การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ Buserelin Acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ Domperidone (DOM) เพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

The Use of Synthetic Hormone Buserelin Acetate (BUS) in Combination with the Synergistic Domperidone (DOM) to Induce the Spawning of Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*)

อุทร เจริญเดช* และ วรวุฒิ เกิดปราง

Uton Charoendat* and Worawut Koedprang

Received: 20 June 2022, Revised: 18 November 2022, Accepted: 11 May 2023

บทคัดย่อ

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) เพื่อการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) ได้ถูกศึกษาโดยใช้วิธีการผสมอาหาร การกรอกปาก และการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ปลาได้ถูกเพาะพันธุ์ในตู้กระจกที่เลียนแบบธรรมชาติด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว พบว่า ปลาซิวข้างขวานเล็กไม่วางไข่หลังจากให้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารและการกรอกปาก แต่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ได้ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และให้ปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ซึ่งปลาได้วางไข่หลังการฉีดฮอร์โมนที่เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และเวลาประมาณ 19 ชั่วโมงต่อมา ลูกปลาจึงเริ่มฟักเป็นตัว การเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว นั้นให้ผลใกล้เคียงกัน โดยได้จำนวนไข่รวมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 50.25±13.45 และ 55.50±6.61 ฟอง อัตราปฏิสนธิเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 81.25±1.69 และ 81.12±1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.40±1.56 และ 79.45±1.24 เปอร์เซ็นต์ จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ยหลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วันมีค่าเท่ากับ 19.25±4.65 และ 21.75±2.63 ตัว และอัตรารอดของลูกปลาเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 59.73±1.20 และ 60.81±1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ พบว่าปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์เพียงคู่เดียวในทุกตู้ที่ใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ไม่พบการจับคู่กันในสัดส่วนเพศแบบ 1:2 ตัว และ 1:3 ตัว เมื่อพิจารณาในส่วนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเป็นตัวหลัก ดังนั้น สัดส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ปลาที่เหมาะสมจึงอยู่ที่ 1:1

คำสำคัญ: ปลาซิวข้างขวานเล็ก, ฮอร์โมนสังเคราะห์, การวางไข่

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): aonuton@hotmail.com

ABSTRACT

The administration of the synthetic hormone buserelin acetate (BUS) in combination with the synergistic domperidone (DOM) to induce the spawning of Lambchop rasbora (*Trigonostigma espei*) was studied using the methods of in-feed medication, gavage, and intramuscular injection. Fish were bred in a glass tank imitating nature with the broodstock ratios of 3:3 fish and 1:1 fish. It revealed that Lambchop rasbora did not spawn after providing BUS in combination with DOM through the methods of in-feed medication and gavage. However, the breeding of this fish species could be carried out via intramuscular injection, with male fish receiving combinations of BUS 10 µg/kg and DOM 10 mg/kg, and female fish receiving combinations of BUS 15 µg/kg and DOM 10 mg/kg. The induced fish had spawned approximately 10 hours after injection and the fry began to hatch approximately 19 hours later. Fish breeding with broodstock ratios of 3:3 fish and 1:1 fish showed similar results in the evaluated parameters. It indicated that the average numbers of eggs were 50.25±13.45 and 55.50±6.61, the average fertilization rates were 81.25±1.69 and 81.12±1.34 percent, the average hatching rates were 79.40±1.56 and 79.45±1.24 percent, the average numbers of fry after hatching for 3 days were 19.25±4.65 and 21.75±2.63, and the survival rates of fry were 59.73±1.20 and 60.81±1.79 percent, respectively. Moreover, only a couple of fish mated in all tanks containing the breeder ratio of 3:3. There was no mating in the sex ratios of 1:2 fish and 1:3 fish when considering mainly both the male and female breeders. Therefore, the suitable sex ratio of the fish breeder was 1:1.

Key words: *Trigonostigma espei*, synthetic hormone, spawning

บทนำ

ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) เป็นปลาสวยงามน้ำจืดชนิดหนึ่งที่อยู่ในครอบครัว Cyprinidae (Tang *et al*., 2010) ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยปลาที่มีอยู่ในตลาดส่วนใหญ่เป็นปลาที่จับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะแหล่งน้ำในเขตอำเภอย่านตาขาวและอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง (Kraisurasre *et al*., 2008) และจังหวัดจันทบุรี (Chundum *et al*., 2010) ปลาชนิดนี้เป็นปลาขนาดเล็กที่มีความสวยงามและมักนำไปเลี้ยงในตู้พรรณไม้น้ำ ซึ่งเป็นที่นิยมมากในต่างประเทศ ปลาซิวข้างขวานเล็กมีลักษณะลำตัวแบนข้าง สีน้ำตาลอมเขียว บริเวณกลางลำตัวมีสีน้ำตาลอมแดง มีแถบสามเหลี่ยมสีดำเล็ก ๆ คล้ายรูปขวาน ตอนกลางลำตัวไปทางด้านหาง ปลาชนิดนี้จัดอยู่ในประเภทปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากชาวบ้านในพื้นที่ได้จับรวบรวมปลาส่งขายพ่อค้าคนกลางเพื่อส่งขายต่อภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ประกอบกับแหล่งวางไข่ของปลาชนิดนี้ลดลง เนื่องจากถูกทำลายจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ ในส่วนนี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเขต 11 (ตรัง) กรมประมง ได้ดำเนินการศึกษาในเบื้องต้นแล้วเกี่ยวกับการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ โดยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติและใช้วัสดุวางไข่ที่แตกต่างกัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตลูกพันธุ์ปลาปล่อยกลับคืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติและพัฒนาการเลี้ยงให้เป็นปลาเศรษฐกิจเพื่อทดแทนการจับจากธรรมชาติ (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) แต่

เนื่องจากการเพาะพันธุ์ที่ต้องอาศัยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติ ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ในที่กักขังน้อยและไม่สามารถกำหนดเวลาที่แน่นอนในการทำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ การผลิตลูกพันธุ์ปลาในเชิงพาณิชย์จึงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากผลผลิตปลาที่ได้มีจำนวนไม่แน่นอนและไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ปลาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจึงยังคงเป็นปลาที่ได้มาจากการจับรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นหลัก ซึ่งส่งผลให้จำนวนปลาที่มีอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติยังคงลดน้อยลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น เพื่อเป็นการเพิ่มแนวทางในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงมีแนวคิดในการนำฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่มีการใช้กันโดยทั่วไปในการเพาะพันธุ์ปลาเชิงพาณิชย์ (Treves-Brown, 2000) มาใช้ในการเหนี่ยวนำให้ปลาชิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่ในระบบเลี้ยง โดยทำการศึกษาวิธีการต่าง ๆ ในการใช้ฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ เพื่อเพิ่มโอกาสให้เกิดการเพาะพันธุ์ปลาเชิงพาณิชย์มากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณลูกพันธุ์ปลาที่แน่นอนตามความต้องการของตลาด และลดการจับรวบรวมปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นการช่วยอนุรักษ์สายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดนี้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

การทดลองนี้มีใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์เลขที่ U1-01574-2558 ดำเนินการโดยทำการรวบรวมลูกพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง แล้วนำมาเลี้ยงจนมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่เป็นเวลา 1 ปี โดยเลี้ยงปลา 200 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด 0.5 x 1 x 0.5 เมตร^3 ที่มีพรรณไม้น้ำ ได้แก่ สาหร่ายหางกระรอก เฟิร์นก้านดำ และจอก ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ มีการติดตั้งระบบการให้อากาศและระบบกรองน้ำด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและจำลองสภาพให้คล้ายกับแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของปลา มีการให้อาหารปลาวันละ 2 ครั้ง โดยให้หนอนแดง เวลา 09.00 - 10.00 น. และฝึกให้ปลากินอาหารเม็ดที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ เวลา 16.00 - 17.00 น. จากนั้น ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ได้ถูกคัดเลือกมาเข้าสู่ระบบการทดลองเพาะพันธุ์โดยการใช้ฮอร์โมนร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยพิจารณาความสมบูรณ์เพศของปลาจากความยาวประมาณ 2.5 - 5 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 0.3 -0.9 กรัม ซึ่งปลาเพศผู้นั้นมีลักษณะลำตัวเรียวเล็กกว่าเพศเมีย มีสีแดงเข้มสะท้อนแสงบริเวณข้างลำตัว มีแถบรูปขวานเด่นชัด ส่วนตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ มีสีซีดกว่า และมีลักษณะท้องอูมเป่ง ทั้งนี้ ช่วงที่ทำการทดลองเพาะพันธุ์ปลาทุกการทดลอง เป็นช่วงที่ปลามีความสมบูรณ์เพศสูงทั้งเพศผู้และเพศเมียคือในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม (Kraisurasre *et al*., 2008)

2. การเตรียมอาหารทดลองผสมฮอร์โมน

อาหารทดลองนี้ใช้กับการทดลองที่ 1 และ 2 โดยเตรียมอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg ซึ่งอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนในทุกความเข้มข้นจะมีสารเสริมฤทธิ์ DOM 167 mg/kg ทั้งนี้ ความเข้มข้นของฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ใช้ในการทดลองได้พิจารณาจากน้ำหนักปลาประมาณ 0.3 กรัม อัตราการกินอาหารของปลา 6 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว โดยการผสม BUS 0.25, 0.5 และ1 mg/ kg ปลาจะได้รับ BUS ประมาณ 15, 30 และ 60 µg/kg ส่วนการผสม DOM 167 mg/kg ปลาจะได้รับ DOM ประมาณ 10 mg/kg ซึ่งวิธีการเตรียมนั้นดำเนินการโดยละลาย BUS และ DOM ตามความเข้มข้นที่ต้องการด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ml

จากนั้นผสมกับอาหารเม็ดซึ่งมีโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1 กรัม ที่ใส่ไว้ในถุงพลาสติก แล้วเขย่าถุงให้สารละลายกระจายซึมเข้าเม็ดอาหารจนทั่ว จากนั้นผึ่งลมให้เม็ดอาหารแห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง เคลือบเม็ดอาหารด้วยน้ำมันปลาอีกครั้งและผึ่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการละลายของสารออกมาจากเม็ดอาหารขณะที่อยู่ในน้ำและเพิ่มความอยากอาหารให้กับปลา สำหรับอาหารในชุดควบคุมนั้นไม่มีการใส่ BUS และ DOM แต่มีวิธีการเตรียมเหมือนกับอาหารในชุดทดลองทุกขั้นตอน และอาหารจะถูกใช้ในการทดลองทันทีหลังจากเตรียมเสร็จ

3. การเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลา

การเตรียมสารละลายฮอร์โมนซึ่งมีส่วนผสมของ BUS และ DOM ที่ใช้ในการกรอกปากปลานี้ใช้กับการทดลองที่ 3 และ 4 ดำเนินการโดยละลายสารในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งการเตรียมสารละลายนั้นจะแตกต่างกัน พิจารณาจากน้ำหนักปลาที่อยู่ในช่วง 0.4 - 0.9 กรัม และความเข้มข้นของสารละลายฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องการให้ปลาได้รับตามที่ระบุในชุดการทดลอง โดยรายละเอียดส่วนผสมของสารละลายฮอร์โมนและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการกรอกปากปลาได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

4. การเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับฉีดปลา

การเตรียมสารละลายฮอร์โมนที่มีส่วนผสมของ BUS และ DOM ที่ใช้ในการฉีดปลานี้ใช้กับการทดลองที่ 5 และ 6 ดำเนินการโดยละลายสารในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเพื่อเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้นก่อนที่จะนำมาผสมกันเป็นสารละลายฮอร์โมนสำหรับใช้ในการฉีดปลา ซึ่งสารละลายตั้งต้นของ BUS มีความเข้มข้น 15 µg/ml และสารละลายตั้งต้นของ DOM มีความเข้มข้น 2.5 mg/ml โดยปริมาณสารละลายตั้งต้นที่ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายฮอร์โมนในการฉีดปลาจะแตกต่างกัน พิจารณาจากเพศของปลา น้ำหนักปลาที่อยู่ในช่วง 0.5-0.9 กรัม และความเข้มข้นของสารละลายฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องการให้ปลาได้รับตามที่ระบุในชุดการทดลอง ซึ่งรายละเอียดของส่วนผสมและปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ในการฉีดปลาได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยปริมาณฮอร์โมนที่ต้องการให้ปลาได้รับที่ใช้ในการทดลองนี้ดัดแปลงมาจากรายงานของ Chankaew (2011)

ตารางที่ 1 ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้กรอกปากปลาพิจารณาตามน้ำหนักตัวและปริมาณของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ

น้ำหนัก (g)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้กรอกปากปลา (µl)	ปริมาณ BUS ที่ใช้ (µg)			ปริมาณ DOM ที่ใช้ (mg)
		ปลาได้รับ 15 µg/kg	ปลาได้รับ 30 µg/kg	ปลาได้รับ 60 µg/kg	ปลาได้รับ 10 mg/kg
0.4	24	0.006	0.012	0.024	0.004
0.5	30	0.008	0.015	0.030	0.005
0.6	36	0.009	0.018	0.036	0.006
0.7	42	0.011	0.021	0.042	0.007
0.8	48	0.012	0.024	0.048	0.008
0.9	54	0.014	0.027	0.054	0.009

ตารางที่ 2 ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ฉีดปลาซึ่งระบุตามเพศและน้ำหนักตัว และปริมาณสารละลายตั้งต้นของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับการฉีดปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ

เพศ	น้ำหนัก (g)	สารละลายตั้งต้น BUS (µl)			สารละลายตั้งต้น DOM (µl)	สารละลายฮอร์โมนที่ใช้ฉีดปลา (µl)		
		ปลาได้รับ BUS 5 µg/kg	ปลาได้รับ BUS 10 µg/ kg	ปลาได้รับ BUS 15 µg/ kg	ปลาได้รับ DOM 10 mg/ kg	ปลาได้รับ BUS 5 µg/Kg และ DOM 10 mg/ kg	ปลาได้รับ BUS 10 µg/Kg และ DOM 10 mg/ kg	ปลาได้รับ BUS 15 µg/Kg และ DOM 10 mg/ kg
เพศเมีย	0.7	-	0.47	0.70	2.80	-	3.27	3.50
	0.8	-	0.53	0.80	3.20	-	3.73	4.00
	0.9	-	0.60	0.90	3.60	-	4.20	4.50
เพศผู้	0.5	0.17	0.33	-	2.00	2.17	2.33	-
	0.6	0.20	0.40	-	2.40	2.60	2.80	-
	0.7	0.23	0.47	-	2.80	3.03	3.27	-

5. การดำเนินการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร (in-feed medication) ดัดแปลงจาก Thomas and Boyd (1989) และ Solar *et al*. (1990) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาชิวข้างขวานเล็กในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร^3 ที่มีปริมาตรน้ำ 40 ลิตร มีพรรณไม้น้ำได้แก่ สาหร่ายหางกระรอก เฟิร์นก้านดำ และจอกประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ มีระบบให้อากาศและระบบกรองน้ำนอกตู้ด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและจำลองสภาพให้เหมือนกับแหล่งน้ำธรรมชาติ (ภาพที่ 1) โดยชุดการทดลองที่ 1 ให้ปลาเพศผู้และเพศเมียกินอาหารควบคุมที่ไม่ผสมฮอร์โมน ชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ให้ปลาเพศผู้กินอาหารควบคุมที่ไม่ผสมฮอร์โมน ส่วนปลาเพศเมียกินอาหารผสม BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7 ให้ปลาทั้งเพศเมียและเพศผู้กินอาหารผสม BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg โดยอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนในทุกความเข้มข้นจะมี DOM 167 mg/kg (ภาพที่ 2) ซึ่งในการทดลองนี้ ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ จากนั้นให้ปลากินอาหารตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลองจนอิ่มในมื้อเย็น 1 มื้อ ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. แล้วนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว ที่ได้รับอาหารตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้นทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาในช่วงเช้าของทุกวัน

ในช่วงเวลา 08.00 - 12.00 น. ภายใน 1 สัปดาห์ เมื่อพบการวางไข่ของปลา ทำการแยกพ่อแม่ปลาออกไปเลี้ยงในตู้ใหม่ จากนั้นทำการฟักไข่และอนุบาลลูกปลาในตู้เดิมต่อไปจนกว่าถุงไข่แดงที่หน้าท้องของลูกปลายุบ

การทดลองที่ 2 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว โดยการทดลองนี้ได้ดำเนินการเช่นเดียวการทดลองที่ 1 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนเพศพ่อแม่พันธุ์ในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ตัว ให้เป็น 1:1 ตัว

การทดลองที่ 3 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) ซึ่งดัดแปลงจาก Treves-Brown (2000) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งการทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการกรอกปากปลา เพื่อกระตุ้นให้ปลาซิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร^3 ที่มีการจัดสิ่งแวดล้อมในตู้เหมือนการทดลองที่ 1 ซึ่งรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองมีดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 ทำการกรอกปากปลาเพศผู้และเพศเมียด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ทำการกรอกปากปลาเพศผู้ด้วยน้ำกลั่น ส่วนปลาเพศเมียกรอกปากปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนที่พิจารณาตามน้ำหนักตัว เพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 15, 30 และ 60 µg/kg ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7 ทำการกรอกปากปลาทั้งเพศเมียและเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนที่พิจารณาตามน้ำหนักตัว เพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 15, 30 และ 60 µg/kg ตามลำดับ โดยสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ในทุกความเข้มข้นจะมีสารเสริมฤทธิ์ DOM ที่ปลาได้รับในความเข้มข้น 10 µg/kg ซึ่งในส่วนของการเพาะพันธุ์ ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมง ก่อนการทดลอง จากนั้นนำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ที่ 75 ppm (ดัดแปลงจาก Charoendat (2012)) ชั่งน้ำหนักปลา แล้วกรอกปากปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามความเข้มข้นที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ดำเนินการในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 10 - 100 ไมโครลิตร ในการกรอกปากปลา (ภาพที่ 3) ทั้งนี้ ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้พิจารณาจากน้ำหนักปลาและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ต้องการให้ปลาได้รับระบุไว้ในตารางที่ 1 จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และปลาเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการกรอกปากด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้น ทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว โดยในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวการทดลองที่ 3 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้จาก 3:3 ตัว ให้เป็น 1:1 ตัว

การทดลองที่ 5 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) ดัดแปลงจาก Chankaew (2011) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely

randomized design) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เพื่อกระตุ้นการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร^3 ที่มีการจัดสิ่งแวดล้อมภายในตู้เหมือนการทดลองข้างต้น ซึ่งรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองมีดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 ทำการฉีดปลาเพศผู้และเพศเมียด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ทำการฉีดปลาเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ส่วนปลาเพศเมียฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 และ 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 4 และ 5 ฉีดปลาเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ส่วนปลาเพศเมียฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 และ 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ตามลำดับ ทั้งนี้ ในส่วนของการดำเนินการเพาะพันธุ์นั้น เริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมงก่อนการทดลอง จากนั้น นำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ที่ 75 ppm (ดัดแปลงจาก Charoendat (2012)) ชั่งน้ำหนักปลา แล้วฉีดปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยการฉีดปลาได้ใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 0.5-10 ไมโครลิตร ดูดสารละลายฮอร์โมนตามปริมาตรที่พิจารณาจากน้ำหนักปลาและปริมาณที่ต้องการให้ปลาได้รับ (ตารางที่ 2) แล้วหยดสารละลายลงบนแผ่นพาราฟิลม์ให้เป็นหยดน้ำ จากนั้นใช้เข็มฉีดอินซูลินขนาดหัวเข็ม 30G x 8 mm ดูดสารละลายทั้งหมดแล้วฉีดเข้าตัวปลาที่กล้ามเนื้อใต้ครีบหลัง (ภาพที่ 4) จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ และทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 6 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว ซึ่งในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างปลาเพศผู้และปลาเพศเมียในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ตัวให้เป็น 1:1 ตัว

6. การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง ได้แก่

1. เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง) ภายในระยะเวลาทดลอง 1 สัปดาห์

2. จำนวนไข่รวม (ฟอง) = จำนวนไข่ปลารวมในแต่ละตู้

3. อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง) / จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)) x 100

4. อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว (ตัว) / จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)) x 100%

5. จำนวนลูกปลารวม (ตัว) = จำนวนลูกปลารวมในแต่ละตู้หลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน (ลูกปลาถุงไข่แดงยุบ)

6. อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) = จำนวนลูกปลาหลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน (ตัว) / จำนวนลูกปลาแรกฟักจากไข่ (ตัว)

7. คุณภาพน้ำเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ การวัดค่าค่าแอมโมเนีย ค่าไนไตรต์ และออกซิเจนที่ละลายน้ำ โดยใช้วิธีการมาตรฐานในการวิเคราะห์น้ำ (APHA, 2012) วัดค่าความเป็นกรด-เป็นด่างและวัดค่าอุณหภูมิน้ำด้วยเครื่องวัดคุณภาพน้ำ (Horiba U-50 Multiparameter Water Quality Checker)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของทุกข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 1 สภาพตู้ทดลองเพาะพันธุ์ปลา

ภาพที่ 2 การทดลองใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหาร

ภาพที่ 3 การให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOMโดยวิธีการกรอกปาก

ภาพที่ 4 การให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOMโดยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การทดลองเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กครั้งนี้ ได้ดำเนินการโดยใช้น้ำที่มีคุณภาพน้ำเริ่มต้นซึ่งตรวจวัดก่อนนำไปใช้ในระบบเพาะพันธุ์ในทุกวิธีการทดลอง ได้แก่ ค่าแอมโมเนียเฉลี่ย 0.02±0.01 mgNH_3-N/L ค่าไนไตรต์เฉลี่ย 0.02±0.01 mgNO_2-N/L ค่าความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ย 7.87±0.12 ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ย 5.14±0.06 mg/L และอุณหภูมิน้ำเฉลี่ย 29.60±0.69 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กที่ระบุในรายงานของ Kraisurasre and Kraisurasre (2008)

เป็นที่เชื่อกันว่าการกระตุ้นการวางไข่ของปลาโดยการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหาร เช่น การ

ให้ปลากินอาหารที่ผสมฮอร์โมนนั้นไม่ได้ผล เนื่องจากฮอร์โมนจะเสียสภาพไปจากการถูกย่อยสลายในกระเพาะอาหารของปลา อย่างไรก็ตาม ลักษณะดังกล่าวอาจจะไม่เกิดขึ้นเสมอไปเนื่องจากมีปัจจัยอย่างอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิดอาหารที่ปลากินเข้าไปและชนิดของปลาที่ให้ฮอร์โมน ซึ่งปลาหลายชนิดโดยเฉพาะปลาในครอบครัว Cyprinidae นั้นไร้กระเพาะอาหาร จึงทำให้การดูดซึมยาในปลากลุ่มนี้ไม่เป็นไปตามรูปแบบของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีการย่อยในกระเพาะอาหาร (Treves-Brown, 2000) โดยที่ผ่านมา ได้มีการศึกษาการให้ฮอร์โมนต่าง ๆ ผ่านทางเดินอาหารในปลาหลายชนิด เช่น การให้ปลา sablefish กินอาหารผสม Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) 1 mg/kg พบว่าสามารถทำให้ปลาวางไข่ได้ (Solar *et al*., 1990) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าปลา seatrout สามารถรับฮอร์โมน GnRHa หรือ LHRHa ผ่านอาหารโดยการดูดซึมที่ลำไส้ได้ ถึงแม้ว่าจะใช้ฮอร์โมนมากถึง 10 เท่าของปริมาณที่ใช้ในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยพบว่าปลาที่กินอาหารผสมฮอร์โมน LHRHa 1 mg/kg มีการวางไข่ภายใน 38 ชั่วโมง (Thomas and Boyd, 1989) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้พบว่าให้ผลในทางตรงกันข้ามกับรายงานข้างต้น เนื่องจากการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยการให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS และสารเสริมฤทธิ์ DOM ผ่านทางเดินอาหารด้วยวิธีการผสมอาหารและการกรอกปากที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว และ 3:3 ตัว ตามที่ระบุไว้ในวิธีการทดลองที่ 1 - 4 ไม่สามารถทำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ตามระยะเวลาที่ทำการตรวจวัด ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ปลาไม่วางไข่นั้นอาจเกิดจากการที่ปลาได้รับฮอร์โมนไม่เพียงพอ เนื่องจากฮอร์โมนบางส่วนที่ผสมอาหารอาจจะละลายไปกับน้ำระหว่างที่ให้อาหารปลา โดยสังเกตพบว่าปลาไม่ได้กินอาหารทันทีและปลาแต่ละตัวกินอาหารที่ไม่เท่ากัน ปริมาณฮอร์โมนที่ปลาได้รับจึงไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นให้เกิดการวางไข่ นอกจากนี้ ฮอร์โมนบางส่วนอาจจะเสียสภาพไปจากการถูกย่อยสลายด้วยน้ำย่อยในทางเดินอาหารของปลา (Treves-Brown, 2000) ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของฮอร์โมนลดลง ทั้งนี้ ในส่วนของการให้ฮอร์โมนโดยวิธีการกรอกปาก สังเกตพบว่าปลามีการสำรอกสารละลายฮอร์โมนออกมาในขณะที่ฟื้นตัวจากการสลบ ฮอร์โมนจึงอาจไม่ได้เข้าไปในตัวปลามากพอ การให้ฮอร์โมนด้วยวิธีการดังกล่าวจึงไม่สามารถกระตุ้นให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้

ถึงแม้ว่าวิธีการทดลองที่ 1 - 4 ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ในการทดลองนี้ แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งระบุไว้ในวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ที่เพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว ตามลำดับ สามารถเหนี่ยวนำให้ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ได้ โดยผลที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการทดลอง พบว่าปลาซิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่เมื่อปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg โดยปลาที่เพาะพันธุ์ด้วยวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 เริ่มมีการผสมพันธุ์วางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนด้วยวิธีการฉีดในระดับความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นที่เวลาเฉลี่ย 10.25±0.96 และ 10.00±0.82 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการเพาะพันธุ์ปลาซิวทอง (*Rasbora einthovenii*) โดยให้ BUS และ DOM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับการทดลองนี้ โดยปลาจะวางไข่ที่เวลา 8-10 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Petchrit, 2021) นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาซิวควายแถบดำ (*Rasbora paviei*) โดยฉีด BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg เข้าที่กล้ามเนื้อของปลาทั้งเพศผู้และเพศเมีย และทำการเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1

พบว่าปลาสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ภายในเวลาประมาณ 8 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Chankaew, 2011) ซึ่งถือว่าเป็นช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกับช่วงเวลาที่ปลาซิวข้างขวานเล็กวางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนในการทดลองนี้

เมื่อพิจารณาการเพิ่มความหนาแน่นของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าวิธีการทดลองที่ 5 ซึ่งเป็นการเพาะพันธุ์ปลาโดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว นั้น ปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์วางไข่กันเพียง 1 คู่ คือสัดส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ปลา 1:1 ตัว (ภาพที่ 5) ในทุกตู้ที่ทำการตรวจวัด ไม่พบการจับคู่กันในสัดส่วนเพศของปลาแบบ 1:2 ตัว และ 1:3 ตัว เมื่อพิจารณาทั้งในส่วนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเป็นตัวหลัก ซึ่งอาจเกิดจากการที่พ่อแม่พันธุ์ปลาในแต่ละตู้เลือกจับคู่กันเฉพาะตัวที่มีความสมบูรณ์เพศมากที่สุดก่อน มีการสร้างอาณาเขตพื้นที่ในการผสมพันธุ์วางไข่ที่ครอบคลุมอาณาเขตเกือบทั้งหมดภายในตู้ซึ่งมีขนาดเล็ก จนปลาที่เหลือไม่สามารถเข้ามาวางไข่ในบริเวณที่ปลาพ่อแม่พันธุ์คู่แรกเข้ามาผสมพันธุ์วางไข่ได้ ซึ่งจากรายงานของ Kraisurasre and Kraisurasre (2008) ได้ระบุว่า ปลาตัวผู้ที่พร้อมผสมพันธุ์จะต่อสู้กันก่อนการผสมพันธุ์ เพื่อแย่งตัวเมียที่พร้อมที่สุดในการผสมพันธุ์วางไข่ ปลาตัวผู้ที่ชนะจะได้จับคู่กับปลาตัวเมียที่พร้อมที่สุดและจะไล่ต้อนปลาตัวอื่นให้ออกไปจากบริเวณที่มันจะผสมพันธุ์ โดยปลาตัวผู้จะว่ายน้ำวนรอบพื้นที่วางไข่และจะคลอเคลียอยู่ข้างปลาตัวเมียตลอดเวลา ปลาตัวผู้จะใช้ส่วนของลำตัวกอดรัดตัวเมีย หลังจากนั้นตัวผู้ก็จะปล่อยตัวเมียออกเพื่อให้วางไข่เกาะตามวัสดุ หรือไม้น้ำ โดยตัวเมียจะไข่ครั้งละ 2 -10 ฟอง จำนวน 15-20 ครั้ง จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าปลาชนิดนี้มีพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ ไม่ได้ผสมพันธุ์แบบรวมกลุ่ม การเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว จึงเป็นไปได้มากที่สุด ซึ่งลักษณะการจับคู่ผสมพันธุ์เช่นนี้ เป็นพฤติกรรมที่มีการแสดงออกในปลาซิวชนิดอื่นด้วย เช่น ปลาซิวตาเขียว (*Microdevario kubotai*) ที่มีการผสมพันธุ์วางไข่ด้วยสัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว (Petchrit, 2016) แต่ข้อมูลเกี่ยวกับสัดส่วนการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ได้นี้มีความแตกต่างกับข้อมูลจากการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานใหญ่ (*Trigonostigma heteromorpha*) ในระบบน้ำหมุนเวียนเลียนแบบธรรมชาติ เนื่องจากปลาไม่วางไข่ที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว โดยให้เหตุผลว่าไม่มีการต่อสู้กันระหว่างปลาเพศผู้เพื่อกระตุ้นให้ปลาเพศเมียวางไข่ สัดส่วนเพศที่เหมาะสมของการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้จึงอยู่ที่ 1:2 (Buraheng and Chamnanwech, 2018) ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาถึงการที่ปลาที่เหลือไม่ผสมพันธุ์วางไข่นั้นอาจเกิดจากข้อผิดพลาดอื่นที่เกิดขึ้นในขณะทำการฉีดฮอร์โมน โดยกระบวนการฉีดฮอร์โมนในการศึกษาครั้งนี้เป็นการคำนวณขนาดการใช้ฮอร์โมนที่เป็นการประมาณการตามน้ำหนักปลาแต่ละตัวซึ่งมีขนาดเล็กมากและเกิดความเครียดได้ง่าย ปลาจึงอาจได้รับปริมาณฮอร์โมนที่ไม่เพียงพอหรือได้รับมากเกินไป ซึ่งมีผลต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่สมบูรณ์ หรือพัฒนามากเกินไปจนเกินภาวะสมดุล ปลาจึงไม่จับคู่กันผสมพันธุ์วางไข่ เนื่องจาก BUS ที่ฉีดให้ปลาจัดเป็น Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) ที่สามารถกระตุ้นให้ต่อมใต้สมอง (hypothalamus) ของปลาให้สร้าง gonadotropin hormone ซึ่งทำหน้าที่สั่งการไปที่ gonad ให้ผลิต sex hormone เพื่อไปกระตุ้นให้ไข่หลุดจากรังไข่ จนเกิดการตกไข่ แต่การฉีด BUS ในปริมาณน้อยในสภาวะที่ปลามีความเครียดและไม่พร้อมผสมพันธุ์ ไม่สามารถกระตุ้นให้ปลาเกิดการตกไข่ได้ จึงควรฉีด BUS ร่วมกับ DOM ซึ่งจัดเป็น Dopamine antagonist ที่มีประสิทธิภาพในการทำลาย Dopamine หรือสกัดกั้นไม่ให้สมองของปลาผลิต Dopamine ออกมาควบคู่กับ LHRH ทำให้ปลามีการพัฒนาของไข่และเกิดการตกไข่ ถึงแม้การฉีด BUS ร่วมกับ DOM จะ

กระตุ้นให้ต่อมใต้สมองสร้าง gonadotropin hormone ออกมาได้เพื่อควบคุมการหลั่งฮอร์โมนเพศของรังไข่และอัณฑะ แต่การหลั่งฮอร์โมนนี้สามารถถูกควบคุมได้โดย sex hormone เรียกว่า negative feedback pathway เมื่อ sex hormone มีระดับต่ำจะกระตุ้นให้มีการหลั่ง gonadotropin hormone มาก เพื่อทำให้ sex hormone มีระดับสูงขึ้น แต่เมื่อ sex hormone มีระดับสูงขึ้นถึงระดับหนึ่งก็จะกลับไปยับยั้งการทำงานของต่อมใต้สมองให้หลั่ง gonadotropin hormone ลดลง ซึ่งการที่ปลาได้รับ BUS ร่วมกับ DOM มากเกินไป (over dose) ทำให้เกิด negative feedback pathway ดังกล่าว โดยสารที่ฉีดจะไปส่งผลในการสลายผนังรังไข่ให้แตก ทำให้เกิดการ over-ripe ของไข่ ไม่ได้ส่งผลในการกระตุ้นไข่ให้มีความสมบูรณ์ขึ้น (Promprasert *et al*., 2011)

หลังจากที่ปลาได้จับคู่ผสมพันธุ์กันแล้ว ปลาได้วางไข่ซึ่งมีลักษณะเป็นไข่จมติดกับวัตถุและกระจัดกระจายไปทั่วพรรณไม้น้ำ หรือวัสดุอื่นภายในตู้ โดยมีไข่บางส่วนกระจายตกลงก้นตู้ (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับรายงานของ Chundum *et al*. (2010) ที่ระบุว่าปลาชนิดนี้จะมีการวางไข่จมติดกับวัตถุแบบกระจัดกระจาย โดยพบว่าไข่ปลาที่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีใส (ภาพที่ 7) ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีขาวขุ่น ทึบแสง และลูกปลาจะเริ่มฟักออกจากไข่ (ภาพที่ 8) ที่เวลาเฉลี่ย 19.26±0.07 และ 19.28±0.11ชั่วโมง ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส พิจารณาจากข้อมูลในวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Kraisurasre and Kraisurasre (2008) ที่ระบุว่าลูกปลาซิวข้างขวานเล็กฟักออกจากไข่ที่เวลา 19 ชั่วโมง 29 นาที ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส

ในส่วนของผลการศึกษาเกี่ยวกับจำนวนไข่รวม จำนวนลูกปลารวม อัตราปฏิสนธิ อัตราการฟักและอัตรารอดของลูกปลาที่ได้จากการเพาะพันธุ์ด้วยวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 พบว่ามีการแสดงค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยได้จำนวนไข่รวมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 50.25±13.45 และ 55.50±6.61 ฟอง อัตราปฏิสนธิเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 81.25±1.69 และ 81.12±1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.40±1.56 และ 79.45±1.24 เปอร์เซ็นต์ จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ยหลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน มีค่าเท่ากับ 19.25+4.65 และ 21.75+2.63 ตัว และอัตรารอดของลูกปลาเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 59.73±1.20 และ 60.81±1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4) ซึ่งผลของอัตราปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดของลูกปลา ที่ได้ในการทดลองนี้ มีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลของการเพาะพันธุ์ปลาซิวทอง (*Rasbora einthovenii*) โดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในปลาพ่อแม่พันธุ์ในระดับความเข้มข้นเดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองนี้ คือการให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg (Petchrit, 2021)

ตารางที่ 3 ผลการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
3	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
4	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
5	50.25±13.45^{a}	81.25±1.69^{a}	79.40±1.56^{a}	19.25±4.6^{a}	59.73±1.20^{a}

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง 1 คือ ปลาทั้งสองเพศได้รับน้ำกลั่น

ชุดการทดลอง 2 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg

ชุดการทดลอง 3 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg

ชุดการทดลอง 4 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg

ชุดการทดลอง 5 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg

อักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05)

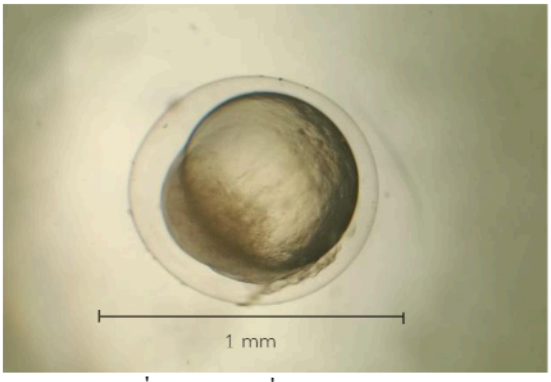
ตารางที่ 4 ผลการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
3	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
4	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
5	55.50±6.61^{a}	81.12±1.34^{a}	79.45±1.24^{a}	21.75±2.63^{a}	60.81±1.79^{a}

หมายเหตุ: รายละเอียดของชุดการทดลองที่ระบุในตารางเหมือนกับตารางที่ 3

ภาพที่ 5 พ่อแม่พันธุ์ปลาจับคู่ผสมพันธุ์หลังได้รับฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์

ภาพที่ 6 ไข่ปลาที่ติดกับไม้น้ำและไข่บางส่วนที่ร่วงลงก้นตู้



ภาพที่ 7 ไข่ปลาที่ได้รับการปฏิสนธิ

ภาพที่ 8 ลูกปลาแรกเกิด

สรุป

การเหนี่ยวนำให้ปลาชิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่โดยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ไม่สามารถดำเนินการได้โดยการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหารด้วยวิธีการผสมอาหารและวิธีการกรอกปาก แต่สามารถทำได้โดยการฉีดฮอร์โมนร่วมกับสารเสริมฤทธิ์เข้ากล้ามเนื้อ โดยให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว ทั้งนี้ อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดอาหารที่สามารถเสริมความสมบูรณ์พันธุ์ให้กับพ่อแม่พันธุ์ปลา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้สนับสนุนงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2564 เพื่อใช้ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

APHA. 2012. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 22nd ed. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), Washington, D.C., USA.

Buraheng, S. and Chamnanwech, U. 2018. **Breeding of Harlequin rasbora with the different sex ratio (*Trigonostigma heteromorpha* Duncker, 1904) in circulation system.** Published documents, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai).

Chankaew, S. 2011. Breeding biology of *Rasbora paviei* (Tirant, 1885). **Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University** 30(1): 145-152. (in Thai)

Charoendat, U. 2012. Efficacy of synthetic eugenol as anesthetic for fish transportation. Master of science thesis, Kasetsart University. (in Thai)

Chundum, S., Ngamsnae, P. and Arthainsee, A. 2010. Biological and ecological assessment of conservation and aquaculture development of *Trigonostigma espei* in Chantaburi province. **Journal of Agricultural Technology** 6(4): 767-775.

Kraisurasre, A., Kraisurasre, S. and Paladim, J. 2008. **Experiment on culture *Trigonostigma espei* broodstock.** Technical Paper No. 36/2008, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Kraisurasre, S. and Kraisurasre, A. 2008. **Breeding of *Trigonostigma espei* on different material spawning.** Technical Paper No. 35/2008, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Petchrit, N. 2016. **Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 on Different Sex Ratio.** Technical Paper No. 21/2016, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Petchrit, N. 2021. **Breeding and Nursing of Brilliant rasbora, *Rasbora einthovenii* (Bleeker, 1851).** Technical Paper No. 1/2021, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Promprasert, J., Galsri, N., Sirikul, C., Klongklaw, A., Tuntigamote, P. and Fong-am, A. 2011. **Breeding of tiger loach (*Botia helodes* Sauvage, 1876) with hormonal priming treatment ovulation.** Technical Paper No. 3/2011, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Solar, I.I., McLean, E., Baker, I.J., Sherwood, N.M. and Donaldson, E.M. 1990. Induced ovulation of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) following oral administration of des Gly^{10}-(smallcap D-Ala^{6})

LH-RH ethylamide. **Fish Physiology and Biochemistry** 8(6): 497-499.

Tang, K.L., Agnew, M.K., Hirt, M.V., Sado, T., Schneider, L.M., Freyhof, J., Sulaiman, Z., Swartz, E., Vidthayanon, C., Miya, M., Saitoh, K., Simons, A.M., Wood, R.M. and Mayden, R.L. 2010. Systematics of the subfamily Danioninae (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 570(1): 189-214.

Thomas, P. and Boyd, N.W. 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). **Aquaculture** 80(3-4): 363-370.

Treves-Brown, K.M. 2000. **Applied fish Pharmacology.** Kluwer Academic Publishers, Netherlands.