



## บทที่ 2

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

#### สถานที่และระยะเวลาในการ เก็บตัวอย่างหอย

สถานที่ในการ เก็บตัวอย่างหอยบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงถึงบริเวณอ่างศิลา โดยแบ่งออกเป็น 3 สถานี เก็บตัวอย่างหอยแมลงภูในสถานีที่ 1, 2, 3 (ดังรูปที่ 3)

ทำการเก็บตัวอย่างหอยทุก ๆ 2 สัปดาห์ เริ่มตั้งแต่เดือนมีนาคม 2525 ถึง มีนาคม 2526

#### วันที่เก็บตัวอย่าง

ครั้งที่ 1	27 มีนาคม 2525	ครั้งที่ 13	19 กันยายน 2525
ครั้งที่ 2	15 เมษายน 2525	ครั้งที่ 14	3 ตุลาคม 2525
ครั้งที่ 3	28 เมษายน 2525	ครั้งที่ 15	17 ตุลาคม 2525
ครั้งที่ 4	16 พฤษภาคม 2525	ครั้งที่ 16	31 ตุลาคม 2525
ครั้งที่ 5	30 พฤษภาคม 2525	ครั้งที่ 17	14 พฤศจิกายน 2525
ครั้งที่ 6	13 มิถุนายน 2525	ครั้งที่ 18	28 พฤศจิกายน 2525
ครั้งที่ 7	27 มิถุนายน 2525	ครั้งที่ 19	12 ธันวาคม 2525
ครั้งที่ 8	11 กรกฎาคม 2525	ครั้งที่ 20	26 ธันวาคม 2525
ครั้งที่ 9	25 กรกฎาคม 2525	ครั้งที่ 21	9 มกราคม 2526
ครั้งที่ 10	8 สิงหาคม 2525	ครั้งที่ 22	30 มกราคม 2526
ครั้งที่ 11	22 สิงหาคม 2525	ครั้งที่ 23	20 กุมภาพันธ์ 2526
ครั้งที่ 12	5 กันยายน 2525	ครั้งที่ 24	20 มีนาคม 2526

#### การ เก็บตัวอย่างหอย

ตัวอย่างหอยในแต่ละสถานีเก็บจากสามระดับคือ ระดับผิวน้ำ ระดับกลางความลึก และระดับใกล้พื้นดิน ตัวอย่างหอยสุ่มเก็บระดับละ 15 ตัว ตรวจสอบคุณสมบัติหน้าทะเลบริเวณ จุดที่ทำการ เก็บตัวอย่างหอยด้วยทุกครั้ง ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรดเป็นด่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ตัวอย่างหอยแมลงภู่นำมาตรวจหา โคฟีพอกในท้องปฏิบัติการที่ภาควิชา  
วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### การตรวจหาโคฟีพอกในหอยแมลงภู

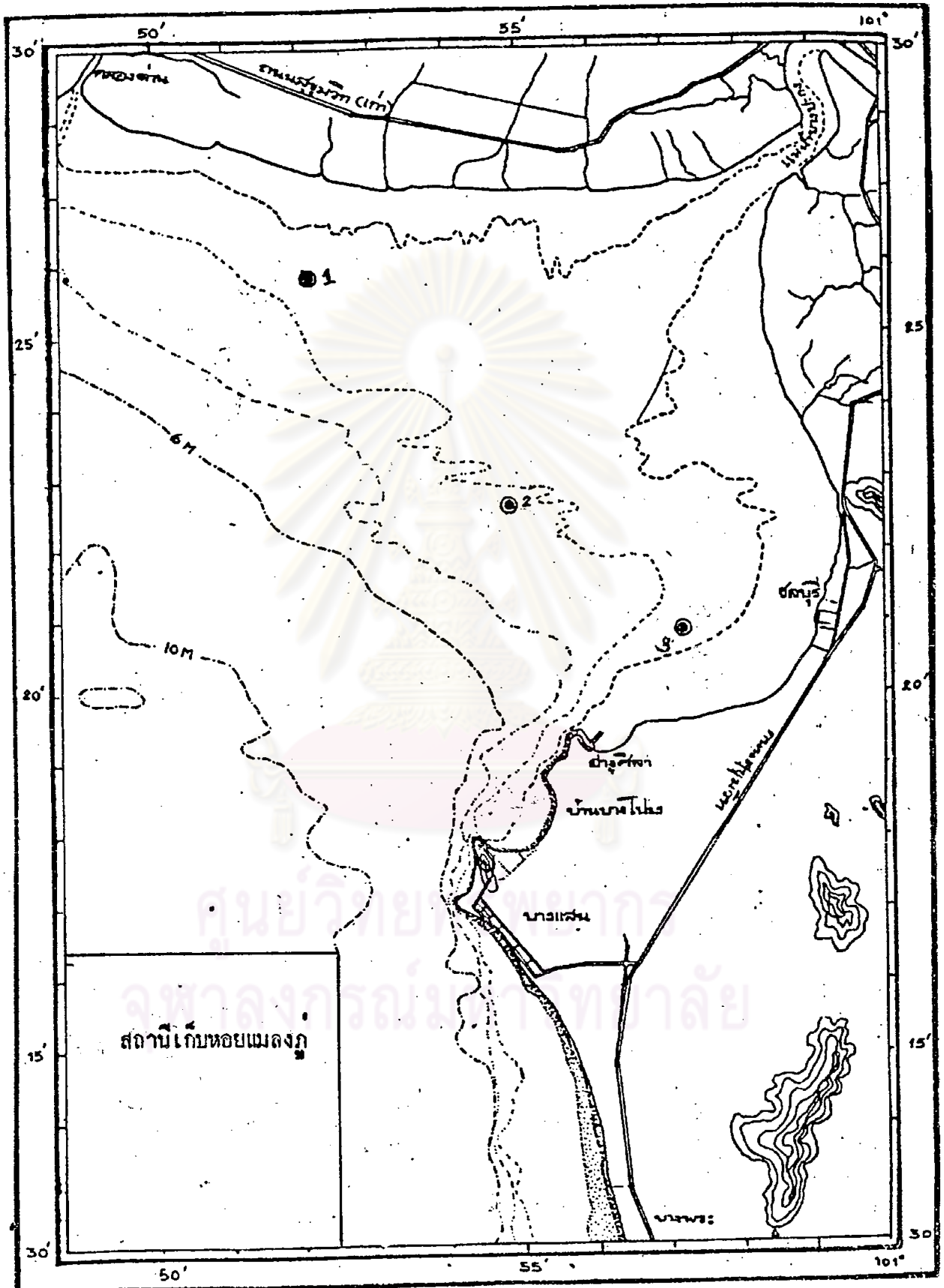
การตรวจหาโคฟีพอกในหอยแมลงภูขนาดต่าง ๆ ที่สุ่มมา ได้ทำการตรวจบริเวณ  
เหงือก ช่องว่างภายในตัว mantle และภายในกระเพาะอาหาร ตรวจโดยใช้กล้อง  
จุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ นำตัวอย่างโคฟีพอกที่ได้ไปเก็บรักษาในขวดเก็บตัวอย่างที่มีน้ำยา  
ฟอร์มาลินเข้มข้น 10 % แต่ละขวดบันทึกข้อมูลอย่างละเอียด

หลังจากนั้นนำตัวอย่างหอยมาวัดขนาดความยาวและแยกเพศของแต่ละตัว  
(ตัวเมียมีเนื้อสีแดงคล้ายอิฐ ส่วนตัวผู้มีสีขาวครีมในฤดูผสมพันธุ์ ตามรายงานของวิเศษ  
ชมเดช และวัฒนา ภูเจริญ , 2524) จากนั้นจึงนำไปอบที่ 10° เซลเซียส 24 ชั่วโมง  
เพื่อหาค้นน้ำหนักแห้ง

### การจำแนกชนิดและศึกษารายละเอียดลักษณะภายนอกของโคฟีพอก

นำตัวอย่างมาทำให้ใส เพื่อสะดวกในการตรวจรูปร่างต่าง ๆ โคฟีพอก  
โดยใช้ น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 85 % หยดลงบนตัวอย่าง ศึกษารูปร่างลักษณะภายนอก  
ได้แก่ Cephalothorax, Genital segment, Abdomen ถุงไข่และส่วนของระยางค์  
ต่าง ๆ วาดภาพลักษณะรูปร่างและส่วนต่าง ๆ ด้วย camera lucida และถ่ายภาพด้วย  
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ( Scanning Electron Microscope หรือ SEM ) การ  
จำแนกชนิดใช้เอกสารของ Reddiah (1966)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่

## การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อภายในของหอย

นำหอยสดทั้งตัวแช่ในน้ำยา Bouin 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อส่วน  
เหงือก และ mantle ของหอยที่มีโคฟีพอคและที่ไม่มีโคฟีพอคมาตัด Serial section  
ด้วย Microtome หนา 6 micron และย้อมสีด้วย haematoxylin และ  
eosin

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

### 1. Standard Error (SE)

$$SE = \sqrt{\frac{(s^2)}{N}}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบมี 2 ตัวประกอบ ( Two-way  
classification ) ใช้สำหรับวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหา

2.1 ความแตกต่างของโคฟีพอค ในหอยแมลงภู่ในแต่ละสถานี ระบุถึงความ  
ลึกต่าง ๆ กัน คือ ระดับผิวน้ำ ระดับกลางความลึก ระดับใกล้พื้นดิน ของแต่ละเดือน

2.2 ความแตกต่างของการเจริญเติบโตของหอยแมลงภู่ในแต่ละสถานี และ  
ที่ระดับความลึกต่าง ๆ กัน คือ ระดับผิวน้ำ ระดับกลางความลึก ระดับใกล้พื้นดิน

Total Sum of Squares หรือ SS ทั้งหมด

$$= \sum_{ij} x_{ij}^2 - \left( \sum_{ij} x_{ij} \right)^2 / rc$$

Column Sum of Squares หรือ SS ของ Column

$$= \sum_j \frac{(x_{.j})^2}{c} - \left( \sum_{ij} x_{ij} \right)^2 / rc$$

Row Sum of Squares หรือ SS ของ Row

$$= \sum_i \frac{(x_{i.})^2}{r} - \left( \sum_{ij} x_{ij} \right)^2 / rc$$

**Error Sum of Squares หรือ SS ของความคลาดเคลื่อน**

$$= \text{SS ทั้งหมด} - \text{SS ของ Column} - \text{SS ของ Row}$$

$$X_{ij} = \text{ผลรวมของค่าสังเกตทั้งหมด}$$

$$X_i = \text{ผลรวมของค่าสังเกตทุกค่าในแถวนั้น ๆ}$$

$$X_j = \text{ผลรวมของค่าสังเกตทุกค่าในคอลัมน์นั้น ๆ}$$

$$r = \text{จำนวนแถว}$$

$$c = \text{จำนวนคอลัมน์}$$

ดังนั้น ตารางวิเคราะห์หว่าเรียนซึ่งจัดได้ดังนี้

Source of variation	df	SS	MS	F
Rows	$r-1$	$\sum \frac{(X_i)^2}{r} - \frac{(\sum_{ij} X_{ij})^2}{rc} = \text{SSR}$	$\text{MSR} = \frac{\text{SSR}}{r-1}$	$\frac{\text{MSR}}{\text{MSE}}$
Columns	$c-1$	$\sum \frac{(X_j)^2}{c} - \frac{(\sum_{ij} X_{ij})^2}{rc} = \text{SSC}$	$\text{MSC} = \frac{\text{SSC}}{c-1}$	$\frac{\text{MSC}}{\text{MSE}}$
Error	$(r-1)(c-1)$	Total - Rows - Columns = SSE	$\text{MSE} = \frac{\text{SSE}}{(r-1)(c-1)}$	
Total	$rc-1$	$\sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{(\sum_{ij} X_{ij})^2}{rc} = \text{SST}$		

### 3. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโคฟีพอก intensity

(จำนวนโคฟีพอกต่อความยาวหอยเป็นมิลลิเมตร) Prevalence (เปอร์เซ็นต์ของหอยที่พบโคฟีพอก) กับปัจจัยสภาวะแวดล้อมและความยาวหอย โดยใช้การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) และความสัมพันธ์ข้อมูลแบบเส้นตรง (Linear Regression)

สมการเส้นตรง  $Y = a + bx$

Coefficient  $A = \frac{1}{N} (\sum y - b \sum x)$

Coefficient  $B = \frac{\sum xy - \frac{1}{N} \sum x \cdot \sum y}{\sum x^2 - \frac{1}{N} (\sum x)^2}$   
 $= \frac{\sum xy - \bar{x} \sum y}{\sum x^2 - \bar{x} \sum x}$

Correlation Coefficient (R)

$$R = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2][N \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

เมื่อ  $\sum x$  = ผลรวมของข้อมูลชุด x

$\sum y$  = ผลรวมของข้อมูลชุด y

$\sum x^2$  = ผลรวมของข้อมูลชุด x แต่ละตัวยกกำลังสอง

$\sum y^2$  = ผลรวมของข้อมูลชุด y แต่ละตัวยกกำลังสอง

$\sum xy$  = ผลรวมของผลคูณระหว่าง x กับ y

N = จำนวนข้อมูล

แล้วทดสอบนัยสำคัญของ R โดยใช้สูตร t ดังนี้

$$t = \frac{R \sqrt{N-2}}{\sqrt{1-R^2}}$$

$$df = N-2$$

เมื่อ N = จำนวนข้อมูลในแต่ละชุด x และ y

#### 4. การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

สำหรับตัวอย่าง 2 ชุด ใช้สำหรับวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหา

4.1 ความแตกต่างระหว่างจำนวนโคฟิเทคในหอยเพศผู้และหอยเพศเมีย  
 ในฤดูกาลสืบพันธุ์

## 4.2 ความแตกต่างระหว่างน้ำหนักแห่งของหอยที่มีโคฟีพอกและหอยที่ไม่มี

โคฟีพอก

$$\text{Total} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{N}$$

$$\text{Between groups} = \frac{(\sum y_1)^2}{N_1} + \frac{(\sum y_2)^2}{N_2} - \frac{(\sum y)^2}{N}$$

$$\text{Error} = \text{Total} - \text{Between groups}$$

$$\sum y_1 = \text{ผลรวมของค่าสังเกตที่ 1}$$

$$\sum y_2 = \text{ผลรวมของค่าสังเกตที่ 2}$$

$$\sum y = \text{ผลรวมของค่าสังเกตทั้งหมด}$$

$$N_1 = \text{จำนวนของค่าสังเกตที่ 1}$$

$$N_2 = \text{จำนวนของค่าสังเกตที่ 2}$$

$$N = \text{จำนวนของค่าสังเกตทั้งหมด}$$

ตารางวิเคราะห์หว่าเรียนซ์จักได้ดังนี้

Term	df	SS	MS	F
Between groups	1	$\frac{(\sum y_1)^2}{N_1} + \frac{(\sum y_2)^2}{N_2} - \frac{(\sum y)^2}{N} = \text{SSB}$	$A = \frac{\text{SSB}}{1}$	$\frac{A}{S^2}$
Error	N-2	Total - Between groups = SSE	$S^2 = \frac{\text{SSE}}{N-2}$	
Total	N-1	$\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{N}$		