

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

อุปกรณ์

1.เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์จับปลาควักบึกอุย

- 1.1.1 ถังพลาสติก และยางรัด
- 1.1.2 กล่องโฟม
- 1.1.3 แหะเล็ก
- 1.1.4 ตาข่ายจับปลา
- 1.1.5 ถังน้ำพลาสติก
- 1.1.6 รองเท้าบูตยาง
- 1.1.7 สวิง

1.2 อุปกรณ์ตรวจและเก็บตัวอย่าง

1.2.1 กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (compound microscope)

- กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ Olympus system microscope - model BHA พร้อมอุปกรณ์ถ่ายรูปและวาดรูป (drawing tube)
- ocular และ stage micrometer

1.2.2 กล้องจุลทรรศน์ stereo (Olympus system model X-Tr)

1.2.3 กระจกสไลด์และกระจกปิดสไลด์

1.2.4 ขวดเล็ก (vial) เก็บตัวอย่างพยาธิ

1.2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการผ่าตัด

1.2.6 ตู้ปลา

1.2.7 ออกซิเจนผง

1.2.8 แอร์ปั๊ม

1.2.9 เครื่องตรวจคุณภาพน้ำ (Jenway Ltd. Felsted Dunmow Essex England CM6 3LD)

1.2.10 เครื่องชั่ง

1.2.11 แผ่นความร้อน (hot plate)

1.2.12 อุปกรณ์เครื่องแก้ว: petri - dish, beaker, dropper, stender dish, staining jar

1.2.13 อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถังมือ หน้ากาก เข็มเจาะ พู่กัน ถังพลาสติก กระดาษเลเบล กระดาษชำระ

1.3 อุปกรณ์ถ่ายภาพและวาดรูป

- 1.3.1 กล้องถ่ายรูป Nikon MF-20
- 1.3.2 กระดาษลอกลาย (tracing paper)
- 1.3.3 กระดาษอัดรูปขนาด 3 ½" x 5½" เบอร์ FMR 2
- 1.3.4 ดินสอ 2B
- 1.3.5 ยางลบดินสอ
- 1.3.6 ปากกา rotting หัวขนาด 0.3, 0.5, 0.8 และ 1.0 mm
- 1.3.7 ปากกา staedtler หัวขนาด 0.3 และ 0.5 mm

2. สารเคมี

- 2.1 น้ำยาคงสภาพเซลล์ (fixative) (ภาคผนวก ก)
 - 2.1.1 Alcohol 70 %
 - 2.1.2 Ammonium-picric acid glycerine
 - 2.1.3 Formalin 4 %
- 2.2 สารเคมีที่ใช้ทำสไลด์ถาวร
 - 2.2.1 Ethyl alcohol 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 85% และ 95 %
 - 2.2.2 Butyl alcohol
 - 2.2.3 Xylene
 - 2.2.4 Permount
- 2.3 สีย้อม (ภาคผนวก ค)
 - 2.3.1 Borax carmine
 - 2.3.2 Haematoxyline

วิธีการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างปลาคุกกี้เดือนละ 30 ตัว ยกเว้นในเดือนธันวาคม 2542 มกราคม 2543 เก็บ 31 ตัว พฤษภาคม 2543 เก็บปลา 33 ตัว และสิงหาคม 2543 เก็บปลา 39 ตัว ระยะเวลาศึกษา 14 เดือน ใช้วิธีการดักจับตัวอย่างด้วยการใช้แหในบ่อเลี้ยง (รูป 7) และพักปลาในบ่อซีเมนต์ (รูป 8) โดยพยายามรักษาสภาพ ตัวอย่างให้มีชีวิตโดยการอัดแก๊สออกซิเจนลงในถุงใส่ปลาเพื่อนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

2. นำปลามาเก็บไว้ในตู้ปลาที่ห้องปฏิบัติการประติวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำการศึกษาตัวอย่างปลาทีละตัว ชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวก่อนทำการศึกษา

3. ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำ คือ อุณหภูมิ (temperature), ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) และความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (pH) ในแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างควบคุมไปด้วยเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการศึกษาและวิเคราะห์ผล

4. ทำการศึกษาตัวอย่างโมโนจีเนียในปลาอุกบักอูย โดยตรวจดูบริเวณลำตัว ครีบ กระพุ้งแก้ม และเหงือก นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ สำหรับเมื่อกตามลำตัวใช้แผ่นสไลด์ชุบ มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สองตาแบบเลนส์ประกอบกำลังขยายสูงทำการตรวจนับพยาธิที่พบบันทึกข้อมูล

5. นำหนอนพยาธิที่ได้มาทำการศึกษากับกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ โดยนำมาทำการล้างด้วย 0.85% NaCl และทำ permanent slide 2 วิธี วิธีที่ 1 ทำการ fixed ด้วย formalin 4% และทำการล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วทำการย้อมสี (staining) ไล่น้ำออกด้วยอัลกอฮอล์ (grading alcohol) ทำการ mounted โดยใช้ permount และวิธีที่ 2 ใช้ ammonium-picricum glycerine เป็น mounting media เพื่อนำไปประกอบในการศึกษากายวิภาคแล้วนำไปวาดภาพ และถ่ายภาพใช้เปรียบเทียบ และเก็บไว้เป็นหลักฐานต่อไป

6. นำพยาธิที่ได้ไปทำเป็นสไลด์ถาวรหรือกึ่งถาวรแล้วนำไปวาดรูป และถ่ายรูปเพื่อศึกษาลักษณะวิทยาและตรวจสอบชนิดพร้อมทั้งเก็บไว้เป็นหลักฐานต่อไปโดยใช้เอกสารอ้างอิงคือ ชโลบล (2543), Bykhovskaya-Pavlovskaya *et al.* (1964) และ Yamaguti (1963)

7. นำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจไปคำนวณหาค่าความชุก (prevalence) และความหนาแน่น (intensity)

8. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโมโนจีเนียกับโมโนจีเนีย โมโนจีเนียกับปลาอุกบักอูย และโมโนจีเนียกับคุณภาพน้ำ โดยวิธี bivariate correlation

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการศึกษา และรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการปรสิตวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พื้นที่ในการศึกษา

ศึกษาชนิดของหนอนพยาธิในปลาอุกบักอูยจากบ่อเลี้ยงในฟาร์มเชียงใหม่พันธุ์ปลา เขตอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่



รูป 7 บ่อดินในฟาร์มเชียงใหม่พันธุ์ปลา



รูป 8 บ่อซีเมนต์ในฟาร์มเชียงใหม่พันธุ์ปลา