

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 อุปกรณ์การเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ ตู้กระจกขนาด 15x30x15 เซนติเมตร ถังไฟเบอร์สีขาว หัวทราย สายอากาศ ท่อ PVC ขนาด 2 เซนติเมตร

3.1.2 อุปกรณ์การถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องสเตอริโอพร้อมกล่องถ่ายภาพ ชุดนับจำนวนเม็ดสี

3.1.3 อุปกรณ์วัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) กล้องวัดความเค็ม (salinometer) เครื่องวัด DO meter เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเกิดสีของกุ้งแคะสวยงาม

3.2.1.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) มี 4 ชุดการทดลอง. ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง 6, 7, 8 และ 9 แต่ละชุดการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.1.2 วิธีการทดลอง

(1) เตรียมสัตว์ทดลอง และชุดการทดลอง โดยคัดกุ้งเชอร์รี่ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ขนาดประมาณ 1.5 เซนติเมตร จำนวน 120 ตัว เพื่อปรับสภาพแล้วปล่อยลงชุดการทดลองละ 10 ตัว

(2) การเตรียมสารใช้สำหรับปรับความเป็นกรด-ด่างในน้ำ นำสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 N เตรียมโดยนำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร เเทลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บสารลงในขวดแก้วเก็บสาร เตรียมสารละลายคาร์บอเนต-ไบคาร์บอเนตโดยใช้สาร 2 ชนิดคือ 0.2 M anhydrous sodium carbonate และ 0.2 M sodium bicarbonate โดยผสมกันในอัตราส่วน 45 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปเก็บในขวดเก็บสาร

(3) การปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่เลี้ยงกุ้งเชอร์รี่ในหน่วยทดลอง ให้ได้ความเป็นกรด-ด่างที่ 6, 7 และ 8 โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 N เป็นตัวปรับ และที่ความเป็นกรด-ด่าง 9 ใช้สารละลายคาร์บอเนต-ไบคาร์บอเนต เป็นตัวปรับโดยในการปรับจะค่อยๆ หยดสารลงหน่วยทดลอง โดยมีเครื่อง pH meter คอยวัดค่าจนน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างตามที่ต้องการ ซึ่งจะทำให้การปรับทุกวัน วันละครั้ง ตลอดการทดลองทั้งหมด 7 สัปดาห์

(4) การนับเม็ดสี โดยสุ่มกุ้งเชอร์รี่จากทุกๆ หน่วยทดลอง หน่วยละ 3 ตัว เพื่อไปถ่ายรูปด้วยกล้อง stereo แบบถ่ายรูปได้ โดยถ่ายบนลำตัวทั้งหมด ทำการถ่ายรูปสัปดาห์ละครั้ง เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ นับจำนวนเม็ดสีบริเวณลำตัว และนำข้อมูลจำนวนเม็ดสีที่นับได้มาทำการทดสอบทางสถิติ

3.2.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงรังไข่ของกุ้งแคะระสวยงาม

3.2.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) มี 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ความเค็มที่ระดับ 0, 4, 8 และ 12 ppt แต่ละชุดการทดลอง ทำ 3 ซ้ำ

3.2.1.2 วิธีการทดลอง

(1) คัดกุ้งเชอร์รี่เพศเมีย ที่ปรากฏรังไข่ชัดเจน ขนาดประมาณ 2.0-2.5 เซนติเมตรและการเลี้ยงกุ้งเชอร์รี่ที่มีการพัฒนาของรังไข่จำนวน 5 ตัว ต่อชุดการทดลอง ค่อยๆ ปรับความเค็มวันละ 2 ppt จนได้ระดับความเค็ม 0, 4, 8 และ 12 ppt เลี้ยงกุ้งเชอร์รี่เป็นระยะเวลา 24 วัน

(2) บันทึกภาพถ่ายการพัฒนาของรังไข่ โดยนำกุ้งเชอร์รี่มาถ่ายภาพรังไข่ด้วยกล้อง stereo ทุกๆ 3 วัน และนำภาพถ่ายกุ้งเชอร์รี่ในแต่ละระดับความเค็มมาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของรังไข่มาวิเคราะห์ผล

3.2.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด การพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ และลักษณะเนื้อเยื่อเซลล์สืบพันธุ์ของกุ้งแคะระสวยงาม

3.2.3.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิในรูปแบบต่างกัันดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อุณหภูมิ 27-28 องศาเซลเซียส เลี้ยงกุ้งแคะระในโพลพลาสติกแล้วนำไปลอยน้ำไว้ในตู้ปลา

ชุดการทดลองที่ 2 อุณหภูมิ 28-29 องศาเซลเซียส เลี้ยงกุ้งแคะระในโพลพลาสติกในอุณหภูมิห้อง

ชุดการทดลองที่ 3 อุณหภูมิ 29-30 องศาเซลเซียส เลี้ยงกุ้งแคะระในโพลพลาสติกลอยน้ำในตู้ปลาที่มีการใส่ฮีตเตอร์

แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ

3.2.1.2 วิธีการทดลอง

(1) เตรียมโพนขนาด 41.5x18x2.5 เซนติเมตร เจาะรูปเป็นวงกลม จำนวน 8 วง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร

(2) เตรียมภาชนะพลาสติกขนาด 5 ลิตร ใส่น้ำลงไปในภาชนะขนาด 4 ลิตร ใส่น้ำในโพนที่เจาะรูไว้ แล้วนำภาชนะไปลอยในตู้ปลาขนาด 50.7x93x48 เซนติเมตร รองพื้นภาชนะด้วยหิน ผูกมอสกับขอนไม้ แล้วใส่ลงไปในภาชนะ

(3) สุ่มกุ้งแคะระจำนวน 20 ตัวต่อโพลที่มีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 0.005 กรัม ให้อากาศตลอดเวลาและให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปวันละ 2 มื้อ เวลา 08.30 และ 16.30 นาฬิกา ในระหว่างการเลี้ยงเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ทุก 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 60 วัน

(4) ตรวจเช็คน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและการตายของกุ้งแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้อ้อมาคำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและเปอร์เซ็นต์อัตรารอด

(5) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างกุ้งแคะทุกชุดการทดลอง เพื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อ โดยผ่านขั้นตอนตามวิธีมาตรฐานของ Humason (1979)

(6) วิเคราะห์คุณภาพน้ำทุกๆ 1 สัปดาห์ ตามวิธีการใน standard methods for the examination of water and wastewater (APHA, 2005) ได้แก่ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ส่วนอุณหภูมิ (temperature) และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen; DO) วัดด้วยเครื่อง DO meter ความเป็นกรด-ด่าง วัดด้วยเครื่อง pH meter

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรม SPSS