

อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงาน



อุปกรณ์

1. ปลากัด Betta splendens ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นปลากัดพื้นเมืองที่ได้จากแหล่งเพาะปลาในกรุงเทพมหานคร ไม่ใช่ปลากัดป่าซึ่งอยู่ตามแม่น้ำลำคลอง ปลากัดที่ได้จากการเพาะนี้ ยังคงลักษณะเดิมของพันธุ์พื้นเมืองไว้ครบ ปลาที่ใช้ในสัตว์ต่างๆกัน คือ สีฟ้า สีเขียว สีแดง และสีน้ำตาลอ่อน

ปลาที่นำมาใช้ศึกษา มีตั้งแต่อายุ 6-12 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 1.8-3.0

กรัม จำนวน 20 คู่

2. เครื่องเลี้ยง ไข่แก่

2.1 ขวดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 " สูง 6 " จำนวน 40 ขวด

2.2 อ่างเลี้ยงปลาขนาด 8 " x 12 " จำนวน 3 อ่าง

2.3 อาหารปลา ไข่แก่ ลูกน้ำ ลูกไร (daphnia)

2.4 เทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิในน้ำ

2.5 สวิงขนาดเล็ก ปากกว้าง 3 "

2.6 ฟันน้ำสำหรับใส่ในอ่างผสม ไข่แก่ สานทรายทางกระรอก ผักบวม

3. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

3.1 กล้องจุลทรรศน์ ใช้ ocular lens ขนาด 10x และ 7x และ objective lens ขนาด x 4

3.2 กล้องถ่ายรูปที่ใช้กับกล้องจุลทรรศน์

3.3 dropper สำหรับหยดไซมาศึกษา

3.4 petridish สำหรับเลี้ยงตัวอ่อนขณะศึกษา

3.5 Bouin fixation สำหรับเก็บตัวอย่างไข่และตัวอ่อน

วิธีดำเนินงาน

1. นำปลาอายุ 6-8 เดือน มาเลี้ยงในขวด 2.5 " x 6 " โดยเทียบตัวผู้กับตัวเมียไว้เป็นคู่ๆ ใช้กระดาษแข็งกันไว้ทางหากจากคู่อื่นๆ ให้ลูกน้ำตัวละ 8-10 ตัว เวลา 6.00 น. ทุกวัน

ปลาตัวเมียที่อายุประมาณ 6-8 เดือน จะสังเกตเห็น genital papilla เป็นตุ่มสีขาว ซึ่งอยู่ตรง genital pore โค้งชัดเจน เมื่อเทียบไว้ราว 2 สัปดาห์ genital papilla มีขนาดใหญ่ขึ้น และปลาทั้งตัวผู้และตัวเมียนำมาอยู่ใกล้ๆ กันเกือบตลอดเวลา ตัวผู้มักเริ่มก่อกอหูด ตัวเมียบางตัวก็ก่อกอหูดด้วย แต่หูดมักแตกกระจาย

2. เตรียมอ่างสำหรับเพาะ โดยใส่น้ำประปาที่ขังไว้ในภาชนะให้ตกตะกอนแล้วลงไปใ้อ่างเลี้ยงปลาขนาด 8 " x 12 " ให้ระดับน้ำสูง 5 " ใส่สาหร่ายหางกระรอกลงไปประมาณ 5 กาน เพื่อใช้เป็นเครื่องกำบังของตัวเมีย

3. ชั่งน้ำหนักปลาคู่ที่จะผสม แล้วชอนตัวผู้ใส่ลงไปในอ่าง แล้วชอนตัวเมียซึ่งเทียบคู่ไว้ด้วยกันใส่ตามลงไป ปลาตัวเมียที่พร้อมจะผสมพันธุ์ จะสังเกตเห็นส่วนของอวน และ genital papilla ตรง genital pore มีขนาดใหญ่มาก สีขาวแกมเหลืองเล็กน้อยในระยะแรก ตัวผู้จะเริ่มไล่ตัวเมียไปรอบๆ อ่าง ถ้าตัวเมียแสดงอาการต่อสู้ แสดงว่ายังไม่พร้อมที่จะผสม ต้องนำขึ้นจากอ่างและเปลี่ยนคู่อื่น

ประมาณวันที่ 2 (48 ชั่วโมง) หลังจากใส่ปลารวมกันในอ่างเพาะ ปลาจึงจะเริ่มผสมพันธุ์และวางไข่ วัตถุประสงค์มีน้ำขณะวางไข่ และสังเกตพฤติกรรมขณะมีการผสมพันธุ์และวางไข่

4. การนำไข่มาศึกษา ใช้ dropper คูดไข่มาราว 5-10 ฟอง ตั้งแต่ตัวเมียเริ่มวางไข่ นำมาลอยใน petridish ซึ่งใส่น้ำประปา สองคู่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตการเจริญเติบโตตั้งแต่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงที่ blastodisc, การเกิด cleavage, blastula, gastrula, body formation จนถึงฟักเป็นตัว บันทึกระยะเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลงไว้ทุกขั้น ถ้ารูปเอมบริโอ ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้จากภายนอกประกอบ