เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑๗/๒๕๕๙

Technical Paper No. 17/2016

การเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว

Induce Spawning of Sheatfish *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801

เพ็ญประภา แพวิเศษ Penprapa Phaeviset
เสาวมล ภูตีกา Saowamol Puteeka
เมธา คชาภิชาติ Metha Khachaphichat

กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด Inland Fisheries Research and Development Division
กรมประมง Department of Fisheries
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑๗/๒๕๕๙ Technical Paper No. 17/2016

การเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว

Induce Spawning of Sheatfish *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801

เพ็ญประภา แพวิเศษ Penprapa Phaeviset
เสาวมล ภูตีกา Saowamol Puteeka
เมธา คชาภิชาติ Metha Khachaphichat

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลก Phitsanulok Inland Fisheries Research and Development Center
กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด Inland Fisheries Research and Development Division
กรมประมง Department of Fisheries
๒๕๕๙ 2016

รหัสทะเบียนวิจัย 57-0566-57070

ชื่อไทย	ปลาเค้าขาว, เค้าคูน
ชื่อสามัญ	Sheatfish
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการ	4
1. การวางแผนการทดลอง	4
2. วิธีการทดลอง	4
3. การวิเคราะห์ข้อมูล	6
ผลการศึกษา	7
1. การเพาะพันธุ์	7
2. พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว	9
3. พัฒนาการของลูกปลาเค้าขาววัยอ่อน	14
สรุปและวิจารณ์ผล	18
ข้อเสนอแนะ	19
คำขอบคุณ	19
เอกสารอ้างอิง	20

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแม่ปลา อัตราการตกไข่ น้ำหนักไข่ที่รีดได้ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตาย จากการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาวโดยการฉีดกระตุ้นแม่ปลาด้วยฮอร์โมนสกัด HCG ที่อัตราความเข้มข้นและจำนวนครั้งที่ต่างกัน 4 ระดับ	8
2	คุณสมบัติของน้ำบ่อพ่อแม่ปลาและบ่อฟักไข่	8
3	พัฒนาการของคัพภะของปลาเค้าขาว	9
4	ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง	14

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว	11
2	ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง	16

การเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว

เพ็ญประภา แพวิเศษ[๑] เสาวมล ภูตีกา[๒] และเมธา คชาภิชาติ[๓*]
[๑]ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพัทลุง
[๒]กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด
[๓]ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิจิตร

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงกุมภาพันธ์ 2558 โดยฉีดกระตุ้นพัฒนาการของไข่ปลาเค้าขาวด้วยฮอร์โมนสกัด human chorionic gonadotropin (HCG) ประกอบด้วย 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.9 % ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 1 ครั้ง อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม เว้นระยะ 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 4 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม เว้นระยะ 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม หลังจากสิ้นสุดการฉีดกระตุ้นด้วย HCG เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทุกชุดการทดลองจะฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วย buserelin acetate (BUS) อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนพ่อปลาเค้าขาว ฉีดกระตุ้นฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พร้อมแม่ปลา ผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ 1 แม่ปลาไม่ตกไข่ ส่วนชุดการทดลองที่ 4 ไข่มีลักษณะเหลวปนน้ำ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 แม่ปลาตกไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยเท่ากับ 72.00±3.00 และ 56.33±4.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 78.67±1.53 และ 71.67±3.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และอัตรารอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 82.00±7.00 และ 74.67±2.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ย และอัตรารอดตายเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ 2 กับ 3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ไข่ปลาเค้าขาวมีสีเหลืองใส เป็นไข่จมติดวัตถุมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 มิลลิเมตร พัฒนาการของคัพภะใช้เวลาฟักเป็นตัว 27 ชั่วโมง 40 นาที ที่อุณหภูมิระหว่าง 26.5-27.5 องศาเซลเซียส สรุปได้ว่าการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว ควรฉีดกระตุ้นการพัฒนาการของไข่ด้วยฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 1 ครั้ง อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วย BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นอัตราที่เหมาะสมที่สุดเมื่อพิจารณาจาก อัตราการตกไข่ อัตราปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตาย

คำสำคัญ : ปลาเค้าขาว การเพาะพันธุ์

*ผู้รับผิดชอบ : บริเวณเขื่อนนเรศวร ม.7 ต.พรหมพิราม อ.พรหมพิราม จ.พิษณุโลก 65150 โทร. 0 5536 9065
e-mail : ifphitsanulok@hotmail.com

Induce Spawning of Sheatfish *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801

Penprapa Phaeviset[1] Saowamol Puteeka[2]
and Metha Khachaphichat[3*]
[1] Phatthalung Inland Fisheries Research and Development Center.
[2] Inland Fisheries Research and Development Bureau.
[3] Phichit Inland Fisheries Research and Development Center.

Abstract

Induced spawning of Sheatfish *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801 was carried out at Phitsanulok Inland Fisheries Research and Development Center during October 2013 to February 2015. The experiment consisted of four treatments which the female broodstock were injected with human chorionic gonadotropin (HCG) in different concentration level for the purpose of stimulate the development of the egg. The treatment 1 was injected with sodium chloride 0.9 % (control). The treatment 2 was once injection with HCG at 500 IU/kg The treatment 3 was twice injection with HCG, firstly injected at 300 IU/kg. spaced 24 hrs, and second injected at 300 IU/kg. The treatment 4 was twice injection with HCG, firstly injected at 500 IU/kg. spaced 24 hrs, and second injected at 500 IU/kg. After stimulation with HCG in a period of 24 hours, the female fish in all treatments were stimulate ovulation with injections buserelin acetate (BUS) at 20 µg/kg. together with domperidone (DOM) at 10 mg/kg. While the male fish were injected with BUS at 20 µg/kg together with DOM at 10 mg/kg too. The results showed that the female brooders in a group of control and treatment 4 could not be induced for spawning, while the spawning rate of treatment 2 and treatment 3 were 100 %, the fertilization rate were 72.00±3.00 and 56.33±4.04 % respectively, hatching rate were 78.67±1.53 and 71.67±3.51 % respectively, survival rate were 82.00±7.00 and 74.67±2.52 % respectively. The statistical analysis found that the fertilization rate, hatching rate and survival rate were differences statistically significant ($p<0.05$). The embryonic development found that the eggs of Sheatfish was addhesive egg which the diameter was 1.4 mm. The characteristics of eggs had round shape and yellow and clear color. The hatching with in 27 hrs and 40 min at 26.5–27.5 $^{\circ}$C of water temperature. This study concluded that the induced spawning of Sheatfish should be once injection with 500 IU/kg of HCG because of they are the maximum rate when considering on spawning rate, fertilization rate, hatching rate and survival rate.

Key words: *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801, Induce Spawning

*Corresponding author: Moo. 7,Prom pi-ramm Sub-district, Prom pi-ramm District, Phitsanulok Province 65150 Tel. 0 5536 9065
e-mail :ifphitsanulok@hotmail.com

คำนำ

ปลาเค้าขาวเป็นชื่อปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Wallago attu* Bloch & Schneider, 1801 ส่วนหัวมีขนาดใหญ่และยื่นแหลม ความยาวหัวมากกว่าความยาวระหว่างครีบอกและครีบก้น ตามีขนาดเล็ก ไม่มีเยื่อปิดตา ปากกว้าง มุมปากยาวเลยหลังตา ปากยื่นแหลม จะงอยปากยาวและแบนจากด้านบนลงมาทางด้านล่างขากรรไกรบนเล็กน้อย ฟันซี่เล็กละเอียดแหลมคมอยู่บนกระดูกมีลักษณะเป็นแถบแยกออกเป็น 2 แผ่น มีหนวด 2 คู่ หนวดที่ขากรรไกรบนยาวเลยจุดเริ่มต้นของครีบก้นไปเล็กน้อย หนวดที่ขากรรไกรล่างสั้นกว่าหนวดที่ขากรรไกรบนมากโดยมีความยาวถึงบริเวณมุมปาก ลำตัวแบนข้างและเรียวยาวไปทางหาง หลังโค้ง ความกว้างลำตัวสูงสุดอยู่ที่จุดเริ่มต้นของครีบหลัง ไม่มีครีบไขมัน ครีบหลังเล็กเรียวยาวจำนวน 1 ครีบ ขนาดโดยเฉลี่ย 70-80 เซนติเมตร พบใหญ่สุดยาว 2 เมตร (Smith, 1945) ความแตกต่างระหว่างเพศ สามารถแยกเพศได้โดยการสังเกตจากลักษณะภายนอกจากปลาที่มีขนาดมากกว่า 32.5 เซนติเมตร ขึ้นไป โดยปลาเค้าเพศผู้บริเวณก้านครีบหูซึ่งเป็นก้านครีบแข็งมีลักษณะหยักเป็นซี่ ส่วนปลาเค้าเพศเมียก้านครีบหูที่เป็นก้านครีบแข็งไม่มีหยักและจะเรียวกว่าปลาเพศผู้ ส่วนปลาที่มีขนาดยาวเหยียดน้อยกว่า 32.5 เซนติเมตร ไม่สามารถแยกเพศจากการสังเกตลักษณะภายนอกได้ สำหรับช่วงฤดูวางไข่อยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน ปลาที่มีความพร้อมที่จะผสมพันธุ์สามารถสังเกตได้ชัดเจนจากภายนอก คือปลาเพศเมียที่มีไข่แก่ความกว้างของลำตัวจะมากกว่าเพศผู้ บริเวณท้องอูมเป่งและนิ่ม ช่องเพศมีสีชมพูเรื่อ ส่วนปลาเพศผู้มีความกว้างของลำตัวน้อยกว่าเพศเมีย ลักษณะติ่งเพศของเพศผู้ที่แหลมกว่าเพศเมีย (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอำนาจเจริญ, 2558) ปลาเค้าขาวอาศัยอยู่ในแม่น้ำที่กระแสน้ำไม่ไหลแรงมาก ในจังหวัดพิษณุโลกพบแพร่กระจายในแม่น้ำแควน้อยตอนล่าง แม่น้ำวังทองและแม่น้ำยมตอนล่าง จัดเป็นปลากินเนื้อออกหากินเวลากลางคืน (กฤษฎา, 2551)

ปัจจุบันปลาเค้าขาวเป็นปลาที่ค่อนข้างหายาก และมีแนวโน้มว่าจะมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากปลาเค้าขาวเป็นปลาที่มีรสชาติดีและเป็นที่นิยมบริโภค จึงมีราคาค่อนข้างสูงกิโลกรัมละ 100-200 บาท ทำให้มีการจับปลามาใช้ประโยชน์มากเกินกำลังการผลิตของธรรมชาติ ตลอดจนการขยายตัวของชุมชน รวมทั้งการทำการเกษตรที่ก่อมลพิษในแหล่งน้ำธรรมชาติ จากสาเหตุดังกล่าวจึงเป็นปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณปลาเค้าขาวในธรรมชาติที่มีแนวโน้มลดปริมาณลงจนน่าวิตกต่อการสูญพันธุ์ได้ในอนาคต ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเรื่องการเพาะพันธุ์ แต่จากการค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาวพบว่ายังมีการศึกษาน้อยมาก ด้วยเหตุนี้ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลก จึงได้ทำการศึกษาหาวิธีการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว แต่จากการเก็บข้อมูลพบว่าแม่พันธุ์ปลาเค้าขาวที่เลี้ยงในที่กักขังมีไข่แต่ไม่สามารถเพาะพันธุ์ได้ เนื่องจากไข่ไม่แก่ถึงระยะที่จะฉีดกระตุ้นให้ปลาตกไข่ได้ การศึกษาเรื่องปริมาณฮอร์โมนและจำนวนครั้งในการฉีดกระตุ้นพัฒนาการของไข่ให้ไข่แก่จนสามารถฉีดกระตุ้นให้แม่ปลาเค้าขาวตกไข่ได้ จึงเป็นเรื่องที่จำเป็นในการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาวให้ประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น และสามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตลูกปลาให้ได้ปริมาณมาก นำไปปล่อยคืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อแทนปริมาณปลาเค้าขาวที่ลดลง และเป็นการเพิ่มปริมาณผลผลิตปลาเค้าขาวในธรรมชาติ อันจะนำมาซึ่งการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืนตลอดไป นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร และส่งเสริมให้เกิดการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับของฮอร์โมนสกัด human chorionic gonadotropin (HCG) และจำนวนครั้งที่เหมาะสม ในการฉีดกระตุ้นพัฒนาการของไข่ปลาเค้าขาว
2. เพื่อศึกษาอัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตายของลูกปลาเค้าขาว
3. เพื่อศึกษาคัพภะวิทยา และพัฒนาการของลูกปลาเค้าขาววัยอ่อน

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 ศึกษาปริมาณและจำนวนครั้งที่เหมาะสมของฮอร์โมนสกัด human chorionic gonadotropin (HCG) เพื่อกระตุ้นพัฒนาการของไข่ปลาเค้าขาวให้มีไข่แก่ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แม่ปลาจำนวน 1 ตัว โดยฉีด HCG ให้แก่แม่ปลาเค้าขาว ในอัตราความเข้มข้นของฮอร์โมนสกัดต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 1 ครั้ง อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม

หลังจากสิ้นสุดการฉีดกระตุ้นด้วย HCG แล้ว 24 ชั่วโมง ทุกชุดการทดลองจะฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วย buserelin acetate (BUS) อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนพ่อปลาเค้าขาวฉีดกระตุ้นฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยฉีดพร้อมกับการฉีด BUS+DOM ในแม่ปลา

1.2 สถานที่ทดลองและระยะเวลาดำเนินการ

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2558

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมพ่อแม่ปลา

พ่อแม่ปลาที่ใช้ในการทดลองเป็นปลาที่รวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดพิจิตร โดยรับซื้อจากชาวประมงในเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม 2556 คัดเลือกพ่อแม่ปลาเค้าขาวขนาดน้ำหนัก 2-3 กิโลกรัม เป็นปลาเพศเมีย จำนวน 20 ตัว และปลาเพศผู้ จำนวน 20 ตัว นำมาเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 70 ตารางเมตร ระดับน้ำลึก 70 เซนติเมตร บ่อพ่อแม่พันธุ์คลุมด้วยเนื้ออวนโพลีเอธทีลีน เพื่อป้องกันปลากระโดดออกจากบ่อ เนื่องจากปลาเค้าขาวเมื่อตกใจจะกระโดดสูงและแรง ปล่อยปลาบ่อละ 5 คู่ จำนวน 4 บ่อ

โดยจัดระบบการเลี้ยงเป็นระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด อัตราการไหลของน้ำ 100 ลิตรต่อนาที การให้อาหารให้ปลาทูสดหั่นเป็นชิ้นในอัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว วันละ 1 ครั้ง เวลา 16.00 น.

2.2 การเตรียมบ่อฟักไข่

บ่อฟักไข่เป็นบ่อคอนกรีตกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เมตร จำนวน 12 บ่อ ระดับน้ำลึก 30 เซนติเมตร เนื่องจากไข่ปลาเค้าขาวเป็นไข่แบบจมติด จึงใช้ตะแกรงขนาด 1x1 เมตร ที่บุด้วยตาข่ายสีฟ้าขนาด 16 ช่องตาต่อนิ้ว สำหรับโรยไข่ การเปลี่ยนถ่ายน้ำใช้ระบบถ่ายเทน้ำแบบผ่านตลอดเวลาในอัตรา 3 ลิตรต่อนาที และให้อากาศผ่านหัวทราย 4 จุดต่อบ่อ

2.3 การเตรียมฮอร์โมน

การเตรียมฮอร์โมนสำหรับใช้ในการทดลองครั้งนี้ ประกอบด้วยการเตรียมฮอร์โมนสกัด HCG โดยใช้ฮอร์โมนขนาดบรรจุ 5,000 IU ซึ่งก่อนนำมาใช้จะผสมด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของฮอร์โมน 500 IUต่อมิลลิลิตร ส่วนฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS จะทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของฮอร์โมน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4 การเพาะพันธุ์

ทำการตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของพ่อแม่ปลาเค้าขาวในเดือนพฤษภาคม 2557 แม่ปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 2.70 กิโลกรัม คัดเลือกแม่ปลาที่สมบูรณ์เพศจำนวน 12 ตัว มีลักษณะท้องอูมเป่ง ผนังท้องบางและนิ่ม ช่องเพศบวมมีสีชมพูเรื่อ จึงทำการตรวจสอบความสมบูรณ์ของไข่ โดยใช้สายยางดูดไข่จากแม่ปลาประมาณ 1-2 กรัม เพื่อดูความสม่ำเสมอของเม็ดไข่และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไข่ จากการวัดขนาดของไข่แม่ปลาแต่ละตัวพบว่า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 1.0-1.2 มิลลิเมตร และตรวจสอบการเคลื่อนที่ของ germinal vesicle วิธีตรวจสอบนำไข่วางลงในจานเลี้ยงเชื้อ (pretridisc) แล้วตรึงด้วยสารดองใส (clearing solution) เซอราโซลูชั่น มีส่วนผสมประกอบด้วย ethyl alcohol 96 %:formalin:acetic acid; 6:3:1 ใส่สารดองใสให้ท่วมไข่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที จะสังเกตเห็นไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ใส เมื่อนำมาส่องด้วยกล้องสเตอริโอ (Sterio microscope) สังเกตรูปร่างไข่ ขนาด และตำแหน่งของ germinal vesicle ประเมินความสมบูรณ์ของไข่ปลาที่พร้อมจะนำมาเพาะพันธุ์ ส่วนพ่อปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 2.5 กิโลกรัม เมื่อตรวจสอบความสมบูรณ์เพศพบว่าพ่อปลาจำนวน 12 ตัว ไม่สามารถรีดน้ำเชื้อได้ การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อต้องทำภายหลังการฉีดฮอร์โมน หลังจากนั้นจึงสุ่มแม่ปลาเพื่อฉีดกระตุ้นด้วย HCG ตามแผนการทดลองที่กำหนดไว้ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการกระตุ้นพัฒนาการของไข่ด้วย HCG แล้ว 24 ชั่วโมง จึงฉีดกระตุ้นการตกไข่ให้แม่ปลาแต่ละชุดการทดลองด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนพ่อปลาเค้าขาวฉีดกระตุ้นฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยฉีดพร้อมกับการฉีด BUS+DOM ในแม่ปลา

การรีดไข่และน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียม หลังจากฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ประมาณ 8 ชั่วโมง เริ่มตรวจสอบการตกไข่ของแม่ปลา เมื่อพบว่าแม่ปลาสามารถรีดไข่ได้จึงเริ่มทำการรีดน้ำเชื้อพ่อปลาและทำการตรวจสอบปริมาณและคุณภาพน้ำเชื้อ โดยใช้หลอดฉีดยาดูดน้ำเชื้อใส่หลอดพลาสติก นำไปตรวจสอบคุณภาพ คัดเลือกเฉพาะน้ำเชื้อจากพ่อปลาที่มีคุณภาพดีที่สุด รีดน้ำเชื้อพ่อปลาแต่ละตัวรวมกันไปใส่บีกเกอร์ขนาด 100-200 มิลลิลิตร เจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำเกลือ (Nacl) 0.9 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:1 ปิดปากบีกเกอร์ด้วยแผ่นฟอล์ย (Foil) เก็บไว้ในกระติกน้ำแข็ง จากนั้นรีดไข่ของแม่ปลาแต่ละตัวใส่กะละมัง ๆ ละหนึ่งตัว บันทึกจำนวนแม่ปลาที่ตกไข่และระยะเวลาตกไข่ ผสมกับน้ำเชื้อที่เตรียมไว้ การผสมเทียมใช้วิธีแบบแห้งดัดแปลง (modified dry method) ใช้ขนไก่ที่สะอาดคนให้ไข่ปลาและน้ำเชื้อเข้ากันประมาณ 1 นาที แล้วทำความสะอาดไข่ปลา โดยเติมน้ำสะอาดพอท่วมไข่และรินน้ำทิ้งทำเช่นนี้ประมาณ 2-3 ครั้ง จึงนำไข่ปลาไปโรยลงบนตะแกรงที่เตรียมไว้

และสุ่มไข่มาฟักในตะแกรงขนาด 15x15 เซนติเมตร จำนวน 1 ตะแกรงต่อแม่ ตะแกรงละ 100 ฟอง แล้วนำไปวางในกระชังผ้าโอล่อนแก้วที่แขวนในบ่อคอนกรีตบ่อละ 1 ตะแกรง ให้อากาศโดยหัวทรายและเปิดน้ำให้ไหลผ่านตลอดเวลาเพื่อใช้ประเมินอัตราการปฏิสนธิ (fertilization rate) อัตราการฟัก (hatching rate) และอัตรารอดตาย (survival rate)

2.5 ศึกษาพัฒนาการของคัพภะ และพัฒนาการของลูกปลาเค้าขาววัยอ่อน

นำไข่ปลาเค้าขาวที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อ มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ 40 เท่า ติดตามพัฒนาการของคัพภะตามขั้นตอนต่าง ๆ จนกระทั่งไข่ปลาฟักเป็นตัว บันทึกระยะเวลาและถ่ายภาพ จากนั้นศึกษาต่อไปจนปลามีพัฒนาการถึงระยะที่มีการเจริญของอวัยวะครบเหมือนตัวเต็มวัย โดยการเก็บตัวอย่างลูกปลาครั้งละ 20 ตัว ดองในน้ำยาฟอร์มาลีนความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (อภิชาติ, 2546) นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาที่ห้องปฏิบัติการ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำที่ประกอบด้วยอุปกรณ์ถ่ายภาพและ micro meter สำหรับถ่ายภาพและวัดขนาดต่าง ๆ ของลูกปลา

2.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

ตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำในบ่อพ่อแม่ปลาทุกสัปดาห์ และบ่อฟักไข่ทุกวัน เวลา 09.00 น. ดังนี้

- อุณหภูมิน้ำ (temperature) มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส ด้วยใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบแท่งแก้ว
- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ด้วย pH-meter ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 991001
- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) มีหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธีไตเตรท ตามวิธีกล่าวอ้างโดยไมตรี และจารุวรรณ (2528)
- ความเป็นด่าง (alkalinity) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ด้วยวิธีไตเตรท ตามวิธีกล่าวอ้างโดยไมตรี และจารุวรรณ (2528)
- ความกระด้าง (hardness) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ด้วยวิธีไตเตรท ตามวิธีกล่าวอ้างโดยไมตรี และจารุวรรณ (2528)
- แอมโมเนียรวม (total ammonia) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง spectro-photometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/4000V

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลการทดลองตามวิธี อุทัยรัตน์ (2538) ดังนี้

3.1 อัตราการตกไข่ (เปอร์เซ็นต์) $= \dfrac{\text{จำนวนแม่ปลาที่ตกไข่}}{\text{จำนวนแม่ปลาที่ฉีดฮอร์โมน}} \times 100$

3.2 อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) $= \dfrac{\text{จำนวนไข่ที่พัฒนาถึงระยะ gastrula}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}} \times 100$

3.3 อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) $= \dfrac{\text{จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว}}{\text{จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ}} \times 100$

3.4 อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์) $= \dfrac{\text{จำนวนลูกปลาที่เหลือรอดอายุ 3 วัน}}{\text{จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัวทั้งหมด}} \times 100$

นำข้อมูลอัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตายมาวิเคราะห์ความแปรปรวน one way analysis of variance (ANOVA) ข้อมูลที่มีการกระจายแบบไม่ปกติทำการแปลงข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ ตามข้อกำหนดของการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยแปลงข้อมูลทั้งหมดที่มีค่าสังเกตเป็นเปอร์เซ็นต์ด้วยวิธี angular transfomation (จรัญ, 2534) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี duncan new's multiple range test ที่ระดับความความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษา

1. การเพาะพันธุ์

การทดลองเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาวโดยฉีดกระตุ้นแม่ปลาด้วยฮอร์โมนสกัด HCG ที่อัตราความเข้มข้นและจำนวนครั้งต่างกัน ประกอบด้วย 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 2 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 1 ครั้ง อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 3 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 300 IUต่อกิโลกรัม ชุดการทดลองที่ 4 ฉีดฮอร์โมนสกัด HCG จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดครั้งที่ 2 อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการกระตุ้นพัฒนาการของไข่ด้วย HCG แล้ว 24 ชั่วโมง จึงฉีดกระตุ้นการตกไข่ให้แม่ปลาแต่ละชุดการทดลอง ด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปรากฏผลการทดลอง ดังนี้

1.1 อัตราการตกไข่ และน้ำหนักไข่

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 สามารถรีดไข่ผสมเทียมได้ในเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS แม่ปลาตกไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 357±40 และ 303±35 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า น้ำหนักไข่เฉลี่ยของชุดการทดลองที่ 2 มีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่1) และชุดการทดลองที่ 1 แม่ปลาไม่ตกไข่ ส่วนชุดการทดลองที่ 4 ไข่มีลักษณะเหลวปนน้ำและเปลือกไข่แตก

1.2 อัตราการปฏิสนธิ

อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยเท่ากับ 72.00±3.00 และ 56.33±4.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ 2 มีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1)

1.3 อัตราการฟัก

อัตราการฟักเฉลี่ยพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีอัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 78.67±1.53 และ 71.67±3.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า อัตราการฟักเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ 2 มีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1)

1.4 อัตรารอดตาย

อัตรารอดตายเฉลี่ยพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีอัตรารอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 82.00±7.00 และ 74.67±2.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่า อัตราการรอดตายของชุดการทดลองที่ 2 มีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแม่ปลา อัตราการตกไข่ น้ำหนักไข่ที่รีดได้ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตาย จากการเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาวโดยการฉีดกระตุ้นแม่ปลาด้วยฮอร์โมนสกัด HCG ที่อัตราความเข้มข้นและจำนวนครั้งที่ต่างกัน 4 ระดับ

ค่าเฉลี่ย	ชุดการทดลอง			
	1	2	3	4
น้ำหนักแม่ปลา (กิโลกรัม)	2.77±0.31	2.60±0.20	2.90±0.36	2.53±0.50
อัตราการตกไข่ (เปอร์เซ็นต์)	0	100	100	0*
น้ำหนักไข่ที่ได้ (กรัม)	0	357±40 [a]	303±35 [b]	0*
อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	0	72.00±3.00 [a]	56.33±4.04 [b]	0*
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)	0	78.67±1.53 [a]	71.67±3.51 [b]	0*
อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	0	82.00±7.00 [a]	74.67±2.52 [b]	0*

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ไข่มีลักษณะเหลวปนน้ำและเปลือกไข่แตก

1.5 คุณสมบัติของน้ำบ่อพ่อแม่ปลาและบ่อฟักไข่

คุณสมบัติของน้ำบ่อพ่อแม่ปลา พบว่าอุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 26.5–27.5 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.5–7.9 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 4.2–5.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นด่าง 94–110 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ความกระด้าง 117-120 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และแอมโมเนียรวม 0.0001 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2)

คุณสมบัติของน้ำบ่อฟักไข่ พบว่าอุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 27.0–28.0 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.7–8.2 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 4.6-5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นด่าง 92-108 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ความกระด้าง 120-135 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และแอมโมเนียรวม 0.0001 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของน้ำบ่อพ่อแม่ปลาและบ่อฟักไข่

คุณสมบัติของน้ำ	บ่อพ่อแม่ปลา	บ่อฟักไข่
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	26.5-27.5	27.0-28.0
ความเป็นกรดเป็นด่าง	7.5-7.9	7.7-8.2
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	4.2-5.4	4.6-5.6
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตรของ $CoCO_3$)	94-110	92-108
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตรของ $CoCO_3$)	117-120	120-135
ปริมาณแอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.0001	0.0001

2. พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว

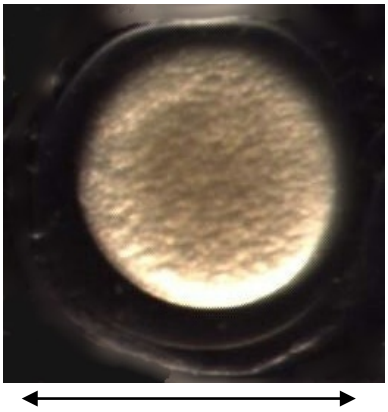
ไข่ของปลาเค้าขาวมีลักษณะกลม สีเหลืองใส เป็นไข่จมแบบติดกับวัตถุ (adhesive demersal egg) ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 มิลลิเมตร เมื่อไข่ได้รับการผสมจะมีการดึงน้ำเข้ามายังเปลือกไข่ ทำให้ไข่ขยายตัวเพิ่มขึ้น พัฒนาการของคัพภะสามารถสรุปได้ ดังนี้ ระยะ cleavage ใช้เวลา 2 ชั่วโมง 25 นาที ระยะ blastula ใช้เวลา 3 ชั่งโมง 20 นาที ระยะ gastrula ใช้เวลา 7 ชั่วโมง 50 นาที ระยะ head bud and tail bud ใช้เวลา 11 ชั่วโมง 5 นาที ระยะ somits ใช้เวลา 12 ชั่วโมง 25 นาที ระยะ optic bud ใช้เวลา 13 ชั่วโมง 25 นาที ระยะ heart formation ใช้เวลา 22 ชั่วโมง 30 นาที และฟักเป็นตัว (hatch–out) ใช้เวลา 27 ชั่วโมง 40 นาที ที่อุณหภูมิน้ำ 26.5-27.5 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 1)

ตารางที่ 3 พัฒนาการของคัพภะของปลาเค้าขาว

ภาพที่	ระยะ	เวลา	พัฒนาการของคัพภะ
1 ก	Cleavage	5 นาที	fertilized egg ไข่ที่ได้รับการผสมจะใหญ่ขึ้น หลังจากพองน้ำเต็มที่ไข่จะใสมองเห็นส่วนของเปลือกไข่อย่างชัดเจน
1 ข		20 นาที	1 cell stage ทางด้าน animal pole จะเกิดเซลล์ 1 เซลล์
1 ค		35 นาที	2 cell stage ทางด้าน animal pole แบ่งเป็น 2 เซลล์เท่า ๆ กัน
1 ฆ		50 นาที	4 cell stage เซลล์แต่ละเซลล์จะแบ่งแยกตัวเอง โดยมีขนาดเท่า ๆ กัน 4 เซลล์
1 ง		1 ชั่วโมง	8 cell stage เซลล์แต่ละเซลล์จะมีการแบ่งแยกตัวเองได้เป็น 8 เซลล์ โดยแบ่งเป็น 2 แถว ๆ ละ 4 เซลล์
1 จ		1 ชั่วโมง 20 นาที	16 cell stage เซลล์แต่ละเซลล์จะมีการแบ่งแยกตัวเองได้เป็น 16 เซลล์ โดยแบ่งเป็น 4 แถว ๆ ละ 4 เซลล์
1 ฉ		1 ชั่วโมง 40 นาที	32 cell stage เซลล์แต่ละเซลล์จะมีการแบ่งแยกตัวเองได้เป็น 32 เซลล์ โดยไม่สามารถแบ่งแยกแถวได้ชัดเจน
1 ช		2 ชั่วโมง	64 cell stage เซลล์มีขนาดเล็กซ้อนกันและเบียดกันอย่างหนาแน่น ระยะนี้แบ่งเซลล์ได้ 64 เซลล์
1 ซ		2 ชั่วโมง 25 นาที	morula stage เซลล์มีขนาดเล็ก ๆ จำนวนมาก ซ้อนกันอยู่อย่างหนาแน่น จนแยกไม่ออกว่าเป็นเซลล์ เซลล์จะรวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะคล้ายหมวกครอบเหนือไข่แดง ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายของ cleavage
1 ฌ	Blastula	3 ชั่วโมง 20 นาที	blastula stage ระยะนี้เซลล์มีการแบ่งตัวเต็มที่และเกิดช่องว่างภายใน (blastucoel)

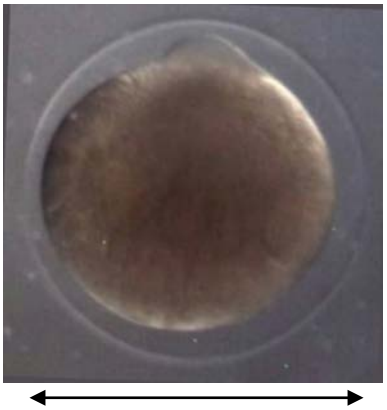
ตารางที่ 3 (ต่อ)

ภาพที่	ระยะ	เวลา	พัฒนาการของคัพภะ
1 ญ	Gastrula	7 ชั่วโมง 50 นาที	Early gastrula stage ขอบของ blastodisc จะหนาขึ้น โดยรอบทำให้เกิดลักษณะคล้ายวงแหวนล้อมรอบโยล์ค เรียกว่า germ-ring เกิดเนื้อเยื่อ 3 ชั้น คือ ectoderm mesoderm และ endoderm
1 ฎ		10 ชั่วโมง 25 นาที	late gastrula stage โยล์คจะถูกกลุ่มเซลล์หุ้มจนมิด เรียกว่าระยะ blastopore ปิด
1 ฏ	head bud and tail bud	11 ชั่วโมง 5 นาที	head bud and tail bud stage ระยะนี้เอ็มบริโอจะมีรูปร่างคล้ายทรงกระบอกยาวติดอยู่กับ extraembryonic yolk เกิดเป็นตัวเอ็มบริโอ ซึ่งพัฒนาจนกลายเป็นลำตัวลูกปลา โดยส่วนปลายทั้งสองด้านจะยกตั้งขึ้นเกิดเป็น head bud และ tail bud
1 ฐ	somite	12 ชั่วโมง 25 นาที	somite stage ระยะนี้หางเริ่มเคลื่อนไหวด้วยการหดตัวและคลายตัว
1 ฑ	optic bud	13 ชั่วโมง 25 นาที	optic bud stage ระยะนี้ส่วนของ head bud เจริญมากขึ้นและพบส่วนของ optic bud ซึ่งมีลักษณะเป็นวงใสอยู่บริเวณ head bud ซึ่งต่อไปจะเจริญไปเป็นลูกตาของปลา
1 ฒ	heart formation	22 ชั่วโมง 30 นาที	heart formation stage ตัวเอ็มบริโอเจริญมากขึ้น หัวใจและกล้ามเนื้อเริ่มทำงาน ส่วนหางแยกออกจากผนัง
1 ณ	hatch–out	27 ชั่วโมง 40 นาที	hatch–out stage ไข่ปลาเค้าขาวเริ่มฟักออกเป็นตัว ก่อนฟักออกเป็นตัวปลา เอ็มบริโอจะดิ้นอยู่ภายใน เมื่อผนังไข่แตกส่วนหางจะออกมาก่อน ลำตัวจะมีลักษณะใส ระยะแรกตัวอ่อนจะจมอยู่ก้นบ่อ มีถุงไข่แดงขนาดใหญ่อยู่บริเวณท้อง และหงายท้องเอาถุงไข่แดงไว้ด้านบน มีการเคลื่อนไหวเป็นครั้งคราว ลูกปลามีความยาว 3.64 มิลลิเมตร



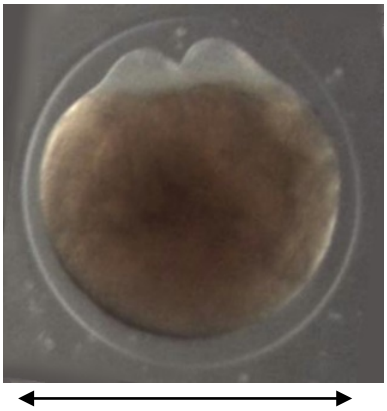
1.4 มม.

ก fertilized egg



1.4 มม.

ข 1 cell stage

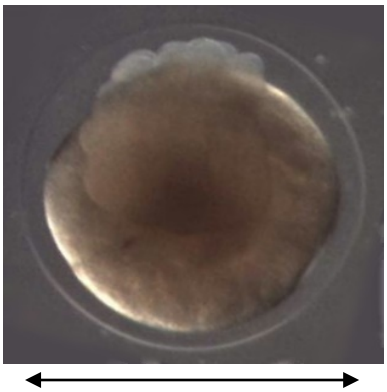


1.4 มม.

ค 2 cell stage

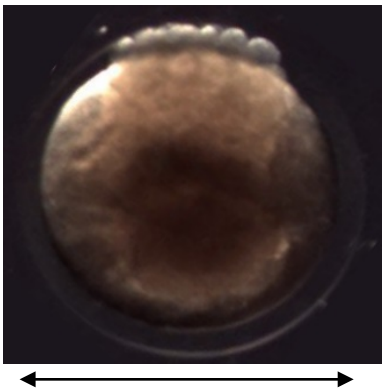
1.4 มม.

ฆ 4 cell stage



1.4 มม.

ง 8 cell stage



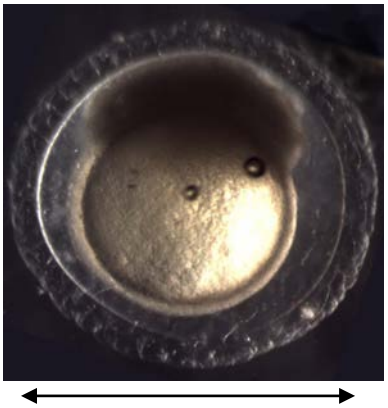
1.4 มม.

จ 16 cell stage

ภาพที่ 1 พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว

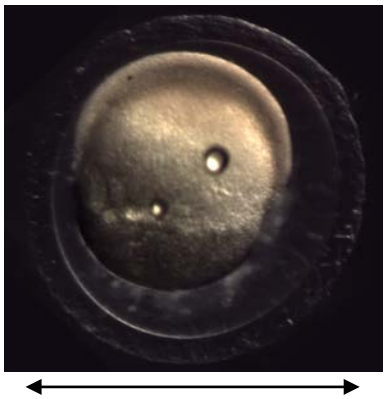
1.4 มม.

ฉ 32 cell stage



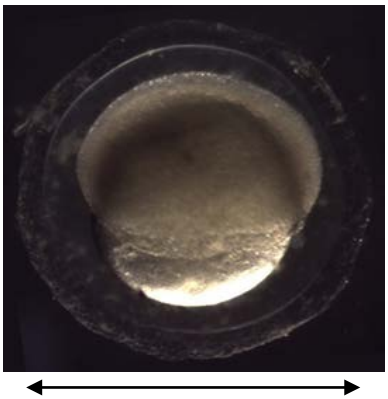
1.4 มม.

ช 64 cell stage



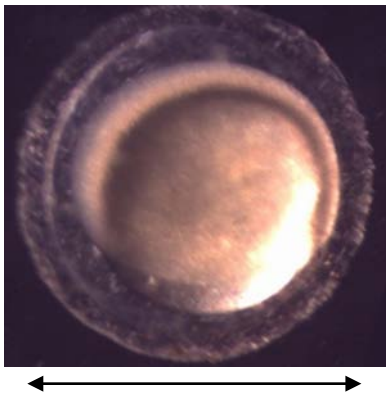
1.4 มม.

ซ morula stage



1.4 มม.

ฌ blastula stage



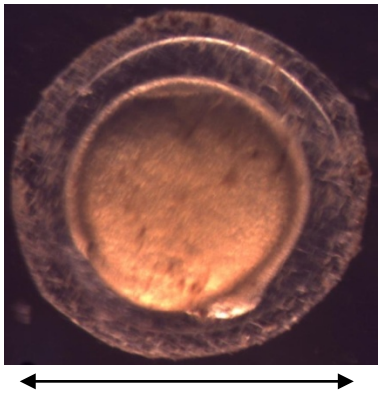
1.4 มม.

ญ early gastrula stage

1.4 มม.

ฎ late gastrula stage

ภาพที่ 1 พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว



1.4 มม.

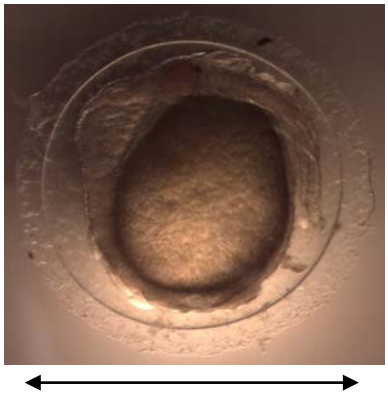
ฎ head bud and tail bud stage

1.4 มม.

ฐ somite stage

1.4 มม.

ฑ optic bud stage



1.4 มม.

ฒ heart formation stage

3.64 มม.

ณ hatch–out stage

ภาพที่ 1 พัฒนาการของคัพภะปลาเค้าขาว

3. พัฒนาการของลูกปลาเค้าขาววัยอ่อน

ลูกปลาเค้าขาวเมื่อฟักออกเป็นตัวลำตัวจะมีลักษณะใส และมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่บริเวณท้อง เมื่อลูกปลาอายุได้ 12 ชั่วโมง เริ่มมีการพัฒนาของตา ลูกปลาอายุ 2 วัน มีการพัฒนาของครีบอกและครีบก้น ส่วนปากและขากรรไกรสามารถใช้งานได้อย่างสมบูรณ์เมื่อลูกปลามีอายุ 4 วัน ลูกปลาเริ่มกินอาหารได้ ส่วนครีบอก ครีบหลัง และครีบก้นมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์เมื่อลูกปลามีอายุ 7 วัน และเมื่อลูกปลาอายุได้ 23 วัน จะมีลักษณะคล้ายตัวเต็มวัย

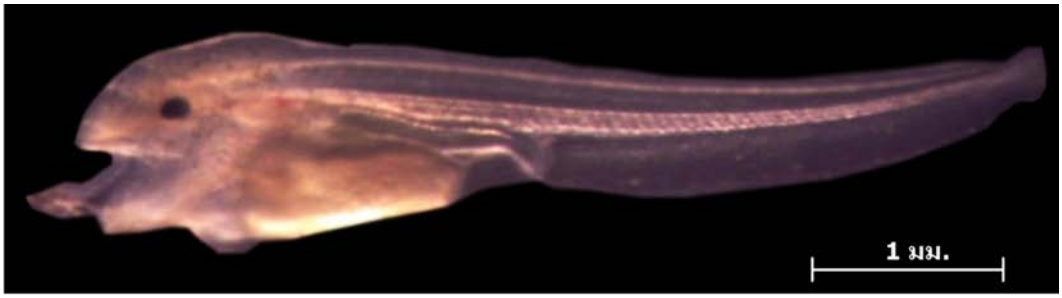
ตารางที่ 4 ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง

อายุลูกปลา	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนา
12 ชั่วโมง	2 ก	ลูกปลามีความยาว 4.70 มิลลิเมตร ลักษณะลำตัวเรียวยาวส่วนหัวเริ่มแยกออกจากถุงไข่แดง ตาเริ่มมีการพัฒนา มีจุดสีปรากฏอยู่ที่บนหัว หางเคลื่อนไหวเล็กน้อย
1 วัน	2 ข	ลูกปลามีความยาว 5.70 มิลลิเมตร ตามีการพัฒนามากขึ้น ปากและหนวดที่ขากรรไกรบนมีการพัฒนาขึ้นมาอย่างชัดเจน ถุงไข่แดงลดขนาดลง หางเคลื่อนไหวตลอดเวลา
2 วัน	2 ค	ลูกปลามีความยาว 7.76 มิลลิเมตร ส่วนหัวของลูกปลามีการพัฒนาอย่างมาก มีหนวดเกิดขึ้น 3 คู่ ได้แก่ ที่ริมฝีปากบน ขากรรไกรล่าง และใต้คาง จุดละ 1 คู่ ถุงไข่แดงมีขนาดเล็กลงมาก ครีบอกและครีบก้นเริ่มมีการพัฒนาขึ้นมาให้เห็น
3 วัน	2 ง	ลูกปลามีความยาว 11.26 มิลลิเมตร ส่วนหัวมีลักษณะเทลาดลง ตาค่อนข้างโต มองไม่เห็นถุงไข่แดง ฐานครีบก้นได้พัฒนาขึ้นมาจนสุดโคนหาง
4 วัน	2 จ	ลูกปลามีความยาว 13.57 มิลลิเมตร ปากและขากรรไกรสามารถใช้งานได้สมบูรณ์ ฐานของครีบหลังและครีบก้นได้มีการพัฒนา ปริมาณจุดสีบนหัวและลำตัวเพิ่มจำนวนเป็นแถบขนาดใหญ่
5 วัน	2 ฉ	การพัฒนาของก้านครีบหลัง ครีบก้น ก้านครีบหางและก้านครีบอกมีการพัฒนาอย่างมาก และครีบท้องเริ่มมีการพัฒนาขึ้นเป็นเยื่อบาง ๆ 1 คู่ ปลายจะงอยปากลดลงจากเดิมเล็กน้อย ในระยะนี้ลูกปลามีความยาว 19.29 มิลลิเมตร
7 วัน	2 ช	ลูกปลามีความยาว 22.73 มิลลิเมตร จะงอยปากลาดลงมามากขึ้น มีการพัฒนาของก้านครีบอก ครีบหลัง และครีบหางสมบูรณ์ ส่วนครีบก้นมีการพัฒนาก้านครีบบริเวณส่วนท้ายของครีบ จุดสียังคงเพิ่มมากขึ้นในบริเวณเดิม
9 วัน	2 ซ	ครีบหางได้พัฒนาเป็นแฉกเว้าเข้าไป โดยแพนหางอันบนจะยาวกว่าแพนหางอันล่าง ครีบอกมีการพัฒนาของก้านครีบ จุดสียังคงเพิ่มมากขึ้นในบริเวณเดิมและที่กระพุ้งแก้ม ในระยะนี้ลูกปลามีความยาว 27.14 มิลลิเมตร
12 วัน	2 ฌ	ลูกปลามีความยาว 31.02 มิลลิเมตร จุดสีมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นบนฐานของครีบหลัง ครีบหาง และแถบสีดำบนครีบก้นได้เพิ่มปริมาณไปจนเกือบจรดปลายครีบก้น

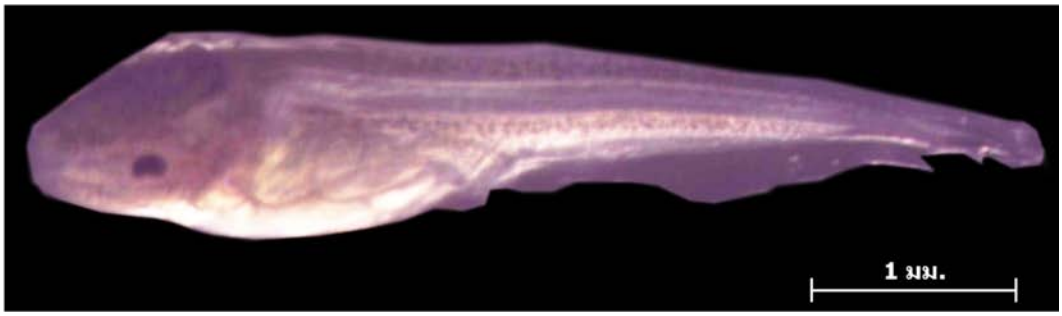
ตารางที่ 4 (ต่อ)

อายุลูกปลา	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนา
15 วัน	2 ญ	ปริมาณจุดสีดำเพิ่มมากขึ้นบริเวณฐานของครีบหลัง และกระดูกกระพุ้งแก้ม ทำให้มองเห็นเป็นสีดำ 3 แถบ ตามแนวนอนบนตัวปลา ในระยะนี้ลูกปลามีความยาว 38.60 มิลลิเมตร
23 วัน	2 ฎ	ลูกปลามีความยาว 70.05 มิลลิเมตร มีลักษณะคล้ายตัวเต็มวัย มองเห็นแถบสีดำ 3 แถบ บนตัวลูกปลา (ที่หลัง กลางตัว และบนครีบก้น) ครีบหางมีแถบสีขนาดเล็กในแนวตั้งอยู่หลายแถบ

ก



ข



ค

ง

ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง

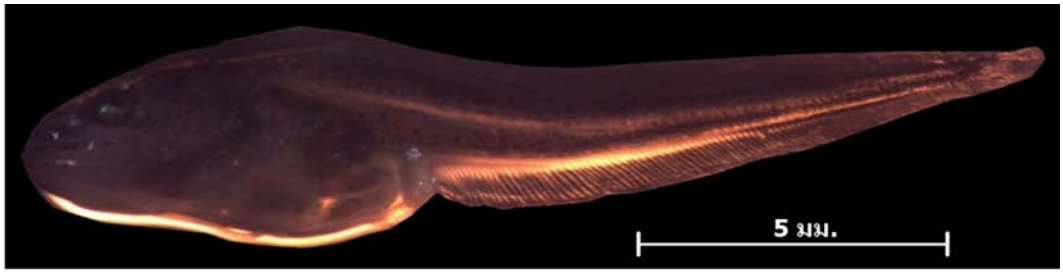
ก. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 12 ชั่วโมง ขนาดยาว 4.70 มิลลิเมตร

ข. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 1 วัน ขนาดยาว 5.70 มิลลิเมตร

ค. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 2 วัน ขนาดยาว 7.76 มิลลิเมตร

ง. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 3 วัน ขนาดยาว 11.26 มิลลิเมตร

จ



ฉ

ช

ซ

ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง

จ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 4 วัน ขนาดยาว 13.57 มิลลิเมตร

ฉ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 5 วัน ขนาดยาว 19.29 มิลลิเมตร

ช. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 7 วัน ขนาดยาว 22.73 มิลลิเมตร

ซ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 9 วัน ขนาดยาว 27.14 มิลลิเมตร

ฌ

ญ

ฎ

ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเจริญพัฒนาของลูกปลาเค้าขาวจากการเพาะเลี้ยง
ฌ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 12 วัน ขนาดยาว 31.02 มิลลิเมตร
ญ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 15 วัน ขนาดยาว 38.60 มิลลิเมตร
ฎ. ลูกปลาเค้าขาวอายุ 23 วัน ขนาดยาว 70.05 มิลลิเมตร

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาพบว่า การฉีดกระตุ้นพัฒนาการของไข่แม่ปลาเค้าขาวที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ 1.0-1.2 มิลลิเมตร ด้วยฮอร์โมนสกัด HCG ที่อัตราความเข้มข้น 500 IUต่อกิโลกรัม ครั้งเดียว และฉีด 2 ครั้ง ๆ ละ 300 IUต่อกิโลกรัม โดยเว้นระยะ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าสามารถทำให้แม่ปลาเค้าขาวทุกตัวตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยเท่ากับ 56.33-72.00 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 71.67-78.67 เปอร์เซ็นต์ และอัตรารอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 74.67-82.00 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาโมงรุ่น F1 *(Pangasius bocourti)* ที่พบว่าการใช้ฮอร์โมนสกัด HCG ในการกระตุ้นพัฒนาการของไข่เพื่อให้ปลามีไข่แก่ก่อนที่จะฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS อัตรา 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้ปลาโมงตกไข่ได้เช่นเดียวกัน (วรัญญู และคณะ, 2549) แต่ชุดการทดลองที่ 4 พบว่าไข่มีลักษณะเหลวเป็นน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับ Tuan (1999) ที่รายงานว่าการฉีด HCG ในอัตราที่สูงมากร่วมกับ BUS หรือการฉีดฮอร์โมนหลายครั้ง ทำให้ปริมาณฮอร์โมนในแม่ปลามีปริมาณมากเกินความจำเป็น ส่งผลให้เกิดการ over dose ทำให้เกิดการย่อยสลาย

และทำลายผนังไข่ให้แตก อาจส่งผลในทางลบเป็น negative feedback สอดคล้องกับ Cacot (2002) ที่กล่าวว่า การฉีดฮอร์โมนที่มากเกินไปแทนที่จะไปส่งผลในการกระตุ้นไข่ให้มีความสมบูรณ์ขึ้น กลับไปทำลายไข่ส่งผลให้เกิดการ orver-ripe ของไข่

ไข่ปลาเค้าขาวมีลักษณะกลมสีเหลืองใส เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 มิลลิเมตร เป็นไข่จมติดวัตถุ ใช้เวลาฟักออกเป็นตัว 27 ชั่งโมง 40 นาที มีความยาว 3.64 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิน้ำ 26.5-27.5 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลาน้อยและมีขนาดเล็กกว่าปลาเค้าดำที่ใช้เวลาฟัก 28-32 ชั่วโมง มีความยาว 4.62 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิน้ำ 27-28 องศาเซลเซียส (สง่า และคณะ, 2537) ลูกปลาเค้าขาวถุงไข่แดงยุบหมดเมื่อลูกปลาอายุ 3 วัน และเริ่มกินอาหาร เช่น ไรแดง ลูกปลา และมีพัฒนาการคล้ายตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 23 วัน

คุณสมบัติน้ำบ่อพ่อแม่ปลาและบ่อฟักไข่ พบว่ามีค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง โดยค่าอุณหภูมิน้ำอยู่ระหว่าง 26.5-28 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 7.5-8.2 ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ระหว่าง 4.2-5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 92–110 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ค่าความกระด้างของน้ำอยู่ระหว่าง 117-135 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่า 0.0001 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในช่วงที่สัตว์น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ดี (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)

จากการทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่า การเพาะพันธุ์ปลาเค้าขาว โดยการฉีดกระตุ้นแม่ปลาให้มีไข่แก่ด้วยฮอร์โมนสกัด HCG ที่อัตรา 500 IUต่อกิโลกรัม เพียงครั้งเดียว เว้นระยะ 24 ชั่วโมง แล้วจึงฉีดกระตุ้นการตกไข่ด้วย BUS 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีความเหมาะสมที่สุด เมื่อพิจารณาจากอัตราการตกไข่ น้ำหนักไข่ที่ได้ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดตาย

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของฮอร์โมนสกัด HCG ในอัตราความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 500 IUต่อกิโลกรัม โดยฉีดเพียงครั้งเดียวในการใช้กระตุ้นการพัฒนาของไข่เพื่อลดต้นทุนการผลิต

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพิษณุโลกทุกท่าน ที่ได้ให้ความร่วมมือในการทำการทดลองในครั้งนี้จนงานวิจัยลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา ดีอินทร์. 2551. ชีววิทยาบางประการของปลาเค้าขาวในแม่น้ำแควน้อย และระบบแม่น้ำข้างเคียงในจังหวัดพิษณุโลก. เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 60 หน้า.

จรัญ จันทลักขณา. 2534. สถิติวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. ไทยวัฒนาพาณิชย์จำกัด, กรุงเทพฯ. 468 หน้า.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง. 115 หน้า.

วรัญญู ขุนเจริญ, โสภิศ ไชยยาว และสุพัตร์ ศรีพัฒน์. 2549. การเพาะพันธุ์ปลาโมงรุ่น F1. เอกสารวิชาการฉบับที่ 69/2549. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 27 หน้า.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอำนาจเจริญ. 2558. การพัฒนาองค์ความรู้การเพาะเลี้ยงปลาเค้าขาว. (ออนไลน์) สืบค้นเมื่อ 27 ตุลาคม, 2558, จาก http://www.fisheries.go.th/if-ubon amnat/web2/images/downloads/KM%20ws.pdf.

สง่า ลีสง่า, เทียนทอง อยู่เวชวัฒนา และสมคิด ดำดัส. 2537. การเพาะพันธุ์ปลาเค้าดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2537. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 18 หน้า.

อภิชาติ เติมวิชากร. 2546. ลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อน. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด, กรมประมง. 130 หน้า.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. การเพาะพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 231 หน้า.

Cacot, P. 2002. Aquaculture or indigenous Mekong fish species : Reproductive physiology and induced spawning of Pangasius spp. Mekong River Comission for Sustainable development, Component Report No. 13. 54 pp.

Smith. H.A., 1945. The Freshwater Fish of Siam, or Thailand. United States Government printing office. Washington D.C., p.335-336.

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