

การเพาะพันธุ์ปลาหมุยโดยใช้ฮอร์โมนชนิดต่างๆ เพื่อเร่งการตกไข่

Breeding of Yoyo Loach (*Botia lohachata* Chaudhuri, 1912)

with Hormonal Priming Treatment Ovulation

นิภา	กาลศรี	Nipha	Galsri
จิราพร	พรหมประเสริฐ	Jiraporn	Promprasert
ชัยศิริ	ศิริกุล	Chaisiri	Sirikul
อำนาจ	คลองแก้ว	Amnat	Klongklaw
ปองสิทธิ์	ตันติกาโมทย์	Pongsit	Tuntigamote
อติเทพ	ฟองอม	Atithep	Fong-am



การเพาะพันธุ์ปลาหมุยโย้ยด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ เพื่อเร่งการตกไข่
Breeding of Yoyo Loach (*Botia lohachata* Chaudhuri, 1912)
with Hormonal Priming Treatment Ovulation

นิภา	กาลศรี	Nipha	Galsri
จิราพร	พรหมประเสริฐ	Jiraporn	Promprasert
ชัยศิริ	ศิริกุล	Chaisiri	Sirikul
อำนาจ	คลองแก้ว	Amnat	Klongklaw
ปองสิทธิ์	ตันติกาโมทย์	Pongsit	Tuntigamote
อติเทพ	ฟองอม	Atithep	Fong-am

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิชิต

Phichit Inland Fisheries Research
and Development Center

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด

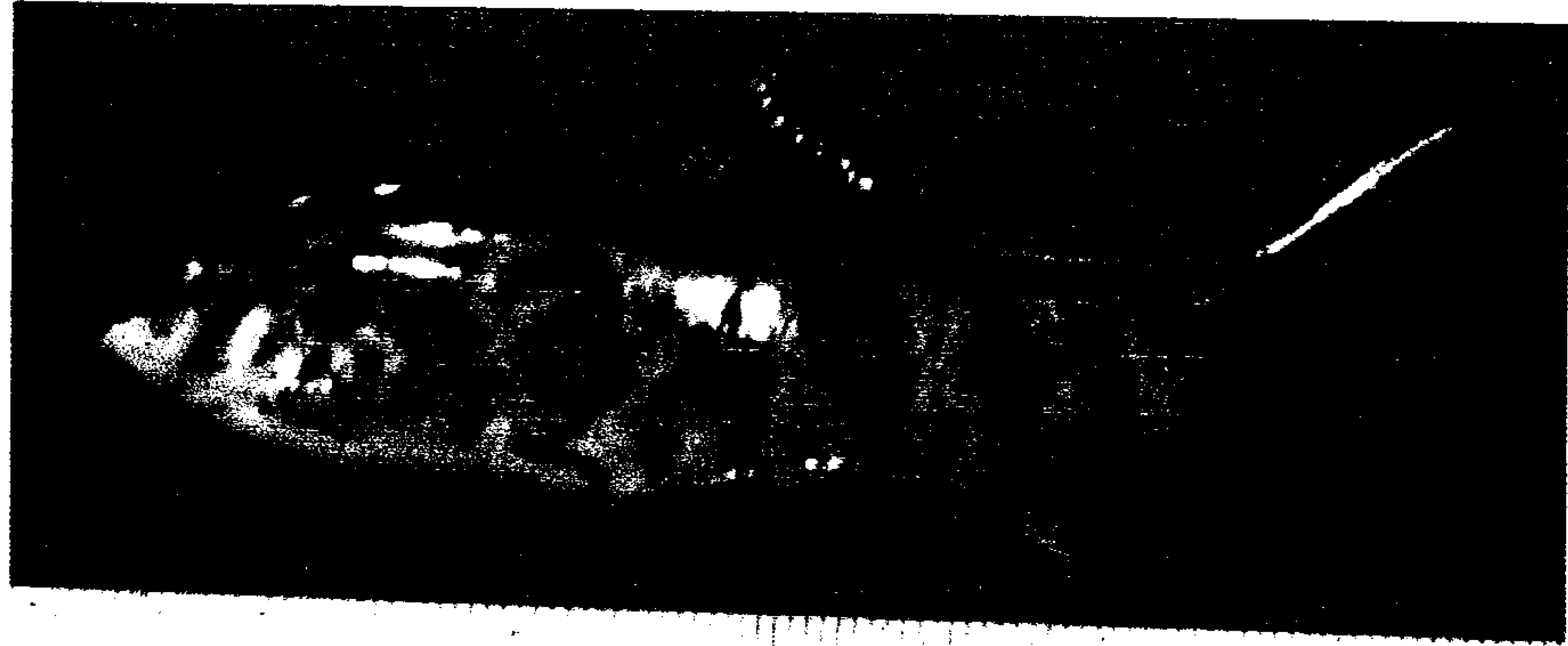
Inland Fisheries Research and Development Bureau

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๕๓

2010



ชื่อไทย

ปลาหมอยโย่

ชื่อสามัญ

Yoyo Loach

ชื่อวิทยาศาสตร์

Botia lohachata Chaudhuri, 1912

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	3
วิธีดำเนินการ	4
1. การวางแผนการทดลอง	4
2. วัสดุอุปกรณ์	5
3. วิธีดำเนินการ	6
4. การวิเคราะห์ข้อมูล	7
ผลการศึกษา	9
1. การเพาะพันธุ์ปลาหมอไทย	9
1.1 การฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการพัฒนาของไข่และการตกไข่ในการเพาะพันธุ์ปลาหมอไทย	9
1.2 อัตราปฏิสนธิ และอัตราการฟัก	10
1.3 จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวต่อแม่ปลาเฉลี่ย จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดต่อแม่ และอัตราการรอดตาย	10
1.4 คุณสมบัติของน้ำ	12
2. ผลการศึกษาคัพภะวิทยาของปลาหมอไทย	12
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	16
ข้อเสนอแนะ	17
เอกสารอ้างอิง	18
ภาคผนวก	19

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของอัตราแม่ปลาที่ตกไข่ ระยะเวลาตกไข่ น้ำหนักไข่ที่รีดได้ต่อแม่ จำนวนไข่ต่อแม่ ของปลาหมอโยโย่ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อมต่างกัน	10
2. ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของจำนวนไข่ต่อแม่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว จำนวนลูกปลาที่เหลือรอด และอัตราการรอดตาย ของปลาหมอโยโย่ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อมต่างกัน	11
3. คุณสมบัติของน้ำระหว่างการฟักไข่ปลาหมอโยโย่ในชุดการทดลองที่ฉีดกระตุ้นด้วย HCG อัตรา 500 IU/kg เป็นระยะเวลา 1 และ 2 วัน (ครั้ง)	12
4. พัฒนาการของคัพพะปลาหมอโยโย่	13
ตารางผนวกที่	
1. ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ขนาดความกว้างส่วนท้อง (เซนติเมตร) ของแม่ปลาหมอโยโย่ ก่อนเริ่มการทดลองฉีดกระตุ้น และหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ เป็นเวลา 1 วัน (ครั้ง)	19
2. ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของน้ำหนัก (กรัม) ของแม่ปลาหมอโยโย่ก่อนเริ่มการทดลองฉีดกระตุ้น และหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ เป็นเวลา 1 วัน (ครั้ง)	20

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 พ่อแม่พันธุ์ปลาหมอโยโย่	6
2 สอร์โมน และวัสดุอุปกรณ์สำหรับการเพาะพันธุ์	6
3 ถังเพาะฟักลูกปลาหมอโยโย่	6
4 ค่าเฉลี่ย (mean± SD) อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดตาย ของปลาหมอโยโย่ ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อม ต่างกัน	11
ภาพผนวกที่	
1 ค่าเฉลี่ย (mean± SD) ขนาดความกว้างส่วนท้อง (เซนติเมตร) ของแม่ปลาหมอโยโย่ ก่อนเริ่มการทดลองฉีดกระตุ้น และหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยสอร์โมนชนิดต่างๆ เป็นระยะเวลา 1 วัน (ครั้ง)	21
2 ค่าเฉลี่ย (mean ± SD) น้ำหนัก (กรัม) ของแม่ปลาหมอโยโย่ก่อนเริ่มการทดลองฉีดกระตุ้น และหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยสอร์โมนชนิดต่างๆ เป็นระยะเวลา 1 วัน (ครั้ง)	21

การเพาะพันธุ์ปลาหมูโยโย่ด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ เพื่อเร่งการตกไข่

นิภา กาลศรี*^๑ จิราพร พรหมประเสริฐ^๒ ชัยศิริ ศิริกุล^๒ อำนวย คล่องแคล่ว^๒

ปองสิทธิ ตันติกาโมทย์^๒ และอติเทพ ฟองเฒ^๒

^๑สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดกำแพงเพชร

^๒ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิจิตร

บทคัดย่อ

การเพาะพันธุ์ปลาหมูโยโย่ด้วยการฉีดฮอร์โมนชนิดต่างๆ เพื่อกระตุ้นการพัฒนารองไข่ให้มีความสมบูรณ์และพร้อมที่จะตกไข่ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิจิตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ชนิดและปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้ประกอบด้วย HCG ที่ระดับความเข้มข้น 500 IU ต่อกิโลกรัม BUS ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ BUS ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ฉีดฮอร์โมนทดลองให้แก่แม่ปลาทุกชุดการทดลองทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการพัฒนารองไข่ด้วยการประเมินจากขนาดส่วนท้องของแม่ปลาที่ขยายตัวเพิ่มขึ้นและมีความสมบูรณ์พร้อมเพาะผสมเทียมด้วยวิธีผสมเทียมแบบแห้ง พบว่าแม่ปลาที่ฉีดกระตุ้นด้วย HCG เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 500 IU ต่อกิโลกรัม ระยะเวลาการฉีดกระตุ้น 1-2 ครั้ง (ฉีดวันละครั้ง) สามารถกระตุ้นให้แม่ปลาหมูโยโย่ตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากฉีดด้วย BUS 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4-6 ชั่วโมง และยังพบว่าอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ย จำนวนไข่เฉลี่ยต่อแม่ และอัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกปลาจากการฉีดกระตุ้นด้วย HCG จำนวน 2 ครั้ง ให้ผลดีกว่าการฉีดกระตุ้นเพียงครั้งเดียว โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) สำหรับการพัฒนาของคัพภะ พบว่าไข่ปลาหมูโยโย่เป็นไข่ครึ่งจม ครึ่งลอย ลักษณะกลมมีสีเหลืองอ่อนค่อนข้างขาว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1.15-1.55 มิลลิเมตร ฟักออกเป็นตัวภายใน 12-14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิของน้ำ 26.3-26.5 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: การเพาะพันธุ์ ปลาหมูโยโย่ ฮอร์โมน การตกไข่

ผู้รับผิดชอบ : * หมู่ 2 ต.หนองปลิง อ.เมือง จ.กำแพงเพชร ๖๒๐๐๐ โทร.๐ ๕๕๗๑ ๓๔๗๓

e-mail: Jickbung@hotmail.com

**Breeding of Yoyo Loach (*Botia lohachata* Chaudhuri, 1912)
with Hormonal Priming Treatment Ovulation**

Nipha Galsri^{*1} Jiraporn Promprasert² Chaisiri Sirikul² Amnat Klongklaw²

Pongsit Tuntigamote² Atitthep Fong-am²

¹Khampaengphet Inland Fisheries Station

²Phichit Inland Fisheries Research and Development Center

Abstract

Breeding of Yoyo Loach (*Botia lohachata* Chaudhuri, 1912) with Hormonal Priming Treatment Ovulation was conducted at Phichit Inland Fisheries Research and Development Center during October 2008 to September 2009. The hormones were consists of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) at a dose of 500 IU/kg, Buserelin acetate (BUS) at a dose of 0.5 µg/kg, Buserelin acetate (BUS)+ Domperidone (DOM) at a dose of 0.5 µg/kg + 5 mg/kg and an injection of 1 ml/kg of distilled water as a control. All treatments were injected with hormone into dorsal muscular of the female breeder every 24 hours in order to achieve the oocyte development assessed by increasing the size of the abdomen. In this experiment, it was found that female breeders that have the priming treatment consisted of 1 and 2 daily injections of HCG at a dose 500 IU/kg can be only used to induce ovulation of all treated females within 4-6 hours after the injection of combination of BUS 10 µg/kg and DOM 10 mg/kg. However, 2 daily injections was better than 1 daily injection with a significant difference ($p < 0.05$) of fertilization rate, hatching rate, number of eggs per female and survival rate of the 3 days old fry. The characteristics of Yoyo Loach eggs are semi buoyant with white yellowish in color, round – shape and have diameter 1.15-1.55 mm. At water temperature between 26.3-26.5 °C , the eggs hatch out with in 12-14 hours.

Key words: Breeding, Yoyo Loach (*Botia lohachata*, Chaudhuri, 1912), Hormone, Ovulation

*Corresponding author : Mou 2 Tombun Nongpling Mueang Khampaengphet 62000 Tel 0 5571 3473

e-mail: Jickbung@hotmail.com

คำนำ

ปลาหมูโยโย่ (*Botia lohachata* Chaudhuri, 1912) มีชื่อสามัญว่า Yoyo Loach, Almorha Loach, Pakistani Loach มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศปากีสถาน อินเดีย และบังคลาเทศ เป็นปลาที่มีนิสัยรักสงบ ในเวลากลางวัน ชอบหลบซ่อนและออกหากินในเวลากลางคืน มีความยาวประมาณ 8-10 เซนติเมตร ความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียค่อนข้างสังเกตค่อนข้างยากจะเด่นชัดในช่วงฤดูผสมพันธุ์เท่านั้น มีรูปร่างยาวเพรียว ลำตัวแบนข้าง หัวรูปทรงกรวย จะงอยปากแหลม ครีบหลังอยู่กึ่งกลางลำตัว ครีบหางเป็นแฉกลึก ลำตัวสีเหลืองอมส้ม มีลายดำ ครีบหลังและครีบหางมีลายดำพาดขวาง ครีบอื่นไม่มีสี ชอบอาศัยอยู่ตามหน้าดิน กินตัวอ่อนของแมลงและหนอนที่อาศัยตามหน้าดินเป็นอาหาร เคยพบมีความยาวสูงสุดถึง 18 เซนติเมตร (สมโภชน์ และกาญจนรี, 2543) ปลาหมูโยโย่ที่นำมาเลี้ยงในปัจจุบันจะเป็นปลาที่รวบรวมมาจากธรรมชาติ และยังไม่มียางานว่าสามารถเพาะพันธุ์ได้เป็นผลสำเร็จ (www.loaches.com)

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเป็นธุรกิจที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ทั้งที่เป็นอาชีพเสริมและอาชีพหลัก ปลาหมูโยโย่จึงเป็นปลาสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่เป็นที่ต้องการของผู้นิยมเพาะเลี้ยงปลาซึ่งมีการนำเข้ามาจำหน่ายในตลาดปลาสวยงาม ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิศิตรได้พยายามศึกษาหาแนวทางในการเพาะขยายพันธุ์ปลาหมูโยโย่ แต่ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร แม่ปลาส่วนใหญ่จะไม่สามารถรีดผสมเทียมได้หลังจากฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ สำหรับแม่ปลาที่สามารถรีดไข่ผสมเทียมได้จะมีอัตราการฟักค่อนข้างต่ำ ผู้วิจัยเห็นว่าการเตรียมแม่ปลาหมูโยโย่โดยการกระตุ้นให้แม่ปลาหมูโยโย่พัฒนาไข่ให้สมบูรณ์ขึ้นระดับหนึ่งก่อนที่จะกระตุ้นให้มีการตกไข่น่าจะแก้ปัญหาดังกล่าวได้ จึงได้มีการศึกษาทดลองนี้ขึ้นโดยใช้ HCG ฉีดกระตุ้น แต่เนื่องจากไม่สามารถดูไข่ปลาตรวจสอบขนาดได้ เนื่องจากปลามีขนาดเล็ก จึงได้ใช้วิธีคัดแปลงโดยใช้ขนาดความกว้างของส่วนท้องและเปอร์เซ็นต์การเพิ่มของน้ำหนักปลาเป็นตัวชี้วัดความสมบูรณ์ไข่ปลาก่อนที่ฉีดกระตุ้นให้ตกไข่ต่อไป ซึ่งคาดว่าน่าจะเพาะพันธุ์ปลาหมูโยโย่ได้ดี และเป็นแนวทางในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของฮอร์โมนสกัด (Human Chorionic Gonadotropin; HCG) ฮอร์โมนสังเคราะห์ (Buserelin acetate; BUS) และยาเสริมฤทธิ์ (Domperidone; DOM) ต่อการกระตุ้นการพัฒนาการของไข่ปลาหมูโยโย่ (ด้วยการประเมินโดยวิธีวัดขนาดความกว้างของส่วนท้องของแม่ปลาที่มีขนาดขยายตัวเพิ่มขึ้น)
2. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการพัฒนาการของไข่แม่ปลาหมูโยโย่ด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ
3. เพื่อทราบอัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตายของลูกปลาหมูโยโย่ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ด้วยวิธีผสมเทียมแบบแห้ง

4. เพื่อศึกษาคัพภะวิทยาของปลาหมอโยโย่

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 แบ่งการทดลองเป็น 2 ช่วงการทดลอง ดังนี้

การทดลองช่วงที่ 1 การเตรียมแม่พันธุ์ด้วยการกระตุ้นฮอร์โมน (priming)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) ประกอบด้วย

4 ชุดการทดลอง (treatments) แต่ละชุดการทดลองมี 6 ซ้ำ (replications) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ฉีดด้วย HCG ในอัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดด้วย BUS ในอัตรา 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดด้วย BUS ในอัตรา 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 ชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่นในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม

การทดลองช่วงที่ 2 การกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ในการเพาะพันธุ์ปลาหมอโยโย่

นำผลชุดการทดลองที่ดีที่สุดในการทดลองช่วงที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Independent - Sample T-Test ประกอบด้วย 2 ชุดการทดลอง (treatments) แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (replications) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ด้วย BUS ในอัตรา 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดด้วย HCG ในอัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม อีก 1 ครั้ง และหลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ด้วย BUS ในอัตรา 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.2 การศึกษาคัพภะวิทยา

นำไข่ปลาหมอโยโย่ซึ่งได้รับการผสมน้ำเชื้อแล้วมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า พร้อมบันทึกภาพ เพื่อศึกษาระยะเวลาการพัฒนารของไข่ถึงฟักออกเป็นตัว

1.3 สถานที่และระยะเวลาดำเนินการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิจิตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552

2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์

2.1.1 ปลาทดลอง เป็นปลาที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิจิตร ได้รวบรวมจากตลาดปลาสดงามจตุจักรนำมาเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 0.45x0.90x0.45 เมตร

2.1.2 อาหารและการให้อาหาร ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเปอร์เซ็นต์โปรตีนไม่น้อยกว่า 40 ไขมันไม่น้อยกว่า 3 ความชื้นไม่มากกว่า 12 และกากไม่มากกว่า 4 ร่วมกับหนอนนก ในอัตรา 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 08.30 และ 16.00 น.

2.1.3 การจัดการคุณภาพน้ำ ในระหว่างการเลี้ยงเปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 ส่วน ใน 3 ส่วน ของตู้กระจก สัปดาห์ละครั้ง

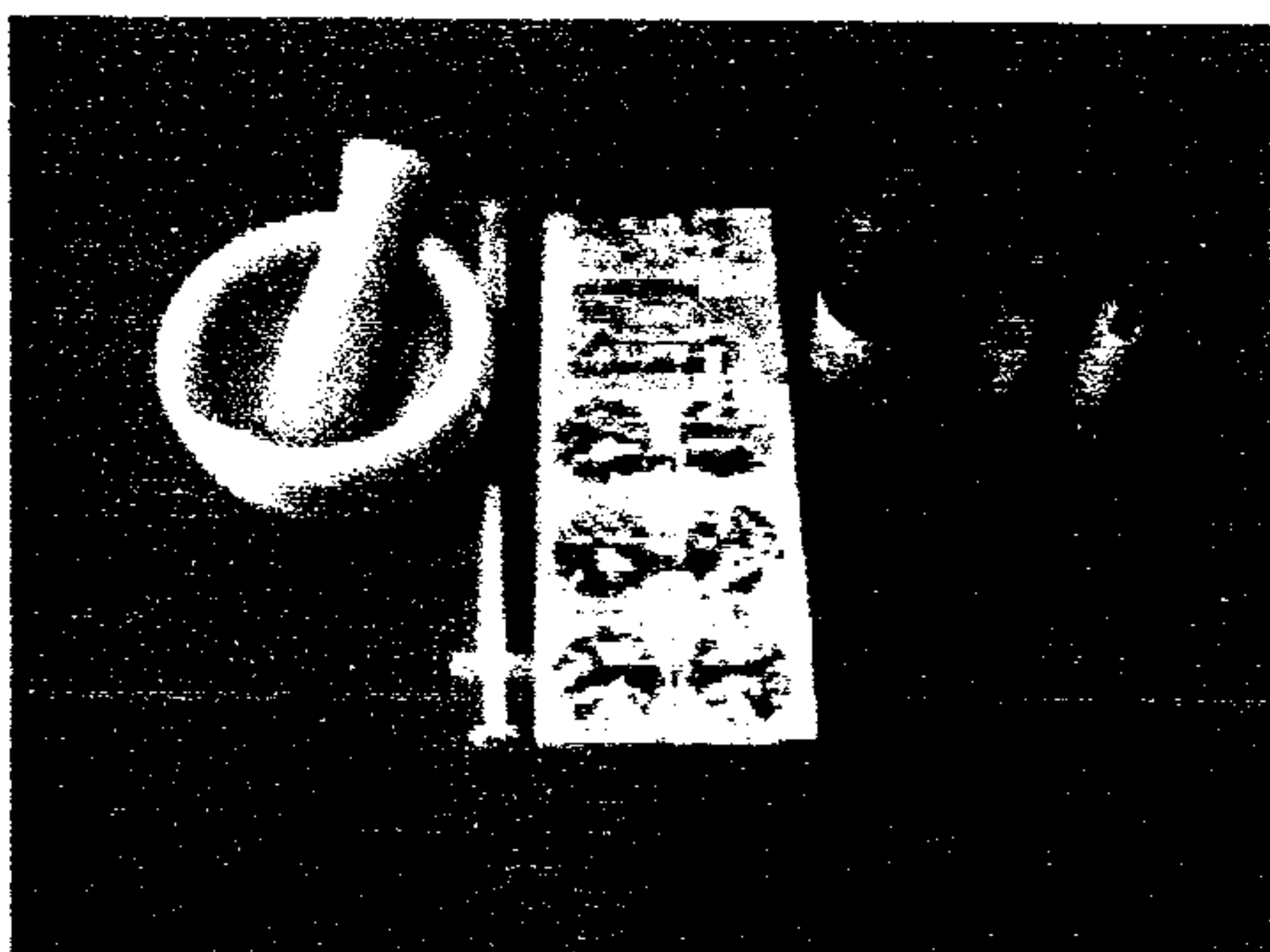
2.1.4 การตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของแม่พันธุ์ปลาหมอโยโย่ ด้วยการสังเกตลักษณะภายนอก บริเวณส่วนท้อง และช่องเพศ เมื่อพบว่าบริเวณส่วนท้องมีการขยายตัวและอูมเป่ง ช่องเพศจะมีสีแดงเรื่อๆ จะถูกคัดเลือกนำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ สำหรับพ่อแม่พันธุ์ปลาตรวจสอบความสมบูรณ์เพศ พบว่า เมื่อบีบบริเวณช่องเพศเบาๆ จะมีน้ำเชื้อสีขาวขุ่นไหลออกมา (ภาพที่ 1) ในระหว่างการจับพ่อแม่พันธุ์จะใช้ยาสลบ (2-Phenoxyethanal) ในอัตรา 200 ส่วนในล้าน (ppm.) แล้วนำมาพักในตู้กระจกขนาด 0.45x0.90x0.45 เมตร จำนวน 4 ตู้ ละ 1 ชุดการทดลอง

2.2 การเตรียมฮอร์โมน ในการเตรียมฮอร์โมนสำหรับใช้ในการทดลองครั้งนี้ ประกอบด้วย การเตรียมฮอร์โมนสกัดโดยใช้ HCG ขนาดบรรจุ 5,000 IU จากประเทศออสเตรเลีย ซึ่งก่อนนำมาใช้จะผสมด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ส่วนฮอร์โมนสังเคราะห์ใช้ BUS เจือจาง BUS ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของฮอร์โมน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส เมื่อเพาะพันธุ์ใช้ร่วมกับ DOM ในอัตราความเข้มข้นตามแผนการทดลองที่กำหนดไว้โดยทำการฉีดเข้ากล้ามเนื้อปลาบริเวณใต้ฐานครีบท้องเหนือเส้นข้างตัว (ภาพที่ 2)

2.3 บ่อสำหรับฟักไข่ปลาหมอโยโย่ เป็นถังฟักไข่รูปทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร มีความจุน้ำ 18 ลิตร จำนวน 24 ถัง ในแต่ละถังมีหัวทราย 1 หัว ใส่ไว้ที่ก้นถังเพื่อให้ไข่ปลาหมอโยโย่หมุนเวียนไม่จมลงสู่ก้นถัง เพราะหากไข่จมทับถมกันสู่ก้นถังจะทำให้ไข่เสียได้ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 1 พ่อแม่พันธุ์ปลาหมอโยโย่



ภาพที่ 2 ฮอร์โมน และวัสดุอุปกรณ์สำหรับการเพาะพันธุ์



ภาพที่ 3 ถังเพาะฟักไข่ปลาหมุยโยโย่

3. วิธีดำเนินการ

3.1 การเพาะพันธุ์

3.1.1 คัดเลือกแม่พันธุ์ปลาหมุยโยโย่ที่มีความสมบูรณ์เพศโดยสังเกตจากลักษณะส่วนท้องที่อูมเป่งใกล้เคียงกันทุกตัว ในเดือนมิถุนายน 2552 จำนวน 24 ตัว ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 22.36 ± 1.43 กรัม ส่วนท้องมีขนาดความกว้างเฉลี่ย 1.84 ± 0.09 เซนติเมตร ส่วนพ่อพันธุ์จะตรวจเช็คด้วยวิธีบีบบริเวณช่องเพศเบาๆ จะมีน้ำเชื้อสีขาวขุ่นไหลออกมา จำนวน 24 ตัว ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 6.20 ± 1.92 กรัม จากนั้นสุ่มเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาตามแผนการทดลองที่กำหนดอีกครั้ง แยกฟักพ่อแม่พันธุ์ปลาในตู้กระจกขนาด $0.45 \times 0.90 \times 0.45$ เมตร จำนวน 4 ตู้ๆ ละ 1 ชุดการทดลอง (ใส่แม่พันธุ์ปลา จำนวน 6 ตัวต่อตู้)

3.1.2 ฉีดฮอร์โมนทดลองกระตุ้นให้แก่แม่ปลาทุกชุดการทดลอง ทุกๆ 24 ชั่วโมง หลังจากฉีดฮอร์โมนในครั้งที่ 1 ก่อนการฉีดฮอร์โมนในแต่ละครั้ง ตรวจสอบการขยายตัวของส่วนท้องของแม่ปลาด้วย Vimear Caliper เมื่อพบว่าส่วนท้องของแม่ปลาในชุดการทดลองใดมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นดีที่สุดในที่สุด จึงจะนำชุดการทดลองนั้นมาทดลองในช่วงการทดลองที่ 2 โดยแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลองๆละ 3 ซ้ำตามแผนการทดลองที่วางไว้

3.1.3 การเก็บข้อมูล รีดไข่ของแม่ปลาเมื่อปลาพร้อม บันทึกระยะเวลาตกไข่ จำนวนแม่ปลา ตกไข่ น้ำหนักไข่ปลาแต่ละแม่ที่รีดได้ สุ่มชั่งน้ำหนักไข่ 1 กรัม จำนวน 3 ครั้ง และนับจำนวนไข่เพื่อหาค่าเฉลี่ยสำหรับนำไปใช้คำนวณหาจำนวนไข่ทั้งหมด นำไข่และน้ำเชื้อผสมเทียมแบบแห้ง (dry method)

3.1.4 การฟักไข่ นำไข่ไปฟักในถังฟักไข่ที่เตรียมไว้ สุ่มเก็บไข่จำนวน 100 ฟอง นำมาฟักใน Beaker ขนาด 100 มิลลิลิตร เมื่อไข่พัฒนาถึงระยะแกสตรูล่า จึงตรวจนับจำนวนไข่ดี และไข่เสียทั้งหมดเพื่อใช้คำนวณอัตราการปฏิสนธิ ตรวจนับจำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว เพื่อคำนวณอัตราการฟัก

3.1.5 การหาอัตราการรอดตาย เมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน ตรวจนับจำนวนลูกปลาที่รอดตายในแต่ละซ้ำของการทดลอง เพื่อคำนวณอัตราการรอดตาย และนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบหาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการฉีดกระตุ้นพัฒนาการของไข่

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำในถังฟักไข่และระหว่างการอนุบาลลูกปลาเวลา 09.00 น. ดังนี้

- อุณหภูมิของน้ำ (temperature) ตรวจวัดด้วยเทอร์โมมิเตอร์หน่วยเป็นองศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
- ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ตรวจวัดด้วย pH meter ยี่ห้อ TOA รุ่น WQC-20A
- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) ตรวจวัดด้วยเครื่อง DO meter ยี่ห้อ TOA รุ่น WQC-20A หน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร
- ปริมาณแอมโมเนียรวม ($\text{NH}_3\text{-N}$) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 93733 ตามวิธี Nessler method หน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร
- ปริมาณไนไตรท์ (NO_2) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/4000 หน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร
- ค่าความกระด้าง (hardness) วิเคราะห์ด้วยวิธีไตเตรท ตามวิธีของ ไมตรี และจารุวรรณ (2528) หน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (mg/l as CaCO_3)
- ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) วิเคราะห์ด้วยวิธีไตเตรท ตามวิธีของ ไมตรี และจารุวรรณ (2528) หน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (mg/l as CaCO_3)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลต่างๆ มาวิเคราะห์ผลการตอบสนองของปลาต่อฮอร์โมนทดลองโดยพิจารณาจากค่าต่างๆ โดยอ้างตามอุทัยรัตน์ (2538) ดังนี้

$$4.1 \text{ อัตราการตกไข่ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนแม่ปลาที่ตกไข่ของแต่ละชุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนแม่ปลาทั้งหมดของแต่ละชุดการทดลอง (ตัว)}} \times 100$$

$$4.2 \text{ อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนไข่ที่เจริญถึงระยะ late gastrula (ฟอง)}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)}} \times 100$$

$$4.3 \text{ อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาที่ฟัก (ตัว)}}{\text{จำนวนไข่ที่เจริญถึงระยะ late gastrula (ฟอง)}} \times 100$$

$$4.4 \text{ อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดอายุ 3 วัน (ตัว)}}{\text{จำนวนลูกปลาที่ฟัก (ตัว)}} \times 100$$

นำข้อมูลการขยายของส่วนท้องและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของแม่ปลาในช่วงการทดลองที่ 1 ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติแบบ One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป และข้อมูลอัตราการตกไข่ จำนวนไข่ต่อแม่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาทั้งหมด ในช่วงการทดลองที่ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Independent-Sample T-Test ในกรณีที่ข้อมูลเป็นค่าของเปอร์เซ็นต์ เช่น อัตราการรอดตาย ทำการวิเคราะห์การกระจายของข้อมูลก่อน หากการกระจายไม่ปกติ นำไปแปลงค่าด้วย angular transformation ก่อนการวิเคราะห์ความแปรปรวน (กัลยา, 2545)

ผลการศึกษา

1. การเพาะพันธุ์ปลาหมุยโยโย

1.1. การฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการพัฒนาของไข่ และการตกไข่ในการเพาะพันธุ์ปลาหมุยโยโย การทดลองช่วงที่ 1 เป็นการเตรียมแม่พันธุ์ด้วยการกระตุ้นฮอร์โมนโดย HCG ในอัตรา 500 IU ต่อกิโลกรัม BUS ในอัตรา 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม BUS ในอัตรา 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมร่วมกับ DOM ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และน้ำกลั่นในอัตรา 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นชุดควบคุม เริ่มต้นทดลองแม่ปลาที่มีความกว้างของส่วนท้องเฉลี่ยเท่ากับ 1.88 ± 0.11 , 1.84 ± 0.11 , 1.84 ± 0.07 , 1.91 ± 0.04 และ 1.83 ± 0.03 เซนติเมตร และน้ำหนักแม่ปลาเฉลี่ยเท่ากับ 23.03 ± 1.21 , 22.83 ± 1.34 , 22.09 ± 1.65 และ 21.50 ± 1.27 กรัม ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าขนาดความกว้างของส่วนท้องมีการขยายตัวเฉลี่ยเท่ากับ 2.75 ± 0.55 , 1.83 ± 0.11 , 1.86 ± 0.08 และ 1.82 ± 0.03 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 23.56 ± 1.03 , 22.82 ± 1.35 , 22.13 ± 1.65 และ 21.46 ± 1.29 กรัม ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่าสูงต่างกับชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 1 และ 2 และภาพที่ 1 และ 2)

เนื่องจากปลาหมุยโยโยมีขนาดเล็กไม่สามารถใช้วิธีคูไข่ หรือ flexible catheter มาตรวจสอบการพัฒนาการของไข่ได้ทุกวัน เพราะทำให้ปลาเครียด บอบช้ำและอาจตายได้ จึงได้นำแม่ปลาในชุดการทดลองที่ดีที่สุดคือ ใช้ HCG ฉีดกระตุ้น (ชุดการทดลองที่ 1) มาทดสอบชนิดและปริมาณฮอร์โมนที่ต่างกันในการทดลองที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการฉีดกระตุ้นการพัฒนาการของไข่ในช่วงการทดลองที่ 2

การทดลองช่วงที่ 2 กระตุ้นให้ปลาตกไข่ในการเพาะพันธุ์ปลาหมุยโยโย

นำแม่ปลาในชุดที่ฉีดด้วย HCG ในชุดการทดลองที่ 1 แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ไข่ (ไข่ละ 1 ตัว) ชุดการทดลองที่ 1 ฉีดด้วย BUS ในอัตรา 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนชุดการทดลองที่ 2 นำมาฉีดด้วย HCG ในอัตรา 500 IU ต่อกิโลกรัม เพิ่มขึ้นอีก 1 ครั้ง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง จึงฉีดด้วย BUS ในอัตรา 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ DOM ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าแม่ปลามีการตกไข่ทุกตัว (100 เปอร์เซ็นต์) หลังการฉีด 4-6 ชั่วโมง ทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยน้ำหนักไข่ปลาหมุยโยโยที่รีดได้ต่อแม่ปลาเฉลี่ยและจำนวนไข่ต่อแม่เฉลี่ย ในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 เท่ากับ 5.95 ± 0.69 และ 6.81 ± 0.83 กรัม และ $1,822 \pm 211$ และ $2,086 \pm 254$ ฟอง ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของอัตราแม่ปลาที่ตกไข่ ระยะเวลาตกไข่ น้ำหนักไข่ที่รีดได้ต่อแม่ จำนวนไข่ต่อแม่ ของปลาหมุยโยโย่ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อมต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	แม่พันธุ์ปลาหมุยโยโย่					จำนวนไข่ต่อแม่ปลา (ฟอง)
		น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนแม่ปลาตกไข่ (เปอร์เซ็นต์)	การเตรียมความพร้อมแม่ปลา	เวลาตกไข่หลังจากฉีดฮอร์โมนครั้งสุดท้าย (ชั่วโมง)	น้ำหนักไข่ที่รีดได้ (กรัม)	
1	1	21.45	100	ฉีดกระตุ้นด้วย	5.00	5.79	1,774
	2	22.40	100	HCG 500 IU/kg	5.30	6.70	2,053
	3	22.65	100	ระยะเวลา 1 วัน	6.00	5.35	1,639
เฉลี่ย		22.17±0.63 ^a	100±0.00 ^a	1	5.43±0.51 ^a	5.95±0.69 ^a	1,822±211 ^a
2	1	22.72	100	ฉีดกระตุ้นด้วย	5.20	6.90	2,114
	2	24.47	100	HCG 500 IU/kg	4.40	5.94	1,820
	3	24.48	100	ระยะเวลา 2 วัน	4.50	7.59	2,325
เฉลี่ย		23.89±1.01 ^a	100±0.00 ^a	2	4.70±0.44 ^a	6.81±0.83 ^a	2,086±254 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1.2 อัตราปฏิสนธิ และอัตราการฟัก

อัตราการปฏิสนธิ เท่ากับ 45.00 ± 5.57 และ 76.33 ± 7.77 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการฟักมีค่าเท่ากับ 67.00 ± 5.99 และ 83.68 ± 6.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟัก ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

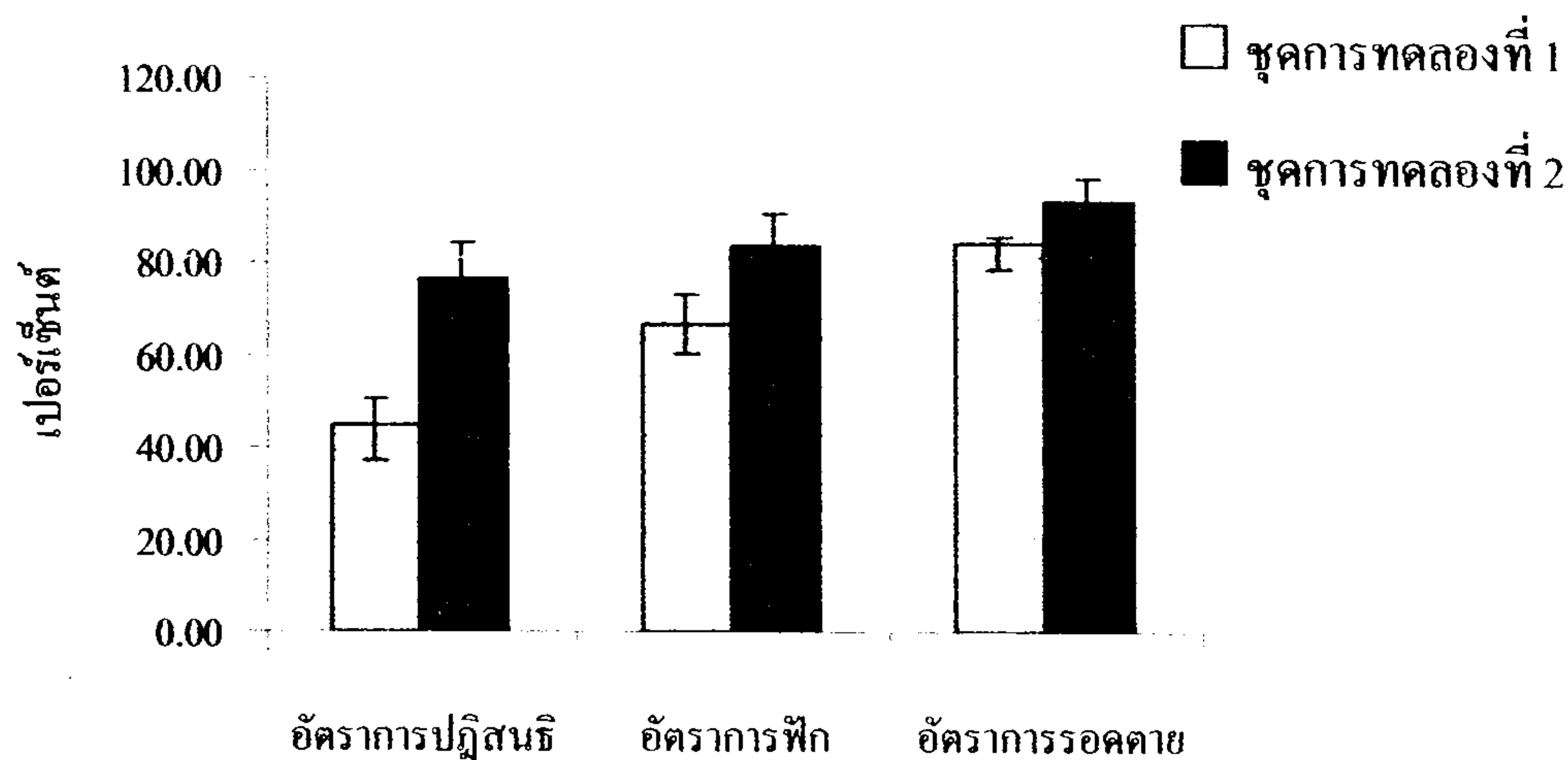
1.3 จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวต่อแม่ปลาเฉลี่ย จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดต่อแม่ และอัตราการรอดตาย

จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวต่อแม่เฉลี่ยเท่ากับ 547 ± 81 และ $1,351 \pm 366$ ตัว จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดต่อแม่เท่ากับ 459 ± 73 และ $1,258 \pm 363$ ตัว และอัตราการรอดตายมีค่าเท่ากับ 83.90 ± 1.42 และ 93.04 ± 5.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าชุดการทดลองที่ 2 มีจำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวต่อแม่ปลาเฉลี่ย จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดเฉลี่ย และอัตราการรอดตายของลูกปลาหมุยโยโย่สูงกว่าแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของจำนวนไข่ต่อแม่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว จำนวนลูกปลาที่เหลือรอด และอัตราการรอดตาย ของปลาหมูโยโย่ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อมต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	จำนวนไข่ต่อแม่ (ฟอง)	อัตรา การปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตรา การฟัก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนลูกปลา ฟักเป็นตัว (ตัว)	จำนวนลูกปลา ที่เหลือรอด (ตัว)	อัตรา การรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
(HCG 500 IU/kg ระยะเวลา 1 วัน)	1	1,774	40.00	67.50	479	403	84.15
	2	2,053	51.00	60.78	636	524	85.18
	3	1,639	44.00	72.73	524	432	82.37
เฉลี่ย		1,822±211 ^a	45.00±5.57 ^b	67.00±5.99 ^b	547±81 ^b	459±73 ^b	83.90±1.42 ^b
(HCG 500 IU/kg ระยะเวลา 2 วัน)	1	2,144	70.00	87.14	1,289	1,120	86.86
	2	1,820	74.00	75.68	1,019	984	96.56
	3	2,325	85.00	88.24	1,744	1,669	95.70
เฉลี่ย		2,086±254 ^a	76.33±7.77 ^a	83.68±6.96 ^a	1,351±366 ^a	1,258±363 ^a	93.04±5.37 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ย (mean±SD) อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดตาย ของปลาหมูโยโย่ที่ฉีดกระตุ้นด้วย BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg กับแม่ปลาที่ถูกเตรียมความพร้อมต่างกัน

1.4 คุณสมบัติของน้ำ

คุณสมบัติของน้ำในระหว่างการทดลองพบว่า อุณหภูมิน้ำ มีพิสัย 26.3-26.5 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.50 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ มีพิสัย 8.00-8.15 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ปริมาณแอมโมเนียรวม 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ปริมาณไนไตรท์ 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ค่าความกระด้าง 60 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (mg/l as CaCO_3) และค่าความเป็นด่าง 85 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (mg/l as CaCO_3) ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของน้ำระหว่างการฟักไข่ปลาหมุยโยโย่ในชุดการทดลองที่ฉีดกระตุ้นด้วย HCG อัตรา 500 IU/kg เป็นระยะเวลา 1 และ 2 วัน (ครั้ง)

ค่าดัชนี	ชุดการทดลอง	
	HCG 1 วัน	HCG 2 วัน
อุณหภูมิน้ำ ($^{\circ}\text{C}$)	26.30	26.50
ความเป็นกรดเป็นด่าง	7.50	7.50
ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/l)	8.00	8.15
แอมโมเนียรวม (mg/l)	0.00	0.00
ไนไตรท์ (mg/l)	0.10	0.10
ความกระด้าง (mg/l as CaCO_3)	60	60
ความเป็นด่าง (mg/l as CaCO_3)	85	85

2. ผลการศึกษาลักษณะวิทยาของปลาหมุยโยโย่

จากการศึกษา พบว่า ไข่ของปลาหมุยโยโย่เป็นลักษณะไข่แบบครึ่งจมครึ่งลอยรูปร่างกลมมีสีเหลืองอ่อนค่อนข้างขาว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.15-1.55 มิลลิเมตร แม่ปลาวางไข่ครั้งละ 1,600-2,400 ฟอง และใช้เวลาฟักออกเป็นตัวประมาณ 12-14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26.3-26.5 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) ลูกปลามีความยาวเฉลี่ย 2.16 ± 0.07 มิลลิเมตร โดยมีขั้นตอนการวิวัฒนาการของไข่ ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 5

ตารางที่ 4 พัฒนาการของคัพพะปลาหมูโยโย

ระยะ	ระยะเวลา		ขั้นตอนการพัฒนา
	หลังไข่ผสม กับน้ำเชื้อ	ภาพที่	
cleavage	10 นาที	4 ก.	one cell stage เมื่อไข่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อ เกิดการแบ่งตัวแบบไมโทซิส (mitosis) ทางด้าน animal pole เกิดblastodisc มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว
	15 นาที	4 ข.	first cleavage stage แบ่งเซลล์blastodisc ออกเป็น blastotomeyer (blastomere) 2 เซลล์
	30 นาที	4 ค.	second cleavage stage แบ่งเซลล์blastotomeyer ออกเป็น 4 เซลล์
	45 นาที	4 ง.	third cleavage stage แบ่งเซลล์blastotomeyer ออกเป็น 8 เซลล์
	50 นาที	4 จ.	fourth cleavage stage แบ่งเซลล์blastotomeyer ออกเป็น 16 เซลล์
	1 ชั่วโมง	4 ฉ.	fifth cleavage stage แบ่งเซลล์blastotomeyer ออกเป็น 32 เซลล์
	1 ชั่วโมง	4 ช.	sixth cleavage stage แบ่งเซลล์blastotomeyer ออกเป็น 64 เซลล์
blastula	10 นาที		
	2 ชั่วโมง	4 ซ.	morula เป็นระยะสุดท้ายของ cleavage เซลล์blastotomeyer แบ่งเป็นเซลล์ซ้อนกันหนาและเบียดกันแน่นคล้ายหวมกรอบอยู่เหนือไข่แดงแต่ยังไม่มีช่องว่างblastocoel
	10 นาที	4 ฅ.	blastotomeyer มีเซลล์รวมกันอยู่เป็นกลุ่มหนาขึ้น ลักษณะทรงค่อนข้างสูงทำให้เกิดช่องว่างblastocoel
gastrula	3 ชั่วโมง	4 ฉ.	
	10 นาที	4 ค.	early gastrula ขอบของblastotomeyer หนาขึ้นโดยรอบ ทำให้เกิดลักษณะคล้ายวงแหวนล้อมรอบไข่แดง (yolk) เรียกว่า germ ring
	30 นาที	4 ง.	late gastrula กลุ่มเซลล์เคลื่อนลงมากลุมไข่แดงจนเกือบหมดและเมื่อสิ้นสุดระยะแกสตรูล่า ไข่แดงถูกคลุมหมดเป็นblastotomeyer ปิด
head bud and tail bud	5 ชั่วโมง	4 จ.	เนื้อเยื่อเจริญมากขึ้น ทำให้เกิดเป็นตัวอ่อน (embryo) รูปร่างคล้ายวงแหวน ส่วนท้ายและส่วนหัวของตัวอ่อนยกขึ้น เกิดเป็นปุ่มหัวและปุ่มหาง
	50 นาที	4 ฉ.	
somite	6 ชั่วโมง	4 ฐ.	มี 12 somite บริเวณส่วนหัวเกิด optic vesicle ซึ่งเจริญไปเป็นลูกตาเรียกว่า optic bud
	20 นาที		

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ระยะ	ระยะเวลา		ขั้นตอนการพัฒนา
	หลังไข่ผสม กับน้ำเชื้อ	ภาพที่	
somite	6 ชั่วโมง 35 นาที	4 ท.	มี 18 somite มีการพัฒนาส่วนของ somite ที่เพิ่มมากขึ้น
heart	6 ชั่วโมง 50 นาที	4 ค.	มี 22 somite ระยะที่พบว่าตัวอ่อนมีการพัฒนาเคปโตจนเกือบรอบไข่แดง
formation	9 ชั่วโมง 20 นาที	4 ฉ.	เกิดหัวใจลักษณะปุ่ม หัวใจเริ่มทำงาน มีการไหลเวียนของเลือด ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวในบางครั้ง บริเวณส่วนหางมีเนื้อเยื่อบางๆและแยกออกจากผนังไข่แดง
hatch out	12 ชั่วโมง 20 นาที	4 ค.	ลูกปลาฟักออกเป็นตัวโดยใช้ส่วนหางโบกให้เปลือกไข่แตกออก เมื่อฟักออกเป็นตัวใหม่ๆส่วนหัวของลูกปลายังติดอยู่กับถุงไข่แดง ปากยังไม่เปิด ลำตัวใส fin fold ติดต่อกันเป็นแผ่น ลูกปลามีความยาวเฉลี่ย 2.16 ± 0.07 มิลลิเมตร
ลูกปลาออกจากไข่	6 ชั่วโมง	4 ค.	ลูกปลามีการพัฒนากล้ามเนื้อ สามารถคิดว่าว่ายน้ำขึ้นลง ลำตัวใส และ fin fold ยังติดต่อกันเป็นแผ่น
ลูกปลาอายุ 1 วัน		4 ฉ.	ลูกปลามีการพัฒนากล้ามเนื้อ สามารถว่ายน้ำขึ้นลง ได้ดีมากขึ้น ลำตัวใส และ fin fold ยังติดต่อกันเป็นแผ่น ถุงไข่แดงเริ่มยุบและยาวไปตามลำตัว
ลูกปลาอายุ 2 วัน		4.จ.	ลูกปลามีการพัฒนากล้ามเนื้อ สามารถว่ายน้ำได้ในลักษณะแนวขวาง และ fin fold ยังติดต่อกันเป็นแผ่น ถุงไข่แดงเริ่มยุบและยาวไปตามลำตัว พบลูกปลาบางตัวเริ่มปากเปิดออก เพื่อรับอาหาร

