

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

สถานที่

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล สถาบันทรัพยากรทางน้ำ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินงาน

การศึกษาค้างนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน คือ

ก. การศึกษาชีวประวัติของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนของสองสายพันธุ์

1. พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์

การศึกษาค้างนี้ใช้พ่อและแม่พันธุ์จากธรรมชาติ ซึ่งได้จากชาวประมงที่จับกุ้งโดยใช้เบ็ดมือในแม่น้ำเจ้าพระยา อ่าวเภอบางไทร จังหวัดอยุธยา และจากชาวประมงที่จับกุ้งด้วยไซรแห ในแม่น้ำกระบรี อ่าวเออกระบรี จังหวัดระนอง การขนส่งพ่อแม่พันธุ์กุ้งจากแหล่งที่ได้มายังห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลโดยใช้ถังโฟมขนาด 35 x 45 x 30 ซม.³ และขนาด 45 x 45 x 30 ซม.³ ใส่ น้ำสูง 7-10 เซนติเมตร บรรจุพ่อแม่พันธุ์ 3-5 ต่อถังหรือแม่พันธุ์ 5-8 ตัวต่อถังขึ้นอยู่กับขนาดของถังให้อากาศในถังโฟมตลอดเวลา ถ้าการขนส่งนานจะทำการเปลี่ยนน้ำทุก

3-4 ชั่วโมง หลังจากมาถึงห้องปฏิบัติการจะทำการปรับสภาพโดยค่อย ๆ ใส่น้ำในบ่อเลี้ยงลงไปในถังโพน เพื่อปรับอุณหภูมิและสภาพของน้ำ จนน้ำในถังโพนถึงระดับประมาณ $3/4$ ถัง จึงค่อย ๆ ปล่อยก๊วยลงบ่อเลี้ยง ในการทดลองใช้พ่อพันธุ์จากแม่น้ำกระบุรีและแม่น้ำเจ้าพระยาแหล่งละ 10 ตัว และแม่พันธุ์แหล่งละ 30 ตัว

2. ระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งก้ำมกรามในห้องปฏิบัติการ ใช้ระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดมีระบบกรองน้ำแยกส่วนอยู่ภายในบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์เดียวกัน ระบบการเลี้ยงทำในบ่อคอนกรีตที่แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือส่วนที่ 1 เป็นบ่อคอนกรีตรูปสี่เหลี่ยมพื้นผ้าขนาด $0.8 \times 1.8 \times 0.5$ เมตร³ ใส่น้ำสูงประมาณ 40 เซนติเมตร ส่วนที่ 2 เป็นบ่อกรองน้ำขนาด $0.30 \times 0.80 \times 0.50$ เมตร³ ซึ่งประกอบด้วยชั้นกรอง 2 ชั้น คือชั้นล่างเป็นทราย ชั้นบนเป็นเปลือกหอยนางรมทำหน้าที่กรองน้ำ ทั้งสองชั้นสูงรวมกันหนาประมาณ 15 ซม.³ ระบบถ่ายเทน้ำระหว่างบ่อเลี้ยงและบ่อกรองใช้ระบบ Air lift pump ผ่านท่อเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว จำนวน 2 ท่อ เพื่อถ่ายน้ำจากบ่อเลี้ยงลงบ่อกรอง น้ำจากบ่อกรองจะไหลกลับบ่อเลี้ยงโดยท่อพีวีซีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว 5 ท่อ ที่ยังอยู่ในชั้นกรองด้วยวิธีแรงโน้มถ่วง มีการเพิ่มอากาศลงไปในน้ำตลอดเวลาการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

3. การวางแผนการทดลอง

ในการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกึ่งก้ำมกรามสายพันธุ์ แม่น้ำเจ้าพระยา และแม่ น้ำกระบุรีทำการศึกษาโดยวางแผนแบ่งพ่อแม่พันธุ์ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

- กลุ่มที่ 1 ตัวเมียจากแม่ น้ำกระบุรีและตัวผู้จากแม่ น้ำกระบุรี
- กลุ่มที่ 2 ตัวเมียจากแม่ น้ำกระบุรีและตัวผู้จากแม่ น้ำเจ้าพระยา
- กลุ่มที่ 3 ตัวเมียจากแม่ น้ำเจ้าพระยาและตัวผู้จากแม่ น้ำกระบุรี
- กลุ่มที่ 4 ตัวเมียจากแม่ น้ำเจ้าพระยาและตัวผู้จากแม่ น้ำเจ้าพระยา

ทำการทดลองกลุ่มละ 3 ซ้ำ ความยาวและน้ำหนักตัวของพ่อและแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1 และ ตารางที่ 3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 แสดงจำนวนและความยาวเหยียดของพ่อแม่พันธุ์ในการทดลอง

| กลุ่มที่ | พ่อแม่พันธุ์ | ค่าสูงสุด-ค่าต่ำสุด (เซนติเมตร) | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (เซนติเมตร) | จำนวน (ตัว) |
|----------|--------------|------------------------------------|--|----------------|
| 1 | แม่พันธุ์ | 16.5 - 20.3 | 18.44 \pm 1.11 | 23 |
| | พ่อพันธุ์ | 18.5 - 22.0 | 20.34 \pm 1.33 | 4 |
| 2 | แม่พันธุ์ | 14.7 - 20.5 | 17.85 \pm 1.67 | 22 |
| | พ่อพันธุ์ | 18.6 - 22.7 | 20.48 \pm 1.76 | 4 |
| 3 | แม่พันธุ์ | 15.1 - 20.3 | 17.59 \pm 1.31 | 19 |
| | พ่อพันธุ์ | 17.8 - 22.3 | 20.10 \pm 1.87 | 5 |
| 4 | แม่พันธุ์ | 15.3 - 20.9 | 18.18 \pm 1.42 | 18 |
| | พ่อพันธุ์ | 18.7 - 21.0 | 20.14 \pm 0.86 | 5 |

ตารางที่ 3.2 แสดงน้ำหนักตัวของพ่อแม่พันธุ์ในการทดลอง

| กลุ่มที่ | พ่อแม่พันธุ์ | ค่าสูงสุด-ค่าต่ำสุด (กรัม) | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (กรัม) |
|----------|--------------|-------------------------------|---|
| 1 | พ่อพันธุ์ | 73.8 - 113.7 | 94.46 \pm 17.26 |
| | แม่พันธุ์ | 51.3 - 110.2 | 74.83 \pm 14.99 |
| 2 | พ่อพันธุ์ | 73.7 - 102.3 | 84.92 \pm 10.63 |
| | แม่พันธุ์ | 31.5 - 110.0 | 72.65 \pm 21.15 |
| 3 | พ่อพันธุ์ | 70.8 - 116.4 | 95.98 \pm 17.03 |
| | แม่พันธุ์ | 33.7 - 94.8 | 68.46 \pm 16.03 |
| 4 | พ่อพันธุ์ | 76.3 - 103.0 | 89.40 \pm 9.83 |
| | แม่พันธุ์ | 52.9 - 112.0 | 76.43 \pm 16.72 |

4. อัตราการความหนาแน่นของพ่อแม่พันธุ์

ใช้อัตราส่วนพ่อกึ่งต่อแม่กึ่ง เท่ากับ 1:4 ต่อบ่อ คือใช้พ่อกึ่ง 1 ตัว และแม่กึ่ง 4 ตัว หรือเท่ากับความหนาแน่น 3.4 ตัวต่อตารางเมตร

5. การดูแลและการทำความสะอาดบ่อเลี้ยง

การทำความสะอาดดำเนินการโดยการดูดตะกอนและเก็บเศษอาหารที่ตกค้างออกแบบกาลักน้ำทุกวันในตอนเช้า เปลี่ยนน้ำ 50 % ของน้ำทั้งหมดอาทิตย์ละ 1 ครั้ง โดยทำอย่างระมัดระวังไม่ให้กุ้งตกใจเพราะจะทำให้กุ้งติดตัวและปล่อยไข่ออกไปได้ นอกจากนี้ใส่ท่อพีวีซีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4 นิ้วเพื่อใช้เป็นที่หลบซ่อนตัวและหลังจากทำความสะอาดหรือเก็บข้อมูลเสร็จแล้วต้องปิดฝาทุกครั้งเพื่อป้องกันกึ่งถูกรบกวน

6. การตรวจสอบคุณภาพของน้ำมีดังนี้

การตรวจสอบคุณภาพน้ำจะดำเนินการตลอดช่วงการทดลองโดยตรวจสอบอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ทุกวันในช่วงเช้าและช่วงเย็น ตรวจสอบแอมโมเนียไนเตรต ไนไตรท์ และความเป็นกรดเป็นด่าง คุณสมบัติน้ำด้านอื่นตรวจสอบในบางโอกาสด้วยวิธี colorimetric โดยใช้ Merck's Test Kits No. 11102

7. การให้อาหารพ่อแม่พันธุ์

ให้อาหารสำเร็จรูปอัดเม็ดสูตร Boonyaratpalin และ New (1982) ดังตารางที่ 3.3 สลับกับอาหารสดคือ หอยกะพง หอยลายและปลาหมึกให้อาหาร 10 % ของน้ำหนักตัว วันละ 3 มื้อ ช่วงเช้า กลางวันและเย็น โดยให้อาหารสดเป็นหลักถ้าอาหารสดขาดตลาดก็ให้อาหารเม็ดให้แทน หรือบางครั้งกุ้งไม่ค่อยกินอาหารสดก็ให้อาหารเม็ดสลับกัน จะทำให้กุ้งกินอาหารได้มากขึ้น การให้อาหารคือหว่านไปรอบ ๆ บ่อเพื่อให้อาหารกระจายในบ่ออย่างสม่ำเสมอเพื่อให้กุ้งมีโอกาสได้รับอาหารเท่า ๆ กันมิเช่นนั้นกุ้งตัวผู้ซึ่งขนาดใหญ่อาจแย่งกินอาหารจากกุ้งตัวเมียซึ่งมีขนาดเล็กกว่าทำให้แม่กุ้งได้รับอาหารไม่เต็มที่ สังเกตอาหารที่ให้อาหาร

ในแต่ละมื้อว่าเหลือหรือไม่ ถ้ามีอาหารเหลือก็ลดปริมาณอาหารลง แต่ถ้าหมดก็จะต้อง
 เพิ่มให้พอการให้อาหารมากเกินไปจะทำให้พี่น้องและน้ำเน่าเสียเป็นอันตรายต่อกึ่ง

ตารางที่ 3.3 สูตรอาหารอัดเม็ดของพ่อแม่พันธุ์กึ่งกำกรวม

| ส่วนผสม | เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก |
|-------------------|-----------------------|
| ปลาป่น | 10.0 |
| เปลือกกุ้งป่น | 25.0 |
| กากถั่วลิสง | 5.0 |
| กากถั่วเหลือง | 5.0 |
| ปลายข้าว | 25.5 |
| รำละเอียด | 25.5 |
| น้ำมันปลา | 3.0 |
| สารประสาน | 1.0 |
| วิตามินและแร่ธาตุ | 1.0 |

8. การดูแลทำความสะอาดและให้อาหารแม่กึ่งไข่แก่

เมื่อแม่กึ่งวางไข่ได้ประมาณ 17 วัน (สังเกตเมื่อไข่กึ่งมีสีน้ำตาล
 หรือเทา) นำมาใส่ในตู้กระจก ขนาด 24.5 x 47.5 x 24.5 ซม.³ เพื่อเตรียม
 การฟักโดยบรรจุน้ำที่มีความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน ประมาณ 15 ลิตร แล้วใช้แผ่น
 โฟมปิดปากตู้กระจกให้สนิทเพื่อป้องกันกึ่งกระโดดออก การทำความสะอาดและการ
 ให้อาหารดำเนินการเหมือนกันกับการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในบ่อ

9. การเก็บข้อมูลทางชีวประวัติของพ่อแม่พันธุ์

การเก็บข้อมูลด้านชีววิทยาของกิ้งก่ามกราคมจะดำเนินการดังนี้

9.1 ขนาดของไข่ (egg size)

หลังจากวันที่ 2 ของการวางไข่ ช้อนแม่กิ้งซึ่งยังมีไข่สีเหลือง ส้มด้วยกระชอนอย่างระมัดระวังจับแม่กิ้งคว่ำลงแล้วเอามือกดหัวและหางเอาไว้เพื่อติดเบอร์ที่หัวบริเวณโคนกรี เพื่อจะได้จับบันทึกถูกเมื่อแม่กิ้งตัวนี้ฟักไข่ หลังจากนั้นหยายแม่กิ้งเพื่อเก็บไข่กิ้งบริเวณขาเดินคู่ที่ 1 ของแม่กิ้งประมาณ 50 ฟอง ใส่ใส่ไลด์ซึ่งหยดน้ำทิ้งไว้ นำแม่กิ้งใส่กลับลงบ่อเดิมแล้วเอาไข่มาวัดขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งมี ocular micrometer ขนาด 1 มิลลิเมตร X 50 ช่อง

9.2 ระยะเวลาการฟักไข่ (incubation time)

หลังจากแม่กิ้งก่ามกราคมลอกคราบภายใน 6-24 ชั่วโมงจะวางไข่แล้วเคลื่อนออกมาผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ ซึ่งขับออกมาจากถุงเก็บน้ำเชื้อและเคลื่อนที่ไปติดกับขนอ่อนบริเวณขาว่ายน้ำตั้งแต่คู่ที่ 4 ย้อนขึ้น ถึงคู่ที่ 3, 2 และ 1 ตามลำดับ ไข่ที่ไหลออกมาจะมีสีเหลืองจนถึงเหลืองอมส้ม ไข่จะมีการพัฒนาจนกระทั่งมีอวัยวะครบทุกอย่างภายในเปลือกไข่ขณะเดียวกันสีของไข่ มีการเปลี่ยนแปลงไปจนกระทั่งเข้าระยะสุดท้ายจะเป็นสีน้ำตาล สามารถมองเห็นตาและรูปร่างของกิ้งฟักงอกภายในเปลือกได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นจึงหาระยะเวลาการฟักไข่ ได้จากการนำเอาวันที่กิ้งฟักออกเป็นตัวอ่อนลบด้วยวันที่กิ้งลอกคราบ จึงต้องจับบันทึกการลอกคราบกิ้งทุกครั้งโดยสังเกตดูตลอดทั้งวัน

9.3 การคำนวณจำนวนลูกกิ้งวัยอ่อนที่ฟักต่อแม่ (larvae number)

แยกแม่กิ้งที่มีระยะเวลาการฟักไข่ 17 วัน ใส่ในตู้กระจกขนาด 24.5 x 47.5 x 24.5 ซม.³ เพื่อเตรียมการฟักโดยบรรจุน้ำที่มีความเค็ม 15

ส่วนในพื้นส่วนประมาณ 15 ลิตร เวลา 1-3 วันลูกกุ้งจะฟักออกจากไข่ที่ติดอยู่ตรงส่วนท้องของแม่เป็นลูกกุ้งวัยอ่อน หลังจากลูกกุ้งฟักออกเป็นตัวหมด จึงแยกแม่กุ้งออกแล้วใช้อากาศพ่นลงไปใบบ่อฟักตัวอ่อนให้ลูกกุ้งกระจายเท่า ๆ กัน จึงทำการสุ่มตัวอย่างประมาณ 5 % ของปริมาณน้ำในตู้กระจกมานับ โดยทำการสุ่ม 3 ครั้ง แล้วคำนวณจำนวนลูกกุ้งตัวอ่อนต่อแม่จากสูตรดังนี้

$$P = \frac{V \times n}{v}$$

เมื่อ P = จำนวนลูกกุ้งวัยอ่อนทั้งหมด (ตัว)

V = ปริมาณของน้ำใน aquarium (ชม.³)

n = จำนวนลูกกุ้งวัยอ่อนจากการสุ่มตัวอย่าง (ตัว)

v = ปริมาณน้ำที่ทำการสุ่มตัวอย่าง (ชม.³)

ถ้าลูกกุ้งฟักออกเป็นตัวไม่หมดจะสุ่มวัดปริมาณลูกกุ้งวัยอ่อนในเช้าวันถัดไป

9.4 ความยาวเหยียดของลูกกุ้งวัยอ่อนที่ฟัก (larvae hatching size)

หลังจากนำกุ้งมาใส่ในตู้กระจกเพาะฟัก ประมาณ 1-2 วัน ส่วนใหญ่ลูกกุ้งวัยอ่อนจะฟักออกจากไข่ในตอนกลางวันจึงต้องตรวจดูตู้กระจกเพาะฟักทุกเช้า ถ้าลูกกุ้งฟักไข่แล้วจะทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมงเพื่อให้แน่ใจว่าลูกกุ้งฟักออกจากไข่หมด จึงแยกเอาแม่กุ้งออกแล้วสุ่มลูกกุ้งที่เพิ่งฟักออกจากตู้กระจกที่ใช้ในการฟักลูก นำลูกกุ้งตัวอ่อนใส่สไลด์ 3 อัน อันละ 1 หยดแล้วปิดด้วย cover glass ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งมี ocular micrometer ขนาด 1 มม. X 50 ช่อง เพื่อบันทึกความยาวตัวของลูกกุ้ง (วัดจากส่วนของแพนหางจนถึงลูกตา) จำนวน 50 ตัวต่อแม่กุ้ง 1 ตัว

ข. การศึกษาการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามจากการผสมภายในและข้ามสายพันธุ์

1. การเตรียมน้ำสำหรับเพาะลูกกุ้ง

น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนมีความเค็ม 15 ส่วนในพัน ส่วนซึ่งได้จากการผสมน้ำจืดกับน้ำทะเล จากนาเกลือจังหวัดชลบุรี ซึ่งมีความเค็ม ประมาณ 70 ส่วนในพันส่วน ให้ได้ความเค็มตามต้องการ โดยคำนวณหาจากสูตร คำนวณสารละลายดังนี้

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

เมื่อ N_1 = ค่าความเค็มของน้ำทะเล (ส่วนในพันส่วน)

N_2 = ค่าความเค็มของน้ำที่ต้องการเตรียม (15 ส่วนในพันส่วน)

V_1 = ปริมาตรของน้ำทะเล (ซม.³)

V_2 = ปริมาตรน้ำผสมแล้ว (ซม.³)

2. ระบบการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

ในการทดลองครั้งนี้ใช้ระบบการเพาะเลี้ยงแบบ ไม่มีการหมุนเวียนของน้ำ (static system) โดยใช้ถังสี่ด้านมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 24 ซม. สูง 26 ซม. ใช้ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน ใส่น้ำปริมาตร 5 ลิตร และให้อากาศในน้ำตลอดเวลา

3. การเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อน

การเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนในการทดลอง ใช้น้ำมีความเค็มเริ่มแรก 15 ส่วนในพันส่วนใส่น้ำลงไป 5 ลิตรต่อถัง เก็บตัวอย่างลูกกุ้งวัยอ่อนที่ฟักในวันแรกแบบ สุ่มมาปล่อยประมาณ 500 ตัว ต่อถัง (ความหนาแน่น 100 ตัวต่อลิตร) โดยนำลูก

กึ่งวัยอ่อนจากแม่กึ่งหนึ่งตัวแม่มาเลี้ยง 3 ชั่ว ถึงเพาะเลี้ยงนี้ตั้งอยู่ภายในอาคาร หลังคาทึบ มีการเติมอากาศลงไปจนถึงน้ำตลอดเวลา เพื่อเพิ่มออกซิเจนและทำให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำ หลังจากปล่อยกึ่งได้ 5 วัน จึงเริ่มทำความสะอาด แล้วเติมน้ำใหม่ที่มีความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วนลงไป การทำความสะอาดทำ 2 วัน ต่อครั้ง

4. การทำความสะอาด

การทำความสะอาดจะเริ่มครั้งแรกหลังจากเลี้ยงกึ่งไปได้ 5 วัน ทำทุก ๆ 2 วัน การทำความสะอาดแต่ละครั้งจะเริ่มตอนบ่ายหลังจากการให้อาหาร ครั้งที่ 3 ประมาณ 1 ชั่วโมง โดยใช้สายยางดูดตะกอนและเศษอาหารที่ตกอยู่ที่ก้น บ่อเลี้ยงออกด้วยวิธีกลักน้ำ ปลายของท่อทางด้านน้ำทิ้งจะรองด้วยกระชอนตาถี่ เพื่อกันลูกกึ่งหนีไปพร้อมน้ำทิ้ง หลังจากปล่อยน้ำออกไปประมาณ 2.5 ลิตรและดูดตะกอน ออกหมดจึงค่อย ๆ ใช้ช้อนตักลูกกึ่งกลับเข้าสู่บ่อเลี้ยงเดิม เมื่อทำความสะอาดเรียบร้อยแล้วน้ำที่มีความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วนจะถูกเติมลงในถึงแทนน้ำที่ถูกดูดออกไป เพื่อให้มีปริมาณคงเดิม

5. การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

ระหว่างการทดลองทำการตรวจวัด อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และสารประกอบไนโตรเจน ด้วยวิธีการที่อธิบายแล้วในการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ และตรวจวัดความเค็มด้วย salinometer แบบ reflective index

6. การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้เลี้ยงลูกกึ่งก้ามกราม ตลอดระยะเวลาการทดลอง คือ

ไรน้ำเค็มหรือ Artemia salina ของบริษัท Ocean Star international, INC. เมื่อลูกกุ้งเริ่มฟักจะเตรียมเพาะไรน้ำเค็มเพื่อเป็นอาหารลูกกุ้งในวันที่ 3 หลังฟัก ในการฟักไข่ไรน้ำเค็มใช้ภาชนะเป็นขวดพลาสติกโปร่งใสขนาด 1 แกลลอน เตรียมน้ำความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วนลงไปในช่วงประมาณ 1 ลิตรแล้วให้อากาศอย่างแรงตลอดเวลา ใส่ไข่ไรน้ำเค็ม 1/2 ช้อนชาต่อขวด ไข่จะฟักออกเป็นตัวภายใน 1-2 วัน เติมฟอร์มาลิน 40 เปอร์เซ็นต์ปริมาณ 50 มิลลิลิตรต่อขวด (ความเข้มข้นประมาณ 5 ppm) ลงไปในช่วงเพาะไรน้ำเค็มทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมงจึงค่อยแยกไข่ไรน้ำเค็มออกมา

7. การให้อาหารกุ้งวัยอ่อน

การให้ตัวอ่อนไรน้ำเค็มกับลูกกุ้งในวันแรก ๆ ให้จำนวนน้อย ๆ พอดีกับความหนาแน่นของลูกกุ้ง ประมาณ 3-5 ตัวต่อลูกกุ้ง 1 ตัว เมื่อลูกกุ้งมีอายุเข้าวันที่ 3 หลังการฟัก การให้อาหารจะตรวจทุก ๆ 3-4 ชั่วโมง ถ้าหมดหรือเหลือน้อยก็ให้เพิ่ม โดยวันที่ 3-10 ให้ไรน้ำเค็มที่ฟักไว้ 36 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 11 ขึ้นไปให้ไรน้ำเค็มที่ฟักไว้ 48 ชั่วโมง ในลูกกุ้งที่เจริญจากชั้นที่ 2 ถึงชั้นที่ 7 จะกินอาหารมากจึงตรวจและให้อาหารบ่อยคือประมาณ 5 ครั้งต่อวันหรือทุก 2-3 ชั่วโมง หลังจากเจริญเข้าชั้นที่ 8 ลูกกุ้งจะกินอาหารน้อยลงจึงให้อาหาร 3 ครั้งต่อวันคือ ช่วงเช้า กลางวันและเย็น

8. การเก็บข้อมูล

ในการทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการเก็บข้อมูลดังนี้

8.1 ระยะเวลาการพัฒนาลูกกุ้งวัยอ่อนที่ฟักวันแรก จนถึงลูกกุ้งวัยรุ่นที่คิดว่า (larvae period)

ระยะเวลาการพัฒนาลูกกุ้งวัยอ่อน (metamorphosis time) หมายถึงเวลาที่ลูกกุ้งวัยอ่อนเริ่มพัฒนาตั้งแต่เพิ่งฟักจากชั้นที่ 1 จนกระทั่งเจริญเป็นลูกกุ้งวัยรุ่นชั้นที่ 12 (กุ้งคว่ำ) ดังนั้นระยะเวลาการพัฒนาลูกกุ้งวัยอ่อน คำนวณจาก

$$\text{ระยะเวลาการพัฒนาลูกกุ้งวัยอ่อน} = \text{วันที่ลูกกุ้งคว่ำวันแรก} - \text{วันที่ลูกกุ้งวัยอ่อนเริ่มฟักออกจากไข่}$$

8.2 ขั้นตอนการพัฒนาวัยอ่อนที่ฟักวันแรกจนถึงลูกกุ้งวัยรุ่นคว่ำวันแรก (larvae developmental stage)

ทุกวันช่วงเช้าในระหว่างการทดลองจะทำการตรวจขั้นตอนการพัฒนาตัวอ่อนโดยเริ่มตั้งแต่วันแรก หลังจากแยกลูกกุ้งจาก ตูกระຈกแล้วส่งลูกกุ้งมา 10 ตัวต่อถึงมาส่งคุณลักษณะของลูกกุ้งวัยอ่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อแบ่งขั้นตอนการพัฒนาของลูกกุ้งวัยอ่อนตาม Uno และ Soo (1969) หลังจากคุณลักษณะเสร็จแล้วนำลูกกุ้งกลับสู่ถังเดิม

8.3 ความยาวเหยียดของลูกกุ้งวัยรุ่นที่คว่ำ (post-larval size)

ตรวจดูลูกกุ้งทุกครั้งหลังเปลี่ยนน้ำเสร็จ เมื่อพบว่าลูกกุ้งวัยรุ่นเริ่มคว่ำ นำออกมาแบบกาลักน้ำแล้วนำลูกกุ้งมาใส่สไลด์ ดูหน้าออกให้เหลือเพียงเล็กน้อยเพื่อกันไม่ให้กุ้งกระโดดออก แล้วใช้เข็มเขี่ยจัดลูกกุ้งให้อยู่ในท่าเหยียดตรง เพื่อวัดความยาวเหยียดของลูกกุ้งวัยรุ่น (ปลายกรรจนถึงปลายหาง) ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้ ocular micrometer 1.0 มม. X 50 ช่อง แล้วนำกุ้งวัยรุ่นแยกออกจากถังไปเลี้ยงในบ่อน้ำจืดขนาดใหญ่ หลังจากนั้นตรวจดูลูกกุ้งคว่ำทุกวันแล้วนำมาวัดด้วยวิธีการเดิม จนกระทั่งเหลือกุ้งในถังน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 ตัวต่อถัง จึงเลิกวัดและเลิกเลี้ยงกุ้งถึงดังกล่าว

8.4 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งวัยอ่อนที่ฟักจนถึงวัยรุ่น (percent survival)

หลังจากวัดขนาดความยาวเหยียดแล้วสุ่มลูกกุ้งวัยอ่อน 500 ตัว จากตู้กระจกมาเลี้ยงในถังดำ ซึ่งบรรจุน้ำ 5 ลิตร กระทำ 3 ซ้ำต่อแม่ (รวม 1,500 ตัวต่อแม่) แล้วใช้ปิ๊กเกอร์ ขนาด 100 มิลลิเมตร ทำการสุ่ม 3 ครั้งแล้ว คำนวณโดยใช้สูตรข้างล่างนี้ ก็จะได้อัตราการรอดของลูกกุ้งในวันแรก ต่อจากนั้น จึงสุ่มวัดทุกสองวันหลังจากเปลี่ยนน้ำเสร็จ หลังจากหาอัตราการรอดแล้วใส่ลูกกุ้งวัยอ่อนกลับเข้าถังตามเดิม จนกระทั่งมีลูกกุ้งเจริญเป็นลูกกุ้งวัยรุ่น

$$\text{sur (\%)} = \frac{N}{3} \times 10$$

เมื่อ N = จำนวนลูกกุ้งที่สุ่มทั้งหมด 3 ครั้ง

sur = อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)

ค. การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของกุ้งก้ามกรามตัวเต็มวัย

1. การเก็บตัวอย่างกุ้งก้ามกราม

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์กุ้งก้ามกรามจากสองสายพันธุ์ด้วยการสุ่มจากแม่น้ำเจ้าพระยา อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยาและจากแม่น้ำกระบือ อ. กระบุรี จ. ระนอง นำกุ้งมาวางเรียงเป็นชั้นสลับกับชั้นน้ำแข็งจนเต็มถังโฟม แล้วลากล้างมาเก็บไว้ในตู้เย็นที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล สถาบันทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเก็บตัวอย่างจากแม่น้ำกระบือ 2 ครั้งในเดือนเมษายนจำนวน 82 ตัวและกรกฎาคม 71 ตัว ในปี พ.ศ. 2535 ส่วนจากแม่น้ำเจ้าพระยาเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง คือ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2534 เก็บกุ้ง 45 ตัว เมษายนและกรกฎาคม พ.ศ. 2535 เก็บตัวอย่างกุ้งได้ 60 และ 54 ตัวตามลำดับ

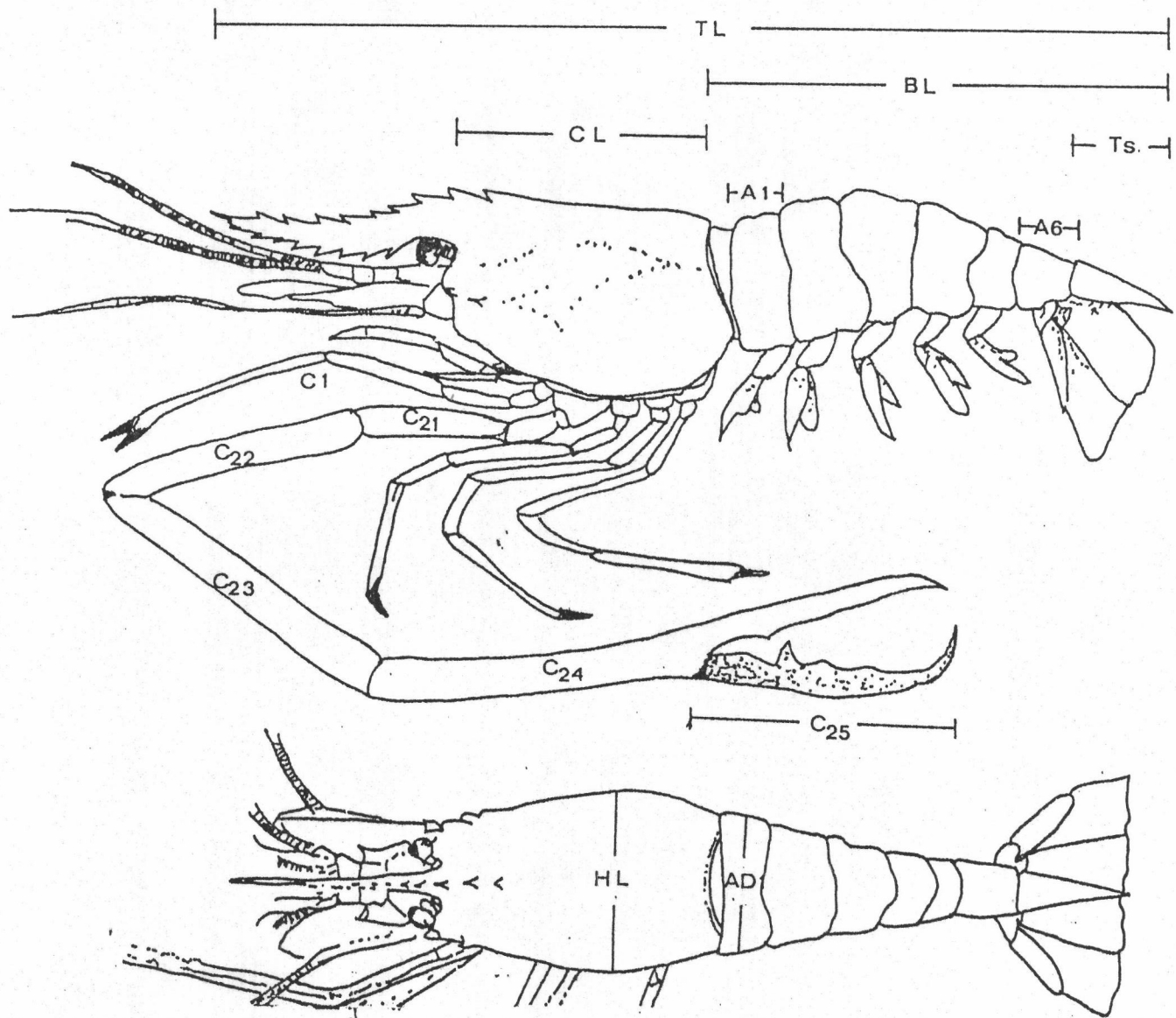
2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

2.1 การหาความยาว

วัดความยาวของส่วนต่าง ๆ ของกุ้งก้ามกรามทั้งหมด 14 ตัว
แปรรูป ดังรูปที่ 3.1 โดยใช้ vernier caliper ขนาดความยาว 20 เซนติเมตร

| อักษรย่อ | ตัวแปรร (มิลลิเมตร) |
|----------|--|
| TL | total length |
| BL | body length |
| CL | carapace length |
| TS | telson length |
| A1 | first abdomen length |
| A6 | sixth abdomen length |
| HL | carapace width |
| 1AD | first abdomen width |
| C1 | length of first pereopods |
| C21 | length of ischiopodite of second pereopods |
| C22 | length of meropodite of second pereopods |
| C23 | length of carpopodite of second pereopods |
| C24 | length of propodus of second pereopods |
| C25 | length of dactylus of second pereopods |

ในการวัดขนาดก้ามคู่ที่ 1 และส่วนต่าง ๆ ของก้ามคู่ที่ 2 เก็บข้อมูลจาก
ก้ามทั้งข้างซ้ายและข้างขวา นำส่วนต่าง ๆ ดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยเป็นค่าเฉลี่ยของ
แต่ละส่วนแล้วจึงนำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลขั้นต่อไป



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้วัดในการทดลอง

2.2 การหาน้ำหนัก

นำกุ้งก้ามกรามที่ผ่านการวัดส่วนต่าง ๆ มาซึ่งน้ำหนักตัวทั้งหมด แล้วผ่าส่วนหัวและท้องออกจากกันแล้วชั่งน้ำหนักทั้งสองส่วน หลังจากนั้นนำกุ้งไปอบในเตาอบความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นใน dessicator แล้วจึงนำกุ้งมาชั่งน้ำหนักแห้งอีกครั้ง จึงได้ตัวแปรอีก 6 ตัว ดังนี้

TWW = total wet weight (กรัม)

TDW = total dry weight (กรัม)

HWW = head wet weight (กรัม)

HDW = head dry weight (กรัม)

BWW = body wet weight (กรัม)

BDW = body dry weight (กรัม)

ง. การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดลองตอน ก. และ ข. วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS) (SAS, 1985) เพื่อใช้ในการหาค่าทางสถิติดังนี้

1. descriptive statistics
2. Duncan's multiple range test ทดสอบค่าเฉลี่ย
3. regression analysis

ในการทดลองตอน ค. ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป 2 อย่างในการวิเคราะห์ข้อมูลคือ

1. ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistic Analysis System (SAS, 1985) เพื่อใช้ในการหาค่าทาง descriptive statistic

2. ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป FACT ซึ่งเป็นอัลกอริทึมทางสถิติที่ใช้ในการสร้างเกณฑ์ สำหรับจำแนกประเภทหรือกลุ่มของสิ่งของ เกณฑ์ที่สร้างอยู่ในรูปของ classification tree ที่ได้จากการประยุกต์หลักการของการวิเคราะห์ จำแนกประเภท (Discriminant Analysis) ขึ้น ๆ กันหลายครั้ง เริ่มจากทำข้อมูลตัวอย่างสิ่งของที่ทราบประเภทแล้วมาวิเคราะห์หาตัวแปรตัวที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้จำแนกสิ่งของนั้น ข้อมูลตัวอย่างจะถูกแบ่งเป็นกลุ่มตามค่าตัวแปร จากข้อมูลตัวอย่างกลุ่มย่อยก็จะนำมาวิเคราะห์หาตัวแปรตัวถัดไปที่จะใช้จำแนกสิ่งของต่อไปอีกเรื่อย ๆ จนท้ายที่สุดเมื่อไม่สามารถหาตัวแปรที่เหมาะสมจะใช้จำแนกต่อไป สิ่งของในกลุ่มย่อยนั้นจะถูกระบุว่าเป็นประเภทใดโดยพิจารณาจากจำนวนตัวอย่างประเภทที่มีมากที่สุดในกลุ่มย่อย (Wolberg et al., 1987)