หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่ทำการศึกษา

บริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาวัยอ่อนได้แก่ บริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตกตั้งแต่จังหวัดสุราษฎร์ธานีถึงจังหวัดนราธิวาส พิกัดเส้นรุ้งที่ 9° 30′ 00″ เหนือ ถึงเส้นรุ้งที่ 6° 30′ 00″ เหนือในแนวชายฝั่งไม่เกินเส้นแวงที่ 102° 45′ 00″ ตะวันออกโดยแบ่งสถานีเก็บตัวอย่างออกเป็น 24 สถานี (รูปที่ 1)

2. ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

ระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้นทำเดือนเว้นเดือนตามฤดูกาล เริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2527 ถึงเดือนสิงหาคม 2527 รวมการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 4 ครั้ง คือ

ครั้งที่ 1 วันที่ 5 - 26 กุมภาพันธ์ 2527

ครั้งที่ 2 วันที่ 13 - 25 เมษายน 2527

ครั้งที่ 3 วันที่ 14 - 29 มิถุนายน 2527

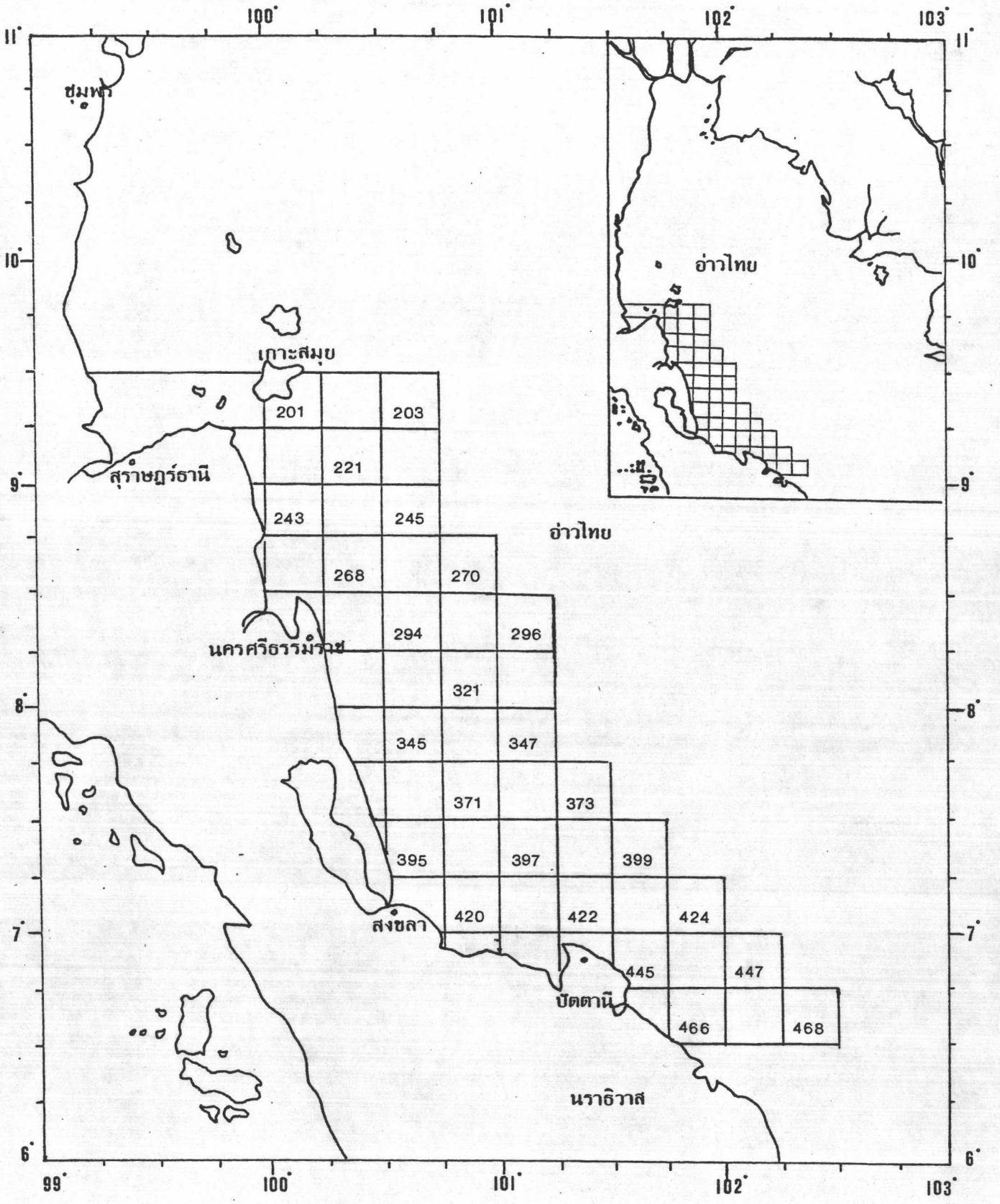
ครั้งที่ 4 วันที่ 16 - 31 สิงหาคม 2527

ทั้งนี้ถือว่าตัวอย่างเดือนกุมภาพันธ์เป็นตัวแทนตัวอย่างช่วงลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ตัวอย่างในเดือนเมษายนเป็นตัวแทนตัวอย่างช่วงเปลี่ยนแปลงลมมรสุม (intermonsoon period) และตัวอย่างในเดือนมิถุนายนและสิงหาคมเป็นตัวแทนตัวอย่างช่วงลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ การเก็บตัวอย่างทำเฉพาะในเวลากลางวัน

3. การศึกษาในภาคสนาม

3.1 วิธีการเก็บตัวอย่างปลาวัยอ่อน

การเก็บตัวอย่างทำร่วมกับกองประมงทะเลโดยเรือประมง 2 ซึ่งเป็นเรือ



รูปที่ 1. เขตสำรวจปลาวัยอ่อนในอ่าวไทยฝั่งตะวันตก

012147

ไม้ขนาดความยาว 24.50 เมตร ระวาง 79.13 ตันกรอส ขนาดเครื่อง 320 แรงม้า และเรือประมง 9 เป็นเรือไม้ขนาดความยาว 25.30 เมตร ระวาง 84.89 ตันกรอส ขนาดเครื่อง 412 แรงม้า ทำการเก็บตัวอย่างปลาวัยอ่อนโดยใช้ถุงลากแพลงตอนแบบ Murutoku type B ขนาดตา 330 ไมครอน (μ) เส้นผ่าศูนย์กลางปากถุง 45 เซนติเมตร ความยาวถุง 100 เซนติเมตร ประกอบด้วยผ้าใบตอนบนเป็นรูปทรงกระบอกความยาว 20 เซนติเมตร และส่วนล่างเป็นรูปกรวยทำด้วยผ้าไหมมัสเบอร์ GG54 ความยาว 80 เซนติเมตร ใช้ตุ้มน้ำหนักขนาด 5 กิโลกรัมถ่วงไว้ที่เอียกซึ่งใช้ลากถุงเพื่อให้ถุงจมพร้อมทั้งติดเครื่องวัดปริมาตรน้ำ (Flow meter) แบบ TSK มัสเบอร์ 1569 (80874) ไว้ที่จุดกึ่งกลางปากถุงเพื่อวัดปริมาตรน้ำที่ผ่านถุง สำหรับเครื่องวัดปริมาตรน้ำต้องทำการปรับค่า (Calibration) ก่อนและหลังการเก็บตัวอย่างในแต่ละเที่ยวเรือ ทำการลากถุงแพลงตอนในแนวเฉียง (oblique haul) ตั้งแต่ระดับความลึก 20 เมตรถึงผิวน้ำทะเลโดยให้ลวดสลิงที่ลากทำมุม 45 องศากับแนวดิ่งโดยใช้การเคลื่อนที่ของเรือเป็นตัวบังคับ ระยะเวลาที่ใช้ในการลากถุงแต่ละครั้งประมาณ 10 นาที ความเร็วเรือในขณะลากถุงประมาณ 2-3 น็อต นำตัวอย่างที่เก็บได้แต่ละสถานีดองไว้ในน้ำยาฟอร์มาลิน 4% (4% neutral formalin) ในขวดเก็บตัวอย่าง เพื่อรักษาตัวอย่างไว้รอการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

3.2 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ

ในขณะเก็บตัวอย่างปลาวัยอ่อนได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้กระบอกตักน้ำแบบแวนดอร์น (Van Dorn Type) ที่ใกล้ผิวน้ำเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำบางประการไปด้วย

ก. ความเค็ม เก็บตัวอย่างน้ำขึ้นมาแล้ววัดความเค็มด้วยเครื่องวัดความเค็มแบบ Induction Salinometer Model-RS7-C ค่าที่วัดได้เป็นส่วนในพันส่วน (‰)

ข. อุณหภูมิ วัดอุณหภูมิผิวน้ำโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ค่าที่วัดได้มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส ($^{\circ}$ซ.)

ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เก็บตัวอย่างน้ำไว้ในขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศในขวดและ fixed ทันทีด้วย Manganous sulphate solution และ Alkaline iodide solution อย่างละ 1 มิลลิลิตร (เก็บขวดไว้ในที่มืดถ้ายังไม่ได้วิเคราะห์ทันที) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ตามวิธีของ Winkler (Strickland and Parson, 1972) โดยปริมาณออกซิเจนที่ได้มีหน่วยเป็น มิลลิลิตร/ลิตร

4. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

4.1 การวิเคราะห์จำแนกชนิดปลาวัยอ่อน

นำตัวอย่างที่รวบรวมได้จากการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ โดยแยกปลาวัยอ่อนออกจากแพลงตอนสัตว์ชนิดอื่น ทำการวิเคราะห์จำแนกชนิดปลาวัยอ่อน ซึ่งอยู่ในระยะที่ยังเป็นตัวอ่อน (larva) ถึงระยะปลาวัยอ่อนขั้นหลัง (post-larva) โดยจำแนกถึงระดับครอบครัว (Family) โดยใช้เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการจำแนกชนิดปลาวัยอ่อนต่อไปนี้เป็นคู่มือในการจำแนกชนิดคือ Delsman (1921 - 1938); Wade (1951); Bapat and Prasad (1952); Leis and Rennis (1952); Ahlstrom and Ball (1954); Uchida, et al. (1958); Matsumoto (1958, 1959, 1962); Berry (1959); Jones (1960); Mito (1960 - 1967); Schmidt (1962 - 1965); Gorbunova (1963, 1974); Bensam (1965, 1971); Matsui (1970); Nario, et al. (1970); Matsumoto, et al. (1972); Vatanachai (1972); Chen and Tan (1973); Nellen (1973); Miller and Sumida (1974); Fritzchel (1978); Johnson (1978); Jones, et al. (1978); Miller, et al. (1979); Sumida, et al. (1979); Richardson and Laroche (1979); Yoshida (1979); Laroche and Richardson (1980, 1981); Collins (1980); Fahay (1983); Termvidchakorn, (1983); Jenkins, et al. (1984); อุรุพันธุ์ บุญประกอบ และยอดยิ่ง เทพธรานนท์ (2515) ล่ำ วัฒนยีย (2518) และอุรุพันธุ์ บุญประกอบ และคณะ (2523) การวิเคราะห์จำแนกชนิดปลาวัยอ่อนได้อาศัยการตรวจลอบลักษณะบางประการ

โดยกล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ลบออกขนาดกำกับไว้ด้วย (Zoom Stereomicroscope) ทำการวัดขนาดความยาวต่าง ๆ ของปลาวัยอ่อนประจำครอบครัวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ดังนี้ ความยาวเหยียด (total length) ความยาวมาตรฐาน (standard length) ความยาวโนโตคอร์ด (notochord length) ความยาวจะงอยปาก (snout length) ความยาวจากจะงอยปากถึงช่องทวาร ความยาวจากจะงอยปากถึง pre-dorsal fin ความยาวจากจะงอยปากถึง pre-anal fin ความยาวจากจะงอยปากถึง pre-pelvic fin ความยาวหัว (head length) ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางตา (eye diameter) ความลึกหัว (head depth) และความลึกของลำตัว (body depth) (รูปที่ 2)

นำตัวอย่างปลาวัยอ่อนที่แยกชนิดได้ของครอบครัวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาวาดรูปแสดงลักษณะต่าง ๆ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์สำหรับวาดรูป (camera lucida)

4.2 <u>การวิเคราะห์ปริมาณปลาวัยอ่อน</u>

นับจำนวนปลาวัยอ่อนของแต่ละครอบครัว และจำนวนตัวรวมทั้งหมดในแต่ละสถานีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Zoom Stereomicroscope) แล้วนำผลที่ได้มาหาค่าเป็นจำนวนตัวต่อปริมาตรน้ำทะเล 1,000 ลูกบาศก์เมตร โดยใช้สูตร

$$T = \frac{1000t}{V}$$

เมื่อ T = จำนวนตัวในปริมาตรน้ำ 1,000 ลูกบาศก์เมตร

t = จำนวนตัวที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

V = จำนวนน้ำทั้งหมดที่ผ่านถุงเป็นลูกบาศก์เมตร

ซึ่งค่า $V = n \times N_1 \times a$ หรือ $a\frac{n}{N}$

n = จำนวนรอบของเครื่องวัดปริมาตรน้ำ

a = พื้นที่หน้าตัดของถุงแพลงตอนเป็นตารางเมตร

N = ค่าคงที่ของจำนวนรอบของเครื่องวัดปริมาตรน้ำในระยะทาง 1 เมตร

N_1 = ค่าคงที่มีระยะทางเป็นเมตรเมื่อเครื่องวัดปริมาตรน้ำหมุน 1 รอบ

หมายเหตุ N และ N_1 หาได้จากการทดลองหาค่า Calibration factor ของเครื่องวัดปริมาตรน้ำก่อนและหลังจากการเก็บตัวอย่างในแต่ละเที่ยวเรือ

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 การศึกษาการกระจายของปลาวัยอ่อน

ศึกษาการกระจายของปลาผิวน้ำวัยอ่อนของครอบครัวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และของปลาวัยอ่อนที่พบรวมทั้งหมดโดยพิจารณาจากปริมาณ (จำนวนตัว/ปริมาตรน้ำทะเล 1,000 ลูกบาศก์เมตร) ในแต่ละสถานีที่เก็บตัวอย่างแต่ละเดือน และแสดงการกระจายโดยแผนภาพ

5.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ก. การวิเคราะห์แวเรียนซ์ (Analysis of Variance)

ใช้สำหรับวิเคราะห์หาความแตกต่างและนัยสำคัญของปริมาณปลาผิวน้ำวัยอ่อน และของปลาวัยอ่อนรวมทั้งหมดในแต่ละเดือน โดยใช้สูตรการวิเคราะห์แวเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบ (One way Analysis of variance) แบบมีค่าสังเกตไม่เท่ากันตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สูตรการวิเคราะห์แวเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบที่มีจำนวนค่าสังเกตไม่เท่ากัน

Source of variance	df.	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F	F_{table}
Between	$k - 1$	$SS_B = \Sigma_i X_i^2/r_i - (\Sigma_{ij} X_{ij})^2/\Sigma_i r_i$	$MS_B = \frac{SS_B}{k-1}$	$\frac{MS_B}{MS_W}$	F;
Within	$N - k$	$SS_W = SS_T - SS_B$	$MS_W = \frac{SS_W}{N-k}$		df = k-1
Total	$N - 1$	$SS_T = \Sigma_{ij} X_{ij}^2 - (\Sigma_{ij} X_{ij})^2/\Sigma_i r_i$			df = N-k
					α = 0.05, 0.01

เมื่อ X_{ij} = เป็นข้อมูลที่ j ในเดือนที่ i

i = หมายเลขที่ของข้อมูล

j = หมายเลขของแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง

r = ข้อมูลในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง

k = จำนวนเดือนที่ออกเก็บตัวอย่าง

N = จำนวนข้อมูลทั้งหมด

X = ข้อมูลปริมาณปลาวัยอ่อน (จำนวนตัว/ปริมาตรน้ำทะเล 1,000 ลูกบาศก์เมตร)

ข. <u>การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปลาวัยอ่อนกับปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการ</u>

วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปลาวัยอ่อนทั้งหมดและปลาผิวน้ำวัยอ่อนครอบครัวที่สำคัญทางเศรษฐกิจกับปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยวิธีการทางสถิติเพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient-r) ดังนี้

ก. การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient-r)

$$r = \frac{N\Sigma XY - \Sigma X\Sigma Y}{\sqrt{\left|N\Sigma X^2 - (\Sigma X)^2\right|\left|N\Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2\right|}}$$

เมื่อ ΣX = ผลรวมของข้อมูลชุด X

ΣY = ผลรวมของข้อมูลชุด Y

ΣX^2 = ผลรวมของข้อมูลชุด X แต่ละตัวยกกำลังสอง

ΣY^2 = ผลรวมของข้อมูลชุด Y แต่ละตัวยกกำลังสอง

ΣXY = ผลรวมของผลคูณระหว่างข้อมูลชุด X กับชุด Y

N = จำนวนข้อมูลทั้งหมด

<u>หมายเหตุ</u> ข้อมูลชุด X หมายถึงข้อมูลของปลาวัยอ่อน

ข้อมูลชุด Y หมายถึงข้อมูลของปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่สำคัญบางประการ

ข. การทดสอบนัยสำคัญของค่า r

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

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศัพท์เฉพาะ (Terminology)

(รูปที่ 2)

ความยาวเหยียด (total length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปาก (snout) เป็นแนวตรงไปจนถึงส่วนปลายสุดของครีบหาง

ความยาวมาตรฐาน (standard length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปจนถึงฐานครีบหางซึ่งเป็นส่วนสุดท้ายของแผ่นกระดูกไฮพูเรอล

ความยาวโนโตคอร์ด (notochord length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปจนถึงส่วนปลายสุดของโนโตคอร์ด (notochord) ใช้วัดความยาวของลูกปลาในระยะก่อนที่โนโตคอร์ดจะโค้งงอขึ้น (flexion)

ความยาวหัว (head length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากจนถึงส่วนหลังสุดของเนื้อเยื่อกระดูกกระพุ้งแก้ม (opercular membrane) โดยไม่รวมเงี่ยงหรือหนาม (spine)

ความลึกของหัว (head depth) : ระยะตั้งฉากระหว่างขอบริมสุดของบริเวณที่กว้างที่สุดของหัวโดยวัดผ่านขอบหลังของกระบอกตา

ความลึกของลำตัว (body depth) : ระยะตั้งฉากระหว่างขอบของลำตัวที่ผ่านฐานครีบอก

ความยาวจะงอยปาก (snout length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากถึงขอบหน้าของกระบอกตา

ความยาวจะงอยปากถึงช่องทวาร (snout to anal length) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลากผ่านส่วนหลังสุดของช่องทวาร

ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบหลัง (snout to pre-dorsal fin) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลากผ่านส่วนหน้าสุดของก้านครีบหลังอันแรก ถ้ายังไม่เกิดก้านครีบก็ให้ใช้ส่วนหน้าสุดของฐานครีบหรือตุ่มของครีบ

ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบทวาร (snout to pre-anal fin) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลากผ่านส่วนหน้าสุดของก้านครีบทวารอันแรก หรือส่วนหน้าสุดของฐานครีบ หรือตุ่มของครีบ (กรณีที่ยังไม่ปรากฏก้านครีบ)

ความยาวจะงอยปากถึงส่วนหน้าของครีบท้อง (snout to pre-pelvic fin) : ระยะจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากเป็นแนวตรงไปตามเส้นข้างตัวจนถึงแนวตั้งฉากที่ลากผ่านส่วนหน้าสุดของด้านครีบท้องอันแรก หรือส่วนหน้าสุดของฐานครีบหรือตุ่มครีบ

ครีบหลัง (dorsal fin) : ครีบเดี่ยวเป็นครีบที่อยู่แนวกลางลำตัวด้านหลัง

ครีบก้น (anal fin) : ครีบเดี่ยวเป็นครีบอยู่ตามสันท้องโดยอยู่หลังช่องทวาร

ครีบหาง (caudal fin) : ครีบเดี่ยวอยู่ส่วนท้ายสุดของลำตัว

ครีบอก (pectoral fins) : ครีบคู่อยู่ข้างหลังกระพุ้งแก้ม

ครีบท้อง (pelvic fins) : ครีบคู่อยู่ใต้ท้อง

สันครีบ (fin fold) : สันที่มีลักษณะเป็นเยื่อซึ่งยืดไปตามลำตัวของปลาที่กำลังเจริญ ซึ่งเป็นบริเวณที่จะเกิดครีบเดี่ยวต่าง ๆ ต่อไปเมื่อเจริญขึ้น

ซี่ของกระดูก (branchiostegal rays) : ส่วนของกระดูกที่ค้ำจุนกระดูกกระพุ้งแก้มให้มั่นคงและทำให้เคลื่อนไหวได้ ซี่กระดูกนี้จะแผ่ออกเหมือนพัด

คอดหาง (caudal peduncle) : พื้นที่ที่อยู่ระหว่างส่วนหลังสุดของครีบหลังและครีบก้น

กระดูกไฮพูเรอล (hypural bones) : ส่วนหลังสุดของกระดูกสันหลังที่แผ่ขยายเป็นแผ่นช่วยค้ำจุนครีบหาง

หนามบนหัว (dorsal cranial crest) : ส่วนของสันกระดูกบนด้านหลังของกระโหลกศีรษะ

หนามเหนือตา (supraoccular spine) : หนามบนด้านหลังเหนือกระบอกตา

หนามหลังกระโหลกศีรษะ (pterotic spine) : หนามบนส่วนหลังสุดด้านบนของกระโหลกศีรษะ (อยู่เหนือท้อง)

กระดูกกระพุ้งแก้ม (operculum) : แผ่นกระดูกปิดเหงือก

หนามบนกระดูกกระพุ้งแก้มอันแรกตอนใน (inner preopercular spines) : หนามแถวในที่อยู่บริเวณขอบของกระดูกกระพุ้งแก้มอันแรก

หนามบนกระดูกกระพุ้งแก้มอันแรกตอนนอก (outer preopercular spines) : หนามแถวนอกที่อยู่บริเวณขอบของกระดูกกระพุ้งแก้มอันแรก

เนื้อเยื่อบุช่องท้อง (peritoneal membrane) : เนื้อเยื่อเป็นแนวด้านบนช่องท้อง

ช่องจมูก (nasal opening) : ช่องข้างหน้าตาซึ่งจะเจริญไปเป็นรูจมูก (nostril)

จะงอยปาก (snout) : บริเวณส่วนหน้าสุดของหัวในแนวราบจนถึงหน้าลูกตา

ยูโรสไตล์ (urostyle) : กระดูกสันหลังอันปลายสุด เป็นส่วนที่หักงอขึ้นตรงส่วนท้ายของหางบริเวณกระดูกไฮพูเรอล

ไคลทรัลซิมไฟซิล (cleithral symphysis): ส่วนที่ต่อเชื่อมกระดูกไคลทรัม จะอยู่บริเวณด้านล่าง

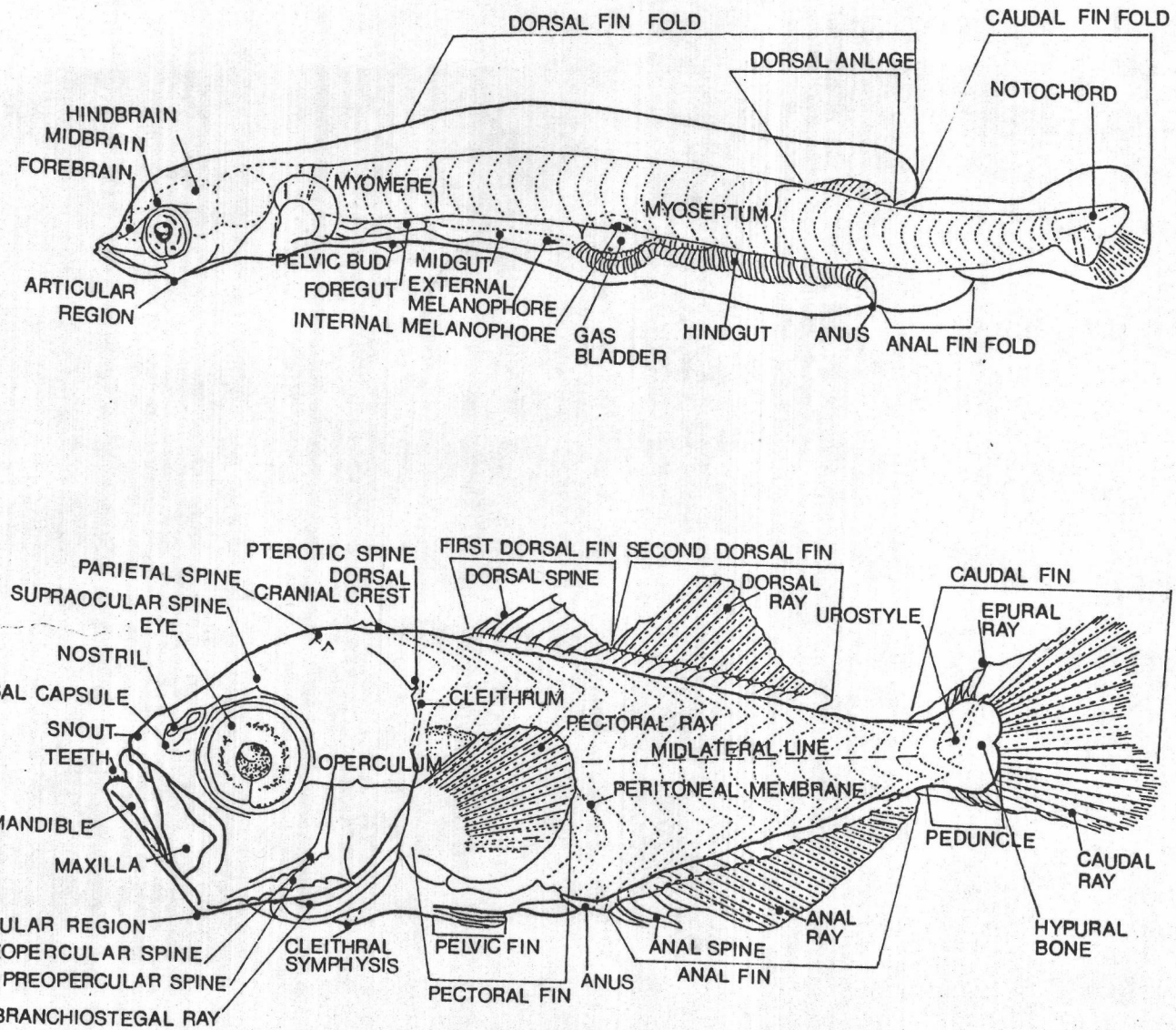
ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางตา (eye diameter) : ระยะตามแนวราบพาดข้ามกึ่งกลางของกระบอกตา

มัดกล้ามเนื้อ (myomeres) : มัดกล้ามเนื้อที่เรียงลำดับกันอยู่บนลำตัว

ผนังกั้นมัดกล้ามเนื้อ (myosepta) : เนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งแบ่งแยกมัดกล้ามเนื้อ

คอคอด (isthmus) : บริเวณด้านล่างบนลำคอระหว่างเหงือกปลา

ต้นคอ (nape) : บริเวณด้านบนของลำตัวหลังหัว



รูปที่ 2 แสดงลักษณะโครงสร้างภายนอกที่สำคัญของปลาวัยอ่อน (แหล่งที่มา : Miller, et al 1978)