บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนุกรมวิธานของปลาการ์ตูนอานม้า

ปลาการ์ตูนอานม้าเป็นปลาการ์ตูนที่สามารถพบได้โดยทั่วไปในอ่าวไทยมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Saddleback Anemonefish หรือชื่อสามัญที่เรียกในประเทศไทยว่า ปลาการ์ตูนอานม้า ซึ่งเป็นปลาที่มีความน่ารักและมีสีสันที่สะดุดตา สวยงาม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1758) จัดอยู่ในครอบครัว Pomacentridae การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ของปลาการ์ตูนอานม้า (วิมล เหมะจันทร, 2540) สามารถจัดได้ดังนี้คือ

Phylum Chordata
Class Teleostomi
Order Perciformes
Family Pomacentridae
Subfamily Amphiprioninae
Genus *Amphiprion*
Species *Amphiprion polymnus*

ลักษณะทั่วไปของปลาการ์ตูนอานม้า

ครีบหลังของปลาการ์ตูนอานม้า จะมีครีบแข็งจำนวน 10 หรือ11 อันและก้านครีบอ่อน 13 ถึง16 อัน แต่โดยปกติจะมีประมาณ 13 อัน ที่ครีบอกมีก้านครีบอ่อน 19 อัน (บางครั้งอาจมี 18 อัน) เกล็ดบนเส้นข้างลำตัวมีตั้งแต่ 32 ถึง 41 เกล็ด ซี่เหงือกบนแกนเหงือกอันแรกอาจมีตั้งแต่ 16 ถึง 19 ซี่ ฟันคล้ายรูปกรวยอยู่บนขากรรไกรแต่ละข้างประมาณ 34 ถึง 38 ซี่ เกล็ดก่อนถึงครีบหลังมีประมาณ 10 ถึง15 เกล็ด (Allen, 1980) ความสูงของครีบหลังที่สูงที่สุดจะน้อยกว่า 1 ส่วน 3 ของความกว้างของหัว ครีบหางส่วนมากจะมีสีดำ และตามขอบจะมีสีขาวตัดอยู่โดยส่วนที่เป็นสีดำจะเรียวเล็กลงไปเรื่อย ๆ จนถึงขอบของหาง บริเวณหน้าอก หรือส่วนท้องอาจมีสีเหลืองถึงสีส้ม หรือมีสีน้ำตาลปนดำ ขนาดของลำตัวใหญ่ที่สุดยาวประมาณ 120 มิลลิเมตร (Allen & Fautin, 1992)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การแพร่กระจาย

โดยทั่วไปปลาการ์ตูนอานม้า จะอยู่ร่วมกับดอกไม้ทะเล 2 ชนิดคือ *Heteractis crispa* และ *Stichodactyla haddoni* ซึ่งจะอยู่ที่ความลึกระหว่าง 2 ถึง 30 เมตร โดยปกติจะพบปลาการ์ตูนอานม้า อยู่เหนือพื้นโคลนหรือพื้นทรายในแอ่งน้ำใต้ทะเลในแนวปะการังหรือบริเวณที่กำบัง ซึ่งอาจจะพบเห็นเพียงตัวเดียวหรืออยู่รวมกันเป็นคู่และในบางครั้งอาจพบว่ามีลูกรวมอยู่ด้วย บริเวณที่พบปลาการ์ตูนชนิดนี้คือที่หมู่เกาะริวกิว จีน เวียดนาม ไต้หวัน ไทย มาเลเซีย อินโดนิเซีย หมู่เกาะฟิลิบปินส์ ทะเลทางตอนเหนือของออสเตรเลีย นิวกีนี และหมู่เกาะโซโลมอน (Allen & Fautin, 1992)

การเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูน

การเพาะพันธุ์ปลาทะเลสวยงาม (Marine Ornamental Fish) ในปัจจุบันยังมีการศึกษาน้อยมาก แต่อย่างไรก็ตามก็เป็นข้อยกเว้นในกลุ่มของปลาการ์ตูน ซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้สำเร็จ เพียงแค่มีสภาพแวดล้อมในโรงเพาะฟักที่เหมาะสมสำหรับพ่อแม่ปลา และมีระบบจัดการในโรงเพาะฟักที่ดีและมีพ่อแม่ปลาที่สมบูรณ์ที่ทำการจับคู่กันแล้ว ซึ่งในการจับคู่กันนั้นพ่อแม่ปลาจะทำการจับคู่กันเองตามธรรมชาติจนกระทั่งสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเองได้ (Allen, 1980) ซึ่งสอดคล้องกับ Wilkerson (1998) กล่าวว่า ปัจจัยที่คอยสนับสนุนให้มีการจับคู่กันของปลาการ์ตูนประกอบด้วย สุขภาพที่ดี ความเป็นส่วนตัว และการปรับสภาพเข้ากับสถานที่เลี้ยงของพ่อแม่พันธุ์ แต่สำหรับปลาการ์ตูนอานม้า เป็นปลาที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในที่กักขังได้ยาก โดยในขณะที่เรานำมาเลี้ยงภายในตู้แสดงสัตว์น้ำ พ่อแม่พันธุ์ปลาต้องการเวลานานหลายเดือนในการปรับตัว เพื่อสร้างความเคยชินกับสภาพแวดล้อมจนกระทั่งสามารถอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมนั้น ๆ (ORA, 2003)

ลักษณะเด่นที่สามารถใช้ในการบ่งบอกเพศ

โดยทั่วไปปลาการ์ตูนเพศเมียจะมีขนาดใหญ่และมีลักษณะเฉพาะตัวที่มากกว่าปลาการ์ตูนเพศผู้แต่ไม่เหมือนกันหมดแล้วแต่ละชนิดของปลาการ์ตูน โดยสามารถเห็นความแตกต่างของขนาดระหว่างปลาการ์ตูนเพศผู้และเพศเมียได้อย่างชัดเจน ใน Maroon Clownfish (*Premnas biaculeatus*) และTomato Clownfish (*Amphiprion frenatus*) โดยปลาเพศผู้ทั้ง 2 ชนิดตามปกติจะมีความยาวเพียงครึ่งหนึ่งของปลาเพศเมีย หรือบางครั้ง Tomato Clownfish ปลาเพศผู้อาจจะมีขนาดเท่ากับปลาเพศเมียก็ได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ Ocellaris Clownfish (*Amphiprion ocellaris*) และ Skunk Clownfish (*Amphiprion akallopisos*) จะแสดงความแตกต่างของขนาดน้อยกว่า โดยที่ปลา

เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าคู่ของมันเพียง 1 ใน 4 ส่วนหรือ 1 ใน 3 ส่วนเท่านั้น (Wilkerson, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับ Hoff (1996) กล่าวว่าขนาดเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่เป็นบรรทัดฐานในการกำหนดเพศผู้และเพศเมียในปลาการ์ตูนหลายๆชนิด ซึ่งโดยทั่วไปปลาเพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าปลาเพศผู้ เช่น Saddleback Clownfish (*A. polymnus*), Two-Band Clownfish (*Amphiprion bicinctus*), Skunk Clownfish (*A. akallopisos*), Ocellaris Clownfish (*A. ocellaris*) และ Percula Clownfish (*Amphiprion percula*) ปลาเพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าคู่ของมัน

Allsop & West (2003) ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับขนาดต่อการเปลี่ยนเพศในกลุ่มปลาที่มี 2 เพศ พบว่าขนาดความยาวต่ำสุดของปลาการ์ตูนที่สามารถเปลี่ยนเพศจากเพศผู้เป็นเพศเมีย ใน Saddleback Clownfish (*A. polymnus*) เท่ากับ 92 มิลลิเมตร Skunk Clownfish (*A. akallopisos*) เท่ากับ 72 มิลลิเมตร Tomato Clownfish (*A. frenatus*) เท่ากับ 66 มิลลิเมตร Ocellaris Clownfish (*A. ocellaris*) เท่ากับ 44 มิลลิเมตร Pink Skunk Clownfish (*Amphiprion perideraion*) เท่ากับ 54 มิลลิเมตร และ Yellow Clownfish (*Amphiprion sandaracinos*) เท่ากับ 51 มิลลิเมตร

สีสันตามธรรมชาติสามารถใช้บ่งบอกถึงเพศได้ดีพอสมควรในปลาการ์ตูน ซึ่งเทคนิคนี้จะใช้ได้ดีในการบ่งบอกเพศสิ่งที่สำคัญคือปลาต้องไม่มีความเครียด มีสุขภาพที่ดี และปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ เช่น Saddleback Clownfish (*A. polymnus*) ปลาเพศเมียที่บริเวณใบหน้าจะมีสีเหลืองที่สดใสขณะที่ปลาเพศผู้จะมีสีออกน้ำตาลมัว ๆ Red Saddleback Clownfish (*Amphiprion ephippium*) ปลาเพศเมียโดยทั่วไปลำตัวจะมีสีออกแดงมัว ๆ และที่บริเวณใบหน้ามีสีแดงอมขาว ขณะที่ปลาเพศผู้ลำตัวและใบหน้าจะมีสีแดงที่สดใสกว่า Skunk Clownfish (*A. akallopisos*) ปลาเพศเมียโดยปกติจะมีสีส้มอมเหลืองที่สดใสกว่าปลาเพศผู้ (Hoff, 1996) Pink Skunk Clownfish (*A. perideraion*) ปลาเพศผู้จะแตกต่างจากปลาเพศเมียโดยจะมีขอบสีชมพูที่ส่วนหลังของครีบหลังและครีบหาง (Wilkerson, 1998) ส่วน Allen & Fautin (1992) กล่าวว่า Tomato Clownfish และ Maroon Clownfish ปลาเพศผู้จะมีสีสันที่สดใสกว่าปลาเพศเมียแต่มีความแตกต่างของสีสันเพียงเล็กน้อยใน Maroon Clownfish จนกระทั่งเมื่อเลี้ยงปลาเพศเมียต่อไปอีกหลาย ๆ ปี ปลาเพศเมียจะมีสีน้ำตาลชัดเจนมากกว่าปลาเพศผู้

พฤติกรรมการวางไข่ของปลาการ์ตูน

ปลาการ์ตูนเป็นปลาที่วางไข่ติดกับวัสดุอื่น ๆ (Adhesive Egg) โดยแม่ปลาจะวางไข่ติดอยู่ตามหิน เปลือกหอย หรือวัสดุที่มีผิวเรียบ (Allen, 1972) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Moyer & Steene (1979) พบว่าปลาการ์ตูนชนิด *A. polymnus* ซึ่งพบอยู่กับดอกไม้ทะเลที่ฝังทรายขาดวัสดุที่จะ

วางไข่ จะดึงเอาเปลือกหอยเม่นไปใกล้กับดอกไม้ทะเลเพื่อใช้เป็นวัสดุสำหรับวางไข่ โดยไข่ปลาแต่ละฟองจะแยกออกจากกัน ลักษณะของไข่ปลาการ์ตูนเป็นรูปทรงรี คล้ายแคปซูล มีขนาดแตกต่างกันออกไปแล้วแต่ละชนิดของปลา (Allen, 1972) เช่น นิพันธ์ ทารีมุกข์ (2543) รายงานว่าไข่ปลาการ์ตูนชนิด *A. polymnus* มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกปลายมน มีความยาวและกว้างประมาณ 2.10 และ 0.82 มิลลิเมตร เซลล์ไข่มีลักษณะเป็นรูปวงรี และประกอบด้วยส่วนของไข่แดงเป็นส่วนใหญ่ ปลายข้างหนึ่งของฟองไข่จะมีขั้วติดอยู่กับวัตถุ ด้าน Animal Pole ของเซลล์ไข่จะอยู่ทางด้านขั้วของไข่ด้านล่าง และด้าน Vegetal Pole จะอยู่ทางด้านบนของไข่ อุ่นจิต ปาติยเสวี (2537) รายงานว่าไข่ปลาการ์ตูนชนิด *A. ocellaris* มีขนาดความยาว 2.34 มิลลิเมตรและกว้าง 1 มิลลิเมตร Allen (1972) กล่าวถึงไข่ปลาการ์ตูน Orange-Fin Clownfish (*Amphiprion chrysopterus*) ยาวประมาณ 2.4 มิลลิเมตร และกว้าง 0.9 มิลลิเมตร

ก่อนที่จะทำการวางไข่ 2-5 วัน ปลาตัวผู้จะเป็นผู้เลือกวัสดุที่จะวางไข่และจะเริ่มทำความสะอาดด้วยการใช้ปากกัดและใช้ครีบอกและครีบหางช่วยในการโบกพัดสิ่งอื่น ๆ ที่ติดอยู่กับผิวหน้าของวัสดุให้หลุดไปเสมือนกับการเตรียมวัสดุสำหรับวางไข่ ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นสาหร่าย ตะกอน และสัตว์น้ำวัยอ่อนอื่น ๆ เช่นตัวอ่อนของดอกไม้ทะเล ซึ่งติดมากับน้ำทะเล ปลาตัวเมียจะเข้ามาช่วยทำความสะอาดเป็นครั้งคราว ปลาจะว่ายไปมาระหว่างดอกไม้ทะเลกับวัสดุที่เตรียมไว้สำหรับวางไข่ ยิ่งใกล้วันที่จะวางไข่ ปลาตัวผู้จะขะมักเขม้นในการทำความสะอาดมากขึ้น และปลาตัวเมียจะว่ายเข้ามาช่วยทำความสะอาดในวันที่จะวางไข่ (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537)

การวางไข่ของปลาจะสังเกตได้ง่ายว่าปลาใกล้จะวางไข่แล้วหรือไม่ โดยสังเกตได้จากปลาตัวเมียเมื่อใกล้เวลาจะวางไข่บริเวณท้องจะเป่ง นูนกลมใหญ่กว่าปกติมากและมีท่อนำไข่ (Urogenital Papilla) รูปกรวยสีแดงจาง ๆ โผล่ออกมาจากบริเวณท้องเป็นติ่งยาวประมาณ 4- 5 มิลลิเมตร หลังจากนั้นปลาจะเริ่มวางไข่ภายใน 1 ชั่วโมง ก่อนวางไข่ประมาณ 30 นาที ปลาตัวผู้จะมีท่อขนาดเล็กสีขาวโผล่ออกมามีความยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ปลาทั้งคู่จะไม่อยู่นิ่งจะช่วยกันทำความสะอาดวัสดุที่จะวางไข่โดยเฉพาะตัวผู้จะเฝ้าดูแลทำความสะอาดอยู่เกือบตลอดเวลา ตัวเมียจะว่ายมาที่วัสดุที่จะวางไข่ว่ายวนไปมาทางซ้ายทีขวาที ดูแม่ปลาจะกระวนกระวายว่ายวนไปมาระหว่างดอกไม้ทะเลกับวัสดุที่จะวางไข่ การว่ายวนในระยะแรก ๆ จะยังไม่ปล่อยไข่ออกมาหลังจากว่ายวนอยู่ 2-3 รอบ จึงเริ่มปล่อยไข่ออกมา ตัวผู้จะว่ายอยู่ชิดกับตัวเมียและว่ายตามตัวเมียตลอด ขณะที่วางไข่ตัวเมียจะว่ายเกือบชิดกับวัสดุที่จะวางไข่ ฟองไข่จะหลุดออกมาจากท่อนำไข่ ขณะที่แม่ปลาเคลื่อนที่ ว่ายวนไปมาอย่างช้า ๆ อยู่เหนือวัสดุที่จะวางไข่เพียงเล็กน้อยส่วนของท่อนำไข่เกือบสัมผัสกับวัสดุที่ไข่จะไปติด ทันทีที่ไข่หลุดออกมาทางขั้วด้านล่าง (Ventral Pole) ของไข่จะมีเยื่อเหนียวใส เยื่อใสนี้เมื่อสัมผัสกับวัสดุใดก็จะยึดอยู่อย่างเหนียวแน่น แม่ปลาจะว่ายอย่างช้า ๆ และว่าย

วนเป็นวง ในช่วงแรก ๆ จะว่ายวนเป็นวงแคบพร้อมทั้งวางไข่และจะว่ายวนขยายวงกว้างขึ้นไข่ที่ออกมาจะเกาะอยู่บนวัสดุพร้อมทั้งจำนวนไข่ที่เพิ่มมากขึ้น (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537) พื้นที่ในการวางไข่นั้นจะมีขนาดแตกต่างกันออกไป อาจมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 5-10 เซนติเมตร (Allen, 1980) ในขณะเดียวกันปลาตัวผู้จะว่ายตามตัวเมียไปติด ๆ และปล่อยน้ำเชื้อผสมกับไข่ทันที ในช่วงระหว่างการวางไข่ปลาตัวเมียจะว่ายไปพักที่ดอกไม้ทะเล บางครั้งจะมีไข่ 2-3 ฟองหลุดออกจากท่อนำไข่ ซึ่งอยู่ห่างจากรังขณะที่ยังลอยเคว้งอยู่ถ้าพ่อปลาหรือแม่ปลาเห็นก็จะเข้ากินทันที การวางไข่แต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 40- 60 นาที จำนวนไข่ของปลาการ์ตูนส้มขาวที่วางแต่ละครั้งอยู่ระหว่าง 145 ถึง 1,827 ฟอง แม่ปลาการ์ตูนจะวางไข่ติดวัสดุเป็นวงกลม หลังจากวางไข่แล้ว 2-3 ชั่วโมง ท่อวางไข่จะหดกลับทันทีหลังจากเสร็จสิ้นการปล่อยไข่ผสมกับน้ำเชื้อ (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537) โดยการวางไข่ของปลาการ์ตูนแต่ละชนิดจะวางไข่แต่ละครั้งไม่เท่ากัน เช่น Ross (1978) ได้ประมาณจำนวนไข่ของปลาการ์ตูน Red And Black Clownfish (*Amphiprion melanopus*) ที่วางไข่แต่ละครั้งมีจำนวน 200-400 ฟอง Fishelson (1965) ได้ศึกษาปลาการ์ตูนชนิด *A. melanopus* พบว่าวางไข่ครั้งละ 600-1600 ฟอง ส่วน Bell (1976) ศึกษาในปลาการ์ตูน Clark's Clownfish (*Amphiprion clarkii*) พบว่าวางไข่ครั้งละประมาณ 500-800 ฟอง ในตู้เลี้ยง โดย Allen (1972) กล่าวว่าจำนวนไข่ขึ้นอยู่กับเวลาที่อยู่ร่วมกันของพ่อแม่ปลาโดยพ่อแม่ปลาที่อยู่กันเป็นคู่กันนานแล้วจำนวนไข่ที่วางจะมีจำนวนมากกว่าพ่อแม่ปลาคู่ที่เพิ่งจับคู่กันใหม่ ๆ

พฤติกรรมในการเฝ้าดูแลไข่ของปลาการ์ตูน

ไข่ปลาการ์ตูนต้องอาศัยพ่อแม่เฝ้าดูแลจึงจะพัฒนาและฟักออกเป็นตัวได้ ปลาตัวผู้จะเป็นผู้เฝ้าดูแลไข่ปลาตัวเมียจะเข้ามาช่วยโบกพัดเป็นครั้งคราวไข่ปลาจะได้รับการดูแลมากน้อยขึ้นอยู่กับการโบกพัดของปลาตัวผู้ การที่ปลาใช้ครีบอก (Pectoral Fin) โบกพัดไข่ติด ๆ กันหลาย ๆ ครั้ง ทำให้ไข่มีการขยับเคลื่อนไปตามทิศทางของแรงโบกพัด ขณะที่ปลาว่ายจะใช้หาง (Caudal Fin) โบกไข่แรง ๆ การโบกพัดไข่ของปลาโดยครีบหางนี้จะช่วยขจัดตะกอนและสิ่งสกปรกต่าง ๆ รวมทั้งสัตว์น้ำวัยอ่อนและตัวเบียพต่าง ๆ ที่จะก่อให้เกิดโรคหลุดออกไป ในขณะที่โบกพัดไข่นั้นพ่อปลาจะคอยตอดกินไข่ที่เสียทันที เป็นการป้องกันการแพร่กระจายของโรคจากไข่ฟองที่เสียไปยังฟองใกล้เคียงที่อยู่ติดกันและคอยทำความสะอาด ขจัดสาหร่าย ตะไคร่น้ำที่ขึ้นอยู่ในบริเวณรังไข่หรือบริเวณที่ไข่ติดอยู่ (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537) รวมทั้งเพื่อให้ไข่ได้รับออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นด้วย (Allen, 1980) และที่สำคัญอีกอย่างก็คือคอยป้องกันมิให้ศัตรูเข้าใกล้รังไข่ เมื่อมีภัยมาใกล้ปลาทั้งคู่จะช่วยกันไล่ศัตรูให้ออกไป (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537)

Allen (1980) ได้ทำการศึกษาปลาการ์ตูนชนิด *A. chrysopterus* ที่ Eniwetok Atoll ราย

งานว่าในระยะ 5 วันแรกของการเฝ้าดูแลไข่ปลาของตัวผู้นั้น ในช่วงกลางวันพ่อปลาใช้เวลาน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ในการเฝ้าดูแลไข่และจะเพิ่มมากขึ้นในช่วง 2 วันหลังและวันสุดท้ายก่อนที่ไข่ใกล้ฟักออกเป็นตัวพ่อปลาจะใช้เวลา 87 เปอร์เซ็นต์ ในการเฝ้าดูแลรังไข่ ส่วนตัวเมียจะใช้เวลาเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

การฟักไข่ของปลาการ์ตูน

เมื่อไข่ปลามีการพัฒนาการสร้างอวัยวะต่าง ๆ แล้วก็พร้อมที่จะฟักออกมาจากผนังเปลือกไข่ โดยการใช้หางและลำตัวกระแทกให้แตก ระยะเวลาปฏิสนธิจนถึงระยะเวลาที่ฟักออกจากเปลือกไข่แตกต่างกันไปในปลาแต่ละชนิด ลูกปลาจะใช้ถุงไข่แดงหรือถุงโยล์คเป็นแหล่งอาหารสำรองขณะที่ลูกปลาฟักออกมาใหม่ ๆ และยังอ่อนแออยู่ โดยทั่วไปลูกปลาที่ฟักออกมาจากไข่เรียกว่า Larva หรือ Fry เมื่อลูกปลาเริ่มมีขนาดโตขึ้นถุงไข่แดงหรือถุงโยล์ค จะมีขนาดลดลงจนหายไป (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) แต่มีข้อสังเกตอยู่ 2 ประการ ที่พอจะช่วยกำหนดได้ว่าจะฟักออกเป็นตัวในวันใดดูได้จากการเฝ้าดูแลโบกพัดของพ่อปลาซึ่งจะใช้เวลาอยู่กับการโบกพัดไข่เกือบตลอดเวลา หรือโดยสังเกตจากฟองไข่ตรงบริเวณลูกตาปลา จะมีแถบสีเงินแววววาวอยู่รอบ ๆ แสดงว่าใกล้เวลาที่ปลาจะฟักออกเป็นตัว ในระยะนี้ตัวอ่อนจะเจริญเติบโตจนดับปลอกที่หุ้ม ตัวปลาอยู่ในลักษณะที่ตัวงอส่วนปลายของหางมาอยู่ตรงระดับเดียวกับลูกตา เมื่อใกล้เวลาที่ปลาจะฟักออกเป็นตัวปลาจะขยับตัวตรงบริเวณส่วนของหัวปลากับหางปลาจะเกิดเป็นช่องว่างขึ้นและผนังของปลอกไข่บริเวณนี้จะถูกดันโป่งออกเล็กน้อย ปลาจะดิ้นติด ๆ กันหลายครั้งเกิดแรงดันทำให้ผนังของปลอกไข่ฉีกขาดเป็นแนวยาวจากบริเวณส่วนหัวลงมาจนถึงเกือบสุดปลายของปลอกไข่ ทันทีที่ปลอกไข่ฉีกขาดออก ปลาจะดีดยืดตัวออกและหลุดจากปลอก ช่วงการดีดออกจากปลอกจะเร็วมากและทันทีที่ปลาดีดตัวหลุดออกจากปลอกไข่ลูกปลาจะว่ายน้ำทันที โดยว่ายเคลื่อนที่ขึ้น ๆ ลง ๆ ในระยะสั้น ๆ การว่ายไม่มุ่งไปในทิศทางใดทางหนึ่ง (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537)

Bell (1976) รายงานว่าระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ เช่น ในปลาการ์ตูนชนิด *A. clarkii* ใช้เวลาเพียง 6.5 วัน ในการฟักออกเป็นตัวที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่จะใช้เวลาในการฟักนานถึง 13.5 วันในการฟักออกเป็นตัวที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส โดย Allen & Fautin (1992) รายงานว่าโดยทั่วไปแล้วลูกปลาจะฟักออกเป็นตัวในช่วงตอนเย็นของวันที่ 6 หรือ 7 หลังจากที่ปลาวางไข่ ส่วน Moyer & Bell (1976) รายงานว่าส่วนใหญ่ปลาจะฟักออกเป็นตัวในเวลากลางคืนภายหลังที่พระอาทิตย์ลับขอบฟ้าไปแล้ว 1-2 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การอนุบาลลูกปลาการ์ตูน

ลูกปลาแรกเกิดจะไม่กินอาหารที่ไม่มีชีวิต พบว่าโรติเฟอร์มีความเหมาะสมที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลาในระยะแรก ซึ่งลูกปลาในระยะนี้จะมีลักษณะการกินอาหารแบบแรม (Ram Feeding) คืออ้าปากคอยกินเหยื่อที่ผ่านมากับน้ำเข้าปาก และเมื่อลูกปลามีอายุ 7- 8 วัน จะมีการเปลี่ยนแปลงการกินอาหาร โดยมีการเปลี่ยนแปลงส่วนหัวกะโหลกและช่องปาก ลูกปลาจะเปลี่ยนไปกินอาหารโดยใช้ปากดูดเรียกว่า แบบซัคชัน (Suction Feeding) (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2542) เช่นเดียวกับ Moe (1982) รายงานว่าการเลี้ยงลูกปลาในระยะแรกควรให้โรติเฟอร์ 3-8 ตัว ต่อน้ำที่ใช้เลี้ยง 1 มิลลิลิตร ในการทดลองได้ให้อาหารครั้งละน้อย ๆ วันละ 4 ครั้ง ซึ่งการให้ครั้งละน้อยแต่บ่อยครั้งจะดีกว่าการให้ครั้งละมาก ๆ เพียงครั้งเดียว เพราะว่าลูกปลาที่ได้โรติเฟอร์ใหม่ ๆ ซึ่งมีความแข็งแรง สมบูรณ์ และมีคุณค่าทางอาหารมากกว่าโรติเฟอร์ที่ตักมาจากตู้เลี้ยงที่นานแล้วและอดอาหาร

เริ่มให้ไรน้ำเค็มที่เพาะออกมาใหม่ ๆ การให้ในช่วงแรก ๆ มีความสำคัญมากเพราะปลาเคยชินกับการกินโรติเฟอร์ ถ้าให้ไรน้ำเค็มมากเกินไปลูกปลาจะเสียการทรงตัว ส่วนหัวตั้งขึ้นส่วนหางชี้ลง ท้องจะอูมเป่ง และมีอาการควงและจมลงตายบริเวณพื้นตู้ จึงควรเริ่มให้ไรน้ำเค็มแต่น้อย ในขณะเดียวกันก็ลดปริมาณโรติเฟอร์ให้น้อยลงจนกระทั่งลูกปลาอายุ 14 วัน จึงให้ไรน้ำเค็มเพียงอย่างเดียว จนลูกปลามีอายุ 45 วัน จะมีลักษณะเหมือนพ่อแม่ทุกประการและอยู่เป็นกลุ่มบริเวณพื้นตู้ ย้ายไปเลี้ยงในพื้นที่ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและใส่ดอกไม้ทะเล เริ่มให้อาหารประเภทโปรตีน เช่น เนื้อหอยสับ เนื้อกุ้ง ในตอนเช้าและให้ไรน้ำเค็มตัวเต็มวัยในตอนบ่าย (อุ่นจิต ปาติยเสวี, 2537)

ฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์ของปลา

ฮอร์โมนจัดเป็นสารที่หลั่งออกมาจากต่อมไร้ท่อ และไปยังอวัยวะเป้าหมายทางกระแสเลือด โดยไม่มีผลต่ออวัยวะอื่นเลย (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) ฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์ของปลาสร้างมาจากไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) ต่อมใต้สมอง และต่อมเพศ โดยฮอร์โมนเหล่านี้จะทำหน้าที่ควบคุมระบบสืบพันธุ์ให้เป็นปกติ เพื่อความอยู่รอดของเผ่าพันธุ์ เช่น การพัฒนาการสร้างไข่ การพัฒนาการสร้างสเปิร์ม การควบคุมการตกไข่และการวางไข่ (Perter, Habibi, Marchant, & Nahoniak, 1987a) รวมทั้งการแสดงออกลักษณะเพศภายนอก (Secondary Sexual Character) ฮอร์โมนเหล่านี้จะทำงานได้เป็นปกติ เมื่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ฝน วัสดุการกระตุ้นการวางไข่และปัจจัยทางสังคม (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) รวมทั้งแสงแดด ระยะเวลาของการมีแสงแดด (Photoperiod) สภาพภูมิอากาศ (Liley, 1978) โดยทั่วไปแล้วขบวนการที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ของปลาหรือสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ จะเริ่มต้นเมื่อมีการกระตุ้นที่เหมาะสมจากสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภายนอก (External Factor) ส่งผ่านไปยังสมองส่วนที่เรียกว่า Hypothalamus (Internal Factor) ให้ผลิตฮอร์โมนที่เรียกว่า โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน (GnRH) และ GnRH จะทำหน้าที่กระตุ้นหรือสั่งการให้ต่อมใต้สมองหลั่งฮอร์โมนที่เรียกว่าโกนาโดโทรปิน(Gonadotropin, GtH) ซึ่งGtH นี้สั่งการไปยังอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad) ให้ผลิต สเตอรอยด์ (Steroid) ซึ่งมีผลต่อการสุกของไข่และการวางไข่ และการผลิตน้ำเชื้อต่อไป (Griffin & Ojeda, 1988)

โกนาโดโทรปิน (Gonadotropin, GtH) เป็นฮอร์โมนควบคุมระบบสืบพันธุ์ที่มีความสำคัญมาก ในที่นี้หมายถึงฮอร์โมนที่เป็นสารประเภท ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) คือประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) เกาะอยู่บนโมเลกุลของโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นจากต่อมใต้สมองและมีหน้าที่ในการกระตุ้นพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25,000-40,000 ดาลตัน (Dalton) (นฤพล สุขุมาสวิน, 2538) จากการศึกษาและการค้นพบของนักวิชาการพบว่า ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินของปลา มีลักษณะเหมือนกับฮอร์โมนโกนาโดโทรปินของสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ๆ ที่ประกอบด้วยฮอร์โมน 2 ชนิด ได้แก่ โกนาโดโทรปิน-วัน (Gonadotropin I หรือ GtH I) ซึ่งเทียบเท่าฮอร์โมนฟอลลิเคิล สติมูเลติง ฮอร์โมน (Follicle Stimulating Hormone หรือ FSH) และโกนาโดโทรปิน-ทู (Gonadotropin II หรือ GtH II) ซึ่งเทียบเท่าฮอร์โมนลูตีไนซิงฮอร์โมน (Lutenizing Hormone หรือ LH) (Suzuki, Kawauchi & Nagahama, 1993) ซึ่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินที่หลั่งจากต่อมใต้สมอง อันได้แก่ ฮอร์โมนเร่งการพัฒนาของไข่ (Follicle Stimulating Hormone, FSH) และฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ (Luteinizing Hormone, LH) จะมีผลโดยตรงต่อความสมบูรณ์เพศ (สิรินทร์ วิโมกข์สันถว์, 2521) ทำหน้าที่กระตุ้นให้ไข่สุก และมีน้ำเชื้อพร้อมที่จะผสมพันธุ์ได้ (Pickford & Atz, 1957) ซึ่งสอดคล้องกับวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2546) กล่าวว่า ฮอร์โมน GtH I และฮอร์โมน GtH II ทำหน้าที่ต่างกันในการควบคุมการพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ ในปลาเพศเมียฮอร์โมน GtH I ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างไข่แดง (Vitellogenesis) และการพัฒนาการของรังไข่ในระยะแรก (Early Ovarian Development) ในขณะที่ฮอร์โมน GtH II ทำหน้าที่กระตุ้นให้ไข่เจริญสมบูรณ์เต็มที่ (Final Oocyte Development) และมีการตกไข่ (Ovulation) สำหรับในปลาเพศผู้ ฮอร์โมน GtH I ทำหน้าที่ควบคุมการพัฒนาการของอัณฑะในระยะแรก (Early Testicular Development) และให้มีการพัฒนาการสร้างสเปิร์ม (Spermatogenesis) ในขณะที่ฮอร์โมน GtH II ทำหน้าที่กระตุ้นให้สเปิร์มมาโตซัว (Spermatozoa) หลุดออกมาจากเซลล์เซอโทไล (Sertoli Cell) ซึ่งเรียกขบวนการนี้ว่าสเปิร์มมิเอชัน (Spermiation) ทำให้ปลามีน้ำเชื้อ (Expressible Milt) ในปริมาณที่มากขึ้น การหลั่งฮอร์โมน GtH I และ GtH II ออกมาจากต่อมใต้สมองของปลามีความสลับซับซ้อน ถูกควบคุมด้วยปัจจัยหลายอย่างโดยเฉพาะฮอร์โมน หรือ

สารเคมีสื่อสารที่หลั่งออกมาจากสมองส่วน Hypothalamus ซึ่งถือเป็นปัจจัยหลักในการควบคุมการหลั่งฮอร์โมน GtH I และ GtH II ของปลาโดยตรง

จากทฤษฎีดังกล่าวจึงก่อให้เกิดการผลิตหรือค้นหาสารสังเคราะห์อื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับฮอร์โมนในธรรมชาติดังกล่าวเพื่อประโยชน์ในการเพาะพันธุ์ปลาต่อไป โดยในช่วงระหว่างปี ค.ศ.1970-1975 นักวิทยาศาสตร์ 2 กลุ่มในสหรัฐอเมริกา กลุ่มแรกนำโดย Andrew Schally และอีกกลุ่มหนึ่งนำโดย Roger Guillemin ได้ศึกษาถึงโมเลกุลของฮอร์โมนจาก Hypothalamus ที่มีผลควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมอง กลุ่มของ Schallyใช้ Hypothalamus จากหมู 250,000 ตัว และกลุ่มของ Guillemin ใช้ในสมองแกะ ซึ่งทั้งสองกลุ่มพบ LH-RH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone) ซึ่งเป็น Decapeptide ในระยะนั้นยังเรียกว่า LH-RH เพราะกระตุ้นการหลั่ง LH หลังจากนั้นก็พบ FSH-RH (Follicle Stimulation Hormone Releasing Hormone) ว่าเป็น Decapeptide ตัวเดียวกันที่กระตุ้นให้เกิดการหลั่ง LH, FSH แต่ใช้ระยะเวลาในการกระตุ้นต่างกัน ต่อมาจึงนิยมเรียก Decapeptide ตัวนี้ว่า Gonadotropin Releasing Hormone หรือ GnRH (แต่ก็มีบางคนยังเรียกLH-RH) (สมศรี งามวงศ์ชน, 2542)

บนความรู้ทางด้านชีวเคมีพบว่าโครงสร้างของ GnRH ที่ถูกค้นพบในสัตว์ต่าง ๆ รวม 6 ชนิด ดังนี้คือ ค้นพบครั้งแรกในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมคือ Mammalian GnRH (mGnRH) ในปี ค.ศ. 1971 โดย Matsuo et al. และBurgus et al. ในปี ค.ศ.1972 ต่อมาพบในสัตว์ปีกโดย King and Millar ในปี ค.ศ.1982 และในปี ค.ศ.1982-1984 Miyamoto et al. พบโครงสร้าง GnRH ในไก่ว่ามี 2 ฟอร์ม ที่เรียกว่า Chicken GnRH-I (cGnRH-I) และChicken GnRH-II (cGnRH-II) ต่อมาในปี ค.ศ.1983 Sherwood et al. ค้นพบ GnRHในปลาแซลมอนเรียกว่า Salmon GnRH (sGnRH) และพบ Lamprey GnRH (lGnRH) จากสมองของปลาปากกลม (Lamprey) ในปี ค.ศ.1986 ต่อมาในปี ค.ศ.1992 ค้นพบ Dogfish GnRH (dfGnRH) จากสมองปลาฉลาม (Dogfish) โดย Lovejoy et al. ในปีเดียวกันนั้นเอง Ngamvongchon et al. ก็ได้พบโครงสร้าง GnRH จากสมองปลาดุกอุยให้ชื่อว่า Catfish GnRH (cfGnRH) ซึ่งพบว่ามี 2 ฟอร์ม นอกจากนี้ยังเป็นที่คาดการณ์กันว่าจะยังมีการค้นพบโครงสร้าง จากสัตว์น้ำอื่น ๆ อีกมากมาย (สมศรี งามวงศ์ชน, 2539)

จากการค้นพบนี้ พบว่า LH-RH ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalian) และ GnRH ที่พบในปลากระดูกแข็งนั้นมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันกล่าวคือ เป็นฮอร์โมนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 10 ตัวเรียงตัวกันหรือที่เรียกว่า Decapeptide นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เดียวกันคือกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของ GtH จากต่อมใต้สมองเช่นกัน จึงสรุปได้ว่า Gonadotropin Releasing Hormone ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและในปลากระดูกแข็งนั้นเป็นชนิดเดียวกันแต่มีโครงสร้างต่างกัน (Donaldson & Hunter, 1983) โดยภายหลังการค้นพบโครงสร้างของ GnRH ที่เป็น Natural Forms

ในสัตว์ต่าง ๆ ดังกล่าวแล้วนั้น ได้มีการสังเคราะห์ฮอร์โมน (Analog Forms)-ดังกล่าวทางชีวเคมีกว่า 200 Analogs ที่สังเคราะห์โดยใช้รูปแบบของ Mammalian GnRH (mGnRH) และประมาณ 200 Analogs ที่สังเคราะห์โดยใช้รูปแบบของ Nonmammalian GnRH (Crim, Peter, & Van Der Kraak, 1986) เพื่อใช้ในทางการแพทย์อย่างมากมาย เพื่อกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ในกรณีที่มีบุตรยาก และการใช้ Anti-Analogs ของ GnRH ในการคุมกำเนิด นอกจากนี้ยังใช้ GnRH Analogsในการเพิ่มผลผลิตในสัตว์เศรษฐกิจทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ปีก สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และสัตว์น้ำ เช่น ปลา เป็นต้น (สมศรี งามวงศ์ชน, 2542)

รีลีสซิ่งฮอร์โมน (Releasing Hormone)

รีลีสซิ่งฮอร์โมน ซึ่งได้แก่ GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), LHRH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone), GnRHa (Gonadotropin Releasing Hormone Analogue) และ LHRHa (Luteinizing Hormone Releasing Hhormone Analogue) เริ่มได้รับความนิยมในการเพาะพันธุ์ปลาอย่างมาก เพราะไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองให้หลั่งโกนาโดโทรปินออกมาโดยตรง โดยทั่วไปนิยมใช้ในรูปของอนาลอกซ์ (Analogue) เช่น GnRHa และ LHRHa เป็นต้น เพื่อใช้กระตุ้นการตกไข่และการวางไข่ของปลา GnRHa และ LHRHa จะมีความคงตัวและค่าครึ่งชีวิต (Half Life) นานกว่า GnRH และ LHRH เนื่องจากอนาลอกซ์ดังกล่าวจะถูกสังเคราะห์ให้มีกรดอะมิโน 9 ตัว (Nanopeptide) อยู่ในรูป D-Amino Acid ซึ่งจะคงตัวดีกว่า L-Amino Acidในธรรมชาติ อีกทั้งยังสามารถจับกับตัวรับจำเพาะ (Receptor) ที่บริเวณต่อมใต้สมองได้ดีกว่า จึงมีผลทำให้การฉีด GnRHa และ LHRHa มีแนวโน้มกระตุ้นต่อมใต้สมองให้หลั่งโกนาโดโทรปินไปยังรังไข่ หรืออัณฑะมากขึ้น และทำให้สมบูรณ์เพศมากขึ้นและประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปลาได้ดีกว่า (Peter, Narhorniak, Shin, King, & Millar, 1987b) ในปัจจุบันได้มีการสังเคราะห์อนาลอกซ์ขึ้นมาอย่างมากมาย แต่โดยทั่วไปแล้วอนาลอกซ์ที่นิยมนำมาเพาะพันธุ์ปลามีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้มากได้แก่

1. LHRHa จัดเป็นอนาลอกซ์ของ LHRH โดย LHRHa มีสูตรย่อ D-Ala^{6}-Pro^{9}-LHRH-NEt ซึ่งมีกรดอะมิโน 9 ตัว โดยกรดอะมิโนในลำดับที่ 6 เป็นอะลานีน (Alanine) และจะไม่มีกรดอะมิโนในลำดับที่ 10 คือ ไกลซีน (Glycine) แต่จะเหลือกรดอะมิโนลำดับที่ 9 เป็นโปรลีน (Proline) เกาะติดกับเอทธิลลาไมด์ (Ethylamine)

2. GnRHa จัดเป็นอนาลอกซ์ของ GnRH โดยในปัจจุบัน GnRHa ได้ถูกสังเคราะห์และนำมาใช้เพาะพันธุ์ปลา 2 รูป ได้แก่ D-Arg^{6}-Pro^{9}-GnRH-NEt และD-Ala^{6}-Pro^{9}-GnRH-NEt โดย

กรดอะมิโนในลำดับที่ 6 เป็น อาร์จินีน และ อะลานีน ตามลำดับและจะไม่มีกรดอะมิโนในลำดับที่ 10 (ไกลซีน) เช่นเดียวกัน แต่จะเหลือกรดอะมิโนลำดับที่ 9 (โปรลีน) เกาะติดกับเอทธิลลาไมด์

3. Buserelin จัดเป็นอนาลอกซ์ของ LHRH มีสูตรย่อ D-Ser(t-bu)^{6}-Pro^{9}-LHRH-NEt โดยกรดอะมิโนในลำดับที่ 6 เป็น ซีรีน (Serine) และจะไม่มีกรดอะมิโนในลำดับที่ 10 (ไกลซีน) แต่จะเหลือกรดอะมิโนลำดับที่ 9 (โปรลีน) เกาะติดกับเอทธิลลาไมด์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
LHRHa:	pyro Glu	— His	— Trp	— Ser	— Tyr	— Ala	— Leu	— Arg	— Pro — NEt
GnRHa:	pyro Glu	— His	— Trp	— Ser	— Tyr	— Arg	— Trp	— Leu	— Pro — NEt
GnRHa:	pyro Glu	— His	— Trp	— Ser	— Tyr	— Ala	— Trp	— Leu	— Pro — NEt
Buserelin:	pyro Glu	— His	— Trp	— Ser	— Tyr	— Ser (t-bu)	— Leu	— Arg	— Pro — NEt

สูตรโครงสร้างของ LHRH$_a$ และ GnRH$_a$ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536)

การประยุกต์ใช้ฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา

การเพาะพันธุ์ปลาต้องการพ่อแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์เพศ ซึ่งโดยทั่วไปพ่อพันธุ์จะมีการสร้างสเปิร์มที่เร็วแต่สำหรับแม่พันธุ์แล้วมักจะมีการพัฒนาการสร้างไข่ที่ช้ากว่า การเร่งการพัฒนาการของสเปิร์มและไข่สามารถเร่งได้โดยการใช้ฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ ฉีดกระตุ้น ซึ่งในปัจจุบันการเพาะพันธุ์ปลาในเชิงการค้าได้นำความรู้พื้นฐานของฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์มาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายและประสบความสำเร็จในปลาหลายชนิด (ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และสุจินต์ หนูขวัญ, 2539) ต่อมาได้มีการพัฒนารูปแบบการปล่อย GnRHa เข้าสู่ตัวปลาหลายรูปแบบและใช้ทดสอบเพาะพันธุ์ปลาเพื่อควบคุมความสมบูรณ์ของไข่ที่พร้อมปฏิสนธิ (FOM), การตกไข่ (Ovulation) และความสามารถรีดน้ำเชื้อได้ (Spermiation) (Zohar & Mylonas, 2001) เช่น การให้ GnRHa โดยใช้ระบบการย่อยสลายทางชีวภาพ พบว่าจะกระตุ้นระดับของ GtH อย่างต่อเนื่อง และชักนำให้เกิดการตกไข่และวางไข่ในปลา Gilthead Seabream, *Sparus aurata* (Zohar, 1988), (Zohar et al., 1989)

รูปแบบของระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน

รูปแบบที่ 1 เป็นการเตรียมโดยใช้เปอร์เซนต์ของคอเลสเทอรอล (Cholesterol) และเซลลูโลส (Cellulose) ผสมในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน แล้วทำการฝังเข้าไปในตัวปลาทำให้มีการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเป็นไปอย่างช้า ๆ หรือเร็วได้ (Carolsfeld, Sherwood, Kreiberg, & Soawer, 1988) การฝังให้มีการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอย่างรวดเร็วในระหว่างวันจะทำให้ระดับของ Plasma GtH

สูงขึ้นเรื่อย ๆ ไปเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 8 วัน ในขณะที่การฝังให้มีการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอย่างช้า ๆ เป็นสัปดาห์ จะทำให้ระดับของ Plasma GtH เพิ่มขึ้นเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 8 สัปดาห์ (Crim, Sutterlin, Evans, & Weil, 1983) ซึ่งวิธีนี้จะเตรียมส่วนผสมให้เป็นของแข็งอยู่ในรูปทรงกระบอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และทำการฝังเข้าไปในตัวปลาทางกล้ามเนื้อ โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Implanter หรือ Scalpel วิธีนี้จะง่ายต่อการปฏิบัติและมีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับวิธีอื่น (Carolsfeld et al., 1988) เช่นเดียวกับการทดลองของ Sherwood, Crim, Carolsfeld, & Walter, (1988) นำ [D-Ala^{6},Pro^{9}-Ethylamide]Mammalian GnRH (mGnRHa) 100ไมโครกรัม มาอัดเป็นเม็ดโดยใช้คอเลสเทอรอล และเซลลูโลส ผสมในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน แล้วอัดเป็นเม็ดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 3 มิลลิเมตร ซึ่งพบว่าการใช้ 5 เปอร์เซ็นต์เซลลูโลส ร่วมกับ 95 เปอร์เซ็นต์คอเลสเทอรอล หรือ 100 เปอร์เซ็นต์คอเลสเทอรอลอย่างเดียว จะมีประสิทธิภาพทำให้ mGnRHa ออกฤทธิ์ออกมาอย่างช้า ๆ โดยภายใน 1 ชั่วโมงสลายไปเพียง 5-6 เปอร์เซ็นต์, 24 ชั่วโมงสลายเพียง 18-21 เปอร์เซ็นต์ และสลายไปเพียง 36-38 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 28 วัน เทคนิคนี้ประสบความสำเร็จในการกระตุ้นการตกไข่และการวางไข่ปลาบางชนิด เช่น ปลานวลจันทร์ทะเล (Lee et al., 1986), (Mart, Sherwood, Crim, & Havey, 1987), (Mart, Sherwood, Crim, & Tan, 1988), ปลากระพงขาว (Garcia, 1989) และปลาสลิดทะเลจุดเหลือง (Harvey, Nacario, Crim, Juario, & Marte, 1985) เป็นต้น

รูปแบบต่อมาคือ วิธีการส่ง GnRHa เข้าสู่ตัวปลาที่ทำให้อยู่ในรูป Microspheres ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-200 ไมโครเมตร โดยใช้ Co-Polymer คือ Lactic Acid และGlycolid Acid (LGA) (Lewis, 1990) ซึ่งเป็นระบบควบคุมการปล่อยตัวยาที่ทำจากโพลิเมอร์ต่าง ๆ โดยสามารถนำเข้าสู่ร่างกายได้โดยการฉีด เมื่อปล่อยตัวยาหมดแล้วโพลิเมอร์ก็สามารถถูกย่อยสลายโดยขบวนการเผาผลาญในร่างกาย (Metabolism) ไปเป็นของเสียต่าง ๆ ซึ่งจะถูกขจัดออกนอกร่างกายในภายหลัง (สิริพร โตนดแก้ว, 2539) โดย Microspheres ผลิตโดยใช้ Emulsion 2 ชนิด ด้วยวิธี Solvent Evaporation Method (Okada, Doken, Ogawa, & Toguchi, 1994a), (Okada et al., 1994b) โดยละลาย GnRHa แล้วนำไปทำให้ติดกับส่วนผสมของ LGA แล้วจึงนำ Microspheres ไปฉีดเข้าสู่กล้ามเนื้อในปลาโดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 (Zohar & Mylonas, 2001) การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนในรูปของ Microspheres จะออกฤทธิ์ออกมาโดยตรงและสามารถอยู่ได้นาน 2-3 เดือน ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของ Lactic Acid และ Glycolid Acid และจะอยู่ได้นานมากยิ่งขึ้นตามน้ำหนักของโมเลกุลของ Polymer ที่ใช้ (Chasin & Langer, 1990)

Okada et al. (1994a) ได้ศึกษาการใช้ Leuprorelin Acetate ในรูปของ Microspheres เพื่อควบคุมการออกฤทธิ์ของตัวยาถึง 3 เดือน โดยใช้ Copolymer คือ Copoly (DL-Lactic/Glycolic

Acid) (PLGA) หรือ poly (DL-Lactic Acid) (PLA) โดยใช้วิธีทำให้แห้ง และนำไปประเมินหาค่าการออกฤทธิ์ของตัวยา พบว่าในหลอดทดลอง Microspheres ที่เตรียมด้วย PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย หรือ PLGA (75/25) น้ำหนักโมเลกุล 9,100-23,000 การออกฤทธิ์ของตัวยาค่อนข้างจะรวดเร็ว โดยจะออกฤทธิ์หมดภายใน 6-8 สัปดาห์ ส่วน Microspheres ที่เตรียมด้วย PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 54,700 และ162,100 จะมีการออกฤทธิ์ของตัวยาอย่างมากในช่วงแรก 44 และ 58 เปอร์เซ็นต์ ในวันแรกตามลำดับ โดย Microspheres ที่ดีควรใช้ PLGA (90/10) และ PLA (15,700-21,500) ทำให้มีการออกฤทธิ์ของตัวยาต่อเนื่อง 12-13 สัปดาห์ ในสัตว์ทดลองพบว่า Microspheres ที่ใช้ PLGA (75/25)-15,800 มีการหลั่งของตัวยานานถึง 4 สัปดาห์ ส่วนที่เตรียมโดยใช้ PLA-53,300 จะมีการออกฤทธิ์ของของตัวยาอย่างช้า ๆ เป็นเวลาถึง 16 สัปดาห์ และที่เตรียมด้วย PLA-4,700 จะมีการออกฤทธิ์ของตัวยาอย่างรวดเร็ว สำหรับการควบคุมการออกฤทธิ์ของตัวยาในเวลาประมาณ 3 เดือน โดยพบว่า Microspheres ที่เตรียมโดยใช้ PLA-18,200, PLA-21,500 หรือ PLGA (90/10)-19,000 จะมีการออกฤทธิ์ของตัวยาอย่างต่อเนื่องในเวลาประมาณ 3 เดือน

รูปแบบอื่นของ Microspheres ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ผลิตโดยใช้ Polyanhydride เป็น Co-Polymer โดยชนิดของ Co-Polymer คือ Fatty Acid Dimer และ Sebasic Acid (FAD-SA) ในอัตราส่วนเท่ากับ 25:75 Molar ซึ่ง Microspheres ชนิดนี้จะผลิตโดยใช้ Emulsion 2 ชนิด ด้วยวิธี Solvent Evaporation Process โดย Microspheres ที่บรรจุ GnRHa [D-Ala^{6},Pro^{9} NEt]-GnRH ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปทรงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-240 ไมโครเมตร การทดลองในหลอดทดลอง GnRHa สามารถออกฤทธิ์ออกมาเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 90 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ส่วนการทดลองในปลาที่ฉีด Microspheres ที่บรรจุ GnRHa 150 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยทำการศึกษาในปลา Striped Bass พบว่ามีความแตกต่างกันของความเข้มข้นของ Plasma GnRHa ที่เพิ่มขึ้นเป็นเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ โดยภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากทำการทดลองความเข้มข้นของ Plasma GnRHa เพิ่มขึ้นสูงกว่าช่วงเวลาอื่นที่ทำการศึกษาและสูงกว่าชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัดเจน (Mylonas et al., 1995) ซึ่งข้อดีของ Biodegradable Microspheres คือสามารถใช้ได้กับปลาที่มีขนาดเล็ก ๆ ที่มีน้ำหนัก 2-3 กรัม ไปจนถึงปลาที่มีขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักหลายกิโลกรัม ซึ่งสามารถใช้ได้อย่างสะดวกเพราะ Microspheres จะอยู่ในส่วนผสมและเป็นการให้ฮอร์โมนโดยหลักเกณฑ์ตามปริมาตรต่อน้ำหนัก (Zohar & Mylonas, 2001)

รูปแบบสุดท้ายของการส่ง GnRHa เข้าสู่ตัวปลาที่ใช้สำหรับการชักนำให้เกิดการวางไข่จะถูกเตรียมให้อยู่ในรูปของของแข็ง โดยการฝังผลึกของแข็งที่มีรูปร่างกลมเป็นแผ่นที่ใช้ Co-Polymer ที่ย่อยสลายไม่ได้เป็น Ethylene และ Vinyl Acetate (EVAC) (Rhine, Hsieh, & Langer, 1980) โดยการฝัง EVAC จะใช้สำหรับปลาเพื่อให้มีการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน GnRHa ได้ภายใน

ระยะเวลา 2-5 สัปดาห์ (Zohar et al., 1990), (Mylonas et al., 1998) ซึ่งการฝัง EVAC จะทำให้อยู่ในรูปแผ่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรและฝังเข้าไปในกล้ามเนื้อโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Implanter (Zohar & Mylonas, 2001) ซึ่งรูปแบบของระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน สรุปตามวัสดุที่ใช้ รูปร่างและขนาด รวมทั้งระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รูปแบบของระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน

รูปแบบ	วัสดุที่ใช้	รูปร่างและขนาด	วิธี	ระยะเวลาออกฤทธิ์
Implant	Cholesterol และ Cellulose	เม็ด Ø 3 มม.	ฝัง	8 วัน-8 สัปดาห์
EVAC	Ethylene และ Vinyl Acetate	แผ่นกลม Ø 2 มม.	ฝัง	2-5 สัปดาห์
Microspheres	Lactic â และ Glycolic â	ผง Ø 5-200 µm	ฉีด	2-3 เดือน
	Fatty â และ Sebasic â	ผง Ø 10-240 µm	ฉีด	หลอดทดลอง 90 วัน ปลา 8 สัปดาห์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Breton, Weil, Sambroni, & Zohar (1990) ได้ศึกษาการหลั่งของ Gonadotropin (GtH) และการตกไข่ในปลา Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss)* ในฤดูผสมพันธุ์ โดยใช้ D-Trp^{6} LH-RH 50, 25 และ12.5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมในรูปของ Microencapsulated ที่มี Polyglycolid-Polylactic เป็นส่วนผสม ผลการทดลองพบว่า LHRHa กระตุ้นให้ GtH ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นได้นานถึง 3 สัปดาห์ทุกชุดการทดลอง โดยในเวลา 24 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และเพิ่มขึ้นสูงสุด ในระหว่างวันที่ 2-8 ซึ่งในชุดที่ได้รับ LHRHa 50ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม GtH ในเลือดเพิ่มขึ้นสูงสุด 69.44± 15.2 ng/ml ในวันที่ 5 ส่วนในชุดที่ได้รับ LHRHa 25 และ12.5ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม GtH ในเลือดเพิ่มขึ้นสูงสุด เท่ากับ 53.19± 10.68 ng/ml และ 32.47± 10.31 ng/ml ในวันที่ 8 ทั้ง 2 ชุดการทดลอง รวมทั้งพบว่าในชุดที่ได้รับ LHRHa 50ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม แม่ปลาเริ่มมีการตกไข่มากขึ้นในวันที่ 5 จนถึงวันที่ 8 มีการตกไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชุดที่ได้รับ LHRHa 25 และ 12.5ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กิโลกรัม เกิดการตกไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 12 หลังจากทำการทดลอง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการตกไข่เพียง 69 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลาถึง 26 วัน

Mylonas et al. (1995) ได้ทดสอบผลของ Microspheres ที่มี Co-Polymer คือ Fatty Acid Dimer และ Sebasic Acid (FAD-SA) ในอัตราส่วนเท่ากับ 25:75 Molar ซึ่ง Microspheres จะบรรจุ GnRHa [D-Ala^{6},Pro^{9} NEt]-GnRH 50 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ในปลา Striped Bass ในระยะ Post-Vitellogenic พบว่าสามารถชักนำให้แม่ปลาเกิดการตกไข่ได้ 60 เปอร์เซนต์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการตกไข่เลย

ในการศึกษาครั้งต่อมาปลา Striped Bass ในระยะ Post-Vitellogenic เพศเมียที่ฉีดด้วย Microspheres บรรจุ GnRHa 150 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม แม่ปลา 100 เปอร์เซ็นต์ เกิดการตกไข่ภายในเวลา 11 วันหลังจากทำการทดลอง โดยแม่ปลาตัวแรกเกิดการตกไข่ภายในเวลา 5 วันหลังจากทำการทดลอง เปรียบเทียบกับ 21 วันหลังจากทำการทดลองในการศึกษาครั้งแรก และเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีด GnRHa 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยภายในระยะเวลาเท่ากันแม่ปลาเกิดการตกไข่เพียง 65 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

ส่วนในการศึกษาครั้งที่ 3 ปลา Atlantic Salmon เพศเมียในระยะ Post-Vitellogenic ที่ฉีดด้วย Microspheres บรรจุ GnRHa 75 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม แม่ปลา 100 เปอร์เซ็นต์ เกิดการตกไข่ภายในเวลา 15 วัน โดยเริ่มต้นตกไข่ตั้งแต่วันที่ 7 หลังจากทำการทดลอง ในขณะที่ปลา Striped Bass และปลา Atlantic Salmon เพศผู้ในระยะ Spermiating ที่ฉีดด้วย Microspheres บรรจุ GnRHa 75 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีประสิทธิภาพทำให้ปริมาณน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Swanson (1995) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดการตกไข่ และความสามารถในการรีดน้ำเชื้อได้ในปลา Sockeye Salmon ในช่วงฤดูวางไข่ โดยใช้ Des-Gly^{10}[D-Ala^{6}]-Mammalian GnRH Ethylamide (GnRHa) ในรูป GnRHa-EVAC (Ethylene Vinyl Acetate Co-Polymer) บรรจุ GnRHa 25 และ75 ไมโครกรัมต่อเม็ด และในรูปของ GnRHa-Microspheres ที่มี Poly[Fatty Acid Dimer-Sebasic Acid] (FAD-SA) เป็น Co-Polymer บรรจุ GnRHa 25 และ 75 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ผลการทดลองพบว่า แม่ปลาที่ได้รับ EVAC-75 ไมโครกรัมต่อเม็ด เกิดการวางไข่ในวันที่ 14 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่วางไข่ในวันที่ 36 หลังจากทำการทดลอง ส่วนแม่ปลาที่ได้รับ FAD-SA 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า EVAC-25, 75 ไมโครกรัมต่อเม็ด หรือ FAD-SA 75 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยในแต่ละชุดการทดลองที่ได้รับ GnRHa ระดับ Plasma ของ LH เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างชัดเจน และน้ำหนักเฉลี่ยของไข่เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อความดกของไข่และอัตรารอดของตัวอ่อนที่ฟัก เมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุม ส่วนพ่อปลาที่ได้รับ FAD-SA 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดที่สามารถรีดน้ำเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนปริมาตรของน้ำเชื้อที่รีดได้ ภายใน 14 วันมีความแตกต่างกันอย่างมากทุกชุดการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Mylonas et al. (1996) ได้ทดสอบผลของ Gonadotropin Releasing Hormone Analog, D-Ala^{6},Pro^{9} [NEt]-GnRH (GnRHa) ที่อยู่ในรูปของ EVAC (Ethylene-Vinyl Acetate Co-Polymer) 50 ไมโครกรัมต่อปลา 1 ตัว (เฉลี่ยประมาณ 62 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม) และ Microspheres ที่มี Poly [Fatty Acid Dimer-Sebasic Acid] (FAD-SA) เป็น Co-Polymer 40 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ทำการทดลองในปลาลูกผสม White Bass กับ Striped Bass ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงมีนาคม ซึ่งดูเหมือนว่าปลากำลังจะวางไข่ ผลการทดลองพบว่า การฉีด Microspheres สามารถชักนำให้แม่ปลาเกิดการตกไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 70 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการฝัง EVAC ใช้เวลา 76 ชั่วโมง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของเวลาที่ใช้ในการตกไข่หลังจากทำการทดลอง และในระหว่าง 2 ชุดการทดลองนี้ ค่าเฉลี่ยความดกของไข่ เปอร์เซ็นต์การผสมติด และเปอร์เซ็นต์อัตรารอดตายเมื่อลูกปลามีจุดสีที่บริเวณดวงตา มีค่าใกล้เคียงกัน โดยการฝัง EVAC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การผสมติดเท่ากับ 81.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์อัตรารอดตายเมื่อลูกปลามีจุดสีที่บริเวณดวงตาเท่ากับ 46.5 เปอร์เซ็นต์ และความสำเร็จในการเพาะฟักเท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตรารอดตายหลังฟักจนมีอายุ 30 วัน เท่ากับ 78 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าไข่ไม่มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะได้รับการผสมจากน้ำเชื้อเลย

Barbaro et al. (1997) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดการตกไข่และการวางไข่ในปลา Gilthead Seabream (*Sparus aurata)* โดยใช้ PLGA-Encapsulated Leuprolide Acetate (Des-Gly^{10}, [D-Leu^{6}]-LH-RH Ethylamide (Long-Action GnRHa) 20, 40 และ80 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ที่มี Copolymer ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ คือ DL-Lactic/Glycolid Acid ในอัตราส่วน 3:1 ผลการทดลองพบว่าแม่ปลาทุกชุดการทดลองเริ่มมีการวางไข่หลังจาก 48 ชั่วโมง โดย 40 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นไข่ที่ถูกวางใน 10 วันแรก ซึ่งเป็นช่วงที่มีการวางไข่สูงสุดเท่ากับ 6 ถึง $10x10^{4}$ ฟองต่อกิโลกรัมเปรียบเทียบกับชุดควบคุมช่วงที่มีการวางไข่สูงสุดมีการวางไข่น้อยกว่า $5x10^{4}$ ฟองต่อกิโลกรัม

Mylonas, Gissis, Magnua, & Zohar (1997) ได้ศึกษาผลของ D-Ala^{6},Pro^{9} [NEt]-GnRH ในรูปของ Microspheres ในปลา White Bass (*Morone chrysops*) พบว่า GnRHa Microspheres สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มการผลิตน้ำเชื้อในวันที่ 2 และ 7 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีการเพิ่มของปริมาณน้ำเชื้อจาก 2.0 ± 0.1 ml kg^{-1} body weight ในวันแรกไปจนถึง 3.3 ± 0.3 ml kg^{-1} ในวันที่ 2 และ 3.6 ± 0.3 ml kg^{-1}ในวันที่ 7 โดยในชุดควบคุมปริมาณน้ำเชื้อจะคงที่อยู่ประมาณ

2.1± 0.2 ml kg^{-1} ส่วนความหนาแน่น ความสามารถในการเคลื่อนไหว และเปอร์เซ็นต์ในการปฏิสนธิ ไม่มีความแตกต่างกัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52± 2x10^{9} Spermatozoa ml^{-1} 50± 4 เปอร์เซ็นต์ Motile Spermatozoa และ 60± 5 เปอร์เซ็นต์ Fertilized Eggs ตามลำดับ

Mylonas et al. (1998) ได้ศึกษาผลของ [D-Ala^{6},Pro^{9} NEt]-GnRH ในรูปของ GnRHa Microspheres 40 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม GnRHa Implant 40 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ GnRHa Injection 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ในปลา Striped Bass (*Morone saxatilis)* ในฤดูวางไข่ พบว่าแม่ปลา 13 ใน 15 ตัวที่ทดสอบด้วย GnRHa Microspheres และ GnRHa Implant มีความสมบูรณ์ของไข่พร้อมปฏิสนธิ (FOM) และการตกไข่ (Ovulation) ภายในวันที่ 3 และ 10 ตามลำดับหลังจากการทดลอง ส่วนแม่ปลาที่ได้รับการทดสอบด้วย GnRHa Injection 2 เข็ม แม่ปลา 1 ตัว เริ่มมีความสมบูรณ์ของไข่พร้อมปฏิสนธิ (FOM) หลังจากฉีดเข็มแรกในวันที่ 5 และแม่ปลาทั้งหมดมีความสมบูรณ์ของไข่พร้อมปฏิสนธิ (FOM) หลังจากฉีดเข็ม 2ในวันที่ 9 แต่แม่ปลา 3ใน5 เกิดการตกไข่ (Ovulation) ต่อมาได้ศึกษาประสิทธิภาพของ GnRHa-Delivery Systemในการชักนำให้เกิดการวางไข่โดยใช้ GnRHa Implant 30-50 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม หรือ GnRHa Microspheres 40 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม พบว่าแม่ปลาเกิดการวางไข่ระหว่าง 48 และ140 ชั่วโมงหลังจากทำการทดลอง มีจำนวนไข่ประมาณ 120,000-225,000 ฟอง และเปอร์เซนต์การปฏิสนธิอยู่ระหว่าง 38-49 เปอร์เซ็นต์

Mañanós et al. (2002) ได้ศึกษาผลของ [D-Ala^{6},Pro^{9} NEt]-GnRH ในรูปของ GnRHa Injection 25ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม EVAC Fast Releasing Implant 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม EVSL Slow Releasing Implant 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมและ MC Biodegradable Microspheres 50ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าทุกชุดการทดลองที่ใช้ GnRHa จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง Luteinizing Hormone (LH)โดย GnRHa Injection ระดับของ Plasma สูงที่สุดจนถึง 2 วัน และ 2, 4, 6 สัปดาห์ใน EVAC, MC และEVSLตามลำดับซึ่งสัมพันธ์กับระยะเวลา 1, 3, 5 และ 5 สัปดาห์ที่กระตุ้นปริมาณการผลิตของน้ำเชื้อ

จากการตรวจเอกสารสามารถสรุปถึงการใช้ระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนตามสูตรโครงสร้างของฮอร์โมนในรูปแบบต่าง ๆ ที่ใช้กระตุ้นความสมบูรณ์เพศทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมียเพื่อการเพาะพันธุ์ปลา ซึ่งประสบความสำเร็จในปลาหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การใช้ระบบควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลา

ชนิดปลา	เพศ	ฮอร์โมน	รูปแบบ	ผู้วิจัย
Rainbow Trout (*O. mykiss)*	เมีย	D-Trp^{6} LHRHa	Microencapsulated	Breton et al., 1990
Striped Bass (*M. saxatilis*)	เมีย	D-Ala^{6} GnRHa	Microspheres	Mylonas et al., 1995
Atlantic Salmon(*S. salar*)	เมีย/ผู้	D-Ala^{6} GnRHa	Microspheres	Mylonas et al., 1995
Sockeye Salmon	เมีย/ผู้	D-Ala^{6} GnRHa	EVAC/Microspheres	Swanson, 1995
White Bass (*M. chrysops*)	เมีย	D-Ala^{6} GnRHa	EVAC/Microspheres	Mylonas et al., 1996
Gilthead Seabream (*S.aurata*)	เมีย	D-Leu^{6}LH-RHa	Encapsulated	Barbaro et al., 1997
Striped Bass (*M. saxatilis*)	เมีย	D-Ala^{6} GnRHa	Implant/Microspheres	Mylonas et al., 1998

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University