บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

การทดลองศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของตัวอ่อนหอยนางรมชนิดปากจีบ (Crassostrea commercialis) ใช้วัสดุต่างชนิดนำไปล่อให้ลูกหอยเกาะ แล้วนำมาตรวจสอบ ได้แบ่งการทดลองเป็น 2 ตอนคือ การศึกษาอัตราการเกาะในสภาพธรรมชาติและการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

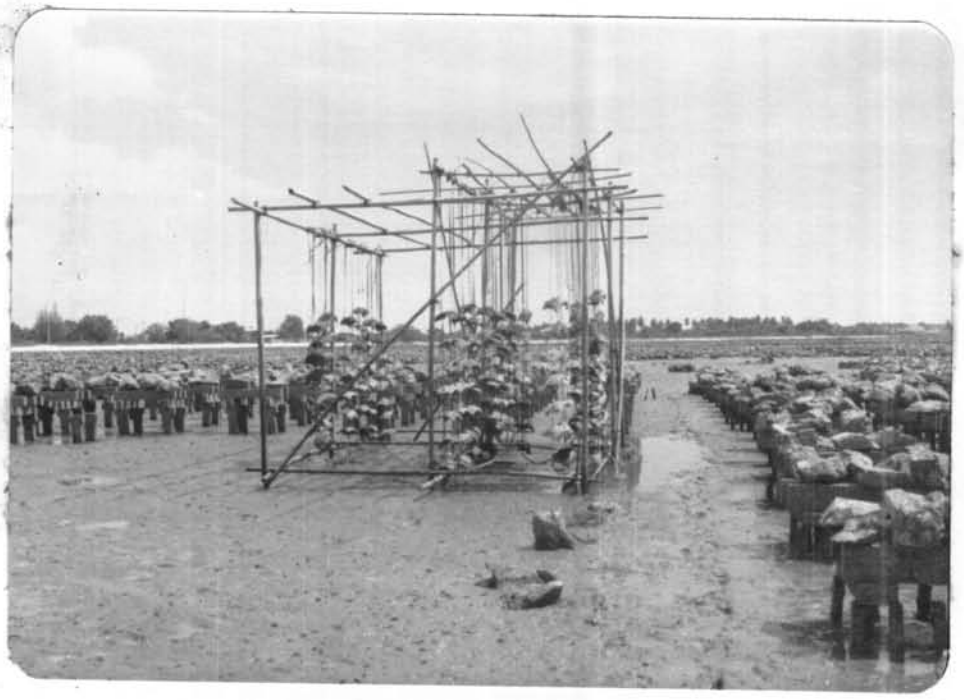
1. สถานที่

สถานที่ทำการทดลองมี 2 บริเวณคือ

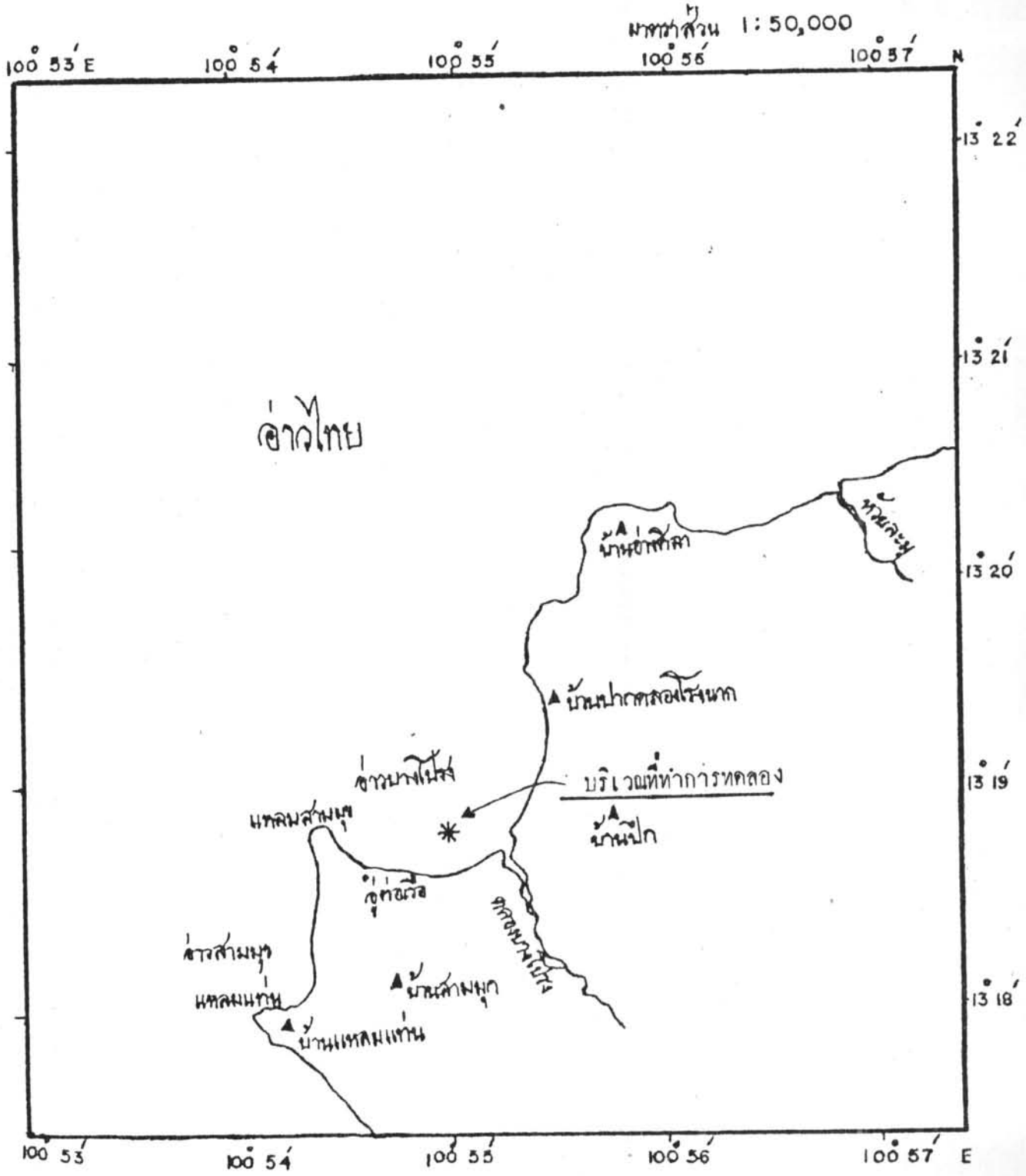
1.1 บริเวณปากคลองโรงนาค อ่าวบางโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี แบ่งเป็น 2 จุดคือ

1.1.1 ร้านไม้สำหรับแขวนวัสดุ ซึ่งวัสดุที่แขวนจะโผล่พ้นน้ำบ้างตามการขึ้นลงของน้ำขนาดของร้านไม้สูงประมาณ 3 เมตร กว้าง 3 เมตร ยาว 6 เมตร เมื่อน้ำขึ้นสูงสุดจะสูงประมาณ 2.3 เมตร เมื่อน้ำลงต่ำสุดน้ำจะแห้งจนถึงพื้นปลูกอยู่ในเขตฟาร์มหอยนางรมของชาวประมงอยู่ห่างจากฝั่งประมาณ 500 เมตร (รูปที่ 7, 8)

1.1.2 หลักเขตฟาร์มหอยนางรม กั้นเขตทางเดินเรือไม่ให้เข้าไปในบริเวณฟาร์มหอยสำหรับแขวนวัสดุซึ่งจะจมอยู่ในน้ำตลอดเวลา อยู่ห่างฝั่งประมาณ 750–800 เมตร



รูปที่ 7 ร้านไม้สำหรับแขวนวัสดุ บริเวณปากคลองโรงนาค อ่าวบางโปรง ตำบลอ่างศิลา



รูปที่ 8 แผนที่แสดงตำแหน่งที่ลงวัสดุบริเวณอ่าวบางโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

1.2 บริเวณชายฝั่งทะเลของสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กิ่งอำเภอเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี แบ่งเป็น 2 จุดคือ

1.2.1 บริเวณสะพานอัษฎางค์หน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เกาะสีชัง ตามไม้ที่ใช้สำหรับแขวนวัสดุอยู่สูงจากพื้นประมาณ 2.8 เมตร น้ำขึ้นสูงสุดประมาณ 2.3 เมตร น้ำลงต่ำสุดลงปริ่ม ๆ พื้นทะเล ในบางวันอยู่ห่างฝั่งประมาณ 100–120 เมตร (รูปที่ 9)

1.2.2 บริเวณกลางทะเลห่างจากฝั่งประมาณ 200 เมตร สำหรับแขวนวัสดุให้จมใต้น้ำตลอดเวลา (รูปที่ 10)

2. ระยะเวลาการทดลองศึกษา

ระยะเวลาในการศึกษาเริ่มตั้งแต่วันที่ 22 กันยายน 2523 ถึงวันที่ 27 กันยายน 2524 รวมเวลา 12 เดือน โดยทำการลงวัสดุและตรวจสอบจำนวนหอยนางรมที่ลงเกาะทุก ๆ เดือน เดือนละ 1 ครั้ง

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การดำเนินงานแบ่งตามวัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ

3.1 การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรมต่อวัสดุต่างชนิดกันในสภาพธรรมชาติ ณ บริเวณต่างกันในรอบปี วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้แบ่งออกได้เป็น 8 ประการด้วยกันคือ

3.1.1 การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างเดือน ในรอบปี

3.1.2 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างวัสดุ 2 ชนิดคือ ซีเมนต์ และแผ่นยาง

รูปที่ 9 สะพานอัษฎางค์บริเวณหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล
และศูนย์ฝึกนิสิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เกาะสีชัง

รูปที่ 10 บริเวณห่างจากฝั่งหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล
และศูนย์ฝึกนิสิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใช้แขวนวัสดุให้จมใต้น้ำ

I 18097428

3.1.3 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างสถานที่คือ อ่าวบางโปรง และเกาะสีชัง

3.1.4 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างวัสดุที่แช่น้ำตลอดเวลา กับวัสดุที่โผล่พ้นน้ำตามอิทธิพลของน้ำขึ้น–น้ำลง

3.1.5 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างความลึกของน้ำ

3.1.6 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในระหว่างด้านบนและด้านล่างของวัสดุ

3.1.7 ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในระหว่างการเจริญเติบโตของแต่ละบริเวณ

3.1.8 ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในระหว่างการเจริญเติบโตของแต่ละความลึกของน้ำ

ในการศึกษาตามวัตถุประสงค์นี้มีอุปกรณ์และวิธีดำเนินการคือ

ถังซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ซึ่งมีราคาถูกเมื่อเทียบราคาต่อพื้นที่ผิว วางแนวตั้งซ้อนกัน 2 ใบ ตามรูปที่ 11 ทั้ง 2 บริเวณคือ อ่าวบางโปรงและเกาะสีชัง โดยวางเดือนละ 2 ใบทุกเดือนจนครบ 12 เดือน ทำการตรวจสอบจำนวนหอยนางรมที่ลงเกาะแต่ละเดือน โดยสุ่มตัวอย่างนับในพื้นที่ 20 × 30 เซนติเมตร ด้านนอก 2 ครั้ง ด้านใน 2 ครั้งทุกเดือน

ยางนอกรถยนต์ที่ไม่ใช้แล้วนำกลับมาใช้ประโยชน์อีก โดยตัดเป็นแผ่นขนาด 20 × 30 เซนติเมตร เจาะรู 2 ข้าง ร้อยเป็นชุด ชุดละ 8 แผ่น (รูปที่ 12) ให้ด้านเรียบ (ด้านในของยางรถยนต์) อยู่ด้านล่าง ด้านขรุขระ (ด้านนอกของยางรถยนต์) อยู่ด้านบน แต่ละแผ่นอยู่ห่างกัน 15 เซนติเมตร นำไปแขวน ณ บริเวณที่ทำการศึกษาทั้ง 4 จุด โดยแขวนยางในช่วง

รูปที่ 11 ถังซีเมนต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร วางซ้อนกัน 2 ใบ

รูปที่ 12 ยางนอกรถยนต์ตัดเป็นแผ่นขนาด 20 x 30 เซนติเมตร ร้อยเป็นชุด ๆ ละ 8 แผ่น

เวลาเดียวกับที่วางถังซีเมนต์ที่อ่าวบางโปรงจะมีแผ่นยางที่แขวนร้านไม้โผล่พ้นน้ำ ตามการขึ้นลงของน้ำทะเลและแขวนกับทุ่นจะจมใต้น้ำตลอดเวลา ทางฝั่งเกาะสีชังก็แขวนในทำนองเดียวกัน

การแขวนแผ่นยางที่ร้านไม้อ่าวบางโปรงและเกาะสีชัง ให้แผ่นล่างสูง จากพื้น 15 เซนติเมตร เนื่องจากแผ่นยางร้อยให้ห่างกันแผ่นละ 15 เซนติเมตร แผ่นถัดขึ้นมาจะสูงจากพื้น 30 เซนติเมตร ตามลำดับดังนั้นแผ่นยางบนสุดจะสูงจากพื้นดิน 120 เซนติเมตร

ทำการตรวจสอบวัสดุทั้ง 4 จุดที่ทำการศึกษา ในแผ่นยางทุกแผ่นตามระดับความลึกของน้ำ ทั้งด้านบนและด้านล่างทุกเดือน เช่นลงวัสดุครั้งแรกเมื่อ 22 กันยายน 2523 ทำการตรวจจำนวนลูกหอยนางรมที่ลงเกาะครั้งแรกเมื่อ 22 ตุลาคม 2523 พร้อมกันลงวัสดุใหม่ครั้งที่สองพร้อมกันไปด้วย ช่วงเวลาที่วัสดุแช่น้ำก่อนการนับแต่ละครั้งเป็นเวลา 1 เดือน

เมื่อครบ 12 เดือน ทำการวัดขนาดของหอยนางรม โดยวัดความสูงและความกว้างสุ่มตัวอย่างในพื้น 20 30 เซนติเมตร วัด 10 ตัว เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหอยนางรมในแต่ละบริเวณและในแต่ละความลึก

3.2 <u>การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรมบนวัสดุต่างชนิดกัน 5 ชนิด</u>

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้แบ่งออกเป็น 3 ประการคือ

3.2.1 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรม โดยดูความแตกต่างในวัสดุ 5 ชนิดคือ ยาง, พีวีซี, กระเบื้องแผ่นเรียบ, เปลือกหอยตะโกรม (<u>C. lugubris</u>) และเปลือกหอยแฉลบ (<u>Placuna sp.</u>)

3.2.2 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรมบนวัสดุ 5 ชนิด โดยดูความแตกต่างในระหว่างสถานที่คือ อ่าวบางโปรง และเกาะสีชัง

3.2.3 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรมบนวัสดุ 5 ชนิด โดยดูความแตกต่างในระหว่างด้านบนและด้านล่าง

ในการศึกษาตามวัตถุประสงค์นี้มีอุปกรณ์และวิธีดำเนินการคือ วัสดุ 5 ชนิด

ชนิดวัสดุ	ขนาด
ยาง	20 × 30 เซนติเมตร
พีวีซี	20 × 30 เซนติเมตร
กระเบื้องแผ่นเรียบ	20 × 30 เซนติเมตร
เปลือกหอยตะโกรม (C. lugubris)	เฉลี่ยกว้าง 8.15 ซม., สูง 10.8 ซม., เส้นรอบวง 30 ซม.
เปลือกหอยแฉลบ (Placuna sp.)	เฉลี่ยกว้าง 12.9 ซม., สูง 11.1 ซม., เส้นรอบวง 37.4 ซม.

เปลือกหอยตะโกรมและเปลือกหอยแฉลบเลือกที่ขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันใช้อย่างละ 8 แผ่น ร้อยห่างกัน 15 เซนติเมตร

วางและแขวนวัสดุ 5 ชนิด 2 บริเวณคือ อ่าวบางโปรง และเกาะสีชัง โดยแขวนในเวลาเดียวกันทั้ง 2 บริเวณ เริ่มแขวนตั้งแต่ 25 กรกฎาคม 2524 ถึง 22 กันยายน 2524 โดยเปลี่ยนวัสดุใหม่เมื่อครบ 1 เดือน และนำวัสดุที่แช่ในน้ำครบ 1 เดือนขึ้นมาตรวจสอบจำนวนลูกหอยนางรมที่ลงเกาะ ทุกแผ่นในทุกวัสดุทั้งด้านบนและด้านล่าง

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเกาะของหอยนางรมต่อวัสดุต่างชนิดกันในห้องปฏิบัติการ

1. สถานที่

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการทดลองศึกษาคือ แผนกวิจัยและทดลองเพาะเลี้ยงหอยนางรมวัยอ่อน บริษัท ศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จำกัด (Aqua-seeds research center Co. Ltd) 81/2 หมู่ 4 ตำบลตะพง อำเภอเมือง จังหวัดระยอง

2. ระยะเวลาการทดลองศึกษา

เริ่มทดลองเพาะเลี้ยงและศึกษาตั้งแต่ 22 มิถุนายน 2524 ถึง 4 พฤศจิกายน 2524

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

3.1 การกระตุ้น (induced) ให้หอยนางรมปล่อยไข่ (egg) และน้ำเชื้อ (sperm)

นำหอยนางรม C. commercialis มาตรวจดูความสมบูรณ์ของอวัยวะสร้างเซลสืบพันธุ์ (gonad) โดยเปิดฝาออกดูความสมบูรณ์ของหอย ถ้ามีความสมบูรณ์ดีจะอ้วนเนื้อตึงไปด้วยของเหลวสีขาวครีม ถ้าหอยนางรมนั้นผอมเนื้อลีบแสดงว่าปล่อยไข่หรือน้ำเชื้อไปแล้วไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เพาะฟัก เจาะเอาของเหลวสีขาวครีมมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 x 40

ถ้าอวัยวะสร้างเซลสืบพันธุ์สร้างน้ำเชื้อ จะเห็นตัวอสุจิขนาดเล็กมากว่ายน้ำเคลื่อนไหวไปมา ถ้าตัวอสุจิแข็งแรงจะว่ายน้ำรวดเร็วมาก ถ้าอวัยวะสร้างเซลสืบพันธุ์สร้างไข่จะเห็นไข่เป็นรูปร่างค่อนข้างรี แต่ไข่ที่ดีมีอัตราการเพาะฟักสูงจะมีรูปร่างค่อนข้างกลม หอยนางรมที่มีตัวอสุจิว่ายน้ำแข็งแรงและไข่รูปร่างกลม เหมาะสมที่จะนำมาทำการกระตุ้นรูปที่ 13 พ่อ-แม่พันธุ์หอยนางรมที่ใช้ในการทดลอง

นำหอยนางรมที่สมบูรณ์มาทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งมีชีวิตที่ดำรงชีพแบบเกาะติด โคลนและตะกอนต่าง ๆ ที่เกาะตามเปลือกนอกออกใส่ไว้ในอ่างสำหรับทำการกระตุ้น เป็นอ่างกลมขนาดจุ 10 dm^3 ประมาณ 20–30 ตัว ใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว ความเค็มเท่ากับ 25×10^{-3} อุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องประมาณ 25–28 องศาเซลเซียส พักไว้ประมาณ 1 วัน ทำการเปลี่ยนน้ำและทำการกระตุ้นต่อไป

วิธีการกระตุ้นใช้ 2 วิธีคือ

1. การใช้น้ำเชื้อในการกระตุ้น

ใช้น้ำเชื้อจากหอยนางรมที่สมบูรณ์ นำมาละลายในน้ำทะเลที่ต้มแล้ว บรรจุในภาชนะบีคเกอร์ที่อบฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 80 °ซ ค่อย ๆ รินลงในอ่างสำหรับทำการกระตุ้นที่มีพ่อแม่พันธุ์ของหอยนางรมอยู่ทิ้งไว้สักครู่ภายใน 15–30 นาที หอยนางรมที่สมบูรณ์จะออกไข่และน้ำเชื้อ

2. การใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันของน้ำในการกระตุ้น

ตอนเปลี่ยนน้ำให้ใช้น้ำที่มีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิของน้ำเค็มประมาณ 4–5 °ซ ภายใน 20–40 นาที หอยนางรมที่สมบูรณ์จะออกไข่และน้ำเชื้อ

3.2 <u>การเพาะฟัก</u>

ไข่ที่ถูกผสมแล้วจะมีลักษณะกลมและมี Polar bodies เกิดขึ้นทำการกรองไข่โดยกรองผ่านผ้ากรองแพลงค์ตอนเบอร์ 120 T (ช่องขนาด 83 µ) ลงบนผ้ากรองเบอร์ 180T (ช่องขนาด 56 µ) แล้วล้างด้วยน้ำทะเลที่ต้มแล้ว ล้างเพื่อกำจัดน้ำเชื้อที่เหลือทิ้ง ไข่จะติดบนผ้ากรอง 180 T ส่วนเศษผงหรือสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ พวกแพลงค์ตอนสัตว์ที่ขนาดใหญ่กว่า 80 µ จะติดบนผ้ากรองเบอร์ 120 T นำไข่ที่กรองได้นำไปใส่ในอ่างสำหรับเพาะฟัก

อ่างสำหรับเพาะฟักเป็นอ่างกลมพลาสติกขนาดจุ 10 dm^3 ต้องทำความสะอาดโดยการลวกด้วยน้ำเดือด ทิ้งให้เย็นและเติมน้ำทะเลต้มลงไปประมาณ 8–9 dm^3 ใส่ไข่ที่กรองลงไปให้ความหนาแน่นประมาณ 50 ตัว/ml อ่างสำหรับเพาะฟักอาจมีมาก 8–12 อ่างตามจำนวนไข่ที่ออก

หลังจากนั้นภายใน 5 ชั่วโมง ไข่ที่ถูกผสมแล้วจะพัฒนาการเป็นตัวอ่อนระยะ Trochophore ว่ายน้ำเคลื่อนไหวได้ ทำการกรองด้วยผ้ากรองเบอร์ 120 T และ 180 T ล้างด้วยน้ำทะเลต้มย้ายลงเลี้ยงในถังเลี้ยง

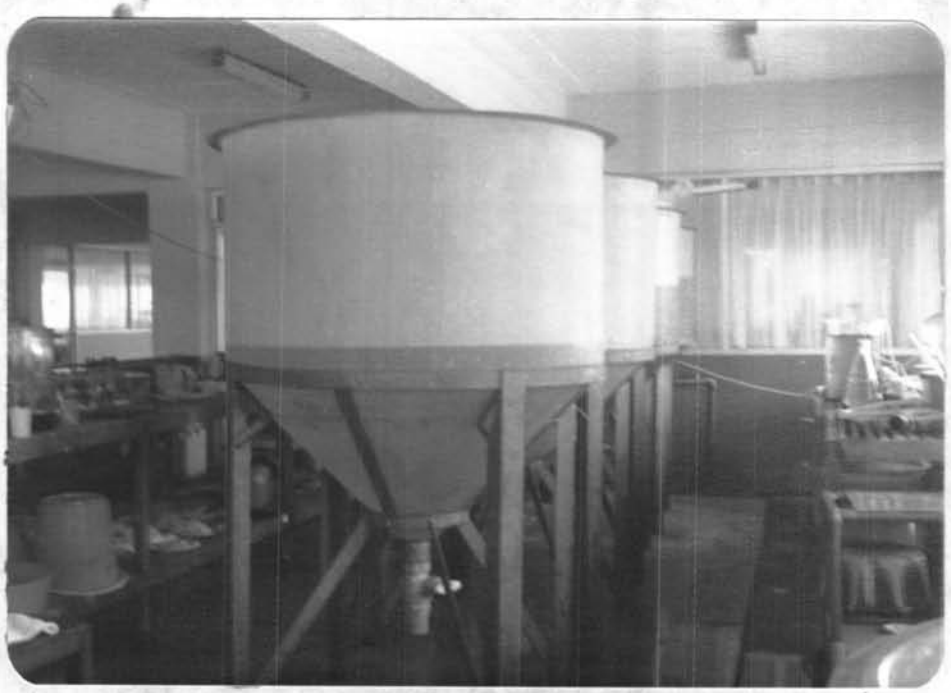
3.3 <u>การอนุบาล</u>

ถังเลี้ยงเป็นถังรูปกรวยขนาดจุ 1 ตัน (ตามรูปที่ 14) ทำความสะอาดด้วยคลอรอกซ์ (Chlorox) ความเข้มข้น 10 ส่วนในล้านส่วน เพื่อฆ่าสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อาจเป็นอันตรายต่อตัวอ่อนล้างและลวกด้วยน้ำเดือด เติมน้ำทะเลต้มลงไปประมาณ 700 dm^3 ให้อากาศจากเครื่องเป่าที่ก้นถังอัตราปล่อยประมาณ 10 ตัว/ml

หลังจากนั้นอีก 12 ชั่วโมง ตรวจดูตัวอ่อนจะวิวัฒนาการไปเป็นตัวอ่อนระยะ straight-hinge หรือที่เรียกว่าตัวอ่อนระยะ D-shaped ถ้ายังก็รอไปอีก 12–24 ชั่วโมง ถ้ายังไม่มีวิวัฒนาการแสดงว่าตัวอ่อนรุ่นนี้ใช้ไม่ได้ ต้องทิ้งและเริ่มใหม่ หรือมีวิวัฒนาการเป็นระยะ D-shaped แต่ผิดปกติมากคือสร้างเปลือกขึ้นไม่สมบูรณ์ บิดเบี้ยวก็ใช้ไม่ได้ต้องทิ้งเช่นกัน

เมื่อตัวอ่อนอยู่ในระยะ D-shaped ทำการกรองผ่านผ้ากรองเบอร์ 68 T, 120T, 180T เพื่อคัดขนาดตัวอ่อน เตรียมน้ำในถังเลี้ยงโดยเริ่มให้อาหารคือสาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates เปลี่ยนน้ำ 2 วันครั้ง

รูปที่ 13 พ่อ–แม่พันธุ์หอยนางรมชนิดปากจีบ C. commercialis ที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 14 ถังอนุบาลลูกหอยนางรมวัยอ่อน ขนาดจุ 1 ตัน

3.4 การเตรียมอาหารสาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates สำหรับลูกหอย

สาหร่ายเซลล์เดียวที่ใช้มี 4 ชนิดคือ

3.4.1 Dunalialla sp.

3.4.2 Tetraselmis sp.

3.4.3 Clamydomonas sp.

3.4.4 Isochrysis galbana

ชนิดที่ 1–3 ใช้ปุ๋ยของ Sato et. al (1968)เลี้ยง ส่วน Isochrysis galbana ใช้สูตรของ Walne (1979)

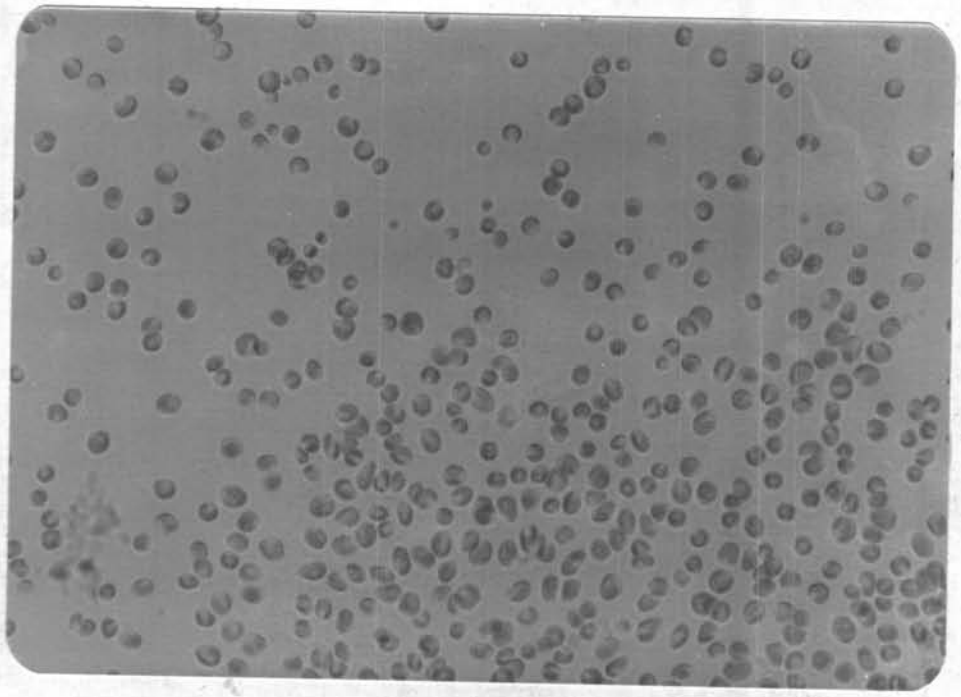
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates ในห้องปฏิบัติการใช้วิธีเพาะบนจานวุ้นและขยายต่อในหลอดแก้ว เก็บเป็นพันธุ์ที่บริสุทธิ์ตามวิธีของ สุนีย์ สุวภีพันธ์ (2523) จากนั้นนำมาขยายต่อในขวดปากแคบ (conical flask) ขนาด 20 ml, 200 ml, และโหลขนาด 10 dm^3 ตามลำดับ อุปกรณ์ทุกอย่างต้องผ่านการอบที่อุณหภูมิ 80°ซ ประมาณ 1 ชั่วโมง

เมื่อจะนำสาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates มาใช้ในการเพาะเลี้ยงต้องขยายลงในถังกลมทำด้วยไฟเบอร์กลาส (fiberglass) ขนาดจุ 500 dm^3 (รูปที่ 15) 8–10 ถัง น้ำที่ใช้ขยายพันธุ์สาหร่ายเซลล์เดียวต้องเป็นน้ำทะเลต้ม ถังต้องทำความสะอาดด้วยคลอรีนและล้างน้ำเดือดก่อนใช้ทุกครั้ง อาหารที่ขยายจะเขียวเข้มภายใน 2–3 วัน จึงนำมาใช้เลี้ยงลูกหอยได้

3.5 การเลี้ยงลูกหอยนางรมวัยอ่อนตั้งแต่ระยะ D-shaped จนถึง eyed larvae

ลูกหอยในถังเลี้ยงเริ่มกินอาหารเมื่อเข้าสู่ระยะ D-shaped อาหารที่ให้ระยะนี้คือ Isochrysis galbana 50,000 cell/ml คอยตรวจดูความเข้มข้นของอาหารด้วยสไลด์สำหรับนับเม็ดเลือดแดง (Hemacytometer) ถ้าอาหารลดน้อยลงก็ให้เพิ่ม (รูปที่ 16)

รูปที่ 15 ถังเพาะสาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับลูกหอยนางรมวัยอ่อน



รูปที่ 16 สาหร่ายเซลล์เดียวพวก Dinoflagellates ชนิด Isochrysis galbana ที่เพาะเป็นอาหารสำหรับลูกหอยนางรมวัยอ่อน

เมื่อกรองติดผ้ากรองเบอร์ 68 T (ช่องขนาด 142 µm) เริ่มให้อาหารผสมคือ

Tetraselmis sp. 5,000 cell/ml

Dunaliella sp. 10,000 cell/ml

Chlamydomonas sp. 10,000 cell/ml

Isochrysis galbana 50,000 cell/ml

ช่วงนี้เติมยาปฏิชีวนะคือ Oxytetracyclin ความเข้มข้น 5,000 ppm เพื่อลดปัญหาเรื่องแบคทีเรียที่จะทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ในลูกหอยนางรมที่เลี้ยงและยังมีปัญหาเรื่องโปรตัวชัวจำพวก Celiated ลงทำอันตรายแก่ลูกหอย ถ้าโปรตัวชัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นแล้วทำให้ลูกหอยตายไป จึงต้องทำการเลี้ยงรุ่นอื่น ๆ ทดแทนกันอยู่เสมอ

อายุลูกหอยได้ 10 วัน เริ่มใช้ผ้ากรองเบอร์ 59 T เพิ่มเติมจาก 68 T, 120 T

อายุ 14 วัน คัดขนาดโดยใช้ผ้ากรองเบอร์ 48 T, 59 T, 68 T และ 120 T

อายุ 16 วัน คัดขนาดเหมือนวันที่ 14

อายุ 18 วัน คัดขนาดโดยใช้ผ้ากรองเบอร์ 36 T, 48 T, 59 T , 68 T และ 120 T ช่วงนี้พวกที่ยังไม่โต ติดแค่ 120T ทิ้งได้เพราะโตช้ามาก

อายุ 20 วัน ปฏิบัติเหมือนวันที่ 18

อายุ 22 วัน คัดขนาดโดยใช้ผ้ากรองเบอร์ 32 T, 36 T, 48 T, 59 T, และ 68 T

อายุ 24 วัน ปฏิบัติเหมือนวันที่ 22

อายุ 26 วัน คัดขนาดโดยใช้ผ้ากรองที่ขนาดช่องใหญ่กว่าเบอร์ 32 T, 32 T, 36 T, 59 T, และ 68 T ตอนนี้พวกที่ติด 32 T, และ 36 T, จะมีขนาดประมาณ 280 x 300 µm เป็นลูกหอยระยะ eyed larvae คัดเอาพวกนี้ใส่ในถังสำหรับลงเกาะ

อายุ 28–34 วัน คัดลูกหอยที่กรองติดผ้ากรองเบอร์ 32 T และ 36 T ใส่ในถังสำหรับเกาะ

3.6 การทดลองให้ลูกหอยระยะ eyed larvae ลงเกาะบนวัสดุต่างชนิดในห้องปฏิบัติการ

ถังสำหรับให้ลูกหอยลงเกาะ เป็นถังสี่เหลี่ยมขนาดลึก 35 ซม. กว้าง 90 ซม. ยาว 150 ซม. จุน้ำ 600 dm^3 ทำความสะอาดด้วยคลอรีนซ์ใส่น้ำทะเลที่กรองแล้วประมาณ 400 dm^3

วัสดุ 11 ชนิดที่ใช้ในการทดลองคือ

1. แผ่นซีเมนต์
2. แผ่นยางนอกรถยนต์
3. แผ่นพีวีซี
4. กระเบื้องแผ่นเรียบ
5. เปลือกหอยตะโกรม (C. lugubris)
6. เปลือกหอยแฉลบ (Placuna sp.)
7. เปลือกหอยนางรม (C. commercialis)
8. แผ่นกระเบื้องยาง
9. แผ่นกระเบื้องโมเสส
10. ถุงพลาสติกขึงตึง
11. พลาสติกใสอย่างอ่อน

วัสดุทุกชนิดตัดเป็นแผ่นขนาด 10 x 10 เซนติเมตร อย่างละ 4 แผ่น 3 แผ่นสำหรับการทดลอง 1 แผ่นสำหรับตรวจดูเพื่อจะได้ไม่ไปรบกวนแผ่นวัสดุที่ทดลอง วัสดุทุกชนิดแช่ในน้ำทะเลไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลานานประมาณ 3 เดือน โดยทำการเปลี่ยนน้ำเป็นครั้งคราว

ในการทดลองแขวนวัสดุ 11 ชนิด ๆ ละ 3 แผ่น รวม 36 แผ่น แบบสุ่มวัสดุทุกอันห่างจากก้นถังประมาณ 2 นิ้ว ทำการเปลี่ยนน้ำ 2 วันครั้ง พร้อมทั้งให้อาหารและยาปฏิชีวนะตามที่เคยเลี้ยง ความหนาแน่นของลูกหอย 20 ตัว /ml

ทำการเลี้ยงจนลูกหอยระยะ eyed larvae เริ่มลงเกาะเป็นลูกหอยนางรมวัยเกล็ด (spat) เมื่อลงเกาะหมดแล้วทำกรองน้ำแล้วไม่พบลูกหอยระยะ eyed larvae อีก และขนาดลูกหอยนางรมวัยเกล็ดบนวัสดุเริ่มมีขนาดโตมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงเริ่มทำการนับลูกหอยที่ลงเกาะบนวัสดุแต่ละชนิดนับทั้งด้านบนและด้านล่าง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของ สมชาย สุพันธุ์วณิช (2518) จรัญ จันทลักขณา (2523) และ Snedecor and Cochsan (1967) ดังนี้

1. การหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูล

ก. ความถดถอยเชิงเส้นหรือความสัมพันธ์แบบเส้นตรง (Linear Regression หรือ Linear retationship) ของ 2 ข้อมูล เทอมทั่วไปของสมการถดถอย (Regression Equation) คือ

$$y = a + bx$$

a เป็นระยะทางระหว่างแกน x และจุดที่ตัดแกน y (intercept) เป็นค่า slope หรือ regression coefficient หรือค่าที่ y จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อค่า x เปลี่ยนแปลงไปตามหน่วย 1 หน่วย

x เป็นความกว้างของหอยนางรม หน่วยเป็นมิลลิเมตร

y เป็นความสูงของหอยนางรม หน่วยเป็นมิลลิเมตร

ค่า $b = \dfrac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$

และ $a = \bar{y} - b\bar{x}$

เมื่อ $\bar{y} = \dfrac{\Sigma y}{n}$

และ $\bar{x} = \dfrac{\Sigma x}{n}$

ข. การทดสอบหานัยสำคัญของเส้นตรง (Test of significant)

สัมประสิทธิ์ของสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ซึ่งเป็นค่าสถิติที่บ่งบอกถึงความสัมพันธ์ (association) ระหว่างค่าแปรเปลี่ยน 2 ชุด

$$r = \frac{n \Sigma xy - (\Sigma x)(\Sigma y)}{\sqrt{[n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2][n\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

การทดสอบหานัยสำคัญของ regression coefficient

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2/n - [\Sigma xy - (\Sigma x)(\Sigma y)/n]^2/[\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n]}{n-2}}$$

S_b เป็นความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของตัวอย่าง (standard deviation from regression coefficient)

$$S_b = S_{yx} \Big/ \sqrt{\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n}$$

ดังนั้น $t = b/Sb;\ df = n-2$

2. งานทดลองของแฟกตอเรียลที่มี 2 แฟคเตอร์ (factor)

ประกอบด้วยแฟคเตอร์หรือทรีทเมนต์ 2 ชนิด และแฟคเตอร์มี n ระดับ (level) เช่นการเปรียบเทียบอัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนวัสดุ 11 ชนิด ทั้งด้านบนและด้านล่างในห้องปฏิบัติการ

ด้านบนด้านล่างเป็นแฟคเตอร์ A, A มี 2 ระดับคือ a_1 และ a_2

a_1 คือ ด้านล่างของวัสดุ

a_2 คือ ด้านบนของวัสดุ

ส่วนชนิดของวัสดุเป็นแฟคเตอร์ B, B มี 11 ชนิด คือ b_1, b_2, b_3,.....b_{11}

a จำนวนระดับของแฟคเตอร์ A

b จำนวนระดับของแฟคเตอร์ B

r จำนวนซ้ำในหน่วยทดลอง

การวิเคราะห์วาเรียนซ์ 2 x 2แฟกตอเรียล

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean Square
Treatment	(ab-1)	$\Sigma T^2ij/r - Cm$	
A	a-1	$\Sigma Ti^2/br - (\Sigma yijk)^2/abr = SSA$	SSA/a-1
B	b-1	$\Sigma T^2j/ar - (\Sigma yijk)^2/abr = SSB$	SSB/b-1
Interaction AB	(a-1)(b-1)	$\Sigma T^2ij/r - Cm - SSA - SSB = SSAB$	SSAB/(a-1)(b-1)
error	ab (r-1)	SSR = SST-SSAB-SSA-SSB	SSR/ab (r-1)
Total	abr-1	$SST = \Sigma y^2ijk - Cm$	

$$Cm = (\Sigma yijk)^2/abr$$

3. งานทดลองแฟกตอเรียลที่มี 3 แฟคเตอร์

ประกอบด้วยแฟคเตอร์หรือทรีทเมนต์ 3 ชนิด แต่ละแฟคเตอร์จะมี n ระดับ (level) เช่น การเปรียบเทียบอัตราการเกาะของลูกหอยนางรมในระหว่างเดือน แต่ละระดับความลึกด้านล่างด้านบนของวัสดุ

แฟกเตอร์ A คือเดือนมีจำนวน a ระดับ
แฟกเตอร์ B คือระดับความลึกของน้ำมี b ระดับ
แฟกเตอร์ C คือด้านล่างด้านบนมี c ระดับ เป็นต้น

การจัดแจง (arrangment) งานทดลองนี้จะได้ a x b x c treatment combination ในการศึกษาแต่ละ treatment combination จะมี r ซ้ำ จึงมีตัวแทนทั้งหมดจำนวน a x b x c x r

3 X 3 แฟกตอเรียล การวิเคราะห์วาเรียนซ์

Source of Variations	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square
Total	abcr - 1	$\Sigma\Sigma x^2_{ijk} - Cm$	SST/abcr-1
Replication	r - 1	$\Sigma x^2_j/abc - Cm$	SS Replication/r-1
Treatment	abc - 1	$\Sigma x^2_{aibjck}/r-Cm$	SS treatment/abc-1
A	a - 1	$\Sigma x^2_{ai}/rbc-Cm$	SSA/(a-1)
B	b - 1	$\Sigma x^2_{bj}/rac-Cm$	SSB/(b-1)
C	c -1	$\Sigma x^2_{ck}/rab-Cm$	SSC/(c-1)
AB	(a-1)(b-1)	$\Sigma x^2_{a_i b_j}/rc-Cm=SSA-SSB$	SSAB/(a-1)(B-1)
BC	(b-1)(c-1)	$\Sigma x^2_{bjck}/ra-Cm-SSB-SSC$	SSBC/(b-1)(c-1)
AC	(a-1)(c-1)	$\Sigma x^2_{aiek}/rb-Cm-SSA-SSC$	SSAC/(a-1)(c-1)
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	SS treatment-(A+B+C+AB+BC+AC)SS	SSABC/(a-1)(b-1)(c-1)
Error	abc-1	SS Total-SS treatment-SS Replication	

$$Cm = (\Sigma x_{ijk})^2/abcr$$

4. งานทดลองแฟกตอเรียลเมื่อจำนวนตัวแทนไม่เท่ากัน

ในการเปรียบเทียบอัตราการเกาะของลูกหอยนางรมในสภาพธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการ ไม่สามารถใช้จำนวนตัวแทนเท่ากันได้ จึงใช้วิเคราะห์แบบ unweighted mean analysis โดยใช้งานทดลองแบบ 2 x 5 แฟกตอเรียล

แฟคเตอร์ A คือการทดลองแต่ละสถานที่มี 2 ระดับคือ

a_1 การทดลองอัตราการเกาะในสภาพธรรมชาติ

a_2 การทดลองอัตราการเกาะในสภาพห้องปฏิบัติการ

แฟคเตอร์ B คือวัสดุที่ใช้ทดลองเปรียบเทียบมี 5 ชนิด

b_1 คืออัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนแผ่นยางรถยนต์

b_2 คืออัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนแผ่นพีวีซี

b_3 คืออัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนกระเบื้องแผ่นเรียบ

b_4 คืออัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนเปลือกหอยตะโกรม

b_5 คืออัตราการเกาะของลูกหอยนางรมบนเปลือกหอยแฉลบ

โดยที่จำนวนค่าสังเกตในแต่ละ treatment combination ปรากฏดังตารางข้างล่าง

	b1	b2	b3	b4	b5
a1	n11	n12	n13	n14	n15
a2	n_{21}	n22	n23	n24	n25

เฉลี่ยฮาร์โมนิกของจำนวนค่าสังเกตต่อช่วงดังนี้

$$\bar{n}_h = \frac{pq}{(1/n_{11}) + (1/n_{12}) + \ldots + (1/n_{pq})}$$

เมื่อ p = จำนวนระดับของแฟคเตอร์ A

q = จำนวนระดับของแฟคเตอร์ B

ค่าเฉลี่ยของ a_1

$$\bar{A}_1 = \frac{\sum_j \bar{A}\bar{B}ij}{q}$$

ค่าเฉลี่ยของ b_1

$$\bar{B}_1 = \frac{\sum_i \bar{A}\bar{B}ij}{p}$$

ค่าเฉลี่ยทั้งหมด

$$\bar{G} = \frac{\sum_i \bar{A}_i}{p}$$

$$= \frac{\sum_j \bar{B}j}{q}$$

$$= \frac{\sum_{ij} \bar{A}\bar{B}_{ij}}{pq}$$

ตารางวิเคราะห์วาเรียนซ์

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square
A	(a-1)	$\bar{n}_h \; q \; \sum (\bar{A}_i - \bar{G})^2$	$SS_A / (a-1)$
B	(b-1)	$\bar{n}_h \; p \; \sum (\bar{B}_j - \bar{G})^2$	$SS_B/(b-1)$
AB	(a-1)(b-1)	$\bar{n}_h \quad \sum (\bar{AB}_{ij} - \bar{A}_i - \bar{B}_j + \bar{G})^2$	SSAB/(a-1)(b-1)
Within	$(\sum_{ij} n_{ij}) - pq$	$\sum_{ij} SS\ (ij)$	$SSwithin/(\sum_{ij} n_{ij}) - pq$