บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

การศึกษาในครั้งนี้ แบ่งการเพาะเลี้ยงหอยนางรมออกเป็น 2 รุ่น ดังนี้ คือ

(1) การเพาะเลี้ยงหอยนางรมรุ่นที่ 1 เพื่อสร้างเป็นกลุ่มประชากรหอยนางรมพื้นฐาน (base population; F1) ที่มีอายุเท่ากัน

(2) จากหอยนางรมรุ่น F1 ที่มีอายุเท่ากันและถูกเลี้ยงจนได้ขนาดที่จะทำการคัดพันธุ์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่คล้ายคลึงกัน นำมาคัดเลือกจากลักษณะการเติบโตเป็นรายตัวที่มีการเติบโตสูงที่สุด 5% โดยประมาณ การเติบโตปานกลาง 5% โดยประมาณ และการเติบโตต่ำที่สุด 5% โดยประมาณ มาทำการเพาะและเลี้ยงเป็นหอยนางรมรุ่นที่ 2 (F2) ต่อไป หอยนางรมรุ่น F2 ทั้งหมด 3 กลุ่มอันได้แก่ กลุ่มโตเร็ว (H) กลุ่มโตปานกลาง (C) และกลุ่มโตช้า (L) เลี้ยงในโรงเพาะฟักวิธีการเดียวกับหอยนางรมรุ่น F1 เมื่อถึงระยะที่ต้องเลี้ยงในทะเล หอยนางรมชุดดังกล่าวถูกจัดเลี้ยงภายใต้ความหนาแน่นในระดับต่างๆ สภาพแวดล้อมเดียวกันเพื่อที่หาผลกระทบของความหนาแน่นที่มีผลต่ออัตราการเติบโตและอัตราการรอดของหอยนางรมปากจีบที่อายุ 9 เดือนหลังลงเกาะ และประเมินค่าอัตราพันธุกรรมประจักษ์ในการเติบโตของหอยนางรมชนิดดังกล่าวที่อายุ 15 เดือนแผนภาพรวมการทดลองดูได้จากรูปที่ 5

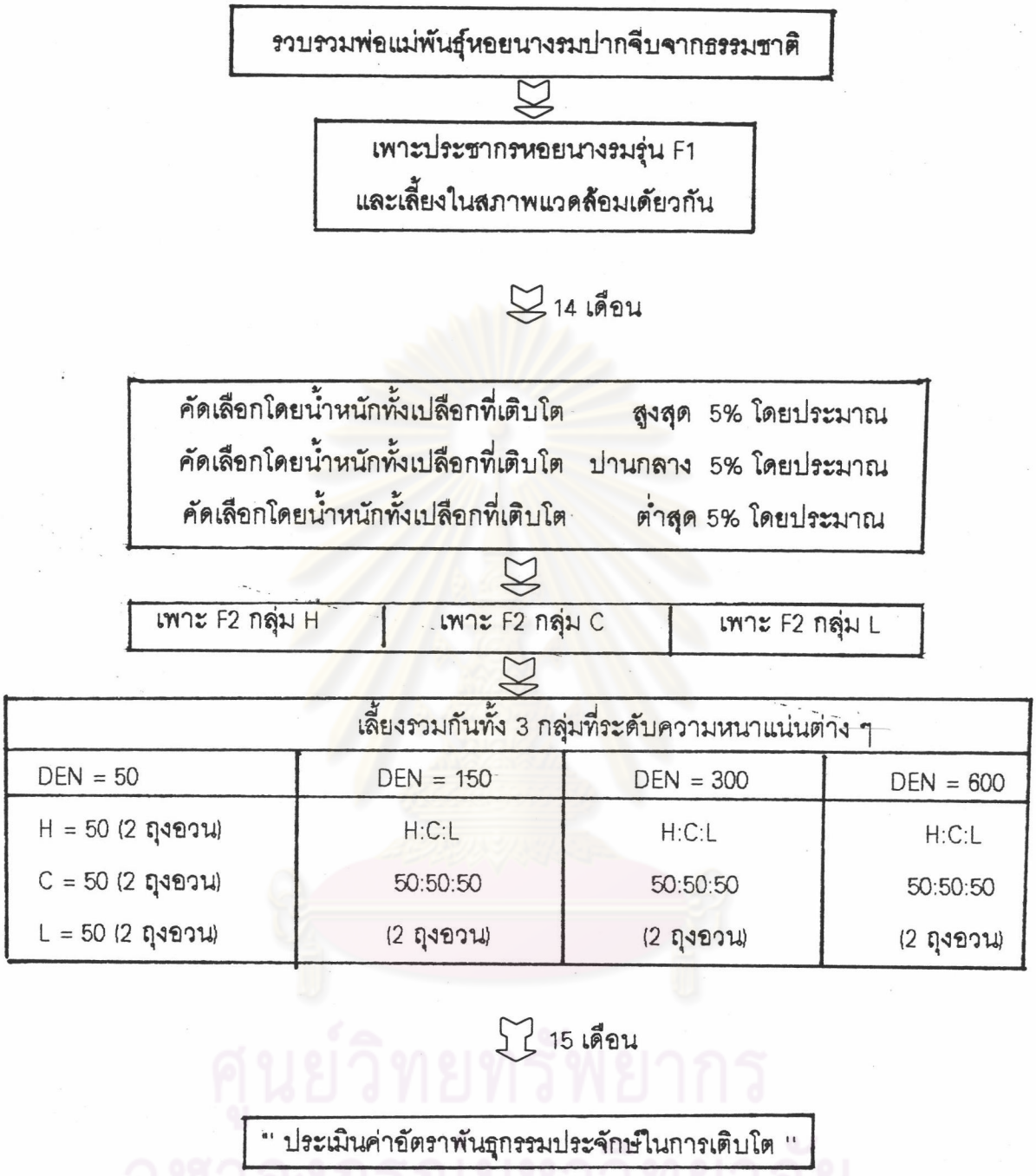
การสร้างกลุ่มประชากรหอยนางรมรุ่นที่ 1 (Base population ; F1)

1. การเตรียมพ่อแม่พันธุ์หอยนางรมปากจีบ

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์หอยนางรมปากจีบจากธรรมชาติ โดยซื้อหอยนางรมดังกล่าวจากเกษตรกรผู้เลี้ยง คัดจากลักษณะภายนอกที่เห็นเด่นชัดว่าเป็นหอยนางรมปากจีบในบริเวณตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี เลือกได้จำนวน 203 ตัว ขัดทำความสะอาดทุกตัว แล้วนำมาเลี้ยงที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

2. การเหนี่ยวนำให้ปล่อยเซลสืบพันธุ์

ในวันที่ 12 ตุลาคม 2533 พ่อแม่พันธุ์หอยนางรมทั้งหมด 203 ตัวถูกเหนี่ยวนำให้ปล่อยเซลสืบพันธุ์แบบรวม (Mass Spawning) ใช้วิธีการผึ่งลมหรือแดดอ่อน ให้แห้ง (Air exposer)



รูปที่ 5 แผนภาพรวมการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมประจักษ์ในการเติบโตของหอยนางรมปากจีบ Saccosstrea. cucullata

โดยที่ DEN หมายถึง ความหนาแน่นตัวต่อถุงอวน

H " หอยนางรมรุ่น F2 กลุ่มโตเร็ว

C " หอยนางรมรุ่น F2 กลุ่มโตปานกลาง

L " หอยนางรมรุ่น F2 กลุ่มโตช้า

ในการเหนี่ยวนำให้ปล่อยเซลสืบพันธุ์ เป็นเวลานานประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำพ่อแม่พันธุ์หอยนางรมใส่ลงในถังเลี้ยงขนาด 1 ตัน ผ่านน้ำทะเลใหม่ที่สะอาด (โดยน้ำทะเลดังกล่าวผ่านการกรองขนาด 50, 25, 5 และ 1 ไมครอน) ลงในถังที่บรรจุหอยนางรมพ่อแม่พันธุ์ดังกล่าวและกักน้ำทะเลนั้นไว้ ประมาณ 1 - 2 ชั่วโมง หอยนางรมได้ปล่อยเซลสืบพันธุ์ออกมาในวันเดียวกัน ซึ่งสังเกตเห็นได้จากน้ำทะเลจะเปลี่ยนจากใสเป็นน้ำขาวขุ่น หลังจากนั้นแยกหอยนางรมพ่อแม่พันธุ์ออกจากถัง ทำการถ่ายน้ำให้น้ำไหลผ่านถุงกรองขนาด 80, 69 และ 33 ไมครอน โดยส่วนที่ติดค้างอยู่บนถุงกรองขนาด 80 และ 69 ไมครอน จะเป็นสิ่งสกปรกอื่น ๆ ให้ทิ้งไป เหลือแต่ไข่หอยนางรมที่ปฏิสนธิแล้ว ค้างอยู่บนถุงกรองขนาด 33 ไมครอน ในส่วนสเปิร์มของตัวผู้ที่เหลือจะรอดผ่านถุงกรองไป เพราะเชื้อสเปิร์มหอยนางรมดังกล่าวมีขนาดเล็กมาก ก่อนนำไข่ลงอนุบาลในถังเลี้ยงขนาด 1 ตันที่ได้เตรียมน้ำทะเลสะอาดไว้แล้ว ให้อากาศเบา ๆ

3. <u>การอนุบาลลูกหอยนางรมวัยอ่อน</u>

ภายหลังจากที่ไข่ผ่านการปฏิสนธิเรียบร้อยแล้ว จะมีการพัฒนาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปตามวันและเวลา (ดังแสดงในตารางที่ 2 หน้า 10) ทำการเปลี่ยนน้ำวันเว้นวัน วิธีการเปลี่ยนน้ำจะกรองลูกหอยนางรมผ่านชุดของถุงกรอง โดยให้ขนาดของถุงกรองที่มีขนาดใหญ่อยู่บนสุด ซึ่งชั้นล่างสุดจะเป็นถุงกรองที่มีขนาดตาเล็กที่สุด และขนาดตาของถุงกรองก็จะเปลี่ยนขนาดไปตามขนาดของลูกหอยนางรมที่โตขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้น ทุกครั้งเมื่อกรองลูกหอยนางรมได้แล้วก็นำลูกหอยนางรมดังกล่าวใส่ลงในถังพลาสติก ความจุปริมาตร 10 ลิตร ทำการสุ่มจำนวนลูกหอยนางรม และดองฟอร์มาลิน 5% เก็บไว้วัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนลูกหอยนางรมที่เหลือนำกลับไปเลี้ยงในถังเลี้ยงขนาด 1 ตันที่ผ่านการขัดทำความสะอาดและเปลี่ยนน้ำไว้แล้วตามเดิม

ส่วนของอาหารที่ให้แก่ลูกหอยนางรมในระยะวัยอ่อนนั้น เป็นสาหร่ายเซลเดียวชนิด <u>Isochrysis</u> sp. เป็นแพลงตอนพืชสีน้ำตาล โดยเริ่มให้ลูกหอยตั้งแต่ระยะ D - shaped เป็นต้นมา ให้วันละ 2 มื้อคือมื้อเช้าและเย็นในปริมาณที่มากเกินพอ (สังเกตจากสีน้ำที่ใช้เลี้ยงจะเป็นสีน้ำตาลจาง ๆ)

วัสดุที่ล่อให้ลูกหอยนางรมปากจีบลงเกาะในการทดลองนี้คือ เปลือกหอยนางรมป่น ข้อดีของการใช้เปลือกหอยนางรมป่น เป็นวัสดุเพื่อล่อให้ลูกหอยนางรมลงเกาะคือ ขนาดของวัสดุล่อมีขนาดเล็กและมีพอดีกับลูกหอยนางรมเพียง 1 - 2 ตัวเท่านั้น วิธีการนี้จะทำให้ได้ลูกหอยนางรมวัยเกล็ดมีลักษณะเป็นตัวเดี่ยว (single spat) ซึ่งช่วยแก้ปัญหาการแก่งแย่งพื้นที่เกาะ ประหยัดวัสดุที่ใช้ในการล่อและลูกหอยนางรมที่ได้จะมีการเจริญเติบโตในรูปทรงที่ดี ง่ายต่อการจัดการด้านอื่นๆ อีกด้วย เช่น การวัดขนาด การติดเบอร์หอย เป็นต้น ในต่างประเทศหอยนางรม

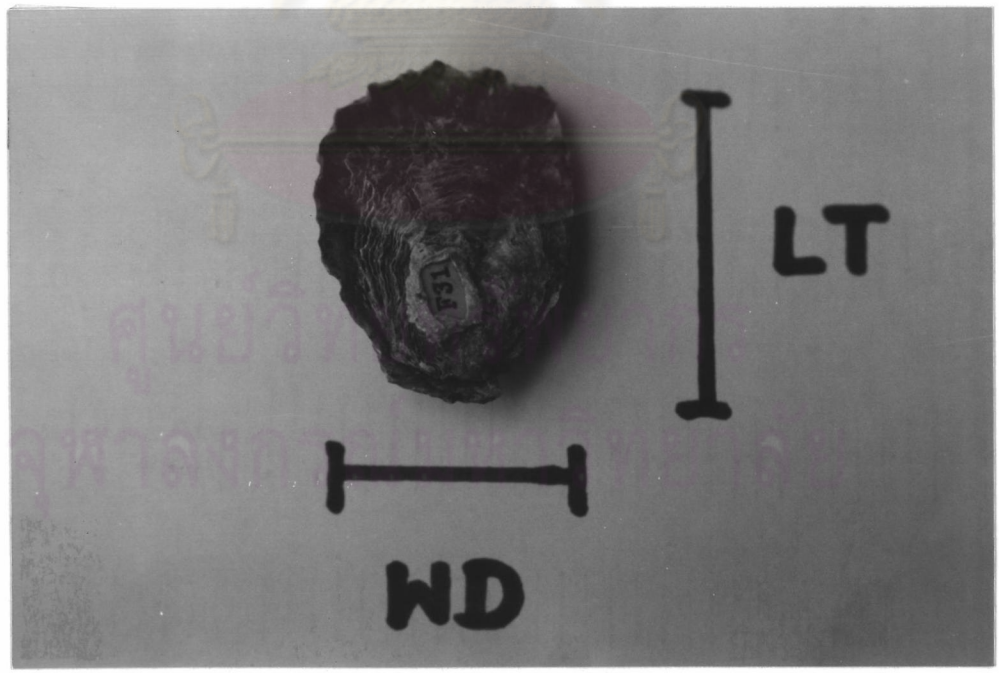
ที่มีลักษณะดังกล่าวจะขายได้ในราคาที่สูงกว่าหอยนางรมรูปทรงบิดเบี้ยว (กรมประมง, 2536)

วิธีการเตรียมวัสดุเพื่อใช้ล่อให้ลูกหอยนางรมวัยอ่อนลงเกาะ ทำได้โดยเลือกเปลือกหอยนางรมที่สะอาดมาตำด้วยครกหินให้ละเอียด แล้วกรองผ่านตะแกรงขนาด 500 และ 200 ไมครอน โดยเลือกเอาเฉพาะเปลือกหอยป่นที่ค้างอยู่บนตะแกรง 200 ไมครอน (เปลือกหอยป่นที่ได้จะมีขนาดอยู่ในช่วง 200 - 300 ไมครอน) นำมาโรยบนกะบะที่ทำด้วยไม้เปลือกแข็ง ตีกรอบเป็นรูปสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาด 30 x 30 ตารางเซนติเมตร ส่วนพื้นของกรอบเป็นผ้ากรองไนล่อนขนาดตา 200 ไมครอน โรยเปลือกหอยป่นบางๆ ล้างด้วยน้ำทะเลที่สะอาดก่อนนำไปใช้ หลังจากเปลี่ยนน้ำครั้งสุดท้ายที่หอยนางรมอายุประมาณ 23 วัน (พิจารณาจากลูกหอยนางรมส่วนใหญ่อยู่ในระยะ eyed-larvae) นำลูกหอยนางรมที่กรองติดบนผ้ากรองมาโรยบนเปลือกหอยป่นที่เตรียมไว้ดังกล่าว โดยใส่ลูกหอยนางรมลงกะบะในปริมาณที่ไม่แน่นจนเกินไป ลอยกะบะที่ใส่ลูกหอยนางรมดังกล่าวอยู่ในถังอนุบาลตามเดิม และให้อากาศเบา ๆ ในช่วง 2 - 3 วันแรก เนื่องจากลูกหอยนางรมยังเกาะกับวัสดุไม่แน่นพอ ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำวันเว้นวันเช่นเดิม

หอยนางรมวัยเกล็ด (หอยนางรมหลังจากลงเกาะแล้ว จะเรียกหอยนางรมในระยะนี้ว่า หอยนางรมวัยเกล็ด; spat) และตลอดการทดลองครั้งนี้ จะเริ่มนับอายุหอยนางรมตั้งแต่หลังลงเกาะเป็นวันแรก หลังจากเลี้ยงในกะบะเป็นเวลา 7-10 วัน หอยนางรมอายุ 7-10 วันดังกล่าวจะมีขนาดของหอยนางรมวัยเกล็ดจะโตขึ้นมากพอที่จะคัดขนาดขึ้นกะบะ ที่มีตาอวนใหญ่ขึ้นวิธีการคัดขนาด (grade) นี้จะช่วยคัดหอยนางรมที่ตาย และเปลือกหอยป่นที่เหลือจากการเกาะทิ้งไป จะเหลือเพียงแต่หอยนางรมวัยเกล็ดยังมีชีวิต และเติบโตขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นการรักษาความสะอาดของสภาพแวดล้อมในกะบะแก่หอยนางรม อีกทั้งยังทำให้อากาศและอาหารผ่านกะบะได้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย การให้อาหารในระยะนี้ให้วันละ 2 - 3 มื้อ อาหารที่ให้จะเป็นแพลงค์ตอนพืชที่ขนาดโตขึ้น เช่น Chaetoceros sp. ภายหลังอาจให้ Tetraselmis sp. ซึ่งเป็นแพลงตอนพืชสีเขียวเสริมเป็นบางเวลา อาหารจะให้ในปริมาณที่พอเหมาะ (ดูจากสีน้ำที่เข้มเล็กน้อย) หอยนางรมในกะบะจะได้รับอาหารตลอดเวลา โดยการผ่านท่อพีวีซีที่ยกงอขึ้นมา 2 ข้างของกะบะ น้ำที่มีสาหร่ายดังกล่าว จะถูกนำผ่านท่อโดยอากาศเป็นตัวนำ (air-lift) ทำการเลี้ยงเช่นนี้ โดยมีการคัดขนาดและเปลี่ยนภาชนะที่ใช้เลี้ยงหอยนางรมวัยเกล็ดให้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นตามความเหมาะสม ในระหว่างที่เลี้ยงอยู่ในโรงเพาะพักเป็นเวลา 1.5 - 2 เดือน จนหอยนางรมวัยเกล็ดมีขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร นำลูกหอยนางรมวัยเกล็ดทั้งหมดใส่อวนตาข่ายพลาสติกขนาดตาอวน 4 มิลลิเมตร เย็บเป็นถุงขนาด 45 x 45 ตารางเซนติเมตร (ในที่เรียกนี้จะแทนถุงอวนตาข่ายพลาสติกที่มีขนาดดังกล่าวว่า ถุงอวน) โดยกระจายหอยนางรมวัยเกล็ดถุงอวนละประมาณ 500 ตัว นำไปแขวนเลี้ยงบนห้างไม้ไผ่ บริเวณที่น้ำขึ้นน้ำลงในทะเล ที่คลองบางโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

4. <u>การติดเบอร์และการเลี้ยงหอยนางรมปากจีบในทะเล</u>

หอยนางรมชุดดังกล่าวเมื่อเลี้ยงในทะเล จนได้ขนาดที่ติดเบอร์ได้สะดวก (ขนาดประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร) ได้ถูกนำกลับมายังโรงเพาะฟักในวันที่ 4 กรกฎาคม 2534 แล้วสุ่มหอยนางรมทั้งหมด 1,100 ตัว ทำการติดเบอร์โดยใช้ตัวอักษรนูนพลาสติก (Dymo tape) สีน้ำเงิน จัดชุดอักษรปนตัวเลขตั้งแต่ 000 ถึง 099 เป็นชุดที่หนึ่ง ไล่อักษรและตัวเลขในทำนองเดียวกัน ในชุด A จนถึง K จะได้ทั้งหมด 11 ชุด ชุดละ 100 ตัวติดเบอร์หอยนางรมเป็นรายตัว (individual tag) บนเปลือกขวาด้านฝาปิดเปิดของหอยนางรมด้วยกาวซีเมนต์ (Underwater Bond E830) ทำการวัดขนาดโดยใช้ระยะแนวเส้นตรงจากปลาย umbo (anterior end) ไปยังส่วนท้าย (posterior end) เป็นความยาวเปลือก ส่วนแนวตั้งฉากกับเส้นแนวความยาวที่มีความยาวมากที่สุดใช้เป็นความกว้างของเปลือก วัดค่าดังกล่าวด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 6 และชั่งน้ำหนักหอยนางรมด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า (รุ่น IBROR EB - 430D) จัดหอยนางรมที่ถูกติดเบอร์และวัดขนาดแล้วเรียบร้อย ใส่ลงในถุงอวนจะได้ทั้งหมด 11 ถุงอวน ถุงอวนละ 100 ตัว นำกลับไปเลี้ยงในทะเลแหล่งเดิม ทำความสะอาดโดยการเขย่าถุงอวน ทุกอาทิตย์



รูปที่ 6 แสดงลักษณะภายนอกของหอยนางรมปากจีบ (<u>Saccostrea cucullata</u>) กับแนวการวัดค่าความยาวเปลือก (LT) ความกว้างเปลือก (WD) และการติดเบอร์

การเพาะพันธุ์ลูกหอยนางรมรุ่นที่ 2

หอยนางรมรุ่น F1 ทั้งหมด 11 ถุงอวน เมื่ออายุครบ 14 เดือน ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2535 ถูกนำกลับมายังโรงเพาะฟัก ทำความสะอาดหอยนางรม วัดขนาดและชั่งน้ำหนักทั้งเปลือกเรียบร้อยแล้ว คัดเลือกน้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมที่จะเป็นตัวแทนการเติบโต เนื่องจากหอยทุกตัวแม้จะเลี้ยงในบริเวณเดียวกันก็ตาม แต่ก็อาจมีความแตกต่างของสิ่งแวดล้อมระหว่างถุงอวนได้ จึงเทียบหอยนางรมทั้ง 11 ถุงอวน ดังกล่าวในรูปคะแนนมาตรฐาน (standard score) เพื่อใช้ในการเลือกหอยนางรมจึงจะได้ตัวแทนที่ดีที่สุด ทำการเลือกกลุ่มหอยนางรมที่เติบโตดีที่สุด เติบโตปานกลาง และเติบโตช้าที่สุด ใน ถุงอวน ดังกล่าว แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเป็นลูกหอยนางรมรุ่นที่ 2 ทั้งหมด 3 กลุ่ม

1. ขั้นตอนคัดเลือกหอยนางรม

การคำนวณคะแนนมาตรฐาน (Standard score) (Newkirk และ Haley, 1982) หาได้จาก

$$\text{คะแนนมาตรฐาน} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของกลุ่ม - ค่าเฉลี่ยของประชากร}}{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}} \quad \text{.....(ก)}$$

จากการเลี้ยงทั้งหมด 11 ถุงอวน โดยที่แต่ละถุงอวนก็จะมีค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของถุงอวนนั้นๆ เพราะฉะนั้นมี 11 ถุงอวน ก็จะมีค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11 ค่าเช่นกัน ซึ่งหอยนางรมแต่ละตัวสามารถนำมาหาค่าคะแนนมาตรฐานในถุงอวนนั้นๆ ได้ดังนี้

ให้ M_{ij} เป็นค่าคะแนนมาตรฐานของหอยนางรมแต่ละตัวใน ถุงอวน j หลังจากนั้นก็นำมาหาค่า M_{ij} ในแต่ละถุงอวน จะได้ว่า

$$M_{ij} = \frac{X_{ij} - \overline{X_{.j}}}{SD_{.j}} \quad \text{.....(ข)}$$

M_{ij} = คะแนนมาตรฐานของหอยนางรมแต่ละตัวใน ถุงอวนที่ j

X_{ij} = ค่าจริงที่ได้จากการวัดของประชากรหอยนางรมในถุงอวนที่ j

$\overline{X_{.j}}$ = ค่าเฉลี่ยของหอยนางรมใน ถุงอวน j

$SD_{.j}$ = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ถุงอวน ที่ j

จากสมการ (ข) เปลี่ยนเป็น

$$\overline{X_{.j}} = X_{ij} - \left(M_{ij}\right)\left(SD_{.j}\right) \quad \text{.....(ค)}$$

แทนค่าสมการ (ค) ลงในสมการ (ก) จะได้สมการใหม่ดังนี้

$$S_{ij} = \frac{\left[X_{ij} - \left(M_{ij}\right)\left(SD_{.j}\right)\right] - \overline{X}}{SD} \qquad \text{.....(ง)}$$

S_{ij} = คะแนนมาตรฐานของหอยนางรมเป็นรายตัว ตัวที่ i ใน ถุงอวน ที่ j

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยประชากรทั้งหมด

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานประชากรทั้งหมด

จากสมการ (ง) เมื่อแทนค่าน้ำหนักทั้งเปลือกที่วัดได้แต่ละตัวในแต่ละถุงอวนลงในสมการดังกล่าว ก็จะหาค่าคะแนนมาตรฐานของน้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมแต่ละตัวได้จากค่านี้เองนำมาเรียงลำดับ ก็จะสามารถคัดเลือกหอยนางรมที่มีการเติบโตสูงสุด 5% โดยประมาณ การเติบโตปานกลาง 5% โดยประมาณ การเติบโตต่ำสุด 5% โดยประมาณได้ตามที่ต้องการ

2. <u>การเหนี่ยวนำให้ปล่อยเซลสืบพันธุ์และการอนุบาลลูกหอยนางรมวัยอ่อนในรุ่น F2</u>

เนื่องจากการกำหนดให้หอยนางรมที่ถูกคัดเลือกทั้ง 3 กลุ่ม ให้ปล่อยเซลสืบพันธุ์พร้อมกันเป็นเรื่องที่ควบคุมได้ยาก จึงสุ่มหอยนางรมในรุ่นเดียวกัน ที่เลี้ยงในบริเวณเดียวกัน แต่ไม่อยู่ในกลุ่ม 11 ถุงอวน มาผ่าตรวจสอบดูว่าหอยนางรมชุดดังกล่าวมีการพัฒนาการเซลสืบพันธุ์เต็มที่แล้วหรือไม่ หอยนางรมมีไข่หรือสเปิร์มที่สมบูรณ์ดีจะมีลักษณะของอวัยวะรังไข่เต่งตึง และมีสีครีมเห็นได้ชัดเจน เมื่อรีดเบา ๆ แตะบนสไลด์ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยไข่ที่สมบูรณ์จะมีรูปร่างค่อนข้างรี และมีขนาดใกล้เคียงกันคือประมาณ 40 - 50 ไมครอน และเมื่อถูกน้ำทะเล ไข่จะมีรูปร่างกลมขึ้น ส่วนสเปิร์มก็ต้องเคลื่อนไหวว่ายน้ำตลอดเวลา เมื่อตรวจสอบดูแล้วพบว่าหอยนางรมชุดนี้มีความพร้อมเต็มที่ ก็ทำการผสมเทียมหอยนางรมโดยการผ่า (Sacrification Method) (เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์, 2528) จากหอยนางรมรุ่น F1 ทั้ง 11 ถุงอวนในเดือนมกราคม พ.ศ. 2535 ผ่านการเทียบหาค่าคะแนนมาตรฐาน โดยน้ำหนักทั้งเปลือกแล้วจะได้หอยนางรมที่ถูกคัดเลือกเป็นชุดที่มีการเติบโตดีที่สุดก็คือให้คะแนนมาตรฐานสูงสุด การเติบโตปานกลาง (อยู่ที่ค่าเฉลี่ยของคะแนนมาตรฐาน)และการเติบโตที่ช้าที่สุดคือให้คะแนนมาตรฐานต่ำที่สุดทั้งหมด 3 กลุ่ม

ในวันที่ 10 กรกฎาคม 2535 จากหอยนางรมทั้ง 3 กลุ่มที่คัดเลือกดังกล่าวทำการผ่าทีละกลุ่ม ในแต่ละกลุ่มเมื่อผ่าแล้วแยกตัวผู้และตัวเมียใส่คนละถังก่อน เมื่อผ่าเสร็จหมดทั้งชุดเรียบร้อยแล้วจึงเทผสมระหว่างตัวผู้และตัวเมีย ทิ้งไว้สักครู่ประมาณ 10 - 15 นาที แล้วทำการ

การกรองผ่านชุดถุงกรอง แล้วนำลงเลี้ยงในถังต้นอนุบาล แยกเลี้ยงกันกลุ่มละถัง ในแต่ละขั้นตอนมีการระวังการปนเปื้อนและความสะอาดเป็นอย่างดี (วิธีการรวบรวมไข่ที่ปฏิสนธิแล้วและการเลี้ยงในโรงเพาะฟัก ใช้วิธีการเดียวกันกับ F1 ทุกประการ จะแตกต่างกันก็เพียงในรุ่น F1 เลี้ยงแค่ 1 ถัง แต่รุ่น F2 จะเลี้ยง 3 ถัง ในเวลาเดียวกันสุ่มตัวอย่างและวัดขนาดทุกครั้งที่มีการถ่ายน้ำเช่นกัน

3. <u>การอนุบาลลูกหอยนางรมวัยเกล็ดรุ่น F2</u>

หอยนางรมวัยเกล็ดทั้ง 3 กลุ่ม ถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันโดยตลอด มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในวันเดียวกัน ล่อให้ลูกหอยนางรมลงเกาะด้วยเปลือกหอยป่นเช่นเดียวกัน ในวันที่ 31 กรกฎาคม 2534 การเลี้ยงในระยะวัยเกล็ดนี้ทำวิธีเดียวกันกับรุ่น F1 แต่แยกเลี้ยงแต่ละกลุ่ม กลุ่มละกะบะไม่ปนกัน ในปริมาณความหนาแน่นที่ถูกปรับให้ใกล้เคียงกัน และอนุบาลในถังเลี้ยงขนาด 3 ตันใบเดียวกัน เพื่อให้อยู่ในสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกัน

หลังจากเลี้ยงหอยนางรมวัยเกล็ดในโรงเพาะฟัก จนมีอายุครบ 3 เดือนในเดือนตุลาคม 2535 จะมีขนาดประมาณ 1 - 2 เซนติเมตร สุ่มหอยนางรมดังกล่าวมาติดเบอร์เป็นรายตัว กลุ่มละ 400 ตัว ก่อนถูกนำออกไปเลี้ยงในทะเลต่อไป

4. <u>การติดเบอร์หอยนางรมรุ่น F2 และการเลี้ยงในทะเลที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ กัน</u>

4.1 วิธีการติดเบอร์หอยนางรมทั้ง 3 กลุ่ม

ให้รหัสแทนกลุ่ม F2 ที่พ่อแม่รุ่น F1 ถูกคัดเลือกเป็นกลุ่มที่มีการเติบโตสูงสุด เป็น H (High) เรียกแทนกลุ่มนี้ว่า กลุ่มโตเร็ว

ให้รหัสแทนกลุ่ม F2 ที่พ่อแม่รุ่น F1 ถูกคัดเลือกเป็นกลุ่มที่มีการเติบโตปานกลางเป็น C (Control) เรียกแทนกลุ่มนี้ว่า กลุ่มโตปานกลาง

ให้รหัสแทนกลุ่ม F2 ที่พ่อแม่รุ่น F1 ถูกคัดเลือกเป็นกลุ่มที่มีการเติบโตต่ำสุด เป็น L (Low) เรียกแทนกลุ่มนี้ว่า กลุ่มโตช้า

และกำหนดให้แถบพลาสติกอักษรนูนที่ใช้แต่ละกลุ่มมีคนละสีดังนี้คือ กลุ่มโตเร็ว กลุ่มโตปานกลาง และ กลุ่มโตช้า เป็นสีเหลือง สีทอง และสีม่วง ตามลำดับ และในแต่ละชุดสีจะวิ่งตัวอักษรตรงกับตัวเลขที่เหมือนกัน ส่วนการติดเบอร์ใช้กาวซีเมนต์ติดบนเปลือกหอยนางรมด้านซ้าย (ด้านล่าง) วิธีการติดเบอร์ทำเช่นเดียวกันกับการติดเบอร์ในรุ่น F1

ต่อไปนี้ ในการกล่าวถึงหอยนางรม รุ่นที่ 2 ที่ถูกคัดเลือกให้เป็นกลุ่มที่มีการเติบโตสูงสุด การเติบโตปานกลาง และการเติบโตต่ำสุด จะเรียกเป็น กลุ่มโตเร็ว กลุ่มโตปานกลาง และ กลุ่มโตช้า เป็นตัวแทนกลุ่มดังกล่าว ตลอดทั้งการทดลองในครั้งนี้

4.2 การบรรจุหอยนางรมแต่ละกลุ่มลงในถุงอวน

วิธีการบรรจุหอยนางรมแต่ละกลุ่มลงในถุงอวนที่มีความหนาแน่น 50, 150, 300 และ 600 ตัวต่อ ถุงอวน ทำได้ดังนี้คือ

ที่ระดับความหนาแน่น 50 ตัวต่อถุงอวน บรรจุหอยนางรมที่ติดเบอร์ทุกตัว ถุงอวนละ 50 ตัว แยกเลี้ยงตามกลุ่ม กลุ่มละ 2 ถุงอวน

ระดับความหนาแน่น 150 ตัวต่อถุงอวน บรรจุหอยนางรมที่ติดเบอร์ทุกตัวกลุ่มละ 50 ตัว เลี้ยงรวมในถุงอวนเดียวกัน ทำเช่นเดียวกัน 2 ถุงอวน

ระดับความหนาแน่น 300 ตัวต่อถุงอวน บรรจุหอยนางรมที่ติดเบอร์ทุกตัวกลุ่มละ 50 ตัว และเติมหอยนางรมที่ไม่ได้ติดเบอร์แต่มีขนาดใกล้เคียงกัน ลงเพิ่มอีก 150 ตัวเลี้ยงรวมใน ถุงอวนเดียวกัน ทำเช่นเดียวกัน 2 ถุงอวน

ระดับความหนาแน่น 600 ตัวต่อถุงอวน บรรจุหอยนางรมที่ติดเบอร์ทุกตัวกลุ่มละ 50 ตัว และเติมหอยนางรมที่ไม่ได้ติดเบอร์แต่มีขนาดใกล้เคียงกัน ลงเพิ่มอีก 450 ตัวเลี้ยงรวมใน ถุงอวนเดียวกัน ทำเช่นเดียวกัน 2 ถุงอวน

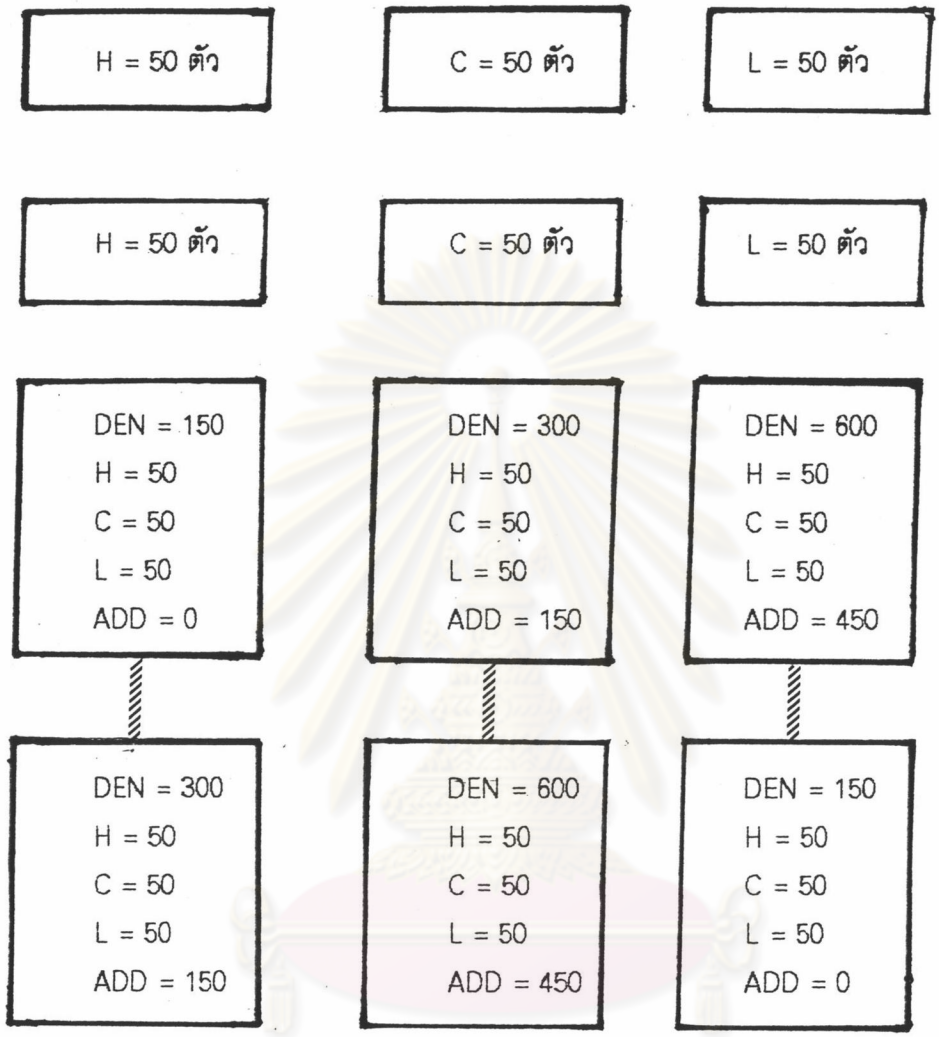
โดยมีลักษณะการแขวนในทะเลดังนี้

ถุงอวนที่มีความหนาแน่น 50 ตัวต่อ ถุงอวน จะแขวนแยกเป็นถุงอวนเดี่ยว ๆ

ถุงอวนที่มีความหนาแน่น 150, 300 และ 600 ตัวต่อ ถุงอวน จะแขวนโดยผูกติดกันชุดละ 2 ถุงอวน มีระยะห่างระหว่างถุงอวนประมาณ 20 เซนติเมตร ส่วนรูปแบบการผูกติดกันดูได้จากแผนภาพในรูปที่ 7

4.3 การเลี้ยงในทะเล

เมื่อต้นเดือนพฤศจิกายน 2535 (หอยนางรมมีอายุประมาณ 3 เดือน) หลังจากที่ติดเบอร์หอยนางรมแต่ละกลุ่ม และบรรจุลงในแต่ละถุงอวนด้วยความหนาแน่นที่แตกต่างกันแล้วเรียบร้อย นำลงไปเลี้ยงในทะเลที่คลองบางโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (เป็นสถานที่ที่เคยเลี้ยงรุ่น F1 มาแล้ว) ทำความสะอาดเป็นประจำทุกอาทิตย์ นำขึ้นมายังโรงเพาะพักทำความสะอาดหอยนางรมที่ติดเบอร์ทุกตัว วัดขนาด และชั่งน้ำหนักทุกๆ เดือน โดยคัดหอยนางรมที่ตายออกเป็นระยะเวลาทั้งหมด 6 เดือน แล้วนำค่าต่าง ๆ ที่ได้มาคำนวณ เพื่อดูผลกระทบของความหนาแน่นที่มีต่อการเติบโต และอัตราการรอด สำหรับการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมประจักษ์ต่อการเติบโตจะใช้น้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมเมื่อมีอายุได้ 15 เดือนมาใช้ในการคำนวณ โดยใช้เฉพาะค่าดังกล่าวที่ระดับความหนาแน่น 50 และ 150 ตัวต่อถุงอวนมาทำการคำนวณ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7 แผนภาพแสดงการบรรจุหอยนางรมปากจีบแต่ละกลุ่มในถุงอวนด้วยความหนาแน่นต่าง ๆ กัน

โดยที่ DEN หมายถึง ระดับความหนาแน่นตัวต่อถุงอวน

H " หอยนางรมกลุ่มโตเร็วที่ถูกติดเบอร์

C " หอยนางรมกลุ่มโตปานกลางที่ถูกติดเบอร์

L " หอยนางรมกลุ่มโตช้าที่ถูกติดเบอร์

ADD " หอยนางรมที่ใช้เติมให้ครบจำนวนแต่ไม่ได้ถูกติดเบอร์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

- การวิเคราะห์ค่าสถิติพื้นฐานต่างๆ

- การคัดเลือกกลุ่มเป็นกลุ่มโตเร็ว กลุ่มโตปานกลาง และ กลุ่มโตช้า ในรุ่น F1 จากคะแนนมาตรฐาน

- การหาสมการการเติบโตที่เหมาะสมและดีที่สุดจากสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) ที่คำนวณได้จากตัวอย่าง หาได้จากสมการทั่วไปดังนี้คือ

$$Y = a + bX$$

Y = ค่าตัวแปรตามในการทดลองครั้งนี้หมายถึง ค่าความยาวเปลือกหรือน้ำหนักทั้งเปลือก

a = ค่าซึ่งตัดแกน Y

b = ค่าความชันของเส้นตรง

X = ตัวแปรอิสระ ในที่นี้หมายถึงระยะเวลาที่ทำการเลี้ยงเป็นวัน หรือเดือน

- การเปรียบเทียบสมการการเติบโตใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of Covariance)

- การเปรียบการเติบโตของหอยนางรมที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นที่แตกต่างกัน หาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยสมการที่ใช้เป็นแบบ Fixed Model ที่มี 2 หรือ 3 ปัจจัย แล้วแต่จำนวนปัจจัยที่เข้ามาเกี่ยวข้อง โดยมีสมการทั่วไปดังนี้

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + e_{ijk}$$

X_{ijk} = ค่าน้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมใดๆ ในถุงอวน i ที่ความหนาแน่น j และกลุ่มคัดเลือก k

μ = ค่าเฉลี่ยที่แท้จริงของน้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมทั้งหมด

α_i = ค่าเบี่ยงเบนที่เกิดจากถุงอวน

β_j = ค่าเบี่ยงเบนที่เกิดจากความหนาแน่น

γ_k = ค่าเบี่ยงเบนที่เกิดจากกลุ่มคัดเลือก

e_{ijk} = ค่าความผิดพลาดที่ถุงอวน i ความหนาแน่น j และกลุ่มคัดเลือก k ซึ่งมีการแจกแจงแบบปกติ

ในการเปรียบเทียบการเติบโตของหอยนางรมกลุ่มคัดเลือกที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ เปรียบเทียบในรูปของน้ำหนักทั้งเปลือกจำเพาะ(GWT) ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$GWT = \frac{WT9 - WT3}{WT3}$$

GWT = น้ำหนักทั้งเปลือกจำเพาะ

$WT9$ = น้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมที่อายุ 9 เดือน

$WT3$ = น้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมที่อายุ 3 เดือน

เพื่อเป็นการลดความแตกต่างของน้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมกลุ่มคัดเลือกในเดือนที่ 3 (อายุ 3 เดือน) จึงทำการทดสอบความแตกต่างของการเติบโต เพื่อดูผลกระทบต่อกลุ่มคัดเลือกที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ โดยใช้การวิเคราะห์แบบความถดถอยพหุคูณ (multiple regression) โดยมีโมเดลที่ใช้ทดสอบเต็มรูปแบบดังนี้คือ

GWT = CONSTANT+WT3+NET+DEN+CODE+NET*DEN+NET*CODE+DEN*CODE

GWT = น้ำหนักทั้งเปลือกจำเพาะ

WT3 = น้ำหนักทั้งเปลือกของหอยนางรมที่อายุ 3 เดือน

NET = ถุงอวนที่ซ้ำ

DEN = ระดับความหนาแน่นต่างๆ

CODE = หอยนางรมกลุ่มคัดเลือก

เมื่อผลการทดสอบค่า p ที่ได้ >0.05 (แสดงว่าปัจจัยนั้นไม่เกี่ยวข้องกับ GWT) จึงตัดปัจจัยนั้นออกไป แล้วทดสอบเฉพาะปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่เหลือ

- การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอด ทำได้โดยแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การรอด (Sokal และ Rohlf, 1981) ให้อยู่ในรูป arcsine transformation นั่นคือ

$$sur = \arcsin\sqrt{P}$$

sur = เปอร์เซนต์การรอดที่ถูกแปลงค่า

P = เปอร์เซนต์การรอด

หลังจากนั้นก็เปรียบเทียบ sur ในแต่ละความหนาแน่น หรือแต่ละกลุ่มได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว

I14152392.

- ในการเปรียบเทียบหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งหมด โปรแกรมซอฟแวร์สำเร็จรูปที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ที่ได้กล่าวมาทั้งหมดคือ โปรแกรม SYSTAT (Wilkilnson, 1987)

<u>การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมประจักษ์</u>

หอยนางรมรุ่น F2 ที่ อายุ 15 เดือน (เดือน ตุลาคม 2536) ที่ระดับความหนาแน่น 50 และ 150 ตัวต่อถุงอวน ถูกนำกลับมายังโรงเพาะพักทำความสะอาด และวัดขนาดชั่งน้ำหนักทุกตัว ทำการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมประจักษ์ (Falconer, 1989) ในการเติบโต (ในที่นี้จะใช้น้ำหนักทั้งเปลือกเป็นตัวแทน) ตามสมการ

$$h^2 = R/S$$

โดยที่ h^2 คือ อัตราพันธุกรรมประจักษ์

R คือ ผลตอบสนองต่อการคัดเลือกพันธุ์

S คือ ความแตกต่างซึ่งเกิดจากการคัดเลือก

R หาได้จากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักทั้งเปลือก ในแต่ละกลุ่มที่ถูกคัดเลือกจากการเทียบกับคะแนนมาตรฐานในรุ่น F2 ในแต่ละความหนาแน่น

S หาได้จากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักทั้งเปลือก ที่ถูกคัดเลือกในแต่ละกลุ่มจากการเทียบกับคะแนนมาตรฐานในรุ่น F1 ในแต่ละความหนาแน่น

จากคุณสมบัติของ S และ R ที่หาได้จากการเทียบกับค่าคะแนนมาตรฐานทำให้ค่า S ถูกปรับอยู่ในรูปของค่าความแตกต่างของการคัดเลือกมาตรฐาน(standardized selection differential ; S / σ_p) แล้วเรียบร้อย และค่าดังกล่าวที่ได้เรียกว่า ความเข้มข้นของการคัดเลือก (selection intensity ; i) และ R ก็อยู่ในรูปของคะแนนมาตรฐาน (R /σ_p) เช่นเดียวกัน

ดังนั้น สามารถคาดเดา R (expected response) ในรุ่นต่อไปได้จาก

$$R = S.h^2$$

เพื่อเป็นการแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการคัดเลือก ผลตอบสนองของการคัดเลือกจึงแสดงต่อหน่วยเวลา (ต่อปี) ดังนี้

$$R / \text{ปี} = S. h^2 / L$$

L = ช่วงของชั่วอายุคิดเป็นปี (ดูจากค่าเฉลี่ยของอายุพ่อและแม่ ซึ่งให้ลูกใช้สำหรับทำพันธุ์ในชั่วต่อไป)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย