บทที่ 2

# อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

ทำการศึกษาลักษณะทางชีววิทยาบางประการของซูโอแทมเนียมในบ่อเพาะพักลูกกุ้งกุลาดำ โดยเก็บน้ำตะกอนและลูกกุ้งกุลาดำขึ้นมาตรวจสอบวงชีวิต (life cycle) ของซูโอแทมเนียมด้วยกล้องจุลทัศน์และศึกษาสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่สัมพันธ์กับการดำรงชีพของซูโอแทมเนียมไปพร้อมกัน นอกจากนี้ยังศึกษาความสัมพันธ์ของซูโอแทมเนียมและลูกกุ้งกุลาดำและการป้องกัน กำจัด ซูโอแทมเนียมด้วย

## สถานที่ในการทดลองศึกษา

ทำการศึกษาทดลองที่สถานีประมงจังหวัดระยอง ตำบลเพ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง ระยะเวลาในการศึกษาเริ่มตั้งแต่วันที่ 11 ตุลาคม 2524 ถึงวันที่ 30 มิถุนายน 2525

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การดำเนินงานแบ่งตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา คือ

1. การศึกษาวงชีวิต (life cycle) ของซูโอแทมเนียม (Zoothamnium sp.) ในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำ

มีอุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน คือ

1.1 การเพาะพักลูกกุ้งกุลาดำเพื่อตรวจวงชีวิตของซูโอแทมเนียม นำแม่พันธุ์กุ้งซึ่งได้รับการผสมแล้วจากพ่อพันธุ์มีไข่แก่ในระยะที่ 3 – 4 ใส่ในถังเพาะพักขนาดจุ 1 ตัน ที่ใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว ความเค็ม 32 ส่วนในพัน

อุณหภูมิ 27 – 29 องศาเซลเซียส ให้อากาศตลอดเวลา เมื่อแม่พันธุ์กุ้งวางไข่แล้ว กรองไข่กุ้งด้วยผ้ากรองแพลงตอนเบอร์ 180 T (ขนาดช่อง 56 ไมครอน) ล้างไขมันที่ติดมากับไข่กุ้งให้สะอาดโดยไข่จะติดอยู่บนผ้ากรองเบอร์ 180 T แบ่งไข่ที่กรองได้ออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน แต่ละส่วนใส่ในบ่อเพาะพักที่เตรียมไว้ 4 บ่อ (รูปที่ 2)

บ่อเพาะพักเป็นบ่อซีเมนต์กลมขนาด 1 ตัน ต้องทำความสะอาดอย่างดี ใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้วอย่างดีให้อากาศตลอดเวลาในเวลา 12 ชั่วโมง ไข่ที่ถูกผสมแล้วจะพัฒนาการเป็นตัวอ่อนฟักออกจากไข่ว่ายน้ำ เคลื่อนไหวได้ ลูกกุ้งวัยนี้เป็นลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่หนึ่ง (Nauplius) ลูกกุ้งจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 45 – 50 ชั่วโมง หลังจากลอกคราบหกครั้งลูกกุ้งจะเข้าสู่ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่สอง (Protozoea) จะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 4 วัน ลอกคราบ 3 ครั้ง จะเข้าสู่ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่สาม (Mysis) ลูกกุ้งจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 3 – 4 วัน ลอกคราบ 3 ครั้ง จะเจริญเติบโตเป็นลูกกุ้งระยะที่สี่ (Post larva)

1.2 <u>การอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน</u>

การอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนหลังจากฟักเป็นตัวแล้วทำการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่าง ๆ แบบกาลเวสตัน ดังตารางที่ 1 บรรจง เทียนส่งรัศมี (2523)

1.3 <u>การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อน</u>

การอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนแบบกาลเวสตันนั้นจำเป็นต้องเตรียมอาหารสำหรับลูกกุ้งในระยะต่าง ๆ ด้วย อาหารที่เหมาะสำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนที่นิยมใช้กันในปัจจุบันได้แก่ แพลงตอนพืช <u>Chaetoceros calcitrans</u>, <u>Chorella</u> แพลงตอนสัตว์ ได้แก่ โรติเฟอร์ (<u>Brachionus plicatilis</u>) และไรน้ำเค็ม (<u>Artemia salina</u>) วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนดำเนินตามบรรจง เทียนส่งรัศมี (2523)

ตารางที่ 1 การให้อาหารลูกกุ้งวัยอ่อนตามลักษณะวิธีเลี้ยงแบบกาลเวสตัน

| ลูกกุ้งวัยอ่อน | ชนิดของอาหาร | ขนาด (ไมครอน) | ปริมาณ (ต่อน้ำ ลบ.ซ.ม.) | จำนวนครั้ง (ต่อวัน) |
|---|---|---|---|---|
| ระยะที่ 2 ชั้นที่ 1 | แพลงตอนพืช* | 50 – 70 | 15000 เซลล์ | 1 |
| ระยะที่ 2 ชั้นที่ 2 | แพลงตอนพืช* | 50 – 70 | 15000 เซลล์ | 1 |
| ระยะที่ 2 ชั้นที่ 3 | แพลงตอนพืช* | 50 – 70 | 15000 เซลล์ | 1 |
| | และแพลงตอนสัตว์* | | 5 ตัว | 1 |
| ระยะที่ 3 ชั้นที่ 1 | แพลงตอนพืช* | 50 – 70 | 15000 เซลล์ | 1 |
| | และแพลงตอนสัตว์* | | 5 ตัว | 1 |
| ระยะที่ 3 ชั้นที่ 2 | แพลงตอนพืช* | 50 – 70 | 10000 เซลล์ | 1 |
| | และแพลงตอนสัตว์* | | 10 ตัว | 1 |
| ระยะที่ 3 ชั้นที่ 3 | แพลงตอนสัตว์* | | 10 ตัว | 1 |
| ระยะที่ 4 | แพลงตอนสัตว์* | 165 | 15 ตัว | 1 |

แพลงตอนพืช* ให้ Chorella sp. Chaetoceros calcitrans อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือจะผสมชนิดละเท่า ๆ กัน

แพลงตอนสัตว์* ให้ Branchionus plicatilis, Artemia salina อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือจะผสมชนิดละเท่า ๆ กัน

แพลงตอนสัตว์* ให้ Artemia salina รวมกับหอยแมลงภู่บดในลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ 4 จากชั้นที่ 1 – 3 ส่วนลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ 4 จากชั้นที่ 4 – 10 ให้หอยแมลงภู่บดอย่างเดียว

011059

i17763915

1.4 การตรวจวงชีวิตของซูโอแทมเนียม

เก็บตะกอนและลูกกุ้งกุลาดำจากบ่อทดลองทั้ง 4 ขึ้นมาตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์ทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 1 ซึ่งเตรียมน้ำในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำเสร็จ จนกระทั่งถึงวันสิ้นสุดการทดลอง โดยตรวจหาซูโอแทมเนียมศึกษารายละเอียดต่าง ๆ โดยการวาดรูป ถ่ายรูป และนับจำนวนโคโลนีระยะต่าง ๆ ของซูโอแทมเนียมที่พบไว้ทั้งหมด

2. การศึกษาสภาพแวดล้อมขณะศึกษาวงชีวิตของซูโอแทมเนียมในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำ

ทำการศึกษาสภาพแวดล้อมขณะศึกษาวงชีวิตของซูโอแทมเนียม โดยทำการวิเคราะห์และตรวจวัดสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไปพร้อมกับการศึกษาวงชีวิตของซูโอแทมเนียมดังนี้

2.1 การวิเคราะห์หาไนเตรท ไนไตรท และแอมโมเนีย

เก็บน้ำตัวอย่างจากบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำทั้ง 4 บ่อ โดยเก็บจากจุดต่างกัน 4 จุด แล้วนำไป

– วิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท และไนไตรท โดยวิธีวิเคราะห์ของ Shinn. (Strickland and Parsons 1928)

– วิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียโดยวิธีที่แนะนำโดย Grasshoff (Grasshoff, 1976)

2.2 การวัดหาปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ ความเป็นกรด ด่าง และความเค็มของน้ำ ในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำ โดย

– วัดหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำด้วยเครื่องวิเคราะห์ของ Delta Sceintific

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

– วัดอุณหภูมิ ด้วย Thermometer

– วัดความเป็นกรด ด่าง ด้วยเครื่องวัดของ Horizon Ecology Co. Model 5918 - 10

– วัดความเค็ม ด้วย Salinometer ของ American Optical Corp.

2.3 ช่วงเวลาการตรวจวิเคราะห์สภาพแวดล้อม

2.3.1 ทำการวิเคราะห์หาไนเตรท ไนไตรท และแอมโมเนียทุก 7 วัน ตั้งแต่วันที่ 1 ซึ่งเตรียมบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำเสร็จ วันที่ 8, วันที่ 15 และวันที่ 21 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการทดลองบันทึกผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท ไนไตรท และแอมโมเนียไว้

2.3.2 ทำการวัดหาปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ ความเป็นกรด ด่าง และความเค็ม ของน้ำในบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำทั้ง 4 บ่อ ทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 ซึ่งเตรียมบ่อเพาะลูกกุ้งกุลาดำเสร็จก่อนใส่ไข่กุ้งกุลาดำลงไป บันทึกผลการตรวจวัดได้ทุกวันจนสิ้นสุดการทดลอง

3. การศึกษาจำนวนโคโลนีและตำแหน่งเกาะของซูโอแทมเนียมในลูกกุ้งกุลาดำ

3.1 การทดลอง

เลือกลูกกุ้งกุลาดำซึ่งอยู่ในระยะที่ 3 ขั้นที่ 3 (Mysis 3) ถึงระยะที่ 4 ขั้นที่ 2 โดยลูกกุ้งกุลาดำเหล่านั้นต้องไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะเลยใส่ในขวดโหลรูปชมพูขนาดจุ 3 ลิตร จำนวน 4 โหล โดยใส่ลูกกุ้งกุลาดำขวดโหลละ 300 ตัว ที่มีตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมเกาะในขวดโหลทดลองขวดโหลละ 1 ลิตร ให้อาหาร (ไรน้ำเค็ม) แกลูกกุ้งทดลองวันละครั้งให้อากาศอ่อน ๆ ตลอดเวลาการทดลอง

3.2 กลุ่มควบคุม

เลือกลูกกุ้งกุลาดำที่อยู่ในระยะที่ 3 ขั้นที่ 3 (Mysis 3) ถึงระยะที่ 4 ขั้นที่ 2 โดยลูกกุ้งกุลาดำเหล่านั้นไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะเลยใส่ในขวดโหลรูปชมพู่ขนาดจุ 3 ลิตร จำนวน 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำขวดโหลละ 300 ตัว ที่มีน้ำทะเลที่ผ่านการกรองมาแล้วอย่างดีในขวดโหลทดลองขวดโหลละ 1 ลิตร ให้อาหาร (ไรน้ำเค็ม) ที่ทำการแช่ในฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 40 ส่วนในน้ำล้านส่วน ในเวลา 12 ชั่วโมง วันละครั้ง ให้อากาศอ่อน ๆ ตลอดเวลาการทดลอง

3.3 การตรวจผลการทดลอง

นำลูกกุ้งกุลาดำที่ทดลอง 10 ตัว จากขวดโหลทดลองทุกการทดลองและกลุ่มควบคุมมาทำการตรวจหาซูโอแทมเนียม ตามลำตัว ระยางค์ ขา ตา และหาง และส่วนต่าง ๆ ของลูกกุ้งกุลาดำโดยทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 3 วัน

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบจำนวนลูกกุ้งกุลาดำที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะในเวลาต่าง ๆ คือ 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance), แบบสุ่มตลอด (Completely Random Design;CRD) และการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ละคู่หลังจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแล้วโดยวิธี Newman-keuls test

3.4.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบสุ่มตลอด (Completely Random Design;CRD) ของจำนวนลูกกุ้งกุลาดำที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะในเวลาต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้จากสูตรต่อไปนี้ (จรัญ จันทลักขณา, 2523)

$$\text{SS Total} = \sum_{ij} X_{ij}^2 - CT \; ; \; CT = \frac{X_{..}^2}{rt} = \frac{\left(\sum_{ij} X_{ij}\right)^2}{rt}$$

$$\text{SS Treatment} = \frac{(X_{1.}^2 + X_{2.}^2 + \ldots + X_{t.}^2)}{r} - CT$$

$$\text{SS error} = \text{SS Total} - \text{SS treatment}$$

$r$ = จำนวนซ้ำในแต่ละทรีทเมนต์

$t$ = จำนวนทรีทเมนต์

$X_i$ = ผลรวมของทรีทเมนต์ที่ i

$X_{ij}$ = ค่าสังเกตที่ j ในทรีทเมนต์ที่ i

$i = 1, 2 \ldots, t \qquad j = 1, 2 \ldots, r$

| Source of Variation | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatment | t - 1 | $\sum_i \frac{X_{i.}^2}{r} - \frac{X_{..}^2}{rt}$ | T=SS/df | T/E |
| Error | t(r - 1) | SS total-SS treatments | E=SS/df | |
| Total | rt - 1 | $\sum_{ij} X_{ij}^2 - \frac{X_{..}^2}{rt}$ | | |

3.4.2 ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยทีละคู่ของจำนวนลูกกุ้งกุลาดำที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะในเวลาต่างกัน

โดยวิธี Newman-keuls test ซึ่งมีขั้นตอนในการทดสอบดังนี้ (ชูศรี วงศ์วัฒนะ, 2523)

1. เรียงลำดับค่าเฉลี่ยของทุกกลุ่มจากค่าน้อยไปหาค่ามาก

2. หาผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ครบหมดทุกคู่ จำนวนคู่ที่นำมาหาค่าผลต่างหาได้จากสูตร $n_{C_2} = \frac{n(n-1)}{2}$ คู่

3. เปิดตาราง Studentized range เพื่อหาค่า q โดยต้องทราบค่า df และ r

โดย df = N - k; N = จำนวนคะแนนทั้งหมด

k = จำนวนกลุ่มตัวอย่าง

r = จำนวนค่าเฉลี่ยซึ่งนับจากค่าเฉลี่ยอีกตัวหนึ่งที่จะเปรียบเทียบกัน

4. หาค่า $q\sqrt{\frac{MSerror}{n}}$ เปรียบเทียบค่า $q\sqrt{\frac{MSerror}{n}}$ ที่คำนวณได้กับค่าผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ต้องการทราบ

## 4. การศึกษาวิธีการป้องกัน กำจัด และควบคุม ซูโอแทมเนียม

ในการศึกษาวิธีการป้องกัน กำจัด ซูโอแทมเนียมโดยใช้สารเคมี 3 ชนิด คือ ฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต และคอปเปอร์ซัลเฟตในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และศึกษาการควบคุมซูโอแทมเนียม โดยสภาพแวดล้อมธรรมชาติ โดยใช้แสงสว่างและความร้อนจากแสงแดด

## 4.1 การวัดความเป็นพิษของสารเคมีต่อลูกกุ้งกุลาดำ

ก่อนทำการทดลองได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต และคอปเปอร์ซัลเฟตที่มีต่อลูกกุ้งกุลาดำ โดยวัดความเป็นพิษในรูปมัธยฐานของความเข้มข้นที่ทำให้ตาย (Median lethal concentration, $LC_{50}$) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการประมาณค่าระดับเริ่มเป็นพิษ (threshold of Toxicity หรือ incipient, $LC_{50}$) และระดับความปลอดภัย (Safe concentration) ของสารเคมีทั้ง 3 ชนิด

การหาค่า $LC_{50}$ ของฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต และคอปเปอร์ซัลเฟตต่อลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 (Post larva ที่ 1) ทำได้โดยเตรียมสารเคมีทั้ง 3 ชนิด เป็นสารละลายมาตรฐาน (Stock Solution) ในน้ำกลั่นก่อน แล้วทำให้เจือจางด้วยน้ำทะเลที่เตรียมไว้ให้เป็นสารละลายทดลองที่มีความเข้มข้นของสารเคมีระดับต่าง ๆ กัน 6 – 8 ระดับ โหลทดลองใช้เป็นโหลแก้วกลมขนาด 3 ลิตร ปริมาตรสารละลายในโหลทดลองโหลละ 1 ลิตร ปล่อยลูกกุ้งกุลาดำที่จะใช้ทดลองลงไปในโหลทดลองและโหลควบคุมโหลละ 10 ตัว สังเกตและนับจำนวนสัตว์ที่เหลือรวมเวลา 18, 24, 60, 72 และ 96 ชั่วโมง ในระหว่างการทดลองได้เก็บสัตว์ที่ตายออกจากโหลทดลองทุกครั้งที่ตรวจพบและบันทึกจำนวนสัตว์ที่ตายไว้ (ปรีชา สมมณี, 2522)

### วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิธีประมาณค่า $LC_{50}$ และช่วงแห่งความเชื่อมั่นของ $LC_{50}$ ที่ระดับ 95% จากข้อมูลความเข้มข้นและอัตราการตายในแต่ละระดับใช้วิธีวิเคราะห์แบบโปรบิต (Probit) โดยวิธีกราฟ ซึ่งมีการปรับเส้นตรงด้วยสายตาและทดสอบความเหมาะสมของเส้นตรง โดยวิธี k ตามที่ Litchfield and Wilcoxon (1949) ได้อธิบายไว้ การประมาณค่าระดับเริ่มเป็นพิษในที่นี้จะใช้ข้อสมมติที่ว่าเส้นโค้งความเป็นพิษ (Toxicity curve) มีลักษณะตามสมการ $M = a + be^{-kH}$

ซึ่งอาจเป็นสมการเส้นตรง คือ

$$\ln (M - a) = \ln b - kH$$

ในเมื่อ $M$ = $LC_{50}$ = มัธยฐานของความเข้มข้นที่ทำให้ตายในเวลา $H$ ชั่วโมง

$H$ = เวลาที่สัตว์สัมผัสและได้รับสารพิษ

$a$ = มัธยฐานของระดับเริ่มเป็นพิษ

$b$ = ค่าคงที่

การทำนายระดับปลอดภัย (Safe level) ของฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต และคอปเปอร์ซัลเฟตใช้ค่าปัจจัยปรับค่า (application factor) คูณกับมัธยฐานที่ความเข้มข้นที่ทำให้ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ตาย ($LC_{50}$) ที่ประมาณได้ ปัจจัยปรับค่าที่ใช้ถือตาม Laboratory Fish Production Index คือปัจจัยปรับค่าที่ใช้อยู่ระหว่าง 0.02 – 0.05 ในเวลา 96 ชั่วโมง $LC_{50}$

4.2 <u>การศึกษาการใช้สารเคมี 3 ชนิด ป้องกันการเกาะของซูโอแทมเนียมในลูกกุ้งกุลาดำ</u>

ในการศึกษาการใช้สารเคมีป้องกันการเกาะของซูโอแทมเนียมได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ

4.2.1 การใช้สารเคมีทั้ง 3 ชนิด แช่ลูกกุ้งกุลาดำก่อนที่จะได้รับซูโอแทมเนียมเพื่อกระตุ้นให้ลูกกุ้งกุลาดำสร้างภูมิต้านทาน

การใช้ฟอร์มาลินป้องกันการ เกาะของซูโอแทมเนียม

เตรียมสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้น 25, 30, 35 และ 40 ส่วนในน้ำล้านส่วน ซึ่งได้ทดสอบค่าความเป็นพิษระดับต่าง ๆ แล้วในข้อ 4.1 ใส่ในโหลแก้วกลมขนาด 3 ลิตร ปริมาตรสารละลายฟอร์มาลินในโหลทดลองโหลละ 1 ลิตร จำนวนระดับความเข้มข้นละ 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ที่ไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงในขวดโหลทดลองทั้ง 16 โหล (4 ระดับความเข้มข้น) โหลละ 10 ตัว ภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง ใส่ตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงไปในขวดโหลละ 200 ซีซี.

การใช้โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตป้องกันการ เกาะของซูโอแทมเนียม

เตรียมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตให้มีความเข้มข้น 2.4, 2.6, 2.8 และ 2.9 ส่วนในน้ำล้านส่วน ซึ่งได้ทดสอบค่าความเป็นพิษแล้วในข้อ 4.1 ใส่ในโหลแก้วกลมขนาด 3 ลิตร ปริมาตรสารละลายโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตในโหลทดลองโหลละ 1 ลิตร ระดับความเข้มข้นละ 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ที่ไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงในขวดโหลทดลองโหลละ 10 ตัว ภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง ใส่ตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงไปในขวดโหลละ 200 ซีซี.

การใช้คอปเปอร์ซัลเฟตป้องกันการ เกาะของซูโอแทมเนียม

เตรียมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ส่วนในน้ำล้านส่วน ซึ่งได้ทำการทดสอบค่าความเป็นพิษแล้วในข้อ 4.1 ใส่ในโหลแก้วกลมขนาด 3 ลิตร ปริมาตรสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตในโหลทดลองโหลละ 1 ลิตร ระดับความเข้มข้นละ 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ที่ไม่มีซูโอแทม–เนียมเกาะลงในขวดโหลทดลองโหลละ 1 ลิตร ระดับความเข้มข้นละ 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ที่ไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงในขวดโหลทดลอง

โหลละ 10 ตัว ภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง แล้วใส่ตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงไปขวดโหลละ 200 ซีซี.

กลุ่มควบคุม

ใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้วในโหลแก้วกลม 4 โหล ใส่ลูกกุ้งกุลาดำที่จะใช้ทดลองในโหลทดลองโหลละ 10 ตัว ภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง ใส่ตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมเกาะลงไป 200 ซีซี.

การตรวจผลการทดลอง

ทำการตรวจผลการทดลองโดยนำลูกกุ้งกุลาดำที่ทำการทดลองนั้นมาตรวจหาซูโอแทมเนียมโดยกล้องจุลทัศน์ภายในเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกจำนวนลูกกุ้งที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะทั้งในการควบคุมและใช้สารเคมีป้องกัน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบความแปรปรวนของจำนวนลูกกุ้งกุลาดำที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะในแต่ละระดับความเข้มข้นของสารเคมีแต่ละชนิดและกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับข้อ 3.4 หัวข้อที่ 3

4.2.2 การใช้ฟอร์มาลินเข้มข้น 40 ส่วนในน้ำล้านส่วน แช่ไรน้ำเค็มก่อนที่จะใช้เป็นอาหารแก่ลูกกุ้ง เตรียมฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้น 40 ส่วนในน้ำล้านส่วน ใส่ในโหลแก้ว 4 โหล ขนาดจุ 3 ลิตร ใส่ตัวอ่อนไรน้ำเค็มและเปลือกซึ่งมีซูโอแทมเนียมเกาะลงไปในโหลแก้ว ปริมาตร 200 ซีซี. ให้อากาศตลอดเวลา

การควบคุม

ใส่ตัวอ่อนไรน้ำเค็มและเปลือกซึ่งมีซูโอแทมเนียมลงไปในโหลแก้วที่มีน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้วอย่างดี ให้อากาศตลอดเวลา

การตรวจผลการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างตัวอ่อนไรน้ำเค็มและเปลือกที่แข่ในฟอร์มาลินขึ้นมาตรวจดูปริมาณซูโอแทมเนียมในเวลา 12 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลไว้

4.3 การใช้สารเคมีฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตและคอปเปอร์ซัลเฟตกำจัดซูโอแทมเนียม

โดยใส่ลูกกุ้งกุลาดำที่มีซูโอแทมเนียมเกาะ (ประมาณ 3 – 6 โคโลนี) ลงในโหลแก้วที่บรรจุสารเคมีฟอร์มาลิน โปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต คอปเปอร์ซัลเฟต ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังข้อที่ 4.2.1 และกลุ่มควบคุมโหลละ 30 ตัว

การตรวจผลการทดลอง

นำลูกกุ้งกุลาดำที่ทำการทดลอง 10 ตัว ขึ้นมาตรวจหาปริมาณซูโอแทมเนียมโดยกล้องจุลทัศน์ ภายในเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลปริมาณซูโอแทมเนียมที่ถูกกำจัดออกจากลูกกุ้ง สภาพลูกกุ้ง และดูการตายของลูกกุ้งที่ทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความปรวนแปรแบบมี 2 ตัวประกอบ (Two-way analysis of Variance) หรือการวิเคราะห์แบบ 2 ทาง (Two-way classification) ของเปอร์เซนต์ซูโอแทมเนียมที่ถูกกำจัดออกจากลูกกุ้งทดลอง โดยใช้สารเคมี 3 ชนิด ระดับต่าง ๆ กัน ในเวลาต่าง ๆ กัน จากสูตรดังต่อไปนี้ (ชูศรี วงศ์วัฒนะ, 2523 และประคอง กรรณสูตร, 2525)

$$\text{SS Total} = \sum_{i=1}^{r} \sum_{j=1}^{c} \sum_{k=1}^{n} X_{ijk}^{2} - \frac{T_{...}^{2}}{rcn}$$

$$\text{SS Row} = \frac{\sum_{i=1}^{r} T_{i..}^2}{cn} - \frac{T_{...}^2}{rcn}$$

$$\text{SS column} = \frac{\sum_{j=1}^{c} T_{.j.}^2}{rn} - \frac{T_{..}^2}{rcn}$$

$$\text{SS interaction} = \frac{\sum_{i=1}^{r}\sum_{j=1}^{c} T_{ij.}^2}{n} - \frac{\sum_{i=1}^{c} T_{i..}^2}{cn} - \frac{\sum_{j=1}^{c} T_{.j.}^2}{rn} + \frac{T_{...}^2}{rcn}$$

$$\text{SS error} = SST - SSR - SSC - SS(RC)$$

$\sum_{i=1}^{r}\sum_{j=1}^{c}\sum_{k=1}^{n} X_{ijk}^2$ = ผลรวมของคะแนนแต่ละตัวยกกำลังสองทุก ๆ ค่า ในทุกกลุ่มตัวอย่าง

$T_{...}$ = ผลรวมของคะแนนทั้งหมด

$T_{i..}$ = ผลรวมของคะแนนในแถวนั้น ๆ

$T_{.j.}$ = ผลรวมของคะแนนในคอลัมน์นั้น ๆ

$T_{ij.}$ = ผลรวมของคะแนนในแต่ละเซล

$r$ = จำนวนแถว

$c$ = จำนวนคอลัมน์

$n$ = จำนวนคะแนนในแต่ละเซล

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



| Source of Variation | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Rowmeans | r-1 | $SSR = \frac{\sum_{i=1}^{1} T_{..}^2}{cn} - \frac{T_{..}^2}{rcn}$ | $MSR = \frac{SSR}{r-1}$ | $\frac{MSR}{MSE}$ |
| Column Means | c-1 | $SSC = \frac{\sum_{j=1}^{c} T_{..}^2}{rn} \quad \frac{T_{...}^2}{rcn}$ | $MSC = \frac{SSC}{c-1}$ | $\frac{MSC}{MSE}$ |
| Interaction | (r-1)(c-1) | $SS(RE) = \frac{\sum_{i=1}^{r}\sum_{j=1}^{c} T_{ij}^2}{n} - \frac{\sum_{i=1}^{r} T_{..}^2}{cn} - \frac{\sum_{j=1}^{c} T_{..}^2}{rn} + \frac{T_{..}^2}{rcn}$ | $MS(RC) = \frac{SS(PC)}{(r-1)(c-1)}$ | $\frac{MS(RC)}{MSE}$ |
| Error | rc(n-1) | SSE = SST - SSR - SSC - SS (RC) | $MSE = \frac{SSE}{rc(n-1)}$ | |
| Total | RCN-1 | $SST = \sum_{i=1}^{r}\sum_{j=1}^{c}\sum_{k=1}^{n} \sum_{ijk}^{2} - \frac{T_{..}^2}{rcn}$ | | |

4.4 การควบคุมโดยสภาพธรรมชาติโดยใช้แสงสว่างและความร้อนจากแสงแดด

เตรียมถังเพาะขนาดจุ 20 ลิตร จำนวน 8 ถัง ใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองมาแล้วอย่างดี 10 ลิตร ลงในถังเพาะให้อากาศอ่อน ๆ แก่ถังเพาะทุกถังใส่ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะที่ 4 ขั้นที่ 1 ที่ไม่มีซูโอแทมเนียมเกาะถังเพาะละ 20 ตัว นำถังเพาะ 4 ถัง ไปตั้งไว้ในโรงเพาะพักและอีก 4 ถังนำไปตั้งไว้กลางแดดเป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง ใส่ตะกอนและเปลือกไรน้ำเค็มที่มีซูโอแทมเนียมปริมาตร 200 ซีซี. ลงไปในถังทดลองทั้ง 8 ถัง

การตรวจผลการทดลอง

ทำการตรวจผลการทดลองภายใน 24 ชั่วโมงโดยเก็บสัตว์ทดลองทั้งหมดขึ้นมาตรวจหาซูโอแทมเนียมโดยกล้องจุลทัศน์ นับจำนวนลูกกุ้งที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะและจำนวนโคโลนีของซูโอแทมเนียมที่เกาะลูกกุ้ง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างจำนวนลูกกุ้งที่ถูกซูโอแทมเนียมเกาะในถังทดลองที่วางตั้งไว้กลางแดดและตั้งไว้ในโรงเพาะพักโดยวิธีการทดสอบค่าที (t-test) จากสูตรต่อไปนี้ (ชูศรี วงศ์วัฒนะ, 2523)

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}} \quad ; \quad df = n_1 + n_2 - 2$$

$n_1, n_2$ = จำนวนข้อมูลทั้งหมดของกลุ่มตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2

$\bar{X}_1, \bar{X}_2$ = ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2

$S_1^2, S_2^2$ = ค่าความปรวนแปรของกลุ่มตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2

$\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N}$

$\Sigma X$ = ผลรวมทั้งหมดของตัวอย่าง

$N$ = จำนวนตัวอย่าง

$S^2 = \frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{N - 1}$