

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

สถานที่ศึกษา

สถานที่ศึกษาอยู่ในพื้นที่ป่าชายเลนคลองแพรกใหญ่ บ้านคลองโคน จ.สมุทรสงคราม รวม 4 สถานี (รูปที่ 11) คือ สถานี A, B, C และ D เรียงตามความยาวคลอง โดยเริ่มตั้งแต่ทะเลเข้าไปด้านในคลอง ซึ่งสองฝั่งคลองเป็นป่าชายเลนและมีนาุ้งอยู่ด้านในสุดของคลอง มีจุดสังเกตของแต่ละสถานีดังต่อไปนี้

สถานี A อยู่ด้านนอกสุดซึ่งจะติดกับทะเล เป็นบริเวณป่าปลูกทดแทนบนเลนงอกอายุ 4 ปี

สถานี B อยู่ถัดจากสถานี A เข้ามาในคลอง เป็นบริเวณป่าปลูกทดแทนบนเลนงอกอายุ 6 ปี

เมื่อเลยสถานีไปประมาณ 10 เมตรจะมีทางน้ำแยกออกไปอีก

สถานี C เป็นบริเวณป่าชายเลนธรรมชาติ อายุ 10-11 ปี

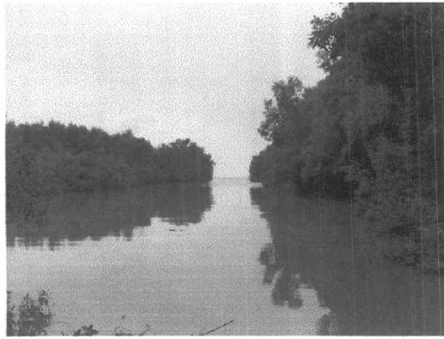
สถานี D เป็นป่าชายเลนธรรมชาติอายุมากกว่า 21 ปี ซึ่งติดกับนาุ้ง มีทางระบายน้ำออกจากนาุ้ง

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่าง Picoplankton และตัวอย่างน้ำ

ทำการศึกษาระยะป่าชายเลนคลองแพรกใหญ่ บ้านคลองโคน จ.สมุทรสงคราม โดยมีจุดเก็บตัวอย่าง 4 สถานี (รูปที่ 11) และทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 1 ปีเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2544 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2545 เพื่อศึกษาความเปลี่ยนแปลงของ Picoplankton ในรอบปี

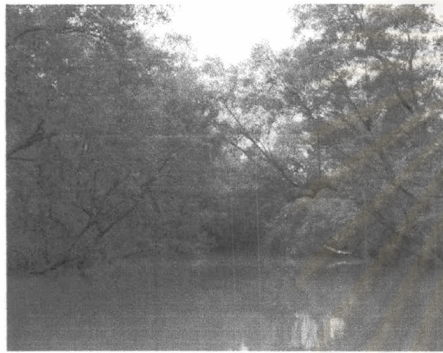
เก็บตัวอย่างน้ำ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 ลิตรตามแนวคิ่งด้วยกระบอเก็บน้ำ ที่ระดับความลึก 0.5 เมตรใต้ผิวน้ำ โดยเก็บจากสถานีด้านในป่าออกสู่ด้านนอก ขณะน้ำขึ้นตอนกลางวัน ตัวอย่างน้ำที่ได้แต่ละครั้งจะถูกกรองด้วยผ้ากรองขนาดตา 200 ไมโครเมตรเพื่อเอาแพลงก์ตอนสัตว์และวัตถุแขวนลอยออก หลังจากนั้นแบ่งน้ำที่ผ่านการกรองออกเป็น 3 ส่วน ดังรายละเอียดต่อไปนี้ (รูปที่ 12)



สถานี A



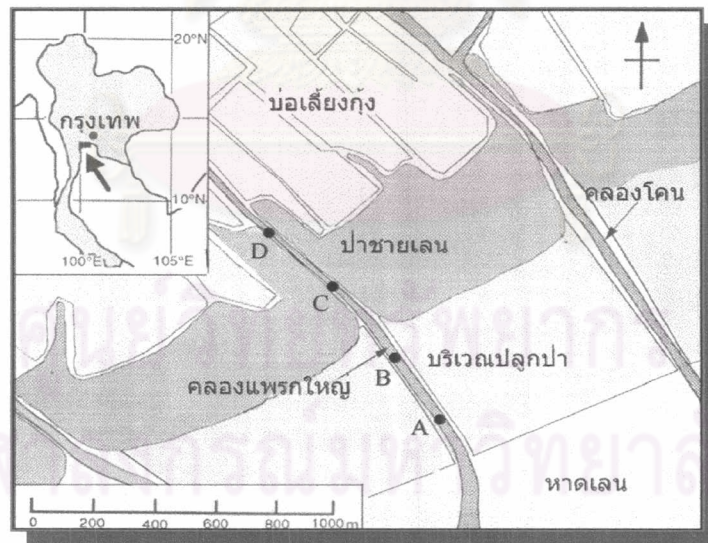
สถานี B



สถานี C



สถานี D



รูปที่ 11

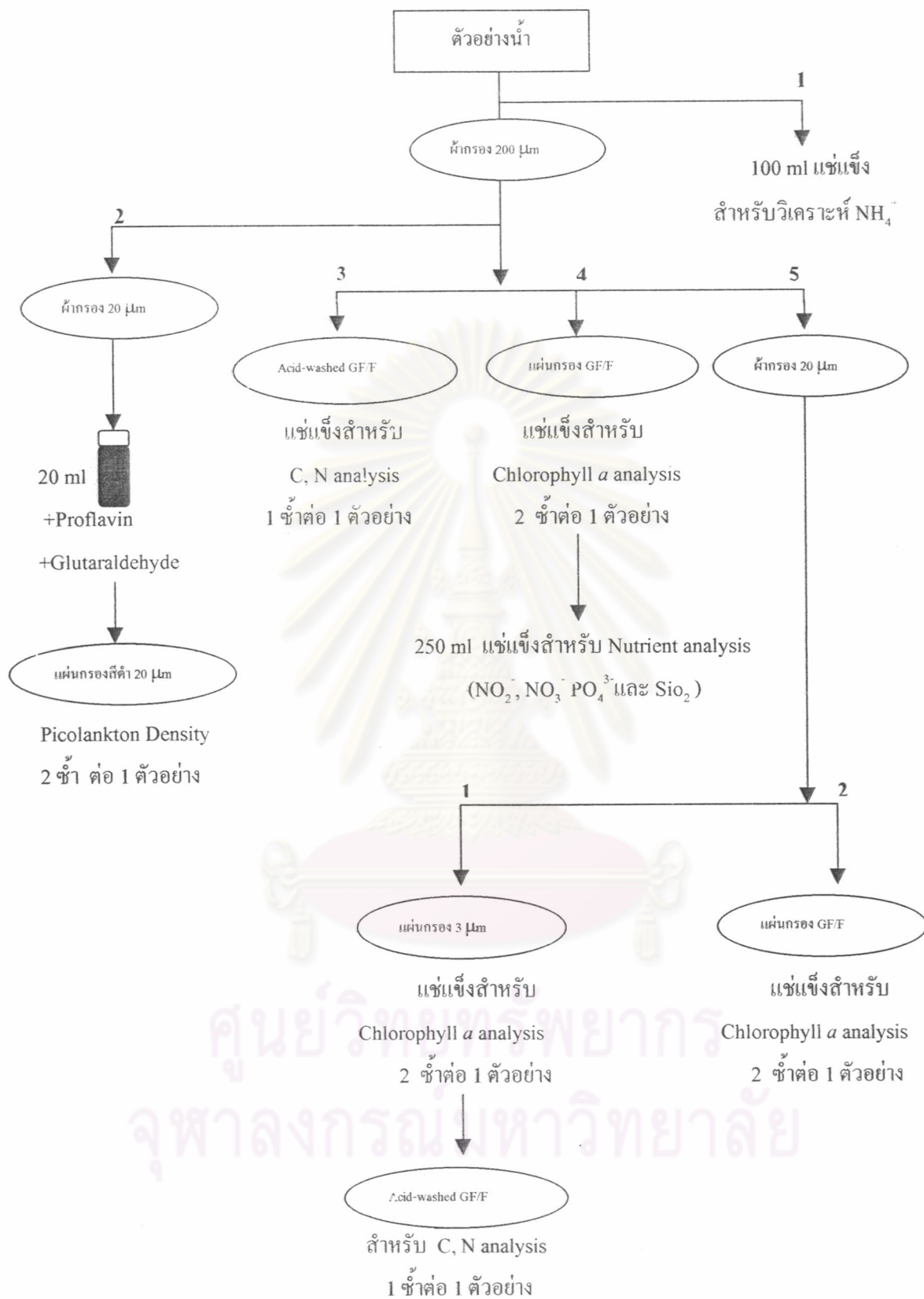
จุดเก็บตัวอย่างบริเวณป่าชายเลนบ้านคลองโคน จังหวัดสมุทรสงคราม

สถานี A แปลงป่าปลูกทดแทนบนเลนงอกอายุ 4 ปี

สถานี B แปลงป่าปลูกทดแทนบนเลนงอกอายุ 6 ปี

สถานี C แปลงป่าชายเลนธรรมชาติ อายุ 10-11 ปี

สถานี D แปลงป่าชายเลนธรรมชาติอายุมากกว่า 21 ปี



รูปที่ 12

วิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำที่เก็บได้เพื่อศึกษาความหนาแน่นของ Picoplankton และคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชขนาดต่างๆ

1.1 ตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดพลาสติกแล้วแช่แข็งไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์แอมโมเนียม โดยวิธี Alternative method (Parsons *et al.*, 1984)

1.2 แบ่งน้ำมากรองผ่านผ้ากรองขนาดตา 20 ไมโครเมตร นำน้ำที่ผ่านผ้ากรองมา 20 มิลลิลิตรใส่ในขวดตัวอย่างที่บดแสง ซึ่งภายในมี Proflavin (0.033 w/v) 0.4 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 นาทีแล้วเก็บรักษาด้วย Glutaraldehyde (25% V/V) ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดและเย็นจนกว่าจะทำการศึกษา

1.3 ตัวอย่าง 30-50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง GF/F ที่ผ่านการแช่ 10% HCL จำนวน 1 ชั่วโมง และแช่แข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์ไนโตรเจนของแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด

1.4 ตัวอย่าง 30-50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง GF/F จำนวน 2 ชั่วโมงแล้วแช่แข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชทั้งหมดและเก็บน้ำที่ผ่านการกรองนี้ 250 มิลลิลิตร ใส่ขวดพลาสติกแล้วแช่แข็งไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารได้แก่ ไนโตรเจนในเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกต ตามวิธีของ Stickland and Parsons (1972)

1.5 ตัวอย่างน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้ากรองขนาดตา 20 ไมโครเมตร หลังจากนั้นแบ่งตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรองนี้เป็น 2 ส่วน คือ

1.5.1 ตัวอย่างน้ำ 30-50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองโพลิคาร์บอนขนาดตา 3 ไมโครเมตร จำนวน 2 ชั่วโมง แช่แข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชขนาดนาโนแพลงก์ตอน แล้วนำน้ำที่ผ่านการกรองนี้ 30-50 มิลลิลิตร มากรองด้วยกระดาษกรอง GF/F ที่ผ่านการแช่ 10% HCL จำนวน 1 ชั่วโมง และแช่แข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์ไนโตรเจน

1.5.2 ตัวอย่างน้ำ 30-50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง GF/F จำนวน 2 ชั่วโมง แช่แข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชขนาดพิโคแพลงก์ตอนและนาโนแพลงก์ตอน

2. การตรวจวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบริเวณที่เก็บตัวอย่าง คือ

อุณหภูมิและความเค็มของน้ำโดย S-C-T meter (YSI model 30)

ความเข้มแสงในแต่ละระดับความลึกที่เก็บตัวอย่างน้ำโดย LI-COR Radiation Sensors
ออกซิเจนละลายโดย Oxygen meter (YSI model 55)

ความเป็นกรด-เบสของน้ำโดย pocket pH meter

นำค่าความเข้มแสงที่ได้มาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การส่องผ่านของแสงตามสมการ Beer-Lambert (Day *et al.*, 1989) ดังนี้

$$I_z = I_0 (e^{-KZ})$$

เมื่อ	I_z	คือ ความเข้มแสงที่ความลึก Z ($\mu E m^{-2} s^{-1}$)
	I_0	คือ ความเข้มแสงที่ผิวน้ำ ($\mu E m^{-2} s^{-1}$)
	K	คือ สัมประสิทธิ์การส่องผ่านของแสง (Attenuation coefficient)
	Z	คือ ความลึกของน้ำ (เมตร)

3. การศึกษาตัวอย่าง

3.1 การศึกษาองค์ประกอบและความชุกชุมของ Picoplankton

นำตัวอย่างจากข้อ 1.2 มากรองด้วยกระดาษกรองโพลีคาร์บอเนตที่พื้นเป็นสีดำขนาดตา 0.2 ไมโครเมตร ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร โดยมีกระดาษกรองขนาดตา 0.45 ไมโครเมตรเป็น Backing filter รองอยู่ด้านหลังของกระดาษกรองโพลีคาร์บอเนตพื้นดำ เพื่อช่วยให้ตัวอย่างกระจายทั่วกระดาษกรอง วางกระดาษกรองบนกระจกสไลด์และปิดด้วยกระจกสไลด์ จากนั้นนำมาจำแนกกลุ่มและนับจำนวนเซลล์ของ Picoplankton ด้วยกล้องจุลทรรศน์ Epifluorescence ในช่วงแสงสีฟ้า (Blue) ซึ่งมีความยาวคลื่นเมื่อผ่าน Filter ออกมาอยู่ในช่วง 450-490 นาโนเมตรที่กำลังขยาย 1000x เท่า นับจำนวนเซลล์ของกลุ่มที่พบเป็นกลุ่มเด่นจนถึง 400 เซลล์ (Kirchman *et al.*, 1982) โดย Phototrophic picoplankton จะเปล่งแสงสีแดงและสีปนเหลือง ส่วน Heterotrophic picoplankton จะเปล่งแสงสีเขียว (Sherr *et al.*, 1993) เนื่องจากตัวอย่างจากป่าชายเลนมีตะกอนแขวนลอยสูงจึงเพิ่มการสังเกตการเรืองแสงของเซลล์ภายใต้แสงเหนือม่วงและแสงสีเขียวตามวิธีการในหัวข้อ 3.2 ที่จะกล่าวต่อไป แล้วหาปริมาณ Picoplankton เฉลี่ยต่อมิลลิตรจากการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจากสมการ

ปริมาณของ Picoplankton ต่อมิลลิลิตร = $[(N \times A) / (B \times C \times D)]$

- เมื่อ N คือ จำนวนเซลล์ของ Picoplankton ที่นับได้ใน B ตาราง
 A คือ พื้นที่ทรงของกระดวยกรองโพทีคาร์บอนเนต (ตารางมิลลิเมตร)
 B คือ จำนวนตารางที่นับ Picoplankton กลุ่มเด่นจนครบ 400 เซลล์
 C คือ พื้นที่ที่นับจำนวนเซลล์แต่ละครั้งในการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ
 0.01 ตารางมิลลิเมตร
 D คือ ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่นำมากรอง (มิลลิลิตร)

3.2 วิธีการศึกษารูปประกอบและความชุกชุมของ Picoplankton สำหรับใช้กับตัวอย่างจากป่าชายเลนหรือตัวอย่างที่มีตะกอนแขวนลอยสูง

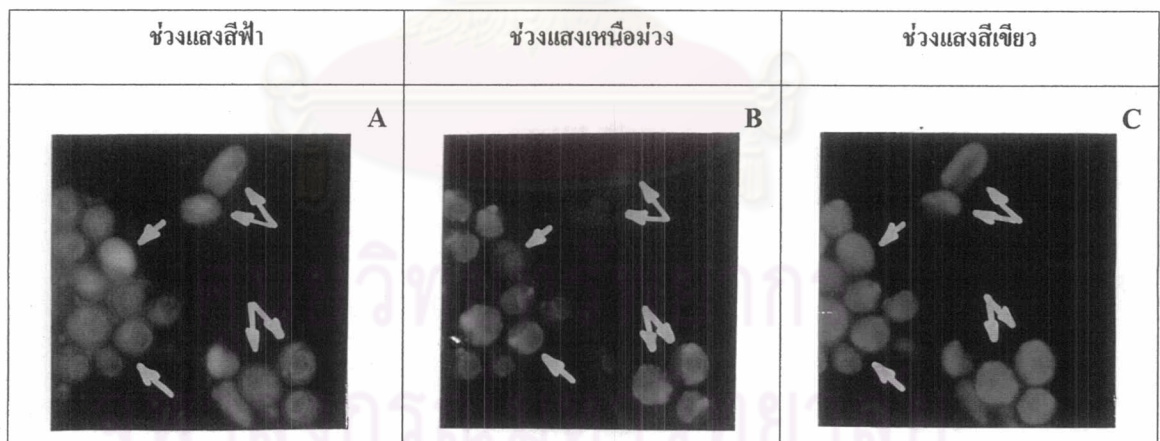
เนื่องจากน้ำตัวอย่างที่มาจากบริเวณป่าชายเลนมีความขุ่นสูง ทำให้เกิดการรบกวนของตะกอนในการจำแนกตัวอย่างและการนับจำนวน Picoplankton แม้ว่าจะใช้สีย้อม Proflavin ในการช่วยลดการรบกวนของตะกอนตามวิธีการของ Sherr *et al.* (1993) ที่รายงานว่าพบซากติดสีชมพูหม่น (Dull pink) แต่ในการศึกษาบริเวณป่าชายเลนบ้านคลองโคกกลับพบว่าซากหรือตะกอนจะมีสีหม่นถึงเหลือง ซึ่งคล้ายคลึงกับการติดสีของกลุ่ม Phototrophic picoplankton ที่ดูภายใต้ช่วงแสงสีฟ้า (460-490 นาโนเมตร) จึงต้องคัดแปลงจากวิธีการศึกษาจำนวน Phototrophic picoplankton โดยดูจาก Autofluorescence ของรงควัตถุในเซลล์แพลงก์ตอนพืชนี้โดยที่กลุ่มของ Phototrophic picoplankton ที่แตกต่างกันจะมีองค์ประกอบของรงควัตถุที่ต่างกันด้วย ดังนั้นสามารถจำแนกกลุ่มได้โดยการเปลี่ยนช่วงแสงที่ไปกระตุ้น (Excitation waveband) และเซลล์จะปล่อยหรือเรืองแสงออกมาแตกต่างกันไปซึ่งทำให้สามารถจำแนกกลุ่มได้นั้นเอง (Maclsaac and Stockner, 1993) อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ต้องการชุด Filter/Dichroic-mirror ที่เหมาะสม สำหรับการศึกษารังนี้ใช้กล้องจุลทรรศน์ Epifluorescence ของ Olympus BX 51 ซึ่งประกอบด้วย

Excitation Method	Mirror Unit	Dichroic Mirror	Excitation Filter	Barrier Filter
U	U-MWU2	DM400	BP330-385	BA420
B	U-MWB2	DM500	BP460-490	BA520IF
G	U-MWG2	DM570	BP510-550	BA590

ในการนี้ได้ทำการทดลองเบื้องต้นโดยนำตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้ซึ่งทราบชนิดและตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชในธรรมชาติมาข้อมด้วยสี Proflavin ตามวิธีการเตรียมตัวอย่างของ Sherr *et al.* (1993) นำมาถ่ายรูปเพื่อดูการเรืองแสงของแต่ละกลุ่มในแต่ละช่วงคลื่นดังนี้

1. แพลงก์ตอนพืชในคลาส Prymnesiophyceae (*Isochrysis* sp.) และคลาส Chlorophyceae : (*Chlorella* sp.)

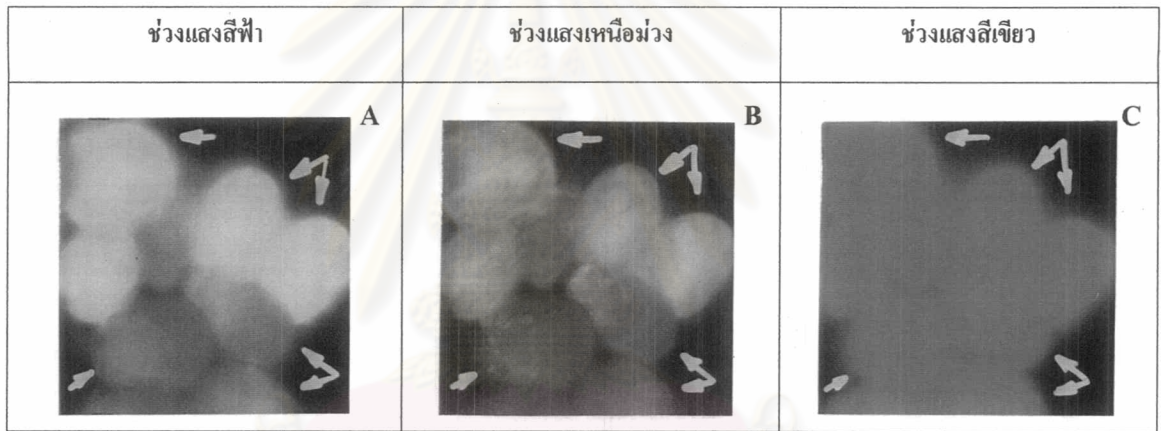
ในช่วงแสงสีฟ้า (รูป 13 A) *Isochrysis* sp. ซึ่งมีรูปร่างคล้ายทรงกระบอก มีคลอโรพลาสต์ 1 แผ่นเรืองแสงสีแดงส่วนอื่นติดสีเหลืองชัด ส่วน *Chlorella* sp. รูปร่างกลมมีคลอโรพลาสต์ 1 แผ่นขนาดใหญ่ เรืองแสงสีแดงหม่นกว่า *Isochrysis* sp. ส่วนในช่วงแสงเหนือม่วง (รูป 13 B) *Isochrysis* sp. มีส่วนของคลอโรพลาสต์เรืองแสงสีแดงหม่นส่วนอื่นของเซลล์จะไม่เรืองแสงสำหรับ *Chlorella* sp. ส่วนของคลอโรพลาสต์จะเรืองแสงสีส้มอิฐ และในช่วงแสงสีเขียว (รูป 13 C) พบว่าทั้ง *Isochrysis* sp. และ *Chlorella* sp. จะเรืองแสงสีแดงชัดเจน โดย *Isochrysis* sp. มีส่วนของคลอโรพลาสต์เรืองแสง ส่วน *Chlorella* sp. จะเรืองแสงเกือบทั้งเซลล์



รูปที่ 13 การเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Epifluorescence ของ *Isochrysis* sp. และ *Chlorella* sp. ที่ข้อมด้วย Proflavin โดยลูกศร \rightarrow ชี้ คือ *Isochrysis* sp. และ ลูกศร \rightarrow ชี้ คือ *Chlorella* sp.

2. แพลงก์ตอนพืชในคลาส Chlorophyceae (*Dunaliella* sp.) และคลาส Prasinophyceae (*Tetraselmis* sp.)

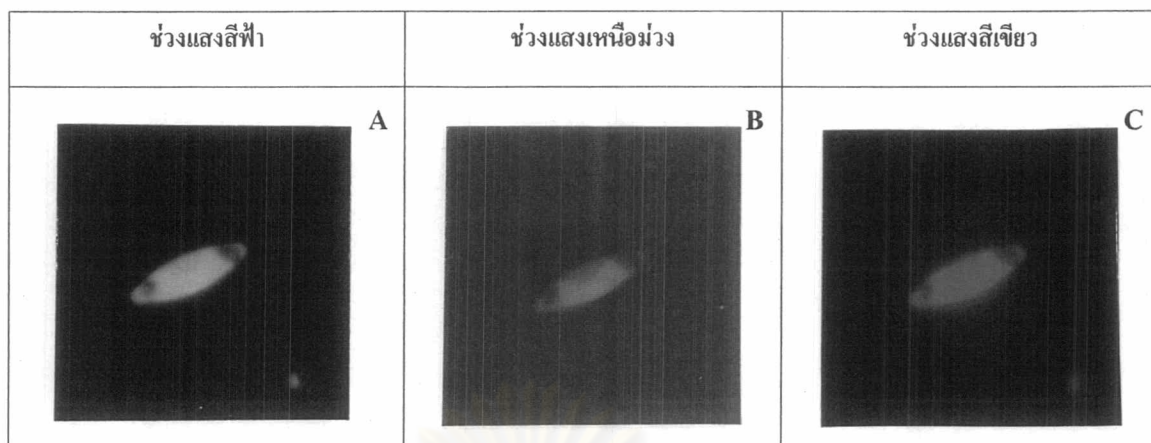
Dunaliella sp. มีรูปร่างค่อนข้างรีคล้ายรูปแพร์ คลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ ในช่วงแสงสีฟ้า (รูป 14 A) ส่วนของคลอโรพลาสต์จะเรืองแสงสีแดงหรือส้มหม่น ส่วนอื่นจะเรืองแสงสีเขียวเหลืองหม่นในขณะที่ *Tetraselmis* sp. ซึ่งมีรูปร่างทรงสี่เหลี่ยมค่อนข้างมน ปลายบนของเซลล์เว้าเป็นแอ่ง คลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยซึ่งเรืองแสงสีส้มเหลืองส่วนอื่นของเซลล์จะเรืองแสงสีเหลืองสดในช่วงแสงเหนือม่วง (รูป 14 B) *Dunaliella* sp. มีคลอโรพลาสต์เรืองแสงสีแดงเข้ม และ *Tetraselmis* sp. จะมีคลอโรพลาสต์เรืองแสงสีส้มจัดในขณะที่ส่วนอื่นของเซลล์จะเรืองแสงสีเหลืองอ่อนกว่าในช่วงแสงสีฟ้า ช่วงแสงสีเขียวทั้งสองชนิดจะเรืองแสงสีแดงจัดทั้งเซลล์ ดังรูป 14 C



รูปที่ 14 การเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Epifluorescence ของ *Dunaliella* sp. และ *Tetraselmis* sp. ที่ย้อมด้วย Proflavin โดยลูกศร → ซี่ คือ *Dunaliella* sp. และ ลูกศร → ซี่ คือ *Tetraselmis* sp.

3. แพลงก์ตอนพืชในคลาส Bacillariophyceae

ในช่วงแสงสีฟ้า ตัวอย่างที่พบเป็น Pennate Diatom ในรูปจะเป็นค้ำนำวลัวของเซลล์ คลอโรพลาสต์จะเรืองแสงสีเหลืองเห็นขอบเซลล์ชัดเจน (รูปที่ 15 A) ซึ่งลักษณะรูปร่างเซลล์ของคลาสนี้ค่อนข้างมีลักษณะเฉพาะดังนั้นบางครั้งจึงไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนไปดูในช่วงแสงอื่นอีก ส่วนในช่วงแสงเหนือม่วงพบว่าเรืองแสงสีส้มอ่อน(รูปที่ 15 B) และเรืองแสงสีแดงชัดเจนในช่วงแสงสีเขียว ดังรูป 15 C



รูปที่ 15 การเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Epifluorescence ของ Pennate diatom ในธรรมชาติที่ย้อมด้วย Proflavin

นอกจากนี้ยังได้สังเกตจากตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชขนาดใหญ่กลุ่มอื่นๆ ที่ติดมากับตัวอย่างที่นำมาศึกษา Picoplankton ในช่วงที่ทดลองวิธีการ เช่น คลาส Cyanophyceae ซึ่งพบว่าในช่วงแสงสีฟ้าจะเรืองแสงสีเหลืองถึงส้มและการเรืองแสงจะกระจายทั่วเซลล์ ส่วนในช่วงแสงเหนือม่วงจะเรืองแสงสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองซีดและมีจุดชมพูเล็กๆกระจายทั่วเซลล์ กลุ่มนี้จะเรืองแสงสีแดงจัดกว่ากลุ่มอื่นๆ ในช่วงแสงสีเขียว ส่วน Heterotrophic picoplankton จะมีลักษณะการเรืองแสงเป็นไปตามวิธีการของ Sherr *et al.* (1993) คือเรืองแสงสีเขียวหม่นในช่วงแสงสีฟ้าและเมื่อเปลี่ยนช่วงแสงเป็นแสงเหนือม่วง เซลล์ของกลุ่มนี้จะติดสีฟ้าขาว ส่วนในช่วงแสงสีเขียวกลุ่มนี้จะไม่เรืองแสง

สำหรับการจำแนกกลุ่มนอกจากสังเกตการเรืองแสงภายใต้ช่วงแสงต่างกันแล้ว ยังต้องอาศัยรายละเอียดในเรื่องรูปร่างเซลล์ รูปร่างของคลอโรพลาสต์ ชนิดของเม็ดสีของเซลล์นั้นๆ โดยใช้เอกสารอ้างอิงของ Platt and Li (1987) ที่เกี่ยวกับ Phototrophic picoplankton โดยตรง Tomas (1997) ซึ่งเป็นเอกสารเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กไมโครและนาโนแพลงก์ตอนเป็นส่วนใหญ่และบางกลุ่มของ Picoplankton และ Butcher (1967) เป็นเอกสารเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กนาโนแพลงก์ตอนในคลาส Cryptophyceae ส่วนในรายละเอียดของกลุ่ม Picoplankton แต่ละกลุ่ม โดยเฉพาะจะไม่มีเอกสารในการจำแนกกลุ่มต่างๆ ในเล่มเดียวกัน เนื่องจากปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายของ Picoplankton จะเป็นการศึกษาโดยเน้นใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์เนื่องจากมีความถูกต้องและแม่นยำกว่าการศึกษาลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียวและมีการค้นพบชนิดใหม่เรื่อยๆ ดังนั้นรายละเอียดของ Picoplankton ของแต่ละชนิดหรือกลุ่มจะพบได้ในรายงานวิจัยของแต่ละผู้วิจัย นอกจากนั้นแหล่งข้อมูลที่สำคัญอีกแหล่ง คือ ข้อมูลทางอินเทอร์เน็ต โดยเฉพาะอย่างยิ่งรูปภาพของ Picoplankton ชนิดใหม่ๆ ทั้งภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light), Epifluorescence

และ Electron microscopic จากสถาบันการศึกษาหรือบริษัทเอกชน เช่น Smithsonian Environmental Research Center ประเทศอเมริกา, Marine Biotechnology Institute Culture Collection (MBIC) ประเทศญี่ปุ่น และ Station Biologique de Roscoff ประเทศฝรั่งเศส เป็นต้น

3.3 การศึกษามวลชีวภาพของ Picoplankton และแพลงก์ตอนพืชขนาดต่างๆ

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยการสกัดด้วยสารละลาย Acetone 90% และแช่ทิ้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาวัดด้วยเครื่อง Fluorometer (Turner Designs model 10 AU) และคำนวณปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ ตามวิธีการของ USEPA (Arar and Collins, 1992)

วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนด้วยเครื่อง CHN analyzer โดยวิธี High temperature combustion (อัมพร อึ้งปรกรณ์แก้ว, 2540)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณและมวลชีวภาพของ Picoplankton โดยรวม รวมถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Picoplankton ที่เป็นกลุ่มเด่นโดยการพิจารณาจากปริมาณที่พบ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และการเปลี่ยนแปลงในแต่ละฤดูที่ทำการศึกษา

4.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยแวดล้อมและปริมาณสารอาหารกับความหนาแน่นและมวลชีวภาพของ Picoplankton โดยการหาค่าสหสัมพันธ์ (Pearson Correlation)

4.3 วิเคราะห์ความคล้ายคลึงของประชาคม Picoplankton ในรอบปีโดย Cluster Analysis ด้วยโปรแกรม PRIMER5 ของ Plymouth Marine Laboratory (Clarke and Gorley, 2001)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย