

ฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นพัฒนาการของไข่อ่อนปลาโพงโดยวิธีการฉีด

Appropriate hormones for inducing *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) oocytes by injection

อุไรวรรณ เปียสูงเนิน¹ และ เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดียว^{1*}

Uraiwan Piasoongnoen and Penpun Srisakultiew

บทคัดย่อ: ทดสอบฮอร์โมน 2 ชนิด คือ ลูทีไนซิงฮอร์โมนรีลีสซิงฮอร์โมน (luteinizing-hormone releasing hormone analogue; LHRHa) ที่ระดับ 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และฮูแมนคอร์ไอโอนิกโกนาโดโทรปิน (human chorionic gonadotropin; hCG) ที่ระดับ 250, 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม ทำการฉีดฮอร์โมนแต่ละชนิดให้แม่ปลาโพงที่มีไข่อ่อน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 มิลลิเมตร) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเฉพาะน้ำกลั่น พบว่าการฉีด LHRHa ที่ระดับ 1, 2, 3 และ 4 ไมโครกรัม/กิโลกรัม จำนวน 4-9 ครั้ง สามารถกระตุ้นให้ไข่อ่อนพัฒนาเป็นไข่แก่ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.8 มิลลิเมตร เมื่อกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ด้วย LHRHa + domperidone ที่ระดับ 20 ไมโครกรัม + 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว พบว่ามีการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 33.33, 100 และ 100 ตามลำดับ ไข่ปลาเมื่ออัตราการผสมติดและอัตราการฟักร้อยละ 94.5, 0, 36.89, 16.78 และ 68, 0, 29, 3.33 ตามลำดับ ในขณะที่แม่ปลาชุดที่ได้รับการฉีด LHRHa 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ไม่พบการตกไข่ของแม่ปลา ส่วนการฉีด hCG จำนวน 4-8 ครั้ง พบว่าไข่อ่อนพัฒนาถึงระยะไข่แก่ที่สามารถกระตุ้นด้วย LHRHa+domperidone เช่นกัน มีการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 66.66 และ 33.33 เมื่อฉีด hCG ที่ระดับ 250, 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม ตามลำดับ ไข่เมื่ออัตราการผสมติด และอัตราการฟักร้อยละ 18, 2.33, 36.67 และ 0, 0, 1.33 ตามลำดับ ส่วนแม่ปลาชุดควบคุมพบว่าไม่มีการตกไข่แต่อย่างใด

คำสำคัญ: การฉีดฮอร์โมน ไข่อ่อน ปลาโพง

Abstract: To examine 2 hormones including 1) luteinizing-hormone releasing hormone analogue; LHRHa at 1, 2, 3, 4 and 5 ug/kg and 2) human chorionic gonadotropin; hCG at 250, 500 and 750 IU/kg. Each hormone was injected into 3 broodstock (*Pangasius bocourti*) females who initially had 1.5 mm oocyte diameter compared to the control injected with distilled water only. The LHRHa injection at 1, 2, 3 and 4 ug/kg for 4-9 times, induced the oocytes development into 1.8 mm diameter. Then the females were induced to ovulate by a single injection of LHRHa+ domperidone (20ug+10mg/kg). The females spawned at 66.66, 33.33, 100 and 100%, respectively. Their eggs were fertilized and hatched at 94.5, 0, 36.89, 16.78% and 68, 0, 29, 3.33%, respectively. While the 5 ug/kg LHRHa found no spawning. For the hCG injections about 4-8 times, the oocytes developed to mature stage which could be induced with the LHRHa+domperidone. There were 66.66, 66.66 and 33.33% spawning when injected with 250, 500 and 750 IU/kg, respectively. The eggs were fertilized and hatched at 18, 2.33, 36.67% and 0, 0 1.33%, respectively. The females in the control group, however, showed no spawning.

¹ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : ขอนแก่น 40002

¹Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* Corresponding author: penpunpunsri@gmail.com

Key words: hormonal injection, oocytes, *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880)

บทนำ

การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาเพื่อการเพาะพันธุ์ ปัจจุบันนิยมรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาจากธรรมชาติมาเลี้ยงในกระชังหรือในบ่อดิน การเลี้ยงในพื้นที่ดังกล่าวอยู่ในสภาพกักขัง มีพื้นที่และอาหารที่จำกัด ไม่สามารถเลือกกินอาหารที่ต้องการได้ ส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของอวัยวะเพศโดยเฉพาะรังไข่ ทำให้ไข่อ่อนพัฒนาถึงระยะหนึ่งแล้วหยุดชะงัก (Cacot, 2002) ไม่สามารถพัฒนาจนถึงระยะไข่แก่หรือไข่สุก ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาหาชนิดและระดับของฮอร์โมนที่สามารถกระตุ้นพัฒนาการของไข่ปลาโองให้วางไข่สำเร็จ เพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ปลาชนิดนี้ไว้ต่อไป

วิธีการศึกษา

ศึกษาการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นพัฒนาการของไข่อ่อนปลาโอง โดยคัดเลือกแม่พันธุ์ปลาจากบ่อดินที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไข่ 1.5 มิลลิเมตร สุ่มฉีดฮอร์โมนเปรียบเทียบกันระหว่างลูทีไนซิงฮอร์โมนรีลีสซิงฮอร์โมน (luteinizing-hormone releasing hormone analogue; LHRHa; Suprefact) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) กับฮอร์โมนฮูแมนคอรีโอนิกโกนาโดโทรปิน (human chorionic gonadotropin; hCG) ที่ระดับความเข้มข้น 250, 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) ฉีดฮอร์โมนทุก 24 ชั่วโมง ใช้ flexible catheter หรือสายยางสุ่มดูดตัวอย่างไข่จากรังไข่แม่ปลามาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และเก็บตัวอย่างไข่ไปตรวจพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อวิทยา

(histology) จนกระทั่งตัวอย่างไข่ที่สุ่มได้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.8 มิลลิเมตร จึงฉีดด้วย LHRHa+domperidone (20+10) เพื่อกระตุ้นการวางไข่ เมื่อแม่ปลามีไข่สุกเต็มที่ จึงรีดไข่ผสมกับน้ำเชื้อ และฟักไข่ เก็บข้อมูลจำนวนแม่ปลาที่วางไข่ได้สำเร็จ อัตราผสมติด อัตราฟัก และอัตราการรอดตายของลูกปลาที่ได้จากแม่ปลาแต่ละตัว

ผลการศึกษา

การฉีดฮอร์โมน LHRHa ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) กระตุ้นพัฒนาการของไข่อ่อนปลาโอง พบว่าแม่ปลาที่มีอัตราการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 33.33, 100, 100 ส่วนแม่ปลาที่ฉีดด้วย LHRHa ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และชุดควบคุม แม่ปลาไม่ตกไข่ (ตารางที่ 1) ไข่ปลาที่มีอัตราการผสมติดร้อยละ 4.50 ± 1.65 , 0 ± 0.00 , 36.89 ± 20.67 และ 16.78 ± 8.25 และมีอัตราการฟักเฉลี่ยร้อยละ 68.00 ± 3.30 , 0 ± 0.00 , 29.00 ± 31.39 และ 3.33 ± 7.07 (ตารางที่ 1) การฉีดฮอร์โมน hCG ที่ระดับความเข้มข้น 250, 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) กระตุ้นพัฒนาการของไข่อ่อนปลาโอง พบว่าแม่ปลาที่มีอัตราการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 66.66 และ 33.33 ส่วนชุดควบคุม แม่ปลาไม่ตกไข่ (ตารางที่ 2) ไข่ปลาที่มีอัตราการผสมติดร้อยละ 18.00 ± 2.36 , 2.34 ± 3.30 และ 36.67 ± 2.30 ส่วนอัตราการฟัก ทุกชุดการทดลองไข่ไม่ฟักเป็นตัว (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

การฉีดฮอร์โมน LHRHa ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) กระตุ้นพัฒนาการไข่ปลาโอม จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 มิลลิเมตร ฉีดกระตุ้น 4-9 ครั้ง จนไข่มีขนาด 1.8 มิลลิเมตร หลังจากนั้นฉีดกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ด้วย LHRHa อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ domperidone อัตรา 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าแม่ปลาที่มีอัตราการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 33.33, 100, 100 ซึ่งแตกต่างจากวิธีการเพาะพันธุ์ของณัฐพงศ์และสมพงษ์ (2547) ที่ทดลองฉีดฮอร์โมนตามวิธีของ Cacot (2002) คือการฉีดกระตุ้นให้ไข่มีการพัฒนา (priming injection) ด้วย LHRHa + domperidone ในอัตราที่สูงกว่า คือ 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ฉีดกระตุ้น 1-4 ครั้ง เว้นระยะห่างระหว่างการฉีด 12-24 ชั่วโมง เมื่อไข่ปลาโอมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 1.6 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ต่ำกว่าการทดลองครั้งนี้ที่กำหนดไว้ที่ 1.8 มิลลิเมตร เมื่อฉีดกระตุ้นให้มีการตกไข่ (resolving injection) ด้วยต่อมได้สมองอัตรา 2 โคส หรือ LHRHa + domperidone อัตรา 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จึงพบว่าไม่มีการตกไข่ อย่างไรก็ตามการฉีดแม่ปลาด้วย LHRHa 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ของการทดลองนี้ไม่สามารถกระตุ้นการวางไข่ของแม่ปลา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระดับฮอร์โมนดังกล่าวอาจจะแรงเกินไป ไม่เหมาะสมกับวิธีการฉีดกระตุ้นไข่ปลาโอม ให้มีการพัฒนา ซึ่งสอดคล้องกับกับชัยศิริ และวิวัฒน์ (2538) ที่รายงานการเพาะพันธุ์ปลาโอมที่จับได้ จากธรรมชาติ พบว่าการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน LHRHa ไม่สามารถกระตุ้นให้ปลาตกไข่ได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากแม่ปลาโอมที่รวบรวมจากธรรมชาติ มีความเครียดและบอบช้ำจากการจับ เมื่อพิจารณาอัตราสมมติ และอัตราการฟักไข่ปลาโอม พบว่าอัตราความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ให้ผลของอัตราสมมติ และ

อัตราการฟักดีที่สุด แตกต่างจากทุกชุดการทดลอง สอดคล้องกับการทดลองของวีระ และตุจินต์ (2548) ที่มีการใช้ฮอร์โมน LHRHa ระดับความเข้มข้นต่ำๆ สามารถกระตุ้นการตกไข่ของปลาตกไข่ได้ โดยชุดที่ฉีดกระตุ้นในอัตรา 0.32 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีอัตราการฟักสูงที่สุด ส่วนการฉีดฮอร์โมน hCG ที่ระดับความเข้มข้น 250, 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (ชุดควบคุม) กระตุ้นพัฒนาการของไข่ปลาโอม จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 มิลลิเมตร ฉีดกระตุ้น 4-8 ครั้ง จนไข่มีขนาด 1.8 มิลลิเมตร หลังจากนั้นฉีดกระตุ้นให้แม่ปลาตกไข่ด้วย LHRHa อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ domperidone อัตรา 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าแม่ปลาที่มีอัตราการตกไข่เฉลี่ยร้อยละ 66.66, 66.66 และ 33.33 ส่วนชุดควบคุมแม่ปลาไม่ตกไข่ อัตราผสมติดร้อยละ 18.00 ± 2.36 , 2.34 ± 3.30 และ 36.67 ± 2.30 ส่วนอัตราการฟักทุกชุดการทดลองไข่ไม่ฟักเป็นตัว แตกต่างจากการทดลองของสมศรี และคณะ (2551) ที่ทำการทดลองฉีดฮอร์โมนให้กับแม่ปลาทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นขนาดไข่ให้ได้ขนาดที่พร้อมจะฉีดกระตุ้นการตกไข่ (ขนาด 1.8 มิลลิเมตร) Singsee et al. (2002) พบว่า แม่ปลาที่ฉีดกระตุ้นด้วย hCG อัตรา 500 ไอู/กิโลกรัม และสารละลายจากต่อมได้สมองอัตรา 0.5 โคส จำนวน 7-8 ครั้ง สามารถกระตุ้นการพัฒนาการ ของไข่แม่ปลาโอม จนสามารถฉีดกระตุ้นการตกไข่ และรัดไข่ผสมเทียมได้ 100 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

LHRHa ที่ระดับความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ให้ผลดีต่อการตกไข่และการฟักออก ขณะที่การใช้ hCG กับปลาโอมไม่ได้ผลในทุกระดับต่อการฟักออก ถึงแม้ว่าที่ระดับ 250 500 และ 750 ไอู/กิโลกรัม จะทำให้เกิดการตกไข่ก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

- ชัยศิริ ศิริกุล และวิวัฒน์ ปรารมภ์. 2538. การเพาะและอนุบาลลูกปลาโพง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 23/2538. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 82 หน้า.
- ณัฐพงศ์ วรรณพัฒน์ และสมพงษ์ การเพิ่ม. 2547. การเลี้ยงปลาโพงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 66/2547. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 26 หน้า.
- วีระ วัชรกรโยธิน และสุจินต์ หนูขวัญ. 2548. การเพาะพันธุ์ปลาดุกโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ห่อหุ้มเซลล์ในอัตราความเข้มข้นแตกต่างกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 38/2548. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 19 หน้า.
- สมศรี งามวงศ์ชน สมบัติ สิงห์สี และอรรณพ อัมศิลป์. 2551. การกระตุ้นความสมบูรณ์เพศด้วยฮอร์โมนเพื่อการตกไข่ของแม่ปลาโพง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 75/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 23 หน้า.
- Cacot, P., M. Legendre, T.Q. Dan, L.T. Tung, P.T. Liern, C. Mariojouis, and J. Lazard. 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatments. *Aquaculture*. 213 : 199-206.
- Singsee, S., C. Udomkran, and P. Prasertwattana. 2002. Development of techniques for induced oocyte maturation and ovulation in *Pangasius bocourti*. 5th Technical Symposium on Mekong Fisheries, 11th-13th December 2002. 151-154 pp.

Table 1 Effects of LHRHa on induced the oocytes development of *Pangasius bocourti*

Item	Concentration of LHRHa (ug/kg)					Control
	1	2	3	4	5	
Spawned rate, %	66.66	33.33	100	100	0	0
Fertilized rate, %	94.50±1.65 ^a	0±0.00 ^b	36.89±20.67 ^b	16.78±8.25 ^b	-	-
Hatched rate, %	68.00±3.30 ^a	0±0.00 ^b	29.00±31.39 ^{ab}	3.33±7.07 ^b	-	-

^{a, b} Means with different superscript in the same column significant differ (P<0.05)

0 = no spawn

Table 2 Effects of hCG on induced the oocytes development of *Pangasius bocourti*

Item	Concentration of hCG (IU/kg)			Control
	250	500	750	
Spawned rate, %	66.66	66.66	33.33	0
Fertilized rate, %	18.00±2.36 ^b	2.34±3.30 ^c	36.67±2.30 ^a	-
Hatched rate, %	0	0	0	-

^{a, b} Means with different superscript in the same column significant differ (P<0.05)

0 = no spawn