บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. <u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาสรีรวิทยาการสืบพันธุ์เบื้องต้นของปลากระบอกหัวกลม

1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางชีววิทยาพื้นฐานของปลากระบอกหัวกลมได้ผลดังนี้

1.1.1 อัตราส่วนเพศ (sex ratio)

ปลากระบอกหัวกลมที่รวบรวมจากจุดต่าง ๆ ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในเดือนมีนาคม 2537 สามารถจำแนกเพศตามขนาดได้ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียของปลากระบอกหัวกลม

ขนาดความยาว (ซ.ม)	จำนวนปลารวม (ตัว)	จำนวนปลาเพศผู้ (ตัว)	จำนวนปลาเพศเมีย (ตัว)	อัตราส่วนเพศผู้:เพศเมีย (sex ratio)
8.1 - 9.0	5	4	1	4 : 1
9.1 - 10.0	9	7	2	3.5 : 1
10.1 - 11.0	50	32	18	1.78 : 1
11.1 - 12.0	80	55	25	2.2 : 1
12.1 - 13.0	63	38	25	1.52 : 1
13.1 - 14.0	77	43	34	1.26 : 1
14.1 - 15.0	16	1	15	0.07 : 1
รวม	300	180	120	1.5 : 1

1.1.2 ความสัมพันธ์ความยาวและน้ำหนัก (length-weight relationshop)

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรงพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักตัว ของปลากระบอกหัวกลมเพศเมียจำนวนตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์เท่ากับ 120 ตัว มีค่าเฉลี่ยความยาวเท่ากับ 13.56 และค่าเฉลี่ยน้ำหนักเท่ากับ 54.13 จากสมการการ $W = aL^b$

เมื่อ L เป็นความยาวมาตรฐาน (มิลลิเมตร) W เป็นน้ำหนัก(กรัม) a เป็นค่าคงที่ และ b เป็นค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย ดังนั้นเขียนได้ในรูปสมการคือ

$$W = 0.00024\ L^{2.5673} \qquad (p < 0.05)$$

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในปลากระบอกหัวกลมเพศผู้ จำนวนตัวอย่างทำการวิเคราะห์เท่ากับ 180 ตัว มีค่าเฉลี่ยความยาวของปลาเพศผู้เท่ากับ 13.26 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเท่ากับ 49.5 เขียนได้ในรูปสมการคือ

$$W = 0.00011\ L^{2.7062} \qquad (p < 0.05)$$

1.1.3 ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonadosomatic index, GSI%)

จากการผ่าปลากระบอกหัวกลมจำนวน 300 ตัวพบว่าเป็นปลาเพศเมีย 120 โดยเป็นปลาที่มีรังไข่อยู่ในระยะ virgin จำนวน 3 ตัว ระยะ developing จำนวน 33 ตัว ระยะ gravid จำนวน 34 ตัว ระยะ spawning จำนวน 39 ตัว และระยะ spent จำนวน 11 ตัว ปลาเพศผู้มีจำนวน 180 ตัว โดยเป็นปลาที่อัณฑะอยู่ในระยะ immature จำนวน 82 ตัว และระยะ mature จำนวน 98 ตัว ค่า GSI% ที่คำนวณได้แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลากระบอกหัวกลมเพศผู้และเพศเมียจำแนกตามระยะพัฒนาการ

ระยะปลา		ความยาว เฉลี่ย (ซม.)	น้ำหนัก เฉลี่ย (กรัม)	น้ำหนักอวัยวะสืบพันธุ์ เฉลี่ย (กรัม)	ดัชนีความสมบูรณ์เพศ เฉลี่ย (GSI%)	ขนาดไข่ เฉลี่ย (ไมครอน)
เพศเมีย	Virgin	12.40	52.23	0.214	0.4097	50
	Developing	12.50	60.47	0.768	1.2701	215
	Gravid	14.00	60.50	2.714	4.4860	350
	Spawning	13.24	59.33	3.603	6.0728	550
	Spent	13.80	53.65	0.414	0.7717	120
เพศผู้	Immature	12.25	43.20	0.173	0.4005	-
	Mature	12.23	45.87	0.580	1.2644	-

ขนาดของไข่ของปลากระบอกหัวกลมมีความแตกต่างกันในทุกระยะ ระยะ virgin มีขนาด 50 ไมครอนและจะมีขนาดใหญ่ขึ้นจนกระทั่งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโตสุดในระยะ spawning คือ 550 ไมครอน (รูปที่ 3)

1.1.4 ความดกไข่ (fecundity)

ทำการศึกษาความดกไข่ปลากระบอกหัวกลมที่มีรังไข่ ในระยะ spawning จำนวน 39 ตัว พบว่าปลากระบอกชนิดนี้มีไข่จำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อปลามีขนาดความยาวมากขึ้น โดยปลาระยะ spawning มีขนาดอยู่ระหว่าง 12.0 - 15.0 เซนติเมตร ขนาดเล็กที่สุดที่ตรวจนับความดกไข่มีขนาด 12.2 เซนติเมตร ขนาดโตที่สุดที่ทำการตรวจนับมีขนาด 15.0 เซนติเมตร ดังแสดงใน (ตารางที่ 5)

ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างความยาว (มิลลิเมตร) กับความดกไข่ (ฟอง) ได้ดังสมการ

$$F = 0.00239\ L^{3.421} \qquad (n = 39\ ,\ p < 0.05)$$

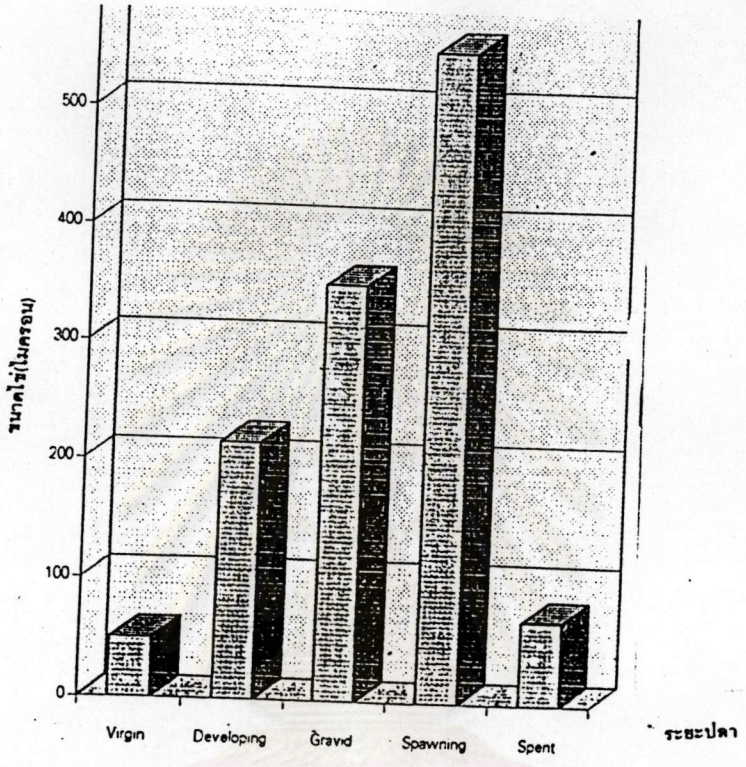
หาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนัก (กรัม) กับความดกไข่ (ฟอง) ได้ดังสมการ

$$F = 794.32\ W^{3.0830} \qquad (n = 39\ ,\ p < 0.05)$$

เมื่อ F คือความดกไข่ L คือ ความยาวมาตรฐาน W คือ น้ำหนัก

ตารางที่ 5 ขนาดและความดกไข่ของปลากระบอกหัวกลม

ขนาดความยาว (เซนติเมตร)	จำนวน(ตัว)	เส้นผ่าศูนย์กลางไข่เฉลี่ย (ไมครอน)	GSI (%)	จำนวนไข่เฉลี่ย (ฟอง)
12.1-12.5	1	575	7.187	37,062
12.6-13.0	5	596	6.6626	56,029
13.1-13.5	14	630	6.9138	57,470
13.6-14.0	7	639	6.8837	69,385
14.1-14.5	10	552	7.2979	84,072
14.6-15.0	2	662	7.823	84,470



รูปที่ 3 ขนาดไข่ของปลากระบอกหัวกลมเมื่อเทียบกับระยะปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.1.5 การเติบโตและพัฒนาการของรังไข่ปลากระบอกหัวกลม

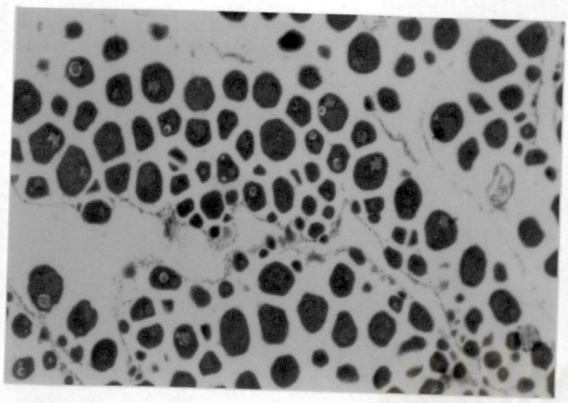
ปลากระบอกเพศเมียสามารถแบ่งรังไข่ได้เป็น 5 ระยะคือ virgin, developing, gravid, spawning และ spent เมื่อทำการวิเคราะห์เนื้อเยื่อของรังไข่พบว่าในระยะvirgin ไข่มีขนาดเล็กไม่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไข่ประมาณ 50 ไมครอน มีลักษณะทึบแสง รูปร่างเป็นเหลี่ยม ในระยะ developing มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไข่เฉลี่ยประมาณ 215 ไมครอน เห็นรังไข่มีสีส้มความยาวประมาณ 2 ใน 3 ของช่องท้องไซโตพลาสซึมมีปริมาณเพิ่มขึ้นสามารถเห็นนิวเคลียสภายในชัดเจน ลักษณะของเซลล์ไข่มีลักษณะเป็นเหลี่ยม ระยะ gavid

รังไข่ขยายเต็มช่องท้องไข่ยังยึดติดกัน เซลล์ไข่มีขนาดเฉลี่ย 350 ไมครอน เซลล์ไข่มีการขยายตัว จะเริ่มเห็น oil globules และ yolk globule กระจายในไซโตพลาสซึม ระยะ spawning ไข่มีขนาดประมาณ 550 ไมครอน มีลักษณะทึบแสงจะเห็น oil globules และ yolk globule เต็มเซลล์ไข่ แต่จะพบเซลล์ไข่ขนาดเล็กกำลังพัฒนาแทรกในรังไข่ ระยะ spent จะเห็นรังไข่แฟบสีแดงคล้ำ ภายในมีเซลล์ไข่กำลังพัฒนาขนาดเล็กกระจายทั่วรังไข่ มีคราบไขมันต่างจากระยะ virgin (รูปที่ 4)เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวลำตัวแล้วพบว่าปลาขนาด 8-10 เซนติเมตร เป็นปลาระยะ virgin ทั้งหมด และไม่พบระยะนี้อีกเมื่อปลามีขนาดโตกว่า 11 เซนติเมตร ขณะที่จะพบปลาระยะวางไข่ได้เมื่อมีขนาดไม่ต่ำกว่า 11 เซนติเมตร (รูปที่ 6)

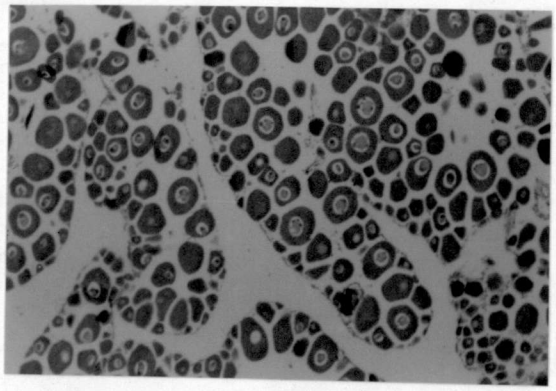
1.1.6 ความสมบูรณ์เพศของปลากระบอกหัวกลมเพศผู้

ระยะการพัฒนาถุงน้ำเชื้อ แบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือ immature จะสังเกตได้จากถุงน้ำเชื้อมีลักษณะเล็กและใสไม่สามารถรีดน้ำเชื้อ ลักษณะภายในพบสเปิร์มมีจำนวนน้อย และระยะ mature ถุงน้ำเชื้อมีขนาดใหญ่สีขาวขุ่นอาจสามารถรีดน้ำเชื้อได้ส่วนภายในพบสเปิร์มเคลื่อนไหวจำนวนมากดังจะเห็นได้ใน (รูปที่ 5) และพบว่าปลากระบอกขนาดเล็กกว่า 9 เซนติเมตร มักอยู่ในระยะ immature และเริ่มมีการพัฒนาน้ำเชื้อเมื่อมีความยาวลำตัวมากกว่า 9 เซนติเมตร นอกจากนี้ปลาขนาดโตขึ้นยังพบมีปริมาณปลาในระยะ mature มากกว่าปลาในระยะ immature ดังรูปที่ 7

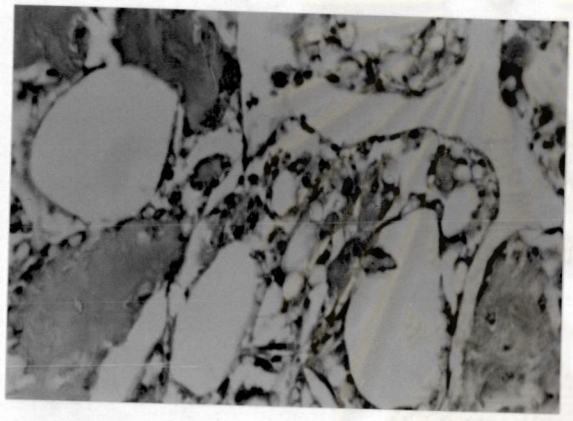
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



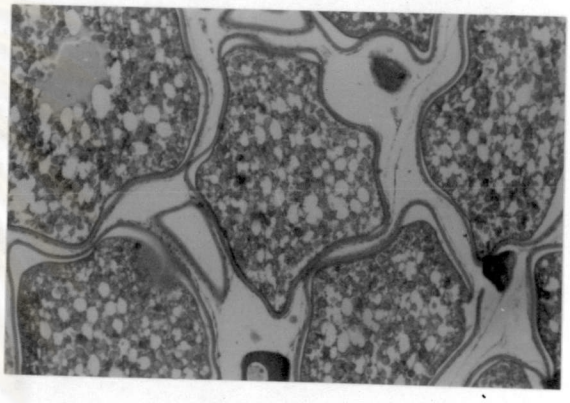
a



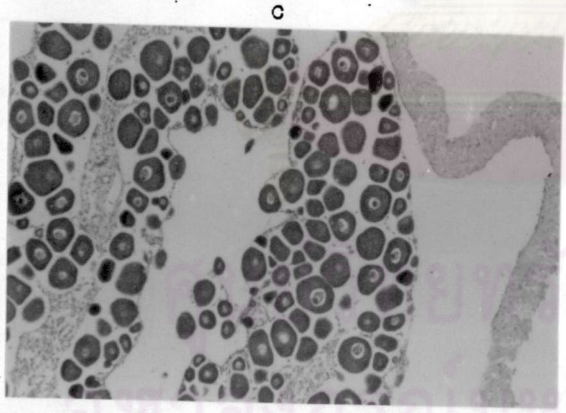
b



c



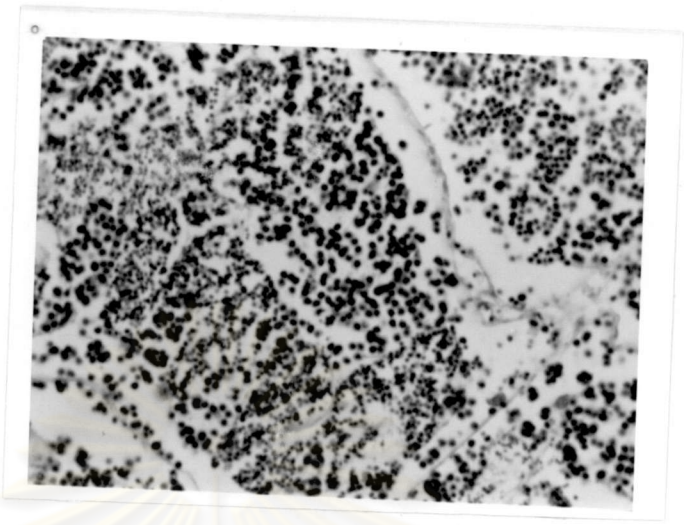
d



e

รูปที่ 4 เนื้อเยื่อเซลล์สืบพันธุ์ปลากระบอกหัวกลมเพศเมีย

a. ไข่ระยะ virgin เซลล์มีลักษณะทึบแสง (400) b. ไข่ระยะ developing เริ่มเห็นนิวเคลียสชัดเจน (x 400) c. ไข่ระยะ gravid เห็น yolk globule กระจายในไซโตพลาสซึม (x 400) d. ไข่ระยะ spawning เห็น oil globule และ yolk globule หนาแน่นภายในเซลล์รวมทั้งมีเซลล์ไข่เริ่มพัฒนากระจายทั่วไป (x 100) d. ไข่ระยะ spent เป็นระยะวางไข่ไปแล้วจะเห็นคราบไขมันในรังไข่และมีเซลล์ไข่เริ่มพัฒนาต่อ (x 100)



a

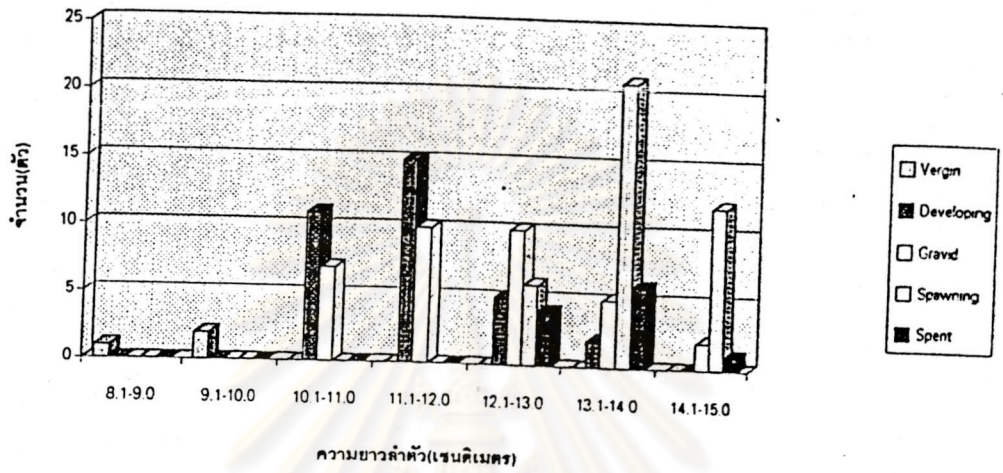
b

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

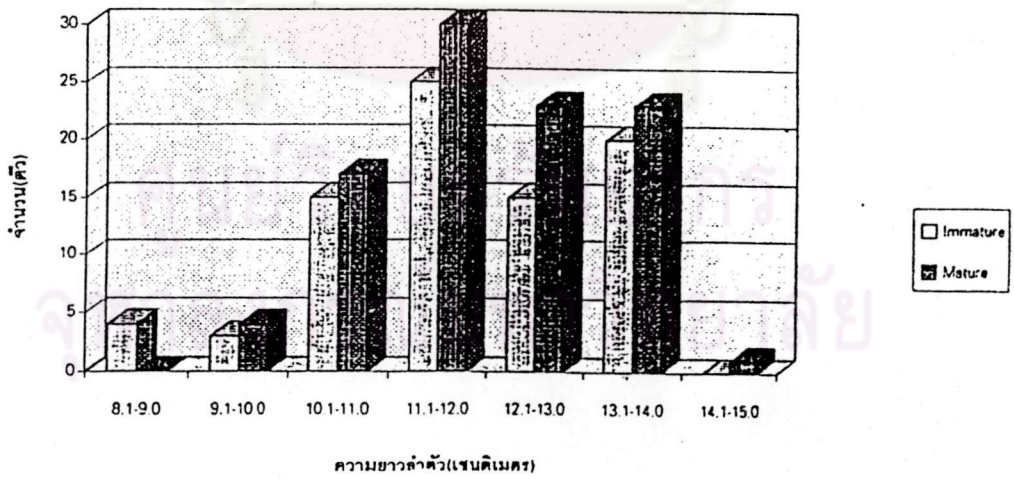
รูปที่ 5 เนื้อเยื่อเซลล์สืบพันธุ์ปลากระบอกหัวกลมเพศผู้

a. ถุงน้ำเชื้อระยะ immature ตัวอสุจิมีจำนวนน้อยส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนไหว (x 400)

b. ถุงน้ำเชื้อระยะ mature ตัวอสุจิมีจำนวนมากเคลื่อนไหวภายในถุงน้ำเชื้อพร้อมผสมกับไข่ (x 400)



รูปที่ 6 การพัฒนารังไข่ของปลากระบอกหัวกลมเพศเมียเปรียบเทียบกับความยาวลำตัว



รูปที่ 7 การพัฒนาน้ำเชื้อของปลากระบอกหัวกลมเพศผู้เปรียบเทียบกับความยาวลำตัว

1.2. ฤดูกาลวางไข่ (spawning season)

ปลากระบอกหัวกลมมีการวางไข่ตลอดปี แต่มีการวางไข่สูงสุดในเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนมีนาคม และมีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียสูงกว่า 1 ตั้งแต่เดือนตุลาคม ถึงมีนาคม โดยมีค่าสูงสุดในเดือนมกราคมและจะลดลงต่ำกว่า 1 ตั้งแต่เดือนเมษายนถึงกันยายนซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลวางไข่ (ตารางที่ 6 และ 7)

ตารางที่ 6 จำนวนปลากระบอกหัวกลมเพศผู้ต่อเพศเมียที่มีถุงน้ำเชื้อและรังไข่ในระยะต่าง ๆ ตามฤดูกาล

เดือน	เพศเมีย					เพศผู้	
	vergin	developing	gravid	spawning	spent	mature	immature
มกราคม	1	4	14	28	20	87	46
กุมภาพันธ์	0	2	18	16	19	74	71
มีนาคม	1	2	18	30	27	57	65
เมษายน	0	22	28	20	31	45	54
พฤษภาคม	0	29	36	15	19	56	45
มิถุนายน	0	33	40	18	12	38	59
กรกฎาคม	0	33	39	20	12	36	59
สิงหาคม	0	44	31	12	13	33	61
กันยายน	0	43	45	11	15	42	44
ตุลาคม	0	22	24	16	5	58	65
พฤศจิกายน	1	5	25	79	11	64	65
ธันวาคม	2	8	25	32	10	78	45

ตารางที่ 7 อัตราส่วนเพศของปลากระบอกหัวกลมในรอบปี

เดือน	จำนวนปลาเพศผู้ (ตัว)	จำนวนปลาเพศเมีย (ตัว)	อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย (sex ratio)
มกราคม	133	67	1.99 : 1
กุมภาพันธ์	127	73	1.74 : 1
มีนาคม	122	78	1.56 : 1
เมษายน	99	101	0.98 :1
พฤษภาคม	101	99	1.02 :1
มิถุนายน	97	103	0.94:1
กรกฎาคม	95	105	0.90 :1
สิงหาคม	100	100	1.00 :1
กันยายน	86	114	0.75:1
ตุลาคม	127	77	1.60:1
พฤศจิกายน	129	71	1.82:1
ธันวาคม	123	77	1.60:1

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลของฮอร์โมนบางชนิดต่อการตกไข่และการพัฒนาน้ำเชื้อของปลากระบอกหัวกลม

2.1 การทดลองกระตุ้นปลาเพศผู้ให้มีความสมบูรณ์เพศเมื่อฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ

ผลการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของปลากระบอกหัวกลมเพศผู้ด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ 17α - methyltestosterone และฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลากระบอกหัวกลมบดเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งฉีดด้วย 0.5 % ethylalcohol และชุดควบคุมซึ่งฉีดด้วย 0.9% NaCl แสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบกระตุ้นปลากระบอกหัวกลมเพศผู้ด้วยฮอร์โมนและสารละลายต่าง ๆ ในระยะเวลา 7 วันโดยใช้ดัชนีความสมบูรณ์เพศเป็นเกณฑ์

ชุดการทดลอง	ความยาว (ซ.ม)	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักถุงน้ำเชื้อ (กรัม)	ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (GSI%)
ethylalcohol	13.2	49	0.22	0.45
17 α-methyltestosterone	13.13	50.67	0.62	1.22
NaCl	13.67	51.67	0.23	0.44
pituitary gland	13.30	50.67	0.39	0.77

ชุดการทดลองที่ 1 ฉีดปลาด้วย 0.5% ethylalcohol 0.5 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 100 กรัม

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดปลาด้วย 17 α - methyltestosterone 0.1 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตัว 100 กรัม โดยละลายใน 0.5% ethylalcohol 0.5 มิลลิลิตร

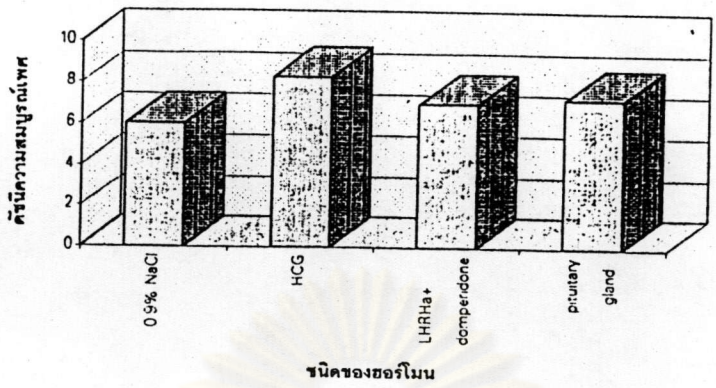
ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดปลาด้วย 0.9% NaCl 0.5 มิลลิลิตร /น้ำหนักตัว 100 กรัม

ชุดการทดลองที่ 4 ฉีดปลาด้วยต่อมใต้สมองปลากระบอกความเข้มข้น 1 โดสละลายใน 0.9% NaCl 0.5 มิลลิลิตร

ทั้งนี้พบว่ามีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ฉีดด้วย 0.5% ethylalcohol เท่ากับ 0.45 ชุดการทดลองที่ฉีดด้วย 17α - methyltestosterone เท่ากับ 1.22 ชุดการทดลองที่ฉีดด้วย 0.9% NaCl 0.5 มิลลิลิตร เท่ากับ 0.44 และต่อมใต้สมองปลากระบอกเท่ากับ 0.77 พบว่า 17α - methyltestosterone ให้ผลดีกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ส่วนต่อมใต้สมองปลากระบอกให้ผลดีกว่า 0.5% ethylalcohol และ 0.9% NaCl 0.5 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นชุดควบคุมตามลำดับ (ตารางที่ 8)

2.3 การทดสอบปลากระบอกหัวกลมเพศเมียด้วยฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ

ผลการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมนประเภทต่างๆ 3 ชนิด คือฮอร์โมนสกัด (HCG, puberogen) ฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa, suprefect) ร่วมกับ domperidone (motilium) และฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลากระบอกหัวกลมบดเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งฉีดด้วย 0.9% NaCl แสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 ผลการกระตุ้นปลากระบอกหัวกลมเพศเมียด้วยฮอร์โมนต่างชนิด

ทั้งนี้พบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศในชุดการทดลองที่ฉีดด้วย NaCl เท่ากับ 6.03 ชุดการทดลองที่ฉีดด้วย HCG เท่ากับ 8.31 ชุดการทดลองที่ฉีดด้วย LHRHa ร่วมกับ domperidone เท่ากับ 7.01 และชุดการทดลองที่ฉีดด้วยต่อมใต้สมองปลากระบอกเท่ากับ 7.25 การฉีดกระตุ้นด้วย HCG ให้ผลในการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของปลากระบอกเพศเมียดีที่สุดแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนต่อมใต้สมองปลากระบอกและ LHRHaร่วมกับ domperidone ให้ผลการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศดีกว่าชุดการทดลองที่ฉีดด้วย NaCl ซึ่งเป็นชุดควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันระหว่างต่อมใต้สมองปลากระบอกและ LHRHa ร่วมกับ domperidone

<u>การทดลองที่ 3</u> การทดลองเพาะพันธุ์ปลากระบอกหัวกลม

3.1 การเหนี่ยวนำให้พ่อแม่พันธุ์ปลาสมบูรณ์เพศ

จากผลการศึกษาสรีรวิทยาการสืบพันธุ์เบื้องต้นของปลากระบอกในเรื่องความสมบูรณ์เพศของปลา และจากตารางเปรียบเทียบขนาดและความดกไข่ของปลากระบอกหัวกลมเพศเมีย ระยะ spawning ซึ่งเป็นระยะสมบูรณ์เพศพร้อมจะสืบพันธุ์วางไข่ได้พบว่าขนาดที่เหมาะสมในการนำมาเพาะพันธุ์ คือความยาวตั้งแต่ 12.0 - 15.0 เซนติเมตร ท้องมีลักษณะบวมเป่งเกล็ด

I16998492

ใต้ท้องแยกจากกัน สำหรับปลาเพศผู้ที่เหมาะแก่การนำมาทำการเพาะพันธุ์นั้นควรอยู่ในระยะที่มีน้ำเชื้อไหลเมื่อบีบบริเวณท้องเบา ๆ หรือระยะ mature ควรมีขนาดตั้งแต่ 10.0 - 16.0 เซนติเมตร จึงทำการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ตามขนาดดังกล่าว ได้ปลาเพศเมียขนาดความยาวระหว่าง 13.2 - 13.5 เซนติเมตร จำนวน 6 ตัว ปลาเพศผู้จำนวน 18 ตัว ทำการฉีดฮอร์โมน 17 α - methyltestosterone แก่ปลาเพศผู้ทั้ง 18 ตัว ส่วนปลาเพศเมียแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว กลุ่มแรกฉีดด้วยฮอร์โมน HCG (puberogen) กลุ่มที่ 2 ไม่ใช้ฮอร์โมนในการเร่งความสมบูรณ์เพศก่อนที่จะปล่อยปลาลงในบ่อทดลองขนาด 2 ตัน โดยมีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย เท่ากับ 3 ต่อ 1 เพื่อทดลองผสมเทียมเลียนแบบธรรมชาติ ปลาทดลองกลุ่มแรกซึ่งฉีดด้วยฮอร์โมนสกัดชนิด pubergen สามารถวางไข่ในวันที่ 2 และ 3 หลังการกระตุ้น ไข่ปลากระบอกเป็นไข่ประเภทไข่ลอย รวบรวมไข่รวมได้ทั้งสิ้น 159,700 ฟอง เป็นไข่ที่ได้รับการผสม 75,500 ฟอง คิดเป็นอัตราการผสมเฉลี่ยเท่ากับ 50.64 เปอร์เซนต์ ภายหลังการฟักได้ลูกปลารวม 53,400 ตัว คิดเป็นอัตราการฟักเฉลี่ย 36.70 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 9) ปลาทดลองกลุ่มที่ 2 ซึ่งไม่ได้ฉีดฮอร์โมนกระตุ้นแก่พ่อแม่พันธุ์ปลามีความพร้อมจะผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ สามารถสืบพันธุ์วางไข่ในวันที่ 3 5 และ 9 หลังจากการปล่อยผสมตามธรรมชาติรวบรวมไข่ได้จำนวนรวม 158,150 ฟอง ไข่ได้รับการผสมรวมเท่ากับ 117,900 ฟอง คิดเป็นอัตราการผสมเฉลี่ยเท่ากับ 74.02 เปอร์เซนต์ ลูกปลาที่ฟักออกจากไข่รวม 93,250 ตัว คิดเป็นอัตราการฟักได้เท่ากับ 58.10 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 ผลการผสมเทียมตามธรรมชาติปลากระบอกหัวกลม โดยใช้ฮอร์โมนในการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศแล้วปล่อยผสมพันธุ์เลียนแบบธรรมชาติ

ลำดับที่	วันเริ่มต้นการวางไข่	จำนวนไข่รวม(ฟอง)	ไข่ดี (ฟอง)	เปอร์เซนต์ไข่ดี	ไข่เสีย (ฟอง)	เปอร์เซนต์ไข่เสีย	อัตราการฟัก (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
1	2	40,500	27,500	67.90	13,000	32.10	49.38	20,000
2	3	66,000	17,000	25.76	49,000	74.24	8.48	5,600
3	2	53,200	31,000	58.27	22,200	41.73	52.25	27,800
ค่าเฉลี่ย		53,233	25,167	50.64	28,067	49.36	36.70	17,800

ปลาเพศเมียกระตุ้นด้วยฮอร์โมนชนิด puberogen 20 IU / น้ำหนักตัว 100 กรัม ละลายใน 0.9% NaCl 0.5 มิลลิลิตร ปลาผู้กระตุ้นด้วย 17α- methyltestosterone ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม ต่อ น้ำหนักตัว 100 กรัม ละลายใน 0.5% ethylalcohol 0.5 มิลลิลิตร อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย = 3 ต่อ 1

ตารางที่ 10 ผลการผสมเทียมปลากระบอกหัวกลมโดยไม่ใช้ฮอร์โมนในการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศ

ลำดับที่	วันเริ่มต้นการวางไข่	จำนวนไข่รวม(ฟอง)	จำนวนไข่ดี(ฟอง)	เปอร์เซนต์ไข่ดี	จำนวนไข่เสีย(ฟอง)	เปอร์เซนต์ไข่เสีย	อัตราการฟัก (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
1	5	52,300	37,800	72.28	14,500	27.72	61.19	32,000
2	3	61,450	49,000	79.74	12,450	20.26	64.69	39,750
3	9	44,400	31,100	70.05	13,300	29.95	48.42	21,500
เฉลี่ย		52,717	39,300	74.02	13,417	25.98	58.10	31,083

3.2 พัฒนาการของไข่และตัวอ่อน

ไข่ดีจะมีลักษณะกลมใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไข่ประมาณ 600 - 700 ไมครอน ลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ ไข่ดีที่ได้รับการผสมจะเริ่มพัฒนาการแบ่งเซลล์ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง 25 นาที ส่วนไข่ดีที่ไม่ได้รับการผสมจากเชื้อเพศผู้ยังคงลอยอยู่บริเวณผิวน้ำแต่ไม่แบ่งเซลล์และพัฒนาตัวอ่อน จากนั้นจะค่อย ๆ ย่อยสลายมีสีคล้ำและจมลงในที่สุด ไข่เสียโดยปกติจะมีขนาดใกล้เคียงกับไข่ดี บริเวณกลางของไข่มีลักษณะขุ่น อาจมีสีคล้ายเม็ดสาคู และมีน้ำหนักมาก ส่วนใหญ่จะจมลงก้นถังสามารถแยกได้ง่ายโดยการปิดออกซิเจนในถังไข่เสียก็จะจมลงสู่ก้นถัง จากนั้นใช้วิธีการดูดออก

ไข่ที่ได้รับการผสมจะเริ่มพัฒนาแบ่งเซลล์ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง 25 นาที และสิ้นสุดการพัฒนาการของตัวอ่อนเข้าสู่ระยะฟักออกจากไข่ภายในเวลา 28 - 30 ชั่วโมง ลูกปลาที่เพิ่งออกจากไข่จะเริ่มกินอาหารในวันที่ 3 มีการพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ จนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย ใช้เวลาประมาณ 25 วัน (รูปที่ 9 และตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 พัฒนาการของไข่ที่ได้รับการผสมแล้วของปลากระบอกหัวกลมที่อุณหภูมิ 23C และความเค็ม 31 ppt

เวลา		ระยะ	การพัฒนาการ
ชั่วโมง	นาที		
0	0	ไข่หลังจากการผสม(fertilized egg)	ไข่ปลากระบอกที่ได้รับการผสมแล้ว ไซโตลาสซึมจะรวมตัวกันภายในเซลล์บริเวณที่เชื้อตัวผู้เข้ามาไซโตพลาสซึมส่วนที่จะเป็นส่วนที่มีการแยกตัว (รูปที่ 9 a)
1	20	ระยะ 2 เซลล์	มีการแบ่งเซลเป็น 2 เซลล์ บริเวณศูนย์กลางเกิด first cleavge (รูปที่ 9 a)
1	25	ระยะ 4 เซลล์	เกิด second cleavage แบ่งเซลล์ ทางด้านขวาตั้งฉากกับแนวแรกเห็นเป็น รอยตัด 2 รอยในแนวตั้งฉากกันและกัน (รูปที่ 9 b)
1	30	ระยะ 8 เซลล์	มีการแบ่งเซลล์ จาก 4 เซลล์ เป็น 8 เซลล์โดยเซลจะเรียงเป็น 2 แถว โดยการแบ่งเซลล์จะแบ่งตามแนวดิ่ง (vartical) และขนานแนวแรก (รูปที่ 9 c)
1	35	ระยะ 16 เซลล์	การแบ่งเซลล์ครั้งที่ 4 นี้จะอยู่ในแนวตั้งและขนานกับแกนยาวของ 8 เซลล์แรก ทั้งส่วนในและส่วนนอกเป็น 16 เซลล์ และจัดเรียงตัวกันในแนวขนานกับแถวของแต่ละ 4 เซลล์ (รูปที่ 9 d)
1	45	ระยะ 32 เซลล์	ในขั้นตอนนี้ การแบ่งเซลล์จะอยู่ในแนวผสมระหว่างแนวราบและแนวดิ่ง (รูปที่ 9 e)
2	10	ระยะ 64 เซลล์	เซลล์มีขนาดเล็กลงและมีการแบ่งเซลล์ต่อ (รูปที่ 9 f)
2	30	ระยะ 128 เซลล์	มีการแบ่งเซลล์เล็กลงเรื่อย ๆ และมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 64 เซลล์เป็น 128 เซลล์ (รูปที่ 9 g)
5	15	ระยะ blastula	เริ่มเกิดกระบวนการ blastulation (รูปที่ 9 h)
10	30	ระยะ gastrala	เกิดกระบวนการ emboly โดยมีการเคลื่อนตัวของเซลปุ่มหรือเว้าเข้าไปภายใน ภายในทาง blastopore การผลุบเข้าไปทำให้เกิดช่องว่างใหม่ (gastrocoel) (รูปที่ 9 i)

ตารางที่ 11 (ต่อ)

เวลา		ระยะ	การพัฒนาการ
ชั่วโมง	นาที		
20	00	ระยะพัฒนาตัวอ่อน (developing embryo)	มีการพัฒนาอวัยวะต่างๆมีถุงไข่แดง (Yolksac)ปรากฏมีหยดน้ำมันขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150-200 ไมครอน (รูปที่ 9 j, k, l)
28	30	ระยะฟักตัว (hatching)	larva เริ่มมีการฟักตัวออกจากไข่โดยจะฟักโดยเอาส่วนหัวออกก่อน (รูปที่ 9 m)
28	30	ลูกปลาเพิ่งออกจากไข่)	larva ที่ฟักตัวออกจากไข่โดยสมบูรณ์แล้ว (รูปที่ 9 n)
29	00	ลูกปลาแรกฟักด้านบน	larva ที่เพิ่งฟักออกจากไข่มี yalk sac และหยดน้ำมันขนาดใหญ่ด้านบน (รูปที่ 9 o)
29	00	ลูกปลาแรกฟักด้านข้าง	larva ที่เพิ่งฟักออกจากไข่ด้านข้าง (รูปที่ 9 p)
4 วัน		ลูกปลาอายุ 2 วัน (2-day-old larva)	ลูกปลายังไม่กินอาหาร yolk sac มีขนาดใหญ่ ปากยังไม่เปิด กำลังพัฒนาจุดตาไม่เคลื่อนที่แสดงพฤติกรรมเป็นแพลงค์ตอนลอยตัวอยู่อันเดียวกันของมวลน้ำเยื่อไขมันรอบตัวขนาดเล็กลง (รูปที่ 10 a)
6 วัน		ลูกปลาอายุ 4 วัน (4-day-old larva)	ลูกปลาเริ่มกินอาหารพวกแพลงก์ตอนพืชเซลเดียวกันเช่น *Tetraslmis sp Nanoclolosis sp* มีการพัฒนการและปากสมบูรณ์ เยื่อไขมันรอบตัวมีขนาดเล็ก yolk dac ยุบหมด เริ่มมีการพัฒนาก้านครีบ(รูปที่ 10 c)
10 วัน		ลูกปลาอายุ 8 วัน (8-day-old larva)	มีการพัฒนาครีบ ก้านครีบและมีจุดสีเกิดขึ้นตามลำตัว ยังไม่มีเกล็ด ไขมันห่อหุ้มรอบ ๆ ตัว เริ่มหายไป
27 วัน		ลูกปลาอายุ 25 วัน (25-day-old juvenile)	พัฒนาการเป็นปลากระบอกที่เหมือนตัวเต็มวัยมีเกล็ดครีบและอวัยวะทุกส่วนครบถ้วน(รูปที่ 10 d)

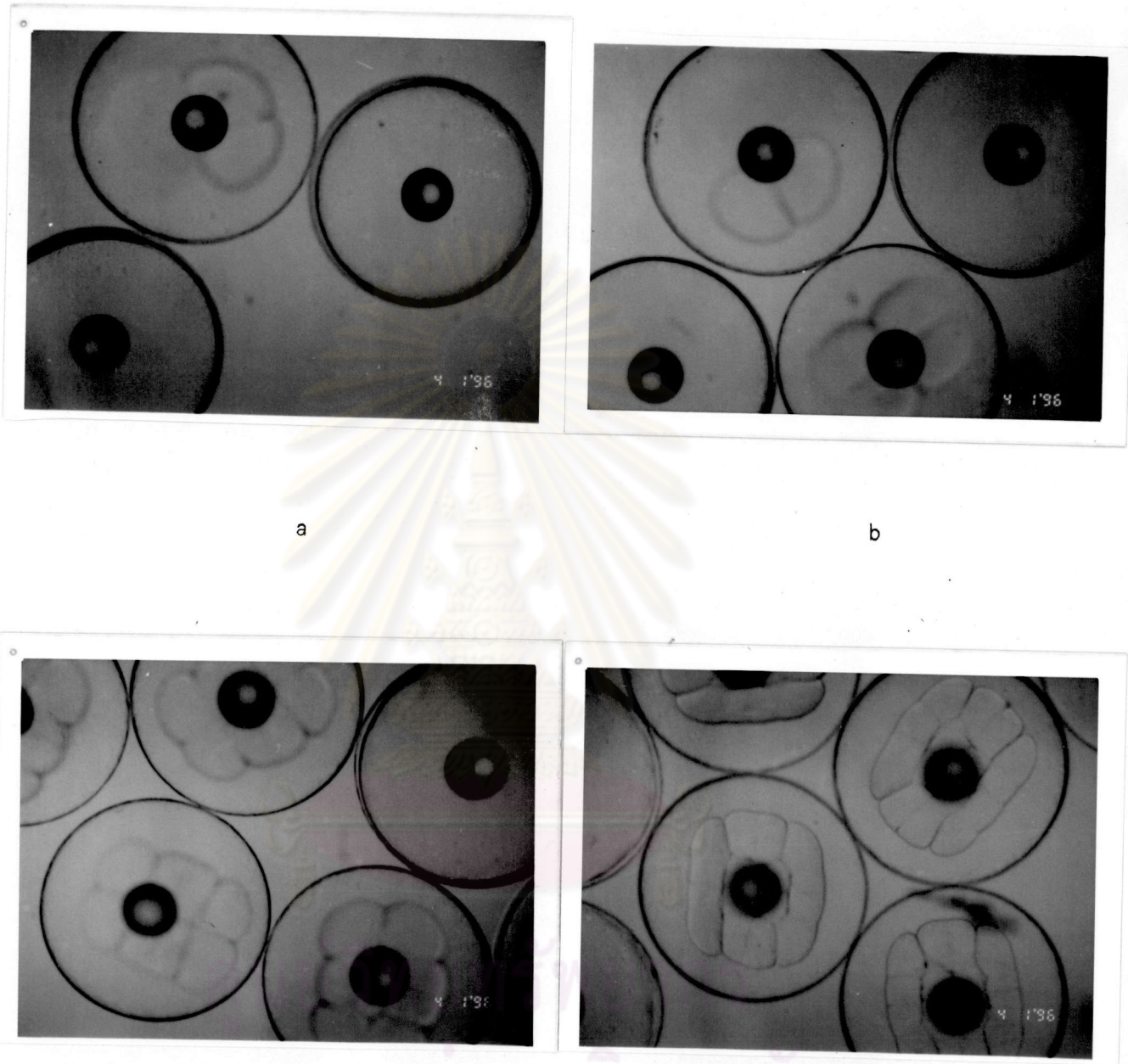
3.3 การทดลองอนุบาลลูกปลา

ลูกปลากระบอกหัวกลมจำนวน 53,400 ตัว จากแม่ปลาซึ่งกระตุ้นด้วยฮอร์โมนชนิด puberogen จะมีอัตราการตายสูงในช่วง 3 - 5 วัน หลังการพักเมื่อสิ้นสุดการอนุบาลจนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 25 - 30 วัน มีจำนวนลูกปลาเหลือ 3,742 ตัว คิดเป็นอัตรารอด 7.01 เปอร์เซนต์ ส่วนลูกปลากระบอกหัวกลม จากแม่ปลาซึ่งไม่ได้กระตุ้นด้วยฮอร์โมน มีจำนวน 93,250 ตัว จะมีอัตราการตายสูงในช่วง 3 - 5 วัน หลังการพักเช่นกัน เมื่อสิ้นสุดการอนุบาลมีจำนวนลูกปลาเหลือ 12,314 ตัว คิดเป็นอัตรารอด 13.21 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 อัตราการรอดในการอนุบาลลูกปลากระบอกหัวกลมจากแม่ปลาซึ่งกระตุ้นด้วยฮอร์โมนชนิด HCG และ จากแม่ปลาซึ่งไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน

ชุดการทดลอง	วันที่					
	1	3	5	10	20	30
อัตราการรอดลูกปลาจากแม่ปลาซึ่งกระตุ้นด้วยฮอร์โมน (%) n=53,400	97.38	92.7	11.98	8.09	7.02	7.01
อัตราการรอดลูกปลาจากแม่ปลาซึ่งไม่ได้กระตุ้นด้วยฮอร์โมน (%) n=93250	89.08	62.88	31.08	18.46	16.86	13.21

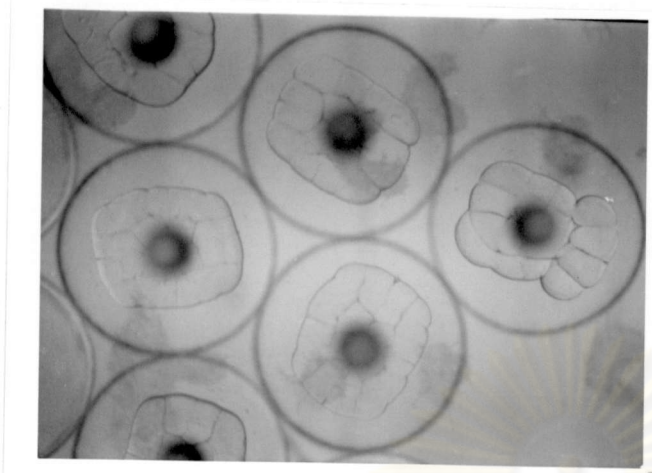
เมื่อลูกปลามีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย(อายุ 30 วัน)ทำการทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอัตราการรอดลูกปลาจากแม่ปลาซึ่งไม่ได้กระตุ้นด้วยฮอร์โมน มีอัตราการรอดดีกว่าลูกปลาจากแม่ปลาซึ่งกระตุ้นด้วยฮอร์โมน



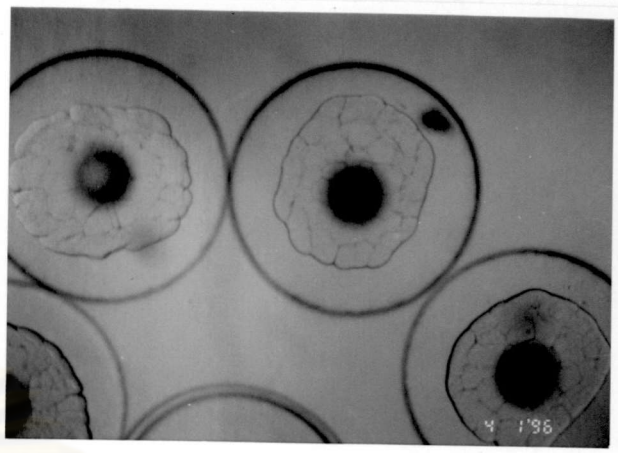
รูปที่ 9 พัฒนาการของไข่ปลากระบอกหัวกลม

a. ไข่ที่ได้รับการผสมและไข่ระยะแบ่ง 2 เซลล์ b. ไข่ระยะแบ่ง 4 เซลล์

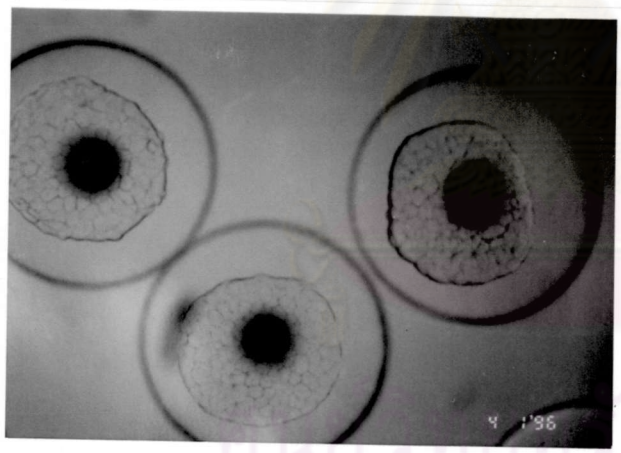
c. ไข่ระยะแบ่ง 8 เซลล์ d. ไข่ระยะแบ่ง 16 เซลล์



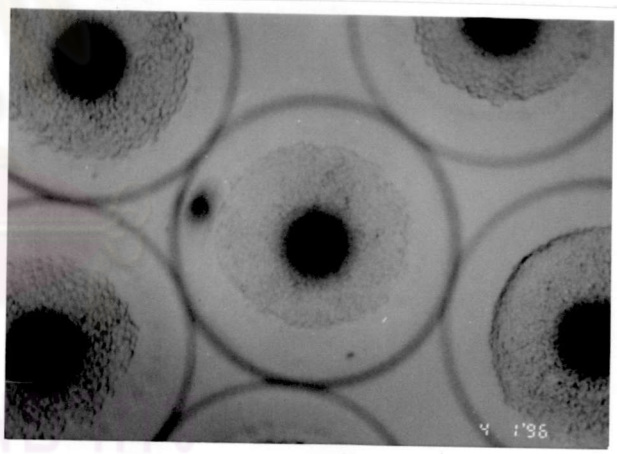
e



f



g



h

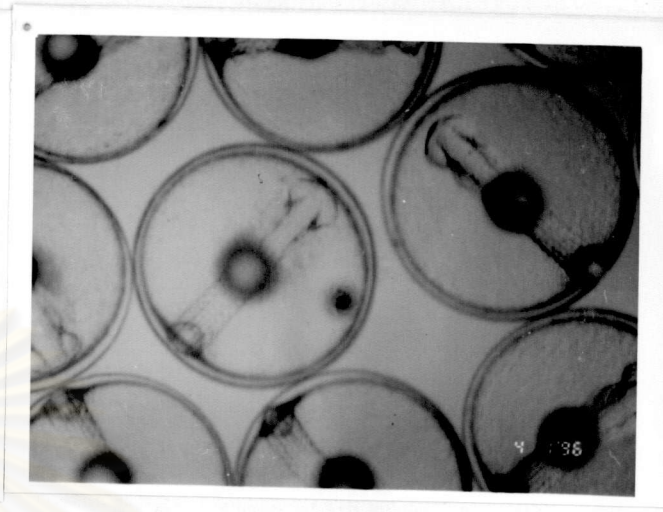
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 9 (ต่อ) พัฒนาการของไข่ปลากระบอกหัวกลม

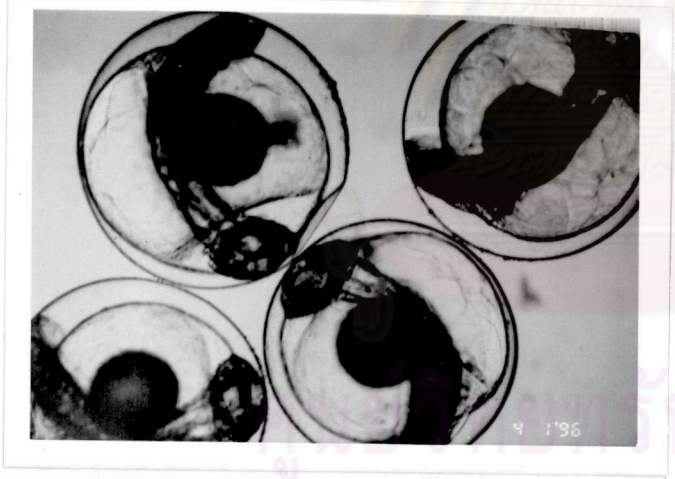
e. ไข่ระยะแบ่ง 32 เซลล์ f. ไข่ระยะแบ่ง 64 เซลล์

g. ไข่ระยะแบ่ง 128 เซลล์ h. ไข่ระยะ blastula

i



j



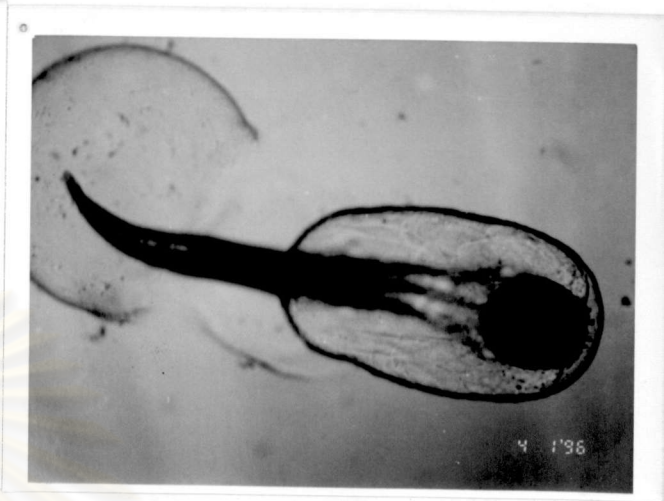
k

l

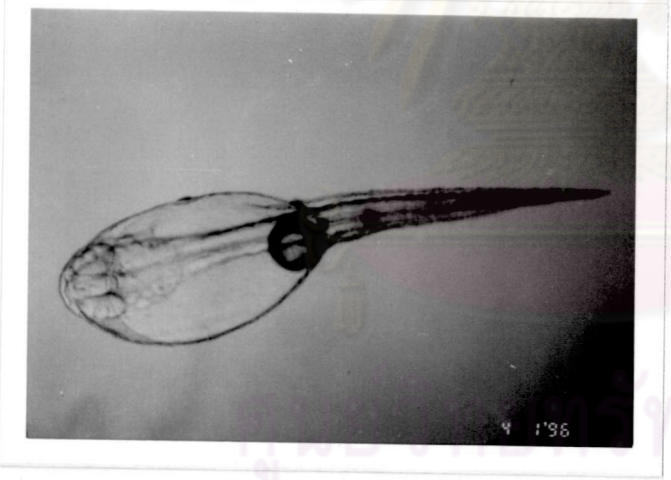
รูปที่ 9 (ต่อ) พัฒนาการของไข่ปลากระบอกหัวกลม

i. ไข่ระยะ gastrula j, k, l. ไข่ระยะการพัฒนาอวัยวะตัวอ่อน (developing embryo)

m



n

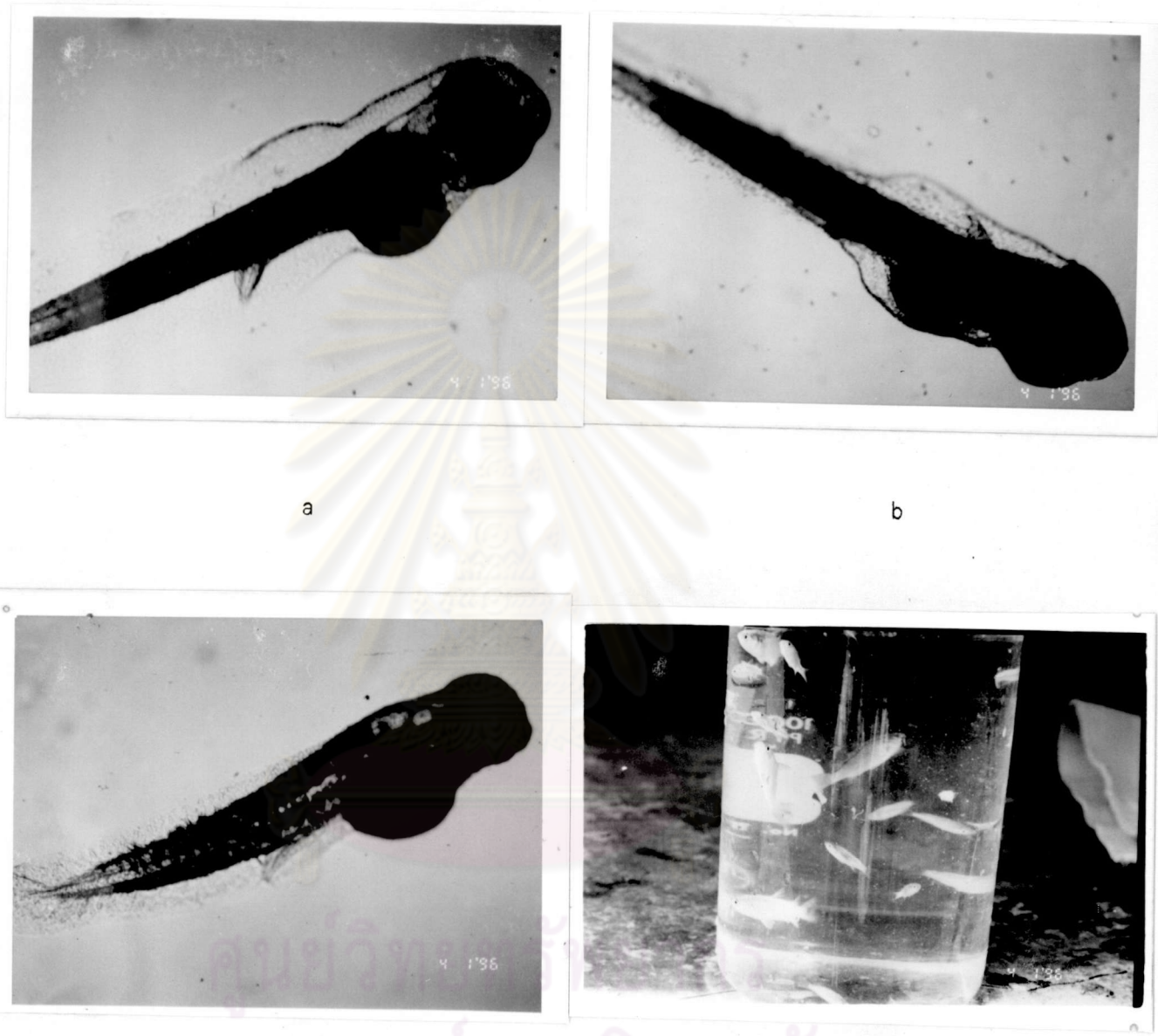


o

p

รูปที่ 9 (ต่อ) พัฒนาการของไข่ปลากระบอกหัวกลม

m. การฟักตัวออกจากไข่ n. ลูกปลาเพิ่งฟักออกจากไข่ o. ลูกปลาเพิ่งฟักออกจากไข่ (ภาพด้านบน) p. ลูกปลาเพิ่งฟักออกจากไข่ (ภาพด้านข้าง) แสดงให้เห็นเยื่อไขมันปกคลุมตัวขนาดใหญ่



รูปที่ 10 ลักษณะลูกปลากระบอกหัวกลมวัยอ่อน

a. ลูกปลาอายุ 2 วัน ยังไม่เปิดปากกินอาหารมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่ b. ลูกปลาอายุ 3 วัน เยื่อไขมันรอบตัวมีขนาดเล็กลง c. ลูกปลามีอายุ 4 วัน มีการพัฒนาจุดตาสมบูรณ์เยื่อไขมันรอบตัวมีขนาดเล็กลงเริ่มพัฒนาก้านครีบ ถุงไข่แดงยุบหมด และเริ่มกินอาหารแพลงค์ตอนพืชเซลล์เดียว d. ลูกปลามีอายุ 25 วัน พัฒนาการเหมือนตัวเต็มวัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย