

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

เวลา	เริ่มดำเนินการ	ธันวาคม 2555
	เสร็จสิ้น	กันยายน 2556
สถานที่	ทำการทดลอง	มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร
	เขียนรายงาน	มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร

แผนการดำเนินงาน

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินงาน

การดำเนินงาน	พ.ศ. 2555		พ.ศ. 2556	
	พ.ย	ธ.ค.	ม.ค.	ก.ย
1.ส่งชื่อเรื่อง	↔			
2.ค้นคว้าข้อมูล	↔			
3.เขียนโครงเรื่อง	←	→		
4.เตรียมอุปกรณ์	↔			
5.ทำการทดลอง	←		→	
6.บันทึกการทดลอง	←		→	
7.เขียนรายงาน			←	→

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1.1 ไข่ปลานิลระยะที่ 4 yolk-sac larvae จาก(ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำชุมพร)
- 1.2 ใบมัจจุสด
- 1.3 ตู้กระจกจำนวน 6 ใบ ขนาด ขนาด ยาว 36 นิ้ว กว้าง 18 นิ้ว สูง 20 นิ้ว
- 1.4 อาหารปลานิล (ปลาอุกเล็ก) ยี่ห้อ นิวทรีน่า อีคอนฟิช 8886
- 1.5 ภาชนะพักไข่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร (ถังพลาสติกทรงกลม)
- 1.6 อุปกรณ์ให้อากาศจำนวน 6 ชุด
- 1.7 อุปกรณ์ผ่าตัด
- 1.8 ผ้าขาวบาง
- 1.9 เครื่องปั่นใบมัจจุสด

2. เครื่องมือ

- 2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP121S
- 2.2 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ Rotavapor รุ่น R-200
- 2.3 ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น ULE 500
- 2.4 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope Compound) ยี่ห้อ Olympus รุ่น c01
- 2.5 เครื่องให้ความร้อน ยี่ห้อ IKA รุ่น RCT BASIC

3. สารเคมี

- 3.1 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %
- 3.2 สีช้อม Aceto-Carmine

วิธีการทดลอง

1.การวางแผนการทดลอง

การทดลองครั้งที่ 1 การใช้สารสกัดจากใบมังคุดแปลงเพศปลานิลโดยทำการแช่ไข่ปลานิลเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้น 0.9 กรัม/ลิตร เป็นการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้แช่สารสกัดจากใบมังคุด (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลานิลที่แช่ด้วยสารสกัดจากใบมังคุดโดยแช่สารสกัดใบมังคุด ที่ระดับความเข้มข้น 0.9 กรัม/ลิตร

วิธีการทดลองครั้งที่ 1 เช็ดทำความสะอาดใบมังคุดให้สะอาด จากนั้นใช้มีดหั่นใบมังคุดให้มีขนาดเล็กลง ก่อนนำไปใส่ตะกร้าเข้าตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำใบมังคุดแห้งที่ผ่านการอบมาปั่นให้มีขนาดเล็กจากนั้นทำการแช่ด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ในขวดโหลแก้วเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อแยกน้ำสกัดจากใบมังคุดออกและนำน้ำสกัดจากใบมังคุดมากลั่นระเหยด้วย เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) ทำการชูดเอาส่วนที่แห้ง ใสลงใน petri dish แล้วนำสารสกัดจากใบมังคุดที่ได้ใส่ในโถดูดความชื้น

เมื่อได้สารสกัดที่ใช้ทำการทดลองนำสารไปชั่งน้ำหนักและปรับความเข้มข้นให้ได้เท่ากับ 0.9 กรัม/ลิตร ในการแช่ไข่ปลานิลระยะที่ 4 ทำการทดลองในโหลพลาสติกทรงกลม ให้อากาศตลอดเวลา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การทดลองครั้งที่ 2 ผลของการใช้สารสกัดจากใบมังคุดแปลงเพศปลานิลโดยทำการแช่ไข่ปลานิลเป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง เป็นการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้แช่สารสกัดจากใบมังคุด (ชุดควบคุม) แต่ละซ้ำนำไข่ปลานิลมาฟักในภาชนะฟักไข่ละ 50 ตัว

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลานิลที่แช่ด้วยสารสกัดจากใบมังคุดโดยแช่สารสกัดใบมังคุด ที่ระดับความเข้มข้น 0.03 กรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง แต่ละซ้ำนำไข่ปลานิลมาฟักในภาชนะฟักไข่ละ 50 ตัว

2.วิธีการทดลอง

นำสารสกัดจากใบมังคุดไปชั่งน้ำหนักและปรับระดับความเข้มข้นให้ได้เท่ากับ 0.03 กรัม/ลิตร ในการแช่ไข่ปลานิลระยะที่ 4 ทำการทดลองในโหลพลาสติกทรงกลม 6 ถัง โดยแบ่งเป็น 2 ชุด การทดลอง โดยทำการใส่สารในชุดการทดลองที่ 2 จำนวน 0.03 กรัม/ลิตร ให้อากาศตลอดเวลา เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เมื่อครบตามกำหนด 36 ชั่วโมงทำการถ่ายน้ำที่แช่สารสกัดจากใบมังคุดออกจากนั้นนำสวิงมาตักลูกปลาตัวงลูกปลาด้วยช้อนนำลูกปลาไปอนุบาลต่อในตู้กระจกใส 6 ตู้ โดยใส่ปลาในตู้การทดลอง ที่มีเครื่องให้อากาศตลอดเวลา

3.การเก็บข้อมูล

เลี้ยงลูกปลานิลในตู้กระจกโดยให้อาหารปลากินพืชและอาหารปลากินเนื้อสลับกันวันละ 2 มื้อ คือเวลา 08.00 และ 17.00 น. หลังจากทำการทดลองครบประมาณ 80 วันทำการเก็บข้อมูลผลหาอัตราการรอดและหาอัตราการเปลี่ยนแปลงเพศ

4.การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลจากการทดลองในแต่ละชุดการทดลองโดยนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของเปอร์เซ็นต์เพศผู้ของลูกปลานิลในการแปลงเพศปลานิลด้วยสารสกัดจากใบมังคุด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์เพศผู้โดย วิธี Independent Sample T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์