เอกสารวิชาการฉบับที่ 4 /2544

Technical Paper No. 4 /2001

การเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยวิธีฉีดฮอร์โมน

Induced Breeding of Siamese Rock Catfish, *Leiocassis siamensis* Regan, 1913 by Hormone Injection

สุรพงษ์ วิวัชรโกเศศ Surapong Wiwatcharakoses

สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแพร่
กองประมงน้ำจืด
กรมประมง
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Phrae Inland Fisheries Station
Inland Fisheries Division
Department of Fisheries
Ministry of Agriculture and Cooperatives

บทคัดย่อ

การเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยวิธีฉีดฮอร์โมนผสมเทียม ได้ดำเนินการที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแพร่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2539 ถึงกันยายน 2540 โดยทดลองเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง และฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แบ่งฉีดให้แม่ปลา 2 ครั้ง ระยะห่างกัน 6 ชั่วโมง ใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง 2 ระดับ คือ 3 และ 4 โคส และใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ 3 ระดับ คือ 25, 30 และ 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่น ผลการทดลองพบว่าฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง และฮอร์โมนสังเคราะห์สามารถกระตุ้นให้แม่ปลากดหินตกไข่ได้ในเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ถึง 6 ชั่วโมง หลังจากฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 2 ในขณะที่แม่ปลาในชุดควบคุมไม่ตกไข่ แม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์มีอัตราแม่ปลาที่ตกไข่และอัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) มีจำนวนแม่ปลาตกไข่เฉลี่ย 79.2±25.00, 91.7±16.66, 95.8±8.34, 91.7±9.62 และ91.7 ±16.66 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย 49.1±20.38, 64.2±13.79, 63.0±13.34, 60.2±31.60 และ 63.1±19.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่อัตราการฟักไข่ของแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตรา 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีค่าสูงกว่า และแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง โดยมีค่าเฉลี่ย 48.7±30.73, 47.8±22.28, 65.3±29.00, 76.4±16.23 และ 87.6±10.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไข่ปลากดหินมีรูปร่างกลม สีเหลืองใส เป็นไข่จมติด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0-1.1 มิลลิเมตร ฟักออกเป็นตัวในระยะเวลา 26 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 27.0-28.0 องศาเซลเซียส มีความยาวเฉลี่ย 3.5 มิลลิเมตร และพัฒนามีรูปร่างเหมือนตัวเต็มวัย เมื่ออายุได้ 50 วัน มีความยาวเฉลี่ย 31.4 มิลลิเมตร

คำสำคัญ: ปลากดหิน การเพาะพันธุ์

ABSTRACT

The hormone induced breeding of Siamese Rock Catfish, *Leiocassis siamensis* Regan, 1913 was conducted at Phrae Inland Fisheries Station during October 1996 to September 1997. Different levels of pituitary gland (PG) and buserelin acetate (BUS) with 10 mg/kg domperidone were used. The hormone administration was two consecutive injection with 6 hours apart. Six treatments of different hormone levels of 3 and 4 doses of PG with BUS 3 levels, 25 μg /kg, 30 μg /kg, 40 μg /kg and control with distilled water were set up. Broodfish spawned 4 hours and a half to 6 hours after second injection in all treatments. Spawning percentage were 79.2±25.00, 91.7±16.66, 95.8±8.34, 91.7±9.62 and 91.7±16.66 %,respectively. Fertilization rate were 49.1±20.38, 64.2±13.79, 63.0±13.34, 60.2±31.60 and 63.1±19.17 %, respectively. They were no significantly different ($p>0.05$) in spawning percentage and fertilization rate. Hatching rate were 48.7±30.73, 47.8±22.28, 65.3±29.00, 76.4±16.23 and 87.6±10.16 %, respectively which significantly different ($p<0.05$) among each group. Siamese Rock Catfish eggs are demersal and adhesive, glossy yellow in color, spherical shape with a diameter of 1.0-1.1 millimeters. Eggs hatch out about 26 hours after fertilization at the water temperature of 27.0-28.0 °C. Newly hatched larvae are 3.5 millimeters in length.The fry developed completely like adult in 50 days with an average total length of 31.4 millimeters.

Key words: Siamese Rock Catfish (*Leiocassis siamensis*) ; Breeding

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	(1)
สารบาญตาราง	(2)
สารบาญภาพ	(3)
สารบาญตารางภาคผนวก	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การศึกษาจากเอกสาร	2
วิธีดำเนินการ	7
ผลการศึกษา	11
สรุปและวิจารณ์ผล	24
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	29

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน (โคส) และฮอร์โมนสังเคราะห์ (BUS+DOM, ไมโครกรัม/กิโลกรัม+มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลากดหิน	8
2	อัตราแม่ปลากดหินที่ตกไข่ (%) จากการทดลองเพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์	13
3	อัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักไข่ของปลากดหินที่เพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์	14

สารบาญภาพ

รูปที่		หน้า
1	ตุ้มเครื่องมือที่ใช้รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลากดหิน	9
2	ความแตกต่างระหว่างเพศของปลากดหิน	10
3	พัฒนาการของคัพภะปลากดหิน	17
4	พัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อนระยะก่อนถุงไข่แดงยุบ	21
5	พัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อนระยะหลังถุงไข่แดงยุบ	22

สารบาญตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่		หน้า
1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราแม่ปลากดหินที่ตกไข่	29
2	ความดกไข่ของปลากดหิน จากสูตร $GSI = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่}}{(\text{น้ำหนักตัวปลา} - \text{น้ำหนักรังไข่})} \times 100$	29
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการปฏิสนธิ	30
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการฟักไข่	30
5	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างอัตราการฟักไข่ของปลากดหินที่เพาะพันธุ์ ด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน และฮอร์โมนสังเคราะห์ ทั้ง 5 ชุดการทดลอง โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)	30

คำนำ

ปัจจุบันธุรกิจปลาสวยงาม และพันธุ์ไม้น้ำในประเทศไทยมีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้น การส่งปลาสวยงามออกต่างประเทศทำรายได้สูงให้กับผู้ประกอบการโดยเฉพาะปลาสวยงามพื้นเมืองหลายชนิดของประเทศไทยกำลังเป็นที่นิยมของตลาดต่างประเทศ อาทิ ปลากดหิน ปลาทรงเครื่อง ปลาหางไหม้ ปลาน้ำผึ้ง ปลากาแดง ปลากระทิงลาย ปลากัด ฯลฯ กรมประมงจึงมีนโยบายร่วมกับภาคเอกชนพัฒนาธุรกิจส่งออกปลาสวยงามให้ประเทศไทยสามารถเป็นศูนย์กลางการส่งออกของโลก ปลาสวยงามที่ส่งออกต่างประเทศส่วนใหญ่เป็นปลาพื้นเมืองที่ได้จากการรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติหรือจากการเพาะพันธุ์โดยวิธีฉีดฮอร์โมนผสมเทียม ซึ่งปัจจุบันปลาธรรมชาติได้ลดปริมาณลงเรื่อยๆ ทำให้แนวโน้มการส่งออกของไทยมีปริมาณลดลง (สมปอง, 2540)

ปลากดหิน หรือปลาแขยงหิน เป็นปลาในครอบครัว Bagridae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Leiocassis siamensis* Regan, 1913 เป็นปลาน้ำจืดพื้นเมืองของไทยอีกชนิดหนึ่งที่มีความสวยงามสามารถทำเป็นธุรกิจปลาสวยงามได้จึงเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งพบตามลำธารและแม่น้ำหลายสายในประเทศไทยในภาคเหนือพบบริเวณแม่น้ำปิง แม่น้ำวัง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบบริเวณแม่น้ำมูลตอนบน ภาคกลางพบบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำแม่กลอง และภาคใต้พบบริเวณแม่น้ำตาปี (คณะประมง, 2528; Smith, 1945) ปัจจุบัน ปลากดหินในแหล่งน้ำธรรมชาติมีจำนวนลดน้อยลงจนอาจจะสูญพันธุ์ได้ สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแพร่จึงได้ทำการศึกษาเบื้องต้นในการเพาะพันธุ์ปลากดหิน เพื่อวัตถุประสงค์ในการปล่อยลงสู่แหล่งน้ำต่างๆ เป็นการอนุรักษ์พันธุ์ปลากดหินให้คงอยู่ และส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายเพียงพอต่อการรองรับกับความต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศและต่างประเทศ การศึกษาข้อมูลทางด้านการเพาะพันธุ์ปลากดหินในปัจจุบัน แม้จะมีการศึกษากันบ้างแต่ข้อมูลจากการศึกษาก็ยังไม่มากหรือครบถ้วน นอกจากนี้หลายหัวข้อเรื่องที่สำคัญอาจขาดรายละเอียด ดังนั้น จึงควรศึกษาเพิ่มเติมในด้านการเพาะพันธุ์ให้ได้เทคนิค และวิธีการที่ดีที่สุดเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาธุรกิจปลาสวยงามของประเทศต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยวิธีฉีดฮอร์โมนผสมเทียม ระหว่างฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง และฮอร์โมนสังเคราะห์

2. เพื่อศึกษาพัฒนาการของคัพภะและลูกปลากดหินวัยอ่อน

การศึกษาจากเอกสาร

1. อนุกรมวิธานและลักษณะทางชีววิทยา

อนุกรมวิธานของปลากดหิน จำแนกตาม Nelson (1994) ดังนี้

Division Teleostei

Subdivision Euteleostei

Suborder Ostariophysi

Order Siluriformes

Family Bagridae

Genus *Leiocassis*

Species *siamensis* Regan, 1913

ปลากดหิน หรือปลาแขยงหิน พบตามลำธารและแม่น้ำหลายสายในประเทศไทย ในภาคเหนือพบบริเวณแม่น้ำปิง, แม่น้ำวัง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบบริเวณแม่น้ำมูลตอนบน ภาคกลางพบบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำแม่กลองและภาคใต้พบบริเวณแม่น้ำตาปี (คณะประมง, 2528; Smith, 1945) มีลักษณะสำคัญคือ ลำตัวค่อนข้างสั้น แบนข้างเล็กน้อย ความยาวมาตรฐานยาวประมาณ 3.9-4.5 เท่าของความกว้างลำตัว และยาวประมาณ 3.7-7.0 เท่าของความยาวส่วนหัว ส่วนหัวมีความยาวใกล้เคียงกับความกว้างลำตัว ส่วนหัวค่อนข้างเล็ก ตามีหนังคลุมตา จะงอยปากมีความยาวมากกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางตา รูจมูก 2 คู่ อยู่ห่างกันมีหนวด 4 คู่ ค่อนข้างสั้น หนวดที่มุมขากรรไกรบนยาวที่สุด ยาวถึงบริเวณหลังตาแต่ไม่ถึงบริเวณช่องเปิดเหงือก ส่วนหนวดที่ปลายจะงอยปาก และหนวดที่ขากรรไกรล่างยาวใกล้เคียงกัน และหนวดที่ใต้คางสั้นที่สุด ปากเล็กอยู่ด้านหน้าสุด มุมปากยาวไม่ถึงขอบหน้าของตา เยื่อที่แผ่นปิดเหงือกไม่เชื่อมติดกับคอดคอ มีซี่กรอง 17-18 อัน ครีบหลังอยู่ใกล้ส่วนหัวมีจุดเริ่มอยู่หน้าจุดเริ่มต้นครีบท้อง ประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 2 อัน และก้านครีบอ่อน 6 อัน ครีบอกประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 1 อัน และก้านครีบอ่อน 5-6 อัน โดยก้านครีบแข็งอันที่ 2 ของครีบหลัง และก้านครีบแข็งของครีบอกมีขอบด้านท้ายเป็นฟันเลื่อย ครีบท้องประกอบด้วยก้านครีบอ่อนที่ไม่แตกแขนง 1 อัน และที่แตกแขนง 5 อัน ครีบไขมันยาว มีฐานยาวมากกว่าฐานครีบก้นเล็กน้อย แต่ยาวไม่ถึงฐานครีบหลัง ครีบท้องอยู่ใกล้ครีบก้นมากกว่าครีบอก ครีบก้นประกอบด้วยก้านครีบอ่อนที่ไม่แตกแขนง 1 อัน และที่แตกแขนง 12 อัน ขอบหางมีความยาวมากกว่าความกว้างประมาณ 1.4-2.2 เท่า ครีบหางเว้าลึกแบบ fork ปลายแพนครีบหางตอนบนก้านครีบหางยื่นยาวออกมา เส้นข้างตัวสมบูรณ์อยู่ในแนวกลางตัว ลำตัวมีสีน้ำตาลเข้มหรือดำ ส่วนท้องมีสีน้ำตาลอ่อนมีแถบสีเหลืองหรือน้ำตาลอ่อนพาดขวางลำตัวบริเวณหลังช่องเปิดเหงือก กลางลำตัว และบริเวณขอดหางตอนต้น ครีบทุกครีบ ยกเว้นครีบหางมีสีน้ำตาลเข้มหรือดำ ครีบหางมีสีเหลืองอาจมีแถบสีดำพาดขวางครีบ (สันทนา และ ทัศพล, 2537)

2. การเพาะพันธุ์

2.1 การควบคุมระบบสืบพันธุ์ของปลา

หน้าที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ของปลา และสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่นๆ คือ ระบบประสาทร่วมกับระบบต่อมใต้สมองเมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปในทางที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ เช่น อุณหภูมิสูงขึ้น หรือน้ำมีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพเหมาะสม ฯลฯ ระบบประสาทโดยอวัยวะรับสัมผัส (sensory organ) จะรับรู้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นและส่งสัญญาณไปยังสมอง สัญญาณเหล่านี้จะถูกส่งต่อไปยังสมองส่วนไฮโปธาลามัส(hypothalamus)ซึ่งจะตอบสนองโดยสร้างรีลิสซิงฮอร์โมน (releasing hormone) แล้วปล่อยไปกระตุ้นการทำงานของต่อมใต้สมอง (pituitary gland หรือ hypophysis) ต่อมใต้สมองจะสร้างฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน (gonadotropin, GtH) ซึ่งจะถูกปล่อยตามกระแสเลือดไปออกฤทธิ์ยังรังไข่หรืออัณฑะ ฮอร์โมนเพศยังมีบทบาทควบคุมการแสดงออกของลักษณะเพศภายนอก (secondary sex characters) ตลอดจนพฤติกรรมในการสืบพันธุ์อีกด้วย (อุทัยรัตน์, 2531) โกนาโดโทรปินเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมระบบสืบพันธุ์ที่มีความสำคัญมากในที่นี้หมายถึงฮอร์โมนที่เป็นสารประเภทไกลโคโปรตีน (glycoprotein) คือประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรท (carbohydrate) เกาะอยู่บนโมเลกุลของโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นจากต่อมใต้สมองและมีหน้าที่ในการกระตุ้นพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonad) มีน้ำหนักโมเลกุล ประมาณ 25,000-40,000 dalton ในปลากระดูกแข็งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลา salmon น่าจะมี GtH 2 ชนิด ที่ทำหน้าที่คล้ายกับ FSH (follicle stimulating hormone) และ LH (luteinizing hormone) ของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังชั้นสูง โดย GtH I จะทำหน้าที่คล้าย FSH คือจะถูกสังเคราะห์ และหลั่งออกมาในช่วงที่มีการพัฒนาของไข่ เพื่อทำหน้าที่กระตุ้นการสังเคราะห์ steroid ที่ควบคุมการเจริญเติบโตของไข่ ส่วน GtH II จะทำหน้าที่คล้าย LH ซึ่งจะถูกสังเคราะห์ และหลั่งออกมาในระยะที่ไข่แก่ เพื่อที่จะกระตุ้นการสร้าง steroid ที่ควบคุมขบวนการตกไข่และการวางไข่ (นฤพล, 2538) โดย Idler and Ng (1983) ได้สรุปว่า โกนาโดโทรปิน ของปลาประกอบด้วยฮอร์โมน 2 ชนิด คือ มาทัวเรชันนัล ฮอร์โมน (maturational hormone) ซึ่งกระตุ้นการเจริญระยะหลังของไข่ และไวเทลโลเจนิค ฮอร์โมน (vitellogenic hormone) ซึ่งสามารถกระตุ้นการสร้างและสะสมโยล์ค (vitellogenesis) การหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินจากต่อมใต้สมองในปลากระดูกแข็งทั่วๆ ไป อยู่ภายใต้การควบคุมของสาร neuroendocrine 2 ชนิด ที่มาจากสมองส่วนไฮโปทาลามัส คือโกนาโดโทรปิน รีลิสซิง ฮอร์โมน (gonadotropin releasing hormone, GnRH) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นและโกนาโดโทรปินรีลิส อินฮิบิทอรี แฟกเตอร์ (gonadotropin release inhibitory facter, GRIF) ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง (Peter *et al.*, 1986) ในสภาวะปกติทั่วไป พบว่าเมื่อต่อมใต้สมองหลั่งโกนาโดโทรปินออกมากระตุ้นรังไข่หรืออัณฑะก็จะมีผลทำให้รังไข่หรืออัณฑะหลั่งฮอร์โมนเพศออกมาถ้าฮอร์โมนเพศมีระดับต่ำก็จะกระตุ้นให้มีการหลั่งโกนาโดโทรปินมากขึ้นจนทำให้ฮอร์โมนเพศมีระดับสูงขึ้นแต่เมื่อฮอร์โมนเพศมีระดับสูงขึ้นถึงระดับหนึ่งก็จะกลับไปยับยั้งการทำงานของไฮโปทาลามัสและต่อมใต้สมองให้หลั่งโกนา

โดโทรปินลดลงและมีผลทำให้ฮอร์โมนเพศมีระดับลดลง สาเหตุที่กลไกควบคุมดังกล่าวเกิดได้ เนื่องจากมีตัวรับสัญญาณที่บริเวณไฮโปทาลามัส หรือต่อมใต้สมองที่เรียกว่า สเตอรอยด์ ไบดิ้งไซต์ (steroid binding site) ทำหน้าที่จับกับฮอร์โมนเพศที่มาตามกระแสเลือดแล้วแปรสัญญาณทำการกระตุ้นหรือยับยั้งการหลั่งโกนาโดโทรปิน (วีรพงศ์, 2536 อ้าง Peter and Crim, 1979)

2.2 การใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา

ในการเพาะพันธุ์ปลาโดยฉีดฮอร์โมนกระตุ้นนี้ที่จริงแล้วเป็นการกระตุ้นการตกไข่ (ovulation) ทำให้ไข่หลุดจากฟอลลิเคิล (follicle) ลงมารวมกันในช่องว่างภายในรังไข่ (หรือในช่องท้องสำหรับปลาบางชนิด) ส่วนการวางไข่ (spawning) อาจจะเกิดขึ้นในกรณีที่ปล่อยให้ปลาผสมพันธุ์กันเองตามธรรมชาติ แต่ในกรณีที่ทำการผสมเทียม การวางไข่จะไม่เกิดขึ้นแต่ไข่จะถูกรีด (stripe) ออกมาผสมกับน้ำเชื้อภายนอกตัวปลา การฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการวางไข่ของปลานี้ทำสำเร็จเป็นครั้งแรกในค.ศ. 1934 โดย R.Von Ihering ชาวบราซิล โดยอาศัยหลักการที่ว่าระดับของโกนาโดโทรปินในกระแสเลือดเป็นปัจจัยควบคุมการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่แก่ ดังนั้น เมื่อฉีดสารละลายที่ได้จากการบดต่อมใต้สมองซึ่งเป็นแหล่งของโกนาโดโทรปินเข้าสู่ตัวปลาที่มีไข่แก่ก็จะสามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ ซึ่งในปลาส่วนใหญ่ ไข่ที่หลุดจากฟอลลิเคิลแล้วจะถูกปล่อยออกมาภายนอกตัวปลาในที่สุด (อุทัยรัตน์, 2531) การตกไข่จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อไข่อยู่ในระยะ germinal vessicle เคลื่อนที่ไปยังขอบของเซลแล้ว และจะต้องมีปริมาณโกนาโดโทรปินในเลือดสูง ดังนั้น การฉีดโกนาโดโทรปินจากภายนอกให้กับแม่ปลาในระยะที่การเจริญพันธุ์เต็มที่ก็จะช่วยให้เกิดการตกไข่ได้เร็วขึ้น (ภาณุ และคณะ, 2539) สำหรับการเพาะพันธุ์ปลาด้วยวิธีการฉีดฮอร์โมนผสมเทียมในประเทศไทยเริ่มเมื่อปี พ.ศ. 2509 โดยอารีย์ และคณะ สามารถเพาะพันธุ์ปลาสวายโดยการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองจากความสำเร็จนี้ได้ขยายผลไปยังปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ จำนวนมาก (วีรพงศ์, 2536) ฮอร์โมนที่สามารถใช้ในการกระตุ้นการวางไข่ของปลามี 3 ชนิด คือ โกนาโทรปินรีลิสซิง ฮอร์โมน, โกนาโดโทรปิน และเซ็กซ์ สเตอรอยด์ (sex steroid) โดยมีรายละเอียดดังนี้ (อุทัยรัตน์, 2531)

2.2.1 โกนาโดโทรปิน (Gonadotropin)

โกนาโดโทรปินที่ใช้ในการกระตุ้นการวางไข่ของปลาได้มาจาก 2 แหล่งใหญ่ๆ คือโกนาโดโทรปินจากปลา (piscine gonadotropin) และโกนาโดโทรปินจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian gonadotropin)โกนาโดโทรปินจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมยังแยกออกเป็นฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง อาทิ LH และ FSH และฮอร์โมนที่รกสร้างขึ้น (placental gonadotropin) เช่น โกนาโดโทรปินจากปัสสาวะหญิงมีครรภ์ (human chorionic gonadotropin, HCG) และโกนาโดโทรปินที่ได้จากน้ำเหลืองของสัตว์ที่ตั้งท้อง (pregnant mare serum gonadotropin, PMSG) โกนาโดโทรปินที่ได้จากต่อมใต้สมองของปลาบดจะมีฮอร์โมนชนิดอื่นๆ ติดมาด้วย ต่อมใต้สมองมีลักษณะกลม ขนาดเล็ก มีสีขาวอมชมพูอยู่ใต้สมองส่วนไฮโปทาลามัส โดยมีก้านเล็กๆ ติดต่อถึงกันเมื่อมองด้วยตาเปล่าก็จะพอสังเกตได้ว่าต่อมใต้สมองนี้มีลักษณะ

เป็นพูประกอบกันแน่น มิได้เป็นเนื้อเดียวกันตลอดทั้งเม็ด (อุทัยรัตน์, 2531) ส่วนวิธีการนำมาใช้นั้น ภาณุ และคณะ (2539) อธิบาย วิธีการนำโกนาโดโทรปินมาใช้โดยการนำต่อมใต้สมองมาบดให้ละเอียดแล้วผสมตัวทำละลายจึงนำไปฉีดปลา (hypophysation) เพื่อกระตุ้นการตกไข่และการวางไข่ต่อมใต้สมองอาจถูกนำมาใช้ในรูปของต่อมสดหรือต่อมแช่อะซิโตนหรือแอลกอฮอล์ก็ได้ต่อมใต้สมองเมื่อถูกบดละเอียดก็อาจมีฮอร์โมนหลายชนิดที่สะสมอยู่ในต่อมใต้สมอง ซึ่งก็รวมทั้งโกนาโดโทรปินละลายออกมาด้วย การใช้ฮอร์โมนสกัด (extract hormone) ซึ่งหมายถึง โกนาโดโทรปินที่สกัดจากปลา โกนาโดโทรปินที่สกัดจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และต่อมใต้สมองบดโดยพบว่า โกนาโดโทรปินที่สกัดจากปลา เช่น SG-G100 ได้ถูกนำมากระตุ้นการตกไข่ของปลาหลายชนิด เช่น ปลากระบอก ปลาช่ง และปลาดุก เป็นต้น โกนาโดโทรปินที่สกัดจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะนิยมใช้ เอชซีจี (HCG) มากที่สุด การใช้เอชซีจี อย่างเดียวซึ่งพบว่าส่วนใหญ่ไม่สามารถกระตุ้นการตกไข่ และการวางไข่ในปลาหลายชนิดเนื่องจากเอชซีจีไม่สามารถจับตัวกับตัวรับจำเพาะเจาะจงของโกนาโดโทรปิน (gonadotropin receptor) บริเวณไข่ เช่นใน ปลาเฉา ปลาไน ปลาช่ง ปลาเล่ง ปลายี่สก และปลาตะเพียนขาว เป็นต้น เอชซีจี มีชื่อทางการค้าหลายชนิด เช่น CG-5, CG-10, pregnyl, puberogen และ Synahorin เป็นต้น

2.2.2 ริลิสซิ่ง ฮอร์โมน (Releasing Hormone)

เป็นฮอร์โมนที่สร้างขึ้นในสมองส่วนไฮโปทาลามัส ซึ่งจะไปกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินจากต่อมใต้สมองไปมีผลต่อการตกไข่และการวางไข่ของปลา ต่อมาเมื่อมีการแยก LHRH จากไฮโปทาลามัสของหมูและแกะได้สำเร็จในปี ค.ศ. 1971 (Donaldson and Hunter, 1983) ทำให้ทราบว่าฮอร์โมนชนิดนี้เป็นตัวควบคุมการผลิตและการหลั่งโกนาโดโทรปินจากต่อมใต้สมองเมื่อนำฮอร์โมน LHRH ไปฉีดให้กับปลาจะทำให้ปลาสามารถวางไข่ได้ (นฤพล และ วัฒนะ, 2531) การฉีด LHRHa ร่วมกับดอมเพอริโดน (domperidone, DOM) เพื่อเร่งให้ปลางวางไข่นี้เรียกว่า วิธีลินพี (Linpe method) ตามชื่อของ Hao Ren Lin นักวิทยาศาสตร์ชาวจีน และ Richard E. Peter นักวิทยาศาสตร์ชาวแคนาดาที่ร่วมกันศึกษาค้นคว้าการใช้ LHRHa ร่วมกับโดปามิน แอนตาโกนิส ในการเพาะพันธุ์ปลาจนเป็นผลสำเร็จ วิธีการนี้ได้เริ่มนำมาทดลองใช้ในประเทศไทยที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดกาฬสินธุ์และประสบผลสำเร็จในการใช้ LHRHa ร่วมกับ Domperidone ในการเพาะพันธุ์ปลา เมื่อปี 2529 (สุพร และยอดรักษ์, 2535) โดยใช้ Buserelin acetare ที่มีชื่อการค้าว่า ซูฟรีแฟกซ์ (suprefact) ซึ่งเป็น LHRHa ร่วมกับโดปามิน แอนตาโกนิส (dopamin antagonist) ที่มีชื่อสามัญว่า ดอมเพอริโดน (domperidone) ที่มีขายตามร้านขายยาทั่วไป ใช้ในการเพาะขยายพันธุ์ปลาหลายชนิดในประเทศไทย ซึ่งก็ได้ผลดีเป็นอย่างมากเพราะวิธีใช้สะดวกง่ายต่อการปฏิบัติและใช้ในปริมาณที่น้อย ต่อมาจึงมีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วประเทศ (วัฒนะ, 2532)

2.2.3 เซ็กซ์ สเตอรอยด์ (sex steroid)

ฮอร์โมนเพศสร้างขึ้นจากต่อมเพศ (รังไข่ หรืออัณฑะ)โดยการกระตุ้นของโกนาโดโทรปินทำให้ไข่และสเปิร์มมีความพร้อมในการปฏิสนธิ (วีรพงษ์, 2536) การใช้ฮอร์โมนเพศกระตุ้นการเจริญขั้น

สุดท้ายและการตกไข่ของปลาให้ผลไม่ดีนัก แต่มีแนวโน้มว่าจะสามารถใช้แทนโกนาโดโทรปินได้ ข้อดีของสเตอรอยด์สามารถสังเคราะห์และเก็บรักษาไว้ได้นาน ฮอร์โมนเพศที่สามารถกระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ปลาได้แก่ 17 α, 20 β โปรเจสเตอโรน (อุทัยรัตน์, 2531)

2.3 การเพาะพันธุ์ปลาในครอบครัวเดียวกับปลากดหิน

การใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลาที่อยู่ในครอบครัวเดียวกันกับปลากดหิน อำนวย และวสันต์ (2525) ได้ทำการทดลองฉีดฮอร์โมนผสมเทียมปลากดเหลือง โดยใช้ต่อมใต้สมองปลาในฉีดเข็มแรกในอัตรา 1 โดส ร่วมกับ HCG 20 I.U. เว้นระยะ 6 ชั่วโมง ฉีดเข็มที่สอง ในอัตรา 2 โดส ร่วมกับ HCG 40 I.U. สามารถรีดไข่ผสมเทียมและเพาะฟักลูกปลาได้หลังจากฉีดฮอร์โมนครั้งที่สอง 5 ชั่วโมง ชลธิศักดิ์ และคณะ (2536) รายงานการเพาะพันธุ์ปลาแขยงข้างลายโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราครั้งแรก 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สองในอัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในครั้งแรก 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สองในอัตรา 25 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในการฉีดฮอร์โมนทั้งสองครั้งใช้ยาเสริมฤทธิ์ร่วมด้วยในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ทุกครั้ง สามารถนำมารีดไขผสมเทียม และเพาะฟักลูกปลาออกมาได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สอง วิศณุพร และคณะ (2537) รายงานการเพาะพันธุ์ปลากดแก้วโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราครั้งแรก 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 10 มิลลิกรัม /น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สอง ในอัตรา 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมและเพาะฟักลูกปลาออกมาได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สองในระยะเวลา 6.30-9.30 ชั่วโมง วสันต์ และสุขาวดี (2536) รายงานการเพาะพันธุ์ปลากดเหลืองโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราครั้งแรก 7 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สองในอัตรา 21 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สองในระยะเวลา 5-7 ชั่วโมง

2.4 อัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักไข่

อัตราการปฏิสนธิ และอัตราฟักเป็นข้อมูลสำคัญที่นำมาใช้ประโยชน์ในการจัดการโรงเพาะฟัก นอกจากนี้ ยังเป็นข้อมูลที่ใช้บอกผลของการทดลองบางประเภทเช่นการทดลองเพาะพันธุ์ปลา การทดลองผลของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ในการกระตุ้นการตกไข่ ตลอดจนการทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อ หลังจากการปฏิสนธิ ตัพภะของปลาจะเจริญพัฒนาอยู่ในฟองไข่ ในช่วงแรกของการฟักไข่นั้นไข่ที่ไม่เกิดการปฏิสนธิบางส่วนจะมีการแบ่งเซลล์ ซึ่งถึงแม้จะไม่ปกตินัก แต่ก็ยังไม่สามารถบอกความแตกต่างของไข่ดีหรือไข่เสียได้ด้วยตาเปล่าจนกระทั่งเมื่อไข่ดีเจริญมาจนถึงระยะบลาสโตพอร์ (blastopore) ปิดไข่เสียจึงจะกลายเป็นสีขาวขุ่น จึงควรนับอัตราการปฏิสนธิในช่วงนี้ ส่วนอัตราการฟักข้อมูลนี้นอกจากจะบอกถึงคุณภาพของไข่และน้ำเชื้อ ยังทำให้สามารถประเมินปริมาณลูกปลาได้จากจำนวนไข่ที่ประเมินไว้ในตอน

แรก การประเมินทำได้โดยการสุ่มไข่มาฟักในอุปกรณ์ฟักขนาดเล็กโดยจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญของไข่มากที่สุด เมื่อไข่ฟักเป็นตัวและนับลูกปลาที่ได้ก็จะได้อัตราฟัก สำหรับจำนวนไข่ทั้งหมดนั้นหากได้ประเมินอัตราปฏิสนธิไว้ก่อนก็ให้ใช้จำนวนไข่ที่เกิดการปฏิสนธิเป็นจำนวนไข่ทั้งหมดหากไม่ได้ประเมินอัตราดังกล่าวไว้ก็ใช้จำนวนไข่ทั้งหมดที่นำมาฟักแทนได้ปัญหาส่วนใหญ่ในการฟักไข่ปลาเนื่องร้อนมักเกิดจากสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสมมากกว่าสิ่งอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการขาดออกซิเจนในการฟักไข่แบบจมติดกับวัตถุหากมีไข่ที่ไม่ปฏิสนธิจำนวนมากไข่เหล่านี้จะเน่าทำให้เกิดการขาดออกซิเจน อุณหภูมิก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องให้ความสนใจโดยการควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ฟักไข่ไม่ให้เปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันซึ่งจะมีผลให้ไข่ตายได้ (อุทัยรัตน์, 2531) Woynarovich and Horvath (1980) ได้แนะนำวิธีการประเมินอัตราปฏิสนธิของไข่ประเภทจมติด ควรสุ่มตัวอย่างไข่แล้วนำมาฟักในภาชนะเล็กๆ หรือกระชังเล็กๆ โดยจัดสภาพการฟักให้เหมือนกับไข่ส่วนใหญ่ซึ่งอยู่ในบ่อฟักจริงๆ จะทำให้ประเมินได้ทั้งอัตราปฏิสนธิและอัตราฟัก

วิธีดำเนินการ

ก. แบบแผนการวิจัย

1. แผนการทดลอง

การทดลองเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยวิธีฉีดฮอร์โมนกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่โดยเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไนและฮอร์โมนสังเคราะห์ (buserelin acetate, BUS) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ (domperidone, DOM) ด้วยอัตราความเข้มข้นต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อก (randomized complete block design, RCB) แบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง (treatment) พร้อมชุดควบคุม (control) แต่ละชุดการทดลองใช้แม่ปลาจำนวน 6 ตัว โดยใช้ตัวเมียต่อตัวผู้ในอัตรา 1:1 ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้งในช่วงเวลาต่างกัน (block)

ครั้งที่ 1 วันที่ 18 สิงหาคม 2540
ครั้งที่ 2 วันที่ 28 สิงหาคม 2540
ครั้งที่ 3 วันที่ 3 กันยายน 2540
ครั้งที่ 4 วันที่ 11 กันยายน 2540

ในการฉีดฮอร์โมนให้กับแม่ปลา แบ่งการฉีดเป็น 2 ครั้ง เว้นระยะห่างระหว่างการฉีดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 6 ชั่วโมง โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณโคนครีบหลัง ชุดการทดลองที่ 1 ใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน 1 และ 2 โคส ชุดการทดลองที่ 2 ใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน 1 และ 3 โคส ชุดการทดลองที่ 3 ใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ 10 และ 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 4 ใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ 10 และ 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 5 ใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ 10 และ 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม

โดยฮอร์โมนสังเคราะห์ใช้ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกครั้ง ชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่น ปริมาณ 0.03 ซีซี (ตารางที่ 1) ส่วนตัวผู้ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ ฉีดพร้อมกับการฉีดฮอร์โมนให้แม่ปลาครั้งที่ 2 ในอัตรา 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม+10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ตารางที่ 1 ปริมาณฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน (โคส) และฮอร์โมนสังเคราะห์ (BUS+DOM, ไมโครกรัม/กิโลกรัม + มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลากดหิน

ชุดทดลอง	ชนิดฮอร์โมน	ครั้งแรก	ครั้งที่สอง	ระยะห่าง (ชั่วโมง)
1	ต่อมใต้สมอง	1.0 โคส	2.0 โคส	6
2	ต่อมใต้สมอง	1.0 โคส	3.0 โคส	6
3	BUS + DOM	10 + 10	15 + 10	6
4	BUS + DOM	10 + 10	20 + 10	6
5	BUS + DOM	10 + 10	30 + 10	6
ควบคุม	น้ำกลั่น	0.03 ซีซี	0.03 ซีซี	6

2. สถานที่ดำเนินการและระยะเวลาดำเนินการ

ดำเนินการทดลองที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแพร่ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2539 ถึงเดือนกันยายน 2540

ข. วิธีการทดลอง

1. การรวบรวมและเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลากดหินจากชาวประมงที่จับปลากดหินโดยใช้ตุ้ม (รูปที่ 1) ซึ่งเป็นเครื่องมือทำการประมงพื้นบ้าน ตุ้มทำจากไม้ไผ่ ขนาดความสูง ประมาณ 50 เซนติเมตร กว้าง 30 เซนติเมตร มีทางเข้ากว้าง ประมาณ 3-4 นิ้ว การวางตุ้มจะวางในช่วงเวลาบ่าย โดยภายในตุ้มจะใช้ปลวกเป็นเหยื่อ ทำการรวบรวมปลาในตุ้มในตอนรุ่งเช้า ชาวประมงจะวางตุ้มที่แม่น้ำยม และแม่น้ำแม่สอง บริเวณบ้านหนุน หมู่ที่ 10 ตำบลบ้านหนุน อำเภอสอง โดยรวบรวมตั้งแต่เดือนตุลาคม 2539 ถึง เดือนมิถุนายน 2540 พันธุ์ปลาที่รวบรวมได้จะนำมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ ขนาด 15 ตารางเมตร ระดับน้ำสูงประมาณ 40 เซนติเมตร ใส่ท่อ PVC ขนาด 2-3 นิ้ว ความยาว 30-50 เซนติเมตร จำนวน 4 จุดๆ ละ 5 อัน เพื่อเป็นที่หลบซ่อน เพิ่มปริมาณออกซิเจนในบ่อ โดยใช้เครื่องเติมอากาศผ่านหัวทรายจำนวน 8 หัว ให้อาหารสำเร็จรูปโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ปั้นเป็นก้อนจมให้กินวันละ 1 ครั้ง ในเวลาเย็น วันละ 2-3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และให้ไรแดงเป็นอาหารเสริม ทำการดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำสองสัปดาห์

ต่อครั้ง เริ่มดำเนินการตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของพ่อแม่พันธุ์ปลากดหิน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2540 เมื่อพ่อแม่พันธุ์มีไข่แก่ และน้ำเชื้อสมบูรณ์จึงทำการเพาะพันธุ์ตามแผนการทดลอง

รูปที่ 1 ตุ้มเครื่องมือที่ใช้รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลากดหิน

2. การเพาะพันธุ์ปลากดหิน

ปลากดหินเพศผู้และเพศเมียสังเกตลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันจากติ่งเพศ (รูปที่ 2) โดยเพศผู้จะมีติ่งเพศยาวถึงโคนครีบก้น ส่วนเพศเมียจะไม่ยื่นยาว ทำการคัดพ่อแม่ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศ โดยปลาเพศเมียจะสังเกตจากส่วนท้องจะบวมเป่ง และนิ่ม อวัยวะเพศมีสีแดงเรื่อๆ ส่วนเพศผู้สังเกตจากติ่งเพศมีลักษณะเรียวยาวและมีสีแดงเรื่อๆ เช่นเดียวกัน นำมาเพาะพันธุ์โดยวิธีฉีดฮอร์โมนกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ เมื่อฉีดฮอร์โมนให้กับพ่อแม่ปลาตามตารางที่ 1 แล้วปล่อยพ่อแม่ปลาในแต่ละชุดการทดลองลงในกระชังขนาด 0.5x0.5x0.5 เมตร แขวนลอยไว้ในบ่อซีเมนต์ ขนาด 15 ตารางเมตร ตรวจสอบแม่ปลาที่พร้อมวางไข่นำมารีดไข่ใส่ภาชนะแล้วนำมาผสมกับน้ำเชื้อของพ่อปลาที่ผ่าท้องนำถุงน้ำเชื้อออกมาขยี้ให้ได้น้ำเชื้อไหลออกมา นำไข่ปลากดหินที่ผสมแล้วมาโรยบนแผงฟักไข่ขนาด 0.3x0.3 เมตร แล้วนำไปฟักในกระชังผ้าโอล่อนแก้วขนาด 0.5x0.5x0.5 เมตร แขวนลอยไว้ในบ่อซีเมนต์ ขนาด 15 ตารางเมตร ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศและเปิดน้ำไหลผ่าน เมื่อแม่ปลาตกไข่ตรวจนับจำนวนแม่ปลาที่ตกไข่เพื่อคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การตกไข่ของแม่ปลาในแต่ละชุดการทดลองก่อนนำไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

ทำการศึกษาความดกไข่ โดยคัดแม่พันธุ์ปลากดหิน จำนวน 10 ตัว ที่มีความสมบูรณ์เพศอยู่ในระยะเจริญพันธุ์ ส่วนท้องจะบวมเป่ง นำมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวแล้วผ่าท้องนำรังไข่มาชั่งน้ำหนักทั้งหมดก่อน แล้วสุ่มไข่จากรังไข่ 3 จุด นำมาชั่งน้ำหนักแล้วนำไข่ที่สุ่มไปนับจำนวนและหาค่าเฉลี่ย เมื่อทราบจำนวนแล้วเทียบกลับเป็นจำนวนไข่ทั้งหมด

เพศผู้ เพศเมีย

รูปที่ 2 ความแตกต่างระหว่างเพศของปลากดหิน

3. การศึกษาอัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟัก

นำไข่ปลากดหินที่ได้รับการผสมแล้วในแต่ละชุดการทดลองมาโรยลงบนแผงฟักไข่ ขนาด 10x10 เซนติเมตร แล้วนำไปฟักในตู้กระจกขนาด 45x90x45 เซนติเมตร ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศ ศึกษาอัตราการปฏิสนธิโดยนับจำนวนไข่ทั้งหมดพร้อมกับนับจำนวนไข่เสียและคัดไข่ที่เสียออกจากแผงฟัก เมื่อลูกปลาฟักออกเป็นตัวนับจำนวนลูกปลาทั้งหมดเพื่อศึกษาอัตราการฟักตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำในภาชนะฟักไข่ก่อนและหลังการทดลอง เพื่อหาค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen), ความเป็นด่าง (Alkalinity) และความกระด้างของน้ำ (Hardness) โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ Hach (Protable Hach analysis kit) หาค่าอุณหภูมิใช้เทอร์โมมิเตอร์ และความเป็นกรดเป็นด่างใช้ pH meter การคำนวณหาค่าอัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักตามวิธีการของอุทัยรัตน์ (2531) โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนไข่ที่เจริญถึงขั้น แกสทรูลา}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาที่นับได้}}{\text{จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ}} \times 100$$

4. การศึกษาพัฒนาการของคัพภะและลูกปลาวัยอ่อน

นำไข่ที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อแล้วประมาณ 200 ฟอง มาศึกษาพัฒนาการของคัพภะและตัวอ่อน โดยการศึกษาจากกล้อง stereomicroscope กำลังขยาย 35-40 เท่า ทำการบันทึกภาพและวาดรูปศึกษาพัฒนาการของคัพภะไปตามขั้นตอนต่างๆ จนกระทั่งไข่ฟักเป็นตัวและติดตามการพัฒนาการของลูกปลาจนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย (อุทัยรัตน์, 2531)

ค. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลอัตราแม่ปลาที่ตกไข่ อัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟักไข่ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่เกิดจากชนิดและอัตราการใช้ของฮอร์โมนโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติสำหรับไมโครคอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS for microsoft windows release 6.0

ผลการศึกษา

1. การรวบรวมและเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากดหิน

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลากดหินโดยทะยอยรับซื้อจากชาวประมงที่ใช้เครื่องมือคุ้มในการจับตั้งแต่เดือนตุลาคม 2539 ถึงเดือนมิถุนายน 2540 ได้ปลากดหินจำนวน 762 ตัว เป็นปลาเพศผู้ จำนวน 354 ตัว เพศเมีย จำนวน 408 ตัว พบว่าพ่อแม่พันธุ์มีไข่แก่และน้ำเชื้อสมบูรณ์ในเดือนสิงหาคม 2540 แม่ปลาสมบูรณ์เพศสามารถเพาะพันธุ์ได้มีน้ำหนักตั้งแต่ 7.8±0.70 กรัม ส่วนพ่อพันธุ์มีน้ำหนักตั้งแต่ 6.6±0.88 กรัม

2. การเพาะพันธุ์ปลากดหิน

การทดลองเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยอัตราความเข้มข้นต่างกันโดยพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์มีน้ำหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากฉีดฮอร์โมน ครั้งที่ 2 ในระยะเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ถึง 6 ชั่วโมง สามารถรีดไข่ผสมน้ำเชื้อได้ การทดลองพบว่าแม่ปลาในชุดควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่นไม่ตกไข่ ส่วนแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ตกไข่ทั้งหมดโดยแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไนในอัตรา 3 และ 4 โดส และที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตรา 20, 30 และ 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีอัตราแม่ปลาที่ตกไข่เฉลี่ย 79.2±25.00, 91.7±16.66, 95.8±8.34, 91.7±9.62 และ 91.7±16.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าแม่ปลาที่ได้รับการฉีด

กระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไนและฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยอัตราความเข้มข้นต่างกันทั้ง 5 ชุดการทดลอง มีอัตราแม่ปลาที่ตกไข่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 1) ผลการศึกษาความดกไข่ของปลากดหิน พบว่าปลากดหินความยาวเฉลี่ย 9.1±1.25 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 7.89±2.50 กรัม มีจำนวนไข่ 1,856±529 ฟอง (ตารางผนวกที่ 2) ไข่ปลากดหินมีลักษณะกลม สีเหลืองใส มีสารเหนียวห่อหุ้ม เป็นไข่จมติดกับวัตถุ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.1 มิลลิเมตร

3. การศึกษาอัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักไข่

อัตราการปฏิสนธิในชุดการทดลองที่ฉีดด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน 3 และ 4โคส และฮอร์โมนสังเคราะห์ 25, 30 และ 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีค่าเฉลี่ย 49.1±20.38, 64.2±13.79, 63.0± 13.34, 60.2±31.60 และ 63.1±19.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ผลการวิเคราะห์พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 3)

อัตราการฟักไข่มีค่าเฉลี่ย 48.7±30.73, 47.8±22.28, 65.3±29.00, 76.4±16.23 และ 87.6± 10.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ผลการวิเคราะห์พบว่าการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองที่ระดับความเข้มข้น 3 และ 4 โคส ไม่มีผลทำให้อัตราการฟักไข่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนชุดการทดลองที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้น คือ 25, 30 และ 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ไม่มีผลทำให้อัตราการฟักไข่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกันอย่างไรก็ตามการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัม/กิโลกรัมมีอัตราการฟักไข่สูงกว่าการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองทั้งความเข้มข้น 3 และ 4 โคส (ตารางผนวกที่ 4)

4. คุณภาพของน้ำ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระหว่างการศึกษาอัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟักไข่ มีค่าดังนี้ อุณหภูมิน้ำ 27.0-28.0 ^{0}C อุณหภูมิอากาศ 26.0-30.0 ^{0}C ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ 7.0 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร ความเป็นด่างของน้ำ 150-165 มิลลิกรัม/ลิตร ความกระด้างของน้ำ 135- 150 มิลลิกรัม/ลิตร

ตารางที่ 2 อัตราแม่ปลากดหินที่ตกไข่ (%) จากการทดลองเพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	น้ำหนักพ่อปลา (กรัม)	เฉลี่ย ± SD	น้ำหนักแม่ปลา (กรัม)	เฉลี่ย ± SD	อัตราแม่ปลาตกไข่ (%)	เฉลี่ย ± SD
1	1	9.2±2.77		8.7±1.91		100.0	
ต่อม	2	9.8±2.57	9.5±0.24	11.8±2.21	9.9±1.37	100.0	79.2±25.00[a]
ใต้สมอง	3	9.6±1.16		9.9±2.04		66.7	
3 โคส	4	9.5±2.08		9.2±1.78		50.0	
2	1	7.5±0.93		10.8 ± 2.40		100.0	
ต่อม	2	8.0± 0.66	8.3 ± 0.91	11.9 ± 2.19	11.2±0.49	100.0	91.7±16.66[a]
ใต้สมอง	3	9.6±1.31		11.4 ± 1.55		100.0	
4 โคส	4	8.1±1.58		10.9 ± 1.68		66.7	
3	1	10.0±1.98		11.2±2.29		100.0	
BUS	2	10.6±2.09	10.2±0.31	13.3±3.36	11.9±0.96	100.0	95.8±8.34[a]
25 µg /kg	3	10.1±1.44		11.4±3.13		100.0	
	4	10.6±1.85		11.7±1.67		83.3	
4	1	8.4±0.97		10.2±2.42		83.3	
BUS	2	12.1±2.56	10.0±1.65	13.2±1.90	11.6±1.22	100.0	91.7±9.62[a]
30 µg /kg	3	10.5±1.74		11.8±1.75		100.0	
	4	9.0±1.52		11.3±1.04		83.3	
5	1	9.9±1.87		10.7±2.17		100.0	
BUS	2	12.1±3.21	10.5±1.11	13.5±1.27	12.1±1.15	100.0	91.7±16.66[a]
40 µg /kg	3	10.5±1.32		11.9±1.74		100.0	
	4	9.7±1.41		12.3±3.72		66.7	
ควบคุม	1	6.6±0.88		7.8±0.70		0.0	
	2	8.6±0.87	8.7±1.70	12.3±1.90	9.9±2.03	0.0	ไม่ตกไข่
	3	10.7±1.83		10.7±3.59		0.0	
	4	8.9 ±2.15		8.7±2.06		0.0	

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษกำกับอัตราแม่ปลาที่ตกไข่ที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 อัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักไข่ของปลากดหินที่เพาะพันธุ์โดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	อัตราปฏิสนธิ (%)	อัตราปฏิสนธิ เฉลี่ย±SD	อัตราการฟัก (%)	อัตราการฟัก เฉลี่ย±SD
1	1	67.5	49.1±20.38 [a]	62.7	48.7±30.73 [a]
ต่อม	2	20.5		73.3	
ใต้สมอง	3	49.9		4.1	
3 โดส	4	58.4		54.8	
2	1	75.8	64.2±13.79 [a]	26.6	47.8 ± 22.28 [a]
ต่อม	2	46.2		58.9	
ใต้สมอง	3	74.1		32.1	
4 โดส	4	60.7		73.6	
3	1	72.1	63.0±13.34 [a]	51.8	65.3 ± 29.00 [ab]
BUS	2	57.8		82.5	
25 µg /kg	3	75.5		31.4	
	4	46.7		95.2	
4	1	15.4	60.2±31.60 [a]	100.0	76.4±16.23 [ab]
BUS	2	60.8		71.1	
30 µg /kg	3	80.4		63.0	
	4	84.2		71.5	
5	1	70.0	63.1±19.17 [a]	93.8	87.6±10.16 [b]
BUS	2	42.1		96.3	
40 µg /kg	3	54.2		73.6	
	4	86.2		86.7	

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษกำกับอัตราปฏิสนธิและอัตราการฟักที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันในแนวตั้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5. การพัฒนาการของไข่ปลากดหิน

5.1 ลักษณะของไข่ปลากดหิน ไข่ปลากดหินมีรูปร่างกลม สีเหลืองใส มีสารเหนียวห่อหุ้ม เป็นไข่จมติดกับวัตถุ (adhesive demersal egg) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.1 มิลลิเมตร แต่เมื่อถูกน้ำจะพองตัวออกเล็กน้อย (รูปที่ 3 ก.) ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วจะมีสีใส ส่วนไข่ที่ไม่สมบูรณ์และไม่ได้รับการปฏิสนธิจะทึบแสง มีสีขาวขุ่นและมีขนาดเล็กกว่า

5.2 ระยะคลีเวจ (Cleavage) เริ่มระยะแรกของคลีเวจ เกิดหลังการปฏิสนธิของไข่กับตัวอสุจิ 30 นาที ไซโกต (zygote) จะเริ่มแบ่งเซลล์ในระยะต่าง ๆ ดังนี้

ระยะ 1 เซลล์ เซลล์บลาสโตดิสต์ (blastodisc) เป็นรูปคล้ายหมวกครอบไข่แดง หนาทึบและนูนออกมามีลักษณะใสเป็นเซลล์เดียว (รูปที่ 3 ข.)

ระยะ 2 เซลล์ เกิดหลังจากไข่ปฏิสนธิแล้ว 45 นาที มีการแบ่งเซลล์บลาสโตดิสต์ออกเป็นเซลล์บลาสโตเมียร์ (blastomere) 2 เซลล์ (รูปที่ 3 ค.)

ระยะ 4 เซลล์ เกิดในเวลา 55 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สอง ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 4 เซลล์ (รูปที่ 3 ง.)

ระยะ 8 เซลล์ เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 10 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สาม ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 8 เซลล์ (รูปที่ 3 จ.)

ระยะ 16 เซลล์ เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 20 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่สี่ ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 16 เซลล์ (รูปที่ 3 ฉ.)

ระยะ 32 เซลล์ เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่ห้า ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 32 เซลล์ (รูปที่ 3 ช.)

ระยะ 64 เซลล์ เกิดในเวลา 1 ชั่วโมง 45 นาที มีการแบ่งเซลล์ครั้งที่หก ได้เซลล์บลาสโตเมียร์ 64 เซลล์ (รูปที่ 3 ซ.)

ระยะมอรูลา (Morula) เกิดในเวลา 2 ชั่วโมง 15 นาที เห็นเป็นเซลล์ซ้อนกันหนาและเบียดกันแน่นคล้ายหมวกครอบไข่แดง (รูปที่ 3 ฌ.) เป็นระยะสุดท้ายของคลีเวจ ระยะนี้เริ่มเกิดเนื้อเยื่อ 2 ชั้น เตรียมเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะ บลาสทูลา

5.3 ระยะบลาสทูลา (Blastula) เริ่มเกิดในเวลา 3 ชั่วโมง 20 นาที ระยะนี้ บลาสโตดิสต์มีเซลล์รวมกันอยู่เป็นกลุ่ม หนา นูนขึ้น ลักษณะทรงค่อนข้างสูง เกิดช่องว่างบลาสโตซีล (blastocoel) (รูปที่ 3 ญ.)

5.4 ระยะแกสทรูลา (Gastrula) ระยะแรก (early gastrula) เริ่มเกิดในเวลา 6 ชั่วโมง ขอบของบลาสโตดิสต์จะหนาขึ้นโดยรอบ ทำให้เกิดลักษณะคล้ายวงแหวนล้อมรอบโยล์ค เรียกว่า เยอร์ม ริง (รูปที่ 1 ฎ.) ส่วนของเยอร์ม ริง บริเวณที่จะเป็นหางของคัพภะมีเซลล์มารวมกันหนาแน่นเป็นจุดกำเนิดของคัพภะเรียกว่าเอมบริโอนิก ชิลล์ (embryonic shield) เมื่อเริ่มขบวนการแกสทรูเลชั่น (gastrulation)

เอ็นโดเดิร์มจะเคลื่อนเข้าไปภายในบลาสโตซีลดันให้ช่องนี้มีขนาดเล็กลงโดยมีช่องแกสโตรซีล (gastrocoel) เกิดขึ้นมาแทน ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นช่องทางเดินอาหาร ปากช่องเปิด เรียกว่า บลาสโตพอร์ ระยะหลัง (late gastrula) เกิดในเวลา 7 ชั่วโมง 45 นาทีบลาสโตซีลจะหายไปหมดและบลาสโตพอร์จะค่อยๆ ปิดลง ระยะนี้เซลล์ของบลาสโตเดิร์มจะเคลื่อนตัวแผ่ลงมาด้านล่างคลุมโยล์คลงมาเรื่อยๆ เรียก อีปิโบลี (epiboly) และส่วนของไข่แดงจะถูกคลุมจนหมดเหลือบริเวณแคบๆ เรียก โยล์ค พลัก (yolk plug) (รูปที่ 3 ฎ.)

5.5 ระยะ Early embryo เกิดในเวลา 11 ชั่วโมง ส่วนของ embryonic disc ตอนกลางจะเจริญเร็วกว่าส่วนขอบทำให้ยกตัวสูงขึ้นเกิดเป็นเอมบริโอ ประกอบกับส่วนของท่อประสาทเจริญไปทางด้านยาวเร็วมากทำให้เอมบริโอยาวเป็นรูปทรงกระบอกติดอยู่กับเอ็กซ์ทราเอมบริโอนิก โยล์ค (extra embryonic yolk) ต่อมาทางด้านหน้าและด้านท้ายของเอมบริโอจะยกตัวขึ้นเกิดเป็นปุ่มหัว และ ปุ่มหาง ซึ่งจะเจริญเติบโตเป็นส่วนหัวและหางของตัวอ่อนต่อไป (รูปที่ 3 ฐ.)

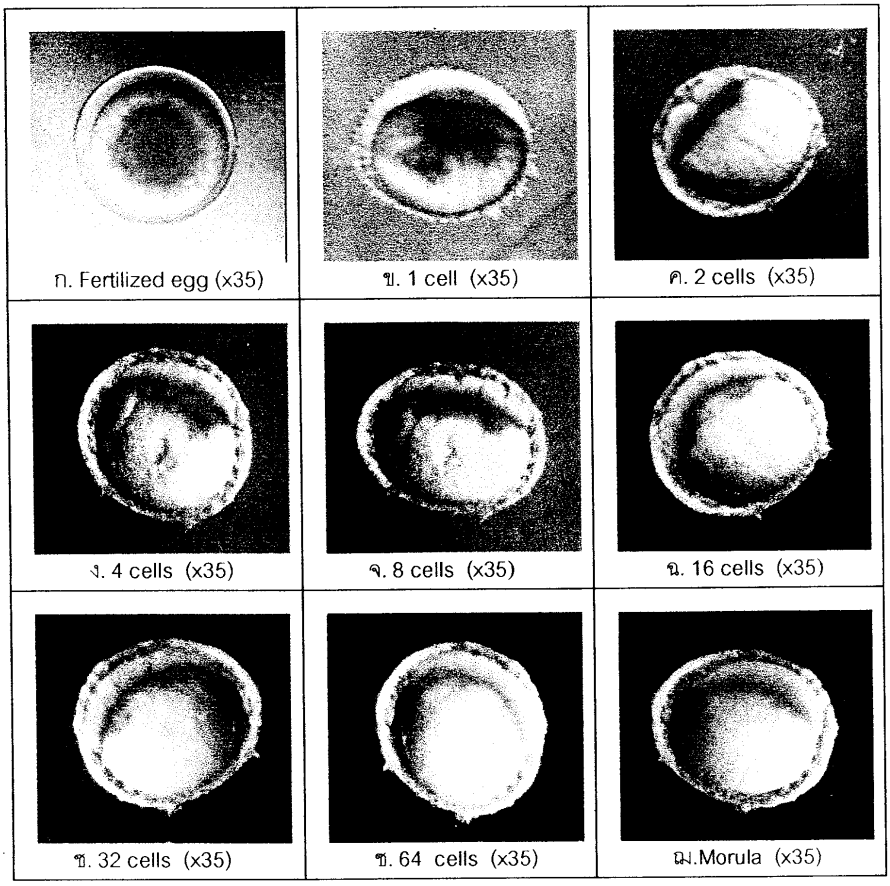
5.6 ระยะลำตัวเริ่มเกิดปล้อง (Somite) เกิดในเวลา 11 ชั่วโมง 20 นาที ระยะนี้จะมีโซไมท์ที่เกิดจากเนื้อเยื่อมีโซเดิร์ม เกิดขึ้น 3 คู่ บริเวณด้านข้างของตัวอ่อน (lateral body fold) (รูปที่ 3 ฑ.)โซไมท์นี้จะเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ เริ่มจากหัวไปยังหางอยู่ 2 ข้างของท่อประสาทซึ่งต่อไปจะเจริญไปเป็นกล้ามเนื้อ

5.7 ระยะเริ่มเกิดโอลแฟคทอรี เพลท (olfactory plate) เกิดในเวลา 12 ชั่วโมง 25 นาที บริเวณทางด้านหน้าของท่อประสาทจะแผ่ขยายออกไปเป็นส่วนของสมองและผนังของสมองบริเวณ (cephalic region) เจริญออกไม่เท่ากัน ซึ่งจะเกิดส่วนคอด (constriction) ขึ้น 2 แนว แบ่งสมองออกเป็น 3 ส่วน คือ สมองส่วนหน้า (fore brain) เป็นส่วนแคบอยู่ปลายด้านหน้า สมองส่วนกลาง (mid brain) มีลักษณะกว้างและสมองส่วนหลัง (hind brain) สั้นกว่าสมองส่วนอื่นๆ สมองส่วนหน้าจะเจริญยื่นออกไปทางด้านข้างจนถึงชั้นเยื่อบุผิวด้านนอกเกิดเป็นออพติค เวสสิเคิล (optic vesicle) ต่อไปจะเจริญเป็นตา (รูปที่ 3 ฒ.)

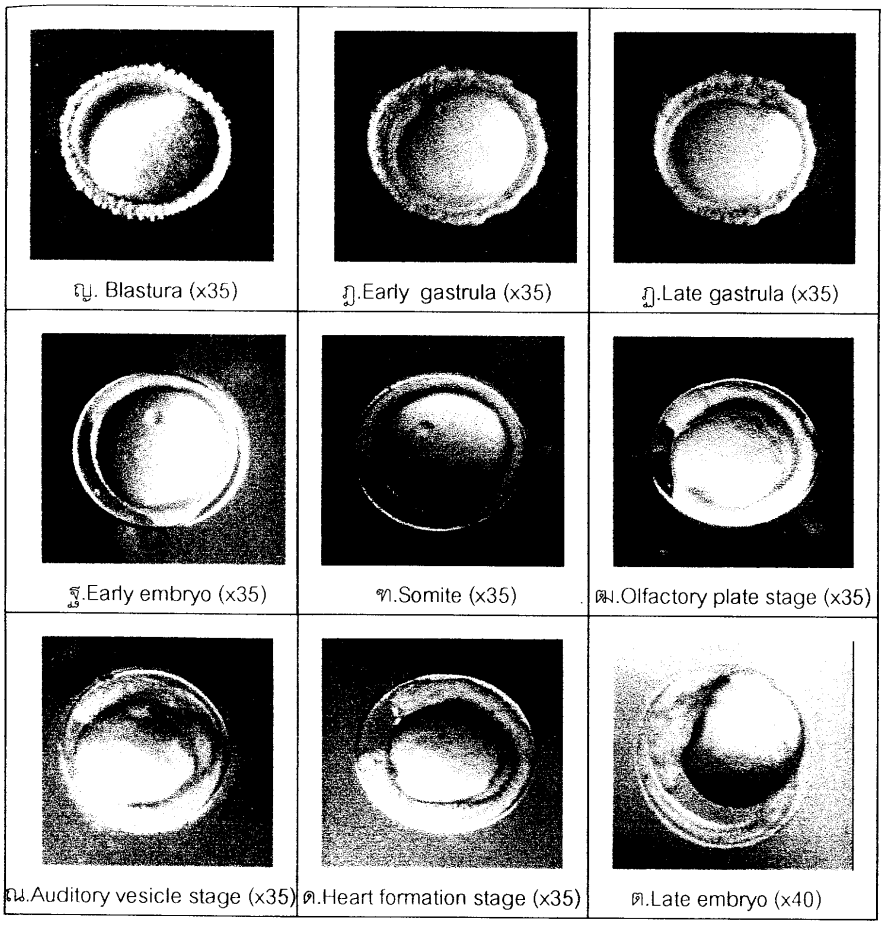
5.8 ระยะเริ่มเกิดออดิทอรี เวสสิเคิล (auditory vesicle) เริ่มเกิดเวลา 15 ชั่วโมง เกิดส่วนที่เป็นหูโดยเซลล์ที่ผิวด้านในของเยื่อบุผิวชั้นนอก บริเวณสมองส่วนที่เจริญขึ้นมามีช่องกลวงเกิดขึ้นภายใน (รูปที่ 3 ณ.)

5.9 ระยะหัวใจเริ่มทำงาน (Heart formation) ภายในเวลา 20 ชั่วโมง สังเกตเห็นหัวใจมีการเต้นเร็วขึ้น เริ่มมีการไหลเวียนของโลหิตจากหัวใจไปยังส่วนล่างของโยล์คเริ่มมีอวัยวะขับถ่ายเกิดขึ้น กล้ามเนื้อเริ่มมีการหดตัว และคลายตัว ตัวอ่อนเจริญเติบโตมากขึ้นโดยส่วนหัวและลำตัวค่อยๆ เหยียดตรงออกมา ส่วนหางขยายกว้างและเหยียดยาวเลยจากโยล์คออกไป (รูปที่ 3 ด.)

5.10 ระยะ Late embryo เริ่มเกิดในเวลา 22 ชั่วโมง ตัวอ่อนเจริญเติบโตมากขึ้น ส่วนหาง ยาวมีการเคลื่อนไหวโดยสะบัดหางไปมาเร็วและแรงขึ้นจนในที่สุดผนังไข่จะแตกออก ตัวอ่อนจะดิ้นหลุดออกมาภายในเวลา 26 ชั่วโมง โดยเอาส่วนหางออกมาก่อนแล้วลำตัวและส่วนหัวจึงหลุดจากเปลือกไข่ (รูปที่ 3 ต.)



รูปที่ 3 พัฒนาการของคัพภะปลากดหิน



รูปที่ 3 พัฒนาการของคัพภะปลากดหิน (ต่อ)

6. การพัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อน

6.1 ลูกปลาวัยอ่อนระยะก่อนถุงไข่แดงยุบ (Prolarva stage or Yolk sac larva)

ลูกปลากดหินที่เพิ่งฟักออกเป็นตัว มีขนาดความยาว 3.5 มิลลิเมตร ถุงไข่แดงขนาดใหญ่มีลักษณะกลมรีอยู่ส่วนล่างของลำตัว หัวยังไม่แยกออกมาเด่นชัด ตาเริ่มพัฒนาขึ้นมาแต่ยังไม่มีสีดำ หนวดเริ่มพัฒนาขึ้นมา รอบๆ ลำตัวมีเยื่อครีบ (fin fold) เกิดขึ้นยังไม่แยกออกเป็นเส้นครีบต่างๆ ลำตัว สมองเห็นโนโตคอร์ดเป็นแท่งยาวตลอดลำตัวลักษณะตรงตอนปลายโค้งขึ้นเล็กน้อย ตามลำตัวเห็นกล้ามเนื้อเป็นบั้งๆ (segment) ชัดเจน ท่อทางเดินอาหารเป็นท่อตรงสั้นและมีช่องเปิดบริเวณท้ายลำตัว เริ่มเห็นปุ่มหนวด (barbel bud) เห็นกล่องหูชัดเจน ปากเริ่มแบ่งเป็นริมฝีปากบน (upper jaws) และริมฝีปากล่าง (lower jaws) แต่ยังปิดอยู่ ลูกปลามีลำตัวใสเห็นอวัยวะภายในได้ชัดเจน (รูปที่ 4 ก.)

ลูกปลากดหินอายุ 1 วัน มีขนาดความยาว 5.0 มิลลิเมตร ถุงไข่แดงมีขนาดเล็กลงมากเริ่มเห็นเม็ดสีบริเวณไข่แดง หัวแยกออกจากถุงไข่แดงเด่นชัด ปากเริ่มพัฒนา จุดสีเกิดขึ้นบนหัว และด้านบนด้านล่างของลำตัว ส่วนหางแผ่กว้างขึ้น เยื่อครีบที่คลุมลำตัวเริ่มคอดเข้าแบ่งส่วนหางออกเป็นส่วนของครีบต่างๆ ครีบหูเกิดขึ้นแต่ยังไม่มีก้านครีบ หนวด 3 คู่ ได้พัฒนาขึ้นมาชัดเจน ตามีเม็ดสีเกิดขึ้นเห็นเป็นจุดดำ (รูปที่ 4 ข.)

ลูกปลากดหินอายุ 2 วัน มีขนาดความยาว 5.4 มิลลิเมตร ถุงไข่แดงมีขนาดเล็กลงมากจนเกือบหมดไป เริ่มเห็นเม็ดสีบริเวณไข่แดง จุดสีบนลำตัวเพิ่มมากขึ้น เยื่อครีบที่คลุมลำตัวเริ่มคอดเข้าแบ่งส่วนหางออกเป็นส่วนของครีบต่างๆ หนวดพัฒนาขึ้นมาก หัวใจอยู่ได้เหงือกมีระบบไหลเวียนโลหิตผ่านหัวใจเห็นได้ชัดเจน ปากเริ่มแยกออก กล้ามเนื้อเห็นเป็นบั้งชัดเจน ทางเดินอาหารและช่องเปิดทวารเห็นชัด (รูปที่ 4 ค.)

ลูกปลากดหินอายุ 3 วัน มีขนาดความยาว 6.6 มิลลิเมตร ถุงไข่แดงยุบหมด ส่วนหัวขยายใหญ่ขึ้น ลำตัวเรียวยาวไปทางหาง เริ่มเกิดเม็ดสีดำบริเวณหัวและลำตัว ปากแยกออกจากกันและเปิดออกกว้าง ครีบหูเจริญดี ระบบทางเดินอาหารเริ่มทำงานมีช่องเปิดออกภายนอกตรงบริเวณส่วนต้นของเยื่อครีบก้น (anal fin fold) ลูกปลาเริ่มกินอาหาร เยื่อครีบที่คลุมลำตัวเริ่มคอดเข้าแบ่งออกเป็นส่วนของครีบหลัง ครีบหาง และครีบก้นชัดเจน เริ่มเห็นส่วนที่จะเจริญเป็นก้านครีบ (รูปที่ 4 ง.)

6.2 ระยะลูกปลาหลังถุงไข่แดงยุบ (Postlarva stage)

ลูกปลากดหินอายุ 4 วัน มีขนาดความยาว 7.8 มิลลิเมตร ระบบทางเดินอาหารมีขนาดใหญ่ขึ้น กระเพาะอาหารขยายโตขึ้นเห็นได้ชัดเจน ส่วนหัวและบริเวณลำตัวเกิดเม็ดสีจำนวนมาก ครีบหางเว้ามีก้านครีบเจริญดีแบ่งเป็นข้อๆ ชัดเจน ก้านครีบก้นยังไม่แบ่งเป็นข้อ ครีบหลังเริ่มเจริญขึ้นแบ่งเป็นส่วนที่จะเจริญเป็นครีบหลังแต่ยังไม่เกิดก้านครีบ (รูปที่ 5 ก.)

ลูกปลากดหินอายุ 5 วัน มีขนาดความยาว 8.4 มิลลิเมตร อวัยวะต่างๆ เริ่มพัฒนาขึ้น บริเวณลำตัวและหางเริ่มเกิดจุดสีเพิ่มมากขึ้น รูจมูกเริ่มพัฒนาขึ้นมาให้เห็น กระดูกหาง (urostyle) โค้งงอขึ้นพร้อมกับก้านครีบหางเริ่มพัฒนาขึ้นมา เยื่อครีบเปลี่ยนรูปไปตามแต่ลักษณะของครีบต่างๆ ฐานครีบก้นพัฒนาขึ้นมาแต่ยังไม่มีก้านครีบ ครีบหูเกิดก้านครีบชัดเจน ลูกปลามีนิสัยชอบอยู่รวมกลุ่มตามมุมตู้ในเวลากลางวันและออกว่ายน้ำหากินอาหารกระจายไปทั่วตู้ในเวลากลางคืน (รูปที่ 5 ข.)

ลูกปลากดหินอายุ 7 วัน มีขนาดความยาว 9.0 มิลลิเมตร ครีบก้นเกิดก้านครีบและแยกออกจากกันอย่างชัดเจน เม็ดสีเกิดมากบริเวณหัว ลำตัวเริ่มออกลายจางๆ (รูปที่ 5 ค.)

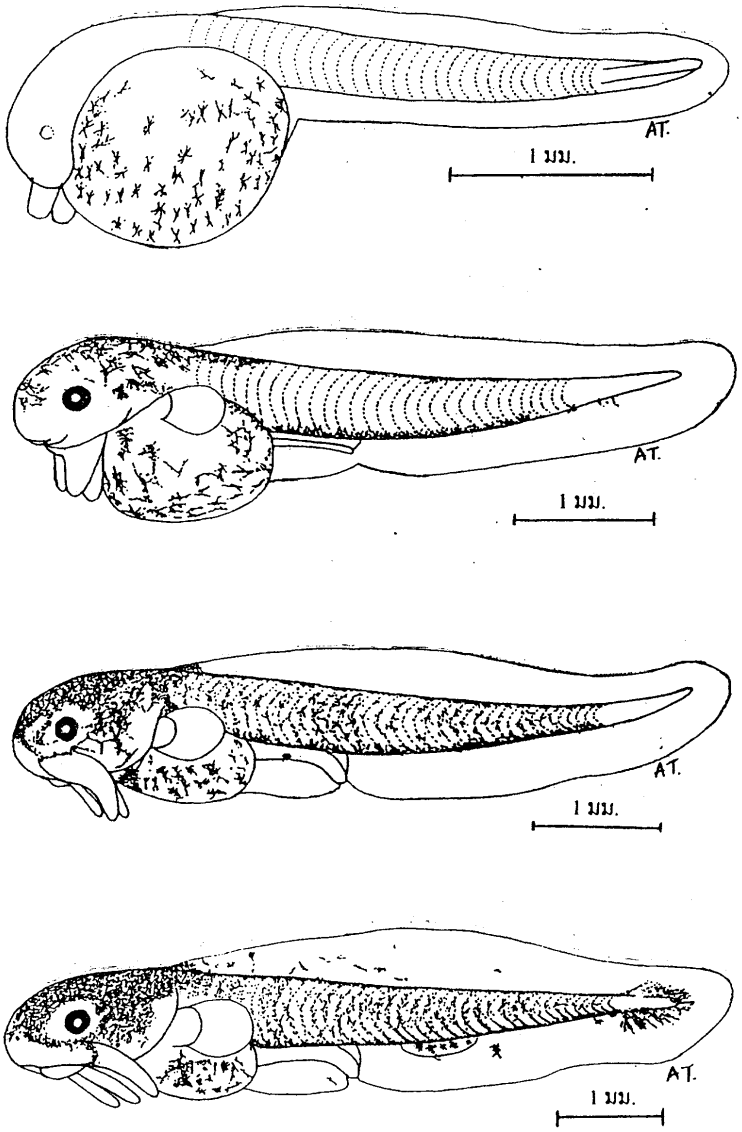
ลูกปลากดหินอายุ 9 วัน มีขนาดความยาว 9.4 มิลลิเมตร ครีบหูเจริญดีขึ้น ส่วนของครีบต่างๆ แยกออกจากกันอย่างชัดเจน ครีบหลัง ครีบก้นพัฒนาขึ้นมาจากเยื่อครีบแล้ว ตลอดจนครีบหางพัฒนาครบ สิ่งที่เพิ่งพัฒนาขึ้นมาคือครีบท้องลำตัวหนาขึ้นเริ่มทึบแสง เม็ดสีเกิดมากบริเวณหัว ลำตัว และส่วนหาง (รูปที่ 5 ง.)

ลูกปลากดหินอายุ 12 วัน มีขนาดความยาว 10.4 มิลลิเมตร เยื่อครีบส่วนที่จะเจริญเป็นครีบไขมันเริ่มแยกออกจากส่วนครีบหาง ครีบท้องเจริญขึ้นแต่ยังไม่เกิดก้านครีบ ครีบหางเว้าลึกมากขึ้น เกิดลายบริเวณหัวและลำตัวชัดเจน เม็ดสีเกิดบริเวณส่วนของโคนครีบต่างๆ มากขึ้น เริ่มเกิดปุ่มหนวดที่จมูกบริเวณส่วนหัว ซึ่งเป็นหนวดคู่ที่ 4 ครีบหลังเริ่มเกิดก้านครีบแข็ง (รูปที่ 5 จ.)

ลูกปลากดหินอายุ 17 วัน มีขนาดความยาว 12.6 มิลลิเมตร หนวดคู่ที่จมูกเจริญขึ้น ส่วนของครีบต่างๆ เกิดเม็ดสีเพิ่มมากขึ้น ก้านครีบท้องเจริญดีขึ้น ส่วนหัวและลำตัวเริ่มออกลายชัดเจน(รูปที่ 5 ฉ.)

ลูกปลากดหินอายุ 23 วัน มีขนาดความยาว 13.6 มิลลิเมตร หนวดเจริญครบทุกคู่ ก้านครีบต่างๆ รวมทั้งจุดสีที่คล้ายกับตัวเต็มวัยได้เจริญขึ้นมาครบ (รูปที่ 5 ช.)

ลูกปลากดหินอายุ 50 วัน มีขนาดความยาว 31.4 มิลลิเมตร มีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย (รูปที่ 5 ซ.)



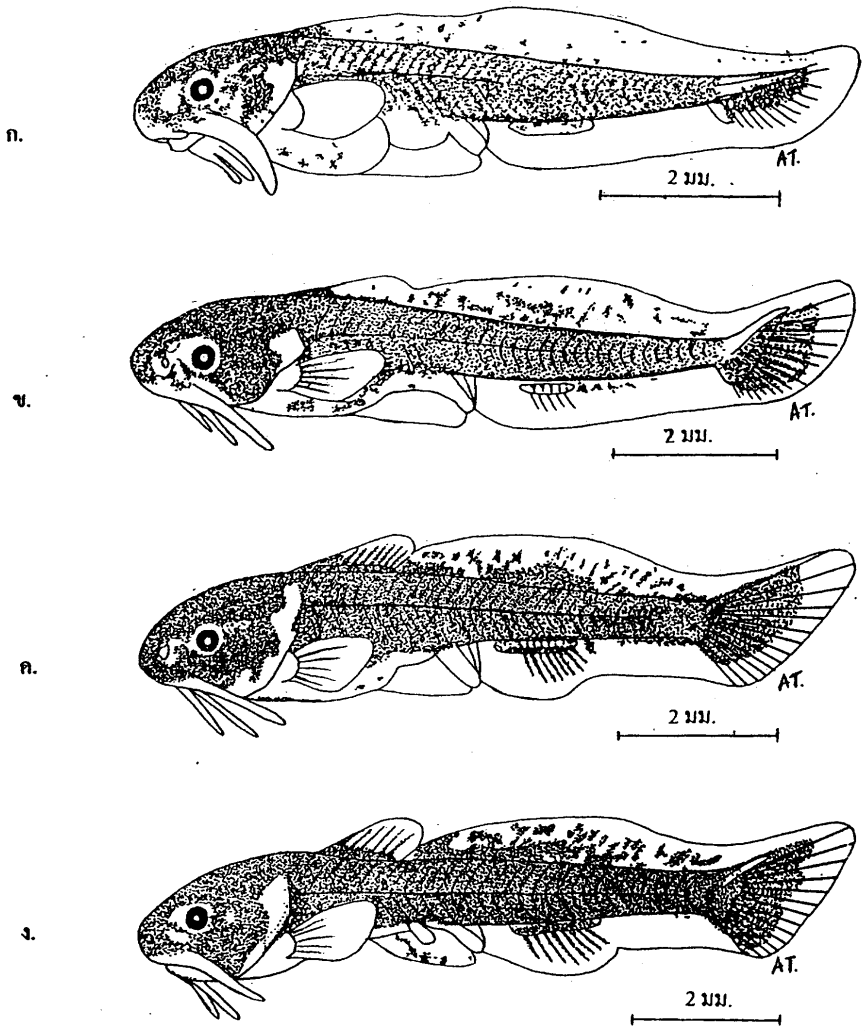
รูปที่ 4 พัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อนระยะก่อนถุงไข่แดงยุบ

ก. ลูกปลากดหินฟักออกเป็นตัวใหม่ ๆ ขนาดยาวประมาณ 3.5 มิลลิเมตร

ข. ลูกปลากดหิน อายุ 1 วัน ขนาดยาวประมาณ 5.0 มิลลิเมตร

ค. ลูกปลากดหิน อายุ 2 วัน ขนาดยาวประมาณ 5.4 มิลลิเมตร

ง. ลูกปลากดหิน อายุ 3 วัน ขนาดยาวประมาณ 6.6 มิลลิเมตร



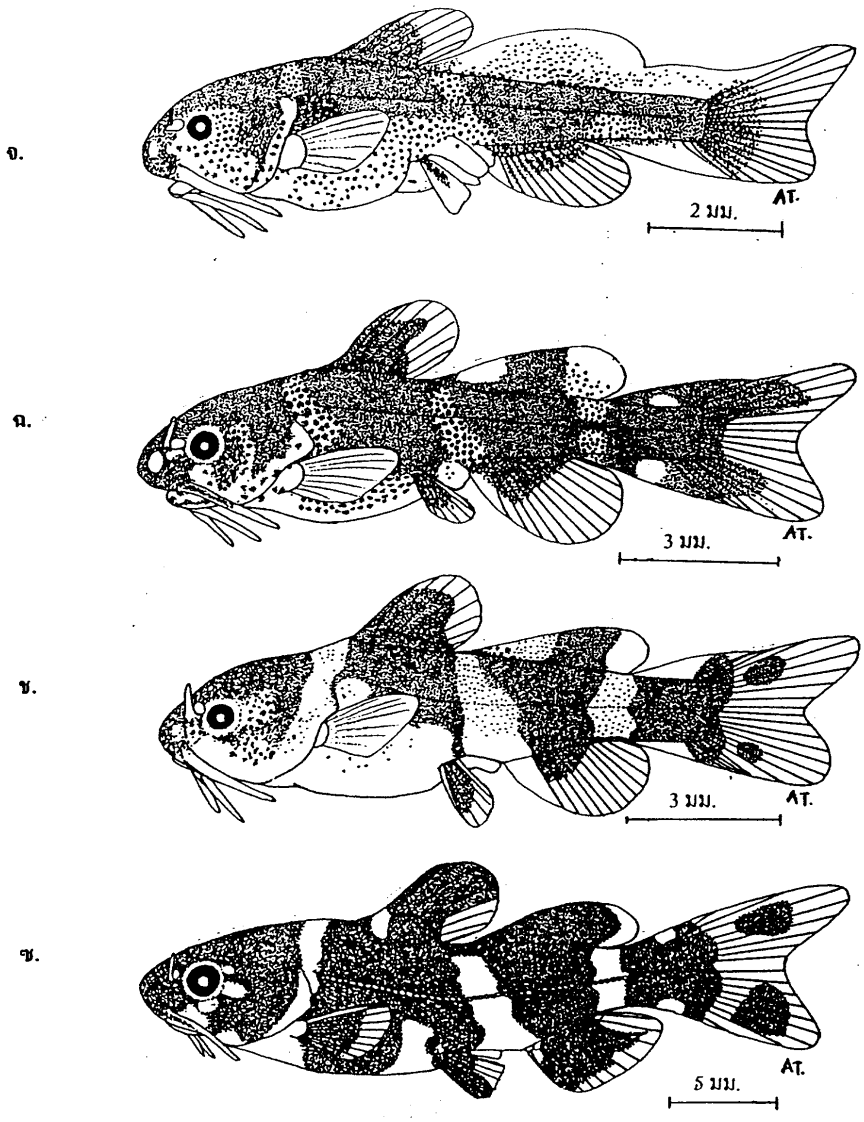
รูปที่ 5 พัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อนระยะหลังถุงไข่แดงยุบ

ก. ลูกปลากดหิน อายุ 4 วัน ขนาดยาวประมาณ 7.8 มิลลิเมตร

ข. ลูกปลากดหิน อายุ 5 วัน ขนาดยาวประมาณ 8.4 มิลลิเมตร

ค. ลูกปลากดหิน อายุ 7 วัน ขนาดยาวประมาณ 9.0 มิลลิเมตร

ง. ลูกปลากดหิน อายุ 9 วัน ขนาดยาวประมาณ 9.4 มิลลิเมตร



รูปที่ 5 พัฒนาการของลูกปลากดหินวัยอ่อนระยะหลังถุงไข่แดงยุบ (ต่อ)

จ. ลูกปลากดหิน อายุ 12 วัน ขนาดยาวประมาณ 10.4 มิลลิเมตร

ฉ. ลูกปลากดหิน อายุ 17 วัน ขนาดยาวประมาณ 12.6 มิลลิเมตร

ช. ลูกปลากดหิน อายุ 23 วัน ขนาดยาวประมาณ 13.6 มิลลิเมตร

ซ. ลูกปลากดหิน อายุ 50 วัน ขนาดยาวประมาณ 31.4 มิลลิเมตร.

สรุปและวิจารณ์ผล

จากผลการทดลองเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยอัตราความเข้มข้นต่างๆ กันในครั้งนี้ พบว่าพ่อแม่พันธุ์ปลากดหินที่รวบรวมจากธรรมชาติสามารถนำมาเลี้ยงให้มีความสมบูรณ์เพศในบ่อซีเมนต์ด้วยการใช้อาหารสำเร็จรูปชนิดผงจมน้ำโปรตีนไม่ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ปั้นเป็นก้อนให้กินในอัตรา 2-3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลาต่อวัน และให้ไรแดงเป็นอาหารเสริมด้วย สามารถนำมาเพาะพันธุ์โดยวิธีฉีดฮอร์โมนกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ และรีดไข่ผสมเทียมได้ในเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายนโดยแม่ปลาที่สมบูรณ์เพศจะมีส่วนท้องอูมและอ่อนนิ่ม อวัยวะเพศบวมมีสีแดงเรื่อๆ มีน้ำหนักตั้งแต่ 7.8±0.70 กรัมขึ้นไป ส่วนพ่อพันธุ์มีน้ำหนัก 6.6±0.88 กรัมขึ้นไป ผลการใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน และฮอร์โมนสังเคราะห์ฉีดกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ทั้ง 5 ชุดการทดลองมีจำนวนแม่ปลาตกไข่และอัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่อัตราการฟักไข่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) อัตราการฟักไข่จากแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยที่ชุดการทดลองที่ฉีดด้วย BUS 10+30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีอัตราการฟักไข่สูงกว่าแม่ปลาที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองทั้ง 2 ชุดการทดลอง ($p<0.05$) ซึ่ง Peter *et al.* (1986) อธิบายว่าการฉีด buserelin ร่วมกับ domperidone เป็นการกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองสร้างและหลั่งโกนาโดโทรปินที่มีผลต่อการตกไข่เพียงอย่างเดียว ส่วนการฉีดด้วยต่อมใต้สมองนั้นจะเป็นการเพิ่มฮอร์โมนหลายๆ ชนิดที่สร้างและสะสมอยู่ที่ต่อมใต้สมองนอกเหนือจาก GtH ที่สำคัญ เช่น growth hormone และ thyrotropin ซึ่งอาจมีผลต่อพัฒนาการของไข่ปลาและลูกปลา โดยเฉพาะฮอร์โมน thyrotropin ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมการหลั่ง thyroid hormone ที่มีผลต่อการ metamorphosis ในลูกปลาวัยอ่อน (Inui and Miwa, 1985) การฉีดด้วยต่อมใต้สมองจึงอาจเป็นการเพิ่มปริมาณ Thyroid hormone ให้สูงขึ้นจนอาจมีผลในการเร่งการพัฒนาของไข่ปลาจนผิดปกติ และมีผลทำให้อัตราฟักของไข่ปลาลดลง (นฤพล, 2537) และอุทัยรัตน์ (2531) ได้กล่าวว่าการฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองในความเข้มข้นที่สูง (overdose) จะมีผลให้รังไข่ถูกเร่งมากเกินไปทำให้คุณภาพของไข่ที่ได้ต่ำลง เนื่องจากไข่หลุดจาก follicle ก่อนที่จะพัฒนาถึงขั้นสุดท้ายมีผลทำให้อัตราการฟักของไข่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับวิทย์ (2521) ที่พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาตะเพียนขาวด้วยวิธีการฉีดต่อมใต้สมองที่ได้มาจากปลาไนหรือปลาจีนความเข้มข้นระหว่าง 1.5-2 โดส เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม ถ้าหากเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการฟักของไข่ปลาต่ำลงส่วนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ เพาะพันธุ์ปลากดหินในการทดลองครั้งนี้ ที่ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันทั้งอัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟักไข่นั้นสอดคล้องกับรายงานของนฤพล (2537) ที่ใช้ความเข้มข้นของ buserelin ที่สูงกว่าปกติ 10, 30 หรือ 100 เท่า ไม่มีผลกระทบต่อการวางไข่ การตายของแม่ปลา อัตราผสม อัตราฟัก และอัตรารอดตายของลูกปลาตะเพียนขาววัยอ่อนถึงระยะที่ถุงไข่แดงยุบไป

แล้ว 3 วัน การใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองในการเพาะพันธุ์ปลากดหินนั้นสามารถใช้ได้ในอัตราการฉีดครั้งแรก 1 โดส เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สอง ในอัตรา 2-3 โดส สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมได้ภายในเวลา 5-6 ชั่วโมง หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สอง ส่วนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราครั้งแรก 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สองในอัตรา 15-30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในการฉีดฮอร์โมนทั้งสองครั้งใช้ยาเสริมฤทธิ์ร่วมด้วย ในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ทุกครั้ง สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมได้ภายในเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ถึง 5 ชั่วโมง 30 นาที หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สอง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณการใช้ฮอร์โมนทั้งสองชนิดในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดต่างๆ ที่รายงานโดย Taevaratmaneekul *et al.*(1993) และเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในครอบครัวเดียวกันที่สามารถเพาะพันธุ์ได้โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตราใกล้เคียงกันฉีดกระตุ้นให้แม่ปลาวางไข่และนำมารีดไข่ผสมเทียมได้ เช่น ปลาแขยงข้างลาย (*Mystus vittatus*) ปลากดแก้ว (*Mystus wyckioides*), ปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) โดยชลธิศักดิ์ และคณะ (2536) เพาะพันธุ์ปลาแขยงข้างลายโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ ในอัตราครั้งแรก 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สอง ในอัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ ในอัตราครั้งแรก 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สอง ในอัตรา 25 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในการฉีดฮอร์โมนทั้งสองครั้งใช้ยาเสริมฤทธิ์ร่วมด้วยในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัมทุกครั้งสามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมและเพาะฟักลูกปลาออกมาได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สอง วิศณุพร และคณะ (2537) เพาะพันธุ์ปลากดแก้วโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ ในอัตราครั้งแรก 5ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สอง ในอัตรา 15 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ ในอัตรา 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมและเพาะฟักลูกปลาออกมาได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สองในระยะเวลา 6.30-9.30 ชั่วโมง และวสันต์ และ สุขาวดี (2536) เพาะพันธุ์ปลากดเหลืองโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอัตราครั้งแรก 7 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ ในอัตรา 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม เว้น 6 ชั่วโมง ครั้งที่สองในอัตรา 21 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ในอัตรา 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม สามารถนำมารีดไข่ผสมเทียมได้หลังจากการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สองในระยะเวลา 5-7 ชั่วโมง

การพัฒนาของไข่และลูกปลากดหินวัยอ่อน หลังจากผสมแล้วไข่ปลากดหินมีรูปร่างกลม สีเหลืองใส มีสารเหนียวห่อหุ้ม เป็นไข่จมติดกับวัตถุ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 1.0-1.1 มิลลิเมตร สิ้นสุดระยะคลีเวจและพัฒนาถึงขั้นมอรูลาในเวลา 2 ชั่วโมง 15 นาที ระยะบลาสทูลาในเวลา 3 ชั่วโมง 20 นาที และสิ้นสุดระยะแกสทรูลาในเวลา 11 ชั่วโมง และพัฒนาจนฟักออกเป็นตัวในเวลา 26 ชั่วโมง ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 27.0-28.0 ^{o}C ซึ่งใช้ระยะเวลาในการฟักออกเป็นตัวนานกว่าไข่ปลาแขยงข้างลายที่ใช้เวลาฟัก 20-21 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 27.0-29.0 ^{o}C (ชลธิศักดิ์ และคณะ, 2536) แต่ใช้ระยะเวลาในการฟักออกเป็นตัวเร็วกว่าไข่ปลากดเหลืองที่ใช้เวลาฟัก 27 ชั่วโมง 30 นาที (วสันต์ และ สุขาวดี, 2536) และปลากดแก้วที่

ใช้เวลาฟัก 30-32 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิน้ำ 27.0-29.0 ^{0}C (วิศณุพร และคณะ, 2537) ลูกปลากดหินที่ฟักออกเป็นตัวมีขนาดความยาว 3.5 มิลลิเมตร ใช้เวลา 3 วัน จึงดูดซับไข่แดงหมดแล้วจึงเริ่มกินไรแดงเป็นอาหาร มีรูปร่างเหมือนตัวเต็มวัยเมื่อลูกปลามีอายุ 50 วัน มีขนาดความยาว 31.4 มิลลิเมตร

การศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากดหินโดยวิธีฉีดฮอร์โมนในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการส่งเสริมให้มีการเพาะขยายพันธุ์ปลากดหินเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสมควรที่จะได้มีการศึกษาข้อมูลทางวิชาการในด้านต่างๆ อย่างต่อเนื่อง เช่น การศึกษาข้อมูลการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน การอนุบาลและการเลี้ยงปลากดหิน การเลี้ยงพ่อ-แม่พันธุ์ การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลากดหินให้มากขึ้นและศึกษาข้อมูลความต้องการด้านการตลาดเพื่อรองรับกับการที่จะวางแผนการส่งเสริมให้ปลากดหินเข้าสู่ตลาดปลาสวยงามเพื่อพัฒนาธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม และการอนุรักษ์พันธุ์ปลากดหินไม่ให้สูญพันธุ์ไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

คณะประมง. 2528. คู่มือวิเคราะห์พรรณปลา. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 273 หน้า.

ชลธิศักดิ์ ชาวปากน้ำ, พิภพ กมลรัตน์, วิศิษฏ์ ขวัญดี และสุพรม พวงอินทร์. 2536. การเพาะพันธุ์ปลาแขยงข้างลาย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2536. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 10 หน้า.

นฤพล สุขุมาสวิน และ วัฒนะ ลีลาภัทร.2531.การใช้ Gonadotropin Releasing Hormone Analoque ร่วมกับ Domperidone สำหรับเพาะพันธุ์ปลาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.โครงการพัฒนาประมงภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NFP/FECH.Report 15). กรมประมง. 31 หน้า.

นฤพล สุขุมาลสวิน. 2537. ผลของความเข้มข้นที่สูงมากของ Buserelin ต่อการวางไข่ของปลาตะเพียนขาว. วารสารการประมง 47(5): 415-419.

นฤพล สุขุมาลสวิน. 2538.โคนาโดโทรปินของปลากระดูกแข็ง.วารสารการประมง 48(2): 139-143.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ สุจินต์ หนูขวัญ. 2539. การทดสอบประสิทธิภาพของฮอร์โมนสังเคราะห์ชนิดต่างๆ ในการเพาะพันธุ์ปลาน้ำจืด.เอกสารวิชาการฉบับที่ 182. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด , กรมประมง. 23 หน้า.

วิทย์ ธารชลานุกิจ. 2521. การเพาะปลาตะเพียนขาว. เอกสารคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 37 หน้า.

วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์, ยงยุทธ ทักษิญ และ สุภาพ แก้วละเอียด. 2537. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 27/2537. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 31 หน้า.

วสันต์ ศรีวัฒนะ และ สุขาวดี กสิสุวรรณ. 2536. การเพาะและอนุบาลปลากดเหลือง, หน้า. 589 - 595. ในรายงานการสัมมนาวิชาการ ประจำปี 2536 กรมประมง.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536.การเพาะพันธุ์ปลา.สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.195 หน้า.

วัฒนะ ลีลาภัทร. 2532.การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์และยาเสริมฤทธิ์ในการเพาะพันธุ์ปลา.วารสารการประมง 42(4): 275-278.

สันทนา ดวงสวัสดิ์ และ ทัศพล กระจ่างตารา. 2537. ความหลากหลายของชนิดและชีววิทยาบางประการของปลาในอ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภา จังหวัดสุราษฎร์ธานี. เอกสารวิชาการฉบับที่ 162. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด,กรมประมง. 188 หน้า.

สุพร สุทธานุรักษ์ และยอดรักษ์ ปลอดอ่อน. 2535. การเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์(LHRHa) และฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง (Pituitary gland) ในการผสมเทียมปลา. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดร้อยเอ็ด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 36 หน้า.

สมปอง วิชญวิเชียร. 2540. ธุรกิจปลาสวยงามจากร้านค้าบนฟุตบาทกลายเป็นธุรกิจส่งออกระดับชาติ. ข่าวกรมประมง 21(12) : 7-9.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2531. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 148 หน้า.

อำนวย แท่นทอง และวสันต์ ศรีวัฒนะ. 2525. รายงานประจำปี 2525 สถานีประมงจังหวัดชัยนาท กองประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 53-61.

Donaldson, E.M. and G.A.Hunter.1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation. pp. 351-403, *In* Hoar, W.S.,D.J. Randall and E.M. Donaldson.Fish Physiology Vol. IX B. Academic Press,Inc.,New York.

Idler,D.R. and T.B.Ng.1983.Teleost gonadotropin: Isolation, biochemistry, and function. pp.187-222, *In* Hoar,W.S.,D.J.Randall and E.M.Donaldson. Fish Physiology Vol. IX B. Academic Press, Inc., New York.

Inui, Y. and S. Miwa. 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of founder larvae. Gen. Comp. Endocrinal. 60 : 450-454.

Nelson, J.S. 1994. Fishes of the World 3rd. ed., John Wiley & Sons, New York. 600 p.

Peter, R.E, J.P. Chang, C.S. Nahorniak, R.J. Omeljaniuk, M. Sokolowska, S.H. Shih and R. Billard. 1986. Interactions of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. Recent Prog. Horm. Res. 42 : 513-548.

Smith, H.M. 1945. The Freshwater Fishes of Siam, or Thailand. United States Government Printing Office, Washington. 622 p.

Taevarutmaneekul, P., S. Nukhan and K. Lawanyawut. 1993. Induces Spawning of Some Economics Freshwater Fish Species of Thailand. National Inland Fisheries Institute, Department of Fisheries, Thailand. 32 p.

Woynarovich,E.and L.Horvath.1980.The artificial propagation of warm water finfishes.FAO Fisheries Technical Paper No. 201.FAO,Rome.183 p.

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราแม่ปลากดหินที่ตกไข่

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F (P-value)
Main Effects	855.317	7	122.188	4.137	.015
TREATMENT	210.242	4	52.561	1.780	.198
BLOCK	645.074	3	215.025	7.281	.005
Explained	855.317	7	122.188	4.137	.015
Residual	354.383	12	29.532		
Total	1,209.700	19	63.668		

ตารางผนวกที่ 2 ความดกไข่ปลากดหิน จากสูตร $GSI = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่}}{(\text{น้ำหนักตัวปลา} - \text{น้ำหนักรังไข่})} \times 100$

ตัวที่	ความยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักรังไข่ (กรัม)	จำนวนไข่	ค่า GSI
1	10.9	11.87	1.75	2,675	17.29
2	8.7	6.85	1.05	1,701	18.10
3	7.7	5.57	1.11	1,835	24.89
4	9.7	10.10	1.86	2,499	22.57
5	8.4	5.55	0.85	1,394	18.09
6	10.5	10.88	1.95	2,340	21.84
7	9.1	8.06	1.37	1,807	20.48
8	7.1	5.28	0.73	1,100	16.04
9	10.2	9.31	1.27	1,963	15.80
10	8.3	5.46	0.75	1,246	15.92
เฉลี่ย	9.1±1.25	7.89±2.50	1.27±0.46	1,856±529	19.10±3.17

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการปฏิสนธิ

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F (P-value)
Main Effects	830.823	7	118.689	.759	.631
TREATMENT	240.678	4	60.169	.385	.816
BLOCK	590.145	3	196.715	1.258	.333
Explained	830.823	7	118.689	.759	.631
Residual	1,877.160	12	156.430		
Total	2,707.983	19	142.525		

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการฟักไข่

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F (P-value)
Main Effects	4,056.874	7	579.553	4.521	.011
TREATMENT	2,171.986	4	542.996	4.236	.023
BLOCK	1,884.888	3	628.296	4.901	.019
Explained	4,056.874	7	579.553	4.521	.011
Residual	1,538.250	12	128.187		
Total	5,595.123	19	294.480		

ตารางผนวกที่ 5 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างอัตราการฟักไข่ของปลากดหินที่เพาะพันธุ์ด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาไน และฮอร์โมนสังเคราะห์ ทั้ง 5 ชุดการทดลอง โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ชุดการทดลอง	อัตราการฟักไข่ (%)
ต่อมใต้สมอง 3 โคส	48.7 [a]
ต่อมใต้สมอง 4 โคส	47.8 [a]
BUS 25 µg/kg	65.3 [ab]
BUS 30 µg/kg	76.4 [ab]
BUS 40 µg/kg	87.6 [b]

หมายเหตุ อักษรกำกับอัตราการฟักไข่ที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ