รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) เชิงพาณิชย์”

โดย พิชญา ชัยนาค และคณะ

พฤษภาคม 2563

สัญญาเลขที่ CRP 6005010970

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

“โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) เชิงพาณิชย์”

ผู้ร่วมโครงการ

พิชญา ชัยนาค

วารินทร์ ธนาสมหวัง

วิทยา รัตนะ

จุไรพร อบเทียน

นันทวัน ศานติสาธิตกุล

ฉันทนา แก้วตาปี

ศักย์ชิน บุญถวิล

ไวยพจน์ เครือเสน่ห์

สนับสนุนโดยสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของคณะผู้วิจัย สวก ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการ “โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) เชิงพาณิชย์” ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก) เป็นจำนวนเงิน 4,026,940.00 บาท (สี่ล้านสองหมื่นหกพันเก้าร้อยสี่สิบบาทถ้วน) ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ 1 สิงหาคม 2560 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2561 และขยายระยะเวลา 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2561 ถึงวันที่ 30 พฤศจิกายน 2561 ครั้งที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 1 ธันวาคม 2561 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2562 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการ สวก ผู้ให้ทุน ผู้ประสานโครงการและเจ้าหน้าที่ของ สวก ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ผู้ทรงคุณวุฒิซึ่งประเมินโครงการ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินการวิจัย และสนับสนุนการดำเนินงานด้วยดีตลอดระยะเวลาของโครงการ

ผู้ร่วมโครงการทุกท่าน ขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต) ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งพังงา ที่มีส่วนช่วยในการดำเนินโครงการจนสำเร็จลุล่วง

ดร. พิชญา ชัยนาค

หัวหน้าโครงการ

สารบัญ **หน้า**

บทสรุปผู้บริหาร 1

ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ 1

งานวิจัย

ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*) 6

การศึกษาระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*) 16

การแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าเป็นเพศผู้ด้วย MT โดยเทคนิคสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ 31

ชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตกลุ่มNematode ในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า 40

กิจกรรมการผลิตลูกพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า 51

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการ โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) เชิงพาณิชย์

หัวหน้าโครงการ หน่วยงาน ที่อยู่ และ โทรศัพท์/โทรสาร/e-mail address

ดร. พิชญา ชัยนาค
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต)
ตำบลป่าคลอก อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต 83110
โทรศัพท์ 076-621822 โทรสาร 076-62183
e-mail pchainark@yahoo.com

ความเป็นมา และความสำคัญของโครงการ

ปลากะรังจุดฟ้าเป็นปลาที่มีเนื้อขาว มีรสชาติดี เป็นที่นิยมของผู้บริโภค มีราคาแพง ปลาขนาด 800-1,200 กรัม ราคาขาย 800-1,200 บาท/กิโลกรัม และในต่างประเทศกิโลกรัมละ 2,000-3,000 บาท ด้วยความนิยมที่เพิ่มมากขึ้นโดยการส่งออกในลักษณะปลามีชีวิตไปยังประเทศต่างๆ เช่น จีน สิงคโปร์ ฮ่องกง ไต้หวัน และมาเลเซีย จึงเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยและประเทศเพื่อนบ้าน จากความต้องการบริโภคปลากะรังเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผลผลิตปลากะรังจากทะเลเพียงแหล่งเดียวไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดนี้ในเชิงพาณิชย์จึงได้รับความสนใจทั้งจากภาครัฐและภาคเอกชน กรมประมงได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) สวก. ระหว่างปี 2553-2559 ในการศึกษาวิจัยภายใต้โครงการ *“ต้นแบบการผลิตพันธุ์ปลากะรังที่มีมูลค่าสูงเชิงพาณิชย์”* เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ปลาหมอทะเล *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) และปลากะรังเสือ *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775) ในส่วนของปลากะรังจุดฟ้ามีการศึกษาการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในระบบน้ำหมุนเวียนและระบบน้ำไหลผ่านตลอดต่อการวางไข่ของปลากะรังจุดฟ้า การใช้ฮอร์โมน 17α-methyltestosterone ต่อความสมบูรณ์พันธุ์ และคุณภาพน้ำเชื้อของปลากะรังจุดฟ้า การตรวจหาเชื้อ nervous necrosis virus (NNV) ด้วยเทคนิค one step RT-PCR เพื่อสนับสนุนการผลิตพันธุ์ปลา นอกจากนี้โครงการยังได้ผลิตลูกปลาขนาด 2-4 นิ้ว จำนวน 14,109 ตัว ราคานิ้วละ 30 บาท จำหน่ายให้แก่เกษตรกรนำไปเลี้ยงให้ได้ขนาดตลาดก่อนจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม การผลิตลูกพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ายังมีปัญหาผลิตได้จำนวนน้อยและไม่สม่ำเสมอ ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากปลากะรังจุดฟ้ามีการแสดงลักษณะเพศแบบ protogynous hermaphrodite โดยระยะแรกปลาเป็นเพศเมีย แล้วเปลี่ยนเป็นเพศผู้เมื่อมีขนาด 5-7 กิโลกรัมขึ้นไป และเปลี่ยนเป็นปลาเพศผู้บางส่วนเท่านั้น ทำให้ปลาพ่อพันธุ์มีจำนวนจำกัดและอาจไม่สมบูรณ์ และปลากะรังจุดฟ้าเป็นปลาที่เพาะพันธุ์ยากที่สุด แต่เป็นปลาที่มีราคาแพงที่สุดในจำนวน 3 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นความท้าทายในอันที่จะศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น กรมประมงจึงได้

เสนอโครงการ “การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) เชิงพาณิชย์” ระยะเวลาดำเนินการ 4 ปี เพื่อขอรับทุนอุดหนุนจาก สวก. และได้รับการสนับสนุนงบประมาณในปีที่ 1 เป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 4,026,940 บาท ระยะเวลาตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2560 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2561 และขยายระยะเวลา 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม – 30 พฤศจิกายน2561 และครั้งที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 1 ธันวาคม 2561 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2562

ผลสรุปจากโครงการ

การดำเนินการของโครงการประกอบด้วยการศึกษาวิจัย การจัดหาพ่อแม่พันธุ์เพิ่มเติม และการผลิตลูกพันธุ์ขนาด 1 นิ้ว เพื่อจำหน่ายให้กับเกษตรกรนำไปเลี้ยงต่อเป็นปลาขนาด 4-5 นิ้ว ก่อนจำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงเป็นปลาขนาดตลาดอีกทอดหนึ่ง ซึ่งผลการดำเนินงานในปีแรก สรุปได้ดังนี้

งานวิจัย

1. ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*)
2. การศึกษาระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*)
3. การแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าเป็นเพศผู้ด้วย MT โดยเทคนิคสนามไฟฟ้าแบบพัลส์
4. ชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตกลุ่ม Nematode ในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

การศึกษาระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*) ทำโดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ให้ปลาสดเป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ การทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต (โปรตีน 50 และ ไขมัน 14 เปอร์เซ็นต์) เป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ เลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนธันวาคม 2562 เป็นระยะเวลา 1 ปี ทำการวัดปริมาณไวเทลโลจีนินทุกเดือน ผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 1 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนมีนาคม, กันยายน, ตุลาคม และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนเมษายน, พฤษภาคม, กรกฎาคม และ สิงหาคม ($P<0.05$) ส่วนผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, พฤษภาคม, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 2 ในเดือนมีนาคม, สิงหาคม, ตุลาคม, และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 ในเดือนเมษายน และ กรกฎาคม ($P<0.05$) ผลการศึกษาระดับไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารที่ต่างกันต่อความสมบูรณ์เพศและแยกเพศจากการทดลองที่ 1 พบว่าปลากะรังจุด

ฟ้าตัวที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมีย และปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงและน้ำหนักมากกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้ ส่วนการทดลองที่ 2 พบว่าปลากะรังจุดฟ้าที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมีย และปลากะรังจุดฟ้าที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงและน้ำหนักมากกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้

การศึกษาระดับกรดไขมัน DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3) ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และ AA (arachidonic acid, 20:4n-6) ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงในระบบหมุนเวียน เป็นระยะเวลา 6 เดือน แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าด้วยอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง พบว่า แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นและสุดท้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่า 2.11±0.49-2.48±0.08 และ 2.25±0.55-2.85±0.43 กิโลกรัม อัตรารอดเฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารต่างกัน 3 ชนิด พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 94.44 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีไข่ นอกจากนี้แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่ (336.999±156381.64 พันฟอง) เปอร์เซ็นต์ไข่ดี (80.24±8.72 เปอร์เซ็นต์) และอัตราฟักของลูกปลา (82.13±3.45 เปอร์เซ็นต์) สูงที่สุด รองลงมา คือ แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การทดลองที่ 2 การเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าด้วยอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ และปลา ข้างเหลือง พบว่าพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นและสุดท้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่า 3.25±0.10-3.30±0.25 และ 3.68±0.20±3.89±0.18 กิโลกรัม อัตรารอดเฉลี่ยของพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารต่างกัน 3 ชนิด พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) และพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อ นอกจากนี้พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (6.38±1.15 เซลล์ $X10^9$/มิลลิลิตร) และการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม (96.43±4.10 เปอร์เซ็นต์) สูงที่สุด รองลงมา คือ พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จากการทดลองที่ 1 สรุปได้ว่าอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เป็นอาหารแม่พันธุ์แทนปลาข้างเหลืองได้ โดยอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า เนื่องจากให้จำนวนแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีไข่มาก จำนวนไข่ เปอร์เซ็นต์ไข่ดี และอัตราฟักสูงที่สุด การทดลองที่ 2 สรุปได้ว่าอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เป็นอาหารพ่อพันธุ์แทนปลาข้างเหลืองได้ โดยอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า เนื่องจากให้จำนวนพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อมาก ความเข้มข้นของน้ำเชื้อและการเคลื่อนที่ของสเปิร์มสูงที่สุด

การศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าพัลส์แบบฉับพลันรูปทรงสี่เหลี่ยมเพื่อกระตุ้นให้ผนังเซลล์ไข่ปลาเปิดขยายรูแล้วนำพาสารฮอร์โมนเพศเข้าสู่ภายในเซลล์ไข่ปลาด้วยแรงดันทางไฟฟ้าเพื่อแปลงเพศเป็นเพศผู้โดยเหนี่ยวนำด้วย

สนามไฟฟ้าความเข้ม 0.25-87.50 kV/m กำเนิดจากขั้วไฟฟ้าแบบแผ่นแคบคู่ขนานความจุไข่ปลา 12,000 ฟอง สารละลายมีส่วนผสมของฮอร์โมนเพศผู้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการทดลองโดยการปรับจำนวนพัลส์คลื่นสี่เหลี่ยม ระยะเวลาพัลส์ และอัตราส่วนช่วงระยะเวลาสัญญาณขาบวกและศูนย์จนได้สัญญาณที่เสถียรและเหมาะสม ผลการทดสอบนำร่องกับไข่ปลาช่อนทะเลใช้พัลส์คลื่นสี่เหลี่ยมจำนวน 3 ลูก ในระยะเวลา 50 ไมโครวินาทีที่มีอัตราส่วน 2: 1 ขนาดแรงดัน 350-420 VDC พบว่าชุดแอมพลิจูด 350 VDC ที่มีส่วนผสมของสารละลาย MT ช่วง 1,500-50,000 ไมโครกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเพศไข่ปลาให้ขยายรูเปิดกว้างมากกว่า 1.5 เท่า อัตราแรกฟัก (Hatching) 35.71±1.81-89.28±1.17 % (n=700) และอัตรารอดตาย (Survival rate) 45.20±1.71% การทดลองประสบผลสำเร็จที่ความหนาแน่นไข่ปลาช่วง 700-1,000 ฟอง/10 มิลลิลิตร และสำหรับชุดปลากะรังจุดฟ้าถูกเหนี่ยวนำด้วยพัลส์คลื่นช่วง 5-50 ไมโครวินาที ด้วยขนาดแรงดัน 350-500 VDC (เทียบเท่าความเข้มสนามไฟฟ้า 87.5-125.0 kV/m) จำนวนพัลส์คลื่นสี่เหลี่ยม 3 ลูก ด้วยความเข้มข้นสารฮอร์โมนเพศ 5,000 µg/l ตามลำดับ ผู้วิจัยได้ดำเนินกิจกรรมงานวิจัยตามแผนงานโดยมีผลงานที่สำเร็จตามระยะเวลาได้แก่ (1) พัฒนาชุดอุปกรณ์แปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน 17**α**-methyltestosterone (MT) เข้าสู่เซลล์ไข่ปลาขนาดจุ 12,000 ฟอง/ครั้ง ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 1 ชุด (2) พัฒนากระบวนวิธีต้นแบบการแปลงเพศไข่ปลาน้ำเค็มขนาดเทียบเท่าไข่ปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้ โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน MTเข้าสู่เซลล์ไข่ระดับห้องปฏิบัติการ (3) พัฒนาชุดอุปกรณ์ต้นแบบแปลงเพศไข่ปลาน้ำเค็มขนาดเทียบเท่าไข่ปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้ โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน 17**α**-methyltestosterone (MT) เข้าสู่เซลล์ไข่ขนาดจุ 12,000 ฟอง/ครั้ง ชุดต้นแบบระดับภาคสนามจำนวน 1 ชุด และ (4) ได้กระบวนวิธีการแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน MTเข้าสู่เซลล์ไข่ (คู่มือ Manual) ระดับภาคสนามตามลำดับ

การศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตกลุ่มNematode ในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากระรังจุดฟ้า เก็บตัวอย่างปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าจากแหล่งจับในทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จุดเก็บตัวอย่าง จ.ภูเก็ต(ท่าเรือรัษฎา) จ.พังงา(ท่าเรือทับละมุ) จ.กระบี่(ท่าเรือคลองม่วง) และ จ.ตรัง (ท่าเรือกันตัง) ในช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) ฤดูร้อน (ก.พ.61- พ.ค. 61) และฤดูฝน (มิ.ย.61- ก.ย.61) โดยเก็บแยกตามชนิดของปลาเป็ด 3 ชนิด คือปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง ทุกเดือนๆ ละ 30 ตัว จากการตรวจวินิจฉัยพบปรสิตกลุ่มนีมาโทดแพร่กระจายอยู่ในอวัยวะต่าง ๆ ในช่องท้องของปลา บริเวณ ตับ รังไข่ กระเพาะ และลำไส้ ในช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุดในปลาทูแขก จาก จ.ภูเก็ต รองลงมาเป็น จ.พังงา จ.กระบี่ และจ.ตรัง มีค่าเท่ากับ 97.78 % , 66.67%, 28.33% และ6.67% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 44.83 % 41.81%, 26.47 และ75.0% ตามลำดับ ในช่วงฤดูร้อน(ก.พ.61- พ.ค. 61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุดในปลาทูแขก จาก จ.ภูเก็ต รองลงมาเป็นจ.ตรัง จ.กระบี่ และจ.พังงา มีค่าเท่ากับ 40.83 % , 33.33%, 25.00% และ17.50% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 41.29 % ,27.86%,32.62 และ29.63% ตามลำดับ ในช่วงฤดูฝน (มิ.ย.61- ก.ย.61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมาก

ที่สุดในปลาทูลัง จากจ.กระบี่ จ.พังงา จ.ตรัง และจ.ภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 26.67 % , 20.41 %, 10.00 % และ 3.33% ตามลำดับ และตำแหน่ง ที่พบพยาธิสูงสุดคือ ลำไส้มีค่าเท่ากับ 100% ,89.40%, 88.89% และ 66.67% ในจังหวัดกระบี่ จังหวัดพังงา จังหวัดตรัง และจังหวัดภูเก็ต ตามลำดับ จากการเก็บตัวอย่างปลาเป็ดทั้ง 3 ชนิด ไม่พบปรสิตในปลาข้างเหลืองในทุกแหล่งเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูหนาว ส่วนในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนพบปรสิตในแหล่งจับจากจ.กระบี่ ความชุก 1% และ 1.67 %ตามลำดับ ส่วนในปลาทูลังและปลาทูแขก มีความเสี่ยงในการติดเชื้อปรสิตทุกช่วงฤดูกาลและทุกแหล่งเก็บตัวอย่าง ปรสิตที่พบจะอยู่ในช่องท้องและในอวัยวะภายใน ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อปรสิตควรนำเครื่องในออกและล้างทำความสะอาดก่อนนำไปให้เป็นอาหารของพ่อแม่พันธุ์ปลา สรุปได้ว่าการกระจายของปรสิตนีมาโทดในอวัยวะภายใน รวมทั้งอัตราความชุกของการติดเชื้อปรสิตในปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากระรังจุดฟ้า ซึ่งจะนำไปใช้เป็นข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา เพื่อดำเนินการหาแนวทางควบคุมและป้องกันการติดเชื้อปรสิตในกลุ่มนี้ต่อไป

องค์ความรู้ที่มีอยู่เดิมและข้อมูลที่ได้จากผลงานวิจัยในโครงการฯนี้ ทำให้ได้ต้นแบบการใช้อาหารเม็ดเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าแทนการใช้ปลาสด การคาดคะเนเพศของปลากะรังจุดฟ้า ช่วงเดือนที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์และระยะเวลาที่ที่เหมาะสมที่ควรให้อาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และการแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าเป็นเพศผู้ด้วย MT โดยเทคนิคสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ นอกจากนี้ได้ข้อมูลเรื่องปรสิตในปลาสดที่มีการปนเปื้อนในช่วงเดือนต่างๆ เพื่อวางแผนการใช้ปลาสดในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*)

พิชญา ชัยนาค[1] วิทยา รัตนะ[1] จุไรพร อบเทียน[1] วารินทร์ ธนาสมหวัง[2]
[1] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต)
[2] กรมประมง

บทคัดย่อ

การศึกษาระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*) ทำโดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ให้ปลาสดเป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ การทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต (โปรตีน 50 และ ไขมัน 14 เปอร์เซ็นต์) เป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ เลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนธันวาคม 2562 เป็นระยะเวลา 1 ปี ทำการวัดปริมาณไวเทลโลจีนินทุกเดือน ผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 1 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนมีนาคม, กันยายน, ตุลาคม และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนเมษายน, พฤษภาคม, กรกฎาคม และ สิงหาคม ($P<0.05$) ส่วนผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, พฤษภาคม, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 2 ในเดือนมีนาคม, สิงหาคม, ตุลาคม, และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 ในเดือนเมษายน และ กรกฎาคม ($P<0.05$) ผลการศึกษาระดับไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารที่ต่างกันต่อความสมบูรณ์เพศและแยกเพศจากการทดลองที่ 1 พบว่าปลากะรังจุดฟ้าตัวที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมีย และปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงและน้ำหนักมากกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้ ส่วนการทดลองที่ 2 พบว่าปลากะรังจุดฟ้าที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมีย และปลากะรังจุดฟ้าที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงและน้ำหนักมากกว่าเมื่อตรวจสอบพบว่ามีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้

คำสำคัญ: ปลากะรังจุดฟ้า *Plectropomus leopardus*, ระดับไวเทลโลจีนิน

คำนำ

ปลากะรังจุดฟ้า หรือ ปลากุดสลาด หรือ blue-spotted grouper (*Plectropomus leopardus*) เป็นปลาทะเลที่มีค่าทางเศรษฐกิจ มีราคาแพง แหล่งที่อยู่อาศัยของปลาชนิดนี้พบได้ในแถบฝั่งตะวันตกของแปซิฟิก ได้แก่ ประเทศไทย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซียและออสเตรเลีย พบอยู่ตามบริเวณแนวชายฝั่งจนถึงแนวปะการังที่มีระดับความลึกของน้ำ 5–50 เมตร (Heemstra and Randall, 1993) ลักษณะรูปร่างยาว ด้านข้างแบน ปากกว้างและเฉียงลง ครีบหางเว้าเล็กน้อย พื้นสีบนลำตัวเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพสิ่งแวดล้อม บางตัวมีสีออกน้ำตาลและมีรอยแต้มสีดำพาดขวาง บางตัวมีสีออกม่วงและบางตัวมีสีออกแดง แต่โดยปกติทั่วไปแล้วมีสีออกส้มหรือเหลืองส้มมีจุดสีฟ้าหรือน้ำเงินประตลาดตัว ลำตัวและครีบ เว้นครีบอกและครีบเอว (เธียร, 2512)

ไวเทลโลจีนิน (vitellogenin) คือ ไลโพไกลโคฟอสโฟโปรตีน (lipoglycophosphoprotein) ประกอบด้วยไขมัน โปรตีน และแป้ง พบในสัตว์กินเนื้อที่มีกระดูกสันหลัง (oviparous vertebrate) ขบวนการที่เกิดขึ้นในปลาเพื่อสังเคราะห์ไวทเลโลจีนิน (vitellogenin) ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนเอสตร้าไดออล ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้ตับสังเคราะห์ไวเทลโลจีนิน จากนั้นไวเทลโลจีนินจะถูกปล่อยออกจากตับเข้าสู่กระแสเลือด และไหลเวียนไปจนถึงรังไข่เข้าสู่เซลล์ไข่ (Hara and Hirai, 1978 : Wiley *et al*, 1979 : Chan *et al*., 1991) ซึ่งที่รังไข่จะมีขบวนการเปลี่ยนแปลงโยล์คโปรตีนเป็น 2 กลุ่ม คือ ไลโพไวเทลลิน (lipovitellin) และฟอสไวดิน (phosvitin) จะถูกเก็บสะสมไว้เป็นอาหารตัวอ่อนในเซลล์ไข่ (oocyte) (Bohemen *et al*., 1981 : Wallace, 1985 : Ng and Idler, 1983 : Tyler *et al*., 1988 ; Collum *et al*., 1986 : Sumpter and Campbell, 1991) ดังนั้นระยะที่ไข่สะสมอาหารไข่จึงมีการเจริญเติบโตโดยมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปริมาณไวเทลโลจีนินที่เก็บสะสมไว้เพิ่มมากขึ้นจะสังเกตเห็นลักษณะที่ปลามีท้องอูมได้จากภายนอก มีการศึกษาระดับไวเทลโลจีนินในพลาสมาของปลาหลายชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันตามการพัฒนาการสืบพันธุ์ในรอบปี เช่น ปลาแซลมอน (Benfey et al., 1989) ปลาเรนโบว์เทร้า (Campbell and Idler, 1980 : Copeland *et al*., 1986 and Sumpter, 1985) ปลาดุก อัฟริกัน (Pacoli *et al*., 1990) และปลากะรัง (เจนจิตต์, 2540) เมื่อใกล้ถึงฤดูวางไข่ รังไข่ของปลามีขนาดใหญ่ขึ้น โดยพบว่ารังไข่มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ในช่วงเวลาหลายเดือนก่อนวางไข่ ซึ่งสืบเนื่องมาจากไข่ปลามีการพัฒนาเจริญขึ้นในระยะและมีการสะสมอาหารไว้ภายในไข่ของปลาในรูปของโยล์ค (yolk) เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานสำหรับตัวอ่อน (embryo) ที่ใช้ในการเจริญเติบโตหลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว (Wiegand, 1982) ในไข่ปลา โดยทั่วไปมีความสำคัญแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาเป็นตัวอ่อน (embryogenesis) หลังจากได้รับการปฏิสนธิ และอีกส่วนที่เป็นแหล่งอาหารและลงงานสำหรับตัวอ่อน ซึ่งมีการสะสมอาหารไว้ภายในไข่ในรูปของโยล์ค โดยโยล์คมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนามาจากโปรตีนไวเทลโลจีนิน (Wallace, 1985)

วิธีการตรวจความสมบูรณ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาโดยทั่วไปทำได้โดยการสังเกตจากลักษณะภายนอกของปลา คือเมื่อแม่พันธุ์มีไข่แก่จะมีลักษณะท้องอูมและนิ่มกว่าปกติ ส่วนพ่อพันธุ์ปลาที่มีน้ำเชื้อดีจะสามารถรีดน้ำเชื้อออกมาได้ หรืออาจตรวจสอบโดยใช้ท่อโพลีแอธิลีนขนาดเล็กสอดเข้าไปในช่องเปิดอวัยวะเพศของปลาเพื่อดูดเอาไข่มาตรวจดูลักษณะและขนาด ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้สามารถตรวจความพร้อมของปลาก่อนวางไข่ผสมพันธุ์เพียงไม่กี่วัน

เท่านั้น การศึกษาหาเทคนิคอื่นที่จะช่วยบ่งชี้สภาวะความสมบูรณ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาได้เร็วยิ่งขึ้นจึงเป็นประโยชน์ต่อการเพาะและขยายพันธุ์โดยเฉพาะพ่อแม่พันธุ์ที่มีขนาดใหญ่และมีมูลค่าสูง

การศึกษาระดับไวเทลโลจีนินเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศและแยกเพศปลากะรังจุดฟ้าจะเป็นแนวทางในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์มูลค่าสูงที่พร้อมสำหรับการเพาะพันธุ์และการให้อาหารพ่อแม่พันธุ์มูลค่าสูงเพื่อให้มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะเพาะพันธุ์และได้ลูกปลาวัยอ่อนคุณภาพสูง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีของปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงด้วยปลาสดและอาหารเม็ด ศพช ภูเก็ต
2. เพื่อทราบอาหารสำหรับปลากะรังจุดฟ้าที่มีผลต่อความสมบูรณ์เพศและแยกเพศเพื่อทำเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการนำมาเพาะพันธุ์โดยการใช้ระดับไวเทลโลจีนินเป็นดรรชนีชี้วัด

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ให้ปลาสดเป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ การทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต (โปรตีน 50 และ ไขมัน 14 เปอร์เซ็นต์) เป็นอาหาร มี 10 ซ้ำ

การเตรียมปลากะรังจุดฟ้าและกระชังทดลอง

กระชังสำหรับเลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าเตรียมโดยมีขนาดกว้างxยาวxลึก เท่ากับ 3x3x1.5 เมตร และทำการรวบรวมปลากะรังจุดฟ้าจากธรรมชาติ จำนวน 20 ตัว ติดเครื่องหมายโดยใช้ไมโครชิพ มีรหัสเป็นตัวเลข ปลากะรังจุดฟ้าที่นำทดลองมีน้ำหนักเริ่มตั้งแต่ 2.0-2.2 กิโลกรัม

การเลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าทดลอง

ปลากะรังจุดฟ้าทดลองจำนวน 10 ตัว/กระชัง/การทดลอง (ปลาสด) และ 10 ตัว/กระชัง/การทดลอง (อาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต) เลี้ยงในกระชังบริเวณทะเลหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต) ให้อาหารวันละ 1 ครั้ง โดยให้กินจนอิ่ม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562

อาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต

ตารางที่ 1 วัตถุดิบสำหรับอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต (กรัม/100 กรัม)

วัตถุดิบ	กรัม
ปลาป่น (58-60%)	40
ตับปลาหมึกป่น	30.5
Krill meal	11
แป้งสาลี	7.75
น้ำมันปลา	5.5
วิตามินรวม[1]	1
แร่ธาตุรวม[2]	2
วิตามินซี (35%)	0.3
วิตามินอี (50%)	0.2
Calcium monophosphate	0.20
Choline Chloride (50%)	0.5
Asthaxantin	0.10
Taurine 95%	0.20
L-Lysine	0.50
Carboxyl methyl cellulose	0.1
บีทีเอส	0.05
โพรพิโอนิก	0.1

หมายเหตุ [1]วิตามินรวมประกอบด้วยวิตามินดังต่อไปนี้ในปริมาณมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร: Thiamine (B1) : Riboflavin (B2) : Pyridoxine HCl (B6) : Panthothenic acid (B5) : Niacin : Folic acid : Inositol : Cyanocobalamin (B12) : Biotin : AD3 (IU) : E (IU) : K3 - 0.05 : 0.1 : 0.07 : 0.167 : 0.67 : 0.03 : 133.33 : 0.40 : 0.4 : 8.3 : 0.33 : 0.167

[2]แร่ธาตุรวมประกอบด้วยแร่ธาตุดังต่อไปนี้ในปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร: $CoCl_2$: $CuSO_4$: $FeSO_4$: $MnSO_4$: $NaSeO_3$: $ZnSO_4$ -0.0125 : 0.13 : 1 : 0.5 : 0.0025 : 1

การเก็บข้อมูล

1. ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวปลากะรังจุดฟ้าทดลองทุกตัวเดือนละ 1 ครั้ง
2. เก็บตัวอย่างเลือดของปลากะรังจุดฟ้าทดลองทุกตัวเดือนละ 1 ครั้ง โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดบริเวณเหงือกปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เฮฟพารีน (Heparine) ป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัวนำไปปั่นตกตะกอน โดยใช้ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที ที่ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แยกพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าแต่ละตัว เก็บไว้ที่ –80 องศาเซลเซียส ภายใน 30 นาที เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณไวเทลโลจีนิน

การวิเคราะห์หาปริมาณไวเทลโลจีนิน

การวัดปริมาณไวเทลโลจีนิน ทำตามวิธีของ Grouper Vitellogenin (VGT) ELISA Kit (CUSABIO, USA) และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ปริมาณไวเทลโลจีนินอ่านได้จากกราฟมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอนแล้ว

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบแจกแจงทางเดียว (one way analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าในแต่ละเดือนของแต่ละการทดลองโดยวิธี Tukey's test

ผลการศึกษา

ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีของปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงด้วยปลาสดและอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต

ผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในแต่ละเดือนของปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 โดยปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 1 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนมีนาคม, กันยายน, ตุลาคม และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 ในเดือนเมษายน, พฤษภาคม, กรกฎาคม และ สิงหาคม ($P<0.05$) แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1

เดือน	ปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ย (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
มกราคม	14.332±17.88 [a]
กุมภาพันธ์	14.591±17.52 [a]
มีนาคม	11.534±13.80 [b]
เมษายน	3.663±3.70 [c]
พฤษภาคม	4.078±4.04 [c]
มิถุนายน	16.578±20.70[a]
กรกฎาคม	0.646±0.43 [c]
สิงหาคม	1.170±0.54 [c]
กันยายน	11.991±13.892 [b]
ตุลาคม	12.583±14.316 [b]
พฤศจิกายน	16.503±19.947 [a]
ธันวาคม	11.210±13.387 [b]

*ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

ในส่วนผลการศึกษาปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในแต่ละเดือนของปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 โดยปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 สูง ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, พฤษภาคม, มิถุนายน และ พฤศจิกายน แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าชุดการทดลองที่ 2 ในเดือนมีนาคม, สิงหาคม, ตุลาคม, และ ธันวาคม ทั้งนี้สูงกว่าปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ยในปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2 ในเดือนเมษายน และ กรกฎาคม ($P<0.05$) แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 2

เดือน	ปริมาณไวเทลโลจีนินเฉลี่ย (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
มกราคม	19.867±20.07 [a]
กุมภาพันธ์	20.110±20.47 [a]
มีนาคม	15.822±15.77 [b]
เมษายน	6.091±5.78 [c]
พฤษภาคม	19.483±19.47 [a]
มิถุนายน	20.874±21.23 [a]
กรกฎาคม	6.018±5.73 [c]
สิงหาคม	14.934±14.94 [b]
กันยายน	15.612±15.283 [b]
ตุลาคม	15.782±15.06 [b]
พฤศจิกายน	19.568±19.53 [a]
ธันวาคม	15.818±16.03 [b]

*ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

ระดับไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารที่ต่างกันต่อความสมบูรณ์เพศและแยกเพศ

จากการทดลองที่ 1 ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาสดเป็นอาหาร พบว่า ปลากะรังจุดฟ้าตัวที่ 1, 3, 6 และ 8 มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าปลากะรังจุดฟ้าตัวที่ 2, 4, 5 และ 7 และเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมียและมีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้ ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4

ในส่วนการทดลองที่ 2 ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต พบว่า ปลากะรัง จุดฟ้าตัวที่ 3, 6, 7, 8 และ 10 มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อยกว่าปลากะรังจุดฟ้าตัวที่ 1, 2, 4 และ 5 และเมื่อตรวจสอบพบว่ามีไข่จึงเป็นเพศเมียและมีน้ำเชื้อจึงเป็นเพศผู้ ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ปริมาณไวเทลโลจีนิน น้ำหนักและความยาวและเพศของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาสดเป็นอาหาร

ปลากะรังจุดฟ้าตัวที่	ปริมาณไวเทลโลจีนิน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ไข่/น้ำเชื้อ	เพศ
1	23.616±15.12	2.1-3.1	มีไข่	เมีย
2	1.245±0.48	2.2-3.6	มีน้ำเชื้อ	ผู้
3	23.989±14.51	2.1-3.2	มีไข่	เมีย
4	1.128±0.40	2.3-3.6	มีน้ำเชื้อ	ผู้
5	1.047±0.47	2.2-3.4	มีน้ำเชื้อ	ผู้
6	22.870±15.77	2.2-3.2	มีไข่	เมีย
7	1.049±0.66	2.2-3.4	มีน้ำเชื้อ	ผู้
8	22.687±14.16	2.2-3.2	มีไข่	เมีย
9	0.769±0.40	2.0-2.9	ไม่มีไข่หรือน้ำเชื้อ	-
10	0.931±0.54	2.1-2.9	ไม่มีไข่หรือน้ำเชื้อ	-

ตารางที่ 5 ปริมาณไวเทลโลจีนิน น้ำหนักและความยาวและเพศของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ด ศพช ภูเก็ตเป็นอาหาร

ปลากะรังจุดฟ้าตัวที่	ปริมาณไวเทลโลจีนิน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ไข่/น้ำเชื้อ	เพศ
1	0.733±0.60	2.1-3.3	มีน้ำเชื้อ	ผู้
2	1.049±0.42	2.0-3.4	มีน้ำเชื้อ	ผู้
3	31.420±9.83	2.1-3.0	มีไข่	เมีย
4	1.004±0.34	2.2-3.5	มีน้ำเชื้อ	ผู้
5	1.106±0.37	2.2-3.4	มีน้ำเชื้อ	ผู้
6	30.782±9.92	2.2-3.2	มีไข่	เมีย
7	30.479±11.05	2.0-3.0	มีไข่	เมีย
8	30.243±9.70	2.0-3.1	มีไข่	เมีย
9	0.649±0.49	2.1-2.9	ไม่มีไข่หรือน้ำเชื้อ	-
10	30.849±10.09	2.0-3.1	มีไข่	เมีย

จากการศึกษาปลาทดลองตัวที่ 9 และ 10 ของการทดลองที่ 1 และตัวที่ 9 ของการทดลองที่ 2 พบว่าปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงตลอดการศึกษาและไม่สามารถเก็บตัวอย่างของไข่หรือน้ำเชื้อได้ จึงไม่สามารถแยกเพศได้ (ตารางที่ 4 และ 5)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีของปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงด้วยปลาสดและอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าปริมาณไวเทลโลจีนินในปลากะรังจุดฟ้าที่ดีรับปลาสด และอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เป็นอาหาร มีปริมาณเปลี่ยนแปลงในแต่ละเดือน โดยมีค่าสูงในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, มิถุนายน และ พฤศจิกายน ในปลากะรังจุดฟ้าที่ดีรับปลาสดเป็นอาหาร ในเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, พฤษภาคม, มิถุนายน และ พฤศจิกายน ในปลากะรังจุดฟ้าที่ดีรับอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เป็นอาหาร แสดงว่าปลากะรังจุดฟ้าที่ดีรับอาหารเป็นปลาสดหรืออาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต มีการวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งในรอบปี ซึ่งเป็นช่วงฤดูการสืบพันธุ์ ช่วงเวลาจากการศึกษานี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของเรณู และคณะ (2547) ที่พบว่าปลากะรังจุดฟ้า *P. maculates* มีระดับไวเทลโลจีนินสูงในเดือนมกราคมและมิถุนายน เจนจิตต์ (2540) ที่พบว่าปลากะรังดอกแดง *Epinephelus malabraricus* เฉลี่ยแต่ละเดือนในรอบปีจะเริ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ และมีระดับไวเทลโลจีนินสูงในเดือนตุลาคม, พฤศจิกายน, ธันวาคม, มกราคม และ กุมภาพันธ์ ซึ่ง Tyler *et al*. (1988), Collum *et al*. (1986) และ Sumpter and Campbell (1991) รายงานว่าระยะที่ไข่สะสมอาหารไข่จึงมีการเจริญเติบโตโดยมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปริมาณไวเทลโลจีนินที่เก็บสะสมไว้เพิ่มมากขึ้นในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีการสืบพันธุ์ของปลากะรังจุดฟ้า *P. leopardus* ชนิดนี้ มีรูปแบบสอดคล้องเช่นเดียวกับค่าดรรชนีของรังไข่ปลาในช่วงฤดูการสืบพันธุ์ นอกจากนี้ปลากะรังจุดฟ้าที่ดีรับอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เป็นอาหาร มีช่วงการวางไข่เพิ่มอีก 1 เดือน อาจเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารเหมาะสมต่อความสมบูรณ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และปลาสดมีคุณภาพด้านคุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอในบางช่วงเวลา แสดงว่าอาหารมีผลต่อความสมบูรณ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาที่จะวางไข่ผสมพันธุ์

ระดับไวเทลโลจีนินของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารที่ต่างกันต่อความสมบูรณ์เพศและแยกเพศ

น้ำหนักปลากะรังจุดฟ้าที่ใช้ในการศึกษานี้อยู่ในช่วง 2.0-3.6 กิโลกรัม ที่สามารถเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ ซึ่งพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าอยู่ในช่วง 2 – 3 กิโลกรัม (ธวัช และคณะ, 2547)

ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาสดและอาหารเม็ดปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เป็นอาหาร ที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินสูงและน้ำหนักน้อย เมื่อตรวจสอบพบว่าเป็นเพศเมียและมีไข่ ส่วนปลากะรังจุดฟ้ามีปริมาณไวเทลโลจีนินต่ำและน้ำหนักมาก เมื่อตรวจสอบพบว่าเป็นเพศผู้และมีน้ำเชื้อ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน สอดคล้องกับการศึกษาของเรณู และคณะ (2547) ที่พบว่าปลากะรังจุดฟ้า *P. maculates* มีระดับไวเทลโลจีนินสูงสุด 50.000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เจนจิตต์ (2540) ที่พบว่าปลากะรังดอกแดง *E. malabraricus* มีระดับไวเทลโลจีนินสูงสุด 15.348 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และระดับไวเทลโลจีนินในเพศผู้ของปลากะรังดอกแดงมีระดับต่ำกว่าเพศเมียประมาณ 10 เท่า แสดงว่าระดับไวเทลโลจีนินสามารถนำไปใช้ในการแยกเพศของปลาได้โดยปลาเพศผู้จะมีปริมาณไวเทลโลจีนินต่ำหรือไม่พบเลย

ในส่วนของปลากะรังจุดฟ้าที่มีปริมาณไวเทลโลจีนินไม่สูงตลอดการศึกษาและไม่สามารถเก็บตัวอย่างของไข่หรือน้ำเชื้อได้ จึงไม่สามารถแยกเพศได้แต่เมื่อดูจากปริมาณไวเทลโลจีนินที่ไม่สูงตลอดการศึกษาและจาก

แนวทางที่ได้จากการศึกาที่พบว่าระดับไวเทลโลจีนินสามารถนำไปใช้ในการแยกเพศของปลาได้โดยปลาเพศผู้จะมีปริมาณไวเทลโลจีนินต่ำหรือไม่พบเลย ดังนั้นปลากะรังจุดฟ้าดังกล่าวเป็นเพศผู้แต่ที่ไม่สามารถตรวจพบน้ำเชื้ออาจเกิดจากปลายังไม่สมบูรณ์เพศเพื่อเป็นพ่อพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

เจนจิตต์ คงกำเนิด. 2540. ปริมาณไวเทลโลจีนินในรอบปีการสืบพันธุ์ของปลากะรัง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 2/2540. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 16 หน้า.

ธวัช ศรีวีระชัย, เรณู ยาชิโร และนิพนธ์ เสนอินทร์. 2547. การเพาะปลากะรังจุดฟ้า *Plectropomus Leopadus* โดยการให้ฮอร์โมนเพศผู้และให้แม่ปลาวางไข่ตามธรรมชาติในบ่อระบบปิด. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2547 สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดตราด กรมประมง. 22 หน้า.

เธียร บรรณโศภิฐ์. 2512. ปลากะรังในน่านน้ำไทย. สถานีวิจัยประมงทะเล กองสำรวจและค้นคว้า กรมประมง. 73 หน้า.

เรณู ยาชิโร, กฤษณา จันทร์แก้ว, ปัญญา อัศวางกูร, วุฒิ คุปตะวาทิน, นิพนธ์ เสนอินทร์ และ สุกัญญา วีระวัฒนะกุมพะ. 2547. ระดับไวเทลโลจีนินในรอบปีเพื่อบ่งชี้ความสมบูรณ์เพศปลากะรังจุดฟ้า *Plectropomus maculatus* (Bloch). ในการสัมมนาวิชาการประมง ประจำปี 2547ม กรมประมงม กรุงเทพฯ, 121-125.

Benfey, T.J., E.M. Donalson and T.G. Owen. 1989. An homologous radioimmunoassay for coho salmon (*Oncorhynchus kisutch)* vitellogenin, with general applicability to other pacific salmonids. *Gen. Comp. Endocrinol*. 75:78-82.

Boheman, C.G. van, Lambert K.G.D. and J. Peutz. 1981. Annual cycles in plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female rainbow trout, *Salmo graidneri*, *Gen. Comp. Endocrinol*. 44:94-107.

Campbell, C.M. and Idler, D.R. 1980. Characterization of an estradiol-protein from rainbow trout serum as vitellogenin by the composition and radioimmunological cross reactivity to ovarian yolk fraction. *Biol. Reprod*. 22: 605-617

Chan, S.L. Tan, C.H. Pang and T.J. Lam. 1991. Vitellogenin purification and development assay for vitellogenin receptor in oocyte membranes of the tilapia (*Oreochromis nilotica*). J. Exp. Zool. 257:96-107

Collum, K. Mc, D. Gregory, B. Williams and G. Taborsky. 1986. Phosvitin isolation from fish eggs: Methodological improvement including “specific” phosvitin precipitation with ferric ion. *Comp. Biochem. Physiol.* 84 B:151-157.

Copeland. P. A., J. P. Sumpter, T.K. Walker, and M. Croft. 1986. Vitellogenin levels in male and female rainbow (*Salmo gairdneri*, Richardson) at various stages of the reproductive cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 83: 487-493.

Hara, A. and Harai H. 1978. Comparative studies on immunochemical properties of female-specific serum protein and egg yolk proteins in rainbow (*Salmo gairdneri*) *Comp. Biochem. Physiol.* 59B: 339-343

Heemstra. P.C. and Randall, J.E. 1993. FAO species catalogue vol. 16. grouper of the world. FAO Fisheries Synopsis NO. 125 Volume 16. Rome. P.284-294.

Ng, T.B. and D.R. Idler. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fihes. **In**: W.S. Hoar, D.J. Randal and E.M. Donaldson (eds). Fish Physiology. Vol. 9. Academic Press, New York. Pp. 373-404

Pacoli, C.Q., J.M. Grizzle and J.T. Bradley. 1990. Seasonal levels of serum vitellogenin and oocyte growth in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture 90: 353-367.

Sumpter, J.P. 1985. The purification, radioimmunoassay and plasma levels of vitellogenin from the rainbow trout, *Salmo gairdneri.* In *Current Trends in comparative endrocrinology*. Lofts, B. and Holmes, W.N. (eds). Hong kong University Press, Hong Kong. pp. 355-357.

Sumpter, J.P. and P.M. Campbell. 1991. Uptake of vitellogenin into oocytes during early vitellogenic development in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish. Biol. 38: 681-689.

Tyler, C., J.T. Sumpter and N.R. Bromage. 1988. In vivo ovarian uptake and processing of vitellogenin in the rainbow trout, (*Salmo gairdneri). J. Exp. Zool.* 246: 171-179.

Wallace. R.A. 1985. Vitellogenesis and oocyte growth in non-mammalian vertebrate. In: L.W. Bouder (ed). Development biology. Plenum Publishing New York. pp. 127-177.

Wiegand, M.D. and D.R. Idler. 1982. Synthesis of [lipids by the rainbow trout (*Salmo gairdneri)* ovary in vitro. *Can. J. Zool*. 60: 2683:2693.

Wiley, H.S., L. Opersko and R.A. Wallace. 1979. New methods for the purification of vertebrate vitellogenin. Anal. Biochem. 97: 145-152.

การศึกษาระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*)

พิชญา ชัยนาค[1] วิทยา รัตนะ[1] จุไรพร อบเทียน[1] วารินทร์ ธนาสมหวัง[2]
[1] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต)
[2] กรมประมง

บทคัดย่อ

การศึกษาระดับกรดไขมัน DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3) ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และ AA (arachidonic acid, 20:4n-6) ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงในระบบหมุนเวียน เป็นระยะเวลา 6 เดือน แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าด้วยอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง พบว่า แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นและสุดท้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) มีค่า 2.11±0.49-2.48±0.08 และ 2.25±0.55-2.85±0.43 กิโลกรัม อัตรารอดเฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารต่างกัน 3 ชนิด พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 94.44 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) และพบว่าแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีไข่ นอกจากนี้แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่ (336.999±156381.64 พันฟอง) เปอร์เซ็นต์ไข่ดี (80.24±8.72 เปอร์เซ็นต์) และอัตราฟักของลูกปลา (82.13±3.45 เปอร์เซ็นต์) สูงที่สุด รองลงมา คือ แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การทดลองที่ 2 การเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าด้วยอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ และปลา ข้างเหลือง พบว่าพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นและสุดท้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) มีค่า 3.25±0.10-3.30±0.25 และ 3.68±0.20±3.89±0.18 กิโลกรัม อัตรารอดเฉลี่ยของพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารต่างกัน 3 ชนิด พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) และพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อ นอกจากนี้พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (6.38±1.15 เซลล์ $X10^9$/มิลลิลิตร) และการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม (96.43±4.10 เปอร์เซ็นต์) สูงที่สุด รองลงมา คือ พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

คำสำคัญ : กรดไขมัน, docosahexaenoic acid, arachidonic acid, ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*)

คำนำ

ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus leopardus*, Lacepede 1802) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า blue-spotted coral trout ชื่อสามัญที่รู้จักกันดีในประเทศไทย คือ ปลากุดสลาด หรือ ปลาย่ำสวาทอยู่ในครอบครัว Serranidae เป็นปลาประเภทกินเนื้อหรือกินสัตว์อื่นเป็นอาหาร เช่น กุ้ง หมึก และสัตว์น้ำขนาดเล็ก อาศัยอยู่แนวปะการังของเขตอินโดแปซิฟิก (Heemstra and Randall, 1993) ประเทศไทยพบแพร่กระจายในจังหวัดที่อยู่บริเวณชายทะเลทั้งฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน มีการเลี้ยงกันบ้างในจังหวัดภาคตะวันออกตั้งแต่จังหวัดระยอง จันทบุรี และตราด ภาคใต้มีการเลี้ยงตามเกาะและชายทะเลในจังหวัดกระบี่ สตูล ตรัง และภูเก็ต ปลากะรังจุดฟ้าเป็นปลาที่มีเนื้อขาว มีรสชาติดี เป็นที่นิยมของผู้บริโภค มีราคาแพง ปลาขนาด 800-1,200 กรัม ราคาขาย 800-1,200 บาท/กิโลกรัม และในต่างประเทศกิโลกรัมละ 2,000-3,000 บาท ด้วยความนิยมที่เพิ่มมากขึ้นโดยการส่งออกในลักษณะปลามีชีวิตไปยังประเทศต่างๆ เช่น จีน สิงคโปร์ ฮ่องกง ไต้หวัน และมาเลเซีย จึงเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยและประเทศเพื่อนบ้าน เช่น อินโดนีเซียและ จากความต้องการบริโภคปลากะรังเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผลผลิตปลากะรังจุดฟ้าจากทะเลเพียงแหล่งเดียวไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดนี้ในเชิงพาณิชย์จึงได้รับความสนใจอย่างมากทั้งจากภาครัฐ และภาคเอกชน

อาหารมีความสำคัญต่อปลาพ่อแม่พันธุ์เป็นอย่างยิ่ง มีผลโดยตรงต่อการพัฒนาความสมบูรณ์ของรังไข่ ความต้องการสารอาหารของปลาพ่อแม่พันธุ์แตกต่างจากอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาวัยอ่อนหรือปลาโตเต็มวัย คือ พ่อแม่พันธุ์ต้องการโภชนาการอาหารสูงกว่าเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ สุพิศ (2551) สารอาหารที่สำคัญและจำเป็นสำหรับการพัฒนาปริมาณและคุณภาพไข่ในปลาแม่พันธุ์ คือ กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3) เป็นกรดไขมันที่สำคัญในไข่ของปลาส่วนใหญ่และกรดไขมันนี้มีอิทธิพลต่อการเจริญพันธุ์อย่างชัดเจน เช่น DHA มีมากในเรตินาและสมอง มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการรักษาโครงสร้างและหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ของเนื้อเยื่อเหล่านี้ (Bell *et al*., 1995) ถ้าขาดจะส่งให้อัตราการฟักและอตรารอดของลูกปลาเนื่องจากโภชนาการตัวอ่อนปลาเป็นไม่เพียงพอปลาตัวอ่อนมีแนวโน้มที่จะมีระบบประสาท และการมองเห็นบกพร่อง การพัฒนาที่ผิดปกติของสรีรวิทยา (Sargent *et al*., 1999) ส่วนสารอาหารที่สำคัญและจำเป็นสำหรับการพัฒนาปริมาณและคุณภาพน้ำเชื้อในปลาพ่อพันธุ์ คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty) กลุ่มโอเมก้า 6 AA (arachidonic acid, 20:4n-6) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ prostaglandin 2 (PGE2) ที่ในปลากระดูกแข็งเป็น pheromones (Sargent *et al*., 1995; Sorbera *et al*., 1998)

การศึกษานี้จึงมุ่งพัฒนาอาหารเม็ดที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าให้มีน้ำเชื้อ และแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าให้มีไข่ที่ปริมาณและคุณภาพดี เพื่อให้สามารถเพาะพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้จำนวนมากและสม่ำเสมอ

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบระดับกรดไขมัน DHA ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และ AA ที่เหมาะสมในอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ **การทดลองที่ 1 อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA** แบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 ให้ปลาข้างเหลือง

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA แบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 ให้ปลาข้างเหลือง

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์

2. การเตรียมอาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต

อาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต มี 2 สูตร ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารตามตารางที่ 1 การผลิตอาหารเริ่มจากผสมวัตถุดิบอาหารแห้งให้เข้ากันจากนั้นผสมวัตถุดิบที่เป็นน้ำให้เข้ากันอีกครั้ง จึงเติมน้ำประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบอาหารทั้งหมด ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นขนาดรูเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร อบอาหารเม็ดในตู้อบอาหารที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง นำอาหารเม็ดใส่ถุงพลาสติกและเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตลอดการทดลอง

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีนด้วยเครื่อง Truspec CN Carbon/Determination (LECO) ไขมันด้วยเครื่อง Fat Extraction TFE2000 (LECO) เถ้า ความชื้น และเยื่อใยตามวิธีการของ AOAC (2005) ในอาหารทดลอง วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) ในอาหารทดลอง แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 1 วัตถุดิบสำหรับอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต (กรัม/100 กรัม)

วัตถุดิบอาหาร	พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า		แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า	
	AA 1.75%	AA 3.50%	DHA 1%	DHA 2%
ปลาป่น (58-60%)	40	40	40	40
ตับปลาหมึกป่น	30.5	30.5	30.5	30.5
Krill meal	11	11	11	11
AA	1.75	3.50	-	-
DHA	-	-	1	2
แป้งสาลี	5	3.25	6.9	5.9
น้ำมันปลา	5.5	5.5	5.5	5.5
วิตามินรวม	1	1	1	1
แร่ธาตุรวม	2	2	2	2
วิตามินซี (35%)	0.3	0.3	0.15	0.15
วิตามินอี (50%)	0.2	0.2	0.2	0.2
Mineral Chelated	1	1	-	-
Calcium monophosphate	0.20	0.20	0.20	0.20
Choline Chloride (50%)	0.5	0.5	0.5	0.5
Asthaxantin	0.10	0.10	0.10	0.10
Taurine 95%	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Lysine	0.50	0.50	0.50	0.50
Carboxyl methyl cellulose	0.1	0.1	0.1	0.1
บีทีเอส	0.05	0.05	0.05	0.05
โพรพิโอนิก	0.1	0.1	0.1	0.1

หมายเหตุ [1]วิตามินรวมประกอบด้วยวิตามินดังต่อไปนี้ในปริมาณมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร: Thiamine (B1) : Riboflavin (B2) : Pyridoxine HCl (B6) : Panthothenic acid (B5) : Niacin : Folic acid : Inositol : Cyanocobalamin (B12) : Biotin : AD3 (IU) : E (IU) : K3 - 0.05 : 0.1 : 0.07 : 0.167 : 0.67 : 0.03 : 133.33 : 0.40 : 0.4 : 8.3 : 0.33 : 0.167

[2]แร่ธาตุรวมประกอบด้วยแร่ธาตุดังต่อไปนี้ในปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร: $CoCl_2$: $CuSO_4$: $FeSO_4$: $MnSO_4$: $NaSeO_3$: $ZnSO_4$ - 0.0125 :

0.13 : 1 : 0.5 : 0.0025 : 1

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบของอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต และปลาข้างเหลือง

อาหารสูตร	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
		โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	คาร์โบไฮเดรต
AA1.75%	8.14	55.47	16.24	14.50	1.09	12.70
AA3.50%	8.37	55.43	16.25	14.53	1.09	12.71
DHA1%	8.44	55.09	16.87	14.55	1.10	12.38
DHA2%	8.52	55.58	16.43	14.56	1.10	12.33
ปลาข้างเหลือง	72.5	58.18	9.09	7.71	0.04	24.58

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันของอาหารเม็ดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต และปลาข้างเหลือง

กรดไขมัน (มิลลิกรัม/กรัม)	พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า		แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า		ปลาข้างเหลือง
	AA 1.75%	AA 3.50%	DHA 1%	DHA 2%	
C20:4n-6 (AA)	2.93	4.83	1.33	1.65	0.91
C22:6n-3 (DHA)	12.75	12.98	14.92	16.14	11.85

3. การเตรียมพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

พ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า (ก่อนวัยเจริญพันธุ์) เตรียมโดยให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปปลาทะเลเป็นระยะเวลา 1 เดือน จากนั้นคัดแยกขนาดปลาโดยปลาแม่พันธุ์มีน้ำหนักประมาณ 2.0 กิโลกรัม ปลาพ่อพันธุ์มีน้ำหนักประมาณ 3.0 กิโลกรัม

4. การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าเลี้ยงด้วยปลาข้างเหลืองและด้วยอาหารเม็ดที่มีระดับกรดไขมัน DHA 1.0 และ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าเลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารเม็ดที่มีระดับกรดไขมัน AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร โดยให้อาหารประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว 1 ครั้ง/วัน เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในบ่อคอนกรีตในโรงเพาะฟัก ระบบน้ำที่ใช้เป็นแบบปิดที่มีระบบกรองน้ำแบบชีวภาพด้วยเครื่องโปรตีนสกิมเมอร์ เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน

5. การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลดังนี้

5.1 การเจริญเติบโต โดยทำการชั่งน้ำหนักของปลากะรังจุดฟ้าทุกเดือน

5.2 อัตรารอดของปลากะรังจุดฟ้า โดยถ้ามีปลากะรังจุดฟ้าตายให้นับจำนวนทุกวัน

5.3 เก็บข้อมูลเมื่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีไข่และวางไข่

5.3.1 จำนวนปลากะรังจุดฟ้าที่มีไข่

5.3.2 จำนวนไข่ปลา สุ่มนับจำนวนไข่ปลาทั้งหมดในบ่อด้วยบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร สุ่มตักไข่ในบ่อ 3 จุด จุดละ 1 ครั้ง นับจำนวนไข่แต่ละครั้งแล้วคำนวณหาจำนวนไข่ทั้งหมด

5.3.3 เปอร์เซ็นต์ไข่ดี สุ่มไข่ปลาจำนวน 100 ฟอง นับจำนวนไข่ดี (fertilized egg) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไข่ดีตามสูตรดังนี้

เปอร์เซ็นต์ไข่ดี (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนไข่ดี/จำนวนไข่ทั้งหมด) x 100

5.3.4 อัตราฟักของไข่ โดยสุ่มไข่ปลามาฟักในกะละมังขนาด 5 ลิตร 3 ซ้ำ อัตราความหนาแน่น 100 ฟอง/ลิตร ให้อากาศเบาๆ ไข่จะฟักเป็นตัวในเวลา 16-18 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว คำนวณหาอัตราการฟักตามสูตรดังนี้

อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนลูกปลา/จำนวนไข่ทั้งหมด) x 100

5.4 เก็บข้อมูลเมื่อพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อ

5.4.1 จำนวนปลากะรังจุดฟ้าที่มีน้ำเชื้อ

5.4.2 ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ นับจำนวนสเปิร์มต่อหน่วยปริมาตร โดยเจือจางน้ำเชื้อสดด้วยน้ำเกลือ (NaCl 0.9 %) น้ำเชื้อต่อน้ำเกลือเท่ากับ 1 : 1,000, 1 : 1,500 และ 1 : 2,000 เขย่าและตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ตัวสเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่ ใช้ไมโครปิเปตดูดน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วเขย่าให้ทั่วอีกครั้ง นำน้ำเชื้อไปใส่สไลด์สำหรับนับเม็ดเลือดทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที แล้วนำมานับจำนวนเซลล์สเปิร์มภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X

5.4.3 การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม หยดน้ำทะเลปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ และหยดน้ำเชื้อปริมาตร 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วสังเกตการเคลื่อนที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X

6. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

วิเคราะห์คุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ ดังนี้ อุณหภูมิ (temperature; °C) ใช้เทอร์มิเตอร์แบบปรอท ความเค็ม (salinity; ppt) ใช้เครื่องวัดแบบหักเหแสง (refracto–salinometer) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใช้ pH meter ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen; mg/l) ใช้ DO meter ความเป็นด่าง (alkalinity; mg/l) ตามวิธีการของ (APHA, AWWA และ WPCF, 1980) ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia หรือ TAN; mg/l) และไนไตรท์-ไนโตรเจน (NO_2^--N; mg/l) ตามวิธีของ Strickland and Parson (1972)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบแจกแจงทางเดียว (One Way Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยน้ำหนัก จำนวนพ่อและแม่พันธุ์ที่เหลือรอด จำนวนไข่ทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ไข่ดี อัตราฟัก ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และ การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม โดยวิธี Tukey's Test

ผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA

การเจริญเติบโตและอัตรารอด

แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเหลืองและอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ามีน้ำหนักเฉลี่ย 2.25±0.55-2.85±0.43 กิโลกรัม ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4

อัตรารอดเฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเหลือง และอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ($P>0.05$) พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 94.44 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยและอัตรารอดของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาสดและอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย (กิโลกรัม)	2.31 ± 0.28^{a}	2.48 ± 0.08^{a}	2.11 ± 0.49^{a}
น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (กิโลกรัม)	2.85 ± 0.43^{a}	2.70 ± 0.05^{a}	2.25 ± 0.55^{a}
อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	94.44 ± 9.62^{a}	94.44 ± 9.62^{a}	94.44 ± 9.62^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

คุณภาพและปริมาณของไข่และลูกปลา

การทดลองให้แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารที่เป็นอาหารแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง พบแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีไข่ แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 จำนวนแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่มีไข่ที่ได้รับปลาสดและอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลา กะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลา กะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์
จำนวนแม่ปลาที่มีไข่ (ตัว/12 ตัว)	4	6	6

แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่เปอร์เซ็นต์ไข่ดีและอัตราฟักของลูกปลา สูงที่สุด รองลงมา คือ แม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณภาพและปริมาณไข่ของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาสดและอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์
จำนวนไข่ (เฉลี่ยพันฟอง)	158.749±56262.58^{c}	220.942±51716.44^{b}	336.999±156381.64^{a}
เปอร์เซ็นต์ไข่ดี (เปอร์เซ็นต์)	61.77±1.96^{c}	71.09±10.20^{b}	80.24±8.72^{a}
อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	62.29±10.83^{c}	73.81±2.17^{b}	82.13±3.45^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

การทดลองที่ 2 อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA

การเจริญเติบโตและอัตรารอด

พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเหลืองและอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ามีน้ำหนักเฉลี่ย 3.68±0.20-3.89±0.18 กิโลกรัม ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 7

อัตรารอดเฉลี่ยของพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเหลือง และอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 เดือน (P>0.05) พบว่ามีอัตรารอดเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 น้ำหนักเฉลี่ยและอัตรารอดของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาข้างเหลืองและอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย (กิโลกรัม)	3.27±0.18[a]	3.25±0.10[a]	3.30±0.25[a]
น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (กิโลกรัม)	3.75±0.30[a]	3.68±0.20[a]	3.89±0.18[a]
อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	100[a]	100[a]	100[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

การทดลองให้พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารที่เป็นปลาข้างเหลือง และอาหารเม็ดสำเร็จรูปพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าเสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ พบพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อ แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 จำนวนพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่มีน้ำเชื้อที่ได้รับปลาข้างเหลืองและอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์
จำนวนพ่อปลาที่มีน้ำเชื้อ (ตัว/6 ตัว)	4	5	6

คุณภาพและปริมาณของน้ำเชื้อ

การทดลองให้พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารที่เป็นที่ได้รับปลาข้างเหลือง และอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลา
กะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของน้ำเชื้อและการเคลื่อนที่ของสเปิร์มสูงที่สุด รองลงมา คือ พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 คุณภาพและปริมาณน้ำเชื้อของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาข้างเหลืองและอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA เป็นระยะเวลา 6 เดือน

	ปลาข้างเหลือง	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 เปอร์เซ็นต์	อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์
ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (เซลล์ $X10^9$/มิลลิลิตร)	2.61±1.89[c]	4.42±0.87[b]	6.38±1.15[a]
การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม (เปอร์เซ็นต์)	88.31±2.92[c]	92.39±1.20[b]	96.43±4.10[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

คุณภาพน้ำ

บ่อเลี้ยงปลาระบบหมุนเวียนชุดที่ 1, 2 และ 3 แต่ละชุดของบ่อเลี้ยงปลาระบบหมุนเวียนประกอบด้วยพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารต่างกันครบทุกแบบ คุณภาพน้ำทั้งสามชุดมีค่าดังนี้ คือ อุณหภูมิ 28.05-28.75 °C ความเค็ม 31 ppt pH 7.84-7.98 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 5.15-5.39 มิลลิกรัม/ลิตรความเป็นด่าง 105.58-107.88 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนีย 0.1362-0.1642 มิลลิกรัม/ลิตร และไนไตรท์ 0.0190-0.0199 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 คุณภาพน้ำที่เลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าการทดลองที่ 1 และ 2

คุณภาพน้ำ	บ่อเลี้ยงปลาระบบหมุนเวียนชุดที่		
	1	2	3
อุณหภูมิ[ns] (°C)	28.75±0.21	28.25±0.18	28.05±0.07
ความเค็ม[ns] (ppt)	31.00±1.41	31.00±0.1.41	31.00±0.1.41
pH[ns]	7.84±0.10	7.95±0.15	7.98±0.11
DO [ns] (mg/l)	5.15±0.14	5.35±0.12	5.39±0.72
Alk [ns] (mg/l)	107.88±12.82	105.58±8.95	106.50±12.25
TAN [ns] (mg/l)	0.1624±0.18	0.1394±0.08	0.1362±0.15
NO_2^--N [ns] (mg/l)	0.0190±0.01	0.0193±0.02	0.0199±0.01

*ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) [ns]ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตและอัตรารอดของพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

การเจริญเติบโตของปลาพ่อแม่พันธุ์กะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาข้างเหลือง (โปรตีน 58 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช เก็ต เสริม AA และ DHA เป็นระยะเวลา 6 เดือน (โปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) ไม่แตกต่างกันกัน เนื่องจากระดับโปรตีนของอาหารทุกประเภทเพียงพอต่อความต้องการของปลาเพื่อการเจริญเติบโต คือ 40-50 เปอร์เซ็นต์ (บุญชัย, 2541) และใกล้เคียงกับการศึกษาของ Luquet *et al.* (1986) พบว่าพ่อแม่พันธุ์ปลา red sea bream ต้องการโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ Wee and Tuan (1988) ได้ศึกษาผลของระดับโปรตีนต่อการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของปลานิล พบว่าระดับโปรตีน 27.5-35 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตแต่ไม่เพียงพอสำหรับการเจริญพันธุ์ (ความถี่ในการวางไข่ ขนาดของไข่ การผสมและฟักตัวของไข่) ต้องได้รับโปรตีน 42.5-50 เปอร์เซ็นต์

อัตรารอดเฉลี่ยของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเลือง และอาหารเม็ดสำเร็จรูปแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดเฉลี่ย 94.44 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุจากแม่ปลากะรังจุดฟ้าตาย เนื่องจากมีลักษณะผิดปกติทางพยาธิวิทยาที่ใกล้รังไข่ของแม่ปลาลักษณะเป็นลิ่มเลือดแข็งสีดำปนแดง สันนิษฐานว่าเกิดลักษณะผิดปกติทางพยาธิวิทยาขึ้นมาก่อนเป็นแม่พันธุ์โดยมีตายเมื่อเริ่มมีการสร้างไข่ และเกิดจากปรสิตเข้ามาในอวัยวะภายใน แต่อัตรารอดเฉลี่ยของพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับปลาข้างเลืองและอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจเป็นไปได้ว่าปรสิตนี้ส่งผลทางลบอาจเฉพาะแม่พันธุ์ในช่วงเวลาสืบพันธุ์

การทดลองที่ 1 อาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA

แม่พันธุ์พันธุ์กะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนไข่ เปอร์เซ็นต์ไข่ดี และอัตราฟัก มากกว่าแม่พันธุ์พันธุ์กะรังจุดฟ้าที่ได้รับอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 เปอร์เซ็นต์ และแม่พันธุ์พันธุ์กะรังจุดฟ้าที่ได้รับปลาข้างเหลือง เนื่องจาก DHA จะมีปริมาณสูงในไข่ปลาทะเล (Watanabe *et al*., 1993) และจากการวิเคราะห์พบว่าระดับของ DHA สูงกว่า EPA ในไข่ปลาทะเล (Watanabe *et al*., 1991a, 1991b) อาทิเช่น ปลา yellowtail มี DHA ในไข่ที่อยู่ในท้องแม่ปลา (Watanabe *et al*., 1995) ซึ่งข้อดีของ DHA คือเป็นพลังงานการเผาผลาญสำรองในระหว่างการพัฒนาของไข่ การฟักไข่และอัตรารอดของตัวอ่อน และสำคัญกว่า EPA (Blaxter, 1969; Watanabe *et al*. 1992) DHA ส่วนใหญ่เก็บรักษาและเปลี่ยนเป็น phosphatidylethanolamine (PE) ซึ่งสามารถรวมเข้าในเยื่อหุ้มของการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว (Ronnestad *et al*., 1995; Sargent, 1995) รวมถึงการรวมกันของกรดไขมันที่มีประสิทธิภาพของ DHA จากอาหารแม่พันธุ์เข้าไปในไข่ แสดงให้เห็นได้จากไข่ปลา yellowtail ที่ได้รับผลจากกรดไขมันที่มีอยู่ในอาหารพ่อแม่พันธุ์ และในปลา red seabream (Watanabe *et al*., 1991a, 1991b) สอดคล้องกับ Yanes-Roca *et al*. (2009) ที่รายงานว่าปลา common snook (*Centropomus undecimalis*) มีการปฏิสนธิสูง อัตราการฟักและตัวอ่อนสูงขึ้นเมื่อ DHA สูงขึ้น นอกจากนี้ DHA ในอาหารอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA

2 เปอร์เซ็นต์ มี DHA 16.14 (มิลลิกรัม/กรัม) ใกล้เคียงกับการศึกษาในพ่อแม่พันธุ์ปลา red seabream ที่ได้รับอาหารเม็ดที่มี DHA ประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา red seabream มีจำนวนไข่และอัตราฟักสูงกว่าอาหารเม็ดที่มี DHA ต่ำกว่า (Watanabe *et al*., 1982) แสดงให้เห็นว่าระดับที่สูงขึ้นของ DHA ที่มีอยู่ในฟอสโฟไลปิดในไข่จากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ DHA มากขึ้น ซึ่งช่วยเพิ่มคุณภาพและปริมาณไข่ของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า และเพียงพอที่จะทำให้มีจำนวนแม่พันธุ์พันธุ์กะรังจุดฟ้ามีไข่มาก จำนวนไข่ เปอร์เซ็นต์ไข่ดี และอัตราฟักสูงที่สุด

การทดลองที่ 2 อาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA

พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของน้ำเชื้อและการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม สูงที่สุด รองลงมา คือ พ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าได้รับอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA และ 1.75 เปอร์เซ็นต์ และปลาข้างเหลือง เนื่องจาก AA เป็นกรดไขมันที่มีมากในน้ำเชื้อของปลา Watanabe (Watanabe, 1982) และเป็นสารอาหารที่สำคัญและจำเป็นสำหรับการพัฒนาปริมาณและคุณภาพน้ำเชื้อในพ่อพันธุ์ (Sargent *et al.*, 1995) รวมถึงการรวมกันของกรดไขมันที่มีประสิทธิภาพของ AA จากอาหารพ่อพันธุ์เข้าไปในน้ำเชื้อ ที่ได้แสดงให้เห็นจากการกระจายตัวของกรดไขมันในตัวน้ำเชื้อของปลา rainbow trout ที่เป็นผลจากกรดไขมันของอาหารพ่อแม่พันธุ์ Labbe (1993) ซึ่งการลดระดับ AA ของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดเพื่อการพาณิชย์ที่มี AA น้อย แต่มี EPA มาก ส่งผลให้อัตราส่วน AA/EPA ที่ลดลงอย่างมากในสเปิร์มฟอสโฟลิปิดทำให้สมรรถภาพการสืบพันธุ์ของปลากะพงเพศผู้ลดลง (Bell *et al.*, 1996) สอดคล้องกับ Asturiano *et al*. (2001) ที่รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของ AA จะเพิ่มสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของพ่อพันธุ์ปลากะพงขาว European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) นอกจากนี้ DHA ในอาหารอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ มี AA 4.83 มิลลิกรัม/กรัม ใกล้เคียงกับการศึกษาในพ่อแม่พันธุ์ปลา red seabream ที่ได้รับอาหารเม็ดที่มี AA ประมาณ 4 มิลลิกรัม/กรัม (Watanabe *et al*., 1982) ทำให้ปลา red seabream มีเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นและช่วยให้มีอัตราฟักสูงกว่าอาหารเม็ดที่มี AA ต่ำกว่าแสดงให้เห็นว่าระดับที่สูงขึ้นของ AA ที่มีอยู่ในฟอสโฟไลปิดในน้ำเชื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ AA มากขึ้น ซึ่งช่วยเพิ่มคุณภาพและปริมาณน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าและเพียงพอที่จะทำให้มีจำนวนพ่อพันธุ์กะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อมาก เปอร์เซ็นต์ไข่ดี และอัตราฟักสูงที่สุด

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำตลอดการทดลองของการทดลองที่ 1 และ 2 มีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในเกณฑ์เหมาะสมกับการเลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ที่เหมาะสมของคุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง (คณิต และคณะ, 2537)

จากการทดลองที่ 1 สรุปได้ว่าอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เป็นอาหารแม่พันธุ์แทนปลาข้างเหลืองได้ โดยอาหารเม็ดแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม DHA 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า เนื่องจากให้จำนวนแม่พันธุ์ปลากะรัง

จุดฟ้ามีไข่มาก จำนวนไข่ เปอร์เซ็นต์ไข่ดี และอัตราฟักสูงที่สุด การทดลองที่ 2 สรุปได้ว่าอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 1.75 และ 3.50 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เป็นอาหารพ่อพันธุ์แทนปลาข้างเหลืองได้ โดยอาหารเม็ดพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ศพช ภูเก็ต เสริม AA 3.50 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า เนื่องจากให้จำนวนพ่อพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้ามีน้ำเชื้อมาก ความเข้มข้นของน้ำเชื้อและการเคลื่อนที่ของสเปิร์มสูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

บุญชัย กิจสัมฤทธิ์โรจ. 2541. หลักการใช้และให้อาหารปลากุ้ง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง.127 หน้า.

คณิต ไชยาคำ, สิริ ทุกข์วินาศ, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, พุทธ ส่องแสงจินดา และ ดุสิต ตันวิไล. 2537. คุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, สงขลา. 109 หน้า.

สุพิศ ทองรอด. 2551. อาหารพ่อแม่พันธุ์. สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง. แหล่งสืบค้น: http://www.fisheries.go.th/cs-trat/Blue/l.html, 3 มีนาคม 2556.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. Official Methods of Analysis. Association of AOAC INTERNATIONAL 18th edition. Maryland. 1,268 pp.

Blaxter, J.H.S. 1969. Development: Eggs and Larvae, in "Fish Physiolo gy" Vol. 3, (ed. by W. S. Hoar and D. J. Randall), Academic Press, New York. pp. 177-252.

Bidlingmeyer, B.A., S.A. Cohen, T.L. Tarvin, and B. Frost. 1987. A new rapid, high sensitivity analysis of amino acid in food type samples. *AOAC* 70(2): 241-247.

Bell, M.V., R.S. Batty, J.R. Dick, K. Fretwell, J.C. Navarro, J.R. Sargent. 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids*. 30, 443–449.

Bell, M.V., J.R. Dick, M. Thrush, J.C. Navarro. 1996. Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144:189-199.

Asturiano, J.F., L.A. Sorbera, M. Carillo, S. Zanuy, J. Ramos, J.C. Navarro and N. Bromage. 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed two PUFA enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194:173-190.

Heemstra, P. C. and Randall, J. E. 1993. FAO species catalogue Vol. 16. Grouper of the world. FAO Fisheries Synopsis NO. 125 Vol. 16, Rome. p. 284-294.

Luquet, P. and T. Watanabe. 1986. Interaction “nutrion-reproduction” in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 2:121-129.

Labbe, C., M. Loir, S. Kaushik and G. Maisse. 1993. The influence of both rearing temperature and dietary lipid origin on fatty acid composition of spermatozoan polar lipids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), in "Fish Nutrition in Practice" No. 61 (ed. byS. J. Kaushik and P. Luquet), INRA, Paris. pp. 49-59.

Strickland, J.D.H. and T.R. Parson. 1972. A pratical handbook of seawater analysis 2 nd ed. Fisheries Board of Canada. Ottawa, Canada. 311pp.

Sargent, R. H. and D.R. Tocher. 1989. The Lipid, in "Fish Nutrition" 2nd edition, (ed. by J. Halver), Academic Press, New York, 1989, pp. 153-217.

Sargent, J.R. 1995. Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science, Oxford, pp. 353–372.

Sargent, J.R., L. McEvoy, A. Estevez, J.G. Bell, M.V. Bell, J.R. Henderson and D.R. Tocher. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179. 217–229.

Wee, K. and N. Tuan. 1988. Effects of dietary protein level on growth and reproduction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). ICLARM Conference Proceedings, 15, p. 623

Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol*. 73B:3-15.

Watanabe, T., T. Arakawa, C. Kitajima, S. Fujita. 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*. 50: 495-501.

Watanabe, T., T. Fujimura, M-J. Lee, K. Fukusho, S. Satoh, and T. Takeuchi. 1991a. Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gak kaishi*. 57:695-698.

Watanabe, T., M-J. Lee, J. Mizutani, T. Yamada, S. Satoh, T. Takeuchi, N. Yoshida, T. Kitada, and T. Arakawa. 1991b. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of red sea bream *Pagrus major* eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57:681-694.

Watanabe, T. 1993. The importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacult. Soc.* 24:152-161.

Watanabe, T. and V, Kiron.1995. Red Sea Bream (*Pagrus major*), in "Broodstock Management and Egg and Larval Quality" (ed. by N. R. Bromage and R. J. Roberts), University Press, Cambridge, Great Britain. pp. 398-413.

Yanes-Roca, C., R. Nicole, N. Michae and L. Kevan. 2009. Main Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*) *Aquaculture* 287:335-340.

การแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าเป็นเพศผู้ด้วย MT โดยเทคนิคสนามไฟฟ้าแบบพัลส์

รองศาสตราจารย์ ดร. ศักย์ชิน บุญถวิล
คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ใช้สนามไฟฟ้าพัลส์แบบฉับพลันรูปทรงสี่เหลี่ยมเพื่อกระตุ้นให้ผนังเซลล์ไข่ปลาเปิดขยายรู แล้วนำพาสารฮอร์โมนเพศเข้าสู่ภายในเซลล์ไข่ปลาด้วยแรงดันทางไฟฟ้าเพื่อแปลงเพศเป็นเพศผู้โดยเหนี่ยวนำด้วยสนามไฟฟ้าความเข้ม 0.25-87.50 kV/m กำเนิดจากขั้วไฟฟ้าแบบแผ่นแคบคู่ขนานความจุไข่ปลา 12,000 ฟอง สารละลายมีส่วนผสมของฮอร์โมนเพศผู้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการทดลองโดยการปรับจำนวนพัลส์คลื่นสี่เหลี่ยม ระยะเวลาพัลส์ และอัตราส่วนช่วงระยะเวลาสัญญาณขาบวกและศูนย์จนได้สัญญาณที่เสถียรและเหมาะสม ผลการทดสอบนำร่องกับไข่ปลาช่อนทะเลใช้พัลส์คลื่นสี่เหลี่ยมจำนวน 3 ลูก ในระยะเวลา 50 ไมโครวินาทีที่มีอัตราส่วน 2: 1 ขนาดแรงดัน 350-420 VDC พบว่าชุดแอมพลิจูด 350 VDC ที่มีส่วนผสมของสารละลาย MT ช่วง 1,500-50,000 ไมโครกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเพศไข่ปลาให้ขยายรูเปิดกว้างมากกว่า 1.5 เท่า อัตราแรกฟัก (Hatching) 35.71±1.81-89.28±1.17 % (n=700) และอัตรารอดตาย (Survival rate) 45.20±1.71% การทดลองประสบผลสำเร็จที่ความหนาแน่นไข่ปลาช่วง 700-1,000 ฟอง/10 มิลลิลิตร และสำหรับชุดปลากะรังจุดฟ้าถูกเหนี่ยวนำด้วยพัลส์คลื่นช่วง 5-50 ไมโครวินาที ด้วยขนาดแรงดัน 350-500 VDC (เทียบเท่าความเข้มสนามไฟฟ้า 87.5-125.0 kV/m) จำนวนพัลส์คลื่นสี่เหลี่ยม 3 ลูก ด้วยความเข้มข้นสารฮอร์โมนเพศ 5,000 µg/l ตามลำดับ

ผู้วิจัยได้ดำเนินกิจกรรมงานวิจัยตามแผนงานโดยมีผลงานที่สำเร็จตามระยะเวลาได้แก่ (1) พัฒนาชุดอุปกรณ์แปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน 17**α**-methyltestosterone (MT) เข้าสู่เซลล์ไข่ปลาขนาดจุ 12,000 ฟอง/ครั้ง ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 1 ชุด (2) พัฒนากระบวนวิธีต้นแบบการแปลงเพศไข่ปลาน้ำเค็มขนาดเทียบเท่าไข่ปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน MTเข้าสู่เซลล์ไข่ระดับห้องปฏิบัติการ (3) พัฒนาชุดอุปกรณ์ต้นแบบแปลงเพศไข่ปลาน้ำเค็มขนาดเทียบเท่าไข่ปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน 17**α**-methyltestosterone (MT) เข้าสู่เซลล์ไข่ขนาดจุ 12,000 ฟอง/ครั้ง ชุดต้นแบบระดับภาคสนามจำนวน 1 ชุด และ (4) ได้กระบวนวิธีการแปลงเพศปลากะรังจุดฟ้าให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน MTเข้าสู่เซลล์ไข่ (คู่มือ Manual) ระดับภาคสนามตามลำดับ รายละเอียดผลงานวิจัย ณ ช่วงเวลาที่รายงานความก้าวหน้าตลอดโครงการเป็นดังนี้

<u>การจำลองข้อมูลแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อสร้างสภาวะการเปิดขยายรูที่ผิวเซลล์ไข่ปลา</u>

ผู้วิจัยได้พัฒนาแบบจำลองไฟฟ้าของไข่ปลาเพื่อจำลองข้อมูลสร้างสภาวะการเปิดขยายรูที่ผิวไข่ปลา ตามเงื่อนไขต่างๆ ได้แก่ ความต่างศักย์ไฟฟ้า คาบสัญญาณ (pulse duration) ช่วงสถานะเวลากระตุ้น ton /สถานะ

ศูนย์ toff จำนวนลูกคลื่นพัลส์ (pulse number) โดยพิจารณาจากผลการเปิดกว้างของรูที่เปลือกเซลล์ไข่ปลา ลักษณะรูเปิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรู และความหนาแน่นรู ตามลำดับ และศึกษาผลของสนามไฟฟ้าแบบพัลส์รูปคลื่นลดทอนค่าแบบฟังก์ชั่นเอ็กโพเนนเชียลตามเงื่อนไขต่างๆ ได้แก่ ความต่างศักย์ไฟฟ้า คาบสัญญาณ “pulse duration” ช่วงสถานะเวลากระตุ้นขณะคายตัว tdecay/สถานะศูนย์ toff จำนวนลูกคลื่นพัลส์ “pulse number” และพื้นที่ใต้กราฟของรูปสัญญาณที่สมมูลกับกรณีของรูปสัญญาณพัลส์สี่เหลี่ยม เพื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ที่ดีที่สุดต่อการขยายรูเปลือกไข่ โดยจำลองข้อมูลกับไข่ปลารูปทรงกลมและรีที่มีขนาดสัมพันธ์กับไข่ปลากะรังจุดฟ้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.837 $\pm$ 0.017 มิลลิเมตร ทั้งนี้ผลของการเปิดกว้างของรูที่ผิวเซลล์ไข่ปลาต่อรูปสัญญาณ ความสัมพันธ์ของความหนาแน่นรูใหม่และรูเก่าเดิมที่มีอยู่แล้วบนผิวเซลล์ มีความสอดคล้องกับกระบวนการกลับคืนสู่สภาพเดิมของรู (reversible electroporation) ระยะเวลาที่รูเปิดกว้างก่อนจะปิด (resealing “recovery time”) ผลกระทบจากอุณหภูมิที่เกิดจากการสูญเสียในรูปพลังงานความร้อนของสนามไฟฟ้าต่อลักษณะผิวเซลล์ไข่ปลาในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20-35 องศาเซลเซียส รวมถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพไข่ปลา

<u>การดำเนินการสอบเทียบผลการคำนวณค่าคงที่ทางไฟฟ้า</u>

ได้ทำการจำลองข้อมูลเชิงคณิตศาสตร์เพื่อสร้างสภาวะจำลองการเปิดขยายรูที่ผิวเซลล์ไข่ปลากะรังจุดฟ้าด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าในสนามไฟฟ้าแบบพัลส์สี่เหลี่ยม (transient square pulse) โดยใช้สนามไฟฟ้าพัลส์เงื่อนไขความต่างศักย์ไฟฟ้า คาบสัญญาณ (pulse duration) ช่วงสถานะเวลากระตุ้น ton และสถานะศูนย์ toff จำนวนลูกคลื่นพัลส์ (pulse number) โดยเทียบผลการเปิดกว้างของรูที่เปลือกเซลล์ไข่ปลาช่อนทะเลซึ่งมีขนาดไข่และรูปทรงที่คล้ายคลึงกัน ข้อมูลที่นำมาศึกษาได้แก่ ลักษณะรูเปิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรู และความหนาแน่นรูตามลำดับ ทำการศึกษาผลของสนามไฟฟ้าแบบพัลส์โดยจำลองข้อมูลกับไข่ปลารูปทรงรีที่มีขนาดสัมพันธ์กับไข่ปลากะรังจุดฟ้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.837 $\pm$ 0.017 มิลลิเมตร ทั้งนี้ผลของการเปิดกว้างของรูที่ผิวเซลล์ไข่ปลาต่อรูปสัญญาณ ความสัมพันธ์ของความหนาแน่นรูใหม่และรูเก่าเดิมที่มีอยู่แล้วบนผิวเซลล์ มีความสอดคล้องกับกระบวนการกลับคืนสู่สภาพเดิมของรู (reversible electroporation) ระยะเวลาที่รูเปิดกว้างก่อนจะปิด (resealing “recovery time”) ผลกระทบจากอุณหภูมิที่เกิดจากการสูญเสียในรูปพลังงานความร้อนของสนามไฟฟ้าต่อลักษณะผิวเซลล์ไข่ปลาในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20-35 องศาเซลเซียส รวมถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพไข่ปลา ผลการคำนวณสอบเทียบค่าคงที่เป็นดังนี้ ในกรณีเลือกใช้ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของแต่ละช่อง 350 V และระยะห่างระหว่างขั้วไฟฟ้าแบบแผ่นคู่ขนาน 4 mm ความเข้มสนามไฟฟ้ามีค่าประมาณ $E_{ext} = 87.5\mathrm{kV.m^{-1}}$ ทั้งนี้ศักย์ไฟฟ้าเหนี่ยวนำที่ผิวไข่ปลาจะถูกลดทอนให้มีค่าน้อยกว่าศักย์ไฟฟ้าจากต้นกำเนิดขั้วไฟฟ้า ดังนั้นในการทดลองจึงได้ทำการชดเชยโดยเพิ่มค่าศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวให้เหมาะสมที่สุดโดยเปรียบเทียบกับผลการขยายรูที่ผิวเซลล์ไข่ปลาช่อนทะเลโดยคำนวณค่าศักย์ไฟฟ้าเหนี่ยวนำที่ผิวไข่ปลาเพื่อกระตุ้นให้เกิดการขยายรูโดยอาศัยสมบัติไฟฟ้าของไข่ปลาและตัวแปรทางไฟฟ้าอื่นที่เกี่ยวข้องตามแบบจำลองจลศาสตร์การเกิดรูบนผิวเซลล์ (kinetics of pore-formation model, KPF) ประกอบการพิจารณาร่วม ได้แก่ ความนำไฟฟ้าของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane conductance , G_m) ความหนาแน่นและขนาดของรูเปิดบนผิวเซลล์ อัตราการเกิดรูเปิดบน

ผิวเซลล์ (N_c) อัตราการปิดรูบนผิวเซลล์ (N_d) ฟังก์ชั่นคำนวณความหนาแน่นรูบนผิวเซลล์เทียบกับขนาดของรูที่เปิด ($n_{(r,t)}$) พื้นที่ผิวเมมเบรน (A_m) ความเก็บประจุไฟฟ้าเมมเบรน (C_m) ความหนาเยื่อหุ้มเซลล์แต่ละชั้น (δ_i) รัศมีรูเริ่มต้นที่ขยายใหญ่สุด (r_{max}) รัศมีรูที่มีค่าน้อยสุด (r_{min}) ระยะเวลาสัญญาณในการกระตุ้น t_{pulse} (pulse length) และพลังงานพื้นผิวเยื่อหุ้มเซลล์ไข่ปลา (Γ , membrane surface energy) ตามลำดับ สรุปดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ค่าไดอิเล็กทริกและสภาพนำไฟฟ้าของไข่ปลาตามแบบจำลอง

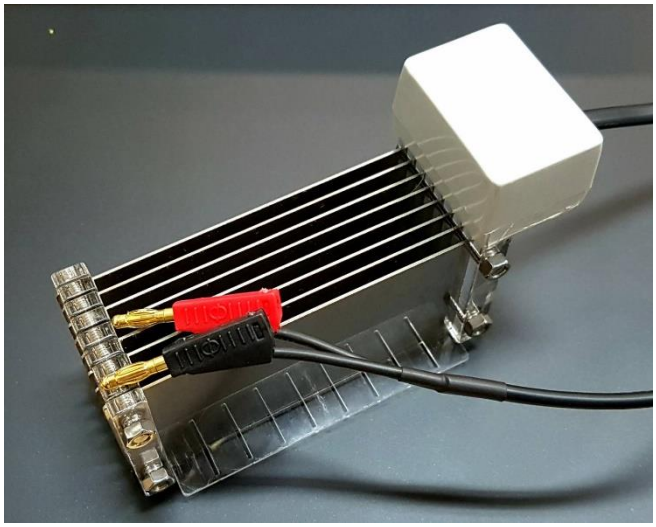
ตัวแปรทางไฟฟ้า (หน่วย)	ช่วงค่าที่คำนวณตามแบบจำลอง
$\sigma_{ic}\,(\mathrm{S m^{-1}})$	0.10-0.50
$\sigma_{im}\,(\mathrm{S m^{-1}})$	10^{-7}-10^{-5}
$\sigma_{oc}\,(\mathrm{S m^{-1}})$	10^{-7}-10^{-5}
$\sigma_{om}\,(\mathrm{S m^{-1}})$	10^{-7}-10^{-5}
$\sigma_{s}\,(\mathrm{S m^{-1}})$	0.001-0.500
$\varepsilon_{ic} = \varepsilon_{oc}$	50-60
$\varepsilon_{im} = \varepsilon_{om}$	5-20
ε_{s}	78-80
$\delta_{im}\ (\mathrm{nm})$	6-8
$\delta_{om}\ (\mu\mathrm{m})$	5-6

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์ทางไฟฟ้าสำหรับวิเคราะห์การขยายรูที่ผิวเซลล์

พารามิเตอร์ทางไฟฟ้า	ค่าที่คำนวณ
N_c (อัตราการเกิดรูเปิดบนผิวเซลล์)	10^{-7}
N_d (อัตราการปิดรูบนผิวเซลล์)	N/A
A_m (พื้นที่ผิวเยื่อหุ้มเซลล์)	10^{-7}-$10^{-5} 1-2\times10^{-6}\ \mathrm{m^2}$
C_m (ความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์)	10^{-7}-$10^{-5} 1-15\ nF\ \mathrm{m^2}$
r_{max} (ขนาดรูเริ่มต้นใหญ่สุด)	20-80 nm
r_{min} (รัศมีรูที่มีค่าน้อยสุด)	1 nm
t_{pulse} (ระยะเวลาพัลส์ต่อหนึ่งลูกคลื่น)	1-10 μs
Γ (พลังงานพื้นผิวเยื่อหุ้มเซลล์)	1-10 $\mathrm{m.J.m^{-2}}$
ลักษณะรูที่เกิด (จำลองตามสมมติฐาน)	รูทรงกระบอก (cylindrical pore)

การพัฒนาชุดอุปกรณ์ไฟฟ้าระดับภาคสนาม

ชุดอุปกรณ์ไฟฟ้าประกอบด้วยตัวขั้วไฟฟ้าที่บรรจุไข่ปลาพร้อมสารละลายและอุปกรณ์จ่ายสัญญาณพัลส์ให้แก่ขั้วไฟฟ้าที่สามารถกำหนดเงื่อนไขทางไฟฟ้าได้ตามที่กำหนด (รูปที่ 1) ออกแบบมิติขั้วไฟฟ้าให้มีขนาดเหมาะสมกับการบรรจุไข่ปลาจำนวน 12,000 ฟอง/ครั้ง ระดับภาคสนาม (ไข่แต่ละฟองมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.837 $\pm$ 0.017 มิลลิเมตร) โดยประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าแบบแผ่นสี่เหลี่ยมคู่ขนานหลายช่องประกบยึดในกรอบที่มีฐานยึดมีรูระบายสารละลายออกจากขั้วไฟฟ้า



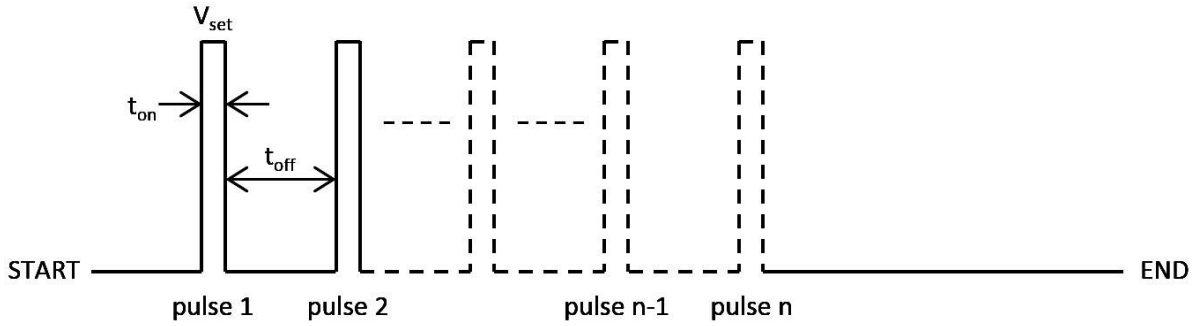
รูปที่ 1 ชุดขั้วไฟฟ้าอุปกรณ์ต้นแบบสำหรับการใช้งานภาคสนาม

ชุดอุปกรณ์ต้นแบบภาคสนามที่พัฒนาประกอบด้วยเครื่องกำเนิดสัญญาณพัลส์ ขั้วไฟฟ้า และชุดสารละลายเหนี่ยวนำ จำนวนอย่างละ 1 หน่วย ชุดขั้วไฟฟ้าทำจากนิกเกิ้ลอัลลอย แบบแผ่นสี่เหลี่ยมคู่ขนานขนาด 5 x 10 เซนติเมตร จำนวน 8 แผ่นวางเรียงขนานกันระยะห่าง 4 มิลลิเมตร ความกว้างรวม 3.5 เซนติเมตร ประกบยึดด้วยโครง สามารถบรรจุไข่ปลาได้ 12,000 ฟอง ฐานยึดมีรูระบายสารละลายออกจากขั้วไฟฟ้า และปลายด้านบนมีช่องเสียบสายไฟฟ้าเครื่องจ่ายสัญญาณไฟฟ้าพัลส์ ให้กำเนิดรูปสัญญาณพัลส์สี่เหลี่ยมขนาดแอมปลิจูด 10-350 (internal)-500 (external) VDC/ pulse durations 50–1,000 µS (time-on)/1-200 pulses สามารถโปรแกรมค่าคงที่ทางไฟฟ้า (แอมปลิจูด/pulse duration/ pulse number) ได้ในช่วงค่าที่กำหนดและรับแหล่งจ่ายภายนอกได้ 500 VDC

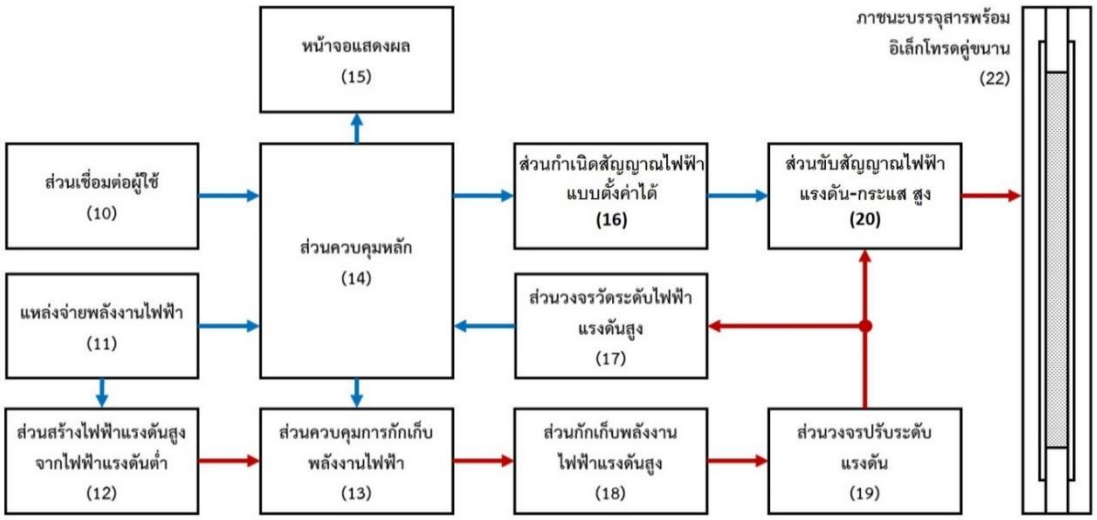
ระบบกำเนิดสัญญาณพัลส์แบบกำหนดช่วงเวลา

อุปกรณ์ชุดเหนี่ยวนำไข่ปลาด้วยขั้วไฟฟ้าและเครื่องกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าพัลส์แรงดันสูงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นโดยออกแบบให้ระบบสร้างสัญญาณไฟฟ้ากระแสตรงแรงดันสูงจากไฟฟ้ากระแสสลับ 220VAC ในภาค “DC high voltage power supply” แล้วทำการเก็บพลังงานนั้นไว้ในส่วนกักเก็บพลังงาน

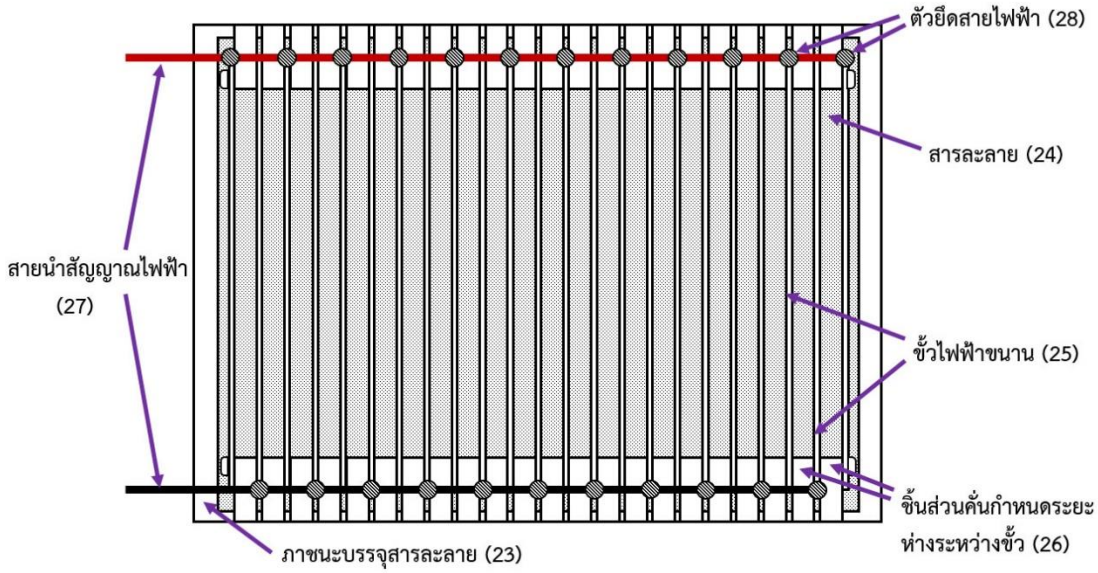
(energy storage) พลังงานที่กักเก็บไว้ส่วนนี้ถูกใช้ในการจ่ายพัลส์แรงดันสูงชั่วขณะให้กับเซลล์ไข่ปลาที่อยู่ในสารละลาย ซึ่งการจ่ายพลังงานให้กับเซลล์กระทำโดยวงจรขับพัลส์แรงดันสูง (high voltage pulse driver) ถูกควบคุมโดย MCU (micro controller unit) ทั้งนี้การควบคุมการจ่ายพัลส์ดังกล่าวจะสัมพันธ์กับคำสั่งของผู้ใช้งาน (user command) โดยตรง



รูปที่ 2 ลักษณะรูปสัญญาณที่กำเนิดจากเครื่องกำเนิดสัญญาณพัลส์แบบกำหนดช่วงเวลา



รูปที่ 3 ผังการออกแบบวงจรเครื่องกำเนิดสัญญาณพัลส์



รูปที่ 4 ขั้วไฟฟ้าที่บรรจุไข่ปลาจำนวน 12,000 ฟอง มีระบบการบรรจุไข่ปลา
และการนำสารละลายออกจากขั้วไฟฟ้า

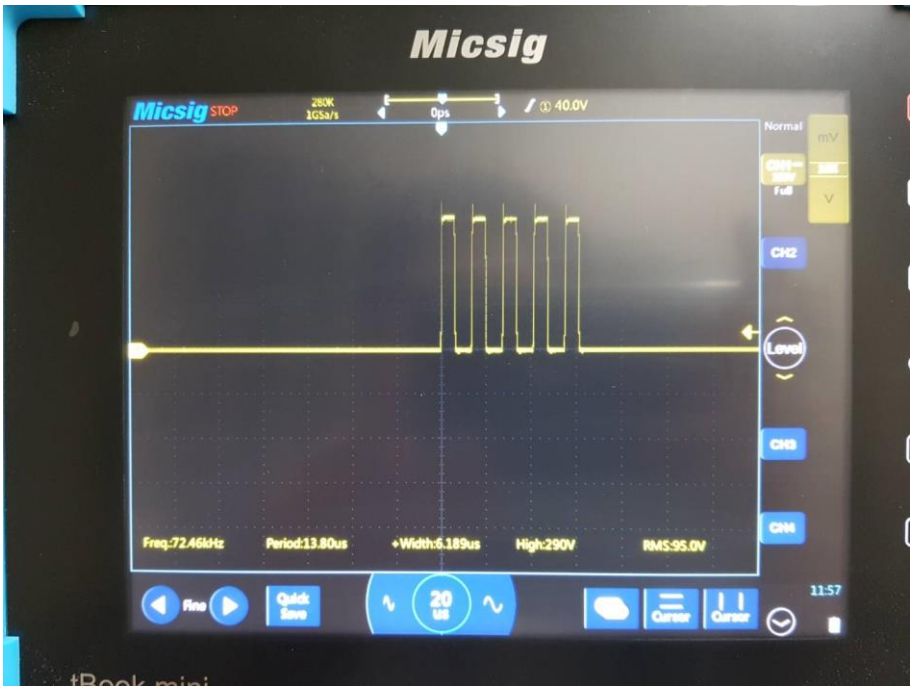
<u>การพัฒนาชุดอุปกรณ์ไฟฟ้าให้ชดเชยแรงดันไฟฟ้าที่สูญเสียระหว่างดำเนินการทดลอง</u>

อุปกรณ์ชุดเหนี่ยวนำไข่ปลาด้วยขั้วไฟฟ้าและเครื่องกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าพัลส์แรงดันสูงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นโดยออกแบบให้ระบบสร้างสัญญาณไฟฟ้ากระแสตรงแรงดันสูงจากไฟฟ้ากระแสสลับ 220VAC ในภาค “DC high voltage power supply” แล้วทำการเก็บพลังงานนั้นไว้ในส่วนกักเก็บพลังงาน (energy storage) พลังงานที่กักเก็บไว้ส่วนนี้ถูกใช้ในการจ่ายพัลส์แรงดันสูงชั่วขณะให้กับเซลล์ไข่ปลาที่อยู่ในสารละลาย ซึ่งการจ่ายพลังงานให้กับเซลล์กระทำโดยวงจรขับพัลส์แรงดันสูง (high voltage pulse driver) ถูกควบคุมโดย MCU (micro controller unit) ทั้งนี้การควบคุมการจ่ายพัลส์ดังกล่าวจะสัมพันธ์กับคำสั่งของผู้ใช้งาน (user command) ผลการพัฒนาอุปกรณ์กำเนิดสัญญาณพัลส์แปรผันค่าให้มีค่าตามตัวแปรทางไฟฟ้าตรงตามที่กำหนดโดยรองรับการทำงานที่โหลดไข่ปลาจำนวนมาก ทั้งนี้สารละลายที่ใช้เหนี่ยวนำไข่ปลากะรังจุดฟ้าเป็นสารละลาย MT-PBS- Buffered Mannitol solution ที่มีส่วนผสมของ MT ความเข้มข้น 5,000-10,000 ไมโครกรัม/ลิตร pH 7.30-7.47 ผลการทดสอบพบการลดทอนของสัญญาณเมื่อสอบเทียบผลการขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์กับชุดการทดลองที่ใช้สนามไฟฟ้าพัลส์สี่เหลี่ยมไม่เกิน 25% ผู้วิจัยอยู่ในระหว่างดำเนินการแก้ไขปรับแก้ภาควงจรไฟฟ้าให้เหมาะสมซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการดำเนินการวิจัยร่วมกับนักวิจัยจาก NECTEC สวทช.

<u>ผลการทดสอบสัญญาณและการใช้งาน</u>

ผลการพัฒนาอุปกรณ์กำเนิดสัญญาณพัลส์แปรผันค่าให้มีค่าตามตัวแปรทางไฟฟ้าตรงตามที่กำหนดโดยรองรับการทำงานที่โหลดไข่ปลาจำนวนมาก ทั้งนี้สารละลายที่ใช้เหนี่ยวนำไข่ปลากะรังฯ เป็นสารละลาย MT-PBS- Buffered Mannitol solution มีสภาพนำไฟฟ้าสูงกว่ากรณีของไข่ปลาน้ำจืดซึ่งใช้สารละลายสูตร MT-

HEPES-buffered Mannitol solution ที่มีส่วนผสมของ MT ความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งมีสภาพนำไฟฟ้าที่ต่ำกว่า (ค่าความเป็นกรด-ด่าง pH ที่ 7.30-7.47) ผลการทดสอบจึงพบการลดทอนของสัญญาณเมื่อสอบเทียบผลการขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์กับชุดการทดลองที่ใช้สนามไฟฟ้าพัลส์สี่เหลี่ยม ผู้วิจัยจึงปรับแก้ไขวงจรไฟฟ้าภาคส่งให้เหมาะสมกับรูปแบบสัญญาณซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการดำเนินการวิจัย



รูปที่ 5 รูปแบบสัญญาณพัลส์ที่ใช้สำหรับกระตุ้นไข่ปลาเงื่อนไขแอมพลิจูด 300-350 โวลต์ (ความเข้มสนามไฟฟ้าในช่วง 75-87.5 กิโลโวลต์/เมตร) คาบสัญญาณ 100 ไมโครวินาที อัตราส่วนช่วงสัญญาณบวกและศูนย์ 50:50 ไมโครวินาที (mark space ratio) จำนวน 5 ลูกคลื่น

กระบวนวิธีต้นแบบสำหรับ**แปลงเพศไข่ปลาให้เป็นเพศผู้โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ขยายรูเยื่อหุ้มเซลล์ชักนำฮอร์โมน** MT**เข้าสู่เซลล์ไข่**

กำหนดขนาดรัศมีเซลล์ไข่ปลานิลผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อหาค่าเฉลี่ยและบันทึกข้อมูลเชิงสถิติ ล้างทำความสะอาดไข่ปลาด้วยสารละลาย HEPES-buffered sucrose solution **และตามด้วย** สารละลาย MT-PBS-Buffered mannitol solution ที่มีส่วนผสมของ MT ความเข้มข้น 5,000-10,000 ไมโครกรัม/ลิตร pH 7.30-7.47 แบ่งชุดควบคุมสำหรับการทดลองที่ไม่เหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้าและชุดที่เหนี่ยวนำด้วยสนามไฟฟ้าเงื่อนไขต่างๆ แช่ไข่ปลาในสารละลายที่จัดเตรียมนานไม่เกิน 15 นาที กำหนดสัญญาณไฟฟ้าแบบพัลส์ที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าช่วงศักย์ไฟฟ้า 300-350-400V ค่าศักย์ไฟฟ้าฐานกลางที่ 350 V (แผ่นขั้วไฟฟ้าเป็นแผ่นคู่ขนานวางห่างกัน 4 มิลลิเมตร แบ่งเป็นหลายช่องคู่ขนาน บรรจุไข่ปลาได้พร้อมกัน 12,000 ฟอง) กระตุ้นด้วยสัญญาณที่มีคาบสัญญาณ (pulse duration) 50 ไมโครมิลลิวินาที จำนวน 3 ลูกคลื่น ทิ้งไข่ปลาไว้ในสารละลายดังกล่าวต่อนาน 15 นาที หลังจากนั้นนำไข่ปลาออกจากสารละลายเพื่อเข้าสู่การเพาะเลี้ยงตามขั้นตอนต่อไป

<u>การทดลองเพื่อเตรียมสารละลายที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำไข่ปลาในสนามไฟฟ้า</u>

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นโครงการแรกที่ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนกับไข่ปลาน้ำเค็มด้วยเทคนิคทางไฟฟ้า จึงยังไม่มีข้อมูลใดอ้างอิง ผู้วิจัยเริ่มจากการทดลองนำสารละลายที่มีเมนนิทอล (Mannitol) และน้ำตาล (Sucrose) เป็นสารตั้งต้นหลักผสมกับสารละลาย HEPES Buffer และ PBS Buffer ตามลำดับ โดยสารละลายของฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศปลาในครั้งนี้คือแอนโดรเจนฮอร์โมน 17α –Methyltestosterone (MT) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อนำมาผสมกับสารละลายข้างต้นในอัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อให้ได้สารละลายรูปแบบสุดท้ายที่รวมส่วนผสมต่างๆ เข้าไว้ด้วยกัน เรียกว่า “Electroporation medium” (EPM) ทั้งนี้ในการทดลองแต่ละครั้งจะใช้ปริมาณสาร EPM ที่มีปริมาตรสุทธิ 19.2 มิลลิลิตร (20 มิลลิลิตรโดยประมาณ) อนึ่งในการทดสอบคุณสมบัติของสารละลาย EPM จะใช้เกณฑ์การพิจารณาความเหมาะสมของสารละลาย ได้แก่ การแยกชั้นของสารละลาย สี และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าการนำไฟฟ้า โดยการทดสอบในแต่ละครั้งจะใช้ สารละลาย EPM ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยหลักการแล้วการเหนี่ยวนำอนุภาคชีวภาพด้วยเทคนิคทางไฟฟ้านั้นเซลล์จะต้องมีคุณสมบัติไดอิเล็กทริกหรือที่เรียกว่า “สมบัติทางไฟฟ้า” เพราะสามารถบ่งบอกค่าสภาพนำไฟฟ้า (Conductivity) และค่าไดอิเล็กทริก (ศักย์ชิน บุญถวิล, 2554) จากการศึกษาของ Asami, *et al*. (1996) สมบัติไฟฟ้าเซลล์ชีวภาพที่มีค่าไดอิเล็กทริกและสภาพนำไฟฟ้าแปรค่าตามอายุ ขนาด และรูปร่างของเซลล์ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีผลต่อกระบวนการนำพาสารเข้าสู่เซลล์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และส่งผลต่อการกระจายตัวและการจัดเรียงตัวของประจุภายในเซลล์และของเหลวภายในเซลล์ตามลำดับ เมื่อเซลล์ได้รับอิทธิพลจากสนามไฟฟ้ากระแสสลับจะถูกแรงเสริมกระตุ้นผลักดันให้ประจุไฟฟ้าเหล่านั้นเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกผนังเซลล์แบบผิดธรรมชาติ ทำให้ค่าไดอิเล็กทริกและสภาพนำไฟฟ้าของเซลล์มีค่าผันผวนแปรเปลี่ยนตามความถี่ของสนามไฟฟ้า (ศักย์ชิน บุญถวิล, 2554) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของเซลล์ชีวภาพที่ต้องการเหนี่ยวนำต้องมีสภาพนำไฟฟ้าต่ำกว่าของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ และต้องมีค่าต่ำกว่าค่าสภาพนำไฟฟ้าของไซโตพลาสซึม ทั้งนี้เซลล์แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันทางด้านคุณสมบัติไฟฟ้า ค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายแขวนลอยเซลล์จึงมีความสำคัญ โดยงานวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการทดลองในสารละลายจำพวกน้ำตาล คือ แมนนิทอล (Mannitol) ซูโครส (Sucrose) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสารละลายดังกล่าวนั้นเป็นสารละลายที่เฉื่อยต่อกระบวนการแพร่ของสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การทดลองหาศักย์ไฟฟ้าที่ใช้เหนี่ยวนำไข่ปลาช่อนทะเล

กำหนดเงื่อนไขศักย์ไฟฟ้าที่ไข่ปลาช่อนทะเลสามารถทนทานได้ ทำการทดลองนำร่องโดยนำไข่ปลาช่อนทะเลช่วงระยะบลาสตูล่า (Blastula) ถึงระยะบลาสโตพอร์ (Blastopore) มาทดสอบเหนี่ยวนำค่าความทนทานต่อศักย์ไฟฟ้าที่สามารถเหนี่ยวนำได้โดยไข่ไม่ได้รับความเสียหายและสามารถประเมินจากอัตราการฟักและอัตราการรอดตายของไข่ปลาหลังการเหนี่ยวนำ โดยมีการกำหนดค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นที่ 350 โวลต์ และเพิ่มค่าความต้านทานที่มีขนาด 100 500 1,000 5,000 และ 10,000 โอห์ม ตามลำดับ โดยเงื่อนไขรูปสัญญาณพัลส์แบบรูปสี่เหลี่ยม (T_{on} และ T_{off}) 50 ไมโครวินาที จำนวนลูกคลื่น 3 ลูกคลื่น โดยมีขั้นตอนในการปฏิบัติดังนี้

1) คัดแยกเซลล์ไข่ปลาช่อนทะเลให้ได้ระยะที่ต้องการ

2) นำไข่ปลาที่ได้จากการเก็บมาตัวอย่างละประมาณ 700-1,000 ฟอง

3) นำไข่ปลาช่อนทะเลมาแช่ในสารละลาย EPM ที่เตรียมไว้ในแต่ละชุดตัวอย่างประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปเหนี่ยวนำโดยใช้เทคนิคทางไฟฟ้า ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นที่ 350 โวลต์ เพิ่มต้านทานที่มีขนาด 100 500 1,000 5,000 และ 10,000 โอห์ม (เทียบเท่าสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มในช่วง 26.25-87.5 กิโลโวลต์ต่อเมตร) ตามลำดับ ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์รูปคลื่นสี่เหลี่ยม (Square pulse-wave electric field) กระตุ้นด้วยคาบสัญญาณช่วง 50 ไมโครมิลลิวินาที จำนวนลูกคลื่นสัญญาณ 3 ลูกคลื่น

4) นำไข่ปลาที่ได้ผ่านการเหนี่ยวนำแล้วแบ่งออกเป็นสองส่วน เพื่อศึกษาอัตราการฟัก (Hatching) อัตราการรอดตาย (Survival rate) และตรวจสอบสัณฐานทางกายภาพเพื่อดูลักษณะของไข่ปลาบริเวณพื้นผิวเซลล์ไข่ปลาผ่านภาพถ่าย SEM เพื่อดูลักษณะพื้นผิวเซลล์ไข่ปลา ความหนาแน่นรูที่ผิว ขนาดความกว้างของรูชุดควบคุมและชุดที่ผ่านการเหนี่ยวด้วยสนามไฟฟ้า

เอกสารอ้างอิง

1. กรมประมง, 2545. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2542. เอกสารฉบับที่ 10/2545, กรุงเทพฯ: กองเศรษฐกิจการประมง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

2. เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว, 2546. รายงานวิจัยโครงการการศึกษาสถานภาพการแปลงเพศลูกปลานิลเพื่อลดต้นทุนการผลิต. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, ชุดโครงการอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ.

3. Buddle, R. C., 1984. Androgen-induced sex-inversion of Oreochromis (Trewavas) hybrid fry stocked into cages standing in an earthen pond, Aquaculture, 40, pp. 233-239.

4. Bunthawin, S., Wanichapichart, P. and Gimsa, J., 2007. An investigation of dielectric properties of biological cells using RC-model, Songklanakarin Journal of Science and Technology, 29 (4), pp.1163-1181.

5. Bunthawin, S., Wanichapichart, P., Tuantranont, A. and Coster, H. G. L., 2010. Dielectrophoretic spectra of translational velocity and critical frequency for a spheroid in traveling electric field, Biomicrofluidics, 014102 [Doi:10.1063/1.3294082].

6. Chang, D. C., Chassy, B. M., Saunders, J. A. and Sowers, A. E., 1992. Guide to electroporation and electrofusion, Academic Press, Inc., San Diego, California. pp.1-6.

7. Chervinski, J. and Rothbard, S., 1982. An aid in manually sexing tilapia, Aquaculture, 26, p. 389.

8. Hirai, A., 1987. Fine structures of the micropyles of pelagic eggs of some marine fishes, Japanese Journal of Ichthyology, 35(3), pp. 351-357.

ชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตกลุ่มNematode ในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

ฉันทนา แก้วตาปี[๑] วิทยา รัตนะ[๒] นันทวัน ศานติสาธิตกุล[๒] และ วารินทร์ ธนาสมหวัง[๓]
[๑]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งพังงา
[๒]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต5 (ภูเก็ต)
[๓]กองผู้เชี่ยวชาญ

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า จากแหล่งจับในทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จุดเก็บตัวอย่าง จ.ภูเก็ต(ท่าเรือรัษฎา) จ.พังงา(ท่าเรือทับละมุ) จ.กระบี่(ท่าเรือคลองม่วง) และ จ.ตรัง (ท่าเรือกันตัง) ในช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) ฤดูร้อน (ก.พ.61- พ.ค. 61) และฤดูฝน (มิ.ย.61- ก.ย.61) โดยเก็บแยกตามชนิดของปลาเป็ด 3 ชนิด คือปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง ทุกเดือนๆ ละ 30 ตัว จากการตรวจวินิจฉัยพบปรสิตกลุ่มนีมาโทดแพร่กระจายอยู่ในอวัยวะต่าง ๆ ในช่องท้องของปลา บริเวณ ตับ รังไข่ กระเพาะ และลำไส้

ในช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุดในปลาทูแขก จาก จ.ภูเก็ต รองลงมาเป็น จ.พังงา จ.กระบี่ และจ.ตรัง มีค่าเท่ากับ 97.78 % , 66.67%, 28.33% และ6.67% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 44.83 % 41.81%, 26.47 และ75.0% ตามลำดับ ในช่วงฤดูร้อน(ก.พ.61- พ.ค. 61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุดในปลาทูแขก จาก จ.ภูเก็ต รองลงมาเป็นจ.ตรัง จ.กระบี่ และจ.พังงา มีค่าเท่ากับ 40.83 % , 33.33%, 25.00% และ17.50% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 41.29 % ,27.86%,32.62 และ29.63% ตามลำดับ ในช่วงฤดูฝน (มิ.ย.61- ก.ย.61) พบเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุดในปลาทูลัง จากจ.กระบี่ จ.พังงา จ.ตรัง และจ.ภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 26.67 % , 20.41 %, 10.00 % และ 3.33% ตามลำดับ และตำแหน่ง ที่พบพยาธิสูงสุด คือ ลำไส้มีค่าเท่ากับ 100% ,89.40%, 88.89% และ 66.67% ในจังหวัดกระบี่ จังหวัดพังงา จังหวัดตรัง และจังหวัดภูเก็ต ตามลำดับ จากการเก็บตัวอย่างปลาเป็ดทั้ง 3 ชนิด ไม่พบปรสิตในปลาข้างเหลืองในทุกแหล่งเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูหนาว ส่วนในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนพบปรสิตในแหล่งจับจากจ.กระบี่ ความชุก 1% และ 1.67 % ตามลำดับ ส่วนในปลาทูลังและปลาทูแขก มีความเสี่ยงในการติดเชื้อปรสิตทุกช่วงฤดูกาลและทุกแหล่งเก็บตัวอย่าง ปรสิตที่พบจะอยู่ในช่องท้องและในอวัยวะภายใน ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อปรสิตควรนำเครื่องในออกและล้างทำความสะอาดก่อนนำไปให้เป็นอาหารของพ่อแม่พันธุ์ปลา

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูล การกระจายของปรสิตนีมาโทดในอวัยวะภายใน รวมทั้งอัตราความชุกของการติดเชื้อปรสิตในปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากระรังจุดฟ้า ซึ่งจะนำไปใช้เป็นข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา เพื่อดำเนินการหาแนวทางควบคุมและป้องกันการติดเชื้อปรสิตในกลุ่มนี้ต่อไป

คำนำ

จากการตรวจสอบตัวอย่างปลากะรังจุดฟ้าของเกษตรกรในพื้นที่ทะเลอันดามันรวมถึงปลาพ่อแม่พันธุ์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ตในระยะ 1-2 ปีที่ผ่านมา (2558-2559) พบการติดเชื้อปรสิตกลุ่ม Nematode จำนวนมาก โดยพบแพร่กระจายอยู่ในอวัยวะต่าง ๆ ในช่องท้องของปลา ซึ่งพบมากบริเวณเนื้อเยื่อด้านนอกของ กระเพาะ ตับ รังไข่ และแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อผังพืดรอบช่องท้อง จากการตรวจสอบเบื้องต้นพบว่าปลาที่ติดเชื้อปรสิตจะมีลักษณะอาการต่างๆ เช่น พบก้อนแข็งในท้อง การอักเสบของเนื้อเยื่อตับบางส่วน และการลีบฟ่อของไข่และรังไข่ในปลากระรังจุดฟ้าตัวเมีย ซึ่งลักษณะอาการเบื้องต้นทั้งหมดส่งผลเสียอย่างรุนแรงต่อการเลี้ยงและขยายพันธุ์ของปลากระรังจุดฟ้า ซึ่งเป็นลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากปรสิตกลุ่มนีมาโทด สอดคล้องกับประไพสิริ(2546) อาการโรคที่เกิดจากนีมาโทด เรียกว่า นีมาโทโดส(Nematodose) อวัยวะที่ปรสิตเกาะอาศัยจะถูกทำลาย โดยเฉพาะในลูกปลาจะเป็นอันตรายทำให้ปลาตายได้ ปลาจะเสียการทรงตัว ไม่กินอาหาร ตัวอ่อนของปรสิตจะเข้าไปในกระเพาะลม ทำให้เสียการทรงตัว ถ้าเข้าไปในอวัยวะสืบพันธุ์ จะทำให้เป็นหมันได้

ลักษณะของ Nematode เป็นหนอนตัวกลมรูปทรงกระบอก เพรียวยาว มีเนื้อเยื่อ 3 ชั้น (Triploblastica animal) ลำตัวกลม ยาว เรียวหัว-ท้าย ไม่มีข้อปล้อง (non metameric) ไม่มีรยางค์ ผิวลำตัวปกคลุมด้วยสารคิวติน (Cuticle) เพื่อป้องกันน้ำย่อยจาก Host มีสมมาตรแบบ Bilateral symmetry มีช่องว่างในลำตัวแบบไม่แท้จริง (Psudocoelom) ยังไม่มีระบบเลือด ไม่มีระบบหายใจ พวกที่เป็นปรสิตจะหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน พวกที่อิสระก็จะหายใจทางผิวหนัง มีระบบทางเดินอาหารแบบสมบูรณ์ (Complete digestive tract) เป็นพวกแรก ระบบขับถ่ายประกอบด้วยต่อมเรนต์ (renettle gland) ท่อขับถ่ายทางด้านข้างลำตัว (Lateral excretory canal) ไม่มีเฟลมเซลล์ มีปมประสาทใหญ่ จัดเป็นสมอง มีลักษณะเป็นวงแหวน (Nerve ring) อยู่รอบคอหอย ติดต่อกับเส้นประสาทใหญ่ทางด้านท้อง (Ventral nerve cord) และด้านหลัง (Dorsal nerve cord) ตลอดลำตัว มีกล้ามเนื้อเฉพาะตามยาวเท่านั้น เป็นพวกแยกเพศ (Dioecious) ตัวเมียมักมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้

Nematode ที่เป็นปรสิตในปลาและสัตว์น้ำที่พบบ่อย เช่นใน Family Philometridae ตัวอย่างปรสิตที่พบในปลาทะเลในครอบครัวนี้ ได้แก่ สกุลฟิโลเมทตร้า (Genus philometra) ปรสิตนี้พบทั้งชนิดที่โตเต็มวัยสืบพันธุ์ได้ มีไข่และลูกอ่อนอยู่เต็มมดลูก และตัวที่ยังไม่โตเต็มวัยที่พบอยู่ตามอวัยวะต่างๆ ขดพันเป็นกลุ่มอยู่ในช่องท้อง พบในรังไข่ปลาแป้น ปลากะรังปากแม่น้ำ ปลาน้ำดอกไม้ เป็นต้น ส่วนใน Family Heterochelidae ตัวอย่างปรสิตที่พบในปลาทะเลในครอบครัวนี้ ได้แก่ สกุล อะนิซาคิส (Genus Anisakis) พบตัวอ่อนในทางเดินอาหารของปลาทะเลแทบทุกชนิด (Yamaguti, 1961) การติดเชื้อพยาธิตัวกลมในกลุ่มอะนิซาคิส (*Anisakis* sp.) เป็นปัญหาที่มีความสำคัญในการประมง และธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ก่อให้เกิดความเสียหายซึ่งมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจอย่างมหาศาล นอกจากนี้ปรสิตกลุ่ม *Anisakis* sp. ยังสามารถแพร่กระจายและก่อโรคในมนุษย์ ซึ่งจะมีผลอย่างรุนแรงต่อการยอมรับของผู้บริโภครวมถึงการส่งออกสู่ตลาดในต่างประเทศหากพบการระบาดของ *Anisakis* sp. และยังไม่สามารถควบคุมโรคและการระบาดได้

เนื่องจาก ปลากะรังจุดฟ้า เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีราคาสูง เป็นปลาที่มีเนื้อสีขาว รสชาติดี อร่อยเป็นที่นิยมของผู้บริโภค มีราคาแพง ปลาขนาด 0.8-1.2 กิโลกรัม ราคาขายตัวละ 750-850

บาท ในการเพาะเลี้ยงปลากะรังมักพบการตายของปลาที่เลี้ยงอยู่เสมอ สาเหตุโน้มนำการเกิดโรคที่สำคัญคือ คุณภาพน้ำไม่เหมาะสม การใช้อาหารสดที่มีการปนเปื้อนของเชื้อหรือปรสิตให้เป็นอาหารปลากะรังจุดฟ้า ส่วนใหญ่เป็นปลาเป็ดจากแหล่งจับฝั่งทะเลอันดามัน ซึ่งยังขาดข้อมูลรายงานการตรวจพบปรสิตกลุ่มนีมาโทดในปลาเป็ดที่มีความสัมพันธ์กับฤดูกาลที่สามารถนำข้อมูลมาใช้ในการจัดการการเลี้ยงปลากะรังจุดฟ้าป้องกันการระบาดของปรสิตกลุ่มนีมาโทดในกระบวนการผลิตปลากะรังจุดฟ้าเป็นพ่อแม่พันธุ์ เพื่อลดความเสียหายที่จะก่อให้เกิดโรคขึ้นในอนาคตได้

วัตถุประสงค์

1.เพื่อตรวจสอบชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าจากแหล่งจับทะเลอันดามันจำนวน 4 จุด

2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันกับฤดูกาล

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. การเก็บตัวอย่าง

1. 1. เก็บตัวอย่างจากแหล่งจับในทะเลอันดามันทั้งหมด 4 จุด ดังนี้

1. ปลาเป็ดจากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต

2. ปลาเป็ดจากอ่าวพังงา จ.พังงา / ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา

3.ปลาเป็ดจากท่าเรือคลองม่วง จ. กระบี่

4. ปลาเป็ดจากท่าเรือกันตัง จ.ตรัง

1.2. สุ่มเก็บตัวอย่างปลาเป็ด โดยแยกชนิดของปลาเป็ด เก็บชนิดละ 30 ตัวต่อครั้ง เก็บตัวอย่างในแต่ละจุดเป็นระยะเวลา 1 ปี โดย เก็บตัวอย่างทุก 4 เดือนต่อครั้ง รวมจุดละ 3 ครั้งต่อปี เพื่อใช้เป็นตัวแทนประชากรปลาเป็ดในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน

2. วิธีดำเนินการทดลอง

นำตัวอย่างปลาเป็ดที่เก็บมาผ่าเก็บตัวอย่างของพยาธิจากบริเวณอวัยวะภายในของปลาที่เก็บมา นำพยาธิที่ได้มาล้างด้วยน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 ให้สะอาด และทำการตรวจสอบปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ว่าเป็นพยาธิกลุ่มNematode โดยอาศัยขนาดและรูปร่างลักษณะเฉพาะของหลอดอาหาร การพบบอริงทูธ (boring tooth) บนริมฝีปากและตรวจพบมิวครอน (mucron) ที่ปลายหาง เมื่อพบปรสิตจะทำการแยกดองใน 70% แอลกอฮอล์, RNAlater เพื่อวัตถุประสงค์ในการศึกษาด้านต่าง ๆ ได้แก่ ทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ตามวิธีการของ Setyobudi (2011) จำแนกชนิดโดยวิธีPCR ในตัวอย่างปรสิตนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดเพื่อตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิด

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ชนิดของปรสิตกลุ่ม Nematode ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบเฟสคอนทราสน์ (phase contrast microscope) โดยอ้างอิงตาม Yamaguti (1961) นับจำนวนปรสิตกลุ่ม Nematode แล้วหาค่าความชุกชุม และความหนาแน่นเฉลี่ยตามวิธีของ Margolis *et al*. (1982)

$$\text{ความชุกชุม (Prevalence: \%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่ตรวจพบปรสิตชนิดนั้นๆ} \times 100}{\text{จำนวนปลาทั้งหมดที่ทำการตรวจ}}$$

$$\text{ความหนาแน่นเฉลี่ย (Mean intensity)} = \frac{\text{จำนวนทั้งหมดของปรสิตที่พบชนิดนั้นๆ}}{\text{จำนวนปลาที่พบปรสิตชนิดนั้นๆ}}$$

ผลการศึกษา

1. การแพร่กระจายของปรสิตนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดที่ใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า ในช่วงฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน จากแหล่งจับทะเลอันดามันจำนวน 4 จุด

เก็บตัวอย่างปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าจากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ.ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง ในช่วงฤดูหนาว (ต.ค.60 – ม.ค. 61) และในช่วงฤดูร้อน (ก.พ.61-พ.ค. 61) โดยเก็บแยกตามชนิดของปลาเป็ด 3 ชนิด คือปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง ชนิดละ 30 ตัวต่อครั้ง นำตัวอย่างปลาเป็ดที่เก็บมาผ่าเก็บตัวอย่างของพยาธิจากบริเวณกระเพาะและลำไส้ นำพยาธิที่ได้มาล้างด้วยน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 ให้สะอาด และทำการตรวจสอบปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์มาตรวจวิเคราะห์หาพยาธิ และเก็บตัวอย่างพยาธิ ในน้ำยาเก็บตัวอย่าง (RNA later) เพื่อจำแนกชนิดของปรสิตโดยวิธีพีซีอาร์

1.1 ผลการตรวจหาพยาธิในปลาเป็ด 3 ชนิด จากแหล่งจับบริเวณทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ในช่วงฤดูหนาวเดือนต.ค.- ม.ค.60 ดังนี้

ปลาทูแขก จากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต มีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุด รองลงมาเป็น ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา, ท่าเรือคลองม่วง จ.กระบี่ และจากท่าเรือกันตัง จ.ตรัง มีค่าเท่ากับ 97.78%, 66.67%, 28.33% และ6.67% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 44.83 % 41.81%,26.47 และ75.0% ตามลำดับ ส่วนจังหวัดกระบี่ ท่าเรือคลองม่วงจะพบความชุกของพยาธิสูงที่สุดในบริเวณรังไข่ (37.25 %)

1.2 ผลการตรวจหาพยาธิในปลาเป็ด 3 ชนิด จากแหล่งจับบริเวณทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ในช่วงฤดูหนาวเดือนต.ค.- ม.ค.60 ดังนี้

ปลาทูแขก จากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต มีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ มากที่สุด รองลงมาเป็น ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา, ท่าเรือคลองม่วง จ.กระบี่ และจากท่าเรือกันตัง จ.ตรัง มีค่าเท่ากับ 97.78 % , 66.67%, 28.33% และ6.67% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 44.83 % 41.81%,26.47 และ75.0% ตามลำดับ ส่วนจังหวัดกระบี่ ท่าเรือ คลองม่วงจะพบความชุกของพยาธิสูงที่สุดในบริเวณรังไข่ (37.25 %)

1.3 ผลการตรวจหาพยาธิในปลาเป็ด 3 ชนิด จากแหล่งจับบริเวณทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ในช่วงฤดูหนาวเดือนต.ค.- ม.ค.60 ดังนี้

ปลาทูแขก จากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต มีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุด รองลงมาเป็น ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา, ท่าเรือคลองม่วง จ.กระบี่ และจากท่าเรือกันตัง จ.ตรัง มีค่าเท่ากับ 97.78 % , 66.67%, 28.33% และ6.67% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 44.83 % 41.81%,26.47 และ75.0% ตามลำดับ ส่วนจังหวัดกระบี่ ท่าเรือคลองม่วงจะพบความชุกของพยาธิสูงที่สุดในบริเวณรังไข่ (37.25 %)

ปลาทูลัง จากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต มีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิมากที่สุด รองลงมาเป็น อ่าวพังงา จ.พังงา / ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา, เปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ มีค่าเท่ากับ 36.67% และ 27.78% ตามลำดับ ตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 60.00 % และ 61.1% ตามลำดับ ส่วนบริเวณท่าเรือคลองม่วงจ. กระบี่ และจากท่าเรือกันตัง จ.ตรังไม่พบพยาธิ

ปลาข้างเหลือง จากท่าเรือทับละมุ จ.พังงา มีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 86.67% ส่วนจากท่าเทียบเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต ท่าเรือคลองม่วง จ.กระบี่ และจากท่าเรือกันตัง จ.ตรัง ไม่พบพยาธิ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 49.32% ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1

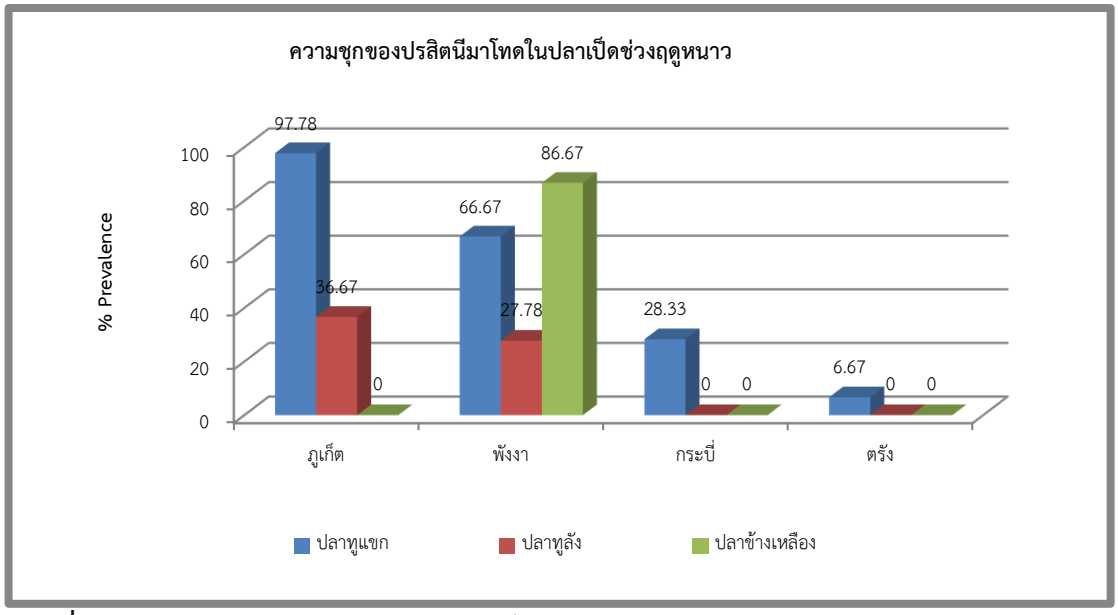
แหล่งจับ	ภูเก็ต					
ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	97.78	15.72	15.04	26.17	44.83	13.96
ทูลัง	36.67	3.76	11	15	60	13
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

แหล่งจับ	พังงา					
ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	66.67	6.82	10.27	25.67	41.81	22.25
ทูลัง	27.78	3.76	7.45	20.21	61.7	10.64
ข้างเหลือง	86.67	2.81	8.22	31.51	49.32	10.96

แหล่งจับ	กระบี่					
ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	28.33	6.00	8.82	37.25	26.47	27.45
ทูลัง	0	0	0	0	0	0
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

แหล่งจับ	ตรัง					
ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	6.67	2.00	0.00	25.00	75.00	0.00
ทูลัง	0	0	0	0	0	0
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 1 สรุปผลปรสิตกลุ่มนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง



ภาพที่ 1 ความชุกของปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ดช่วงฤดูหนาว (ต.ค. 60 – ม.ค. 61) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง

1.4 ผลการตรวจหาพยาธิในปลาเป็ด 3 ชนิด จากแหล่งจับบริเวณทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ในช่วงฤดูร้อน เดือน ต.ค.- ม.ค.60 ดังนี้

ปลาทูแขกมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ มากที่สุด ในตัวอย่างจากท่าเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต รองลงมาเป็น ปลาที่เก็บจากท่าเรือจังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ และจังหวัดพังงา มีค่าเท่ากับ 40.83 % , 33.33%, 25.00% และ17.50% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบ พยาธิสูงสุดคือ กระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 41.26 % ,27.86%,32.62 และ29.63% ตามลำดับ ส่วนปลาที่เก็บจากท่าเทียบเรือจังหวัดพังงา พบที่ตำแหน่งลำไส้สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 35.19 % ส่วนปลาที่เก็บจากท่าเทียบเรือจังหวัดกระบี่และจังหวัดตรังพบมากที่สุดในบริเวณรังไข่มีค่าเท่ากับ 39.01 % และ39.29 % ตามลำดับ

ปลาทูลังมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ (%Prevalence) มากที่สุดจากท่าเรือทับละมุ จังหวัดพังงา ส่วนจากท่าเรือรัษฎา อ.เมือง จ.ภูเก็ต จังหวัดกระบี่ และจังหวัดตรัง มีค่าเท่ากับ 17.50 % , 10.00% และ 6.67%ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ ลำไส้มีค่าเท่ากับ 62.37% ,60.00%,59.46% และ 10.81% ตามลำดับ ส่วนจังหวัดภูเก็ตจะพบที่ตำแหน่งกระเพาะสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 40.54 %

ปลาข้างเหลืองมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ (%Prevalence) มากที่สุดในจังหวัดกระบี่ มีค่าเท่ากับ 1.11% ส่วนในจังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และจังหวัดตรังไม่พบพยาธิ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือบริเวณ ลำไส้มีค่าเท่ากับ 100% ดังแสดงในตารางที่ 2 ภาพที่ 2

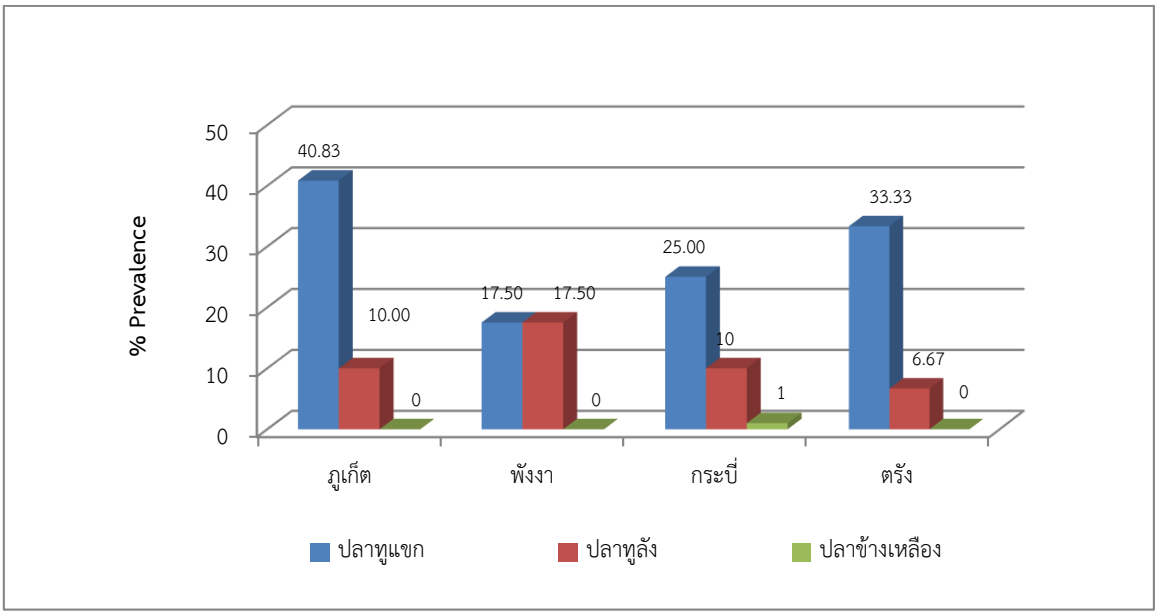
แหล่งจับ	ภูเก็ต					
ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	40.83	15.29	14.15	28.57	41.26	16.02
ทูลัง	10.00	3.08	13.51	35.14	40.54	10.81
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

แหล่งจับ	พังงา					
ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	17.50	2.57	11.11	24.07	29.63	35.19
ทูลัง	17.50	4.13	1.08	2.15	34.41	62.37
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

แหล่งจับ	กระบี่					
ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	25.00	9.40	15.60	39.01	32.62	12.77
ทูลัง	10	4.11	0	5.41	35.14	59.46
ข้างเหลือง	1.11	1	0	0	0	100

แหล่งจับ	ตรัง					
ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	33.33	4.67	9.29	39.29	27.86	23.57
ทูลัง	6.67	1.67	0	0	40	60
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 2 สรุปผลปรสิตกลุ่มนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดช่วงฤดูร้อน (ก.พ.- พ.ค 61.) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง



ภาพที่ 2 ความชุกของปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ดช่วงฤดูร้อน (ก.พ.- พ.ค 61) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง

1.5 ผลการตรวจหาปรสิตในปลาเป็ด 3 ชนิด จากแหล่งจับบริเวณทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ในช่วงฤดูฤดูฝน (มิ.ย.-ส.ค.61) ดังนี้

ผลการตรวจหาปรสิตในปลาเป็ด 3 ชนิด คือปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง บริเวณทะเลอันดามัน (จ.ภูเก็ต จ.พังงา จ.กระบี่ และ จ.ตรัง) ในช่วงฤดูฝน (มิ.ย.-ส.ค.61) พบว่าปลาทูแขกมีเปอร์เซ็นต์

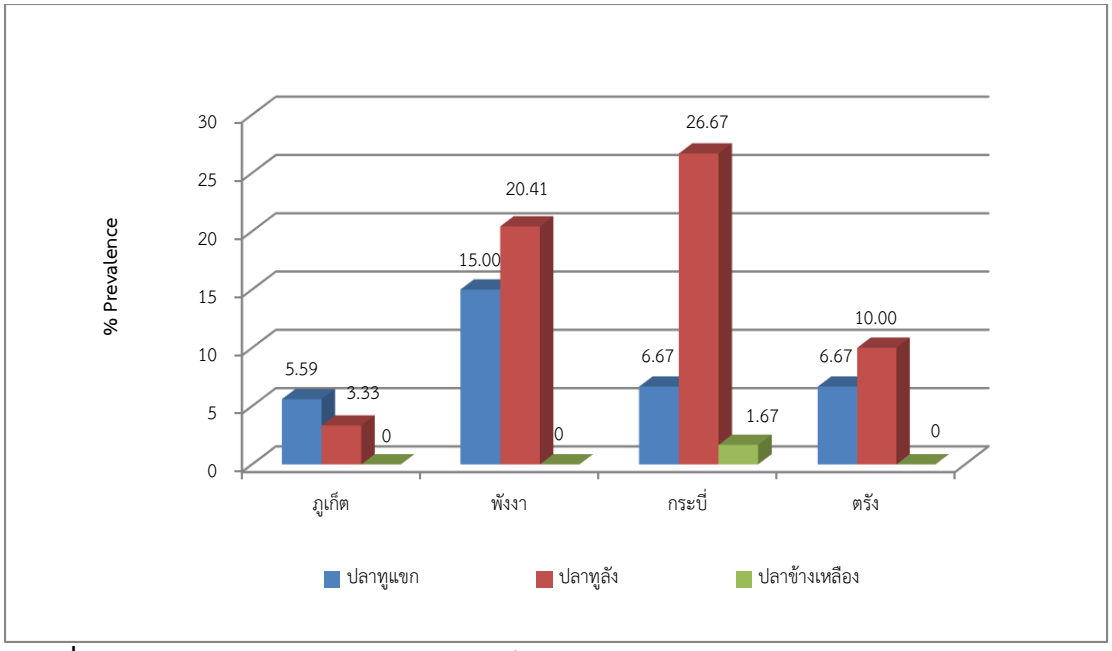
ความชุกของพยาธิมากที่สุดในจังหวัดพังงา จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ และจังหวัดภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 15.00 % , 6.67%, 6.67% และ 5.59% ตามลำดับ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ ลำไส้ มีค่าเท่ากับ 100% ในแหล่งเก็บตัวอย่างจากจังหวัดพังงา จังหวัดกระบี่ และจังหวัดตรัง ส่วนจังหวัดภูเก็ตจะพบที่ตำแหน่งกระเพาะอาหาร (52.38 %) และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือ ลำไส้มีค่าเท่ากับ 100%, 89.40%, 88.89% และ 66.67% ในจังหวัดกระบี่ จังหวัดพังงา จังหวัดตรัง และจังหวัดภูเก็ต ตามลำดับ

ปลาทูลังมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ (%Prevalence) มากที่สุดในจังหวัดพังงา จังหวัดกระบี่ จังหวัดตรัง และจังหวัดภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 81.67 % , 26.67 %, 10.00 % และ 3.33%ตามลำดับ

ปลาข้างเหลืองมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของพยาธิ (%Prevalence) มากที่สุดในจังหวัดกระบี่ มีค่าเท่ากับ 1.67% ส่วนในจังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และจังหวัดตรังไม่พบพยาธิ และตำแหน่งที่พบพยาธิสูงสุดคือกระเพาะอาหารมีค่าเท่ากับ 100% ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 3

แหล่งจับ	ภูเก็ต						แหล่งจับ	พังงา					
ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ				ชนิดปลา	%P	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้				ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	40.83	15.29	14.15	28.57	41.26	16.02	ทูแขก	17.50	2.57	11.11	24.07	29.63	35.19
ทูลัง	10.00	3.08	13.51	35.14	40.54	10.81	ทูลัง	17.50	4.13	1.08	2.15	34.41	62.37
ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0	ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0
แหล่งจับ	กระบี่						แหล่งจับ	ตรัง					
ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ				ชนิดปลา	%Pe	%M	(%)ตำแหน่งที่พบพยาธิ			
			ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้				ตับ	รังไข่	กระเพาะ	ลำไส้
ทูแขก	25.00	9.40	15.60	39.01	32.62	12.77	ทูแขก	33.33	4.67	9.29	39.29	27.86	23.57
ทูลัง	10	4.11	0	5.41	35.14	59.46	ทูลัง	6.67	1.67	0	0	40	60
ข้างเหลือง	1.11	1	0	0	0	100	ข้างเหลือง	0	0	0	0	0	0

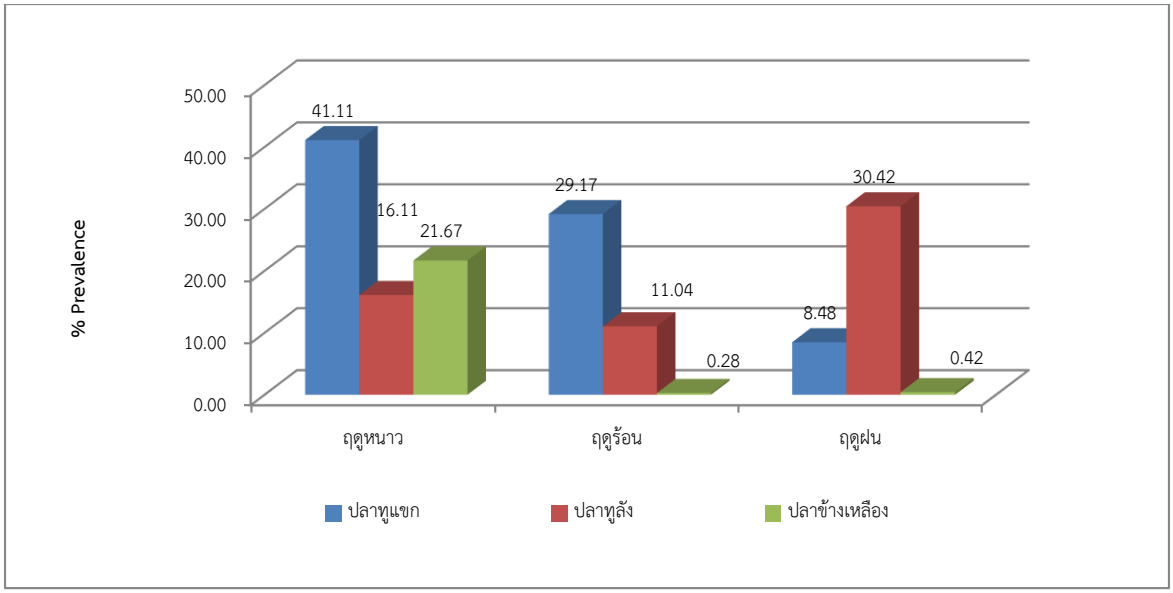
ตารางที่ 3 สรุปผลปรสิตกลุ่มนีมาโทดที่พบในปลาเป็ดช่วงฤดูฝน (มิ.ย.-ส.ค.61) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่ และตรัง



ภาพที่ 3 ความชุกของปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ด ช่วงฤดูฝน (มิ.ย.-ส.ค.61) จากแหล่งจับทะเลอันดามัน ในจุดเก็บตัวอย่าง 4 แหล่ง ได้แก่ จ. ภูเก็ต พังงา กระบี่และตรัง

2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันกับฤดูกาล

จากการศึกษาพบว่าปลาเป็ดในแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จากท่าเทียบเรือรัษฎา จ. ภูเก็ต ท่าเรือทับละมุ จ.พังงา ท่าเรือคลองม่วง จ. กระบี่ และท่าเรือกันตัง จ.ตรัง พบปรสิตในทุกฤดูกาลในปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง ปลาทูแขกพบปรสิตมากสุดในช่วงฤดูหนาวในจุดเก็บตัวอย่างจากท่าเทียบเรือรัษฎา จ.ภูเก็ต ปลาทูลังพบปรสิตมากสุดในฤดูฝนในจุดเก็บตัวอย่างจากท่าเรือคลองม่วง จ. กระบี่ ปลาข้างเหลืองพบปรสิตมากสุดในฤดูหนาวในจุดเก็บตัวอย่างจากท่าเรือทับละมุ จ.พังงา ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงความชุกของปรสิตนีมาโทดในปลาเป็ดจากแหล่งจับทะเลอันดามันกับฤดูกาล

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลด้านชนิด เปอร์เซ็นต์ความชุก การกระจายของปรสิตนีมาโทดในอวัยวะภายในแต่ละส่วน ของการติดเชื้อปรสิตในปลาเป็ดทั้ง 3 ชนิดคิอ ปลาทูแขก ปลาทูลัง และปลาข้างเหลือง ในแหล่งเก็บตัวอย่างจากแหล่งจับทะเลอันดามัน 4 แหล่ง ได้แก่ จ.ภูเก็ต พังงา กระบี่ และตรัง ซึ่งพบการติดเชื้อปริมาณความชุกของปรสิตแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ เนื่องจากแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันของปริมาณ itermediate host ซึ่งจะเป็นตัวกระจายปรสิต ซึ่งวงจรชีวิตของปรสิตชนิดนี้ปกติจะอาศัยอยู่ในกระเพาะอาหารของสัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม จนเจริญเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะปล่อยไข่ออกมากับอุจจาระของสัตว์ ไข่เหล่านี้ก็จะฟักตัวออกมาเป็นตัวอ่อนอยู่ในทะเล และถูกกินโดยโฮสต์ตัวกลางชนิดที่1 คือ สัตว์ทะเลขนาดเล็กที่กินแพลงก์ตอนเป็นอาหาร เช่น กุ้ง และไรน้ำจากนั้นตัวอ่อนพยาธิ จะอาศัยอยู่ในสัตว์เหล่านี้จนกระทั่งเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่3 และเมื่อกุ้งและไรน้ำถูกปลาทะเลหรือหมึกซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางชนิดที่2 กินเข้าไป ตัวอ่อนพยาธิจะไชผ่านกระเพาะอาหารของสัตว์ และเข้าไปอาศัยอยู่ในส่วนของลำไส้และอวัยวะภายใน หรือกล้ามเนื้อวนเวียนอย่างนี้ไปเรื่อยๆ

การป้องกันการติดเชื้อปรสิตในพ่อแม่พันธุ์ปลาชุดใหม่ที่จะนำเข้ามาในระบบการเลี้ยง ควรมีการถ่ายพยาธิ Invermectin หรือ Abendazol 5 mg/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม เดือนละ 1 ครั้ง ในระหว่างการเลี้ยง ส่วนปลาเป็ดที่จะนำไปเป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าเก็บรักษาในตู้แช่โดยอ้างอิง US Food and Drug Administration (FDA) ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ได้แนะนำเพื่อฆ่าตัวอ่อนระยะติดต่อของปรสิตกลุ่มนีมาโทดและการป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค โดยสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ๗ วัน , แช่แข็งและเก็บที่อุณหภูมิ - ๓๕ องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ๑๕ ชั่วโมงหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิ - ๓๕ องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า และเก็บที่อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียส นาน ๒๔ ชั่วโมง และควรทำความสะอาดปลาเป็ดโดยตัดหัวและนำอวัยวะภายในออกให้หมด ล้างให้สะอาด ควรเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียส นาน ๒๔ ชั่วโมง ตัวอ่อนของปรสิตชนิดนี้จะตายถ้าเก็บที่อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียส นาน ๒๔ ชั่วโมง (van Thiel *et. al.,* 1960)

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลด้านชนิด การกระจายของปรสิตนีมาโทดในอวัยวะภายใน รวมทั้งอัตราความชุกของการติดเชื้อปรสิตในปลาเป็ดที่นำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลากระรังจุดฟ้า ซึ่งจะนำไปใช้เป็นข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา เพื่อดำเนินการหาแนวทางควบคุมและป้องกันการติดเชื้อปรสิตในกลุ่มนี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ประภาพรรณ เอี่ยมอนันต์. 2548. การกระจายของพยาธิอะนิซาคิสในอวัยวะภายในของปลาจวด (*Johnius carouna*) และปลาจวดหนวด (*Dendrophysa russelli*) ในตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (Distribution of *Anisakis* sp. in Visceral Organs of Caroun croaker (*Johnius carouna*) and Goatee croaker (*Dendrophysa russelli*) in Tumbon Aungsila, Chonburi

Province งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ (วท.บ. (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์))--มหาวิทยาลัยบูรพา, 75 หน้า.

ประไพสิริ สิริกาญจน. 2546. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 270 หน้า.

มนูญ ไพบูลย์. (2524). Ascaridoid nematode larvae in marine fishes from the Gulf of Thailand. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 12: 590-594.

Yamaguti, S. 1961. Systema Helminthum : Volume III. The Nematodes of Vertebrate Part I, II. Interscience Pulishers, Inc., New York. 1,261 pp.

Conroy, D.A. and R.L. Herman. 1970. Textbook of fish diseases.*T.F.H. Publications, INC.* p. 214-220

Margolis, L. R. 1982. Recommended usage of selected terms in ecological and epidemiological parasitalogy. *Bull. canad. Soc. ZoologiSls,* 13: 14.

Setyobudi, E. Soeparno, Helmiati, S. 2011. Occurrence and identification of *Anisakis* spp. (Nematoda:Anisakidae) isolated from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in Korea. Parasitol. Res**.** 108: 585–592.

Sindermann, C. J. 1970. Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish. Academic Press, Inc., New York and London. 369 pp.

Woo, P.T.K. 1995. Fish Diseases and Disorders. Volume1. Protozoan and Metazoan Infections. Department of Biology. St Mary' University Halifax, Nova Scotia, Canada. pp. 329-389.

Yamaguti, S. 1961. Systema Helminthum : Volume III. The Nematodes of Vertebrate Part I, II. Interscience Pulishers, Inc., New York. 1,261 pp.

กิจกรรมการผลิตลูกพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 5 (ภูเก็ต) ได้ดำเนินการเพาะพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า 2 วิธีการ

1. การเพาะพันธุ์แบบผสมเองตามธรรมชาติ

คัดพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่มีน้ำเชื้อและไข่จากกระชังเพื่อนำมาเพาะพันธุ์โดยเลี้ยงในบ่อคอนกรีตระบบน้ำหมุนเวียนจำนวน 3 ชุด

พ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 1 เลี้ยงในบ่อคอนกรีตกลมความจุ 20 ลูกบาศก์เมตร ระบบน้ำหมุนเวียน โดยปล่อยเพศผู้ จำนวน 2 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 3.35 กิโลกรัม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 2.75 กิโลกรัม เมื่อวันที่ 4 กันยายน 2560 ดำเนินเพาะพันธุ์ด้วยการฉีดฮอร์โมนในพ่อแม่พันธุ์ปลาทั้งหมด เมื่อวันที่ 26 มิถุนายน 2561 โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ (motilium) แม่ปลาฉีดอัตราฮอร์โมนสังเคราะห์ 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พ่อปลาฉีดอัตราฮอร์โมนสังเคราะห์ 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การฉีดฮอร์โมนพ่อแม่พันธุ์ปลา

การดูดสเปิร์มเพื่อนำไปตรวจสอบ

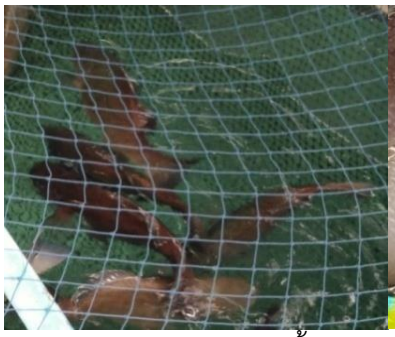
ผลการดำเนินงาน

การวางไข่และจำนวนไข่ของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 1

วัน เดือน ปี	ข้างขึ้น/ข้างแรม	ไข่ทั้งหมด(ฟอง)	ไข่ดี (ฟอง)	ไข่ดี (%)	ฟัก (ตัว)	อัตราฟัก (%)
27มิ.ย. 2561	ขึ้น 15 ค่ำ	42,000	6,600	15.71	0	0
28มิ.ย. 2561	แรม 1 ค่ำ	25,056	11,571	46.18	1,466	12.67

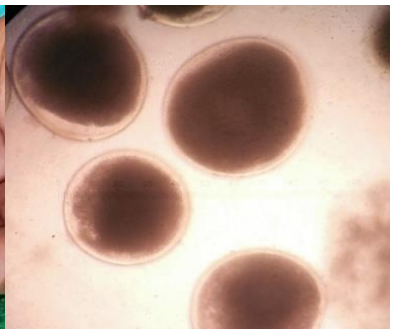
พ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 2 เลี้ยงในบ่อคอนกรีตกลมขนาด 150 ลูกบาศก์เมตร ระบบน้ำหมุนเวียน โดยปล่อยพ่อพันธุ์ปลา จำนวน 8 ตัว แม่พันธุ์ปลาจำนวน 10 ตัว เมื่อวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2561 ดำเนินการฉีดฮอร์โมนในพ่อพันธุ์ปลาจำนวน 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 3.27 กิโลกรัม แม่พันธุ์ปลาจำนวน 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 2.9 กิโลกรัม เมื่อวันที่ 12 มิถุนายน 2561 โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ (motilium) แม่

ปลาฉีดอัตราฮอร์โมนสังเคราะห์ 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พ่อปลาฉีดอัตราฮอร์โมนสังเคราะห์ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



พ่อแม่พันธุ์ปลาในบ่อเลี้ยง

การดูดไข่ปลาเพื่อนำไปตรวจสอบ



ไข่ปลาขนาด 400-450 ไมครอน

ผลการดำเนินการ

การวางไข่และจำนวนไข่ของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 2

วัน เดือน ปี	ข้างขึ้น/ข้างแรม	ไข่ทั้งหมด(ฟอง)	ไข่ดี (ฟอง)	ไข่ดี (%)	ฟัก (ตัว)	อัตราฟัก (%)
13 มิ.ย.2561	ขึ้น 1 ค่ำ	78,000	23,400	30	0	0
15 มิ.ย.2561	ขึ้น 3 ค่ำ	53,000	25,000	47.17	0	0
21 มิ.ย.2561	ขึ้น 9 ค่ำ	3,500	1,400	40	0	0
22 มิ.ย.2561	ขึ้น10 ค่ำ	39,000	26,000	65.16	200	0.77
2 ก.ค.2561	แรม 5 ค่ำ	39,900	9,000	22.56	0	0
8 ก.ค.2561	แรม 11 ค่ำ	7,000	2,000	28.57	0	0
10 ก.ค.2561	แรม 13 ค่ำ	82,000	7,500	9.15	0	0
13 ก.ค.2561	ขึ้น 1 ค่ำ	22,500	0	0	0	0
16 ก.ค.2561	ขึ้น 4 ค่ำ	45,000	1,000	2.22	0	0
18ก.ค.2561	ขึ้น 6 ค่ำ	10,666	0	0	0	0

พ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 3 เลี้ยงในบ่อคอนกรีตสี่เหลี่ยมขนาด 20 ลูกบาศก์เมตร ระบบน้ำหมุนเวียน โดยปล่อยเพศผู้ จำนวน 1 ตัว น้ำหนัก 4 กิโลกรัม เพศเมีย จำนวน 3 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 2.5 กิโลกรัม เมื่อวันที่ 26 มีนาคม 2562

ผลการดำเนินการ

การวางไข่และจำนวนไข่ของแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าชุดที่ 3

วัน เดือน ปี	ข้างขึ้น/ข้างแรม	ไข่ทั้งหมด(ฟอง)	ไข่ดี (ฟอง)	ไข่ดี (%)	ฟัก (ตัว)	อัตราฟัก (%)
10 เม.ย. 62	ขึ้น 6 ค่ำ	85,714	21,428	24.99	0	0
13 เม.ย. 62	ขึ้น 9 ค่ำ	205,685	171,400	83.33	0	0
16 เม.ย. 62	ขึ้น 12 ค่ำ	125,713	57,142	45.45	0	0
10 พ.ค. 62	ขึ้น 7 ค่ำ	95,313	61,028	64.02	0	0
28 พ.ค. 62	แรม 10 ค่ำ	30,400	0	0	0	0
29 พ.ค. 62	แรม 11 ค่ำ	178,571	78,571	43.99	0	0

อาหารเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาทั้ง 3 ชุด

อาหารที่ใช้พ่อแม่พันธุ์ทั้ง 3 ชุดเป็นปลาข้างเหลืองสดที่ตัดหัวและเอาลำไส้ออก เสริมวิตามินอี วิตามินซี สไปรูลิน่า น้ำมันปลา โดยใส่ในท้องปลา แต่ละครั้งให้ปลากินอาหารจนอิ่ม โดยทั่วไปปลากินอาหารประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลา วันเว้นวัน

2. การเพาะพันธุ์แบบผสมเทียม

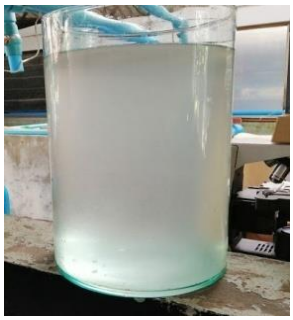
ดำเนินการฉีดฮอร์โมนในพ่อแม่พันธุ์ปลาเพื่อผสมเทียมได้ดำเนินการ 6 ครั้ง ดังนี้

1. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากกระชังและจากระบบน้ำหมุนเวียนเมื่อวันที่ 9 ตุลาคม 2562 ได้พ่อพันธุ์ปลาที่มีน้ำเชื้อดี จำนวน 5 ตัว และแม่พันธุ์ที่มีไข่สมบูรณ์ จำนวน 2 ตัว คือ แม่ปลาตัวที่ 1 มีน้ำหนัก 2 กิโลกรัม ขนาดไข่ 400-420 ไมครอน เข็มที่ 1 ฉีดกระตุ้นโดยใช้ Puberogen อัตรา 200 IU/กิโลกรัม เมื่อครบ 12 ชั่วโมง ฉีดเข็มที่ 2 ฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ อัตรา 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแม่ปลาตัวที่ 2 มีน้ำหนัก 4.8 กิโลกรัม ขนาดไข่ 750-800 ไมครอน ฉีดกระตุ้นโดยฮอร์โมนสังเคราะห์ อัตรา 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนพ่อพันธุ์ปลาฉีดกระตุ้นโดยฮอร์โมนสังเคราะห์ อัตรา 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และยาเสริมฤทธิ์ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังจากเข็มที่ 2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เริ่มตรวจสอบความพร้อมสำหรับการวางไข่ของแม่ปลา แม่ปลาตัวที่ 1 พร้อมวางไข่ จึงทำการรีดไข่และน้ำเชื้อผสมกัน นำไข่ปลาไปฟักในถังฟักไข่ หลังจากนั้น 12 ชั่วโมง ตรวจสอบพบว่าไข่ปลาไม่มีพัฒนาการ ส่วนแม่ปลาตัวที่ 2 ไม่วางไข่

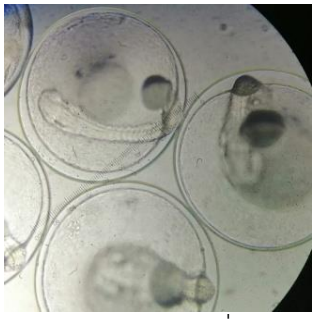
2. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากจากระบบน้ำหมุนเวียน ดำเนินการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ในแม่ปลาจำนวน 2 ตัว เมื่อวันที่ 31 พฤษภาคม 2562 ซึ่งแม่ปลามีไข่ขนาด 390 และ 500 ไมครอน โดยฉีด 2 เข็ม เข็มที่ 1 ฉีดอัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เข็มที่ 2 ฉีดอัตรา 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (เข็มที่ 1 และ 2 ห่างกัน 12 ชั่วโมง) หลังจากฉีดเข็มที่ 2 ประมาณ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบแม่ปลา เมื่อแม่ปลาพร้อมสำหรับรีดไข่ปลา ก็ดูดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาลงในภาชนะที่เตรียมไว้ซึ่งมีน้ำทะเล และทำการรีดไข่จากแม่พันธุ์ปลาลงผสมทิ้ง

ไว้ประมาณ 1-2 นาที ไข่และสเปิร์มได้ปฏิสนธิ หลังจากนั้นให้อากาศเบาๆ นำไข่ที่ได้รับผสมไปฟักในถังเพื่อฟักไข่ต่อไป ซึ่งการผสมเทียมครั้งนี้แม่ปลาสามารถรีดไข่ได้ 1 ตัว ได้ไข่ทั้งหมด 510,000 ฟอง เป็นไข่ที่ได้รับผสม 341,700 ฟอง และได้ลูกปลา 132,670 ตัว คิดเป็นอัตราฟัก 38.83 % นำลูกปลาที่ได้ไปอนุบาลเลี้ยงในบ่อคอนกรีต

ดูดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลา



ไข่และสเปิร์มผสมกันในโหลแก้ว



พัฒนาการของไข่ปลาที่ได้รับผสม

ถังฟักไข่ปลา

ลักษณะลูกปลาหลังจากฟักเป็นตัว

3. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากกระชัง ดำเนินการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ในแม่พันธุ์ปลาจำนวน 2 ตัวเมื่อวันที่ 28 มิถุนายน 2562 ซึ่งแม่ปลามีไข่ขนาด 375 และ 425 ไมครอน โดยฉีดฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์จำนวน 2 เข็ม เข็มที่ 1 อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เข็มที่ 2 อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (เข็มที่ 1 และ 2 ห่างกัน 12 ชั่วโมง) หลังจากฉีดเข็มที่ 2 ประมาณ 24 ชั่วโมง รีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาลงในภาชนะซึ่งมีน้ำทะเลและรีดไข่จากแม่พันธุ์ปลาลงผสม นำไข่ที่ได้รับผสมไปฟักในถัง ซึ่งการผสมเทียมครั้งนี้แม่ปลาสามารถรีดไข่ได้ 1 ตัว ได้ไข่ทั้งหมด 12,380 ฟอง แต่ไข่ไม่ได้รับการผสม

4. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากกระชัง ดำเนินการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) แม่พันธุ์ปลาจำนวน 1 ตัว เมื่อวันที่ 8 กรกฎาคม 2562 แม่ปลามีไข่ขนาด 440 ไมครอนโดยฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์จำนวน 2 เข็ม เข็มที่ 1 ฉีดอัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เข็มที่ 2 อัตรา 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (เข็มที่ 1 และ 2 ห่างกัน 12 ชั่วโมง) หลังจากฉีดเข็มที่ 2 ประมาณ 24 ชั่วโมง ไม่สามารถรีดไข่ออกมาผสมได้

5. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากจากระบบน้ำหมุนเวียน ดำเนินการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ในแม่พันธุ์ปลาจำนวน 2 ตัว เมื่อวันที่ 11 กันยายน 2562 ซึ่งแม่ปลามีขนาด 3.1 และ 3.1 กิโลกรัม

ตัวที่ 1 มีไข่ขนาด 400 ไมครอน ตัวที่ 2 มีขนาดไข่ 440 ไมครอน ฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) จำนวน 2 เข็ม เข็มที่ 1 อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัมและยาเสริมฤทธิ์ (motilium) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข็มที่ 2 อัตรา 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัมและยาเสริมฤทธิ์ (motilium) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (เข็มที่ 1 และ 2 ห่างกัน 12 ชั่วโมง) หลังจากฉีดเข็มที่ 2 ประมาณ 25 ชั่วโมง 30 นาที รีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาลงในภาชนะซึ่งมีน้ำทะเลและรีดไข่จากแม่พันธุ์ปลาลงผสม ซึ่งการผสมเทียมครั้งนี้สามารถรีดไข่จากแม่ปลาได้ทั้งสองตัว ดังนี้ แม่ปลาตัวที่ 1 ได้ไข่ทั้งหมด 26,000 ฟอง ฟักเป็นตัวจำนวน 8,300 ตัว แม่ปลาตัวที่ 2 ได้ไข่ทั้งหมด 122,500 ฟอง ฟักเป็นตัวจำนวน 98,000 ตัว

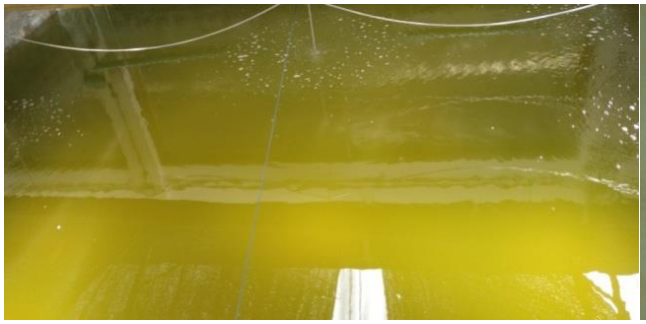
6. คัดพ่อแม่พันธุ์ปลาที่สมบูรณ์เพศจากจากระบบน้ำหมุนเวียน ดำเนินการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) ในแม่พันธุ์ปลาจำนวน 3 ตัว เมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2563 ซึ่งแม่ปลามีขนาด 4.2 3.9 และ 2.6 กิโลกรัม ตัวที่ 1 มีไข่ขนาด 450-500 ไมครอน ตัวที่ 2 มีขนาดไข่ 300-400 ไมครอน ฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (suprefact) จำนวน 2 เข็ม เข็มที่ 1 อัตรา 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัมและยาเสริมฤทธิ์ (motilium) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข็มที่ 2 อัตรา 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัมและยาเสริมฤทธิ์ (motilium) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (เข็มที่ 1 และ 2 ห่างกัน 12 ชั่วโมง) หลังจากฉีดเข็มที่ 2 ตัวที่ 1 ประมาณ 29 ชั่วโมง 30 นาที รีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาลงในภาชนะซึ่งมีน้ำทะเลและรีดไข่จากแม่พันธุ์ปลาลงผสม ตัวที่ 2 ประมาณ 31 ชั่วโมง 30 นาที รีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาลงในภาชนะซึ่งมีน้ำทะเลและรีดไข่จากแม่พันธุ์ปลาลงผสม ส่วนตัวที่ 3 ไม่สามารถรีดไข่เพื่อผสมเทียมได้ แม่ปลาตัวที่ 1 ได้ไข่ทั้งหมด 88,094 ฟอง แม่ปลาตัวที่ 2 ได้ไข่ทั้งหมด 204,761 ฟอง ซึ่งไข่ที่ได้จากการผสมเทียมไม่มีพัฒนาการ

การอนุบาลลูกปลากะรังจุดฟ้าที่ได้จากการผสมเทียม

นำลูกปลากระรังจุดฟ้าที่ฟักเป็นตัวแล้วย้ายมาอนุบาลต่อในบ่อภายในโรงเพาะฟักของ ศพช ภูเก็ต ซึ่งการอนุบาลมีการให้อาหารลูกปลาวัยอ่อนตามตาราง

การให้อาหารตามอายุลูกปลา

ชนิดอาหาร	**อายุลูกปลา (วัน)**
	0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
นอเพลียสโคพีพอด	
โรติเฟอร์<60 ไมครอน	
โรติเฟอร์ทุกขนาด	
อาร์ทีเมียแรกฟัก	
โคพีพอด	
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย	
เนื้อปลาบด	
อาหารเม็ดผสมปลาบด	



บ่ออนุบาลลูกปลากะรังจุดฟ้า

ลูกปลากะรังจุดฟ้าอายุ 3 สัปดาห์

ปัญหาและอุปสรรคในการเพาะพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้า

1. การผสมเทียมไม่ได้ลูกปลากะรังจุดฟ้าทุกครั้งเนื่องจากพ่อแม่พันธุ์มีลักษณะพยาธิวิทยาที่อวัยวะสืบพันธุ์ซึ่งจากการตรวจสอบอาจเกิดจากปรสิตภายในทำให้ระบบการทำงานของอวัยวะภายในผิดปกติ ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากกินปลาสดเป็นอาหารเป็นเวลานาน การแก้ปัญหาคือพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงให้อาหารเม็ด
2. การผลิตลูกปลากะรังจุดฟ้าแบบมหมวลไม่สามารถทำได้เนื่องจากขาดพ่อแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์ไม่มีลักษณะผิดปกติที่อวัยวะสืบพันธุ์
3. สืบเนื่องมาจากระเบียบการเบิกจ่ายของพัสดุแบบใหม่ทำให้การปรับปรุงโรงเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าและโรงอนุบาลลูกปลากะรังจุดฟ้าไม่สามารถดำเนินการได้ตามเวลาส่งผลให้ม่สามารถดำเนินการได้ตามแผนในช่วงเวลาที่ควจะเพาะพันธุ์สัตว์น้ำและได้ผลผลิตลูกพันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าไม่ได้ตามแผน