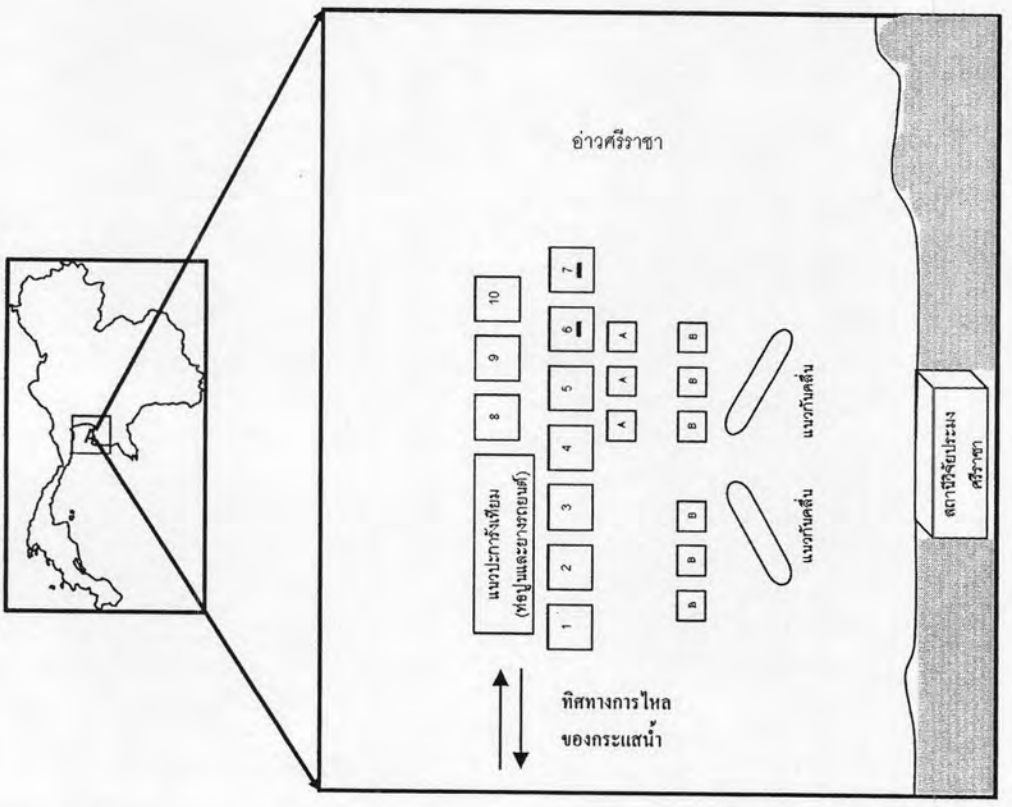
บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1.พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการศึกษาที่ฟาร์มเลี้ยงหอยแมลงภู่แบบแพเชือกของสถานีวิจัยประมงศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ละติจูดที่ 13 องศา 11.01 ลิปดาเหนือ ลองติจูดที่ 100 องศา 55.33 ลิปดาตะวันออก (รูปที่ 3.1) มีพื้นที่เลี้ยงสัตว์น้ำของทั้งหมด 312.5 ไร่ ความลึกของน้ำอยู่ในช่วง 3-6 เมตร ระดับน้ำลงต่ำสุด 3 เมตร และระดับน้ำขึ้นสูงสุด 6 เมตร

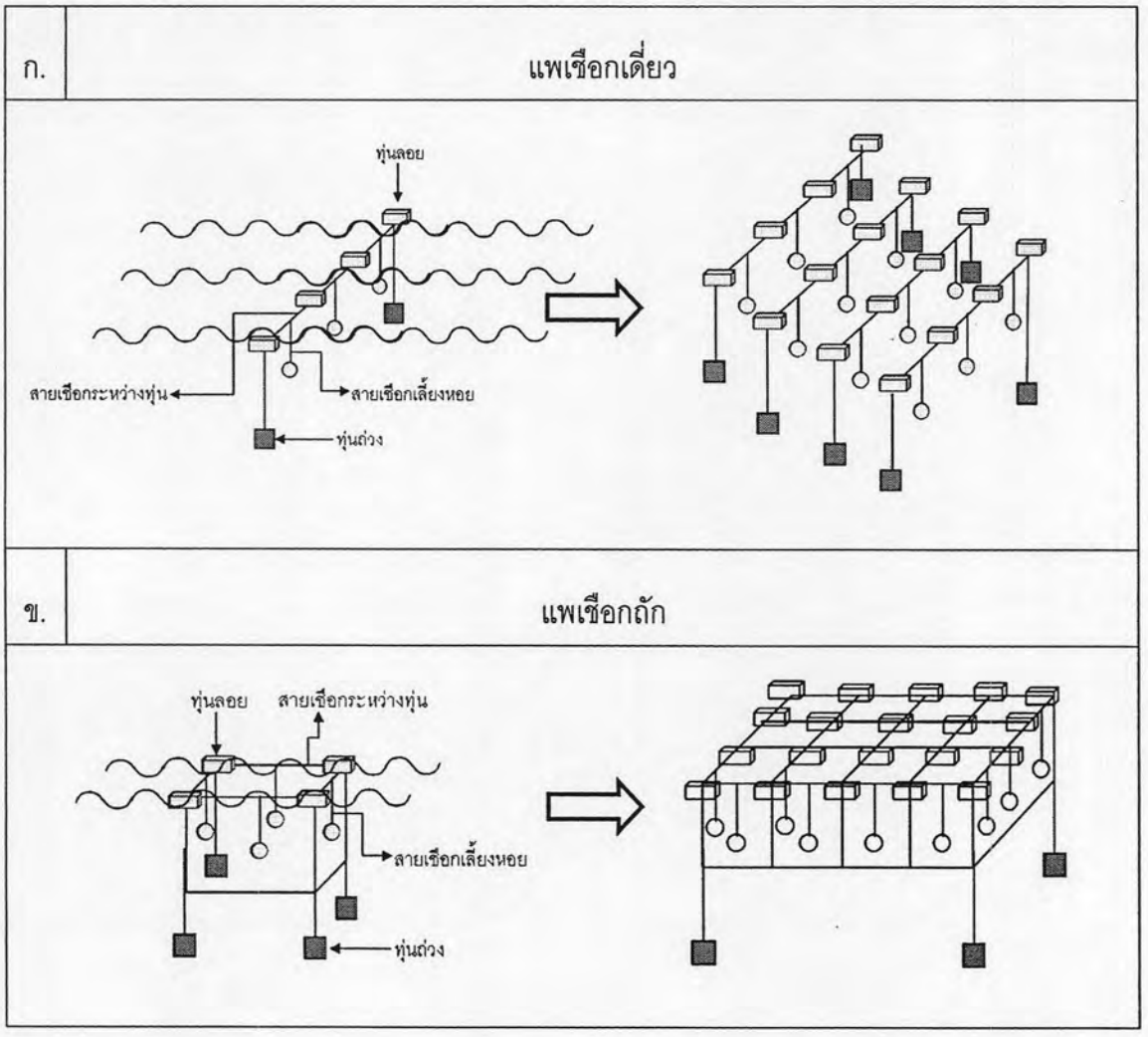


รูปที่ 3.1 แพเลี้ยงหอยแมลงภู่ของสถานีวิจัยประมงศรีราชา ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี

จากรูปที่ 3.1 หมายเลข 1-10 คือ แพเลี้ยงหอยแมลงภู่ขนาด 40 x 40 ตารางเมตร สัญลักษณ์ A คือ แพเลี้ยงหอยแมลงภู่ขนาด 400 ตารางเมตร สัญลักษณ์ B คือกระชังเลี้ยงปลากะรัง และปลากระพงขาว ขนาด 4 x2 x 2 ตารางเมตร ระยะระหว่างแพหอยแมลงภู่ถึงสถานีวิจัย

ประมงศรีราชาเท่ากับ 800 เมตร ส่วนระยะระหว่างแนวปะการังเทียมถึงสถานีวิจัยประมงศรีราชาเท่ากับ 1 กิโลเมตร แพที่ทำการศึกษาคือแพ 6 หรือแพเชือกเดี่ยว และแพ 7 หรือแพเชือกถัก

การเลี้ยงหอยแมลงภู่แบบแพเชือกของสถานีวิจัยประมงศรีราชาเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถเลี้ยงได้ดีในบริเวณคลื่นลมแรงพอสมควร หรือพื้นดินเป็นดินแข็งบริเวณที่ปักไม้ไม่ลงก็สามารถเลี้ยงได้ ส่วนแพที่เลี้ยงมีความคงทนมีอายุการใช้งานนานหลายปีวัสดุที่ใช้หาง่ายมีตามท้องตลาดทั่วไปและเป็นการนำเศษวัสดุกลับมาใช้ใหม่ สำหรับการศึกษาครั้งนี้ศึกษาแพที่มีรูปแบบแพแตกต่างกันดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แพหอยแมลงภู่แบบแพเชือกเดี่ยว (ก.) และแพเชือกถัก (ข.)

แพเชือกเดี่ยว (รูปที่ 3.2ก.) มีลักษณะแพเป็นเส้นยาว ประกอบจากเชือกโพลีโพรพีลีน ขนาด 16 มิลลิเมตร ตัดเป็นเส้นยาวประมาณ 50 เมตร และนำถังทุนพลาสติกขนาด 20-30 ลิตร ผูกทุกระยะ 1 เมตร แพขนาด 1 ไร่ มีเชือกยาว 40 เมตร จำนวน 6 เส้น

แพเชือกถัก (รูปที่ 3.2ข.) แพมีขนาด 40X40 ตารางเมตร โดยนำเชือกโพลีโพรพีลีน ขนาด 16 มิลลิเมตร ยาว 50 เมตร มาถักให้ได้ขนาดตา 1X1 ตารางเมตร กว้าง 40 เมตร ยาว 40 เมตร ซึ่งจะเท่ากับพื้นที่ 1,600 ตารางเมตร หรือ 1 ไร่ ตัวแพจะมีแถวตามแนวตั้ง 41 แนว แถวแนวนอน 41 แนว นำถังทุ่นขนาด 20-30 ลิตร ผูก 6 แถวตามแนวตั้ง เว้น 1 แถวจนหมดพื้นที่ 1 ไร่ การเว้นแถวเพื่อให้เรือเข้าซ่อมแซมตัวแพและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้สะดวก ระยะห่างระหว่างแพเชือกเดี่ยวและแพเชือกถักเท่ากับ 50 เมตร

2.การเตรียมลูกหอยสำหรับการศึกษา

สายเลี้ยงหอยของแพเชือกเดี่ยวและแพเชือกถัก (รูปที่ 3.3) ทำจากเนื้อออวนขนาดตาประมาณ 60 เซนติเมตร ความยาว 2 เมตร กว้าง 20 เซนติเมตร ถ่วงปลายด้านหนึ่งด้วยอิฐมอญแดง ส่วนปลายอีกด้านผูกกับเชือกขนาด 16 มิลลิเมตร ซึ่งเชื่อมระหว่างทุ่นลอยของแพที่จัดเตรียมไว้แล้ว การศึกษาผูกสายเลี้ยงหอยแพละ 1,200 สาย โดยซื้อสายเลี้ยงหอยที่มีลูกหอยเกาะอยู่จากบริเวณใกล้เคียงเนื่องจากบริเวณอ่าวศรีราชาในปีที่ทำการศึกษามีลูกหอยลงเกาะน้อยและไม่สม่ำเสมอเพราะมลภาวะและสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปส่งผลต่อปริมาณลูกหอยตามธรรมชาติในอ่าวศรีราชา ดังนั้นเพื่อความสะดวกและเพื่อให้ได้ลูกหอยที่มีขนาดใกล้เคียงกันจึงซื้อสายล่อลูกหอยมาเลี้ยงต่อจนมีขนาดที่ตลาดต้องการคือ 6-7 เซนติเมตร นานประมาณ 6-8 เดือน เมื่อทำการแขวนสายเลี้ยงหอยแล้วเส้นเชือกที่มีหอยเกาะอยู่จะห้อยลงไปในน้ำลึกประมาณ 1.20 เมตร

รูปที่ 3.3 สายเลี้ยงหอย

3.ระยะเวลาในการศึกษา

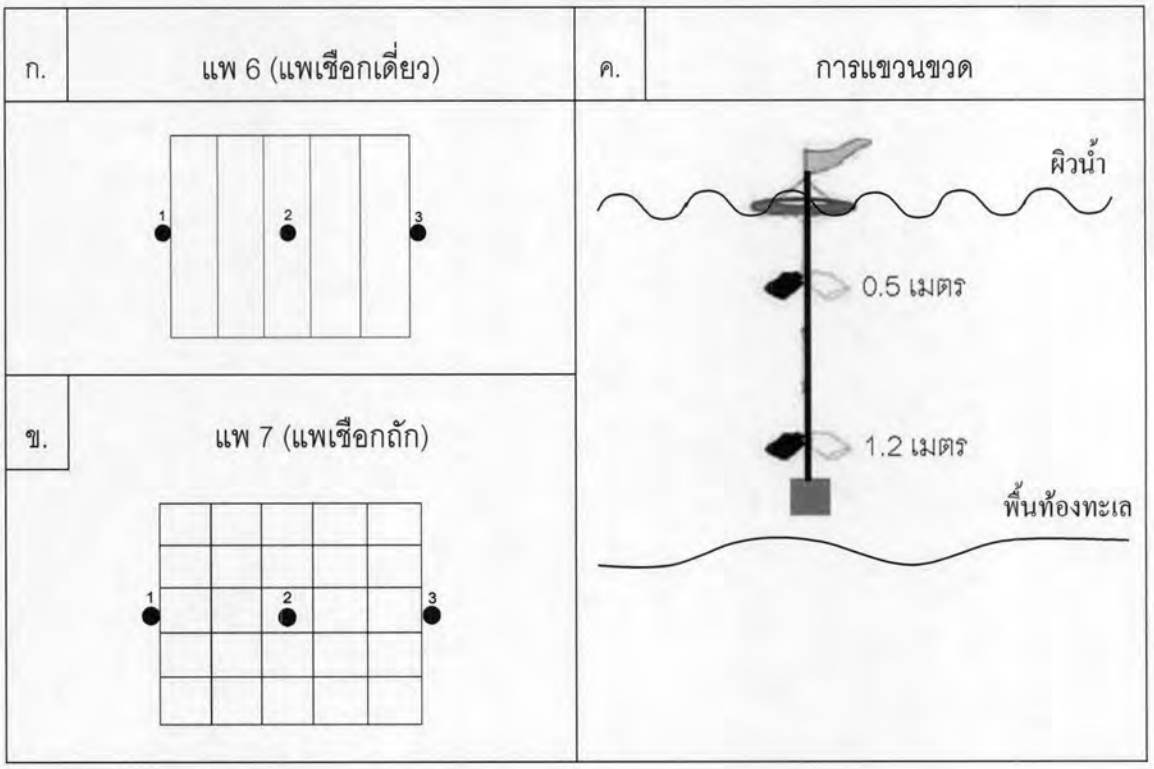
ทำการศึกษาหนึ่งรอบการเลี้ยงหรือ 8 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงสิงหาคม 2549 ศึกษาผลผลิตขั้นต้น คลอโรฟิลล์ เอ สารอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน ปัจจัยสิ่งแวดล้อม โดยเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง สำหรับการเติบโตของหอยแมลงภู่เก็บตัวอย่างเดือนละครั้ง

4.การเก็บตัวอย่างและการตรวจวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อม

การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจวัดพารามิเตอร์ต่างๆในแพเชือกเดี่ยวและแพเชือกถักโดยแต่ละแพทำการเก็บตัวอย่าง 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ริมนอกแพ กลางแพ และริมในแพ ที่ระดับความลึก 5.0 เมตร และ 1.2 เมตร (รูปที่ 3.4) และตรวจวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมตำแหน่งและระดับความลึกเดียวกับการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อให้สอดคล้องกับความยาวของพวงหอยโดยใช้เครื่องมือ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและวิธีการที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	เครื่องมือและวิธีการ
อุณหภูมิ	YSI Model 600 XL และ DO meter YSI 85
ความเป็นกรด-ด่าง	YSI Model 600 XL และ DO meter YSI 85
ความเค็ม	YSI Model 600 XL และ DO meter YSI 85
ออกซิเจนละลายน้ำ	YSI Model 600 XL และ DO meter YSI 85
ความโปร่งแสง	Secchi disc



รูปที่ 3.4 (ก.) แพเชือกเดี่ยว (ข.) แพเชือกถัก (ค.) การแขวนขวดที่ระยะ 0.5 เมตร และ 1.2 เมตร ● แทนตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างและแทนตำแหน่งแขวนขวดมืดและสว่าง (1) ริมนอกแพ (2) กลางแพ (3) ริมในแพ

การศึกษาปริมาณผลผลิตขั้นต้น

การศึกษาโดยวิธีเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของขวดมืดและขวดสว่าง ที่เกิดขึ้นในกระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช เป็นอัตราผลผลิตต่อหน่วยเวลาซึ่งเป็นการวัดผลผลิตขั้นต้นรวม เนื่องจากปริมาณออกซิเจนที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่สังเคราะห์ขึ้นมา ตำแหน่งและระดับความลึกที่ทำการศึกษาเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างน้ำและปัจจัยสิ่งแวดล้อมในข้อ 4 การตรวจวัดผลผลิตขั้นต้นมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.เก็บน้ำตัวอย่างโดยใช้กระบอกเก็บน้ำ Vandorn ขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำที่ตำแหน่งและระดับความลึกที่กล่าวมาด้านบน

2.ถ่ายน้ำจากกระบอกเก็บน้ำ Vandorn ลงในขวด BOD ขนาด 100 มิลลิลิตร (รูปที่ 3.5) โดยไม่ให้มีฟองอากาศเกิดขึ้นขณะถ่ายน้ำลงในขวด โดยขวด BOD แบ่งเป็น 3 ชุด ชุดละ 2 ซ้ำ ได้แก่ ขวดเริ่มต้น ขวดสว่าง และขวดมืด (รูปที่ 3.6)

รูปที่ 3.5 ขวด BOD ขนาด 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 3.6 ขวดมืดและขวดสว่าง

3.ทำการตรึงออกซิเจนที่ละลายในน้ำภายในขวดเริ่มต้น โดยเติม แมงกานัสซัลเฟต ($MnSO_4$) และ สารละลายอัลคาไลน์ไอโอไดด์ (NaOH+KI) ลงในขวดเริ่มต้นและเก็บไว้ไม่ให้รับแสง ส่วนขวดสว่างและขวดมืดใส่ลงในตะแกรง (รูปที่ 3.7) โดยขวดมืดหุ้มด้วยถุงดำ จากนั้นนำตระแกรงผูกกับทุ่นถ่วงและทุ่นลอย และแช่ไว้ในน้ำประมาณ 6 ชั่วโมง ตามตำแหน่งและระดับความลึกที่กำหนด (รูปที่ 3.4)

รูปที่ 3.7 ขวดมืดและขวดสว่างในตะแกรง

4.เมื่อครบกำหนดเวลาทำการเก็บขวดสว่างและขวดมืด และตรึงออกซิเจนในขวดเช่นเดียวกับขวดเริ่มต้น

5.หลังจากตรึงออกซิเจนในขวดจะเกิดตะกอนของแมงกานัสซัลเฟต ($MnSO_4$) และสารละลายอัลคาไลน์ไอโอไดด์ (NaOH+KI) เมื่อตะกอนตกลงมาประมาณหนึ่งในสามของขวดก็สามารถทำการไตเตรท เพื่อตรวจวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำภายในขวดด้วยวิธี Winkler method ซึ่งการไทเตรทในครั้งนี้เพื่อความแม่นยำจึงใช้เครื่อง autoburette ของ

Metrohm 776 Dosimat (รูปที่ 3.8) ในการไตเตรท และกำหนดให้หยดสารละลายของโซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) เท่ากับ 0.05 มิลลิลิตร

รูปที่ 3.8 เครื่อง autoburette ของ Metrohm 776 Dosimat

6.นำผลที่ได้มาคำนวณผลผลิตขั้นต้นรวมในหน่วยมิลลิกรัมคาร์บอนต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน ($mgC/m^3/h$) ด้วยสมการ (Environmental Information Office at I.E.S., 2000)

Gross photosynthesis = [(LB-DB)x375]/(PQxt) เมื่อ

LB,DB คือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในขวดสว่าง (LB) และขวดมืด (DB) หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร

t คือ ระยะเวลาในการ incubation (ชั่วโมง)

357 คือ อัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อออกซิเจนต่อลิตรเป็นต่อลูกบาศก์เมตร ($12mgC/32mgO_2 = 0.375$)

PQ คือ โมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูญเสียไปขณะสังเคราะห์แสงต่อโมเลกุลของออกซิเจนที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 1.2

การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

ใช้กระบอกเก็บน้ำ Vandorn ขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำที่ระดับความลึก 0.5 เมตร และ 1.2 เมตร ปริมาตร 10 ลิตร กรองน้ำผ่านถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนลงในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ จดบันทึกจุดเก็บตัวอย่าง ระดับความลึก และวันที่เก็บตัวอย่างบนขวดเก็บตัวอย่าง ตรวจนับและคำนวณรายงานผลแพลงก์ตอนชนิดเด่น 5 ชนิดในระดับสกุลในห้องปฏิบัติการโดยใช้ Sedwick-Rafter counting slide ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน สารอินทรีย์ไนโตรเจน และอัตราส่วนโดยโมลคาร์บอนต่อไนโตรเจน

เก็บน้ำตัวอย่างด้วยกระบอกเก็บน้ำ Vandorn ขนาด 5 ลิตร ที่ตำแหน่งและระดับความลึกเช่นเดียวกับข้อ 4 เพื่อนำมาวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน สารอินทรีย์ไนโตรเจน และอัตราส่วนโดยโมลคาร์บอนต่อไนโตรเจน ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

ตวงน้ำด้วยกระบอกตวงปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง grass microfiber filter (GF/F) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องกรองน้ำสูญญากาศที่แรงดัน 760 มิลลิเมตรปรอท จำนวน 2 ซ้ำ และห่อด้วยกระดาษฟอยด์ขนาด 5X5 เซนติเมตร ใส่ถุงพลาสติก บันทึกจุดเก็บตัวอย่างและวันที่ แล้วเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ ด้วยวิธีของ Stickland and Parson (1972)

2. การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์สารอินทรีย์คาร์บอน สารอินทรีย์ไนโตรเจน และอัตราส่วนโดยโมลคาร์บอนต่อไนโตรเจน ด้วยวิธีของ Klaus, Klaus and Manfred (1999).

กรองน้ำทะเลตัวอย่างผ่านถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดตา 300 ไมโครเมตร เพื่อแยกแพลงก์ตอนสัตว์และเศษขยะ จากนั้นตวงน้ำที่กรองผ่านถุงกรองให้มีปริมาตรเท่ากับหนึ่งในสามเท่าของความโปร่งแสงนำน้ำที่ตวงไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/F ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองที่เผาเย็นแล้ว และบันทึกน้ำหนักเก็บไว้จำนวนสองซ้ำ ด้วยเครื่องปั๊มสูญญากาศ เก็บกระดาษกรองใส่ภาชนะบรรจุ จดบันทึกหมายเลขตัวอย่างไว้และเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาวิเคราะห์ต้องทำให้แห้งโดยเครื่อง freeze dry นาน 6 ชั่วโมง และอบด้วยกรดโฮโดรคอริกเข้มข้นนาน 2 วัน ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแขวนลอยอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน ในห้องปฏิบัติการด้วยเครื่อง CHN analyzer serie2 CHN/O Analyaer 2400 Perkin Elmer instruments

การเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่

สุ่มเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่แพละ 60 ตัว เดือนละครั้งที่ระดับความลึกและจุดเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4 และตรวจวัดการเติบโตของหอยแมลงภู่โดยวัดจากความยาว ความกว้าง และความหนาที่เพิ่มขึ้นของเปลือกที่เพิ่มขึ้น และวัดน้ำหนักเนื้อหอยทั้งตัว น้ำหนักเนื้อหอยสด และน้ำหนักเนื้อหอยแห้ง

5.การวิเคราะห์ผลการศึกษา

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลผลผลิตขั้นต้น การเติบโตของหอยแมลงภู่ และปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ศึกษา ของทั้งสองแพโดยใช้สถิติทดสอบ paired t-test สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อม ผลผลิตขั้นต้น คลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนและความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตขั้นต้น คลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน กับการเติบโตของหอยแมลงภู่ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตขั้นต้นและการเติบโตของหอยโดยใช้สมการถดถอย (Regression analysis เลือกวิธีวิเคราะห์ stepwise)