

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่ศึกษา

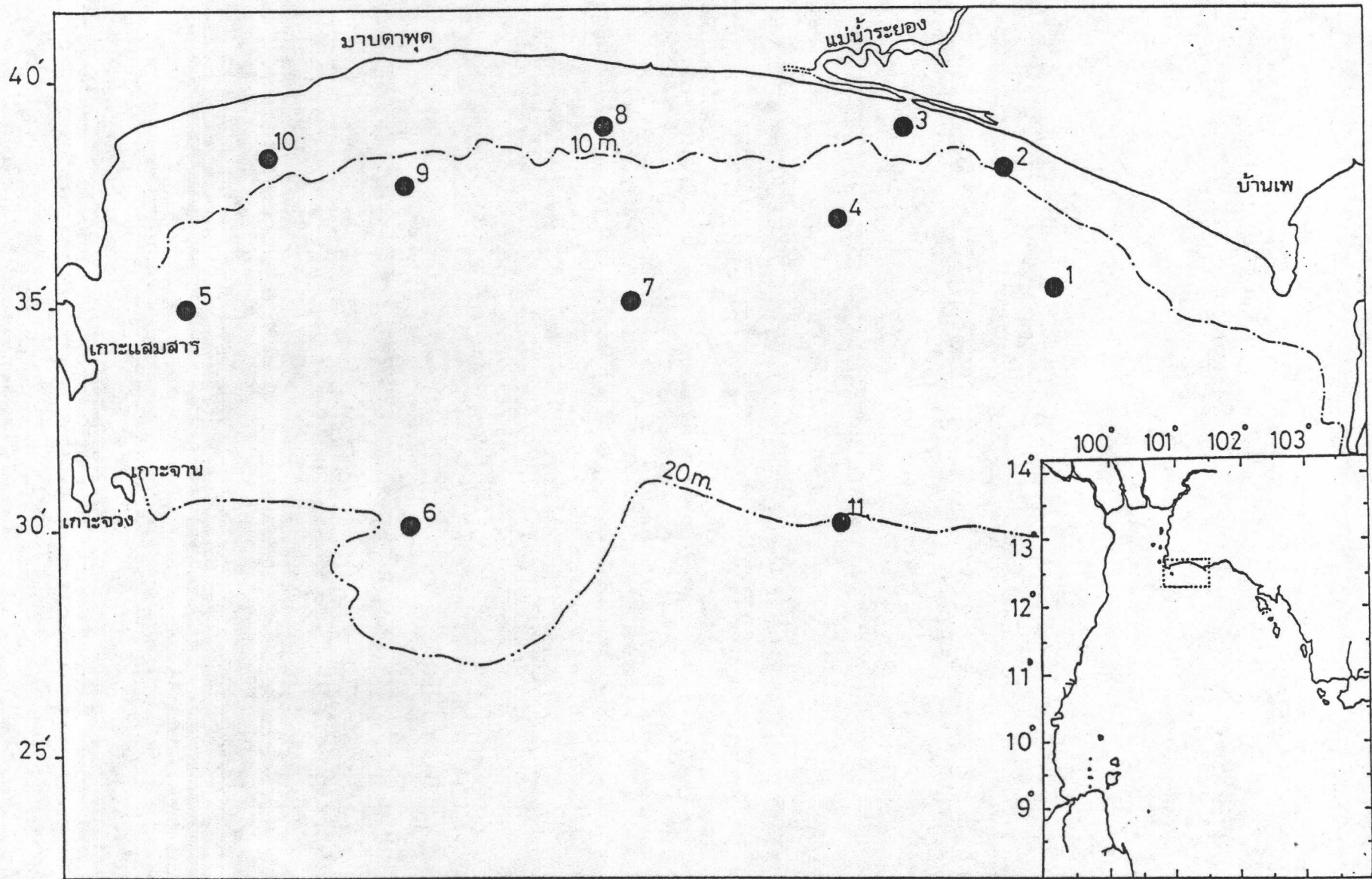
ลักษณะทั่วไปของอ่าวระยอง อ่าวระยอง ตั้งอยู่ทางฝั่งทะเลตะวันออกของอ่าวไทย ทิศเหนือติดต่อกับที่ราบสูงโคราช ทิศตะวันตกและทางใต้ติดอ่าวไทย ลักษณะของอ่าวระยอง เป็นอ่าวเปิด อาณาเขตเริ่มตั้งแต่เกาะเสม็ดสารซึ่งอยู่ในจังหวัดชลบุรี อยู่ทางตะวันตกของอ่าวระยอง ส่วนทิศตะวันออกสิ้นสุดบริเวณแหลมหญ้า ตำบลเพ จังหวัดระยอง มีความยาวประมาณ 100 กิโลเมตร บริเวณอ่าวระยองมีแม่น้ำระยองไหลลงบริเวณทางตะวันออกของอ่าวโดยไหลลงตรงบริเวณอำเภอบ้านค่าย จังหวัดระยอง มีความยาว 110 กิโลเมตร ความลึกของน้ำทะเลบริเวณอ่าวระยอง มีความลึกสูงสุดประมาณ 20 - 25 เมตร (อัปสรสุดา ศิริพงศ์, 2521)

ทำการเก็บตัวอย่างปลาไว้อ่อนบริเวณอ่าวระยอง ตั้งแต่ช่องเสม็ดสารถึงบริเวณตะวันตกของเกาะเสม็ด ตอนใต้ของแหลมหญ้า อยู่ระหว่างเส้นรุ้ง $12^{\circ} 39'$ เหนือ ถึง $12^{\circ} 10'$ เหนือ และเส้นแวง $101^{\circ} 00'$ ตะวันออก ถึง $101^{\circ} 20'$ ตะวันออก โดยแบ่งสถานีสำรวจออกเป็น 11 สถานี ตามแผนที่ที่แสดงไว้ในรูปที่ 1

2. ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างทั้งหมด 10 ครั้ง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลในรอบปี โดยเริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2529 ถึงเดือนเมษายน 2530 เก็บตัวอย่างทุกเดือน ๆ ละครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1	23 - 24	กรกฎาคม	2529
ครั้งที่ 2	22 - 23	สิงหาคม	2529
ครั้งที่ 3	23 - 24	กันยายน	2529
ครั้งที่ 4	28 - 29	ตุลาคม	2529
ครั้งที่ 5	27 - 28	พฤศจิกายน	2529
ครั้งที่ 6	23 - 24	ธันวาคม	2529



รูปที่ 1 สถานที่สำรวจไข่มุกและปลาวัยอ่อน บริเวณอ่าวระยอง ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2529 - เมษายน 2530

ครั้งที่ 7	15 - 16	มกราคม	2538
ครั้งที่ 8	26 - 27	กุมภาพันธ์	2538
ครั้งที่ 9	23 - 24	มีนาคม	2538
ครั้งที่ 10	15 - 16	เมษายน	2538

ในการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 10 ครั้ง ถือว่า 4 ครั้ง ที่เก็บตัวอย่างอยู่ในช่วงที่ได้รับอิทธิพลของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้คือ เดือนมีนาคม เมษายน กรกฎาคม และสิงหาคม 4 ครั้ง อยู่ในช่วงที่ได้รับอิทธิพลของลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือคือ เดือนตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม และมกราคม อีก 2 ครั้งนั้นอยู่ในช่วงที่กำลังมีการเปลี่ยนแปลงจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือเป็นมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ครั้งหนึ่งและขณะมีการเปลี่ยนแปลงจากลมมรสุมเฉียงใต้เป็นมรสุมตะวันออกเฉียงเหนืออีกครั้ง

3. การศึกษาในภาคสนาม

3.1 วิธีการเก็บตัวอย่างปลาว่ายอ่อน

ออกเก็บตัวอย่างร่วมกับศูนย์พัฒนาประมงทะเลฝั่งตะวันออก กองประมงทะเล โดยเรือประมง 12 กับเรือประมง 15 ใช้ลูกลากเพลงตอนแบบ Marutokutype B ขนาดตา 330 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลางปากถูง 45 ซม. ความยาวถูง 1 เมตร ปากถูงถ่วงด้วยตุ้มน้ำหนักประมาณ 6 - 7 กิโลกรัม และติดเครื่องวัดปริมาตรน้ำ (flow meter) ตรงกึ่งกลางปากถูง ซึ่งจะทำการ Calibrate ก่อนและหลังการเก็บตัวอย่าง ทำการลากถูงเพลงตอนในแนวเฉียง (oblique haul) ตั้งแต่ระดับเหนือผิวน้ำท้องทะเลขึ้นมา โดยจะทำการลากในแต่ละช่วงความลึกคือ 15, 10, 5 เมตร และผิวน้ำ ช่วงละประมาณ 1.5 - 2 นาที รวมทั้งหมดเป็นเวลา 10 นาที โดยให้ลวดสลิงที่ลากทำมุมกับแนวตั้ง 45 - 50 องศา ความเร็วเรือขณะลากประมาณ 2 - 3 นอต เก็บรักษาตัวอย่างที่ได้จากการลากแต่ละสถานีด้วยน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 4 - 10 % ในขวดเก็บตัวอย่าง

3.2 การรวบรวมปัจจัยสภาวะแวดล้อม

ใช้ขวดเก็บน้ำแบบ Van dorn ขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำ 3 ระดับคือ ผิวน้ำ กลางน้ำ และเหนือพื้นท้องทะเล แล้ววัดอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำทะเลด้วยเครื่อง HORIBA Water Checker U - 7 ส่วนความเค็มของน้ำทะเลใช้เครื่องวัดความเค็มแบบ Hand Refractometer ของ ATAGO Model ATC-1

4. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างปลาไวอ่อน

แยกปลาไวอ่อนออกจากแหล่งตอนสัตว์ชนิดอื่น ๆ และนับจำนวนที่พบแต่ละครอบครัว และจำนวนรวมที่พบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Zoom Stereomicroscope) แล้วจึงนำมาหาค่าเป็นจำนวนตัวต่อปริมาตรน้ำทะเล 1000 ลบ.ม. โดยใช้สูตร

$$T = 1000t/V$$

เมื่อ

T = จำนวนตัวในน้ำทะเล 1000 ลบ.ม.

t = จำนวนตัวที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

V = ปริมาตรน้ำที่ผ่านลงในกรง (ลบ.ม.) โดยที่

$$V = nMa \text{ หรือ } V = an/N$$

n = จำนวนรอบของเครื่องวัดปริมาตรน้ำ

a = พื้นที่หน้าตัดของกรงแหล่งตอนเป็นตารางเมตร

N = ค่าคงที่ของจำนวนรอบของเครื่องวัดปริมาตรน้ำในระยะทาง 1 เมตร

M = ค่าคงที่มีระยะทางเป็นเมตรเมื่อเครื่องวัดปริมาตรน้ำหมุน 1 รอบ

หมายเหตุ N และ M ได้จากการหา Calibration factor ของเครื่องวัดปริมาตรน้ำในแต่ละเที่ยวเรือ

4.2 การจำแนกชนิดของปลาไวอ่อน

ใช้เอกสารของ Delsman (1921 - 1938); Uchida (1958); Mito (1960 - 1967); Leis and Rennis (1983); Bensam (1965, 1971) Fahay (1983); Vatanachai (1972); Nellen (1973); Miller, et al. (1979); Sumida, et al. (1979); Richardson and Laroche (1979) Collins (1980); สง่า วัฒนชัย (2518)

การวิเคราะห์จำแนกชนิดจะพยายามแยกถึงระดับครอบครัวนอกจากบางตัวที่สามารถระบุสกุล (genus) หรือชนิด (species) ได้ โดยตรวจสอบจากลักษณะลำตัว (body shape) ลักษณะเฉพาะของปลาไวอ่อนนั้น ๆ (stricted characters) ลักษณะของจุดสีและตำแหน่ง

ที่เกิด (pigment pattern) ลักษณะที่นับได้ (meristic character) เช่น ก้านครีบ (fin rays) ที่กระดูก (Branchiostegal rays) กระดูกบริเวณลำตัว (vertebrate) เป็นต้น โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (Zoom Stereomicroscope) วัดขนาดความยาวของปลาแต่ละครอบครัว ดังนี้ ความยาวมาตรฐาน (standard length) ความยาวเหยียด (total length) ความยาวโนโตคอร์ด (notochord length) ความยาวจะงอยปาก (snout length) ความยาวหัว (head length) ความลึกหัว (head depth) ความลึกของลำตัว (body depth) ความยาวจากจะงอยปากถึงช่องทวาร ความยาวจากจะงอยปากถึง pre-dorsal fin ความยาวจากจะงอยปากถึง pre-anal fin และความยาวจากจะงอยปากถึง pre-pevic fin ปลาว่ายอ่อนแต่ละครอบครัวที่แยกแล้ว นำมาวาดรูปโดยใช้กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์สำหรับวาดรูป (camera lucida)

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 การศึกษาการแพร่กระจายของปลาวัยอ่อน

ศึกษาการแพร่กระจายของปลาวัยอ่อนทุกครอบครัวที่พบ โดยพิจารณาจากปริมาณในแต่ละสถานที่เก็บตัวอย่างแต่ละเดือนที่พบ และแสดงการแพร่กระจายโดยแผนที่

5.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ก. การวิเคราะห์แวนเรียนซ์ (Analysis of Variance)

ใช้สำหรับวิเคราะห์หาความแตกต่างและนัยสำคัญของปริมาณปลาวัยอ่อนรวมทั้งหมดในแต่ละฤดูกาล โดยใช้สูตรการวิเคราะห์แวนเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบ (One way Analysis of variance) แบบมีค่าสังเกตเท่ากันดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สูตรการวิเคราะห์แวนเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบ ที่มีจำนวนค่าสังเกตเท่ากัน

Source of variance	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	$t - 1$	$r \sum_i (\bar{X}_{i.} - \bar{X}_{..})^2$	$\sum_i X^2_{i.}/r - X^2_{..}/rt$	$T = SS/df$
Error	$t(r - 1)$	$\sum_i [\sum_j X^2_{ij} - X^2_{i.}/r]$	by subtraction	$E = SS/df$
Total	$rt - 1$	$\sum_{ij} (X_{ij} - \bar{X}_{ij})^2$	$\sum_{ij} X^2_{ij} - X^2_{..}/rt$	

- เมื่อ X_{ij} = เป็นข้อมูลที่ j ในเดือนที่ i
 j = หมายเลขที่ช่องข้อมูล
 i = หมายเลขของแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง
 r = ข้อมูลในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง
 t = จำนวนเดือนที่ออกเก็บตัวอย่าง
 X = ข้อมูลปริมาณปลาว่ายอ่อน (จำนวนตัวต่อปริมาตรน้ำ 1000 ลูกบาศก์เมตร)
 $\bar{X}_{i.}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในเดือนที่ i
 $\bar{X}_{..}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด
 $\sum_j X^2_{ij}$ = ผลรวมของข้อมูลแต่ละตัวยกกำลังสอง
 $X^2_{i.}$ = ผลรวมของข้อมูลทั้งหมดยกกำลังสอง

ข. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปลาว่ายอ่อนกับปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการ

วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปลาว่ายอ่อนทั้งหมดกับปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยวิธีทางสถิติเพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ดังนี้

1. การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient)

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

เมื่อ	$\sum X$	=	ผลรวมของข้อมูลชุด X
	$\sum Y$	=	ผลรวมของข้อมูลชุด Y
	$\sum X^2$	=	ผลรวมของข้อมูลชุด X แต่ละตัวยกกำลังสอง
	$\sum Y^2$	=	ผลรวมของข้อมูลชุด Y แต่ละตัวยกกำลังสอง
	$\sum XY$	=	ผลรวมของผลคูณระหว่างข้อมูลชุด X กับชุด Y
	N	=	จำนวนข้อมูลทั้งหมด

หมายเหตุ ข้อมูลชุด X หมายถึงข้อมูลของปลาว่ายอ่อน
ข้อมูลชุด Y หมายถึงข้อมูลของปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการ

2. การทดสอบนัยสำคัญของค่า r

ใช้สูตร

$$t = \frac{r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} ; df = n-2$$

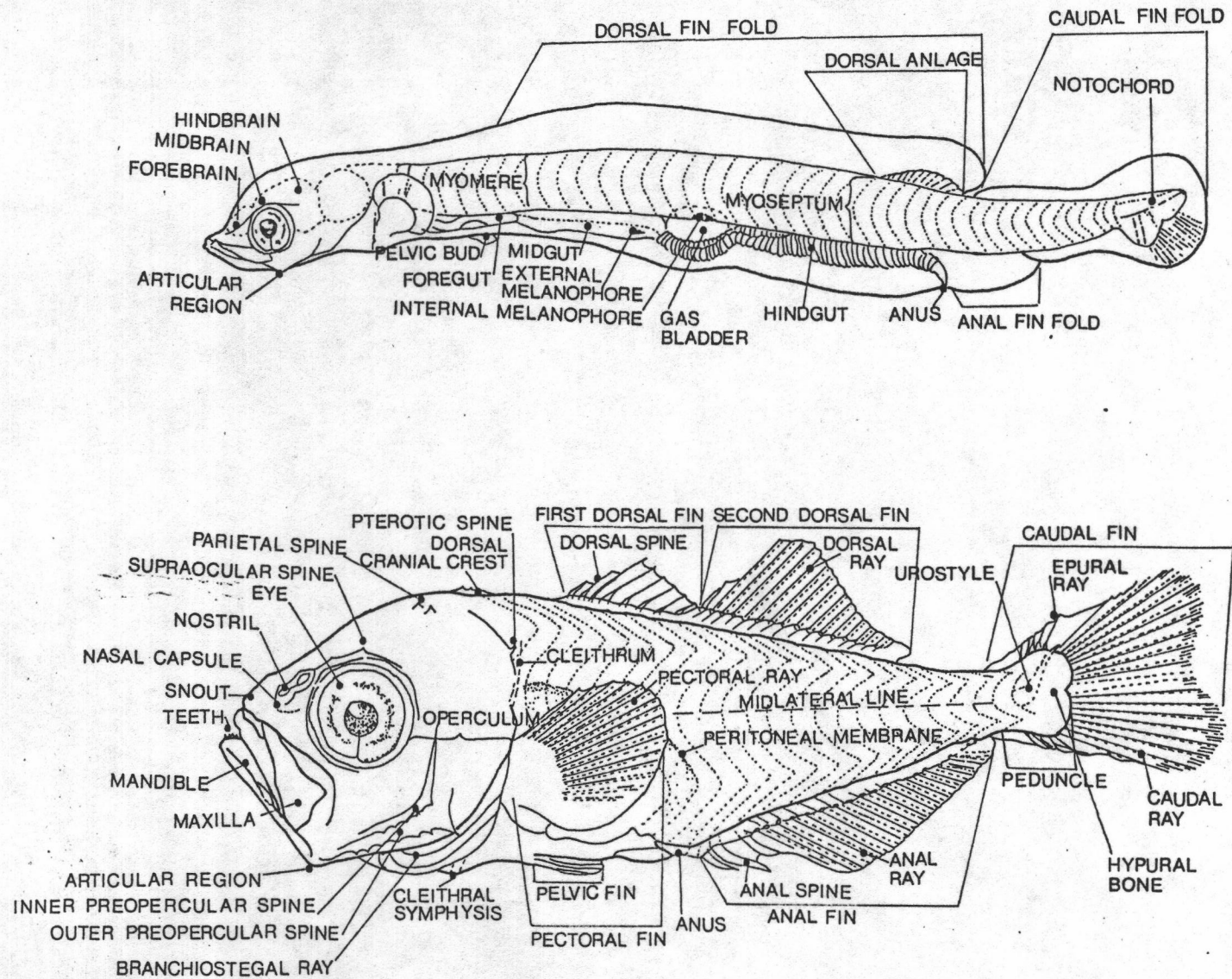
ศัพท์เฉพาะ (Terminology)

(รูปที่ 2)

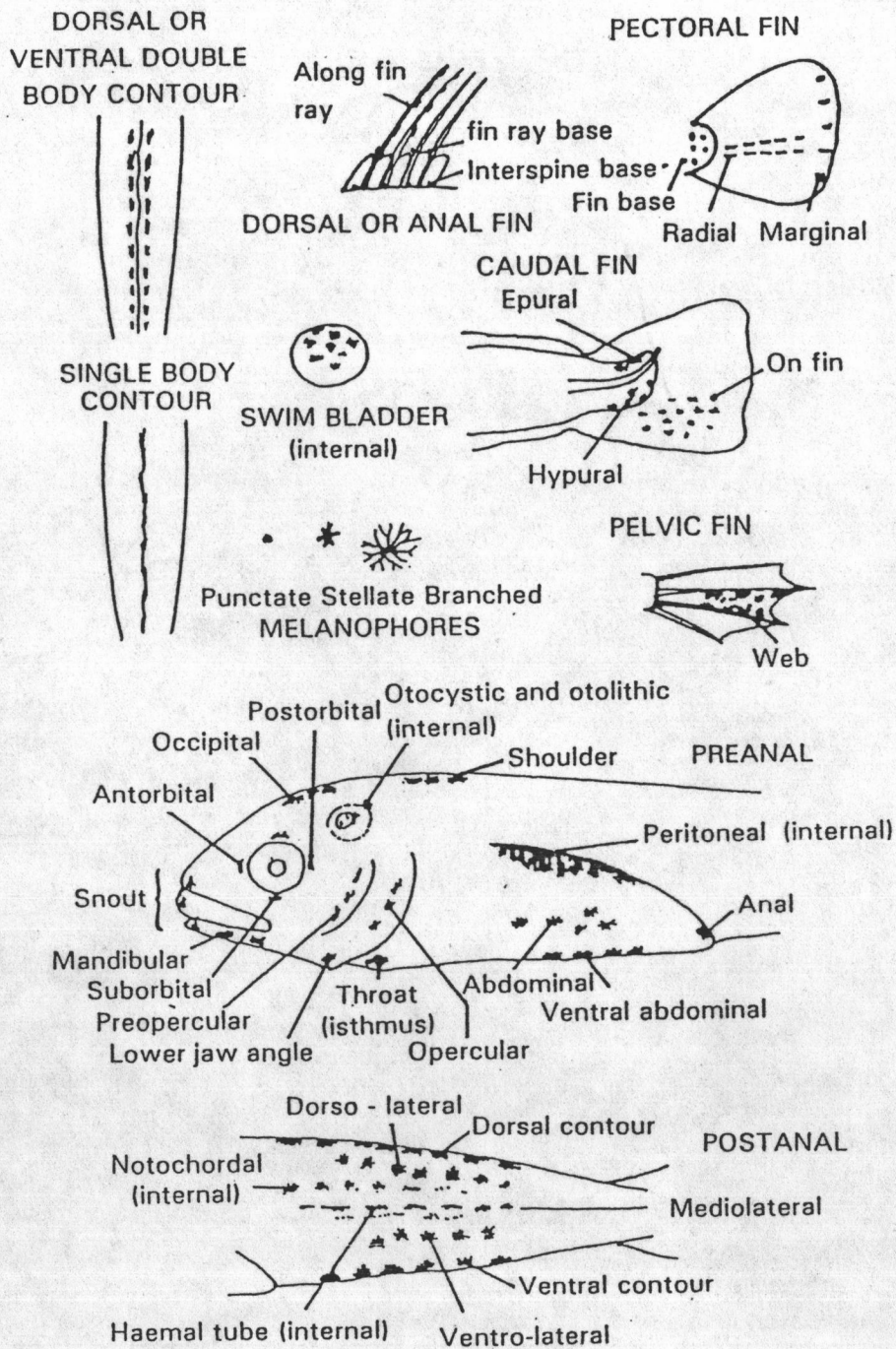
ความยาวเหยียด (total length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปาก (snout) เป็นแนวตรงไปจนถึงส่วนปลายสุดของครีบหาง
ความยาวมาตรฐาน (standard length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปจนถึงฐานครีบหางซึ่งเป็นส่วนสุดท้ายของแผ่นกระดูกไฮนุเรอล
ความยาวโนโตคอร์ด (notochord length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปจนถึงส่วนปลายสุดของโนโตคอร์ด (notochord) ใช้วัดความยาวของลูกปลาในระยะก่อนที่โนโตคอร์ดจะโค้งงอขึ้น (flexion)
ความยาวหัว (head length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากจนถึงส่วนหลังสุดของเนื้อเยื่อกระดูกกระบังแก้ม (opercular membrane) โดยไม่รวมเงี่ยงหรือหนาม (spine)
ความลึกของหัว (head depth)	=	ระยะตั้งฉากระหว่างขอบริมสุดของบริเวณที่กว้างที่สุดของหัว โดยวัดผ่านขอบหลังของกระบอกตา
ความลึกของลำตัว (body depth)	=	ระยะตั้งฉากระหว่างขอบของลำตัวที่ผ่านฐานครีบอก
ความยาวจะงอยปาก (snout length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากถึงขอบหน้าของกระบอกตา
ความยาวจะงอยปากถึงช่องทวาร (snout to anal length)	=	ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลากผ่านส่วนหลังสุดของช่องทวาร

ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบหลัง (snout to pre-dorsal fin)	= ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็น แนวตรง ไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉาก ที่ลากผ่านส่วนหน้าสุดของก้านครีบหลังอันแรก ถ้ายังไม่เกิดก้านครีบก็ให้ใช้ส่วนหน้าสุดของ ฐานครีบหรือตุ่มของครีบ
ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบทวาร = (snout to pre-anal fin)	= ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็น แนวตรง ไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉาก ที่ลากผ่านส่วนหน้าสุดของก้านครีบทวารอันแรก หรือส่วนหน้าสุดของฐานครีบ หรือตุ่มของครีบ (กรณีที่ยังไม่ปรากฏก้านครีบ)
ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบท้อง = (snout to pre-pelvic fin)	= ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนว ตรง ไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลาก ผ่านส่วนหน้าสุดของก้านครีบท้องอันแรก หรือ ส่วนหน้าสุดของฐานครีบหรือตุ่มครีบ
ครีบหลัง (dorsal fin)	= ครีบเดี่ยวเป็นครีบที่อยู่แนวกลางลำตัวด้านหลัง
ครีบก้น (anal fin)	= ครีบเดี่ยวเป็นครีบอยู่ตามสันท้อง โดยอยู่หลัง ช่องทวาร
ครีบหาง (caudal fin)	= ครีบเดี่ยวอยู่ส่วนท้ายสุดของลำตัว
ครีบอก (pectoral fins)	= ครีบคู่อยู่ข้างหลังกระดูกงูแก้ม
ครีบท้อง (pelvic fins)	= ครีบคู่อยู่ที่ท้อง
สันครีบ (fin fold)	= สันที่มีลักษณะเป็นเยื่อซึ่งยึดไปตามลำตัว ของปลาที่กำลังเจริญ ซึ่งเป็นบริเวณที่จะเกิด ครีบเดี่ยวต่าง ๆ ต่อไปเมื่อเจริญขึ้น
ซี่ของกระดูก (branchiostegal rays)	= ส่วนของกระดูกที่ค้ำจุนกระดูกกระดูกงูแก้ม ให้มั่นคงและทำให้เคลื่อนไหวได้ ซี่กระดูกนี้ จะแผ่ออกเหมือนพัด
คอดหาง (caudal peducle)	= พื้นที่ที่อยู่ระหว่างส่วนหลังสุดของครีบหลังและ ครีบก้น

กระดูกไฮพูเรอล (hypural bones)	=	ส่วนหลังสุดของกระดูกสันหลังที่แผ่ขยายเป็นแผ่นช่วยค้ำจุนครีบทหาง
หนามบนหัว (dorsal cranial crest)	=	ส่วนของสันกระดูกบนด้านหลังของกระดูกศีรษะ
หนามเหนือตา (supraocular spine)	=	หนามบนด้านหลังเหนือกระบอกตา
หนามหลังกระดูกศีรษะ (pterotic spine)	=	หนามบนส่วนหลังสุดด้านบนของกระดูกศีรษะ (อยู่เหนือท้อง)
กระดูกกระพุ่มแก้ม (operculum)	=	แผ่นกระดูกปิดเหงือก
หนามบนกระดูกกระพุ่มแก้มอันแรกตอนใน (inner preopercular spines)	=	หนามแถวในที่อยู่บริเวณขอบของกระดูกกระพุ่มแก้มอันแรก
หนามบนกระดูกกระพุ่มแก้มอันแรกตอนนอก (outer preopercular spines)	=	หนามแถวนอกที่อยู่บริเวณขอบของกระดูกกระพุ่มแก้มอันแรก
เนื้อเยื่อช่องท้อง (peritoneal membrane)	=	เนื้อเยื่อเป็นแนวด้านด้านบนช่องท้อง
ช่องจมูก (nasal opening)	=	ช่องข้างหน้าตาซึ่งจะเจริญไปเป็นรูจมูก (nostril)
จะงอยปาก (snout)	=	บริเวณส่วนหน้าสุดของหัวในแนวราบจนถึงหน้าลูกตา
ยูโรสทิล (urostyle)	=	กระดูกสันหลังอันปลายสุด เป็นส่วนที่หักงอขึ้นตรงส่วนท้ายของหางบริเวณกระดูกไฮพูเรอล
ไคลทรัลซิมไฟซีส (cleithral symphysis)	=	ส่วนที่ต่อเชื่อมกระดูกไคลทรัล จะอยู่บริเวณด้านหลัง
ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางตา (diameter)	=	ระยะตามแนวราบพาดข้ามกึ่งกลางของกระบอกตา
มัดกล้ามเนื้อ (myomeres)	=	มัดกล้ามเนื้อที่เรียงลำดับอยู่บนลำตัว
ผนังกั้นมัดกล้ามเนื้อ (myosepta)	=	เนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งแบ่งแยกมัดกล้ามเนื้อ
คอคอด (isthmus)	=	บริเวณด้านล่างบนลำคอระหว่างเหงือกปลา
ต้นคอ (nape)	=	บริเวณด้านบนของลำตัวหลังหัว



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างภายนอกที่สำคัญของปลาวัยอ่อน (แหล่งที่มา : Miller, et al., 1978)



รูปที่ 3 ลักษณะของจุดสีและตำแหน่งที่เกิดบริเวณส่วนต่างๆของปลาวัยอ่อน
(แหล่งที่มา : Russel, 1976)