

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการทดลอง

3.1.1 พ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีน จำนวน 40 คู่

3.1.2 โหลแก้วสี่เหลี่ยมความจุ 700 ซีซี จำนวน 60 ใบ

3.1.3 ถังน้ำพลาสติก ความจุ 200 ลิตร จำนวน 4 ใบ

3.1.4 กะละมังพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร จำนวน 20 ใบ

3.1.5 กะละมังพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 เซนติเมตร จำนวน 16 ใบ

3.1.6 กะละมังพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65 เซนติเมตร จำนวน 20 ใบ

3.1.7 อาหารปลา (อาหารเม็ดสำเร็จรูป, โรติเฟอรัส, อาร์ทีเมีย, ไรแดง และ ไข่กุ้ง)

3.1.8 เครื่องมือและสารเคมีสำหรับตรวจสอบคุณภาพน้ำ

3.1.8.1 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) แบบตั้งโต๊ะ รุ่น 5100

HACH (เยอรมัน) จำนวน 1 ชุด

3.1.8.2 สารเคมีสำหรับตรวจวัดค่าสภาพด่างของน้ำ (Alkalinity) พร้อมอุปกรณ์

1 ชุด

3.1.9 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.10 เวอร์เนียคาลิเปอร์

3.2 วิธีการทดลอง

ในการศึกษาผลของการใช้น้ำสกัดใบหูกวางต่อการเพาะเลี้ยงปลากัด แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

3.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของน้ำสกัดใบหูกวางต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกปลากัด โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลองๆละ 4 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่ใช้น้ำสกัดใบหูกวาง (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้น้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 ใช้น้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 1.0 กรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 ใช้น้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 1.5 กรัมต่อลิตร

ดำเนินการทดลองในกะละมังพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 เซนติเมตร จำนวน 16 ใบ (ซ้ำ) นำลูกปลากัดจีนอายุ 10 วันจากครอกที่แม่ปลาสมบูรณ์ที่สุดมาแบ่งปล่อยลง

เลี้ยงกะละมังละ 110 ตัว ให้ตัวอ่อนของอาร์ทีเมียและไข่กุ้ง เป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ใช้สาขายางขนาดเล็ก (สาขลม) ดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 ใน 3 ของน้ำทั้งหมดทุกวัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำทั้งหมดพร้อมทำความสะอาดกะละมังสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักและความยาวโดยสุ่มชั่งวัดลูกปลา 10 ตัว สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในเวลาการเลี้ยง 4 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองนับจำนวนลูกปลาที่เหลือนำมาคำนวณอัตราการรอดโดยคิดเป็นร้อยละของจำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มทดลองดังนี้

$$\text{อัตราการรอด (\%)} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนลูกปลาที่ปล่อย}}$$

3.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของน้ำสกัดใบหูกวางต่อจำนวนลูกต่อครอกและสัดส่วนเพศของปลากัด โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0 กรัมต่อลิตร (น้ำธรรมดา)

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยน้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร

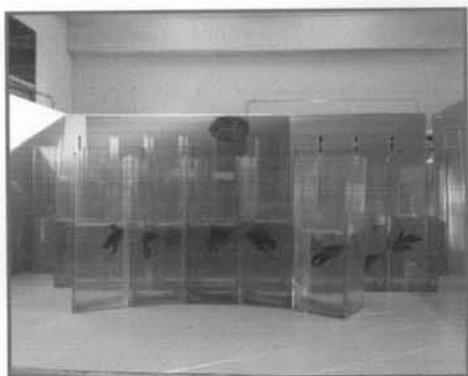
ดำเนินการทดลองในกะละมังพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65 เซนติเมตร จำนวน 20 ใบ โดยนำลูกปลากัดจีนอายุ 10 วันของแต่ละครอกมาแบ่งปล่อยเลี้ยงจำนวน 140 ตัว/ครอก/ 1 กะละมัง ให้ตัวอ่อนของอาร์ทีเมียและไข่กุ้ง เป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นอาหารเม็ดเสริมด้วยลูกน้ำ วันละ 2 ครั้ง จนสามารถแยกเพศลูกปลาได้ ตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงใช้สาขายางขนาดเล็กดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 ใน 3 ของน้ำทั้งหมดทุกวันและเปลี่ยนถ่ายน้ำทั้งหมดพร้อมทำความสะอาดกะละมังสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ทำการตรวจสอบเพศของลูกปลากัดทุกตัวจากลักษณะภายนอก เพื่อนำไปคำนวณหาสัดส่วนเพศ ดังนี้

$$\text{สัดส่วนลูกปลาเพศผู้ (เพศเมีย) (\%)} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาเพศผู้(เพศเมีย)} \times 100}{\text{จำนวนลูกปลาทั้งหมด}}$$

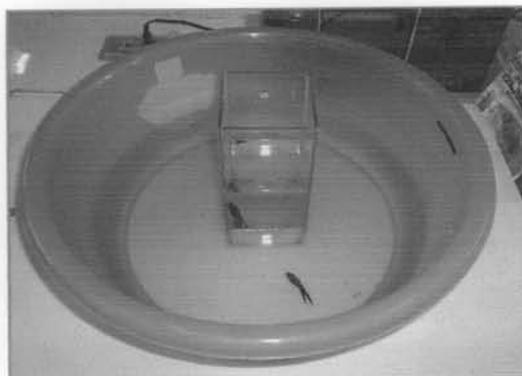
3.3 การเตรียมปลาทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีนอายุ 4-5 เดือน โดยแยกเลี้ยงปลาเพศผู้และเพศเมียในโหลแก้วบรรจุน้ำธรรมดา 500 ซีซี จำนวน 10 คู่ (ภาพที่ 3.1) ด้วยอาหารเม็ดเสริมด้วยไรแดงและไขคูน เปลี่ยนน้ำสัปดาห์ละ 1-2 ครั้ง เป็นเวลา 20-30 วัน

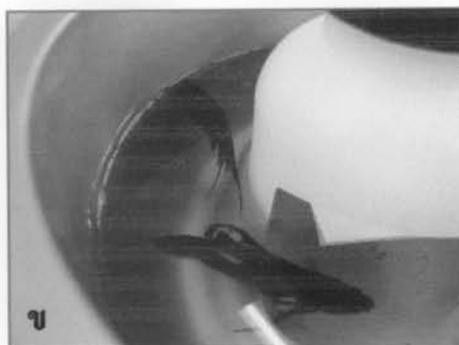
คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์เพศและพร้อมที่จะผสมพันธุ์มาทำการเพาะพันธุ์ โดยนำขวดปลาเพศผู้และเพศเมียมาเทียบคู่ประมาณ 3-10 วัน (ภาพที่ 3.2) จากนั้นเมื่อปลามีความพร้อมที่จะทำการเพาะพันธุ์ได้ ปล่อยปลาเพศผู้ลงในกะละมังขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตรแล้วนำขวดปลาเพศเมียวางลงในกะละมังด้วยในตอนเช้า เพื่อให้ปลาเคยชินกับบ่อเพาะพันธุ์ จนเวลาประมาณ 16.00 น. จึงปล่อยปลาเพศเมียรวมกับปลาเพศผู้และใช้ขวดพลาสติกปิดเป็นช่องเพื่อให้ปลาเพศผู้เข้าไปทำรัง (ภาพที่ 3.3) ปลาจะจับคู่วางไข่ในเช้าวันถัดไปเมื่อสิ้นสุดการวางไข่นำแม่ปลาออกจากกะละมังไปรักษาบาดแผลพร้อมขุ่นเลี้ยงต่อไป ปล่อยให้พ่อปลาดูแลไข่จนกระทั่งไข่ฟักออกเป็นตัวและเริ่มว่ายน้ำได้จึงนำพ่อปลาออก



ภาพที่ 3.1 พ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีนที่เลี้ยง
ในน้ำธรรมดา



ภาพที่ 3.2 การเทียบคู่พ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีน



ภาพที่ 3.3 กะละมังและขวดพลาสติกสำหรับเพาะพันธุ์ปลากัดจีน (ก และ ข)

อนุบาลลูกปลากัดในกะละมังที่ใช้เพาะพันธุ์ โดยเริ่มให้อาหารลูกปลาหลังจากฟักเป็นตัว 2 วัน ดังนี้ ให้โรติเฟอร์ เป็นอาหารวันละ 3 ครั้ง (เช้า-กลางวัน-เย็น) เป็นเวลา 3 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 2 ใน 3 ของน้ำทั้งหมด เติมน้ำใหม่ให้มีระดับเท่าเดิม หลังจากนั้นเปลี่ยนให้ตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย เป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง (เช้า- เย็น) เปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 ใน 3 ของน้ำทั้งหมดทุกวัน จนลูกปลา มีอายุ 10 วัน จึงคัดเลือกลูกปลาจากครอกที่แม่ปลาสมบูรณ์ที่สุด ไปแบ่งปล่อยลงเลี้ยงในกะละมังพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 เซนติเมตร ที่เตรียมไว้สำหรับเลี้ยงลูกปลา(ภาพที่ 3.4) ของแต่ละชุดการทดลอง โดยสุ่มชั่งวัดความยาวและน้ำหนักเริ่มต้นก่อนปล่อยเลี้ยงและบันทึกไว้



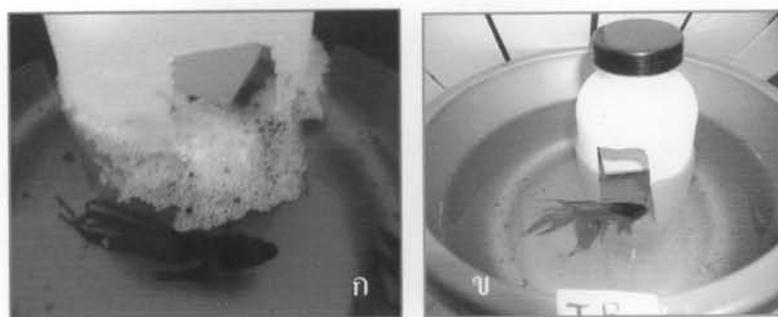
ภาพที่ 3.4 กะละมังพลาสติก สำหรับเลี้ยงลูกปลากัด เป็นเวลา 4 สัปดาห์(ก และ ข)

3.3.2 การทดลองที่ 2 เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีนอายุ 3-4 เดือนที่ได้จากการเพาะพันธุ์ในครอกเดียวกัน พ่อปลากัดมีความยาวเฉลี่ย 7.5 เซนติเมตรและแม่ปลามีความยาวเฉลี่ย 5.3 เซนติเมตรในน้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0 และ 0.5 กรัมต่อลิตร จำนวน 30 คู่ โดยแยกเลี้ยงปลาเพศผู้และเพศเมียในโหลแก้วบรรจุน้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0 กรัมต่อลิตร(น้ำธรรมดา) 500 ซีซี จำนวน 15 คู่ และ น้ำสกัดใบหูกวางอัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร 500 ซีซี จำนวน 15 คู่ (ภาพที่ 3.5) ให้อาหารเม็ดเสริมด้วยไรแดงและไข่ตุ๋น วันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนน้ำ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 20-30 วัน

คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์เพศพร้อมที่จะผสมพันธุ์มาทำการเพาะพันธุ์และอนุบาลตามขั้นตอนต่างๆเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยใส่น้ำธรรมดาและน้ำสกัดใบหูกวางในกะละมังสำหรับเพาะพันธุ์ที่เตรียมไว้ชุดการทดลองละ 10 ใบ (ภาพที่ 3.6) เมื่อลูกปลาฟักเป็นตัวและแข็งแรง ตรวจสอบจำนวนลูกปลาของแต่ละครอกและจดบันทึกไว้ อนุบาลลูกปลาจนมีอายุ 10 วัน จึงนำลูกปลาในแต่ละครอกจำนวน 140 ตัว/ครอกไปเลี้ยงต่อในกะละมังพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ของแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 3.7) จนสามารถแยกเพศได้



ภาพที่ 3.5 พ่อแม่พันธุ์ปลากัดจีนแยกเลี้ยงในน้ำ
สกัดใบหูกวาง(ก)และน้ำธรรมชาติ (ข)



ภาพที่ 3.6 กะละมังสำหรับเพาะพันธุ์ปลากัดในน้ำสกัดใบหูกวาง (ก)
และน้ำธรรมชาติ (ข)



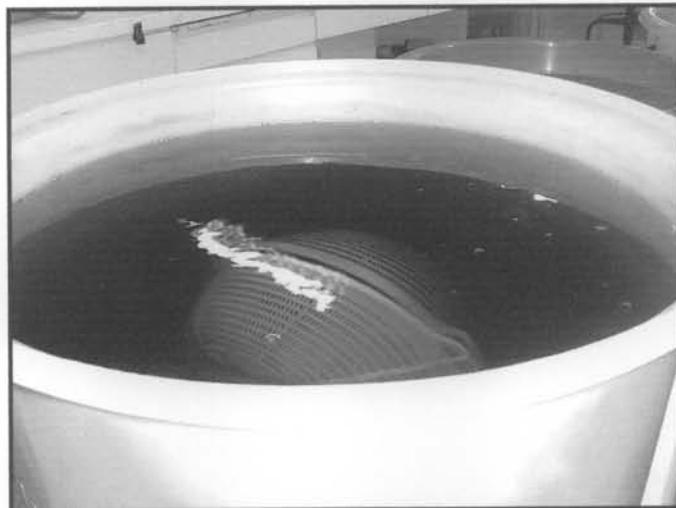
ภาพที่ 3.7 กะละมังพลาสติกสำหรับเลี้ยงลูกปลา
กัดจนสามารถแยกเพศได้

3.4 การเตรียมน้ำสกัดใบหูกวาง

รวบรวมใบหูกวางแห้งสีน้ำตาลแดงที่ร่วงตามบริเวณ โคนต้น มาทำความสะอาดและอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จึงตัดเป็นชิ้นเล็กๆ (ภาพที่ 3.8) ชั่งน้ำหนักตามอัตราส่วนที่กำหนดในแต่ละชุดการทดลองแล้วนำไปแช่ในถังน้ำไฟเบอร์กลาส ความจุ 200 ลิตร (ภาพที่ 3.9) เป็นเวลา 7 วัน นำใบหูกวางออกแล้วกรองน้ำใบหูกวางที่ได้ด้วยผ้ากรอง(โอส่อนแก้ว) ก่อนนำไปใช้



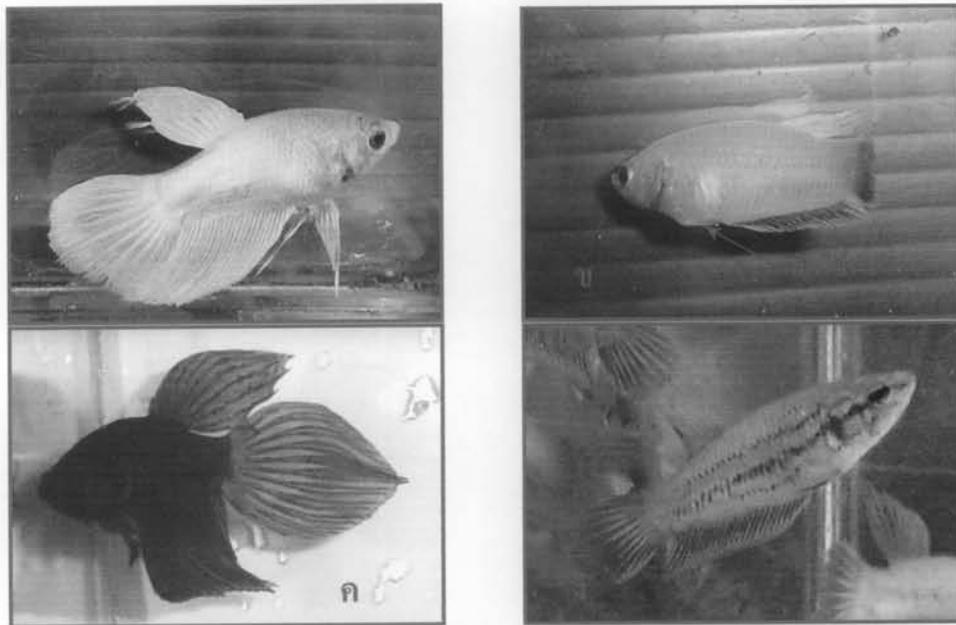
ภาพที่ 3.8 ลักษณะใบหูกวางที่นำมาใช้(ก)และใบหูกวางที่ผ่านการอบและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ(ข)



ภาพที่ 3.9 ถังน้ำไฟเบอร์กลาสความจุ 200 ลิตรสำหรับเตรียมน้ำสกัดใบหูกวาง

3.5 การตรวจสอบเพศปลากัด

เมื่อลูกปลาสามารถแยกเพศได้ทำการตรวจสอบเพศปลาทุกตัวจากลักษณะภายนอกต่างๆ เพื่อนำไปคำนวณสัดส่วนเพศต่อไป ซึ่งความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียในปลากัด (ภาพที่ 3.10) สามารถใช้ลักษณะภายนอกเพื่อบ่งบอกเพศได้ (วัชร และคณะ, 2544) ลักษณะภายนอกต่างๆที่ใช้ในการแยกเพศของปลากัด (กรมประมง, 2545; ประภาส, 2540 และ พฤษภา, 2544) ดังแสดงในตารางที่ 3.1



ภาพที่ 3.10 ลักษณะภายนอกปลากัดเพศผู้ (ก และ ค) และเพศเมีย (ข และ ง)

ตารางที่ 3.1 ลักษณะภายนอกต่างๆของปลากัดที่ใช้ในการแยกเพศ

เพศผู้	เพศเมีย
สีต้นบนลำตัวและครีบบีสีเข้มสด	สีต้นบนลำตัวและครีบบีซีดจาง
ครีบทูครีบบีมีความยาวมากกว่าเพศเมีย	ครีบทูครีบบีจะสั้นกว่า
ครีบทหลังตั้งเป็นกระ โคงและส่วนปลายครีบบีแหลม	ครีบทหลังไม่ตั้งเป็นกระ โคงและส่วนปลายครีบบีมน
ขนาดลำตัวโตกว่าเพศเมียในครอกเดียวกัน	ขนาดลำตัวเล็กกว่า
ลายพาดตามลำตัวไม่ชัดเจน	มีลายพาดตามยาวของลำตัว 2-3 แถบอย่างชัดเจน
ไม่มีเมือค ำน้ำ	มีเมือค ำน้ำ

3.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำสกักไบหูกวางแต่ละอัตราความเข้มข้นในวันที่ 7 ของการหมัก ก่อนนำน้ำสกักไบหูกวางไปใช้ โดยตรวจวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) ด้วย pH meter แบบตั้งโต๊ะรุ่น 5100 HACH (เยอรมัน) และค่าสภาพด่าง (Alkalinity) ด้วยวิธี Titration ตามวิธีวิเคราะห์ของ APHA , AWWA and WPCF (1998)

3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1 นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 6.12 (SAS Institute Inc. Cary, NC)

การทดลองที่ 2 นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบกลุ่ม (T-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 6.12 (SAS Institute Inc. Cary, NC)

3.8 สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

3.8.1 สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.8.2 ระยะเวลาในการทดลอง

1) เตรียมพ่อ-แม่พันธุ์ปลากัดในเดือน กรกฎาคม 2547 ถึง สิงหาคม 2547 และเดือน ธันวาคม 2547 ถึง มีนาคม 2548

2) ทำการทดลองที่ 1 ในเดือน กันยายน 2547 ถึง พฤศจิกายน 2547 และการทดลองที่ 2 ในเดือนกุมภาพันธ์ 2548 ถึง กันยายน 2548