อุปกรณ์และวิธีการศึกษาทดลอง

การศึกษาทดลองให้อาหารสมทบแก่กุ้งแชบ๊วยขาวในบ่อทดลองเลี้ยง ภายในเวลาทั้งหมด 24 สัปดาห์ คือ เริ่มตั้งแต่ 14 มกราคม - 30 มิถุนายน พ.ศ.2514 ได้ดำเนินการที่นากุ้งทดลองของหน่วยงานอนุรักษ์และส่งเสริมสัตว์น้ำอื่น ๆ กรมประมง ซึ่งอยู่ที่ ต.โคกขาม จ.สมุทรสาคร

1. การจัดเตรียมคอกทดลองเลี้ยง ก่อนที่จะดำเนินการทดลอง ได้ทำการขุดลอกเลนและตากบ่อประมาณ 15 วัน เพื่อกำจัดศัตรูที่หลบซ่อนอยู่ตามพื้นโคลนในนา จัดเตรียมคอกสำหรับทดลองเลี้ยงกุ้งจำนวน 4 คอก โดยแต่ละคอกมีขนาดกว้าง 4 เมตร ยาว 4 เมตร และลึก 1.5 เมตร ใช้เฝือกตาถี่ซึ่งทำด้วยไม้ไผ่สานกัน ความกว้างของไม้ไผ่แต่ละซี่ประมาณ 0.5 - 1.0 ซม. ล้อมบริเวณชั้นนอกเพื่อป้องกันสัตว์อื่นเข้ามาทำลายเนื้ออวน อวนนี้เป็นอวนตาถี่โดยมีขนาดตาอวน (stretched mesh) 3 มม. บุแต่ละคอกทั้ง 5 ด้านอยู่ (รูปที่ 3 และ 4) แล้วจึงเริ่มทำการสูบน้ำ การสูบน้ำจะทำทุกวันในขณะที่น้ำขึ้นเต็มที่ โดยใช้เครื่องยนต์ฉุดระหัดดึงน้ำจากคลองพิทยาลงกรณ์ ส่งน้ำเข้านาตามคันดินส่งน้ำ เพื่อให้กุ้งได้รับน้ำใหม่และทดแทนที่ระเหยไป รวมทั้งที่รั่วตามประตูที่กั้นน้ำ (รูปที่ 5 และ 6)

2. กุ้งที่ใช้ในการทดลอง จัดหาลูกกุ้งแชบ๊วยขาว (*Penaeus merguiensis* de Man) (รูปที่ 1) ขนาดตั้งแต่ 5.0 - 7.0 ซม. จำนวน 400 ตัว เพื่อใช้ในการทดลอง โดยแยกเลี้ยงคอกละ 100 ตัว ซึ่งรวบรวมมาจากนากุ้งของผู้ที่ประกอบอาชีพการเลี้ยงกุ้งในบริเวณใกล้เคียงนั้น จัดเตรียมอุปกรณ์ในการชั่ง-วัดขนาดของกุ้งที่ทดลองเลี้ยง โดยทำการชั่งน้ำหนักและวัดขนาดความยาวของกุ้งมีชีวิต พร้อมทั้งบันทึกผลการชั่ง-วัด

3. การดำเนินงาน

3.1 การให้อาหาร อาหารสมทบที่ใช้เลี้ยงกุ้ง ได้แก่ เนื้อหอยแครง (*Anadara* spp.) เนื้อหมึกกล้วย (*Loligo* spp.) และเนื้อปลาเป็ด (Srap-fish) (รูปที่ 2) ปลาเป็ดที่ใช้นี้เป็นปลาขนาดเล็ก ประกอบด้วย ปลาแป้น, สีกุน, ปากคม, โคก, หางแข็ง, หนวดพราหมณ์, ทรายแดง, ทู, จวด, ลิ้นหมา, กะตัก,

สะกะ, สามเงี่ยง, บู่, กด, ข้างเหลือง, กะบอก, และไส้กอ เป็นต้น อาหารชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้มาจากตลาดสดมหาชัย จ.สมุทรสาคร โดยไปซื้อมาประมาณ 1 สัปดาห์/ครั้ง และดองน้ำแข็งไว้ เนื่องจากนากุ้งทดลองอยู่ห่างไกลจากตลาดสด

นำอาหารชนิดต่าง ๆ มาจัดเตรียมให้กุ้ง กล่าวคือ หอยแครงนำมาผ่าแกะเนื้อออกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ หอยแครง 1 ก.ก. ได้น้ำหนักสุทธิเพียง 192.5 กรัม ส่วนหมึกกล้วยดึงแกนแข็ง, ถุงหมึกและนัยตาออกก่อน จากนั้น สับหรือหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ หมึก-กล้วย 1 ก.ก. ได้น้ำหนักสุทธิ 925.0 กรัม สำหรับปลาเป็ด ถ้าเป็นปลาที่มีขนาดเล็กมากก็สับทั้งตัวเลย แต่ถ้าเป็นปลาที่มีขนาดปานกลางก็ตัดหัวแล้วแล่เนื้อสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปลา-เป็ด 1 ก.ก. ได้น้ำหนักสุทธิ 725.0 กรัม

จากผลของการทดลองศึกษาเบื้องต้น ได้พบว่าสำหรับกุ้งขนาดที่ใช้เริ่มการทด-ลอง ควรให้อาหารประมาณ 15 % ของน้ำหนักกุ้งทั้งหมด โดยคำนึงว่า กุ้งที่ใช้ทดลองกินอาหารได้เต็มที่ คือ ให้มีเศษเหลือเพียงเล็กน้อย ซึ่งจะเป็นการป้องกันการสิ้นเปลืองเกินความจำเป็น และป้องกันมิให้มีผลทำให้น้ำเกิดเน่าเสียได้ ดังนั้น เปอร์เซนต์ของอาหารที่ให้จึงเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดระยะเวลาการทดลองระหว่าง 15 - 50 % (ตา - รางที่ 3)

สำหรับระยะเวลาที่ทำการให้อาหารสมทบนั้น ได้ดำเนินการในเวลา 16.00 น. ของทุกวัน โดยใส่ในกะบะพื้นบุด้วยอวนตาถี่ (รูปที่ 8) แล้วหย่อนลงไปในบ่อทดลอง การตรวจดูเศษอาหารที่เหลือตกค้างจะทำในวันรุ่งขึ้นเวลาเดียวกัน ก่อนที่จะทำการให้อาหารครั้งต่อไป ถ้ามีเศษอาหารเหลือก็เก็บทิ้ง เพื่อป้องกันไม่ให้เป็นบ่อเกิดของน้ำเสีย

3.2 <u>การตรวจสอบวัดขนาด</u> ตรวจวัดขนาดความยาวและชั่งน้ำหนักของกุ้งที่ทดลองทั้ง 4 บ่อเป็นประจำ โดยทำการชั่ง-วัด 2 สัปดาห์/ครั้ง การวัดความยาวนี้วัดแบบความยาวตลอดตัว (Total length) คือ วัดจากปลายสุดของกรี ถึง ปลายสุดของหาง (Telson) โดยพยายามยืดตัวกุ้งให้ตรงที่สุดทาบไปกับไม้วัด (รูปที่ 7) สำ-หรับการชั่งน้ำหนัก ได้ใช้กระดาษซับน้ำก่อนที่จะชั่งน้ำหนักกุ้ง บันทึกผลการชั่ง-วัดทุกครั้งเพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสมทบชนิดต่าง ๆ รวมทั้งพวกที่ไม่ได้ให้อาหารสมทบด้วย และพร้อมกันนี้ ได้ทำการตรวจนับจำนวนของกุ้งในแต่ละบ่อ

ควบคู่กันไปด้วย เพื่อนำไปศึกษาเกี่ยวกับอัตราการตาย ในการตรวจสอบครั้งหนึ่ง ๆ นั้น ถ้าพบสัตว์อื่นเข้ามาในบ่อทดลองเลี้ยง ก็ทำการชั่งน้ำหนักและบันทึกแล้วกำจัดเสีย กุ้งที่นำขึ้นมาตรวจสอบทุกครั้งจะดำเนินการอย่างรวดเร็ว ภาชนะที่ใส่กุ้งก่อนและหลังทำการชั่ง-วัดนั้น ใช้เครื่องพ่นอากาศช่วยเพิ่มออกซิเจนตลอดเวลา เพื่อป้องกันมิให้กุ้งอ่อนเพลียมากเกินไป อันจะทำให้เกิดผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรืออัตราการตายได้

3.3 <u>การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต</u>

3.3.1 <u>สมการการเจริญเติบโตเป็นความยาว</u> ใช้สมการการเจริญเติบโตของ เบอตาแลนฟี่ (von Bertalanffy Growth Equation) กล่าวคือ

$$l_{t+1} - l_t = L_\infty(1-e^{-k}) - l_t(1-e^{-k})$$

โดยกำหนดให้

l_t = ความยาวของกุ้งในระยะเวลา t

l_{t+1} = ความยาวของกุ้งในระยะเวลา t+1

L_∞ = ความยาวสูงสุดของกุ้ง (Maximum length)

k = สัมประสิทธิ์ของการเจริญเติบโต (Growth coefficient)

t = ระยะเวลา (ในกรณีนี้ t= 2 สัปดาห์)

จากสูตรข้างต้น เมื่อนำมาเปรียบเทียบโดยใช้หลักของ Least-square - method (เส้นสมการถดถอย) แล้วจะเหมือนกัน ดังนี้

$$Y = a + bX$$

ซึ่งจะเป็นสมการของเส้นตรง

ดังนั้น เมื่อให้

$$Y = l_{t+1} - l_t$$

$$X = l_t$$

เราจะได้

$$a = L_\infty(1-e^{-k})$$

b = ความชันของเส้นตรง (slope) = $-(1-e^{-k})$

เมื่อใช้หลักของ Least square method คำนวณหาค่า b ได้จากสูตร

$$b = \frac{\Sigma XY - (\Sigma X \Sigma Y)/N}{\Sigma X^2 - (\Sigma X)^2/N} \quad \text{และ} \quad a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

ซึ่งทำให้สมการได้ค่า k และ L_∞

สำหรับค่า t_o ใช้สูตร

$$l_t = L_\infty(1-e^{-k(t-t_o)})$$

โดย $t_o = \frac{1}{k} \log_e \frac{L_\infty - l_t}{L_\infty} + t$ (t_o= ระยะเวลาที่ความยาวของกุ้ง = 0)

ในกรณีที่ใช้ค่า t หลายค่าในการคำนวณ เราอาจหาค่าเฉลี่ยดังนี้

$$\bar{t}_o = \left(\frac{1}{k}\Sigma \log_e \frac{L_\infty - l_t}{L_\infty} + \Sigma t \right) \frac{1}{n}$$

เมื่อ n = จำนวนของค่า t ที่ใช้

3.3.2 <u>สมการของการเจริญเติบโตเป็นน้ำหนัก</u> นำค่าความยาวสูงสุด (L_∞) ที่คำนวณได้มาเปลี่ยนให้เป็นน้ำหนัก เพื่อจะทราบถึงน้ำหนักสูงสุด (W_∞) ของกุ้งที่ทำการทดลองด้วยอาหารสมทบชนิดต่าง ๆ ซึ่งกระทำได้โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวและน้ำหนัก (Length-weight relationship)ของกุ้งในแต่ละคอก ซึ่งคำนวณได้จากสมการของกฎกำลังสาม (Cube Law)

กล่าวคือ

$$W = cL^n$$

โดยกำหนดให้

W = น้ำหนักของกุ้ง (กรัม)

L = ความยาวของกุ้ง (ซม.)

c = ค่าคงที่ (constant) หรือ Coefficient of condition หรือ Length-weight factor

n = ค่าคงที่ (constant) ซึ่งเป็นอัตราการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเปรียบเทียบกับความยาว

เปลี่ยนความยาวของเส้นโค้งข้างต้นให้เป็นสมการเส้นตรงในรูปของลอกการิธึม (Logarithm) ซึ่งได้ดังนี้

$$\log W = \log c + n \log L$$

โดยสมมุติให้

$$\log W = Y$$

$$\log c = a$$

$$n = b$$

$$\log L = X$$

ซึ่งจะสอดคล้องกับสมการเส้นตรง

$$Y = a + bX$$

คำนวณหาค่า a และ b โดย

จาก

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

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

เมื่อได้ค่า W_∞ แล้ว นำมาใช้ในสมการการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก ของเบอตาแลนฟี่

คือ

$$W_t = W_\infty(1-e^{-k(t-t_o)})^3$$

เพื่อหาเส้นโค้งของการเจริญเติบโต (Theoretical Growth Curve)

3.4 <u>การคำนวณหาอัตราการตายของกุ้ง</u> (Mortality rate)

คำนวณหาอัตราการตายของกุ้งในคอกทดลอง โดยใช้วิธีของกัลแลนด์ (Gulland, 1969)

จากสูตร

$$N_t = N_o e^{-zt}$$

หรือ

$$z = \frac{1}{t} \log_e \frac{N_o}{N_t}$$

โดยกำหนดให้

N_o = จำนวนกุ้งที่เริ่มปล่อยลงเลี้ยงในบ่อ

N_t = จำนวนกุ้งที่เหลือในช่วงระยะเวลา t

t = ระยะเวลาที่ทำการตรวจนับจำนวนกุ้ง เป็นจำนวนปีหรือเศษส่วนของปี

z = สัมประสิทธิ์ของอัตราการตายทั้งหมด (Total mortality - coefficient)

3.5 <u>การเก็บน้ำเพื่อตรวจสภาวะแวดล้อม</u> จัดอุปกรณ์เพื่อเก็บและรวบรวมข้อมูลของสภาวะแวดล้อมภายในบ่อทดลองเลี้ยง ทางสกายะและทางเคมี (รูปที่ 9)

3.5.1 <u>ทางสกายะ</u> ได้แก่ อุณหภูมิ ความขุ่นใสและระดับน้ำ การตรวจวัดอุณหภูมิ ทำโดยหย่อนเทอร์โมมิเตอร์ลงไปในน้ำลึกครู่และอ่านผล สำหรับความขุ่นใสใช้เครื่องมือที่เรียกว่า "เซ็คคิดิสซ์" (Secchi-disc)โดยอ่านผลจากระดับน้ำที่เริ่มมองไม่เห็นเซ็คคิดิสซ์ ส่วนระดับน้ำนั้นอ่านผลจากความสูงที่ระดับน้ำบนไม้ที่ได้แบ่งมาตราส่วนความยาวและได้ปักไว้ในนาถาวรเรียบร้อยแล้ว

3.5.2 <u>ทางเคมี</u> ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเค็มและความเป็นกรดเป็นด่าง การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำนั้น ได้ใช้วิธีของวิงค์เลอร์ (Winkler's method) คือเก็บน้ำตัวอย่างโดยไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ภายในขวดใส่ตัวอย่าง B.O.D. (BiologicalOxygen Demand) รีบฟิกส์ (fixed) ทันที และภายในเวลา 1 ชั่วโมงหรือมากกว่านั้น ดูดน้ำตัวอย่าง 50 ml. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟท (Sodium Thiosulphate,$Na_2S_2O_3$) โดยใช้น้ำแป้งเป็นตัวดรรชนี (Indicator) ถือว่า การไม่มีสีครั้งแรกเป็น end-point จดจำนวนโซเดียมไทโอซัลเฟทที่ใช้ไปในการวิเคราะห์ จากนั้น นำไปคำนวณหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

วิธีการหาความเค็ม ได้ใช้วิธีของมัวร์ (Mohr's method) คือดูดน้ำตัวอย่าง 15 ml. ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท (Silver Nitrate, $AgNO_3$) โดยใช้สารละลายโปแตสเซียมโครเมท(K_2CrO_4) เป็นตัวดรรชนี สีแดงเรื่อ ๆ ของซิลเวอร์โครเมทนั้นเป็น end-point ตลอดเวลาที่ทำการไตเตรทจะต้องกวนให้ตะกอนของซิลเวอร์คลอไรด์แตกละเอียด จดจำนวนซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ไปในการวิเคราะห์ จากนั้น นำไปคำนวณหาคลอโรซิตี้ (Chlorosity) แล้วนำค่าที่คำนวณได้มาเปิดตารางหาความเค็มอีกครั้ง

การวัดความเป็นกรดเป็นด่าง ใช้กระดาษสำหรับวัดโดยเฉพาะ(pH-paper)

จุ่มลงไปในน้ำประมาณ 30 วินาที แล้วนำมาเปรียบเทียบกับสีมาตรฐานซึ่งกำหนดระดับความเป็นกรดเป็นด่างเรียบร้อยแล้ว

3.6 <u>การตรวจสอบแพลงค์ตอนในคอกทดลอง</u> ใช้ถังตักน้ำจากคอกใส่ถุงแพลงค์ตอน (รูปที่ 10) แล้วนำไปดองในน้ำยาฟอร์มาลิน 4 % เพื่อให้ตกตะกอนประมาณ 24 ชั่วโมง ใช้ไซฟอน (Siphon) ดูดน้ำส่วนใสข้างบนทิ้ง ส่วนตะกอนที่เหลือนำมาศึกษาดังนี้

ถ้าเป็นแพลงค์ตอนชนิดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Macroplankton) ก็เลือกออกและนับจำนวน ส่วนแพลงค์ตอนขนาดเล็ก (Microplankton) ที่เหลือในน้ำตัวอย่างนั้นมาเติมน้ำให้ครบ 400 ml. คนให้เข้ากันแล้วแบ่งมา 10 ml. เพื่อตรวจและนับจำนวนด้วยกล้องจุลทัศน์แบบ compound โดยการประเมินด้วยสายตา

3.7 <u>การศึกษาชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะของกุ้ง</u> (Stomach-content) ทันทีที่จับกุ้งขึ้นจากน้ำต้องรีบตัดกระเพาะออก แล้วดองในน้ำยาฟอร์มาลิน 4 % เพื่อป้องกันมิให้อาหารภายในกระเพาะถูกย่อยต่อไป

ผ่ากระเพาะออกละลายในน้ำ 5 ml. ในจานแก้ว (Petri-dish) จากนั้นนำมาตรวจดูชนิดและนับจำนวนแพลงค์ตอนด้วยกล้องจุลทัศน์แบบ compound โดยประเมินด้วยสายตา

3.8 **<u>การศึกษาชนิดและปริมาณสัตว์และพืชหน้าดิน</u>** (Benthos) ใช้เครื่องมือที่เรียกว่า แวนวีนแกร็บ (Van Veen Grab) (รูปที่ 11) ตักโคลนจากคอกทดลองขึ้นมาร่อนด้วยตาข่าย 2 ชั้น ขนาดตา 1.0 - 1.5 มม. แกร็บนี้สามารถตักโคลนได้ครั้งละ 0.05 ม.^{2} ตรวจดูส่วนที่เหลือบนตาข่ายทั้ง 2 ชั้นด้วยตาเปล่า สำหรับส่วนที่ลอดผ่านตาข่ายได้นั้น นำมาดองในน้ำยาฟอร์มาลิน 4 % แบ่งตัวอย่างโคลนเทใส่จานแก้ว นำมาตรวจดูชนิดและนับจำนวนด้วยกล้องจุลทัศน์แบบ compound โดยการประเมินด้วยสายตา