ผลของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ต่อการตกไข่ของปลาสายยู

สุจิตรา สหัสนฤภัยพงษ์
สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง เกษตรกลาง จตุจักร กทม. ๑๐๙๐๐
สมบัติ สิงห์สี
พิน พลไชย
สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครพนม อ.เมือง จ.นครพนม ๔๘๐๐๐
มาลัย อิ่มศิลป์
ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเพชรบุรี อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี ๗๖๑๓๐

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของฮอร์โมน human chorionic gonadotropin (HCG), ต่อมใต้สมอง และ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับ domperidone (DOM) ต่อการตกไข่ของปลาสายยู (*Pangasius conchophilus*) ได้จัดทำขึ้นที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครพนม ในเดือนกรกฎาคม 2546 โดยการแบ่งแม่ปลาสายยูสมบูรณ์เพศออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว ฉีดแม่ปลาแต่ละกลุ่ม 2 ครั้งด้วย HCG 300 และ 500 IU/กิโลกรัม, ต่อมใต้สมอง 1 และ 3 โดส และ BUS 10 และ 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ DOM 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และฉีดพ่อปลาด้วย BUS 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ DOM 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม บันทึกจำนวนแม่ปลาที่ตกไข่ เวลาที่ตกไข่ อัตราปฏิสนธิ อัตราฟัก และอัตรารอดตายของลูกปลาเมื่ออายุ 7 วันของปลาแต่ละกลุ่ม ผลของการทดลองแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ปลาสายยูตกไข่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยกลุ่มที่ฉีดด้วย HCG ตกไข่ก่อนปลากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อัตราปฏิสนธิ, อัตราฟักและจำนวนลูกปลาต่อแม่ปลา 1 กิโลกรัม ของทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่า 93.35±1.46, 65.72±20.60, 61.19±26.56 เปอร์เซ็นต์, 70.33±6.05, 32.33±21.76, 33.90±39.32 เปอร์เซ็นต์ และ 69,164.93±26,977.44, 19,825.94±27,078.44 และ 38,471.60±57,800.13 ตัวต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมดและต้นทุนของฮอร์โมนแต่ละชนิด แสดงให้เห็นว่าการใช้ BUS ร่วมกับ DOM เหมาะสมในการเพาะพันธุ์ปลาสายยูมากที่สุด

คำสำคัญ : ฮอร์โมน การตกไข่ ปลาสายยู

EFFECT OF VARIOUS TYPES OF HORMONE ON INDUCED SPAWNING OF SNAIL EATER (*Pangasius conchophilus* Roberts & Vidthayanon, 1991)

Sujittra Sahatnarepaipong
Inland Fisheries Research and Development Bureau, Kasetsart, Jatujak, Bangkok 10900
Sombut Singsee
Pin Polachai
Nakornpanom Inland Fisheries Station, Amphoe Mueang Nakornpanom, 48000
Malai Imsilp
Petchaburi Inland Fisheries Research and Development, Amphoe Thayang Petchaburi, 76130

ABSTRACT

Study on effect of various types of hormone on induced ovulation of the snail eater (*Pangasius conchophilus*) was conducted at Nakhon Phanom Inland Fisheries Station in order to compare the effectiveness of various hormones on fertilization rate, hatching rate and survival rate of *P. conchophilus.* Mature female fish were divided into 3 groups and were injected with human chorionic gonadotropin (HCG), pituitary gland (PG) and buserelin acetate (BUS) in combination with domperidone (DOM). Males were injected with BUS 10 µg/kg in combination with DOM 10 mg/kg. The number of fish that ovulated in each group, latency period, fertilization rate, hatching rate and number of larvae per kilogram were recorded. The results showed that all types of hormone were equally effective on induced ovulation in *P. conchophilus*. The latency period of group injected with HCG was significantly shorter than those of PG and BUS in combination with DOM treated groups. The fertilization rate, hatching rate and number of larvae per kilogram in all groups were not significantly different ($p>0.05$) which were 93.35±1.46, 65.72±20.60, 61.19±26.56 %, 70.33±6.05, 32.33±21.76, 33.90±39.32 % and 69,164.93±26,977.44, 19,825.94±27,078.44 and 38,471.60±57,800.13 larvae per kilogram respectively. However, when cost is considered, it is recommended to use BUS in combination with DOM for induce ovulation of *Pangasius conchophilus.*

Key words: Hormone, induced spawning, *Pangasius conchophilus*

คำนำ

ปลาสายยู (*Pangasius conchophilus* Roberts and Vidthayanon, 1991) จัดอยู่ในจำพวกปลา catfish พบมากในแม่น้ำโขงและแม่น้ำเจ้าพระยา (Tyson and Vidthayanon, 1991) แต่จะพบในแม่น้ำโขงมากกว่า จะจับได้ในช่วงฤดูฝน คือ ระหว่างเดือน พฤษภาคมถึงมิถุนายนของทุกปี ปัจจุบันชาวบ้านนิยมรวบรวมลูกปลาจากธรรมชาติ นำมาเลี้ยงในกระชังบริเวณริมน้ำโขง เนื้อมีรสชาติดี ตลาดต้องการราคาจึงค่อนข้างสูง ปัจจุบันราคากิโลกรัมละ 50-120 บาท

ปลาสายยูในแม่น้ำโขงอำเภอศรีเชียงใหม่มีไข่แก่และน้ำเชื้อดีในเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม เมื่อนำมาฉีดเร่งด้วยต่อมใต้สมองของปลาหัวโต ผสมกับ HCG ไข่สามารถรีดออกมาผสมได้ภายใน 6 ชั่วโมง หลังจากฉีดเข็มที่ 3 (ณรงค์, 2529) ส่วนวิศณุพรและคณะ (2537) เพาะพันธุ์ปลาสายยูโดยวิธีฉีดฮอร์โมนผสมเทียมเพื่อเร่งให้แม่ปลาตกไข่ โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ พบว่าการใช้ฮอร์โมนร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ ฉีดให้กับแม่ปลาครั้งเดียวในอัตรา Suprefact 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ผสมกับโมทิเลี่ยม 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แม่ปลาตกไข่หลังจากการฉีดฮอร์โมนไปแล้วเป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง และการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ ฉีดให้กับแม่ปลาสองครั้ง ในอัตรา ครั้งที่ 1 Suprefact 5-10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ผสมกับโมทิเลี่ยม 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่ 2 Suprefact 15-20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ผสมกับโมทิเลี่ยม 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แม่ปลาจะตกไข่ในระยะเวลา 4-7 ชั่วโมง ไข่ปลาสายยูจะฟักออกเป็นตัว ระยะเวลา 24-25 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียส จากการศึกษาของณรงค์ (2529) พบว่าแม่ปลาสายยู น้ำหนัก 2.2 กิโลกรัม ความยาว 58 เซนติเมตร น้ำหนักรังไข่ประมาณ 450 กรัมมีไข่ประมาณ 380,000 ฟอง ไข่ปลาสายยูเมื่อแก่เต็มที่มีลักษณะกลม เล็ก และมีสีเหลือง เส้นผ่านศูนย์กลางวัดได้ประมาณ 1 มิลลิเมตร เมื่อโดนน้ำจะพองเล็กน้อย จมน้ำและติดกับวัตถุต่าง ๆ

สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครพนมได้รวบรวมพ่อ-แม่พันธุ์ปลาจากธรรมชาติ และนำมาเลี้ยงในบ่อดินจนปลาสามารถมีไข่และน้ำเชื้อสมบูรณ์ จึงได้ทำการศึกษาค้นคว้าหาแนวทางในการเพาะขยายพันธุ์โดยการฉีดด้วยฮอร์โมนสกัด ต่อมใต้สมอง และฮอร์โมนสังเคราะห์ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นประโยชน์ และเป็นแนวทางในการขยายการเลี้ยงปลาชนิดนี้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของฮอร์โมน Human Chorionic Gonadotropin (HCG), ต่อมใต้สมอง และ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับ domperidone (DOM) ต่อการตกไข่ อัตราปฏิสนธิ อัตราฟักของไข่ และจำนวนลูกปลาเฉลี่ย/แม่พันธุ์ปลาน้ำหนัก 1 กิโลกรัม

2. เพื่อทราบพัฒนาการของคัพภะปลาสายยู

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการศึกษา

การศึกษาผลของฮอร์โมนต่างชนิดที่มีผลต่อการตกไข่ปลาสายยู ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด completely randomized design (CRD) ประกอบด้วย 3 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสกัด (human chorionic gonadotropic, HCG) อัตรา 800 IU ต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดกระตุ้นด้วยสารสกัดจากต่อมใต้สมอง (pituitary gland extract, PG) อัตรา 4 โดส

ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) อัตรา 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ทดลองที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครพนมระหว่างเดือน เมษายน-สิงหาคม 2546

2. อุปกรณ์

2.1 พ่อแม่พันธุ์ปลาทดลอง

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาสายยูขนาด 0.8 ถึง 2 กิโลกรัม จากแม่น้ำโขงในระหว่างเดือนเมษายน 2546 จำนวน 50 คู่ นำมาเลี้ยงในบ่อดินขนาด 1,600 ตารางเมตร น้ำลึก 1.5 เมตร โดยใช้วิธีการเลี้ยงแบบรวมเพศ ให้อาหารผสมประกอบด้วยปลาป่น 7 ส่วนและรำ 3 ส่วน (โปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์) แล้วอัดเป็นเม็ดเพื่อเก็บไว้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาวันละ 1 ครั้ง ในอัตรา 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ในระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน 2546 เปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อสัปดาห์ละครั้งประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของบ่อ และเพิ่มขึ้นเป็นสัปดาห์ละสองครั้งในเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม เดือนกรกฎาคมเริ่มตรวจสอบความสมบูรณ์เพศ

2.2 ฮอร์โมน

2.2.1 ฮอร์โมนสกัด human chorionic gonadotropin (HCG) ขนาดบรรจุ 5,000 IU ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1,000 IU ต่อมิลลิลิตร

2.2.2 ฮอร์โมนสด จากต่อมใต้สมองของปลาไน โดยเก็บจากปลาไนสมบูรณ์เพศ ก่อนทำการฉีดปลาประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาไว้ในอะซีโตน โดยก่อนนำไปใช้ต้องบดต่อมใต้สมองให้ละเอียดด้วย Homogenizer แล้วผสมกับน้ำกลั่น

2.2.3 ฮอร์โมนสังเคราะห์ Buserelin acetate (BUS) เป็น luteinizing hormone releasing hormone analogue (LHRHa) มีชื่อการค้าว่า suprefact เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 100 มคก./มล.และเก็บไว้ในตู้เย็น ซึ่งต้องใช้ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) มีชื่อการค้าว่า (motilium) อัตรา 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยบดให้ละเอียดก่อนละลายในน้ำกลั่นเป็นสารละลายเดียวกัน

3. วิธีทดลอง

3.1 วิธีการฉีดฮอร์โมน

คัดเลือกแม่พันธุ์ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศ โดยการใช้ flexible catheter ดูดไข่ และนำไข่มาวัดขนาดด้วยเวอร์เนียมิเตอร์ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ไม่ต่ำกว่า 1.3 มิลลิเมตร (Cacot, 1999 และ Tuan, 1999) พ่อพันธุ์ปลาเมื่อบีบบริเวณช่องเพศเบา ๆ จะมีน้ำเชื้อสีขาวขุ่นไหลออกมา จากนั้นฉีดฮอร์โมนสกัด (HCG), ฮอร์โมนสดจากต่อมใต้สมองปลาและฮอร์โมนสังเคราะห์ (BUS)ให้แก่แม่พันธุ์ปลาสายยูซ้ำละ 1 ตัว ตามแผนการทดลองที่กำหนด โดยแบ่งฉีด 2 ครั้งระยะห่าง 8 ชั่วโมง ความเข้มข้นดังนี้ HCG ครั้งแรก 300 IU/กิโลกรัม ครั้งที่ 2 500 IU/กิโลกรัม, ต่อมใต้สมองครั้งแรก 1 โดส ครั้งที่ 2 3 โดส และ BUS ครั้งแรก 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ครั้งที่ 2 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal) มีการปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมแม่ปลา

ส่วนพ่อพันธุ์ปลาใช้ซ้ำละ 3 ตัวฉีดด้วย BUS เข้มข้น 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัมร่วมกับ DOM เข้มข้น 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พร้อมกับการฉีดแม่พันธุ์ครั้งที่ 2 หลังจากนั้นแยกพักปลาพ่อแม่พันธุ์ในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 2 ตัน ที่มีน้ำไหลผ่านและให้อากาศตลอดเวลา โดยแยกใส่แม่พันธุ์ปลาชุดการทดลองละหนึ่งถัง ตรวจสอบความพร้อมของแม่พันธุ์ภายหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สองไปแล้ว 4 ชั่วโมง โดยสังเกตการว่ายน้ำของแม่ปลา บันทึกระยะเวลาตกไข่แล้วรีดไข่ผสมกับน้ำเชื้อโดยแยกไข่ของแม่พันธุ์ปลาแต่ละตัวผสมกับน้ำเชื้อรวมของพ่อพันธุ์ปลา 3 ตัว ใช้วิธีผสมแบบแห้ง บันทึกน้ำหนักไข่ปลาทั้งหมดที่รีดได้พร้อมทั้งสุ่มชั่งน้ำหนักนับจำนวนไข่ปลาสายยูประมาณ 1 กรัม จำนวน 3 ครั้ง เพื่อใช้คำนวณหาจำนวนไข่ทั้งหมด จากนั้นนำไข่ที่ผสมแล้วไปคลุกกับน้ำโคลนเพื่อลดความเหนียวของไข่ แล้วนำไข่ปลาไปฟักในกรวยอัตรา 10,000 ฟองต่อลิตร มีระบบน้ำไหลผ่านตลอด เมื่อไข่ปลาสายยูพัฒนาถึงระยะแกสตุล่าขั้นสุดท้าย (6 ชั่วโมง 30 นาที) จึงตรวจนับจำนวนไข่ดีและไข่เสียเพื่อใช้คำนวณอัตราปฏิสนธิ (fertilization rate) เมื่อไข่ปลาสายยูฟักออกมาเป็นตัว (36 ชั่วโมง 09 นาที) จึงตรวจนับจำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว เพื่อคำนวณอัตราฟัก (hatching rate)

3.2 ศึกษาพัฒนาการของคัพภะปลาสายยู

นำไข่ที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อแล้วมาศึกษาพัฒนาการของคัพภะโดยศึกษาภายใต้กล้อง stereo microscope กำลังขยาย 70 เท่า บันทึกภาพพัฒนาการของคัพภะตามขั้นตอนต่างๆ จนฟักออกเป็นตัว

3.3 ตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการฟักไข่ปลา ดังนี้

3.3.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen) วัดโดยใช้เครื่องวัด YSI model 52

3.3.2 อุณหภูมิของน้ำ วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

3.3.3 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) วัดด้วย pH meter ยี่ห้อ Checker รุ่น HI 1332

3.3.4 ความกระด้างของน้ำ (hardness) ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1980)

3.3.5 ความเป็นด่าง (alkalinity) ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1980)

3.3.6 แอมโมเนีย (NH_3) ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1980)

3.4 ต้นทุนฮอร์โมนและสารสกัดจากต่อมใต้สมองเฉลี่ยต่อแม่พันธุ์น้ำหนัก 1 กิโลกรัม คำนวนจากปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้และราคาต่อหน่วยของฮอร์โมน

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบจำนวนแม่ปลาที่ตกไข่ในแต่ละชุดการทดลองโดยวิธี Fisher' exact probability test ($p<0.05$) ระยะเวลาที่ตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 2, อัตราปฏิสนธิ, อัตราฟัก และจำนวนลูกปลาเฉลี่ยต่อแม่ปลา 1 กิโลกรัม ด้วยวิธี Tukey's test ($p<0.05$) ภายหลังการแปลงข้อมูลที่เป็นเปอร์เซ็นต์ด้วยวิธี angular transformation วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม Systat for Windows version 5.0

ผลการศึกษา

1.การฉีดฮอร์โมน

การฉีดฮอร์โมนตามแผนการทดลองมีผลให้แม่พันธุ์ปลาสายยูตกไข่ชุดการทดลองละ 3 ตัวโดยสามารถรีดไข่ได้ภายหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 2 ในเวลาที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ แม่พันธุ์ปลาที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสกัด human chorionic gonadotropin (HCG) สามารถตกไข่เร็วที่สุดที่เวลา 4.21±0.09 ชั่วโมง ตามด้วยแม่พันธุ์ปลาที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ที่เวลา 8.57±1.18 ชั่วโมง และแม่พันธุ์ปลาที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสดจากต่อมใต้สมอง (pituitary gland extract, PG) ที่เวลา 10.37±2.76 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) สำหรับอัตราปฏิสนธิเฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลาในแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่า 93.35±1.46, 65.72±20.60 และ 61.19±26.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนอัตราฟักไข่เฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลาในแต่ละชุดการทดลองไม่

แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่า 70.33±6.05, 32.33±21.76 และ 33.90±39.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จำนวนลูกปลาเฉลี่ยต่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหนัก 1 กิโลกรัมของแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่า 69,164.93±26,977.44, 19,825.94±27,078.44 และ 38,471.60±57,800.13 ตัวต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักแม่ปลาปลาสายยู, ระยะเวลาที่ตกไข่, อัตราปฏิสนธิ, อัตราฟัก และ จำนวนลูกปลาต่อแม่ปลา 1 กิโลกรัม ของแม่พันธุ์ปลาที่ฉีดด้วยฮอร์โมนต่างกัน

ชุดการทดลอง	จำนวนแม่ปลา (ตัว)	น้ำหนักแม่พันธุ์ปลาเฉลี่ย (กิโลกรัม)	จำนวนแม่ปลาที่ตกไข่ (ตัว)	ระยะเวลาที่ตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมน ครั้งที่ 2(ชั่วโมง)	อัตราปฏิสนธิ (%)	อัตราฟัก (%)	จำนวนลูกปลาเฉลี่ยต่อแม่ปลา 1 กิโลกรัม (ตัว)
HCG	5	2.06±0.58	3	4.21±0.09[c]	93.35±1.46	70.33±6.05	69,164.93 ±26,977.44
PG	5	2.10±0.28	3	10.37±2.76[a]	65.72±20.60	32.33±21.76	19,825.94 ±27,078.44
BUS+ DOM	5	2.16±0.47	3	8.57±1.18[b]	61.19±26.56	33.90±39.32	38,471.60 ±57,800.13

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. พัฒนาการของคัพภะ

2.1 ระยะการปฏิสนธิ (fertilized eggs stage) เกิดขึ้นหลังจากที่ไข่ปลาสายยูได้รับการผสม 5 นาที ไข่มีลักษณะกลมสีน้ำตาล (รูปที่ 1 ก.)

2.2 ระยะแบ่งตัวของไซโกท (cleavage stage)

- first cleavage stage (2 cell) เกิดในเวลา 35 นาที มีการแบ่งเซลล์บลาสโตดิสต์ออกเป็นเซลล์บลาสโตเมียร์ 2 เซลล์ (รูปที่ 1 ข.)

- second cleavage stage (4 cell) เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 01 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สองได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 4 เซลล์ (รูปที่ 1 ค.)

- third cleavage stage (8 cell) เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 11 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สามได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 8 เซลล์ (รูปที่ 1 ง.)

- fourth cleavage stage (16 cell) เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 20 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สี่ ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 16 เซลล์ (รูปที่ 1 จ.)

- fifth cleavage stage (32 cell) เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 32 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่ห้า ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 32 เซลล์ (รูปที่ 1 ฉ.)

- morula เกิดในเวลา 2 ชั่วโมง 35 นาที มีการแบ่งเซลล์ที่มีขนาดไม่สม่ำเสมอต่อไปเรื่อย ๆ ได้เซลล์จำนวนมากและเบียดกันหนาแน่นเป็นระยะสุดท้ายของคลีเวจ (รูปที่ 1 ช.)

2.3 blastula เกิดช่อง blastocoel เวลา 3 ชั่วโมง 49 นาที (รูปที่ 1 ซ.)

2.4 ระยะแกสตรูลา (gastrula stage) เริ่มระยะแรกของแกสตรูลาด้านบนของบลาสโตพอร์ เป็นจุดเริ่มต้นของการเคลื่อนที่ของเซลล์แบบอินวาจิเนชั่น (invagination) มีการจัดเซลล์ให้เป็นเนื้อเยื่อชั้นต่าง ๆ เกิดช่องว่างแกสโตรซีล ซึ่งต่อไปเจริญเป็นทางเดินอาหาร ส่วนบลาสโตรซีลซึ่งเป็นช่องที่เกิดก่อนถูกดันหายไป ระยะสุดท้ายของแกสตรูลา (late gastrula stage) เกิดในเวลา 6 ชั่วโมง 30 นาที เห็นจุดที่เป็นกระจุกไข่แดง (yolk plug) เป็นจุดที่จะเจริญเป็นทวารหนักในระยะต่อไป (รูปที่ 1 ฌ.)

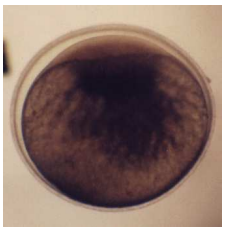
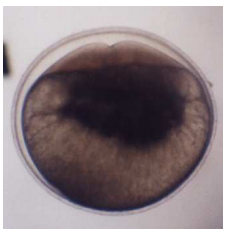
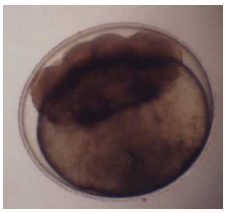
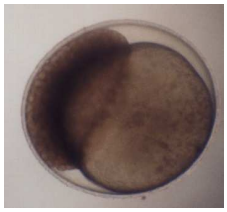
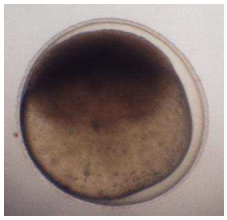
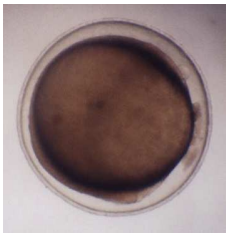
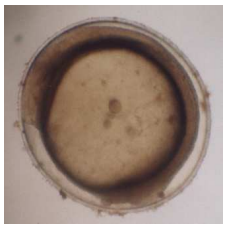
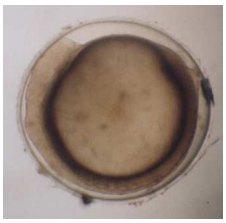
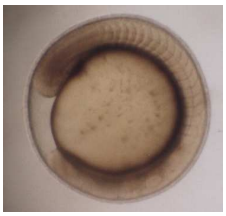
2.5 ระยะเกิดระบบประสาทและปุ่มหาง (head bud and tailed bud stage) กลุ่มของเนื้อเยื่อจับกลุ่มเป็นอวัยวะต่างๆ ตามตำแหน่งของมัน รวมตัวเริ่มทำงานประสานกัน เริ่มเกิดปุ่มที่พัฒนาเป็นหางของตัวอ่อน เกิดในเวลา 8 ชั่วโมง 30 นาที (รูปที่ 1 ญ.)

2.6 ระยะเกิดระบบประสาทตา (optic bud) เนื้อเยื่อเอคโตเดิร์มเริ่มต้นพัฒนาไปเป็นระบบประสาท และระบบห่อหุ้มร่างกาย เวลา 9 ชั่วโมง 50 นาที (รูปที่ 1 ฎ.)

2.7 ระยะกล้ามเนื้อเคลื่อนไหว (somite) เริ่มพัฒนาระบบกล้ามเนื้อเกิดในเวลา 11 ชั่วโมง หางของตัวอ่อนยืดยาวขึ้น กล้ามเนื้อเริ่มมีการเคลื่อนไหว (รูปที่ 1 ฏ.)

2.8 ระยะหัวใจเริ่มเต้น (heart formation) หัวใจของตัวอ่อนเริ่มทำงาน เริ่มระบบหมุนเวียนของเลือด และเห็นปุ่มที่พัฒนาเป็นซี่เหงือก (gill bud) เกิดในเวลา 15 ชั่วโมง 02 นาที (รูปที่ 1 ฐ.)

2.9 ระยะฟักเป็นตัว (hatch-out) หางของตัวอ่อนยืดยาวมากขึ้นและเคลื่อนไหวเร็วขึ้นดันให้เปลือกไข่แตกออก ตัวอ่อนฟักออกเป็นตัวในเวลา 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 25.8 – 27.1 องศาเซลเซียส เริ่มการทำงานของระบบหายใจ (รูปที่ 1 ฑ.)

 ก. Fertilized egg 5 นาที (X 70)	 ข. 2 cells 35 นาที (X 70)	 ค. 4 cells 1 ชั่วโมง 01 นาที (X 70)	 ง. 8 cells 1 ชั่วโมง 11 นาที (X 70)
 จ. 16 cells 1 ชั่วโมง 20 นาที (X 70)	 ฉ. 32 cells 1 ชั่วโมง 32 นาที (X 70)	 ช. morula 2 ชั่วโมง 35 นาที (X 70)	 ซ. blastula 3 ชั่วโมง 49 นาที (X 70)
 ฌ. late gastrula 6 ชั่วโมง 30 นาที (X 70)	 ญ. head bud and tailed bud 8 ชั่วโมง 30 นาที (X 70)	 ฎ. optic bud 9 ชั่วโมง 50 นาที (X 70)	 ฏ. somite 11 ชั่วโมง (X 70)
 ฐ. heart formation 15 ชั่วโมง 02 นาที (X 70)	 ฑ. hatch-out 36 ชั่วโมง (X 50)		

รูปที่ 1 พัฒนาการของคัพภะปลาสายยู

3. คุณสมบัติของน้ำ

คุณสมบัติของน้ำในระหว่างการฟักไข่ปลาแสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยพบว่าค่าพิสัยของคุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการทดลองมีค่า DO 4.0–5.6 มก./ลิตร, อุณหภูมิ 25.8–27.1 องศาเซลเซียส, pH 6.46–7.53, ความกระด้าง 55–75 มก./ลิตร, ความเป็นด่าง 51–75 มก./ลิตร และ แอมโมเนีย (NH_3) 0-0.01 มก./ลิตร

ตารางที่ 2 ค่าพิสัยของคุณสมบัติของน้ำในการฟักไข่ปลาสายยูที่เพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนต่างกัน

คุณสมบัติของน้ำ	ชุดการทดลองที่ 1 HCG	ชุดการทดลองที่ 2 PG	ชุดการทดลองที่ 3 BUS
DO (มก./ลิตร)	4.4–5.1	4.0–5.1	4.1-5.6
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25.8–27.1	25.8–27.1	25.8–27.1
pH	6.46–7.53	6.50–7.51	6.46–7.53
ความกระด้าง (มก./ลิตร)	55–75	55–75	55–75
ความเป็นด่าง (มก./ลิตร)	51–75	51–75	51–75
NH_3 (มก./ลิตร)	0.0–0.01	0.0–0.01	0.0–0.01

4.ต้นทุนการใช้ฮอร์โมน

การใช้ BUS ร่วมกับ DOM มีต้นทุนต่ำที่สุด 9.58 บาทต่อกิโลกรัม, ตามด้วยการใช้ต่อมใต้สมอง 30 บาทต่อกิโลกรัม และการใช้ HCG มีต้นทุนสูงที่สุด 88 บาทต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ต้นทุนค่าฮอร์โมนที่ใช้ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม

รายการ	ชุดการทดลองที่ 1 ฉีด HCG	ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดต่อมใต้สมอง	ชุดการทดลองที่ 3 ฉีด BUSร่วมกับ DOM
ราคาฮอร์โมนต่อหน่วย	0.11 (บาท/IU)	7.50 (บาท/กก.)	0.186 (บาท/มคก.)
ปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้ต่อแม่พันธุ์ 1 กก.	800 IU	4 โดส	30 มคก.+10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
ราคาฮอร์โมนต่อแม่พันธุ์ 1 กก. (บาท)	88	30	5.58

ราคา DOM ต่อแม่พันธุ์ 1 กก. (บาท)	0	0	4
รวมราคาฮอร์โมนสุทธิต่อแม่พันธุ์ 1 กก.(บาท)	88	30	9.58

สรุปและวิจารณ์ผล

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมน HCG 800 IU/กก. ต่อมใต้สมอง 4 โดส หรือ BUS 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัมร่วมกับ DOM 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้แม่ปลาสายยูตกไข่ได้ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาจากจำนวนแม่ปลาที่ตกไข่ และสอดคล้องกับการศึกษาในปลาโมง *(Pangasius bocourti)* ที่พบว่าทั้ง HCG, ต่อมใต้สมอง และ BUS ร่วมกับ DOM สามารถกระตุ้นให้ปลาโมงตกไข่ได้ไม่แตกต่างกัน (เจริญและสมบัติ, 2547)

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่แม่ปลาตกไข่ พบว่าแม่ปลาที่ฉีดด้วย HCG ตกไข่เร็วกว่าแม่ปลาชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนเข็มที่ 2 ไปแล้ว 4.21±0.09 ชั่วโมง (12.21 ชั่วโมงหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 1) ในขณะที่แม่ปลาที่ฉีด BUS ร่วมกับ DOM ตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนเข็มที่ 2 ไปแล้ว 8.57±1.18 ชั่วโมง (16.57 ชั่วโมงหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 1) ส่วนแม่ปลาที่ฉีดด้วยต่อมใต้สมองใช้เวลานานที่สุด ($p<0.05$) โดยตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนเข็มที่ 2 ไปแล้ว 10.37±2.76 ชั่วโมง (18.37 ชั่วโมงหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 1) แตกต่างจาก เจริญและสมบัติ (2547) ที่พบว่าแม่ปลาโมงที่ฉีดกระตุ้นด้วย HCG, ต่อมใต้สมองและ BUS ร่วมกับ DOM ใช้เวลาตกไข่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 19.50±3.41, 16.50±0.17 และ 19.00±3.55 ชั่วโมง ตามลำดับ และผลการฉีดด้วย BUS ร่วมกับ DOM ให้ผลใกล้เคียงกับการเพาะพันธุ์ปลาสายยูของ วิศณุพรและคณะ (2537) ด้วยการฉีด BUS 10 มคก./กก.+DOM 10 มก./กก. ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมงแล้วฉีดอีกครั้งด้วย BUS 20 มคก./กก.+DOM 10 มก./กก. ทำให้แม่ปลาสายยูตกไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 2ไปแล้ว 4-7.40 ชั่วโมง

อัตราปฏิสนธิมีค่าเท่ากับ 93.35±1.46, 65.72±20.60 และ 61.19±26.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีอัตราการฟักเท่ากับ 70.33±6.05, 32.33±21.76 และ 33.90±39.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และให้ผลเช่นเดียวกับปลาโมง (Tuan, 1999; ชัยศิริและวิวัฒน์, 2538), ปลาดุกอุยเทศ (คีรีและดวงแข, 2544), ปลาตะเพียนขาว (นฤพลและวัฒนะ, 2531; สุพรและยอดรักษ์, 2535; สุจินต์และคณะ, 2535) ปลายี่สกเทศ (สุพรและยอดรักษ์, 2535; สุจินต์และคณะ, 2535) ปลานวลจันทร์เทศ (สุพรและยอดรักษ์, 2535) และปลาไน (Kulikovsky *et al*., 1995) ที่พบว่าอัตราปฏิสนธิและอัตราการฟักของไข่ปลาที่มาจากการฉีดกระตุ้นแม่ปลาด้วย HCG, ต่อมใต้สมอง หรือ BUS ร่วมกับ DOM มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คัพภะปลาสายยูใช้เวลาในการพัฒนาจนถึงระยะ gastrula ซึ่งเป็นระยะที่แสดงว่าไข่ปลาสายยูได้รับการผสม 6 ชั่วโมง 30 นาที และ ใช้เวลาในการพัฒนาจนฟักออกเป็นตัว 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 25.8 – 27.1 องศาเซลเซียส ซึ่งช้ากว่าการเพาะพันธุ์ปลาสายยูของ วิศณุพรและคณะ (2537) ที่พบว่าปลาสายยูใช้เวลาในการฟักเป็นตัว 24-25 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 28 องศาเซลเซียส

คุณสมบัติของน้ำในระหว่างการฟักไข่และการอนุบาลลูกปลาในทุกชุดการทดลองมีค่าพิสัยใกล้เคียงกัน และอยู่ในช่วงที่เหมาะสมของสัตว์น้ำจืด ตามที่รายงานไว้โดยไมตรี (2530)

ต้นทุนของฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาสายยู 1 กิโลกรัม พบว่าการใช้ BUS ร่วมกับ DOM มีต้นทุนต่ำที่สุด โดยมีต้นทุนเพียง 9.58 บาท ในขณะที่การใช้ HCG มีต้นทุนสูงที่สุดถึง 88 บาท

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองทั้งหมดแล้วพบว่าการใช้ BUS ร่วมกับ DOM มีความเหมาะสมในการเพาะพันธุ์ปลาสายยูมากที่สุด โดยมีผลให้อัตราฟัก อัตราปฏิสนธิ และจำนวนลูกปลาเฉลี่ยต่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหนัก 1 กิโลกรัมไม่แตกต่างกับการใช้ HCG แต่มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าถึง 9.18 เท่า

เอกสารอ้างอิง

คีรี กออนันตกุล และ ดวงแข อังศุภานิช. 2544. ผลของการเพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์และการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองต่อการเพาะเลี้ยงปลาดุกเทศ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2544. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 16 หน้า.

เจริญ อุดมการ และ สมบัติ สิงห์สี. 2547. ผลของฮอร์โมนและต่อมใต้สมองต่อการตกไข่ปลาโมง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 25/2547. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 14 หน้า.

ชัยศิริ ศิริกุล และ วิวัฒน์ ปรารมภ์. 2538. การเพาะและอนุบาลลูกปลาโมง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 23/2538 . สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงราย, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. กรุงเทพฯ. 82 หน้า.

ณรงค์ วีระไวทยะ. 2529. การผสมเทียมปลาเผาะโดยวิธีฉีดฮอร์โมน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2529. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดหนองคาย.กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. กรุงเทพฯ. 11 หน้า.

นฤพล สุขุมาสวิน และ วัฒนะ ลีลาภัทร. 2531. การใช้ Gonadotropin releasing hormone analogue ร่วมกับ DOM สำหรับเพาะพันธุ์ปลาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. NFP/TECH REPORT-15, 31 หน้า.

วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์, สมนึก คงทรัตน์, อนันต์ เหล่าแช่ม และ มนัส จันทสูตร. 2537. การเพาะพันธุ์ปลาสายยู. เอกสารวิชาการฉบับที่ 28/2537. ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลก, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. กรุงเทพฯ. 15 หน้า.

สุจินต์ หนูขวัญ, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และ อภิรัตนา คุ้มเณร. 2535. การเปรียบเทียบฮอร์โมนสังเคราะห์กับต่อมใต้สมองปลาในการเพาะขยายพันธุ์ปลาน้ำจืด. รายงานสัมมนาวิชาการประจำปี 2535. กรมประมง. หน้า 28-34.

สุพร สุทธานุรักษ์ และ ยอดรักษ์ ปลอดอ่อน. 2535. การเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRH-A) และฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง (Pituitary Gland) ในการผสมเทียมปลา. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดร้อยเอ็ด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 36 หน้า.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์. 2530. เกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อการคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืด. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง. 38 หน้า.

APHA, AWWA and WPCF. 1980. Standard methods for the examination of water and waste water. 15th ed. American Public Health Publishers. New York. 1,134 pp.

Cacot, P. 1999. Etude du cycle sexuel et maitrise de la reproduction de *Pagasius bocourti* (Sauvage, 1880) et *Pangasius hypopthalmus* (Sauvage, 1878) dans le delta du Mekong au Vietnam. Doctoral thesis, University National Agronomique Paris Grignon, Paris. 216 pp.

Kulikovsky, Z., F. J. B. Martin, S. Drori and Z. Yaron. 1995. Comparison of two spawning-inducing agents on spawning and embryo viability in common carp (*Cyprinus carpio*) as practiced in commercial hatchery in Israeal. **In:** Larvi'95-Fish&shellfish larviculture symposium. P. Lavens, E. Jaspers and I Roelants (Eds) European Aquaculture Society, Special Publication. No. 24 Gent. Belgium. 562 pp.

Tuan , N. 1999. Induced breeding on *Pangasius bocourti*(Sauvage, 1880), Research institute for aquaculture No.2 (RIA.2). Vietnam. 5 pp.

Tyson, R. and C. Vidthayanon. 1991. Systematic revision of the Asian catfish family Pagasiidae, with biological observations and descriptions of three new species. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelpia **143**: 97–144.