดการทรัพยากรปูม้า และสัตว์น้ำพลอยได้

วิธีการศึกษา

1) นำข้อมูลจากการศึกษาภาคสนามในหัวข้อที่ 1 โดยเฉพาะในเรื่องปูม้าและสัตว์น้ำพลอยได้ มาสร้างเกมแสดงบทบาทสมมติ (RPG) เพื่อสร้างเป็นแบบจำลองทางนิเวศวิทยา โดยต่อยอดข้อมูลจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของชุตานา คณสุข และคณะ (2558) โดยนักวิจัยได้สร้างแบบจำลองทางความคิดโดยอาศัยหลักการสร้างแบบจำลองเชิงพื้นที่ (spatial model) และระบบพหุภาคี (multi-agent systems) เพื่อสร้างความชัดเจนและลดความซับซ้อนของระบบที่จำลองเป็นเกมสมมติบทบาทสมมติ ตลอดจนจำแนกองค์ประกอบที่สำคัญต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ ซึ่งแบบจำลองทางความคิดของเกมและสถานการณ์จำลองเพื่อการเรียนรู้เรื่องสัตว์น้ำพลอยได้ แสดงดังภาพ 3.1



ภาพที่ 3.1 แบบจำลองทางความคิดของเกมและสถานการณ์จำลองเพื่อการแลกเปลี่ยนเรียนรู้เรื่องความสำคัญของสัตว์น้ำพลอยได้และผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อการทำประมงปูม้า