3. อุปกรณ์

3.1. หอยมุกกัลปังหา 3 ขนาดที่รวบรวมจากธรรมชาติ คือ ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ จำนวน 1,500 ตัว

3.2. เครื่องมือติดแกนมุก และแกนมุกที่ทำด้วยเรซินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7-10 มม.

3.3. เครื่องมือวิเคราะห์น้ำ spectrophotometer UV 1601 เครื่องมือวัดความเค็ม เทอร์โมมิเตอร์ เครื่องวัดออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และเครื่องวัดความเป็นกรด-เบส

3.4. ถุงลากแพลงก์ตอน (plankton net) ขนาด 40 μ ที่มีเครื่องวัดปริมาณน้ำ (flow meter) และขวดเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน

3.5. สไลด์นับจำนวน (Sedgwick-Rafter counting chamber)

3.6. เครื่องนับจำนวน (hand counting number)

3.7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ และสารเคมี

3.8. เครื่องปั๊มลม ตู้อบแห้ง และเครื่องชั่งไฟฟ้า

3.9. เวอร์เนีย คาลิเปอร์ (vernier calipers)

3.10. กล้องจุลทรรศน์

4. วิธีการวิจัย

4.1. การเตรียมหอยมุกกัลปังหาแบ่งตามขนาด

นำหอยมุกกัลปังหาจำนวนทั้งหมด 1,500 ตัวล้างเปลือกให้สะอาด วัดความยาว (ภาพที่ 4) และแบ่งเป็น 3 กลุ่มดังนี้

ขนาดเล็กวัดความยาวได้ 130.00-135.00 มิลลิเมตร จำนวน 450 ตัว

ขนาดกลางวัดความยาวได้ 160.00-165.00 มิลลิเมตร จำนวน 450 ตัว

ขนาดใหญ่วัดความยาวได้ 185.00-200.00 มิลลิเมตร จำนวน 450 ตัว

(เลี้ยงหอยมุกสำรองไว้โดยไม่ติดแกนมุก 150 ตัว)

หอยมุกทั้งหมดนำมาเลี้ยงบริเวณแพแหลมหิน จังหวัดภูเก็ตเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้หอยปรับตัวกับสภาพแวดล้อม

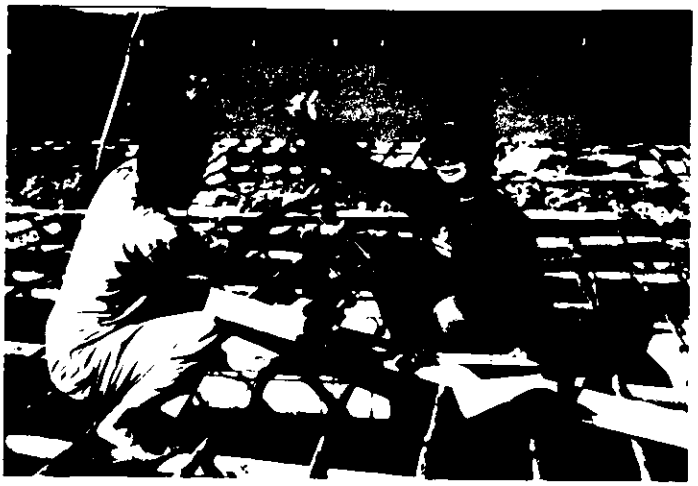
4.2. การติดแกนมุก

4.2.1 นำหอยมุกกัลปังหาทั้ง 3 กลุ่มจำนวน 1,350 ตัว มาไว้ในภาชนะแห้งในที่ร่ม ทิ้งให้ถูกอากาศเป็นเวลา 30 นาที หรือให้น้ำไหลผ่านตลอดเวลา หอยจะเริ่มอ้าปาก และทันทีที่หอยอ้าปากก็จะเสียบลิ่มไม้ขนาดเล็กสอดค้างไว้

4.2.2 นำหอยทั้งหมดที่เตรียมไว้ทั้งขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่อย่างละ 450 ตัว มาติดแกนมุกที่ด้านในของเปลือกด้านใดด้านหนึ่ง

4.2.3 นำหอยมุกที่ติดแกนมุกแล้วมาพักในบ่อขนาด 1x2x1 เมตร ให้อากาศและน้ำในบ่อไหลเวียนตลอดเวลา นาน 1 สัปดาห์

4.2.4 นำหอยทั้งหมดลงเลี้ยงในทะเลด้วยวิธีการแขวนเลี้ยงอิสระ (free suspension) (ภาพที่ 3) โดยใช้เชือกไนลอนร้อยผ่านรูเล็ก ๆ ของเปลือกทีละตัว เชือก 1 เส้นผูกหอยประมาณ 15 ตัว และติดป้ายบันทึกข้อมูล



ภาพที่ 3 การเลี้ยงหอยมุกโดยวิธีการแขวนอิสระ

4.3. การนำหอยมุกไปเลี้ยงที่ระดับความลึกของน้ำทะเลต่างกัน

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial experiment) ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) ที่มีปัจจัยเกี่ยวข้อง 2 ปัจจัย คือ ระดับความลึกของน้ำทะเลและขนาดของหอยมุก ปัจจัยแรกมี 3 ระดับ คือ ระดับ 2 เมตร 5 เมตร และ 8 เมตร ปัจจัยหลังมี 3 ขนาด คือ ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ รวมทั้งสิ้น 9 ชุดการทดลอง โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็นดังนี้

กลุ่มที่ 1 หอยมุกจำนวน 450 ตัว แบ่งเป็นขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่อย่างละ 150 ตัว (สำรองหอยมุกทั้ง 3 ขนาดอีกขนาดละ 15 ตัวรวม 45 ตัว) นำไปเลี้ยงที่ระดับความลึกของน้ำทะเล 2 เมตร เป็นระดับผิวน้ำ

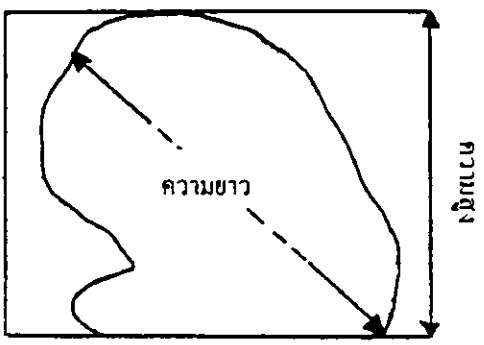
กลุ่มที่ 2 หอยมุกจำนวน 450 ตัว แบ่งเป็นขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่อย่างละ 150 ตัว (สำรองหอยมุกทั้ง 3 ขนาดอีกขนาดละ 15 ตัวรวม 45 ตัว) นำไปเลี้ยงที่ระดับความลึกของน้ำทะเล 5 เมตร เป็นระดับกลางน้ำ

กลุ่มที่ 3 หอยมุกจำนวน 450 ตัว แบ่งเป็นขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่อย่างละ 150 ตัว (สำรองหอยมุกทั้ง 3 ขนาดอีกขนาดละ 15 ตัวรวม 45 ตัว) นำไปเลี้ยงที่ระดับความลึก 8 เมตร เป็นระดับพื้นน้ำทะเล

4.4 การวัดการเจริญเติบโต

4.4.1 การเจริญเติบโตด้านความยาวของเปลือก

สุ่มหอยมุกที่เลี้ยงไว้กลุ่มละ 30 ตัวทุกเดือน คือ ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ อย่างละ 10 ตัว โดยแต่ละขนาดวัดความยาวเปลือกทั้ง 10 ตัว แล้วบันทึกค่าเฉลี่ย



ภาพที่ 4 การวัดความยาวเปลือกของหอยมุกกัลปังหา

4.4.2. การเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก

นำเนื้อหอยมุก 5 ตัว/ชุดการทดลอง มาชั่งน้ำหนักทีละตัว บันทึกน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักบันทึกเป็นค่าน้ำหนักแห้ง (dry weight : DW) แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 450 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเถ้าที่เหลืออยู่ แล้วนำน้ำหนักของเถ้าที่ได้ไปหักออกจากค่าน้ำหนักแห้ง ก็จะได้ค่าน้ำหนักอินทรีย์ของหอย (Ash Free Dry Weight : AFDW) คำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตของหอย 1 ตัวดังนี้

$$\text{growth rate} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลาหนึ่ง (AFDW)}}{\text{เวลา (วัน)}}$$

4.5 การวัดความหนาของชั้นมุก

นำเปลือกหอยที่ติดแกนมุกแล้วจากหอยมุกที่สุ่มตัวอย่างทั้ง 10 ตัว/ชุดการทดลอง มาตรวจสอบการเคลือบมุก โดยการใช้ค้อนขนาดเล็กกะเทาะผิวมุกด้านบนของแกนมุก นำมาวัดด้วยเวอร์เนีย คาลิเปอร์ บันทึกความหนาของมุก

4.6 การวัดอัตราการตายของหอยมุก

ในแต่ละเดือนนับจำนวนหอยมุกที่ตาย ทุกชุดการทดลอง บันทึกอัตราการตายของหอยมุกเป็นเปอร์เซ็นต์การตายทุกชุดการทดลองตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤศจิกายน 2544

4.7 การหาปริมาณไกลโคเจนในเนื้อหอย

นำหอยมุกอีก 5 ตัว/ชุดการทดลอง โดยนำเฉพาะส่วนที่เป็นกล้ามเนื้อ (adductor muscle) มาหาองค์ประกอบของอินทรีย์สาร ในรูปของไกลโคเจน เพื่อต้องการทราบปริมาณไกลโคเจนที่หอยมุกต้องการหลังจากการติดแกนมุก โดยชั่งเนื้อหอยมุกสด 20 กรัม ล้างน้ำให้สะอาด ปั่นละเอียด (homogenize) แล้วเติม 30% Trichloroacetic acid (TCA) จะได้ตะกอนและน้ำใส ๆ (สารละลายที่มีไกลโคเจน) ล้างตะกอนด้วย 5% TCA อีกครั้ง ตกตะกอนสารละลายไกลโคเจนที่ได้ด้วย 95% Ethanol นำไปปั่นที่ 2,000 rpm นาน 10 นาที และตกตะกอนอีกครั้งด้วย 95% Ethanol จะได้ตะกอนของไกลโคเจน และชั่งปริมาณของตะกอนที่ได้ บันทึกข้อมูล

4.8 การศึกษาสิ่งมีชีวิตที่เกาะติดกับเปลือกหอย

ตัวอย่างหอยมุกที่สุ่มมา 10 ตัว/ชุดการทดลอง นอกจากวัดความยาวเปลือกแล้วทุกเดือน ต้องนำมาแซะเอาสิ่งมีชีวิตที่เกาะบนเปลือกหอยมุกแต่ละตัว เพื่อกำจัดสิ่งมีชีวิตอื่นที่มาเกาะ บันทึกชนิดของสิ่งมีชีวิตอื่นที่พบ และรวบรวมสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ ชั่งน้ำหนัก และนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}$C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง บันทึกปริมาณของสิ่งมีชีวิตที่เกาะบนเปลือกเป็นค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อหอยมุก 1 ตัว

ภาพที่ 5 สิ่งมีชีวิตที่เกาะติดกับเปลือกหอยมุก

4.9 การศึกษาชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอน

4.9.1 เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนโดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอน ลากเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนที่ระดับน้ำทั้ง 3 ระดับ (ผิวน้ำ กลางน้ำ และพื้นน้ำ) โดยลากในแนวนอนขนานกับผิวน้ำ (horizontal towing) แล้วเก็บตัวอย่างระดับความลึกละ 2 ซ้ำ เก็บในขวดดองที่มี 5% บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน

4.9.2 นำตัวอย่างทั้งหมดมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอน โดยสุ่มน้ำที่ได้จากขวดตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณแพลงก์ตอนกระจายอยู่อย่างสม่ำเสมอ (homogeneous condition) 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสไลด์นับแพลงก์ตอน (Sedgwick Rafter counter cell) ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ เพื่อวิเคราะห์และจัดจำแนกสกุลของแพลงก์ตอน นับตัวอย่างแต่ละสกุลด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูงตามลำดับ ในแต่ละตัวอย่างสุ่มนับ 3 ครั้ง คำนวณหาปริมาณ (ตัว) แพลงก์ตอนต่อตัวอย่างน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร (ม.^{3})

4.10 การศึกษาคุณภาพน้ำทางฟิสิกส์และเคมี

4.10.1 เก็บตัวอย่างน้ำที่ระดับความลึก 2 เมตร 5 เมตร และ 8 เมตร โดยใช้ขวดเก็บตัวอย่างน้ำแบบ Van Dorn เริ่มเก็บตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤศจิกายน 2544 ระยะเวลา 10 เดือน

4.10.2 วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ โดยวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ วัดความเค็มของน้ำทะเล อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส (pH) ช่วงเวลาเช้า-เย็น และวัดปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ โดยใช้เครื่อง spectrophotometer UV 1601

4.10.3 เก็บข้อมูลทั่วไปบริเวณแพเลี้ยงหอยมุก เช่น ความโปร่งใสของน้ำ และอุณหภูมิอากาศ เป็นต้น

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญเติบโตด้านความยาวของเปลือกหอย และด้านน้ำหนัก เปรียบเทียบความหนาของชั้นมุก และปริมาณสิ่งมีชีวิตอื่นที่เกาะบนเปลือกหอย โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบ One-way ANOVA และใช้โปรแกรม SPSS for Window วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Duncan's Multiple Range Test