

II. อุปกรณ์และวิธีการ
(MATERIALS AND METHODS)



2.1 สถานที่ทำการวิจัย

การดำเนินงานส่วนใหญ่ทำที่ชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยสัตว์ทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี เพราะสะดวกในการศึกษา

2.1.1 สภาพทั่วไปของสถานที่ทำการศึกษา เป็นหาดเลนปนทราย มีขนาดประมาณ 100 x 40 ตารางเมตร มีโขดหินบ้างเล็กน้อย (ดูภาพที่ 1A, B หน้า 6) อยู่ในช่วงน้ำขึ้นน้ำลง เวล่าน้ำลงต่ำสุดระหว่างฤดูร้อนในเดือนมีนาคม ถึง กรกฎาคม ชายหาดจะแห้งอยู่ในระยะห่างจากฝั่งประมาณ $\frac{1}{2}$ กิโลเมตร และแห้งอยู่นานประมาณ 4-6 ชั่วโมง หอยที่เก็บมาศึกษาส่วนใหญ่เกาะอยู่ทั่วไปตามโขดหิน

ในส่วนที่เป็นนาหอยนางรม (ดูภาพที่ 2A, B หน้า 7) ซึ่งอยู่ในระดับกลางของหาด (Mid-intertidal zone) สภาพเป็นหินเรียงเป็นแนวโดยตลอด ซึ่งชาวประมงนำมาวางไว้ (ตอยจากโขดหินใหญ่ ๆ บริเวณนั้น) เพื่อล่อให้หอยนางรมมาจับก่อนหินแต่ละก้อนมีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์ฟุต วางซ้อน ๆ กันบนไม้เนื้อแข็ง เพื่อกันมิให้หินจมเลน และป้องกันเลนที่จะมาปกคลุมตัวหอยนางรมที่เกาะอาศัย

2.1.2 การสุ่มตัวอย่าง ใช้การเก็บสุ่มตัวอย่างโดยเลือกสถานที่ต่าง ๆ เช่นในหอยทะเลจะเก็บตามโขดหินที่อยู่ในสภาพปกติโดยธรรมชาติ และที่อยู่ตามกองหินในนาหอยนางรม (ทั้งที่เก่าและใหม่ ภาพที่ 2 หน้า 7) สำหรับในพวกหอยนางรม เก็บเฉพาะเปลือกที่ถูกเจาะทำลายโดยหอยทะเล โดยเก็บทุกระยะ 5 เมตรจากชายฝั่งลงไปจนสุดนาหอยนางรม โดยแบ่งออกเป็น 3 แนว ๆ ละ 5 จุด (ดูภาพ 2A หน้า 7) ระยะหนึ่ง ๆ ทำการเก็บตัวอย่างภายในพื้นที่ 1 ตารางเมตร

2.1.3 การทำเครื่องหมายปล่อย-จับ เพื่อศึกษาการย้ายที่ของหอยทะเลจะ เก็บหอยทะเลมาทั้งสิ้น 132 ตัวอย่าง เช็ดเปลือกให้แห้ง และใช้สีน้ำมัน (ตราอุตสาหกรรมเนอรัฟอควอร์ เพื่อทำให้แห้งไว) ทาบนยอดเปลือก (spire) แต่ละการทดลองใช้สีต่างกัน เมื่อสีแห้งดีแล้ว (ประมาณ 30 นาที) ก็นำหอยไปปล่อยที่จุดกำหนดไว้ จุด คือ บริเวณหลักหิน (ดูภาพ 1A หน้า 6) แล้วติดตามการเคลื่อนไหวทุก ๆ สัปดาห์ เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ พร้อมกันทำแผนที่ไว้เพื่อศึกษาทิศทางของการเคลื่อนกระจาย



ภาพที่ 1 บริเวณที่ทำการศึกษ

A. บริเวณหาดทรายมีโขดหินหลักหินในภาพเป็นจุดที่ทำการศึกษการเคลื่อน
กระจายของหอยกระแจะ (ภาพถ่ายขณะน้ำลง)

B. โขดหินในบริเวณ A มองในระยะไกลมีพวกเพรียงหิน หอยนางรมและ
หอยกระแจะเกาะอยู่



ภาพที่ 2 บริเวณที่ทำการศึกษา

- A. บริเวณนาหอยนางรมเก่าเห็นแนวหินที่ชาวบ้านนำมาวางเรียงไว้
แนวหิน 1,2,3 เป็นแนวที่ใช้สูบน้ำอย่างหอยกระแจะ (ภาพถ่ายขณะน้ำ
กำลังลง)
- B. บริเวณนาหอยนางรมใหม่ กองหินวางเรียงบนดอนไม้ ซึ่งชาวบ้านขนมา
ในทากชายเลน (เดิมไม่มีหินอยู่เลย) (ภาพถ่ายขณะน้ำกำลังลง)

2.2 การศึกษาลักษณะของหอย

ศึกษาลักษณะโดยทั่วไปของหอยกระแจะที่เก็บ ส่วนใหญ่เป็นลักษณะของเปลือก และเปรียบเทียบ หอยกระแจะและชนิดอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกัน

2.2.1 การศึกษาลักษณะเปลือก วัดขนาดของเปลือกหอย ความสูง (Height) และความกว้าง (Width or Diameter) ด้วยเวอร์เนียเป็น ซม. แล้วนำมาเปรียบเทียบ อัตราส่วน ขณะเดียวกันก็ศึกษาลักษณะผิว (texture) ของเปลือกและสัตว์ต่าง ๆ ที่ชอบเกาะอาศัย

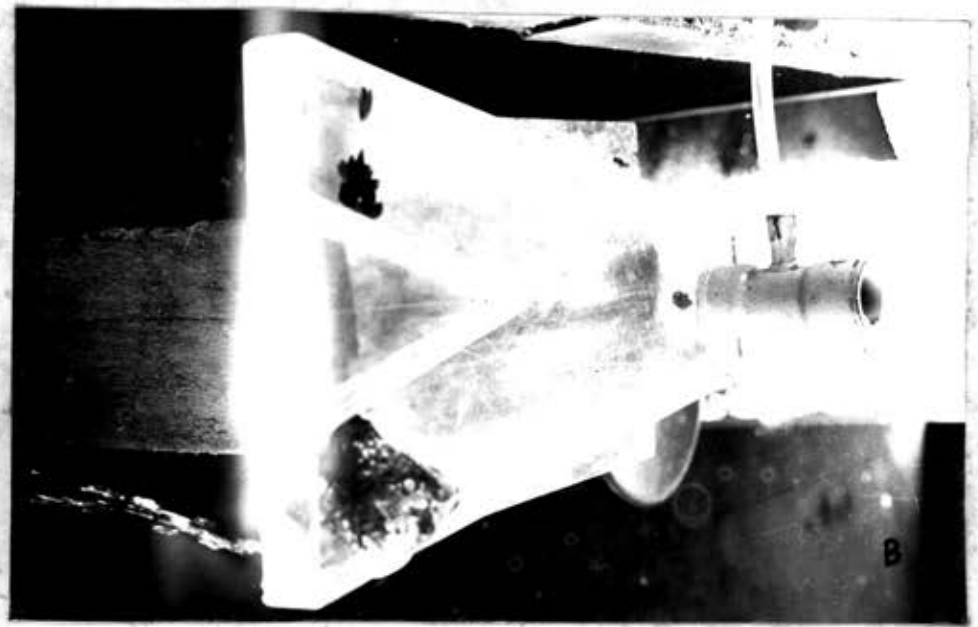
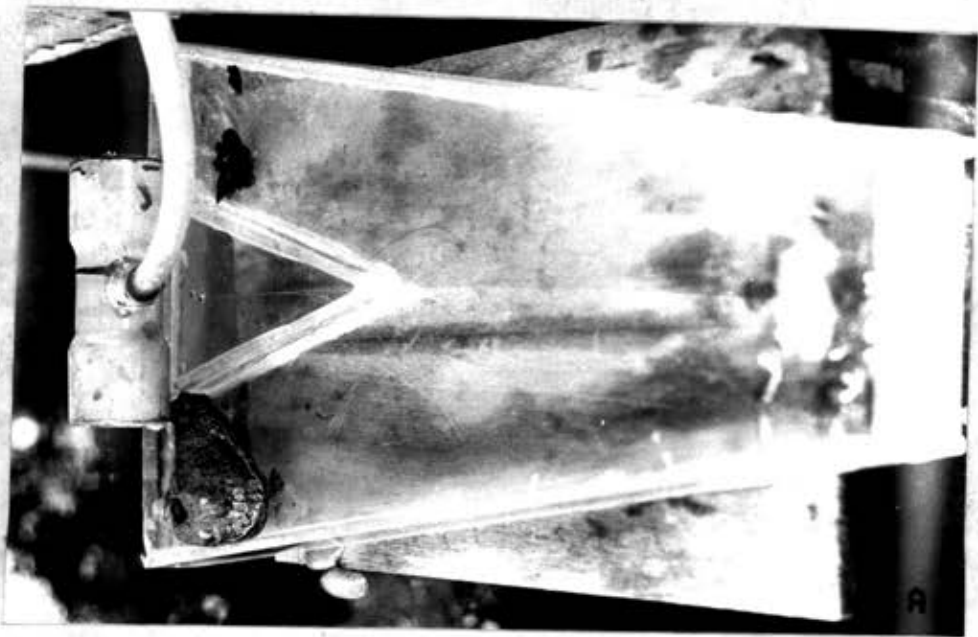
2.2.2 การศึกษาเกี่ยวกับหิน ลิน ตัดเอาเนื้อส่วนหัวออก นำมาต้มในค่าง KOH 10 % (ประมาณ 5 นาที) เพื่อแยกหิน ลิน (Radula) ออก ล้างหิน ลิน ด้วยน้ำกลั่น ย้อมด้วย Congo Red (ประมาณ 15 นาที) แล้วทำสไลด์โดยใช้ Hoyer's media (วิธีของอาร์กูล , 2505 ซึ่งใช้ในพวกแมลง) นำมาตากแห้งในตู้อบประมาณ 2 อาทิตย์ เป็น สีสไลด์ถาวร ตรวจสอบลักษณะหินและนับจำนวนแถวในกล้องจุลทรรศน์

2.2.3 การศึกษาลักษณะไข่ ทำการศึกษาลักษณะภายนอกทั่วไป ของไข่หอยกระแจะที่พบในธรรมชาติ และเปรียบเทียบไข่ที่ได้จากหอยกระแจะที่นำมาเลี้ยงไว้ในตู้กระจก

2.3 การศึกษาในห้องทดลอง

2.3.1 การเลี้ยงหอยในตู้กระจก หอยที่จะทำการทดลองเกี่ยวกับพฤติกรรมการเกาะ และการเลือกอาหาร ได้นำมาเลี้ยงในตู้กระจกและมีอากาศผ่าน (Aerate) ตลอดเวลา เปลี่ยนน้ำทะเลใหม่ทุก ๆ 7 วัน กับนำหอยนางรมทั้งตัวมาปล่อยไว้ให้เป็นอาหาร

2.3.2 การสังเกตเกี่ยวกับพฤติกรรม ในการทดลองเกี่ยวกับการเลือกอาหาร ปล่อยให้หอยกระแจะ 45 ตัว ออกอาหารก่อน (1 อาทิตย์) แล้วนำหอยมาปล่อยทีละตัว ให้เลือกกินอาหารซึ่งประกอบด้วยกลุ่มหอยนางรม (*Ostrea sp.*) หอยแมลงภู่ (*Mytilus viridis*) และเพรียงหิน (*Balanus amphitrite*) ทั้งเปลือก และที่เป็นชิ้นเนื้อเอาเปลือกออกทั้งสามชนิด บนรางน้ำพลาสติก ที่สร้างขึ้นโดยเฉพาะเป็นรางรูปตัว V (ดูภาพที่ 3 หน้า 9) ทำการทดลองเปรียบเทียบโดยให้กระแสน้ำไหลจากอาหารไปยังตัวหอยกระแจะกับที่ไหลย้อนขึ้นจากหอยกระแจะไปทางทิศที่มีอาหารวางล่อไว้ กับทำการทดลองให้ค้ำหนึ่งมีอาหาร อีกค้ำหนึ่งไม่มีสลับกัน



ภาพที่ 3 รางน้ำรูปตัว V ที่ใช้ในการทดลองเกี่ยวกับพฤติกรรมกรรมการเลือกอาหารของหอยกระแจะ (*Thais javanica*)

- A. หอยปล่อยน้ำไหลจากอาหาร (คานซ้าย) ไปยังตัวหอย
- B. หอยปล่อยน้ำไหลจากตัวหอย (คานขวา) ไปทางอาหาร (คานซ้าย)

เข้าสังเกตจนกระทั่งหอยเคลื่อนที่ไปยังจุดที่วางอาหารไว้ หรืออย่างน้อยไม่เกิน 3 ชั่วโมง หอยกระแจะตัวที่ทดลองแล้วจะไม่นำมาทดลองซ้ำอีก เพื่อป้องกันการชินต่อการทดลอง

ในการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมการเจาะ นำหอยกระแจะขนาดต่าง ๆ กัน ปล่อยให้หอยนางรม (ทั้งตัว) ในอ่างแก้ว (ขนาด 500 ml.) ใช้หอยกระแจะ 1 ตัว ต่อหอยนางรม 3 ตัว ประมาณ 1 อหุทัย นำมาตรวจรูที่เจาะไว้ เพื่อวัดขนาดเปรียบเทียบ

2.3.3 การวัดขนาดรูที่ถูกเจาะ หอยนางรมที่ถูกเจาะในห้องทดลองมาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางด้วย Micrometer ใต้กล้องจุลทรรศน์ (เป็น มม. ทำการวัด 2 ครั้งเฉลี่ย) ขนาดของรูที่ถูกเจาะนำมาเปรียบเทียบกับขนาดของหอย (ความสูง x เส้นผ่าศูนย์กลาง) ที่ปล่อยให้เจาะ

2.4 การคำนวณหาผลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้อาจจากการรวบรวมและจากการทดลองส่วนใหญ่ใช้เปรียบเทียบกันโดยอาศัยค่าตัวกลาง (means) สำหรับข้อมูลในการหาปริมาณการเจาะของตัวอ่อนหอยนางรมบนเปลือกหอยกระแจะและการเจาะรู ใช้เปรียบเทียบโดยการคำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ตามวิธีของ Snedecor (1956) โดยแปลงสูตร

$$r = \frac{\sum XY - (\sum X)(\sum Y)/N}{\sqrt{(\sum X^2 - (\sum X)^2/N)(\sum Y^2 - (\sum Y)^2/N)}}$$

เป็น

$$r = \frac{\sum LH - (\sum L)(\sum H)/N}{\sqrt{(\sum L^2 - (\sum L)^2/N)(\sum H^2 - (\sum H)^2/N)}}$$

L = ความยาวของหอยกระแจะ

H = ขนาดรูซึ่งหอยกระแจะเจาะ

N = จำนวนหอยกระแจะ

และหาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของหอยกระแจะกับความกว้างของรูที่หอยกระแจะเจาะจากสูตร

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

โดยเปลี่ยนเป็น

$$a = \bar{H} - b\bar{L} \quad \text{ด้วย}$$

หาค่า b ได้จาก

$$b = \frac{\sum XY - (\sum X)(\sum Y)/N}{\sum X^2 - (\sum X)^2/N}$$

ทำนองเดียวกันเปลี่ยนเป็น

$$r = \frac{\sum WH - (\sum W)(\sum H)/N}{\sqrt{(\sum W^2 - (\sum W)^2/N)(\sum H^2 - (\sum H)^2/N)}}$$

และ

$$a = \bar{H} - b\bar{W}$$

เมื่อ W = ความกว้างหอยกระแจะ

ค่าที่ได้นำมาเทียบกับ 1 % Level of significance เพื่อที่จะทราบว่า จะยอมรับสมมติฐานที่ตั้งขึ้นหรือไม่