บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปลาการ์ตูนอานม้า (Saddleback Anemonefish) *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1758) เป็นปลาขนาดเล็ก ตัวสีน้ำตาลอมดำ ส่วนหัว อก และครีบอก มีสีส้มอมเหลือง มีแถบขาว 2 แถบ แถบแรกอยู่บนหัว อีกแถบเริ่มตรงบริเวณส่วนหลังของลำตัวเป็นแถบโค้งพาดเฉียงขึ้นไปที่ครีบหลัง พบในที่ลึกตั้งแต่ 2–30 เมตร ขนาดโตที่สุดพบประมาณ 12 เซนติเมตร อาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเล (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537) โดยปลาการ์ตูนอานม้าที่รวบรวมมาจากธรรมชาติแล้วเกิดการจับคู่สามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ในที่กักขัง เช่นภายในตู้แสดงสัตว์น้ำภายในสถานลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม และตู้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนอานม้าในห้องปฏิบัติการ ของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา แต่การจับคู่ผสมพันธุ์ของปลาในกลุ่มปลาการ์ตูนนี้ต่างจากปลาอื่นทั่ว ๆ ไป เพราะนอกจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น สภาพแวดล้อม อาหาร สิ่งเร้า ฯลฯ แล้ว โครงสร้างทางสังคมยังมีส่วนอย่างมากในการจับคู่ผสมพันธุ์และการเจริญพันธุ์ของปลาในกลุ่มเดียวกัน กล่าวคือปลาที่อาศัยอยู่ในกลุ่มเดียวกันเมื่อเจริญเติบโตถึงระยะหนึ่ง ตัวที่เด่นที่สุดในฝูงจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์เป็นตัวเมีย ส่วนตัวที่มีขนาดใหญ่รองลงมาจะกลายเป็นตัวผู้และจับคู่กับตัวเมียที่โตกว่าผสมพันธุ์วางไข่ ส่วนตัวอื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่มจะไม่เจริญเติบโตและไม่เจริญพันธุ์

ในที่กักขังนั้นพบว่าถึงแม้จะกำจัดโครงสร้างทางสังคมออกไป โดยการเลี้ยงปลาตู้ละ 2 ตัว แล้วจะทำให้ตัวหนึ่งเจริญเติบโตกลายเป็นตัวเมีย และตัวที่เหลือจะกลายเป็นตัวผู้ แต่พบว่าปลาที่ได้จากธรรมชาติส่วนมากแล้วจะใช้เวลานานมากจึงจะผสมพันธุ์วางไข่หรืออาจจะไม่ผสมพันธุ์วางไข่เลยก็ได้ หรือถ้ามีการวางไข่ก็จะไม่สม่ำเสมอ ถึงแม้จะมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัจจัยกระตุ้นให้มีการเจริญของรังไข่ก็ไม่ได้ผลเต็มที่ ทั้งนี้เนื่องจากความผิดปกติของขบวนการสืบพันธุ์ที่มักจะเกิดขึ้นกับปลาที่ถูกนำมาเลี้ยงในที่กักขัง ทำให้ไม่เกิดการพัฒนาของไข่และน้ำเชื้อ (Zohar & Mylonas, 2001)

การใช้ฮอร์โมนเพื่อการเพาะพันธุ์ปลาจะเป็นตัวกระตุ้นให้พ่อแม่พันธุ์ปลามีความสมบูรณ์เพศมากขึ้น โดยฮอร์โมนจะไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองหลั่ง Gonadotropin (GtH) ซึ่ง GtH มีหน้าที่ต่างกันในการควบคุมการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ โดยแม่พันธุ์ปลาจะเกิดการพัฒนาการของรังไข่ในระยะแรกและการสร้างไข่แดง รวมถึงกระตุ้นให้ไข่เจริญสมบูรณ์เต็มที่และมีการตกไข่ต่อไป ส่วนพ่อพันธุ์ปลาจะเกิดการพัฒนาการของอัณฑะในระยะแรกและมีการพัฒนาการสร้าง

สเปิร์ม ทำให้สามารถรีดน้ำเชื้อออกมาได้มากขึ้น และสเปิร์มสามารถเคลื่อนที่ได้ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2546) ในปัจจุบันเราสามารถใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลาได้หลายชนิด ซึ่งในแต่ละชนิดก็มีการเพาะพันธุ์ไม่เหมือนกัน เช่น วิธีที่ให้ฮอร์โมน ประเภทของฮอร์โมนที่ใช้ ปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้ จำนวนครั้งในการใช้ตำแหน่งที่ใช้ฮอร์โมนกระตุ้น เป็นต้น แต่ในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคใหม่ ๆ มาพัฒนาเพื่อกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของปลา เช่น การใช้ระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การฝังฮอร์โมน (Hormone Implantation) เป็นการนำเอาฮอร์โมนผสมลงไปในตัวกลางต่าง ๆ แล้วอัดออกมาเป็นเม็ดแล้วทำการฝังเข้าไปในตัวปลา หรือการใช้ในรูปแบบ Microspheres โดยเป็นการนำฮอร์โมนที่เราต้องการฉีดเข้าไปในตัวปลา โดยใช้ Polymer ต่าง ๆ เคลือบฮอร์โมนไว้ ซึ่งทั้งสองรูปแบบนี้ฮอร์โมนจะไปกระตุ้นต่อมใต้สมองให้หลั่ง GtH ออกมาอย่างช้า ๆ เป็นเวลานาน สามารถทำให้เกิดการวางไข่ได้ในปลาหลายชนิด เช่น ปลานวลจันทร์ทะเล (Lee et al., 1986) และ Yellowtail Flounder (Larssan, Mylonas, Zohar, & Crim, 1997) ซึ่งต่างจากการฉีดด้วยฮอร์โมนที่ไม่ได้ใช้ระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ซึ่งรูปแบบนี้สิ่งที่สำคัญก็คือ แม่พันธุ์ปลาที่จะนำมาฉีดฮอร์โมนต้องเป็นแม่พันธุ์ปลาที่ไข่แก่สมบูรณ์เพศจริงๆ ส่วนพ่อพันธุ์ปลาน้ำเชื้อต้องมีลักษณะที่ดีพอ

การใช้ระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเช่น การฉีดฮอร์โมน Gonadotropin Releasing Hormone Analogue (GnRHa) ในรูปแบบ Microspheres โดยชนิดของ Co-Polymer คือ Fatty Acid Dimer และ Sebasic Acid (FAD-SA) ในอัตราส่วนเท่ากับ 25:75 Molar สามารถทำให้ GnRHa หลั่งออกมาอย่างช้า ๆ และต่อเนื่องเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 8 สัปดาห์ (Mylonas, Tabata, Langer, & Zohar, 1995) และสามารถใช้ได้กับปลาที่มีขนาดเล็ก ๆ ที่มีน้ำหนัก 2-3 กรัม ไปจนถึงปลาที่มีขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักหลายกิโลกรัม (Zohar & Mylonas, 2001) ซึ่ง GnRHa ที่หลั่งออกมาจะกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองหลั่งฮอร์โมน GtH ออกมา ซึ่ง GtH ที่หลั่งออกมามีผลทำให้พ่อแม่พันธุ์ปลามีความสมบูรณ์เพศ และเกิดการผสมพันธุ์วางไข่ได้ในปลาหลายชนิด โดยพบว่าการฉีด GnRHa ในรูปแบบ Microspheres ในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่เพียง 1 เข็มให้กับแม่พันธุ์ปลาที่มีไข่แก่สมบูรณ์เพศ มีผลทำให้แม่พันธุ์ปลาเกิดการตกไข่และวางไข่ได้ในปลาหลายชนิด เช่น Atlantic Salmon (Mylonas et al., 1995); Sockeye Salmon (Swanson, 1995); White Bass (Mylonas et al., 1996); (Mylonas, Gissis, Magnus, & Zohar, 1997); Striped Bass (Mylonas et al., 1995); (Mylonas, Woods III, Thomas, & Zohar, 1998)

ซึ่งเทคนิคดังกล่าวน่าจะสามารถนำมาใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนอานม้า หรือปลาการ์ตูนชนิดอื่น ๆ ในแนวปะการังซึ่งมีขนาดเล็กได้ โดยนำพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนอานม้าที่รวบรวมได้จากธรรมชาติ ที่มีการจับคู่กันแล้ว มาทำการทดลองโดยฉีดฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ

Microspheres ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดฮอร์โมนซ้ำแตกต่างกัน ซึ่งจะทำให้ฮอร์โมนที่ฉีดเข้าไปค่อย ๆ หลั่งออกมาในกระแสเลือดอย่างช้า ๆ เป็นเวลานาน ทำให้เกิดการกระตุ้นการหลั่งของ GtH และส่งผลให้มีการผสมพันธุ์วางไข่ ซึ่งจะเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่พร้อมจะวางไข่ในที่กักขังได้ ถ้าสามารถพัฒนาเทคนิคการเพาะพันธุ์และการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนให้มีอัตราการรอดตายให้สูงขึ้นก็จะเป็นการส่งเสริมให้เกิดเป็นอาชีพการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามในแนวปะการัง เพื่อช่วยลดการจับจากธรรมชาติและในอนาคตสามารถพัฒนาเป็นธุรกิจปลาสวยงามในแนวปะการังส่งออกไปยังต่างประเทศได้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงความเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้มีการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาการ์ตูนอานม้า

2. เพื่อศึกษาถึงความเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่เหมาะสม ต่อจำนวนไข่ อัตราการฟักและอัตรารอดของลูกปลาการ์ตูนอานม้าวัยอ่อน

สมมุติฐานการวิจัย

1. การฉีดฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres สามารถกระตุ้นให้ปลาการ์ตูนอานม้ามีการผสมพันธุ์วางไข่ได้เร็วขึ้น

2. ความเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres ที่ใช้และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาการ์ตูนอานม้า

3. ความเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres ที่ใช้และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อจำนวนไข่ อัตราการฟักและอัตรารอดของลูกปลาการ์ตูนอานม้าวัยอ่อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่เหมาะสม สำหรับกระตุ้นให้มีการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาการ์ตูนอานม้า

2. ทราบถึงผลของเข้มข้นของฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres และระยะเวลาในการฉีดซ้ำ ต่อจำนวนไข่ อัตราการฟักและอัตรารอดของลูกปลาการ์ตูนอานม้าวัยอ่อน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขอบเขตการวิจัย

ทำการทดลองฉีดฮอร์โมน GnRHa ในรูปแบบ Microspheres ให้กับพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนอานม้าที่ได้มาจากธรรมชาติที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 25, 75 และ 150 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และระยะเวลาในการฉีดซ้ำที่แตกต่างกัน 2 ระดับ คือ ฉีดซ้ำทุก 2 เดือน และ 3 เดือน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 6 เดือน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีฉีดสารละลายฮอร์โมนโดยศึกษาผลของฮอร์โมนและระยะเวลาในการฉีดซ้ำ ต่อการผสมพันธุ์วางไข่ จำนวนไข่ อัตราการฟักของปลาการ์ตูนอานม้า และอัตรารอดของลูกปลาการ์ตูนอานม้าวัยอ่อนจนถึงระยะ Metamorphosis

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University