รายงานการวิจัย

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีผสมอาหารเพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

Dietary Administration of Synthetic Hormone of the Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*) Induced Spawning

อุทร เจริญเดช Uton Charoendat

วรวุฒิ เกิดปราง Worawut Koedprang

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2564

รายงานการวิจัย

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีผสมอาหารเพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

Dietary Administration of Synthetic Hormone of the Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*) Induced Spawning

อุทร เจริญเดช Uton Charoendat

วรวุฒิ เกิดปราง Worawut Koedprang

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2564

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณเงินรายได้ประจำปี พ.ศ. 2564 เป็นงานวิจัยที่ทำให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ด้านการพัฒนาศาสตร์การเพาะเลี้ยงปลาสวยงามของไทย เพื่อเพิ่มศักยภาพและให้เกิดความยั่งยืน ในส่วนนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย นักศึกษาผู้ช่วยวิจัย เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ในการดำเนินการทำงานวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สามารถดำเนินการลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนขอขอบคุณครอบครัวและผองเพื่อนที่เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงานดังกล่าว ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

อุทร เจริญเดช

กรกฎาคม 2565

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีผสมอาหารเพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

อุทร เจริญเดช และวรวุฒิ เกิดปราง

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) เพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) โดยใช้วิธีการผสมอาหาร ให้ฮอร์โมน BUS และสารเสริมฤทธิ์ DOM เฉพาะแม่พันธุ์ และทำการเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่ 3:3 ในตู้กระจกที่เลียนแบบธรรมชาติ ซึ่งการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปลาซิวข้างขวานเล็กไม่วางไข่ แต่ได้มีการศึกษาต่อยอดเพิ่มเติมโดยวิธีการผสมอาหาร การกรอกปาก และการฉีดเข้ากล้ามเนื้อโดยให้ BUS และ DOM ในปลาทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ และเพาะพันธุ์ปลาในตู้กระจกที่เลียนแบบธรรมชาติเช่นกันด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่ 3:3 และ 1:1 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าปลาซิวข้างขวานเล็กไม่วางไข่หลังจากให้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารและการกรอกปาก แต่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลาชนิดนี้มีการผสมพันธุ์วางไข่ได้สำเร็จด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/Kg ร่วมกับ DOM 10 mg/Kg และให้ปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/Kg ร่วมกับ DOM 10 mg/Kg การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปลาได้วางไข่หลังการฉีดฮอร์โมนที่เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และลูกปลาเริ่มฟักเป็นตัวที่เวลาประมาณ 19 ชั่วโมงต่อมา นอกจากนี้ พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่ 3:3 และ 1:1 ให้ผลให้เคียงกันซึ่งพิจารณาจากปัจจัยที่ตรวจวัด โดยแสดงให้เห็นว่าจำนวนไข่รวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50.25+13.45 และ 55.50+6.61 ฟอง จำนวนลูกปลารวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.25+4.65 และ 21.75+2.63 ตัว อัตราปฏิสนธิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 81.25+1.69 และ 81.12+1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 79.40+1.56 และ 79.45+1.24 เปอร์เซ็นต์ และอัตรารอดของลูกปลามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.73+1.20 และ 60.81+1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ ปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์เพียงคู่เดียวในทุกตู้ที่ใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ดังนั้นสัดส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ปลาที่เหมาะสมจึงอยู่ที่ 1:1

คำสำคัญ: ปลาซิวข้างขวานเล็ก, ฮอร์โมนสังเคราะห์, การวางไข่

[1]อาจารย์ สาขาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

Dietary Administration of Synthetic Hormone of the Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*) Induced Spawning

Uton Charoendat and Worawut Koedprang

Abstract

Administration of the synthetic hormone, buserelin acetate (BUS), in combination with the synergistic agent, domperidone (DOM), to induce spawning of Lambchop rasbora (*Trigonostigma espei*), was studied by conducting the method of in-feed medication. Only female fish were treated with BUS and DOM, and fish breeding with a broodstock ratio of 3:3 was carried out in a glass aquaria decorated as a natural imitation. This trial revealed that Lambchop rasbora did not spawn. However, additional studies were carried out using methods of in-feed medication, gavage, and intramuscular injection. The BUS and DOM were given to both male and female fish, and fish breeding with broodstock ratios of 3:3 and 1:1 was also conducted in a glass aquaria decorated as a natural imitation. The derived results showed that Lambchop rasbora did not spawn after receiving BUS in combination with DOM through the methods of in-feed medication and gavage. However, the breeding of this fish species could be accomplished by intramuscular injection in which male fish received the combination of 10 µg/Kg BUS and 10 mg/Kg DOM, and female fish received the combination of 15 µg/Kg BUS and 10 mg/Kg DOM. This trial showed that the induced fish had spawned 10 hours after injection, and the fry began to hatch approximately 19 hours later. Moreover, fish breeding with the broodstock ratios of 3:3 and 1:1 showed similar results considered from the parameters evaluated. This indicated that the average numbers of eggs were 50.25$\pm$13.45 and 55.50$\pm$6.61, the average numbers of fry were 19.25$\pm$4.65 and 21.75$\pm$2.63, the average fertilization rates were 81.25$\pm$1.69 and 81.12$\pm$1.34 percent, the average hatching rates were 79.40$\pm$1.56 and 79.45$\pm$1.24 percent, and the survival rates of fry were 59.73$\pm$1.20 and 60.81$\pm$1.79 percent, respectively. In addition, there was only a couple of fish mating in all tanks containing the broodstock ratio of 3:3; therefore, the suitable sex ratio for breeding this fish species was 1:1.

Keywords: *Trigonostigma espei*, synthetic hormone, spawning

[1]Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology. Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.4 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	9
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	9
บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย	10
2.1 วัสดุอุปกรณ์	10
2.2 วิธีการ	11
บทที่ 3 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล	14
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	23

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 (Mean+SD)	16
ตารางที่ 2	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 (Mean+SD)	17
ตารางผนวกที่ 1	ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้กรอกปากปลาพิจารณาตามน้ำหนักตัวและปริมาณของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ	25
ตารางผนวกที่ 2	ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ฉีดปลาซึ่งระบุตามเพศและน้ำหนักตัวและปริมาณสารละลายตั้งต้นของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับการฉีดปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ	26
ตารางผนวกที่ 3	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3	34
ตารางผนวกที่ 4	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1	36

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	พ่อแม่พันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กจับคู่ผสมพันธุ์หลังได้รับฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์	18
ภาพที่ 2	ไข่ปลาปลาซิวข้างขวานเล็กที่ติดกับไม้น้ำและไข่บางส่วนที่ร่วงลงก้นตู้	18
ภาพที่ 3	ไข่ปลาซิวข้างขวานเล็กที่ได้รับการปฏิสนธิ	18
ภาพที่ 4	ลูกปลาซิวข้างขวานเล็กแรกเกิด	18
ภาพผนวกที่ 1	ตู้ทดลองเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็ก	29
ภาพผนวกที่ 2	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหาร	30
ภาพผนวกที่ 3	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการกรอกปาก	31
ภาพผนวกที่ 4	การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ	32-33

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) เป็นปลาสวยงามน้ำจืดชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยปลาที่มีอยู่ในตลาดส่วนใหญ่เป็นปลาที่จับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะแหล่งน้ำในเขตอำเภอย่านตาขาวและอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง (Kraisurasre *et al*., 2008) ปลาชนิดนี้มีขนาดเล็ก มีความสวยงาม และมักนำไปเลี้ยงในตู้พันธุ์ไม้น้ำ ซึ่งเป็นที่นิยมมากในต่างประเทศ ปลาซิวข้างขวานเล็กมีลักษณะลำตัวแบนข้าง สีน้ำตาลอมเขียว บริเวณกลางลำตัวมีสีน้ำตาลอมแดง มีแถบสามเหลี่ยมสีดำเล็ก ๆ คล้ายรูปขวาน ตอนกลางลำตัวไปทางด้านหาง (Chundum *et al*., 2010) ปลาชนิดนี้จัดอยู่ในประเภทปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากชาวบ้านได้จับปลาส่งขายพ่อค้าคนกลางเพื่อส่งขายภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ประกอบกับแหล่งวางไข่ในบางพื้นที่ของปลาชนิดนี้ลดลง เนื่องจากถูกทำลายจากการขุดลอกคูคลอง หรือแหล่งน้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ ปัจจุบัน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเขต 11 (ตรัง) กรมประมง ได้มีการดำเนินการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้เพื่อปล่อยกลับคืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติและพัฒนาการเลี้ยงให้เป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจส่งออกเพื่อทดแทนการจับจากธรรมชาติบ้างแล้ว (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) แต่ปลาที่มีในธรรมชาติก็ยังลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ ปลาชนิดนี้ต้องเพาะพันธุ์โดยอาศัยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติ และปลาตัวเมียไม่ค่อยวางไข่ การผลิตปลาออกมาในเชิงพาณิชย์จึงได้ปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ต้องอาศัยการจับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ดั้งนั้น เพื่อเป็นการหาแนวทางในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงมีแนวคิดในการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่มีการใช้กันโดยทั่วไปในการเพาะพันธุ์ปลา เพื่อเหนี่ยวนำให้ปลาซิวข้างขวานเล็กเพศเมียมีการวางไข่ แต่การใช้ฮอร์โมนให้มีประสิทธิภาพต้องใช้วิธีการฉีด ซึ่งในเชิงปฏิบัติสามารถทำได้ค่อนข้างยากกับปลาชนิดนี้ เนื่องจากปลามีขนาดเล็กมาก จึงต้องการศึกษาหาวิธีการทางเลือกที่จะให้ฮอร์โมนแก่ปลาด้วยการให้ผสมฮอร์โมนผ่านการกินอาหาร ถึงแม้อาจมีประสิทธิภาพไม่ดีเท่ากับการฉีด แต่อาจเป็นไปได้มากที่สุดที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ ซึ่งถ้าวิธีการใช้ฮอร์โมนนี้ได้ผลดีกว่าการเพาะพันธุ์ปลาแบบดั้งเดิมก็จะทำให้การเพาะเลี้ยงปลาซิวข้างขวานเล็กเชิงพาณิชย์มีประสิทธิภาพมากขึ้น ได้ปริมาณลูกพันธุ์ปลาที่แน่นอนตามความต้องการของตลาด และเป็นการช่วยอนุรักษ์สายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดนี้อีกทางหนึ่ง เนื่องจากการจับรวบรวมปลาจากธรรมชาติลดลง

1.2 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ปลาซิวข้างขวานเล็กเป็นปลาสวยงามท้องถิ่นของจังหวัดตรัง และเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งในและต่างประเทศ แต่การเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ยังมีค่อนข้างน้อยเนื่องจากปลามีขนาดเล็ก ออกไข่ค่อนข้างยาก และต้องอาศัยการเพาะพันธุ์เลียนแบบธรรมชาติที่ไม่มีความแน่นอนในการผลิตเชิงปริมาณ ปลาที่ขายตามท้องตลาดส่วนใหญ่จึงเป็นปลาที่ได้รวบรวมมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันประชากรปลาในแหล่งน้ำก็ลดลงเนื่องจากสภาพแวดล้อมของแหล่งวางไข่ของปลาเปลี่ยนไปโดยกิจกรรมของมนุษย์ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะทำการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้โดยการเหนี่ยวนำให้ปลาวางไข่โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดต่าง ๆ เชิงพาณิชย์ แต่เนื่องจากปลามีขนาดเล็กเกินกว่าที่จะให้ฮอร์โมนโดยวิธีการฉีด และอาจส่งผลกระทบด้านลบต่อตัวปลาได้ การให้ฮอร์โมนโดยวิธีการผสมอาหารจึงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าจะเหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้

1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

1) ชีววิทยาของปลาซิวข้างขวานเล็ก

ปลาซิวข้างขวานเล็ก เป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว Cyprinidae ซึ่ง Smith (1945) ได้จัดจำแนกอนุกรมวิธานของปลาซิวข้างขวาน ดังนี้

Order Cypriniformes

Family Cyprinidae

Subfamily Rasboranae

Genus *Rasbora*

ปลาซิวข้างขวานถูกจัดอยู่ในสกุล *Rasbora* แต่ปัจจุบัน จัดปลาซิวข้างขวานอยู่ในสกุล *Trigonostigma* ปลาซิวข้างขวานเล็กมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อน พบตามแหล่งน้ำธรรมชาติของประเทศไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ในประเทศไทยพบได้ในแม่น้ำลำคลองที่อยู่ในเขตพื้นที่ป่าพรุของภาคใต้ โดยเฉพาะในเขตอำเภอย่านตาขาวและอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง (Kraisurasre *et al*., 2008) นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในแหล่งน้ำตื้น ๆ ที่มีพรรณไม้น้ำกระจายอยู่ทั่วไปของภาคตะวันออก โดยเฉพาะจังหวัดจันทบุรี (Chundum *et al*., 2010) ปลาซิวข้างขวานเล็กมีลำตัวแบนด้านข้าง ลำตัวเป็นสีน้ำตาลอมเขียว ต่างจากบริเวณกลางลำตัวเป็นสีน้ำตาลอมแดง ลักษณะเด่นของปลาซิวชนิดนี้คือมีแถบสามเหลี่ยมสีดำเล็ก ๆ คล้ายรูปขวาน ตอนกลางลำตัวไปทางด้านหาง จึงมีชื่อว่า “ปลาซิว

ข้างขวานเล็ก” ที่ครีบหางมีสีส้ม หรือสีแดงอ่อน ปลาเพศผู้มีสีสดใส หรือสีเข้มกว่าเพศเมีย ลำตัวเรียวกว่าเพศเมีย บริเวณปลายสามเหลี่ยมที่เป็นสีดำจะแผ่กว้างและทำมุมลาดเอียงกว่า ส่วนเพศเมียจะมีท้องอูมเป่ง และลำตัวมีขนาดใหญ่มากกว่าเพศผู้ ปลาชนิดนี้มีพฤติกรรมชอบอยู่รวมกันเป็นฝูงไม่ทำร้ายกัน เป็นปลาที่มีความว่องไวปราดเปรียว และหากินตามพื้นท้องน้ำที่เป็นโคลน หรือโคลนปนทราย ขนาดโดยทั่วไปมีความยาวประมาณ 2 - 5 เซนติเมตร แต่ส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทยมีความยาวประมาณ 2.5 - 3.5 เซนติเมตร (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) ปลาซิวข้างขวานเล็กสามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร ได้แก่ พืชน้ำ ตัวอ่อนแมลง ไรน้ำ ไรแดง ลูกน้ำ และหนอนแดง เป็นต้น (Chundum *et al*., 2010) และเป็นปลาที่ชอบวางไข่เกาะติดตามใบไม้น้ำพวก Cryptocorynes เช่น อะเมซอน (*Echinodorus* spp.) (Dawes, 1987) ปลาซิวข้างขวานเล็กมีรังไข่แบบ 2 พู ขนาดความยาว 2.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.34 กรัม น้ำหนักรังไข่ 0.71 กรัม มีจำนวนไข่ประมาณ 594 ฟอง (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) และปลาที่มีความยาว 3.4 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.52 กรัม น้ำหนักรังไข่ 0.93 กรัม มีจำนวนไข่ 685 ฟอง ปลาจะวางไข่ครั้งละประมาณ 200 - 300 ฟอง ไข่จะฟักภายใน 24 ชั่วโมง และลูกปลาสามารถว่ายน้ำเป็นอิสระได้ภายใน 4 วัน และเริ่มกินอาหารขนาดเล็ก ซึ่งจะกินอาหารได้ทั้งอาหารมีชีวิต อาหารสด และอาหารสำเร็จรูป (Aderton, 1997; Dawes, 1987) ทั้งนี้ Kraisurasre and Kraisurasre (2008) ได้รายงานว่าปลาซิวข้างขวานเล็กออกไข่ที่เป็นประเภทไข่จมติดวัสดุ มีรูปร่างกลม สีเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1.0 - 1.1 มิลลิเมตร ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วมีสีใส ส่วนไข่ที่ไม่สมบูรณ์และไม่ได้รับการปฏิสนธิจะทึบแสง มีสีขาวขุ่น ลูกปลาจะฟักออกเป็นตัวโดยใช้เวลา 19 ชั่วโมง 29 นาที ที่อุณหภูมิน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส โดยก่อนการผสมพันธุ์วางไข่ ปลาเพศผู้จะไล่ปลาเพศเมียที่พร้อมจะวางไข่และปลาเพศผู้จะต่อสู้กันเพื่อแย่งกันผสมพันธุ์ ปลาเพศผู้ที่ชนะจะจับคู่กับปลาเพศเมียที่พร้อมจะวางไข่ โดยปลาเพศผู้จะคลอเคลียอยู่ข้าง ๆ ปลาเพศเมียตลอดเวลา เมื่อปลาเพศเมียพร้อมที่จะวางไข่ก็จะเกาะตามวัสดุวางไข่ เช่น พันธุ์ไม้น้ำ ปลาเพศผู้ก็จะเข้าแนบชิดแล้วใช้ส่วนของลำตัวกอดรัดปลาเพศเมียในลักษณะหัวกลับกัน หลังจากนั้นปลาเพศผู้ก็จะปล่อยปลาเพศเมียออก ปลาเพศเมียก็จะปล่อยไข่ออกมาครั้งละประมาณ 2 - 10 ฟอง ซึ่งแม่พันธุ์ปลาตัวหนึ่งจะวางไข่ได้ 15 - 20 ครั้ง ลูกปลาซิวข้างขวานเล็กที่เริ่มฟักออกเป็นตัวมีความยาว 2.43 มิลลิเมตร ลูกปลาเริ่มกินอาหารได้เมื่ออายุ 5 วัน มีขนาดความกว้างของปาก 0.1 มิลลิเมตร อาหารที่เหมาะสมสาหรับลูกปลาซิวข้างขวานระยะนี้ คือ โรติเฟอร์ ตัวอ่อนไรแดงที่ฟักออกจากถุงไข่ใหม่ๆ มีขนาด 0.02 x 0.35 มิลลิเมตร และหนอนจิ๋ว ลูกปลาจะมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 50 วัน มีขนาดความยาว 16.10 มิลลิเมตร

2) คุณสมบัติน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็ก

น้ำควรมีอุณหภูมิน้ำระหว่าง 28 - 29 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ระหว่าง 6.5 - 7.8 ppm ค่า pH อยู่ระหว่าง 7.32 - 7.95 ค่าความเป็นด่างอยู่ระหว่าง 70 - 98 ppm ค่าความกระด้างอยู่ระหว่าง 92 - 132 ppm (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008)

3) การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็ก (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008)

ปลาชิวข้างขวานเล็กนั้นสามารถแยกเพศได้เมื่ออายุ 3 - 4 เดือน การคัดพันธุ์ปลาชนิดนี้ เพศผู้มีสีสดใส มีสีเข้มกว่าเพศเมีย ลำตัวเรียวยาว เพศเมียท้องอูมเป่ง ลำตัวมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ขนาดโดยทั่วไปยาวประมาณ 2 - 5 เซนติเมตร มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 0.30 - 0.60 กรัม ปลาที่สามารถเจริญพันธุ์และวางไข่ได้มีขนาดตั้งแต่ 2.5 - 4 เซนติเมตร ปลาสามารถวางไข่ได้ตลอดทั้งปี การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ควรเลี้ยงแยกเพศคนละบ่อเพื่อป้องกันปลาผสมพันธุ์กันเองภายในบ่อเลี้ยง ในตู้กระจกหรือบ่อซีเมนต์ ใช้ระบบน้ำหมุนเวียน ใส่พรรณไม้น้ำและรากไม้เพื่อให้เหมือนสภาพธรรมชาติที่ปลาอาศัยอยู่ ให้ไรแดง อาหารเม็ดสำเร็จรูปปลาสวยงามเป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง

การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กสามารถทำได้ 2 วิธี ได้แก่

1. การเพาะพันธุ์ในตู้กระจก ใช้ตู้กระจกขนาด 45x90x45 เซนติเมตร ระดับน้ำลึก 35 เซนติเมตร ใช้ระบบน้ำหมุนเวียน ใส่หินเกล็ด และปลูกพรรณไม้น้ำ ให้อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ 1:1 เพศผู้ 3 ตัว : เพศเมีย 3 ตัว ให้ไรแดงเป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง การผสมพันธุ์จะมีขึ้นในช่วงเช้าเวลาประมาณ 8.00 - 12.00น. ไข่จะหลุดออกจากรังไข่ประมาณ 2 - 10 ฟอง เมื่อลูกปลาอายุได้ 5 วัน หลังจากถุงไข่แดงยุบ ใช้สวิงตักลูกปลานำไปอนุบาลต่อ

2. การเพาะพันธุ์ในบ่อซีเมนต์ ใช้บ่อซีเมนต์ขนาด 1.5 x 2 ตารางเมตร ระดับน้ำลึก 50 เซนติเมตร ใส่พ่อแม่พันธุ์ เพศผู้ 20 ตัว : เพศเมีย 20 ตัว

การอนุบาลปลาชิวข้างขวานเล็กหลังจากถุงไข่แดงยุบ สามารถดำเนินการได้โดยอนุบาลในตู้กระจก อัตราการปล่อย 500 ตัวต่อตู้ หรือการอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาดเล็ก อัตราการปล่อย 1,000 ตัวต่อตารางเมตร ในช่วง 1 - 3 วันแรกให้กินโรติเฟอร์ 7 - 10 วัน ให้กินอาร์ทีเมีย หลังจากนั้นให้กินไรแดงตลอด เลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน จะได้ลูกปลาขนาด 1 - 1.5 เซนติเมตร

เมื่ออนุบาลจนได้ขนาด 1.5 เซนติเมตรก็ดำเนินการเลี้ยงต่อจนได้ขนาด 2.5 - 3.0 เซนติเมตรซึ่งเป็นขนาดที่ตลาดต้องการ สามารถเลี้ยงในตู้กระจก อัตราปล่อย 200 ตัวต่อตู้ หรือเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาดเล็ก อัตราปล่อย 500 ตัวต่อตารางเมตร ให้กินไรแดงหรืออาหารผงสำเร็จรูปเป็นอาหาร

1.3.2 การใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา

1) ประโยชน์ของการใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา

ประโยชน์ของการใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา คือ สามารถใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาบางชนิดที่ไม่วางไข่ในที่กักขังได้ ช่วยให้แม่ปลาวางไข่พร้อมกัน ทำให้ลูกปลาที่ได้มีขนาดสม่ำเสมอ

ไม่มีปลาชนิดอื่นปะปน สามารถประเมินปริมาณลูกปลาที่เพาะได้อย่างแม่นยำกว่าการเพาะพันธุ์โดยวิธีอื่น สามารถควบคุมมิให้เกิดการแพร่กระจายของโรคพยาธิจากพ่อแม่พันธุ์ไปสู่ลูกปลา สามารถเพาะพันธุ์ปลาได้ก่อนฤดูวางไข่ตามธรรมชาติเป็นเวลานับเดือน และทำให้สามารถผสมพันธุ์ปลาข้ามชนิดได้ ซึ่งเป็นประโยชน์มากต่อการปรับปรุงพันธุ์ปลา (Harvey and Carolsfeld, 1993)

2) แหล่งของฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลา

1. Gonadotropin

Gonadotropin ที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลามีที่มาจาก 2 แหล่ง ได้แก่

- Gonadotropin จากการบดต่อมใต้สมอง (pituitary gland) เพื่อให้ได้ gonadotropin เป็นแหล่งของฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาแพร่หลายที่สุด ซึ่งปริมาณของ gonadotropin ในต่อมใต้สมองจะผันแปรไปตามปัจจัยหลายประการ เช่น ภาวะเจริญพันธุ์ชนิดของปลา สภาพของปลาต่อม ส่วน gonadotropin บริสุทธิ์จากปลานั้นเหมาะสมที่จะใช้ในงานทดลองมากกว่าที่จะใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาในทางการค้า (Harvey and Carolsfeld, 1993)

- Gonadotropin จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ Luteinizing hormone (LH) และ Follicle stimulating hormone (FSH) และ Human chorionic gonadotropin (HCG) และโกนาโดโทรปินจากซีรั่มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ตั้งท้อง Pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) ฮอร์โมนเหล่านี้ผลิตภายใต้ชื่อการค้าต่าง ๆ กัน (Harvey and Carolsfeld, 1993)

2. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs

- การใช้ Luteinizing hormone-releasing hormone analogs (LHRHa) หรือ Gonadotropin-releasing hormone analogs (GnRHa) ในการเพาะพันธุ์ปลาอย่างกว้างขวาง ซึ่งในประเทศไทยเกษตรกรได้นำฮอร์โมนที่มีชื่อทางการค้าว่า “Suprefact” ซึ่งเป็นยา Buserelin acetate ใช้รักษาโรคในคน มาใช้ในการเพาะปลาได้ผลดีมาก โดยใช้ร่วมกับยาซึ่งมีฤทธิ์เป็น dopamine antagonist คือ domperidone ที่มีชื่อทางการค้าคือ Motilium (Harvey and Carolsfeld, 1993)

3. Steroids

Steroids มีผลกระตุ้นการวางไข่ของปลามีหลายกลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม progestin (ฮอร์โมนสังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์เหมือน Progesterone) และกลุ่ม estrogens และ androgens (Harvey and Carolsfeld, 1993)

4. สารประกอบอื่น ๆ ได้แก่ anti-estrogens, dopamine antagonists (pimozide, domperidone, metoclopramide และ reserpine) และ prostaglandins

Dopamine antagonists จะทำงานโดยยับยั้ง dopamine และกระตุ้น Gonadotropin releasing hormone (GnRH) ให้หลั่งออกมาในกระแสเลือดเพื่อกระตุ้นการสมบูรณ์พันธุ์ของปลา โดยสาร dopamine antagonist ที่นิยมใช้ได้แก่ domperidone ซึ่งมีราคาถูก

มีประสิทธิภาพดี และไม่ผ่าน blood brain barrier (Dasgupta *et al*., 2009; Heyrati *et al*., 2007; Wang *et al*., 2009) ซึ่งการใช้ GnRH เพียงอย่างเดียวยังมีประสิทธิภาพไม่ดีพอ จึงต้องใช้ร่วมกับ dopamine antagonists เพื่อให้ผลที่ดีขึ้น (Almeida, 2013; Venturieri and Bernardino, 1999)

3) ฮอร์โมนที่นิยมใช้เพาะพันธุ์ปลากันในปัจจุบันมี 3 ประเภท ได้แก่

1. ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง เป็นฮอร์โมนที่ได้จากต่อมใต้สมอง (pituitary gland) ของปลา ปกติต่อมใต้สมองจะหลั่งฮอร์โมนที่สำคัญหลายชนิด แต่ฮอร์โมนที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์วางไข่ (Gonad stimulating hormone หรือ Gonadotropin) ที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ FSH (Follicle stimulating hormone) ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญของรังไข่ในตัวเมีย และการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ในเพศผู้ และ LH (Luteinizing hormone) ทำหน้าที่ช่วยให้กระตุ้นการตกไข่ในเพศเมีย และการสร้างสเปิร์มในเพศผู้

การใช้ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมมากในสมัยก่อน เนื่องจากได้ผลดีกว่าการใช้ฮอร์โมนชนิดอื่น ๆ การเก็บต่อมใต้สมองนั้นนิยมเก็บจากปลาที่มีปริมาณไข่ค่อนข้างมาก ได้แก่ ปลาจีน ปลายี่สกเทศ ปลาไน และปลานวลจันทร์เทศ เพราะต่อมใต้สมองของปลาเหล่านี้จะมีการสะสมฮอร์โมนไว้ค่อนข้างมาก และสามารถนำไปฉีดให้กับปลาชนิดต่าง ๆ ได้ผลดี โดยไม่จำเป็นต้องฉีดให้กับปลาชนิดเดียวกันกับที่เก็บต่อมใต้สมองมา ต่อมใต้สมองที่เก็บออกจากตัวปลาแล้วสามารถเก็บรักษาไว้ในน้ำยาอะซีโตนได้เป็นเวลานานหลายเดือน เมื่อต้องการใช้จึงนำออกมาจากน้ำยาก็จะสามารถใช้ได้ทันที การใช้กำหนดหน่วยเป็น Dose ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

Dose = น้ำหนักของปลาที่ถูกเก็บต่อมใต้สมอง (Donor) / น้ำหนักของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่จะฉีดฮอร์โมน (Recipient) (Treves-Brown, 2000)

2. ฮอร์โมนสกัด (extracted hormone) เป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากส่วนผสมที่เตรียมจากทั้ง Gonadotropin ซึ่งสกัดจากปัสสาวะของสตรีที่กำลังตั้งครรภ์ (จุดสุดยอดของปริมาณฮอร์โมนอยู่ระหว่างวันที่ 60 - 75 หลังจากตั้งครรภ์ โดยในปัสสาวะ 1,000 ซีซี หรือ 1 ลิตร จะมีฮอร์โมนประมาณ 5,000 - 10,000 IU) และผสมกับต่อมใต้สมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด ได้แก่ หมู หนู หรือกระต่าย ฮอร์โมนสกัดจะมีจำหน่ายภายใต้ชื่อทางการค้าต่างๆ กัน เช่น Synahorin, Pare Hormone และ Puberogen เป็นต้น (Treves-Brown, 2000)

3. ฮอร์โมนสังเคราะห์ (synthetic hormone) เป็นฮอร์โมนที่นิยมใช้กันมากที่สุดในปัจจุบัน เนื่องจากใช้ง่าย สะดวก เก็บรักษาง่าย และให้ผลดี ฮอร์โมนสังเคราะห์ที่จำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่

- Suprefact ซึ่งมีการใช้ในการเพาพันธุ์ปลาโดยทั่วไป มีตัวยาหรือฮอร์โมน คือ Buserelin acetate อยู่ในรูปของสารละลาย บรรจุขวดละ 10 ซีซี มีตัวยาฮอร์โมนอยู่ 10 มิลลิกรัม ก่อนใช้ควรนำฮอร์โมนมาเจือจางก่อน เพราะในการใช้ฉีดปลาจะใช้ในปริมาณที่น้อยมาก การใช้

ฮอร์โมนสังเคราะห์จะต้องใช้ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ เพื่อช่วยให้ฮอร์โมนที่ฉีดเข้าไปมีประสิทธิภาพดี ยาเสริมฤทธิ์ซึ่งเป็น Dopamine antagonists ที่นิยมใช้มีชื่อทางการค้าว่า Motelium ซึ่งมีตัวยาคือ Domperidone มีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว บรรจุแผง ๆ ละ 10 เม็ด ยา 1 เม็ด จะมีตัวยาอยู่ 10 มิลลิกรัม การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ จะใช้ในอัตรา 10 - 20 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

- Ovopel เป็น mammalians gonadotropin-releasing hormone analogs (mGnRHa) รวมกับ dopamine antagonists (metoclopramide) (Celia *et al*., 2018) มีการใช้ในการเหนี่ยวนำให้ปลา Asp (*Aspius aspius*) ให้วางไข่นอกฤดู (Targonska *et al*., 2010) เหนี่ยวนำให้ปลา Amazon catfish (*Leiarius marmoratus*) สร้างสเปิร์ม (Araújo *et al*., 2014) และเหนี่ยวนำการการพัฒนาของไข่ในปลา Pacu (*piaractus mesopotamicus*) (Santos *et al*., 2012)

- Ovaprim คือฮอร์โมนสังเคราะห์ที่เป็นผลิตจาก salmon gonadotropin-releasing hormone analogs (sGnRHa) รวมกับ dopamine antagonist (domperidone) (Celia *et al*., 2018)

4) วิธีการใช้ฮอร์โมน (Harvey and Carolsfeld, 1993)

ปัจจุบันมีการให้ฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นให้ปลาวางไข่โดยวิธีทั่วไปสองวิธี ได้แก่ วิธีการฉีดฮอร์โมนที่ละลายในน้ำหรือน้ำเกลือ (injection) และวิธีการฝังในเนื้อเยื่อ (implantation) เพื่อให้ฮอร์โมนปล่อยออกมาช้า ๆ โดยปกติจะทำการฉีดหรือฝังฮอร์โมนเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular) หรือช่องท้อง (intraperitoneal) สำหรับการให้ฮอร์โมนผ่านการผสมอาหาร (ingestion) และการแช่ (immersion) นั้นยังให้ผลการใช้งานที่ไม่ดีนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการฉีด แต่สำหรับบางกรณีก็สามารถนำมาใช้ได้โดยเฉพาะกรณีที่ปลามีขนาดเล็กมาก ๆ และกรณีที่ต้องใช้กับปลาจำนวนมาก

1. วิธีการฉีด

วิธีการนี้สามารถดำเนินการได้โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หรือ ช่องท้อง ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายและสามารถนำฮอร์โมนในปริมาณที่แน่นอนเข้าสู่ตัวปลา โดยการฉีดสารละลายฮอร์โมนเข้าสู่ตัวปลานั้นต้องฉีดในปริมาณไม่เกิน 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ข้อควรระวังในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อคืออาจเกิดแรงต้านของกล้ามเนื้อที่ทำให้สารละลายฮอร์โมนไหลออกมาจากรอยฉีดและไม่สามารถเข้าสู่ตัวปลาได้ทั้งหมด ส่วนในการฉีดเข้าช่องท้องควรระวังไม่ให้เข็มโดนอวัยวะภายในของปลา ทั้งนี้ ควรวางยาสลบปลาก่อนเพื่อลดความเครียดของปลาในระหว่างที่ทำการฉีดฮอร์โมน เนื่องจากความเครียดจะมีผลทำให้เกิดการหลั่ง dopamine ซึ่งจะไปขัดขวางการทำงานของฮอร์โมน ทำให้การใช้ฮอร์โมนในการกระตุ้นการวางไข่ของปลาไม่ได้ผล

2. วิธีการฝังฮอร์โมน

การฝังฮอร์โมนในเนื้อเยื่อหรือในช่องท้องเป็นวิธีการที่นำฮอร์โมนมาผสมกับวัสดุจับ ได้แก่ silicone rubber หรือ Silastic® ซึ่งปกติจะใช้เพื่อนำส่งสารสเตียรอยด์ การให้ฮอร์โมนลักษณะนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจะให้ฮอร์โมนค่อย ๆ ปล่อยออกมาช้า ๆ เพื่อกระตุ้นการตกไข่ของปลาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่ไม่สามารถใช้ในการเพาะปลาเชิงพาณิชย์ได้ เนื่องจากต้องใช้เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ไม่สามารถดำเนินการได้ในระดับฟาร์ม มีเฉพาะห้องปฏิบัติการเท่านั้นที่สามารถทำได้ ทั้งนี้ ควรใช้ครีมยาปฏิชีวนะทาบริเวณฝังฮอร์โมนเพื่อลดโอกาสการติดเชื้อในบริเวณนั้น

3. การให้ฮอร์โมนผ่านการกินอาหาร

เป็นที่เชื่อกันว่าการกระตุ้นการวางไข่ของปลาโดยให้ปลากินอาหารที่ผสมฮอร์โมนจะไม่ได้ผลเนื่องจากฮอร์โมนจะเสียสภาพไปจากการถูกย่อยสลายในกระเพาะอาหารของปลา แต่อันที่จริงแล้ว ลักษณะดังกล่าวอาจจะไม่เกิดขึ้นเสมอไปเนื่องจากมีปัจจัยอย่างอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิดและอาหารที่ปลากินเข้าไป ปลาหลายชนิดรวมถึงปลาใน ตระกูล cyprinid นั้นจะไร้กระเพาะอาหาร (agastric) และการดูดซึมยาในสปีชีส์เหล่านี้ไม่เป็นไปตามรูปแบบของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทั้งนี้ การให้ฮอร์โมนโดยวิธีผสมอาหารนี้มีข้อดีในเรื่องของการลดการเกิดความเครียดที่อาจจะส่งผลให้เกิดความล้มเหลวในการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นการวางไข่ของปลาได้ เนื่องจากไม่มีการจับตัวปลาที่เป็นสิ่งเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียด สำหรับการศึกษาการให้ฮอร์โมนโดยวิธีการผสมอาหารนั้น ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการใช้ฮอร์โมนต่าง ๆ กับปลาหลายชนิด ได้แก่ การให้ปลา sablefish กินอาหารผสมฮอร์โมน Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) 1 mg/kg พบว่าสามารถทำให้ปลาวางไข่ได้ (Solar *et al*., 1990) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าปลา seatrout สามารถรับฮอร์โมน GnRHa หรือ LHRHa ผ่านอาหารโดยการดูดซึมที่ลำไส้ได้ และถึงแม้ว่าจะใช้ฮอร์โมนมากถึง 10 เท่าของปริมาณที่ใช้ในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ แต่ก็ทำให้ปลาเกิดการตกไข่และวางไข่ได้ โดยปลา ที่กินอาหารผสมฮอร์โมน LHRHa 1 mg/kg จะวางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนผ่านการกินอาหารภายใน 38 ชั่วโมง (Thomas and Boyd, 1989).

1.4 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.4.1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีผสมอาหารต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก

1.4.2 เพื่อศึกษาวิธีการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กให้เกิดประสิทธิภาพมากขึ้นโดยสามารถพัฒนาต่อยอดไปสู่การเพาะพันธุ์เชิงพาณิชย์ได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับวิธีการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยสามารถควบคุมปริมาณการผลิตและกำหนดระยะเวลาที่แน่นอนในการผลิตพันธุ์ปลาได้ เพื่อที่จะถ่ายทอดให้กับนักศึกษาสาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในลักษณะของการบูรณาการการเรียนการสอนกับงานวิจัย

1.5.2 หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถนำความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ หรือถ่ายทอดความรู้ส่งต่อให้กับผู้ที่สนใจได้ เพิ่มทางช่องทางอาชีพให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาสวยงาม และการมีส่วนร่วมกับหน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในการอนุรักษ์สายพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กซึ่งเป็นปลาสวยงามที่พบได้ในจังหวัดตรัง

1.5.3 สามารถนำผลงานวิจัยไปเผยแพร่โดยการนำเสนอในงานประชุมวิชาการต่าง ๆ หรือตีพิมพ์ผลงานลงในวารสารวิชาการที่เกี่ยวข้องกับงานทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุอุปกรณ์

2.1.1 สัตว์ทดลอง

ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

2.1.2 สารเคมี

1) Buserelin acetate (BUS) ชื่อทางการค้า Suprefect

2) Domperidone (DOM) ชื่อทางการค้า Motilium

2.1.3 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ เตรียมสารละลายฮอร์โมน

1) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius)

2) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (AND)

3) เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Auto pipette) และ Cone tip ขนาด 0.5-10 µl, 200 µl, 1000 µl

4) เข็มฉีดอินซูลินขนาดหัวเข็ม 30G x 8 mm

5) เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 0.5-10 ไมโครลิตร

6) แผ่นพาราฟิลม์

7) อุปกรณ์เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

2.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้เตรียมและเลี้ยงสัตว์ทดลอง

1) ตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร พร้อมขาตั้งตู้

2) ปั๊มลมให้อากาศ

3) ชุดระบบกรองน้ำนอกตู้

4) ไฟตู้ปลา

5) อุปกรณ์ให้อากาศ ได้แก่ หัวทราย สายยางลม และวาล์วปรับ

6) สวิง และอุปกรณ์สำหรับเปลี่ยนถ่ายน้ำ

7) ถังพลาสติกสีดำขนาดความจุ 500 ลิตร จำนวน 2 ถัง

8) พรรณไม้น้ำ

2.1.5 อาหารปลา

1) อาหารปลาสำเร็จรูปโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์

2) หนอนแดง

2.2 วิธีการ

2.2.1 การวางแผนการทดลอง

การทดลองนี้มีใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ เลขที่ U1-01574-2558 ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดย แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุด ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ด้วยวิธีการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็กสำหรับการเพาะพันธุ์ในตู้กระจก แต่ละชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่ให้ปลาเพศเมียกินอาหารผสมฮอร์โมน

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ปลาเพศเมียกินอาหารผสม BUS 0.25 mg และ DOM 167 mg ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (พิจารณาจากน้ำหนักปลาประมาณ 0.3 กรัม อัตราการกินอาหารของปลา 6% ต่อน้ำหนักตัว ปลาจะได้รับ BUS ประมาณ 15 µg/Kg และ DOM ประมาณ 10 mg/Kg)

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ปลาเพศเมียกินอาหารผสม BUS 0.5 mg และ DOM 167 mg ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (พิจารณาจากน้ำหนักปลาประมาณ 0.3 กรัม อัตราการกินอาหารของปลา 6% ต่อน้ำหนักตัว ปลาจะได้รับ BUS ประมาณ 30 µg/Kg และ DOM ประมาณ 10 mg/Kg)

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ปลาเพศเมียกินอาหารผสม BUS 1 mg และ DOM 167 mg ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (พิจารณาจากน้ำหนักปลาประมาณ 0.3 กรัม อัตราการกินอาหารของปลา 6% ต่อน้ำหนักตัว ปลาจะได้รับ BUS ประมาณ 60 µg/Kg และ DOM ประมาณ 10 mg/Kg)

2.2.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการรวบรวมพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ภายในเขตอำเภอปะเหลียน และอำเภอย่านตาขาว จังหวัดตรัง โดยคัดเลือกปลาที่แข็งแรงและมีความสมบูรณ์เพศความยาวประมาณ 2.5 - 5 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 0.3 - 0.5 กรัม โดยตัวผู้มีลักษณะสีสดใส สีเข้ม และลำตัวเรียวกว่าเพศเมีย ตัวเมียจะมีลักษณะ ท้องอูมเป่ง ลำตัวมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ จากนั้นนำปลาที่รวบรวมได้ไปแยกเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร 24 ตู้ ปริมาตรน้ำ 40 ลิตร ใส่ปลาแยกเพศตู้ละ 3 ตัว เพศเมีย 12 ตู้ เพศผู้ 12 ตู้ โดยภายในตู้มีการใส่พันธุ์ไม้น้ำประมาณ 60% ของพื้นที่ และมีการติดตั้งระบบการให้อากาศและระบบกรองน้ำนอกตู้ด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและจำลองสภาพน้ำไหลให้เหมือนกับตอนที่ปลาอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ปลาจะถูกเลี้ยงด้วยอาหารเกล็ดที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 - 10.00 น. และ 16.00 - 17.00 น. โดยปลาจะถูกเลี้ยงเพื่อปรับสภาพให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมภายในตู้ทดลองนี้ประมาณ 2 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง

2.2.3 การเตรียมอาหารทดลอง

ละลาย BUS และ DOM ตามความเข้มข้นที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลองด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ml จากนั้นผสมอาหารสำเร็จรูปซึ่งมีโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1 กรัม ที่ใส่ไว้ในถุงพลาสติก เขย่าถุงให้สารละลายกระจายซึมเข้าเม็ดอาหารจนทั่ว จากนั้นผึ่งลมให้เม็ดอาหารแห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง เคลือบเม็ดอาหารด้วยน้ำมันปลาอีกครั้ง และผึ่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการสะลายของสารออกมาจากเม็ดอาหารขณะที่อยู่ในน้ำ และเพื่อเพิ่มความอยากอาหารให้กับปลา สำหรับอาหารในชุดควบคุมจะไม่มีการใส่ฮอร์โมนแต่มีวิธีการเตรียมเหมือนกับอาหารในชุดทดลองทุกขั้นตอน อาหารจะถูกใช้ในการทดลองทันทีหลังจากเตรียมเสร็จ

2.2.4 การเพาะพันธุ์ปลา

ดำเนินการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็ก โดยให้ปลาเพศเมียกินอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนจนอิ่มในมื้อเย็น 1 มื้อ เวลา 16.00 - 17.00 น. ส่วนปลาเพศผู้ให้กินอาหารควบคุมเหมือนปลาในชุดควบคุม เนื่องจากปลาเพศผู้ในครอบครัว Cyprinidae มักจะมีความพร้อมในการผสมพันธุ์อยู่แล้วโดยไม่ต้องให้ฮอร์โมน จากนั้นนำปลาตัวเมีย 3 ตัวที่ได้รับฮอร์โมนแล้วมาเลี้ยงรวมกับปลาตัวผู้ 3 ตัว ในตู้ผสมพันธุ์ซึ่งมีลักษณะเดียวกับที่เตรียมไว้สำหรับเลี้ยงปลาก่อนการทดลองข้างต้น โดยจะทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาในในช่วงเช้าของทุกวัน เวลา 08.00 - 12.00 น. ภายในระยะเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อพบว่าปลามีการวางไข่แล้ว ให้แยกพ่อแม่ปลาออกไปเลี้ยงในตู้ใหม่ จากนั้นทำการฟักไข่และอนุบาลลูกปลาในตู้เดิมต่อไปจนกว่าถุงไข่แดงที่หน้าท้องของลูกปลาจะยุบ

2.2.5 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง อ้างอิงตาม (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) ได้แก่

1) เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง) ภายในระยะเวลาทดลอง 1 สัปดาห์

2) จำนวนไข่รวม (ฟอง) = จำนวนไข่ปลารวมในแต่ละตู้

3) จำนวนลูกปลารวม (ตัว) = จำนวนลูกปลารวมในแต่ละตู้

4) อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง) / จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)) x 100

5) อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว) / จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)) x 100

6) อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) = จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่เหลือรอดหลังถุงไข่แดงยุบ (ตัว) / จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว)

7) คุณภาพน้ำเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าแอมโมเนีย ค่าไนไตรต์ ค่าความเป็นกรด-เป็นด่าง ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ และอุณหภูมิน้ำ

2.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

2.2.7 สถานที่ทำการทดลอง

โรงเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม สาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

หมายเหตุ ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยต่อยอดเพิ่มเติมเกี่ยวกับวิธีการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับ DOM เพื่อเหนี่ยวนำให้ปลาซิวข้างขวานเล็กวางไข่ ซึ่งระบุรายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการต่าง ๆ ที่ได้ศึกษาเพิ่มเติมไว้ในภาคผนวก

บทที่ 3 ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล

การทดลองเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กครั้งนี้ ได้ดำเนินการโดยใช้น้ำที่มีคุณภาพน้ำเริ่มต้นที่ตรวจวัดก่อนนำไปใช้ในระบบเพาะพันธุ์ในทุกวิธีการทดลอง ได้แก่ ค่าแอมโมเนียเฉลี่ย 0.02±0.01 mg/L ค่าไนไตรต์เฉลี่ย 0.02±0.01 mg/L ค่าความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ย 7.87±0.12 ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ย 5.14±0.06 mg/L และอุณหภูมิน้ำเฉลี่ย 29.60±0.69 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวนเล็กที่ระบุในรายงานของ Kraisurasre and Kraisurasre (2008) และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ปลาสามารถอยู่ได้โดยปกติ

เป็นที่เชื่อกันว่าการกระตุ้นการวางไข่ของปลาโดยการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหาร เช่น การให้ปลากินอาหารที่ผสมฮอร์โมนนั้นไม่ได้ผล เนื่องจากฮอร์โมนจะเสียสภาพไปจากการถูกย่อยสลายในกระเพาะอาหารของปลา แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะดังกล่าวอาจจะไม่เกิดขึ้นเสมอไปเนื่องจากมีปัจจัยอย่างอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิดอาหารที่ปลากินเข้าไป และชนิดของปลาที่ให้ฮอร์โมน ซึ่งปลาหลายชนิดโดยเฉพาะปลาใน Family Cyprinidae นั้นไร้กระเพาะอาหาร จึงทำให้การดูดซึมยาในปลากลุ่มนี้ไม่เป็นไปตามรูปแบบของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีการย่อยในกระเพาะอาหาร (Treves-Brown, 2000) โดยที่ผ่านมา ได้มีการศึกษาการให้ฮอร์โมนต่าง ๆ ผ่านทางเดินอาหารในปลาหลายชนิด เช่น การให้ปลา sablefish กินอาหารผสมฮอร์โมน 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) แต่อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้ พบว่าให้ผลในทางตรงกันข้ามกับรายงานข้างต้น เนื่องจากการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยการให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS และสารเสริมฤทธิ์ DOM ผ่านทางเดินอาหารด้วยวิธีการผสมอาหาร (พิจารณาตามวิธีการหลักในการทดลองนี้และวิธีการจากการศึกษาเพิ่มเติมในภาคผนวกตามวิธีการที่ 1-2) และการกรอกปาก (การศึกษาเพิ่มเติมในภาคผนวกตามวิธีการที่ 3-4) ที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 และ 3:3 ไม่สามารถทำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ตามระยะเวลาที่ทำการตรวจวัด ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ปลาไม่วางไข่นั้นอาจเกิดจากการที่ปลาได้รับฮอร์โมนไม่เพียงพอ เนื่องจากฮอร์โมนบางส่วนที่ผสมอาหารอาจจะละลายไปกับน้ำระหว่างที่ให้อาหารปลา เพราะปลาไม่ได้กินอาหารทันทีที่ให้ ปริมาณฮอร์โมนที่ปลาได้รับจึงไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นให้เกิดการวางไข่ ทั้งนี้ ฮอร์โมนอาจจะเสียสภาพไปจากการถูกย่อยสลายด้วยน้ำย่อยในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของฮอร์โมนลดลง จึงทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้

ถึงแม้ว่าการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหารไม่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ในการทดลองนี้ แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยการใช้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งระบุไว้ในภาคผนวกตามวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ที่เพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 และ 1:1 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$\pm$0.96 และ 10.00$\pm$0.82 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการเพาะพันธุ์ปลาซิวทอง (*Rasbora einthovenii*) โดยให้ BUS และ DOM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับการทดลองนี้ โดยปลาจะวางไข่ที่เวลา 8-10 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Petchrit, 2021) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาซิวควายแถบดำ (*Rasbora paviei*) โดยฉีด BUS 15 µg/Kg ร่วมกับ DOM 10 mg/Kg เข้าที่กล้ามเนื้อของปลาทั้งเพศผู้และเพศเมีย และทำการเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 พบว่าปลาสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ภายในเวลาประมาณ 8 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Chankaew, 2011) ซึ่งถือว่าเป็นช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกับช่วงเวลาที่ปลาซิวข้างขวานเล็กวางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนในการทดลองนี้

เมื่อพิจารณาสัดส่วนระหว่างเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าวิธีการทดลองที่ 5 ซึ่งเป็นการเพาะพันธุ์ปลาโดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 นั้น ปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์วางไข่กันเพียง 1 คู่ (ภาพที่ 1) ในทุกตู้ที่ทำการตรวจวัด โดยปลาได้วางไข่ซึ่งมีลักษณะเป็นไข่จมติดกับวัตถุและกระจายภายในจุดเดียวที่พรรณไม้น้ำ หรือวัสดุอื่นภายในตู้ และมีไข่บางส่วนกระจายตกลงก้นตู้ (ภาพที่ 2) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปลาชนิดนี้มีพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ ไม่ได้ผสมพันธุ์แบบรวมกลุ่ม การเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 จึงเป็นไปได้มากที่สุด ซึ่งลักษณะการจับคู่ผสมพันธุ์เช่นนี้ เป็นพฤติกรรมที่มีการแสดงออกในปลาซิวชนิดอื่นด้วย เช่น ปลาซิวตาเขียว (*Microdevario kubotai*) ที่มีการผสมพันธุ์วางไข่ด้วยสัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 (Petchrit, 2016) แต่ข้อมูลเกี่ยวกับสัดส่วนการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ได้นี้มีความแตกต่างกับข้อมูลจากการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานใหญ่ (*Trigonostigma heteromorpha*) ในระบบน้ำหมุนเวียนเลียนแบบธรรมชาติ เนื่องจากปลาไม่วางไข่ที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 โดยให้เหตุผลว่าไม่มีการต่อสู้กันระหว่างปลาเพศผู้เพื่อกระตุ้นให้ปลาเพศเมียวางไข่ สัดส่วนเพศที่เหมาะสมของการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้จึงอยู่ที่ 1:2 (Buraheng and Chamnanwech, 2018)

หลังจากการวางไข่ของปลา พบว่าไข่ปลาที่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีใส (ภาพที่ 3) ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีขาวขุ่น ทึบแสง และลูกปลาจะเริ่มฟักออกจากไข่ (ภาพที่ 4) ที่เวลาเฉลี่ย

19.26±0.07 และ 19.28±0.11ชั่วโมง ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส พิจารณาจากข้อมูลในวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Kraisurasre and Kraisurasre (2008) ที่ระบุว่าลูกปลาซิวข้างขวานเล็กฟักออกจากไข่ที่เวลา 19 ชั่วโมง 29 นาที ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองเกี่ยวกับจำนวนไข่รวม จำนวนลูกปลารวม อัตราปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตรารอดของลูกปลาที่ได้จากการเพาะพันธุ์ด้วยวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 พบว่ามีการแสดงค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยได้จำนวนไข่รวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50.25±13.45 และ 55.50±6.61 ฟอง จำนวนลูกปลารวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.25±4.65 และ 21.75±2.63 ตัว อัตราปฏิสนธิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 81.25±1.69 และ 81.12±1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 79.40±1.56 และ 79.45±1.24 เปอร์เซ็นต์ และอัตรารอดของลูกปลามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.73±1.20 และ 60.81±1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และ 2) 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 1 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
5	50.25±13.45	19.25±4.65	81.25±1.69	79.40±1.56	59.73±1.20

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

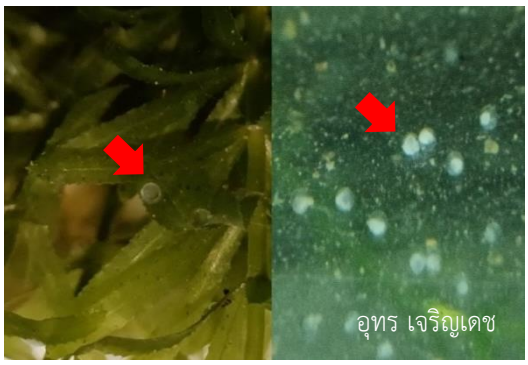
ชุดการทดลอง 5 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/Kg ร่วมกับ DOM 10 mg/Kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/Kg ร่วมกับ DOM 10 mg/Kg

ตารางที่ 2 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 (Mean±SD)

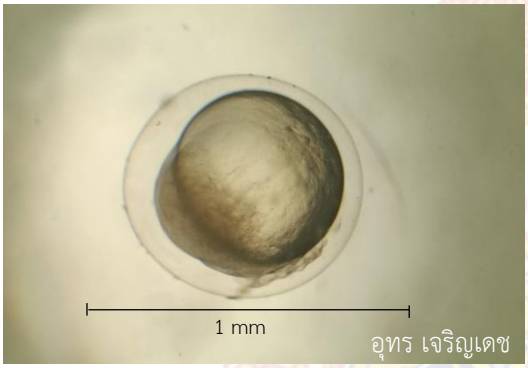
ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
4	0.00±0.00	0.00±0.00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

หมายเหตุ: รายละเอียดของชุดการทดลองที่ระบุในตารางเหมือนกับตารางที่ 1

ภาพที่ 1 พ่อแม่พันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กจับคู่ผสมพันธุ์หลังได้รับฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์



ภาพที่ 2 ไข่ปลาปลาซิวข้างขวานเล็กที่ติดกับไม้น้ำและไข่บางส่วนที่ร่วงลงก้นตู้



ภาพที่ 3 ไข่ปลาซิวข้างขวานเล็กที่ได้รับการปฏิสนธิ

ภาพที่ 4 ลูกปลาซิวข้างขวานเล็กแรกเกิด

บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

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 ทั้งนี้ อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดอาหารที่สามารถเสริมความสมบูรณ์พันธุ์ให้กับพ่อแม่พันธุ์ปลา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Aderton, D. 1997. **The Hamlyn Book of Tropical Freshwater Fish**. First Published, Singapore and Toranto.

Almeida, F.L. 2013. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. Revista Brasileira De Reprodução **Animal** 37(2): 174-180.

Araújo, J.E.X.S., Streit, D.P., Jr, de Ribeiro, J.S.A., de Martins, E.F.F., de Souza, F.N.C.A.L., Ribeiro, R.P. and Povh, J.A. 2014. Ovopel and carp pituitary extract as spawning inducers in males of the amazon catfish *Leiarius marmoratus* (Gill, 1970). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 57(6): 882-886.

Buraheng, S. and Chamnanwech, U. 2018. **Breeding of Harlequin rasbora with the different sex ratio (*Trigonostigma heteromorpha* Duncker, 1904) in circulation system**. Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (In Thai). Available Source: https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20180129152853_1_file.pdf, May 30, 2022.

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

Celia A.H., Fernanda L.A. and Felix G.R.R. 2018. A review on the use of hormones in fish farming: Analytical methods to determine their residues, **CyTA – Journal of Food** 16:1: 679-691.

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.

Dasgupta, S., Sarkar, S.K., Sarangi, N. and Bhattacharya, S. 2009. Variation in spawning responses, egg and larvae productions from induced rohu (*Labeo rohita*) during pre-monsoon and monsoon seasons: Relationship with hormonal changes and oocyte responsiveness during final maturation. **Aquaculture** 290: 320-326.

Dawes, J.A. 1987. **A Practical Guide to Keeping Freshwater Aquarium Fishes**. First Published, London.

Harvey, B. and Carolsfeld, J. 1993. **Induced breeding in tropical fish culture**. International Development Research Centre. Ottawa, Ontario, Canada. 144 p.

Heyrati, F.P., Mostafavi, H., Toloee, H. and Dorafshan, S. 2007. Induced spawning of kutum, *Rutilus Frisii* kutum (Kamenskii, 1901) using (D-Ala6, Pro9-NEt) GnRHa combined with domperidone. **Aquaculture** 265: 288-293.

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)

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)

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)

Santos, V.B., de Santos, R.S., Salomão, R.A.S. and de Silva, R.M. 2012. Reprodução induzida de pacu (*Piaractus Mesopotamicus*) com o uso de diferentes hormônios comerciais [Induced reproduction of pacu (*Piaractus Mesopotamicus*) with the use of different commercial hormones]. **Pesquisa & Tecnologia** 9(1): 1-6.

Smith, H.M. 1945. **The fresh-water fishes of Siam, or Thailand**. United State Government Printing Officer, Washington. 622 p.

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 -(D-Ala) LHRH ethylamide: short communication. **Fish Physiology and Biochemistry** 8(3): 497-499.

Targonska, K., Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A. and Zarski, D. 2010. Controlled reproduction of asp, *Aspius aspius* (L.) using luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) analogues with dopamine inhibitors. **Aquaculture** 306: 407–410.

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.

Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S.G., Shin, P.K.S. and Song, L. 2009. Effects of GnRHa (D-Ala6, Pro9-NEt) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Aquaculture** 291: 136-139.

Venturieri, R. and Bernardino, G. 1999. Hormônios na reprodução artificial de peixes [Hormones in artificial fish breeding]. **Panorama Da Aqüicultura** 9(55): 39-48.

ภาคผนวก

1. วิธีดำเนินการวิจัยที่ศึกษาเพิ่มเติม

1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการรวบรวมลูกพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง แล้วนำมาเลี้ยงจนมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่เป็นเวลา 1 ปี โดยเลี้ยงปลา 200 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด 0.5 x 1 x 0.5 เมตร ที่มีพรรณไม้น้ำประมาณ 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 ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ได้ถูกคัดเลือกมาเข้าสู่ระบบการทดลองเพาะพันธุ์โดยการใช้ฮอร์โมนร่วมกับสารเสริมฤทธ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยพิจารณาความบูรณ์เพศของปลาจากความยาวประมาณ 2.5 - 5 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 0.3 -0.9 กรัม ซึ่งปลาเพศผู้นั้นมีลักษณะลำตัวเรียวเล็กกว่าเพศเมีย มีสีแดงเข้มสะท้อนแสงบริเวณข้างลำตัว มีแถบรูปขวานเด่นชัด ส่วนตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ มีสีซีดกว่า และมีลักษณะท้องอูมเป่ง

1.2 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 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักตัว 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

1.3 การเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลา

การเตรียมสารละลายฮอร์โมนซึ่งมีส่วนผสมของ BUS และ DOM ที่ใช้ในการกรอกปากปลานี้ใช้กับการทดลองที่ 3 และ 4 ดำเนินการโดยละลายสารในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งการเตรียมสารละลายนั้นจะแตกต่างกัน พิจารณาจากน้ำหนักปลาที่อยู่ในช่วง 0.4 - 0.9 กรัม และความเข้มข้น

ของสารละลายฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องการให้ปลาได้รับตามที่ระบุในชุดการทดลอง โดยรายละเอียดส่วนผสมของสารละลายฮอร์โมนและปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการกรอกปากปลาได้แสดงไว้ในตารางผนวกที่ 1

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 ซึ่งรายละเอียดของส่วนผสมและปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ในการฉีดปลาได้แสดงไว้ในตารางผนวกที่ 2

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้กรอกปากปลาพิจารณาตามน้ำหนักตัว และปริมาณของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ

น้ำหนัก (g)	ปริมาตรสารละลายที่ใช้กรอกปากปลา (µl)	ปริมาณ BUS ที่ใช้ (µg)			ปริมาณ DOM ที่ใช้ (mg) ปลาได้รับ 10 mg/Kg
		ปลาได้รับ 15 µg/Kg	ปลาได้รับ 30 µg/Kg	ปลาได้รับ 60 µg/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

ตารางผนวกที่ 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	-

1.5 การดำเนินการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> เป็นการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร (in-feed medication) และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็กในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร ที่มีปริมาตรน้ำ 40 ลิตร มีพรรณไม้น้ำประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ มีระบบให้อากาศและระบบกรองน้ำนอกตู้ด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและจำลองสภาพให้เหมือนกับแหล่งน้ำธรรมชาติ (ภาพผนวกที่ 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 (ภาพผนวกที่ 2) ซึ่งในการทดลองนี้ ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้ยเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ จากนั้นให้ปลากิน

อาหารตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลองจนอิ่มในมื้อเย็น 1 มื้อ ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. แล้วนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว ที่ได้รับอาหารตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้นทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาในในช่วงเช้าของทุกวันในช่วงเวลา 08.00 - 12.00 น. ภายใน 1 สัปดาห์ เมื่อพบการวางไข่ของปลา ทำการแยกพ่อแม่ปลาออกไปเลี้ยงในตู้ใหม่ จากนั้นทำการฟักไข่และอนุบาลลูกปลาในตู้เดิมต่อไปจนกว่าถุงไข่แดงที่หน้าท้องของลูกปลายุบ

การทดลองที่ 2 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 โดยการทดลองนี้ได้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนเพศพ่อแม่พันธุ์ในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ให้เป็น 1:1

การทดลองที่ 3 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ซึ่งการทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการกรอกปากปลา เพื่อกระตุ้นให้ปลาซิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร ที่มีการจัดสิ่งแวดล้อมในตู้เหมือนการทดลองที่ 1 ซึ่งรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองมีดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 ทำการกรอกปากปลาเพศผู้และเพศเมียด้วยน้ำกลั่นชุดการทดลองที่ 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 ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้ยเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมงก่อนการทดลอง จากนั้นนำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ชั่งน้ำหนักปลา แล้วกรอกปากปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามความเข้มข้นที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ดำเนินการในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 10 - 100 ไมโครลิตร ในการกรอกปากปลา (ภาพผนวกที่ 3) ทั้งนี้ ปริมาตรสารละลายฮอร์โมนที่ใช้พิจารณาจากน้ำหนักปลาและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ต้องการให้ปลาได้รับ ระบุไว้ในตารางที่ 1 จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และปลาเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการกรอกปากด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้น ทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 โดยในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้จาก 3:3 ให้เป็น 1:1

การทดลองที่ 5 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ซึ่งวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) เพื่อกระตุ้นการวางไข่ของปลาชิวข้างขวานเล็ก ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร 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 เริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้ยเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมงก่อนการทดลอง จากนั้น นำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ชั่งน้ำหนักปลา แล้วฉีดปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยการฉีดปลาได้ใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 0.5-10 ไมโครลิตร ดูดสารละลายฮอร์โมนตามปริมาตรที่พิจารณาจากน้ำหนักปลาและปริมาณที่ต้องการให้ปลาได้รับ (ตารางที่ 2) แล้วหยดสารละลายลงบนแผ่นพาราฟิลม์ให้เป็นหยดน้ำ จากนั้นใช้เข็มฉีดอินซูลินขนาดหัวเข็ม 30G x 8 mm ดูดสารละลายทั้งหมดแล้วฉีดเข้าตัวปลาที่กล้ามเนื้อใต้ครีบหลัง (ภาพผนวกที่ 4) จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัวและเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ และทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 6 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) และใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ซึ่งในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างปลาเพศผู้และปลาเพศเมียในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ให้เป็น 1:1

1.6 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง ได้แก่

1) เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง) ภายในระยะเวลาทดลอง 1 สัปดาห์

2) จำนวนไข่รวม (ฟอง) = จำนวนไข่ปลารวมในแต่ละตู้

3) จำนวนลูกปลารวม (ตัว) = จำนวนลูกปลารวมในแต่ละตู้

4) อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง) / จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)) x 100

5) อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว) / จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)) x 100

6) อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) = จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่เหลือรอดหลังถุงไข่แดงยุบ(ตัว) / จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว)

7) คุณภาพน้ำเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าแอมโมเนีย ค่าไนไตรต์ ค่าความเป็นกรด-เป็นด่าง ออกซิเจนที่ละลายน้ำ และอุณหภูมิน้ำ

1.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

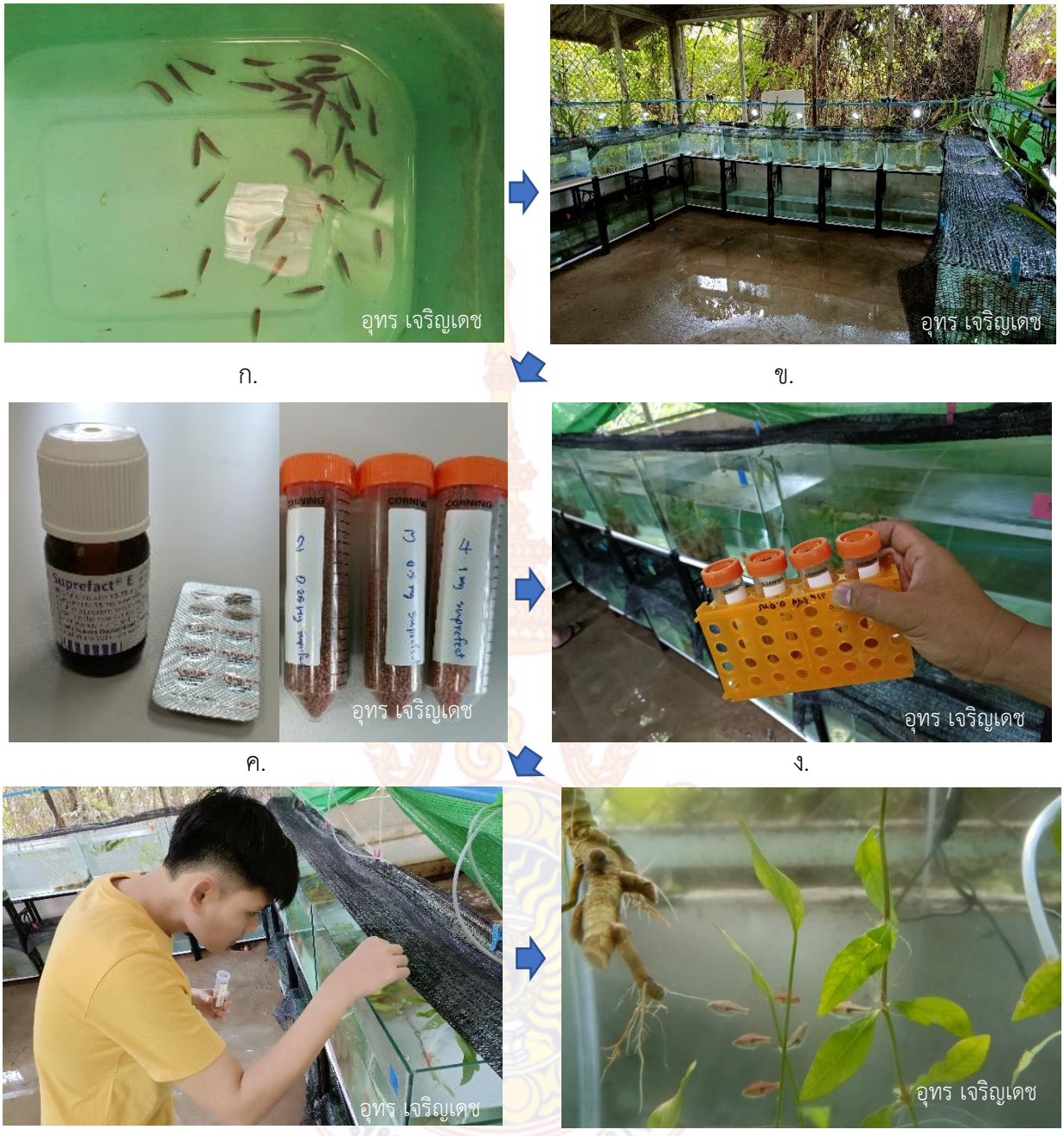
ก.

ข.

ภาพผนวกที่ 1 ตู้ทดลองเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็ก

ก. ตู้ทดลองเพาะพันธุ์

ข. การจำลองสภาพธรรมชาติภายในตู้ด้วยพรรณไม้น้ำ ระบบไฟ และระบบกรองน้ำแบบหมุนเวียน



ภาพผนวกที่ 2 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหาร

ก. พ่อแม่พันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็ก

ข. ระบบตู้ทดลองเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็ก

ค. อาหารทดลองผสมฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM

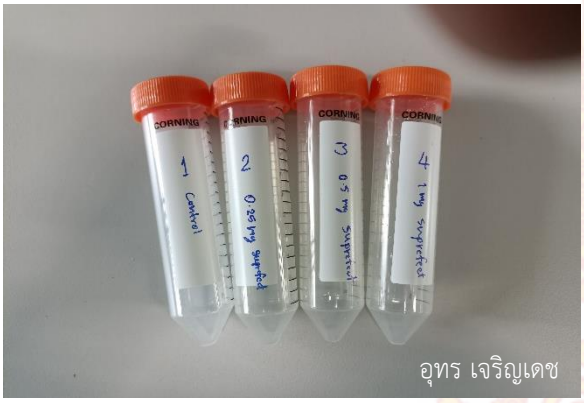
ง. อาหารทดลอง

จ. การให้อาหารทดลอง

ฉ. ปลาซิวข้างขวานเล็กในตู้เพาะพันธุ์ที่ให้อาหารทดลอง

ก.

ข.



ค.

ง.

จ.

ฉ.

ภาพผนวกที่ 3 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการกรอกปาก

ก. การจับปลาซิวข้างขวานเล็กพ่อแม่พันธุ์แต่ละตู้เพื่อนำมาทดลอง

ข. การสลบปลาพ่อแม่พันธุ์ด้วยยาสลบ MS-222

ค. สารละลายฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM

ง. การกรอกปากปลาซิวข้างขวานเล็กที่สลบแล้วด้วยสารละลายฮอร์โมน

จ. การพักปลาที่ถูกกรอกปากด้วยสารละลายฮอร์โมนแล้วเพื่อรอการฟื้นจากการสลบ

ฉ. ปลาที่ได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ในตู้เพาะพันธุ์

อุทร เจริญเดช

ก.

อุทร เจริญเดช

ข.

อุทร เจริญเดช

ค.

อุทร เจริญเดช

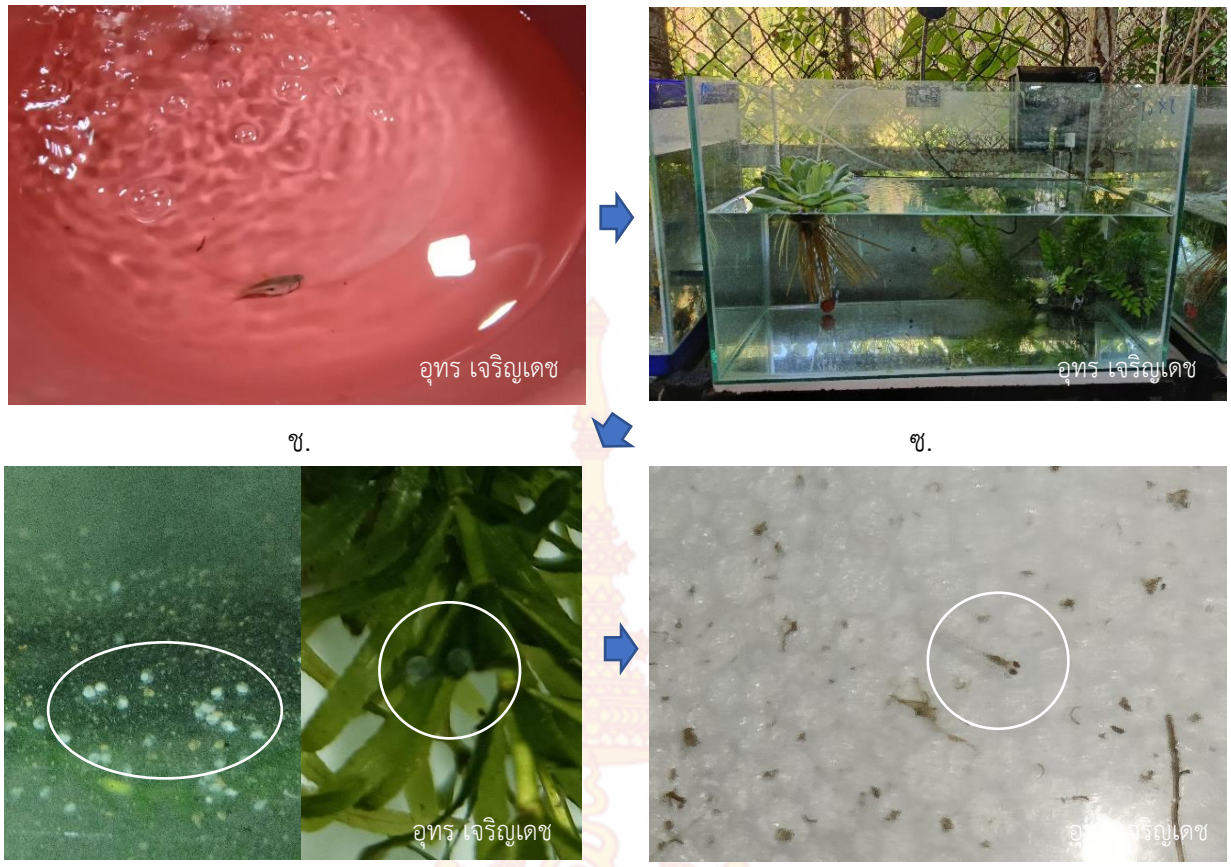
ง.

อุทร เจริญเดช

จ.

อุทร เจริญเดช

ฉ.



ช. ซ.

ฌ. ญ.

ภาพผนวกที่ 4 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

ก. การสลบพ่อแม่พันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กด้วยยาสลบ MS-222

ข. การชั่งน้ำหนักปลาพ่อแม่พันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กเพื่อประเมินปริมาณฮอร์โมนที่ใช้ในการฉีด

ค. การใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติดูดสารละลายฮอร์โมนตามปริมาตรที่พิจารณาจากน้ำหนักปลาและปริมาณที่ต้องการให้ปลาได้รับ

ง. การหยดสารละลายฮอร์โมนตามปริมาตรที่ต้องการลงบนแผ่นพาราฟิลม์ให้เป็นหยดน้ำ

จ. การใช้เข็มฉีดอินซูลินดูดสารละลายทั้งหมดในหยดน้ำบนแผ่นพาราฟิลม์เพื่อนำไปฉีดเข้าตัวปลา

ฉ. การฉีดสารละลายฮอร์โมนเข้ากล้ามเนื้อใต้ครีบหลังของปลาชิวข้างขวานเล็ก

ช. การให้ปลาชิวข้างขวานเล็กที่ถูกฉีดฮอร์โมนแล้วฟื้นจากการสลบ

ซ. นำปลาชิวข้างขวานเล็กที่ฟื้นตัวแล้วใส่ตู้ทดลองเพื่อให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่

ฌ. ไข่ปลาชิวข้างขวานเล็กที่ติดกับไม้น้ำและที่ตกลงก้นตู้

ญ. ลูกปลาชิวข้างขวานเล็กแรกฟัก

ตารางผนวกที่ 3 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3

ชุดการทดลอง	ซ้ำ	เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง)	จำนวนแม่ปลาที่ออกไข่ (ตัว)	จำนวนไข่ทั้งหมดในตู้ (ฟอง)	จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวมแรกฟัก (ตัว)	จำนวนลูกปลารวมถุงไข่แดงยุบ (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	เวลาที่ปลาฟักออกจากไข่ (ชั่วโมง)
1	1										
	2										
	3										
	4										
2	1										
	2										
	3										
	4										
3	1										
	2										
	3										
	4										
4	1										

ชุดการทดลอง	ซ้ำ	เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง)	จำนวนแม่ปลาที่ออกไข่ (ตัว)	จำนวนไข่ทั้งหมดในตู้ (ฟอง)	จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวมแรกฟัก (ตัว)	จำนวนลูกปลารวมถุงไข่แดงยุบ (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	เวลาที่ปลาฟักออกจากไข่ (ชั่วโมง)
	2										
	3										
	4										
5	1	10.00	1.00	64.00	52.00	41.00	24.00	81.30	78.80	58.50	19.29
	2	11.00	1.00	47.00	39.00	31.00	19.00	83.00	79.50	61.30	19.30
	3	9.00	1.00	33.00	27.00	22.00	13.00	81.80	81.50	59.10	19.15
	4	11.00	1.00	57.00	45.00	35.00	21.00	78.90	77.80	60.00	19.30

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

ตารางผนวกที่ 4 การเพาะพันธุ์ปลาซิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1

ชุดการทดลอง	ซ้ำ	เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง)	จำนวนแม่ปลาที่ออกไข่ (ตัว)	จำนวนไข่ทั้งหมดในตู้ (ฟอง)	จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวมแรกฟัก (ตัว)	จำนวนลูกปลารวมถุงไข่แดงยุบ (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	เวลาที่ปลาฟักออกจากไข่ (ชั่วโมง)
1	1										
	2										
	3										
	4										
2	1										
	2										
	3										
	4										
3	1										
	2										
	3										
	4										
4	1										

ชุดการทดลอง	ซ้ำ	เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง)	จำนวนแม่ปลาที่ออกไข่ (ตัว)	จำนวนไข่ทั้งหมดในตู้ (ฟอง)	จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ (ฟอง)	จำนวนลูกปลารวมแรกฟัก (ตัว)	จำนวนลูกปลารวมถุงไข่แดงยุบ (ตัว)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	เวลาที่ปลาฟักออกจากไข่ (ชั่วโมง)
	2										
	3										
	4										
5	1	9.00	1.00	63.00	50.00	39.00	23.00	79.40	78.00	59.00	19.16
	2	11.00	1.00	57.00	47.00	38.00	24.00	82.50	80.90	63.20	19.39
	3	10.00	1.00	55.00	45.00	36.00	22.00	81.80	80.00	61.10	19.21
	4	10.00	1.00	47.00	38.00	30.00	18.00	80.90	78.90	60.00	19.35

หมายเหตุ: รายละเอียดของชุดการทดลองที่ระบุในตารางเหมือนกับตารางผนวกที่ 3

เอกสารรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ID# IAC 13-05-64

ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีผสมอาหารเพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

(ภาษาอังกฤษ) Dietary Administration of Synthetic Hormone Induces Spawning of Harlequin Rasbora (*Trigonostigma espei*)

ชื่อ-สกุล ผู้เสนอโครงการวิจัย นายอุทร เจริญเดช

เลขที่คำขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์ฯ U1-01574-2558

หน่วยงานที่สังกัด (คณะ/สถาบัน) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

(มหาวิทยาลัย) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

(กระทรวง) อุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

สถานที่ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์

โรงเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

โครงการที่ขอใช้สัตว์ (Animal Protocol) นี้ ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ (คกส.) แล้ว เห็นว่ามีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ ตามโครงการที่ขอใช้สัตว์นี้ได้

ลงนาม.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิรักษ์ สงรักษ์)
ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
วัน/เดือน/ปี 19 พ.ย. 2563

ลงนาม.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิรักษ์ สงรักษ์)
รองอธิการบดี ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดี
วัน/เดือน/ปี 19 พ.ย. 2563

หมายเหตุ ID# ออกโดย คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ฯ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย