

## ระเบียบวิธีวิจัย

### สถานที่ศึกษาและเก็บข้อมูล (Study site)

การศึกษาในครั้งนี้ดำเนินงานที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีระบบการทำฟาร์มเพาะและเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจร สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งอยู่ที่ตำบลหาดเจ้าสำราญ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี

### การวางแผนการทดลอง (Experimental designs)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงการเจริญเติบโตและการรอดตายของหอยหวานที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมราคาถูกที่ความหนาแน่นต่ำ (200 ตัวต่อตารางเมตร) และความหนาแน่นสูง (400 ตัวต่อตารางเมตร) ในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน และในระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอด โดยใช้เวลาในการศึกษา 6 เดือน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกตลอด (Complete randomized Block design) โดยเป็นการศึกษาผลกระทบ 3 ปัจจัย โดยแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (Replication) ดังนี้

- ปัจจัยที่ 1: อาหารผสม (Artificial feed) แตกต่างกัน 6 สูตร โดยมีเนื้อพลาสติกเป็นชุดควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 1
- ปัจจัยที่ 2: ระบบปล่อยหอยหวาน (Seawater system) แตกต่างกัน 2 ระบบ คือ ระบบน้ำไหลผ่านตลอด (Flow-through system) และระบบน้ำหมุนเวียน (Recirculating system)
- ปัจจัยที่ 3: ความหนาแน่นของหอยหวาน (Stocking density) 2 ระดับคือ 200 และ 400 ตัวต่อตารางเมตร

### ระบบบ่อทดลอง (Rearing ponds)

การศึกษานี้ใช้บ่อเลี้ยงหอยหวานที่มีระบบน้ำทะเล (Seawater system) แตกต่างกัน 2 ระบบ คือ ระบบน้ำไหลผ่านตลอด (Flow-through system) และระบบน้ำหมุนเวียน (Recirculating system) ดังนี้

- บ่อเลี้ยงระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอดทำด้วยผ้าใบ (Canvas tank) ขนาด 1.5x1.0x1.0 เมตร โดยบ่อแต่ละใบพื้นบ่อปูด้วยทรายหยาบหนาประมาณ 2 เซนติเมตร ความลึกของน้ำในบ่อเลี้ยง

ประมาณ 0.5 เมตร ใช้ระบบน้ำไหลผ่านตลอด โดยมีอัตราการไหล (Flow rate) ของน้ำใหม่เข้าบ่อ ประมาณ 150 ลิตรต่อชั่วโมง ประมาณ 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อากาศแบบฟองอากาศด้วยหัวทรายขนาดใหญ่บริเวณ กลางบ่อและให้อากาศวันละ 20 ชั่วโมง ทั้งนี้บ่อเลี้ยงหอยหวานจะอยู่ภายในโรงเรือนที่มีหลังคาเพื่อ กำบังความร้อน และป้องกันน้ำฝน

- บ่อเลี้ยงระบบน้ำทะเลหมุนเวียนใช้บ่อผ้าใบขนาดเดียวกัน (1.5x1.0x1.0 เมตร) และบ่อ กรองชีวภาพ (Filtering tank) ขนาด 0.5x1.0x1.0 เมตร การเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำหมุนเวียนใน แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ส่วนแยกกัน คือ บ่อเลี้ยงหอยหวาน บ่อกรองด้วยหอยสองฝา และ บ่อดูดซับด้วยสาหร่ายทะเล และเชื่อมต่อกันด้วยท่อพีวีซีขนาด 1 นิ้ว การหมุนเวียนของน้ำในระบบใช้ ปั๊มน้ำขนาดเล็กจำนวน 1 ตัวต่อชุดการทดลอง ตลอด 20 ชั่วโมง ให้อากาศแบบฟองอากาศด้วยหัวทราย ขนาดใหญ่บริเวณกลางบ่อและให้อากาศวันละ 20 ชั่วโมง ทั้งนี้บ่อเลี้ยงหอยหวานจะอยู่ภายในโรงเรือน ที่มีหลังคาเพื่อกำบังความร้อน และป้องกันน้ำฝน

บ่อกรองชีวภาพด้วยหอยสองฝา (Biofiltration unit) ปูพื้นบ่อกรองชีวภาพด้วยเปลือกหอยนางรม ชิ้นเล็กๆ หนาประมาณ 5 เซนติเมตร นำหอยนางรมปากจับที่มีขนาดน้ำหนักตัว 4.0-10.0 กรัม อัตราการ ปล่อย 1,500 กรัมต่อบ่อ (ประมาณ 220 ตัวต่อบ่อ) มาเลี้ยงในบ่อกรองชีวภาพโดยนำหอยนางรมมาใส่ใน ตะกร้าพลาสติกและนำตะกร้าผูกแขวนกับราวไม้ในบ่อเลี้ยงที่ระดับความสูงประมาณ 40 เซนติเมตรจาก พื้นบ่อ โดยระดับความลึกของน้ำในบ่อประมาณ 0.8 เมตร และการให้อากาศภายในบ่อกระทำเช่นเดียวกับ บ่อเลี้ยงหอยหวาน และอยู่ภายในโรงเรือนเดียวกัน

บ่อดูดซับสารอาหารด้วยสาหร่ายทะเล (Absorption unit) ขนาด 0.5x1.0x1.0 เมตร นำ สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa* sp.) ที่เตรียมให้มาเลี้ยงในบ่อด้วยความหนาแน่น 250 กรัมต่อบ่อ โดยนำ สาหร่ายใส่ในตะกร้าพลาสติกและนำตะกร้าผูกแขวนกับราวไม้ในบ่อเลี้ยงที่ระดับความสูงประมาณ 40 เซนติเมตรจากพื้นบ่อ โดยระดับความลึกของน้ำในบ่อประมาณ 0.8 เมตร และการให้อากาศภายในบ่อ กระทำเช่นเดียวกับในบ่อเลี้ยงหอยหวาน และอยู่ภายในโรงเรือนเดียวกัน

### การเตรียมลูกพันธุ์หอยหวาน (Experimental juveniles)

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ลูกพันธุ์หอยหวานที่ผลิตจากฟาร์มเพาะฟักหอยหวานของภาคเอกชน โดยลูกพันธุ์หอยหวานมีน้ำหนักประมาณ 0.14 กรัม มีสีเปลือกเข้ม เปลือกชั้นนอกไม่ลอก ส่วนปลาย แหลมไม่มีสีขาว ลักษณะภายนอกของเปลือกสมบูรณ์ไม่แตกหัก และแข็งแรง (ภาพที่ 1) คัดเลือกลูก

พันธุ์หอยหวานให้มีขนาดความยาวเปลือกเท่ากันหรือใกล้เคียงกันลงเลี้ยงในบ่อเดียวกัน เพราะการปล่อยลูกพันธุ์หอยหวานที่มีขนาดต่างกันมากลงเลี้ยงในบ่อเดียวกันจะทำให้หอยหวานที่มีขนาดเล็กชะงักการเจริญ (Growth retardation)

### การเลี้ยงหอย (Rearing techniques)

การให้อาหารแก่หอยแบบให้หอยกินอาหารจนอิ่ม (Satiation feeding) เป็นประจำทุกวันๆ ละ 1 ครั้ง ในเวลาเช้า (10.00 น.) ดังแสดงในภาพที่ 2 ทำการชั่งน้ำหนักอาหารก่อนให้และภายหลังหอยหยุดกินอาหาร โดยอาหารที่จะวางลงบนถาดที่ทำจากกระดาษฟรอยด์และเก็บอาหารที่เหลือออกทันทีเมื่อหอยหยุดกินอาหาร สำหรับอาหารที่เหลือจะทำการชั่งน้ำหนักออกให้มากที่สุดก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก หลังจากนั้นคำนวณปริมาณอาหารที่หอยกินในแต่ละวัน ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทะเลในบ่อเลี้ยงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำในบ่อเลี้ยงเป็นประจำทุกเดือน พร้อมการทำความสะดวกทรายและตัวกรองชีวภาพ โดยน้ำทะเลที่เติมเข้าบ่อทุกครั้งต้องมีความเค็มเท่ากับในบ่อเลี้ยง (ความแตกต่างของความเค็มไม่ควรมากกว่า 3 พีพีที) และทำการตรวจเช็คความเค็มในแต่ละบ่อเลี้ยงเป็นประจำทุกสัปดาห์ หากความเค็มของน้ำทะเลในบ่อเลี้ยงสูงขึ้นเนื่องจากการระเหยของน้ำ จะเติมน้ำจืดลงบ่อเลี้ยงจนได้ความเค็มตามที่ต้องการ การศึกษาในครั้งนี้ไม่มีการใช้สารเคมีและไม่มีการคัดขนาดหอยในแต่ละบ่อตลอดการทดลอง

### การเตรียมอาหารผสม (Preparation of feeds)

การศึกษาในครั้งนี้เปรียบเทียบอาหารผสม 6 สูตร (Experimental diets) โดยใช้ส่วนผสม (ingredients) ดังแสดงในตารางที่ 1 ใช้ปลาป่น (Fish meal) เป็นแหล่งโปรตีนหลัก ซึ่งเป็นปัจจัยกำหนดหลักของราคาของอาหารผสม และใช้กากถั่วเหลือง (Soybean meal) เป็นแหล่งโปรตีนแทนปลาป่นที่ 6 ระดับคือ 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ในการทดลองอยู่ในรูปแบบกึ่งเปียก โดยคลุกเคล้าวัตถุดิบที่ใช้ปริมาณมากผสมเข้าด้วยกันก่อน แล้วจึงผสมวัตถุดิบที่ใช้ปริมาณน้อยที่ผสมกัน แล้วรวมเข้าที่หลัง ผสมน้ำในปริมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักอาหารเพื่อให้อาหารมีสภาพกึ่งเปียกจึงปั้นเป็นก้อนกลม ผึ่งลมเป็นระยะเวลา 1-2 วัน แล้วจึงเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยส่วนประกอบและคุณค่าทางอาหารของแต่ละสูตร (ตารางที่ 1) ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ใย และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (1995)

## การเก็บข้อมูล (Data collecting)

### 1 การศึกษาอัตราการเติบโตของหอยหวาน

ทำการการสุ่มตัวอย่างหอยหวานในแต่ละบ่อทดลองประมาณ 100 ตัว ของแต่ละการทดลอง เป็นประจำทุก 30 วัน (สุ่มตัวอย่างหอยโดยที่บ่อทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องมากที่สุด) หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักหอยทั้งตัว (Total body weight) เป็นรายตัว และนับจำนวนตัวต่อกิโลกรัม

### 2 การศึกษาอัตราการรอดตาย

บันทึกจำนวนหอยตายในแต่ละบ่อทดลองเป็นประจำทุกวันและรวบรวมข้อมูลการตายของหอยหวานเป็นประจำทุกเดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บรวบรวมหอยทั้งหมดที่ได้ หลังจากนั้นจึงคำนวณอัตราการรอดตายสุดท้าย

### 3 การศึกษาคุณภาพน้ำทะเล

ศึกษาคุณภาพน้ำทะเลในบ่อเลี้ยงของแต่ละบ่อทดลองเป็นประจำทุก 15 วัน โดยพารามิเตอร์คุณภาพน้ำทะเลที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนในน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง ความเป็นต่างรวม ปริมาณไนโตรเจน และปริมาณแอมโมเนีย โดยวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทะเลทางกายภาพ และเคมี ดังนี้

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์	เอกสารอ้างอิง
อุณหภูมิ	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63	
ความเค็ม	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63	
ความเป็นกรด-ด่าง	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63	
ออกซิเจนละลายน้ำ	DO meter (Model YSI 52)	
ความเป็นต่าง	Titration method	Strickland and Parsons (1972)
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน	Modified Idophenol blue method	Strickland and Parsons (1972)
ไนโตรเจน-ไนโตรเจน	Modified Griess-Ilosvay diazotization method	Strickland and Parsons (1972)



### การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลน้ำหนักของหอยหวาน นำมาคำนวณพารามิเตอร์การเจริญเติบโต (Growth performance) และการตายของหอยหวานที่ทำการศึกษาประกอบด้วย

อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (Growth rate in body weight)

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อเดือน)} = \frac{(\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลาเลี้ยงหอย (เดือน)}}$$

อัตราการแลกเนื้อ (Food conversion ratio; FCR)

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่หอยกินทั้งหมดตลอดการทดลอง}}{\text{น้ำหนักหอยที่เพิ่มขึ้น}}$$

อัตราการรอดตาย (Survival rate)

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนหอยหวานทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนหอยหวานเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

### การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic analysis)

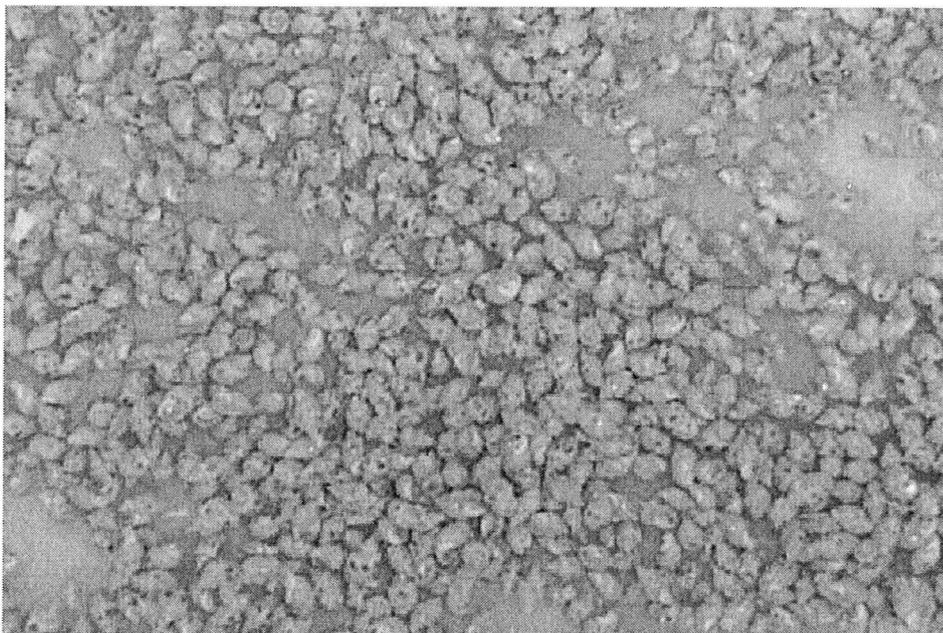
นำข้อมูลที่ได้จากการคำนวณมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $P = 0.05$ ) โดยข้อมูลที่เป็นเปอร์เซ็นต์ต้องแปลงค่าเป็น Arcsine ก่อนทำการวิเคราะห์ทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในครั้งนี้ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for Windows version 9.0

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบองค์ประกอบของอาหารผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

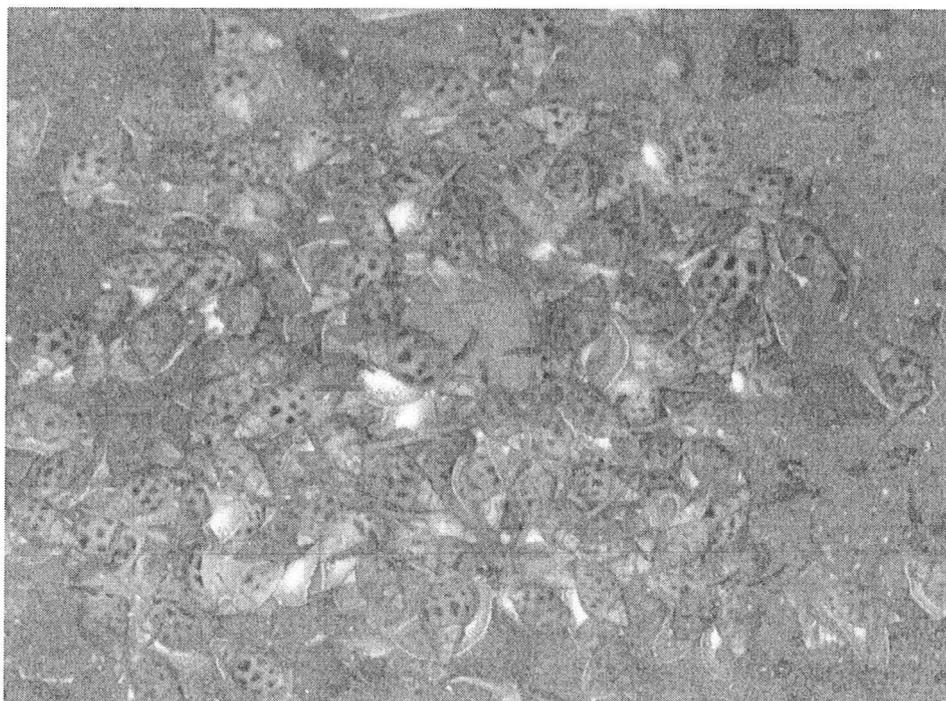
องค์ประกอบ	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	อาหารควบคุม
เนื้อปลาสด	-	-	-	-	-	-	100
ปลาป่น	45.0	42.0	39.0	36.0	33.0	30.0	-
กากถั่วเหลือง	15.0	18.0	21.0	24.0	27.0	30.0	-
หัวกุ้งป่น	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	-
แป้งสาลี	17.0	17.0	17.0	17.0	17.0	17.0	-
วีทกลูเตน	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	-
น้ำมันปลาทูน่า	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	-
วิตามิน							-
พรีมิกซ์ <sup>1</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	-
แร่ธาตุพรีมิกซ์ <sup>2</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	-
<b>Proximate analysis</b>							
Crude protein	41.11±0.06	40.06±0.07	39.19±0.24	38.31±0.22	36.75±0.21	36.00±0.25	
Lipid	10.11±0.08	10.04±0.05	9.75±0.04	9.88±0.02	10.06±0.04	10.01±0.02	
Ash	20.56±0.11	20.44±0.18	13.58±0.05	13.71±0.12	7.00±0.05	9.87±0.06	

<sup>1</sup> วิตามินพรีมิกซ์ (% kg<sup>-1</sup> diet): vitamin A 107 IU, vitamin D 106 IU, vitamin E 0.01%, vitamin K 0.001%, vitamin B<sub>1</sub> 0.0005%, vitamin B<sub>6</sub> 0.01%, Methionine 0.016%.

<sup>2</sup> แร่ธาตุพรีมิกซ์ (% kg<sup>-1</sup> diet): dicalcium phosphate 14.7%, phosphorus 14.7%, manganese oxide 1.0%, copper sulphate 0.36%, iron sulphate 0.20%, potassium iodide 0.10%, cobalt sulphate 0.10%, selenium oxide 0.006%



ภาพที่ 1 หอยหวานที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้นมีน้ำหนักประมาณ 0.1-0.2 กรัม



ภาพที่ 2 การกินอาหารผสมของหอยหวานในบ่อทดลอง