

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

ไขปลาหมึกกระดองก้นไหม้ (*Sepiella inermis*) ที่ใช้สำหรับการทดลองนี้เก็บจากบริเวณหาค่ายปากคลองโรงนา ค่ายลางศิลา จังหวัดชลบุรี ตอนน้ำลงต่ำสุด ซึ่งเป็นไขของแม่ปลาหมึกตามธรรมชาติเกาะเป็นพวงติดอยู่กับ tube ของ *Polychaet* ไขปลาหมึกกับตัวอ่อนจะเกาะติดเป็นพวงเดียวกัน นำไขปลาหมึกที่เก็บมาศึกษาในระยะการเจริญของเอมบริโอเพื่อศึกษาดูเฉพาะไขชุก (Brood) ที่มีการเจริญของเอมบริโออยู่ในระยะ Gastrula (ประมาณ 24 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ พเยาว์และคณะ 2520) เท่านั้น มาศึกษาทดลอง

การควบคุมอุณหภูมิน้ำทะเลที่ไข่ทดลอง

ทำการทดลองในห้องปรับอากาศควบคุมอุณหภูมิใช้น้ำทะเลเดิมอุณหภูมิ 24.0°ซ. สำหรับการทดลองที่ 28.0°ซ. และ 32.0°ซ. ใช้วิธีควบคุมอุณหภูมิแบบ Water bath โดยแช่โหลแก้วที่ใส่ไขปลาหมึกบรรจุน้ำทะเลประมาณ 5 ลิตร ไว้ในตู้แก้วสี่เหลี่ยม (รูปที่ 2) ใช้เครื่อง Immersion circulator ควบคุมอุณหภูมิ

การศึกษาหาค่า CTM และค่า Lt₅₀ การควบคุมอุณหภูมิเป็นแบบ Water bath เช่นกัน การหาค่า CTM ทำการทดลองโดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิของน้ำให้สูงขึ้นเรื่อย ๆ ประมาณ 0.25°ซ./นาที การปรับอุณหภูมิใช้เครื่อง Immersion circulator สำหรับการทดลองหาค่า Lt₅₀ ควบคุมอุณหภูมิแบบเกี่ยวกับการฟักไขปลาหมึก คือปรับอุณหภูมิที่ทดลองให้คงที่ที่อุณหภูมิที่กำหนดซึ่งได้จากการหาค่า CTM ดังที่ละ 1.5°ซ.

ในการทดลองนี้มีการ เปลี่ยนน้ำที่ใช้พักไข่ปลาหมึกทุก 24 ชั่วโมง น้ำใหม่ที่
จะใช้เปลี่ยนจะต้องมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่ไข่พักไข่ปลาหมึกที่กำลังทดลอง การปรับ
อุณหภูมิน้ำที่จะใช้เปลี่ยนใช้ เครื่องทำความร้อนแบบหลอดแก้ว (Heater rod)

การศึกษาทดลองทำที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลบางศิลา
จังหวัดชลบุรี น้ำทะเลที่ใช้ศึกษาตลอดการทดลองมีความเค็ม $28.0 \pm 1\%$.

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการพักเป็นตัวของไข่ปลาหมึกกระดูกงู *Sepiella inermis*

นำไข่ปลาหมึกที่จะศึกษาซึ่งเจริญอยู่ในระยะ Gastrula (ประมาณ 24 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ) ไข่ไข่ครอบเก็บไว้กับน้ำพักในน้ำทะเลที่เตรียมไว้มีอุณหภูมิ 24.0°C ., 28.0°C ., 32.0°C . และที่อุณหภูมิห้อง เปลี่ยนน้ำทุก 24 ชั่วโมง ไม่อาภาศผ่านน้ำทะเลที่ตนเองพักตลอดเวลา เพื่อป้องกันพองอากาศที่เกิดจากการบีบอัดอากาศผ่านน้ำในกระบอกเพื่อคืนไข่ปลาหมึกซึ่งเป็นการรบกวนไข่อาจมีผลต่อการพักเป็นตัว จึงใส่ไข่ปลาหมึกไว้ในกระบอกพลาสติกกลมลอยในน้ำทะเลที่ทดลองในโหลแก้วอีกชั้นหนึ่ง บันทึกระยะเวลาและจำนวนไข่ที่พักเป็นตัวโดยไข่ปลาหมึกอุณหภูมิละ 100 ใบ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2. การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อเวลาที่ใช้ในการเจริญบางระยะของเอมบริโอของปลาหมึกกระดูกงูกันใหม่

วิธีดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 โดยไข่ปลาหมึกครอบเก็บไว้กัน แล้วนำไข่ที่พักที่อุณหภูมิที่ทดลอง (24.0°C ., 28.0°C ., 32.0°C . และที่อุณหภูมิห้อง) มาศึกษาการเจริญของเอมบริโอทุก ๆ 24 ชั่วโมง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ไข่ปลาหมึกที่ใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงแต่ละอุณหภูมิครั้งละ 10 ใบ บันทึกเวลาและระยะเวลา

เปลี่ยนแปลงของเอมบริโอที่เจริญขึ้นทุก 24 ชั่วโมงจนพักเป็นตัว การแยกระยะการเจริญของเอมบริโออาศัยหลักการแยกของพเยาว์และคณะ (2520) เป็นเกณฑ์ (รายละเอียดแต่ละระยะและภาพประกอบพเยาว์และคณะ 2520) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3. การศึกษาหาค่า CTM และค่า Lt_{50} ที่ 12 และ 24 ชั่วโมงของลูกปลาหมึกอายุ 1 วัน

การศึกษาใช้ลูกปลาหมึกอายุ 1 วัน ใ้จากการนำไข่ปลาหมึกกระดองมาพักที่อุณหภูมิ 24.0°ซ., 28.0°ซ., 32.0°ซ. และอุณหภูมิห้องจนไข่พักเป็นตัวอายุได้ 1 วัน นำมาทำการทดลองหาค่า CTM โดยนำลูกปลาหมึกมาใส่ในโหลแก้วซึ่งบรรจุน้ำทะเลมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิที่ใช้พัก โหลนี้แช่อยู่ในตู้แก้วบรรจุน้ำเพื่อปรับอุณหภูมิน้ำให้สูงขึ้นเรื่อย ๆ ประมาณ 0.25°ซ./นาทีจนถึงอุณหภูมิที่ทำให้ลูกปลาหมึกตาย บันทึกค่าอุณหภูมิที่ใช้ลูกปลาหมึกทดลองจากการพักใ้จากแต่ละอุณหภูมิจำนวนครั้งละ 25 ตัว ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

การหาค่า Lt_{50} เมื่อได้ค่า CTM แล้วนำมาลดค่าอุณหภูมิลงทีละ 1.5°ซ. จนถึงอุณหภูมิที่ใช้พัก นำค่าที่ได้ไปปรับน้ำทะเลให้มีอุณหภูมิคงที่ตามค่าเหล่านี้ แล้วนำลูกปลาหมึกที่ใ้จากการพักที่ 24.0°ซ., 28.0°ซ., 32.0°ซ. และที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีอายุ 1 วัน มาใ้ในน้ำทะเลที่ปรับอุณหภูมิไว้ตามค่าที่หาใ้ดังกล่าว บันทึกอุณหภูมิและจำนวนลูกปลาหมึกที่ตายทุก 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง บันทึกอากาศผ่านน้ำตลอดเวลาที่ทดลองทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าเปอร์เซ็นต์การตายของลูกปลาหมึกและระยะเวลาที่บันทึกใ้มาเขียนกราฟเพื่อหาค่า Lt_{50} (ตารางที่ 8, รูปที่ 5 และ 6)

ในการศึกษานี้ใช้ไข่ปลาหมึกที่พักที่อุณหภูมิห้องเป็นตัวเปรียบเทียบ (Control) ในระหว่างที่ทำการทดลองอุณหภูมิน้ำทะเลในห้องทดลองมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 23.0 - 29.0°ซ.

รูปที่ 2 แสดงวิธีการจัดเตรียมการทดลอง

