

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยใช้ปลาไน จะได้รับการกระตุ้นด้วยอุณหภูมิแตกต่างกันนาน 10 วัน อุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้น ได้แก่

ชุดที่ 1 กลุ่มควบคุมที่อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส

ชุดที่ 2 กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 32 ± 1 องศาเซลเซียส และ

ชุดที่ 3 กลุ่มที่ได้รับอุณหภูมิสูงมากที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

3.2 วิธีทดลอง

- (1) นำพ่อแม่พันธุ์ปลาไนที่ฝัง RFID ที่มีขนาดตั้งแต่ 200 กรัมเป็นต้นไป มาเลี้ยงในระบบ VICS จำนวน 4 ชุดให้อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 2 ต่อ 3 ตัว แต่ละชุดเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ทั้งหมดประมาณ 15 ตัว ให้อาหารเช้าเย็นวันละประมาณร้อยละ 2 ของน้ำหนักตัว
- (2) สุ่มตรวจปากแม่พันธุ์ปลาไน ถ้าหากพบว่ามีไขในปาก บันทึกรหัสแม่พันธุ์ แล้วนำไขมาปักในระบบฟักไข่ที่ออกแบบโดยทำการทดสอบในแต่ละช่วงอุณหภูมิในระบบเพาะฟักที่ออกแบบไว้
- (3) ทำความสะอาดไข่ โดยจะล้างไข่ไม่ให้มีสิ่งเจือปน แล้วคัดเลือกเฉพาะไข่ดีที่จมน้ำมาเพาะฟักต่อไป โดยใช้จำนวนประมาณ 100 ฟองต่อชุดเพาะฟัก แล้วค่อยๆ ปรับอุณหภูมิจนกระทั่งได้ 32 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่กระตุ้นนาน 10 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทำการทดลองในลักษณะเดียวกัน ส่วนกลุ่มควบคุมเป็นอุณหภูมิในสภาพปกติ
- (4) หลังจากลูกปลาไข่แดงยุบหมดแล้วจะให้ล่าสมกับปลาป่นเป็นอาหาร
- (5) นำลูกปลาแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกระชังขนาด 2×2 เมตร² ในบ่อซีเมนต์ขนาด 9×9 เมตร² ให้อาหารแบบเต็มอิ่มวันละ 2 ครั้ง เลี้ยงจนได้ขนาดประมาณ 3-5 เซนติเมตร (อายุประมาณเดือนครึ่ง) จึงนำมาตรวจสอบลักษณะเพศในแต่ละชุดการทดลองต่อไป
- (6) การตรวจสอบลักษณะความแตกต่างระหว่างเพศ
 - ใช้ยาสลบ Benzocanine ทำให้ลูกปลาสลบ
 - ผ่าบริเวณช่องท้อง ตัดอวัยวะสืบพันธุ์ (ภาพที่ 3.1) วางบนแผ่นสไลด์
 - หยดสีย้อมอะซิโตนคามีน 2 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วกดเบาๆ
 - นำไปตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10X โดยเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จะมีลักษณะเป็นจุดสีดำๆ แต่เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียจะมีลักษณะเป็นเซลล์กลมขนาดใหญ่มองเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 3.2)

บันทึกข้อมูล

- (1) บันทึกจำนวนไข่เริ่มต้นในแต่ละชุดฟักไข่
- (2) บันทึกจำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวในแต่ละชุดฟักไข่ หลังจากอนุบาลแล้ว 10 วัน
- (3) ตรวจสอบความผิดปกติของลูกปลาภายใต้กล้องสเตอริโอ

(4) บันทึกจำนวนตัวที่ตรวจพบเพศผู้และเพศเมียในแต่ละชุดการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

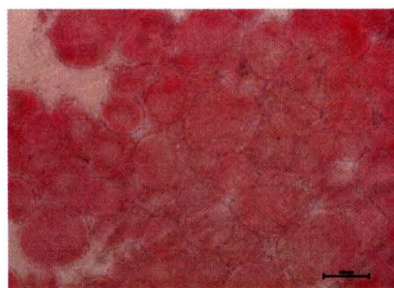
วิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการฟักตัวของไข่ อัตราการรอดตาย และอัตราการฟักการรวมทั้งสัดส่วนเพศ ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)



ภาพที่ 3.1 ตำแหน่งเซลล์สืบพันธุ์ในปลานิล



ก



ข

ภาพที่ 3.2 ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ปลานิลเพศผู้ (ก) และเซลล์สืบพันธุ์ปลานิลเพศเมีย (ข)

3.3 การออกแบบและพัฒนาโปรแกรม FishTechFarm (Module Trace Back to Brood Stock)

ออกแบบและพัฒนาโปรแกรม FishTechFarm (Module Trace Back to Brood Stock) เพื่อใช้ใน FishTechFarm โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อตามสอบถึงพ่อแม่พันธุ์ เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป รวมทั้งสามารถติดตามกิจกรรมของนักศึกษาที่ได้จัดทำปัญหาพิเศษต่างๆ ในฟาร์ม เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการใช้งาน