

บทคัดย่อ

ปลาบึกมีความสำคัญต่อการอนุรักษ์และมีศักยภาพสูงในเชิงสัตว์น้ำเศรษฐกิจตัวใหม่ของ ภูมิภาคอินโดจีน อย่างไรก็ตามปลาบึกยังมีข้อจำกัดในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ และความต้องการลูกปลาบึก เนื่องจากปลาบึกที่เลี้ยงในบ่อดินต้องใช้เวลาประมาณ 16 ปี จึงสามารถเจริญพันธุ์และผสมเทียมได้ การวิจัยระหว่างปี 2543-2545 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐาน อาทิเช่น ปริมาณฮอร์โมนเพศและการเจริญพันธุ์ในรอบปี การหาอายุปลาบึกจากกระดูกครีบทูและลักษณะโครโมโซม ตลอดจนการกระตุ้นการเจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาบึกในบ่อดินเพื่อการผสมเทียม โดยการให้ฮอร์โมนในรูปแบบที่เหมาะสม จากการศึกษาพบว่า **ลักษณะของโครโมโซมปลาบึก** จากเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นแบบ เมตาเซนตริก 5 คู่, สับเมตาเซนตริก 13 คู่, สับทีโลเซนตริก 7 คู่ และอะโครเซนตริก 5 คู่ มีจำนวนโครโมโซม $2n=60$ ลูกปลาบึกจำนวน 15 ตัวจากแม่น้ำโขงมีลักษณะโครโมโซมเหมือนกับปลาบึกจากเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชลและเขื่อนแม่วงอุดมธาราจำนวน 5 ตัว และสังเกตโครโมโซมเพศปลาบึก บางตัวจากบ่อเลี้ยง (3 ตัว) โดยเพศเมียมีความเป็นไปได้ที่มีโครโมโซมเพศแบบ XX ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมแบบ XY

การวิเคราะห์อายุจากวงปีในกระดูกครีบทู จากการศึกษาปลาบึกที่เลี้ยง ณ บ่อภาควิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จากเขื่อนแม่วงอุดมธารา เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล และจากแม่น้ำโขง ผลการศึกษาปลาบึก มีอายุเฉลี่ย 8, 6, 13 และ 22 ปี ตามลำดับ **คุณสมบัติการปลดปล่อยฮอร์โมน** **แขวนลอยในน้ำมันถั่วเหลือง** พบว่า estradiol (E2) มีการปลดปล่อยผ่าน membrane น้อยมาก เมื่อเทียบกับ GnRHa ที่สามารถปลดปล่อยได้ประมาณ 60 % ที่เวลาประมาณ 50 ชั่วโมง ในขณะที่ domperidone (DOM) และ testosterone (T) ปลดปล่อยได้ประมาณ 1 % ส่วน estradiol (E2) ปลดปล่อยได้ประมาณ 0.01 % E2 และ T มีความคงตัวมากกว่า GnRHa ใน soybean oil จากข้อมูลพื้นฐานดังกล่าวสามารถนำไปใช้จัดการและอธิบายผลการฉีดฮอร์โมนต่อพ่อแม่พันธุ์ปลาสาวยและปลาบึกต่อไป

การฉีดฮอร์โมนในปลาสาวย อายุ 1.5 ปี น้ำหนัก 0.6 กก. หลังฉีดด้วยน้ำมันถั่วเหลืองและฮอร์โมน GnRHa 100-300 $\mu\text{g/kg}$ ผสม DOM 5-20 mg/kg นาน 150 วัน (มิถุนายน) และ 240 วัน (กันยายน) ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (GSI) และปริมาณฮอร์โมนเพศเพิ่มขึ้นกว่าก่อนฉีด โดยมีค่า 14.5-24 % และ 6.3-9 % ในเพศเมียและเพศผู้ตามลำดับ ค่า T มีค่าระหว่าง 14-14.6 ng/ml และ E2 มีค่าระหว่าง 0.58- 1.42 ng/ml พบระยะ spermatozoa ในอณฑะและพบระยะไข่สุกในรังไข่ ปลาสาวยเริ่มพร้อมเข้าสู่ฤดูวางไข่ หลังจากฉีดฮอร์โมนนาน 172 วัน (22 กรกฎาคม) ประสบผลสำเร็จในการผสมเทียมโดยมีอัตราผสม 55-74.35 % ค่า GSI ของอวัยวะสืบพันธุ์ มีค่าลดลงหลังฉีดฮอร์โมนนาน 300 วัน (พฤศจิกายน)

ฮอร์โมนเพศและการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปีปลาบึก ณ จรัลฟาร์ม อ.พาน จ. เชียงราย ปลาบึกอายุ 6 ปี (12 กก.) มีปริมาณน้อยมากในรอบปีวัด testosterone (T) ได้ 0.02 –0.04

ng/ml และ estradiol (E2) 0.01-0.04 ng/ml ในช่วงฤดูวางไข่ เดือน พ.ค.-ก.ค. ซึ่งแนวโน้มคล้ายกับปลาบึกอายุ 8 ปี (12 กก.) ณ ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งมีดัชนีความสมบูรณ์เพศ (GSI) เดือนพฤษภาคมสูงกว่าช่วงอื่น โดยเพศเมียมีค่า 0.36 % ส่วนเพศผู้มีค่า 0.05 % การใช้ฮอร์โมนผสมในน้ำมันถั่วเหลืองต่อการเจริญพันธุ์ ปลาบึกอายุ 7 ปี (14 กก.) ณ จรัลฟาร์ม หลังการฉีดน้ำมันถั่วเหลืองและฮอร์โมน GnRHa ผสม DOM นาน 60 วัน (มิถุนายน) วัดปริมาณฮอร์โมนเพศได้มากขึ้น เช่นเดียวกับปลาบึกอายุ 9 ปี (14 กก.) ณ ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง และมีดัชนีการพัฒนาวัยวะสืบพันธุ์พัฒนาดีกว่าปลาที่ฉีดด้วย E2 หลังจากฉีดฮอร์โมน 82 วัน สามารถรีดไข่ได้แต่ไม่สมบูรณ์ ส่วนน้ำเชื้อสมบูรณ์ดี หลังจากฉีด 150 วัน และ 120 วัน ที่จรัลฟาร์มและที่ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง ปริมาณฮอร์โมนและ GSI ลดลง

การฉีดฮอร์โมนผสมในน้ำมันถั่วเหลืองและแบบปกติ ปลาบึกจากจรัลฟาร์มอายุ 8 ปี น.น. 16 กก. หลังจากฉีด Soybean oil อย่างเดียว และที่ผสมฮอร์โมนในช่วงฤดูวางไข่ ระดับฮอร์โมนเพศมีแนวโน้มมากขึ้นกว่าปลาอายุ 6 และ 7 ปี ในช่วงเวลาเดียวกัน และสามารถดูไข่ขนาดเล็กมากได้เล็กน้อยจากปลาที่ฉีดฮอร์โมน ส่วนปลาบึกอายุ 10 ปี (17 กก.) ณ ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง หน่วยทดลองที่ฉีดด้วย GnRHa 50 µg/kg ทุกสัปดาห์โดยลดปริมาณลงครึ่งหนึ่งในช่วงฤดูการวางไข่ หลังการฉีดครั้งที่หนึ่งนานหนึ่งสัปดาห์ (13 พฤษภาคม) ค่า T และ E2 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเพศผู้ T มีค่า 800 ng/ml และในเพศเมีย E2 มีค่า 3.18 ng/ml หลังการฉีดครั้งที่สองหนึ่งสัปดาห์ (21 พฤษภาคม) T มีแนวโน้มลดลงในเพศผู้ ส่วนค่า E2 เพิ่มขึ้นในเพศเมียมีค่า 7.27 ng/ml หลังการฉีดฮอร์โมนครั้งที่สามหนึ่งสัปดาห์ (30 พฤษภาคม) ค่า T และ E2 เปลี่ยนแปลงไม่มาก และสามารถรีดไข่และน้ำเชื้อได้จำนวนตัวมากที่สุด ความคอกของไข่ปลาบึก/1 กรัม มีค่าเฉลี่ย 784 ฟอง อสุจิที่เจือจางด้วย 0.9% NaCl (1: 5) เก็บที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถประสบความสำเร็จในการผสมเทียมกับไข่ปลาบึกอายุ 16 ปี (หนัก 54 กก.) ที่สถานีประมงน้ำจืด จ. เพชรบูรณ์ ได้ลูกปลา 600 ตัว **และประสบความสำเร็จในการผสมเทียมที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้** หลังจากฉีดด้วยฮอร์โมนครั้งที่สี่นาน 75 วัน (26 กรกฎาคม) โดยใช้ไข่สดและไข่จากปลาบึกอายุ 10 ปี น้ำหนัก 17 กก. ได้ไข่หนัก 650 กรัม อัตราผสมระยะ แกสตุลา 10 % ได้เป็นตัว 11 ตัว การเก็บน้ำเชื้อแช่แข็ง เก็บนาน 7 วันในสารละลายที่ประกอบด้วย glucose 540 mg และ methanol 8 % อัตราระหว่างน้ำเชื้อกับสารละลาย 1:1 ประสบผลสำเร็จในการผสมเทียมโดยมีอัตราผสมสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 37.62 %

ผลจากการวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จในการสร้างพ่อแม่พันธุ์ปลาบึกอายุ 10 ปี ซึ่งจะช่วยการอนุรักษ์ปลาบึกไม่ให้สูญพันธุ์ รวมทั้งได้ข้อมูลพื้นฐานและประยุกต์ที่จะสามารถเพิ่มโอกาสในการพัฒนาปลาบึกเชิงอาชีพอย่างเป็นระบบและมีคุณภาพได้เป็นรูปธรรมต่อไปในอนาคต

Abstract

The Mekong Giant Catfish (MGC) is worth of conservation for its own sake but is also of potentially high economical value to the people living in Indo China. However, at present there are shortages of both brood stock and fingerling stock. MGC raised in earthen ponds take about 16 years to reach maturity and ready to be great broodfish. The objective of this research is to reduce the age of the brood stocks for both males and females rearing in earthen ponds by inducing maturity using a suitable formula of the exogenous synthetic hormones. The basic knowledge of chromosome, hormonal profile and the effects of synthetic hormones on sex hormone level as well as gonadosomatic index were also evaluated. According to the results obtained from 2543-2545, related to the difficulty of differentiation between male and female fish, we determined the difference between males and females by using sex chromosome typing. **Chromosome karyotype**, The MGC chromosomes derived from blood lymphocytes consist of 5 pairs of metacentric, 13 pairs of sub metacentric, 7 pairs of sub telocentric, and 5 pairs of acrocentric. Total chromosome is $2n=60$. In addition, they have potential for XX sex chromosome for females and XY sex chromosome for males (3 fish from earthen ponds). **Annual ring in pectoral fins**, The average age of fish was determined from the annual rings of the cross section of the pectoral fins. The average age of fish from earthen pond, Mae- Kuang reservoir, Mae- Ngad reservoir and the Maekong river were 8, 6, 13 and 22 years old, respectively. **The hormone released properties suspension in soybean oil**, Very few hormones released from a suspension in soybean oil, estradiol and testosterone, passed through the membrane. On the other hand, 60 % GnRH α were passed through the membrane in 50 hours. Domperidone together with testosterone was released only 1 %. Estradiol was the lowest released only 0.01 %. Estradiol and testosterone mixed in soybean oil were more stable than GnRH α . These basic information were used for stock management and explanation the effect of hormone induction to the Sawai Catfish and the MGC broodstock.

Hormone in soybean oil for Sawai maturation, 150 days (June) and 240 days after treatment, GSI and sexual hormones in 1.5-year-old Sawai Catfish (0.6 kg) were higher than before hormone application. The increment was found in catfish which had received soybean oil and 100-200 $\mu\text{g/kg}$ GnRH α in combination with 5-20 mg/kg DOM. The 14.5-24 and 6.3-9 % increase in GSI were found in females and males, respectively. T levels were 14-14.6 ng/ml while E2 were 0.58-1.42 ng/ml. Most sperm were in the spermatozoa stage while most eggs were in the germinal vesicle breakdown stage. The catfish which received 100-300 $\mu\text{g/kg}$ GnRH α together with 5-20

mg/kg DOM showed the fertilization rate (55-74.35 %) 172 days (July) after treatment. The levels of sexual hormones and GSI reduced after the 300 day hormone injection (November). These results show that the Sawai catfish can be used as a model for hormone stimulation of the MGC.

Hormone profile and gonadosomatic index (GSI), At Charun farm, Chiang Rai the annual cycle of T (0.02-0.04 ng/ml) and E2 9 (0.01-0.04 ng/ml) were detected in very few level in May-July, 2000. T and E2 profile were slightly lower than the twelve 8-year-old MGC (12 kg) at the Department of Fisheries Technology, Maejo University. GSI increased 0.36 and 0.05 % in male and female only in that period. **Hormone in soybean oil for fish maturation,** At Charun farm, In June 2001, 7-year-old MGC treated with soybean oil and GnRHa in combination with DOM secreted high or E2 hormone found after 60 day (June) than before treatment. There were same trend with 9-year-old MGC (14 kg) at Department of Fisheries. The GSI were 9.01 % and 2.05 % found in females and males, respectively. A 80 day after hormone injection the sperm and eggs could be stripped but there were not fertilization. After 150 and 120 days, T and E2 and GSI at Charun farm and Department of Fisheries were decline. **Hormone in soybean oil and normal form for fish maturation,** At Charun farm, MGC 8 years olds; weight 16 kg. After treated with soybean oil and hormone tended to secrete higher hormones after treatment than 7 and 6 year olds MGC. At Department of Fisheries, 10-year-old MGC (17 kg) received 50 µg/kg GnRHa with three consecutive reductions in a half every week. A week after first injection (May 13, 2002), T levels tended to increase in all treatments with the highest 800 ng/ml in males and 3.18 ng/ml in females. A week after second injection (May 21, 2002), T levels decreased slightly in males but E2 levels increased in females. T levels did not change much after third injection (May 30, 2002) in males while E2 decreased in females. The greater amounts of T in males and E2 in females were found in 2002 which are higher than in year 2001 and 2000 since the older MGC had more sexual development when they grow up. Exogenous hormone application is also stimulating the MGC to release higher sexual hormones and ovulation. The evidence was clear by using the chilling sperm to produce 600 MGC fingerling at Phayao Freshwater Research Station. As a result, artificial breeding was successful after 75 day of the last treatment and the 11 MGC fingerlings were obtained. Additional research on sperm cryopreservation found that sperm kept in extender (glucose 540 mg and methanol 8 %) with a ratio of 1:1 after 7 days could provide the highest fertilization rate (37.67 %).

The successful induction of 10-year-old MGC reared in earthen ponds to reach maturity for artificial breeding could be beneficial to conservation and artificial breeding for brood stock

reared in earthen pond. More basic and applied researches are further needed to develop sustainable commercial culture for the MGC.