ผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa) ต่อการเจริญของรังไข่ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther)

Effects of Pituitary Hormone and LHRHa on the Ovarian Development of Gunther's Walking Catfish (*Clarias macrocephalus* Gunther)

สันติชัย รังสิยาภิรมย์

Santichai Rungsiyapirom

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
...../...../.....

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2536

เลขหมู่ QL 639.2 ส13 2536 ก12

Bib Key 66097

...../...../.....

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa) ต่อการเจริญของรังไข่ปลาดุกอุย(*Clarias macrocephalus* Gunther)

ผู้เขียน นายสันติชัย รังสิยาภิรมย์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เริงชัย ตันสกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จินตมาศ สุวรรณจรัส)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เริงชัย ตันสกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จินตมาศ สุวรรณจรัส)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิติวงษ์ ตันติโชดก)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ศรีพงศ์พันธุ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

.....

(ดร.ไพรัตน์ สงวนไทร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa) ต่อการเจริญของรังไข่ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther)

ผู้เขียน นายสันติชัย รังสิยาภิรมย์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ปีการศึกษา 2536

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและฮอร์โมนสังเคราะห์(LHRHa) ต่อการเจริญของรังไข่ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther) โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลอง ดังนี้ คือ กลุ่มที่ 1 ฉีดด้วยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาหัวโตบด (*Aristichthys nobilis*) 2 ครั้ง เว้นช่วง 6 ชั่วโมง ในอัตรา 0.5 และ 1.5 โดส กลุ่มที่ 2 ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa) ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม กลุ่มที่ 3 ฉีดด้วย dopamine antagonist ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม กลุ่มที่ 4 ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ (LHRHa) ผสมกับ dopamine antagonist ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และกลุ่มที่ 5 ฉีดด้วยน้ำกลั่นเป็นกลุ่มควบคุม สารละลายจะใช้ในอัตรา 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม หลังจากฉีดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำแม่ปลามาผ่าท้องทุกกลุ่มการทดลอง ๆ ละ 6 ตัว นำรังไข่ปลาดุกอุยทำเป็นสไลด์ถาวร หาจำนวนเฉลี่ย(ร้อยละ)ของไข่ระยะต่าง ๆ ด้วยวิธีการนับจากกล้องจุลทรรศน์ และหาอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะต่าง ๆ (volume of structure) ใน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยวิธี stereology พบว่าในกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 4 จะมีไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็นไข่แก่เพิ่มขึ้นทั้งจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย แต่ในกลุ่มการทดลองที่ 1 จะมีไข่ระยะที่ 6 สูงกว่า แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับกลุ่มการทดลองอื่น ๆ จำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดย

เฉลี่ยไม่มีการเปลี่ยนแปลง และหลังจากการฉีดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำเช่นเดียวกัน พบว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 จะมีไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นอีก แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และกลุ่มการทดลองอื่น ๆ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แสดงว่าปลาดุกอุยมีแนวโน้มที่จะตอบสนองฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาหัวโตได้ดีกว่าฮอร์โมนสังเคราะห์

Thesis title Effects of Pituitary Hormone and LHRHa on the Ovarian Development of Gunther's Walking Catfish (*Clarias macrocephalus* Gunther)

Author Mr. Santichai Rungsiyapirom

Major program Biological Sciences

Academic year 1993

Abstract

Effects of pituitary hormone and Luteinizing Hormone Releasing Hormone analogue (LHRHa) on the ovarian development of Gunther's walking catfish *(Clarias macrocephalus* Gunther) were investigated. Females were induced by 5 different treatments as follows: big head carp *(Aristichthrys nobilis)* pituitary hormone (0.5 and 1.5 dose, injected once, then again after 6 hours), LHRHa 20 mu g/kg body wt., dopamine antagonist 5 mg/kg body wt., combination of LHRHa and dopamine antagonist (at the same rate as the treatments alone) and distilled water as control. In each treatment, the females were injected with 1 cm^3 of solution per 1 kg of body weight. Twelve females were injected for each treatment. Six hours after injection, six females from each treatment were killed and their ovarian follicles were examined. The average number (%) of 6th-stage oocytes was directly counted under a microscope and volume of the 6th-stage oocytes ($cm^3/100cm^3$) was examined by stereological method . In females treated with big head carp pituitary hormone and

females treated with LHRHa and dopamine antagonist, the average number and the volume of 6th-stage oocytes were higher than in the control, but statistically insignificant. The other treatments showed no difference. Twelve hours after injection, the remaining six females from each treament were killed, and their ovarian follicles were examined, using identical methods as for the six-hour interval. In females treated with big head carp pituitary hormone, the average number and the volume of 6th-stage oocytes were further increased, but still statistically insignificant. In females treated with LHRHa and dopamine antagonist, the average number and the volume of 6th-stage oocytes were not increased beyond the six-hour interval amounts. The other treatments again showed no difference from the control.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.เริงชัย ตันสกุล ประธานคณะกรรมการ ผศ.จินตมาศ สุวรรณจรัส กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัย และเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปิติวงษ์ ตันติโชดก กรรมการผู้แทนภาควิชาชีววิทยา รศ.ดร. สิริชัย ศรีพงศ์พันธุ์ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดพัทลุง และศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดสุราษฎร์ธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ในการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ ๆ และน้อง ที่ให้ความอุปการะและเป็นกำลังใจอย่างดียิ่ง ขอขอบพระคุณอาจารย์กรรณิกา สรรพานิช รศ.นิมพรรณ ตันสกุล ดร.อารักษ์ จันทศิลป์ และนายไพบูลย์ วัฒนกิจ ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านและเป็นกำลังใจอย่างดีเสมอมา ขอขอบพระคุณอาจารย์ท่านอื่นที่มิได้กล่าวนามที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน และขอบคุณพี่ ๆ น้องๆ นักศึกษาปริญญาโท เจ้าหน้าที่ในภาควิชาชีววิทยา สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดพัทลุง ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดสุราษฎร์ธานี และผู้ที่มิได้เอ่ยนามทุกท่าน ที่ได้ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

สันติชัย รังสิยาภิรมย์

สารบาญ

		หน้า
รายการตาราง		ช
รายการรูป		ฌ
1.	บทนำ	1
	วัตถุประสงค์	2
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2.	การตรวจเอกสาร	3
	ปลาดุกอุย	3
	ลักษณะโดยทั่วไป	3
	ความแตกต่างระหว่างเพศและฤดูวางไข่	3
	ลักษณะทั่วไปของไข่	3
	การสร้างไข่	3
	การแบ่งระยะของไข่	4
	ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของไข่และการตกไข่	7
	ฮอร์โมนที่ใช้เร่งให้ปลาตกไข่	9
3.	วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	13
4.	ผลการทดลอง	16
5.	วิจารณ์และสรุป	41
6.	เอกสารอ้างอิง	59
7.	ภาคผนวก	74

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ(±SE)ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะของปลาดุกอุยก่อนฉีดและหลังการฉีดต่อมใต้สมอง	31
2	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ(±SE)ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะของปลาดุกอุยก่อนฉีดและหลังการฉีด Suprefact	32
3	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ(±SE)ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะของปลาดุกอุยก่อนฉีดและหลังการฉีด Motilium	33
4	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ(±SE)ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะของปลาดุกอุยก่อนฉีดและหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium	34
5	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ(±SE)ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะของปลาดุกอุยก่อนฉีดและหลังการฉีดน้ำกลั่น	35
6	อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนและหลังการฉีดต่อมใต้สมอง	36
7	อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนและหลังการฉีด Suprefact	37
8	อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนและหลังการฉีด Motilium	38
9	อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนและหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium	39

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนและหลังการฉีดน้ำกลั่น	40
11	จำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะที่ 6 ก่อนและหลังการฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง และ Suprefact ผสมกับ Motilium	57

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	ไข่ปลาดุกอุยที่ 12 ชั่วโมง หลังการฉีดต่อมใต้สมองในอัตรา 2 โดส (เข็มที่ 1 0.5 โดส, เข็มที่ 2 1.5 โดส)	52
2	ไข่ปลาดุกอุยที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ในอัตรา 20 ไมโครกรัม และ 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	53
3	ไข่ปลาดุกอุยก่อนฉีดสารกระตุ้น (0 ชั่วโมง)	54
4	แสดงการจัดเรียงตัวของไข่ระยะต่าง ๆ	55
5	จำนวนไข่ระยะที่ 6 เป็นร้อยละ ที่ฉีดสารกระตุ้นต่าง ๆ กัน	56

บทนำ

ปลาดุกเป็นปลาน้ำจืดที่ประชาชนนิยมบริโภคกันมากชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นปลาที่มีรสชาติดีจึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งปี ด้วยเหตุนี้เกษตรกรจึงนิยมเลี้ยงปลาดุกกันแพร่หลายในหลายๆพื้นที่ ปลาดุกที่รู้จักกันดีในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther)และปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus* Linnaeus) ซึ่งความนิยมในด้านการบริโภคนั้นปลาดุกอุยได้รับความนิยมสูงกว่าปลาดุกด้าน เนื่องจากมีเนื้อนุ่มและมีรสชาติดีกว่าปลาดุกด้าน สำหรับการเพาะพันธุ์โดยวิธีผสมเทียมในประเทศไทย ตั้งแต่เริ่มมีการเพาะพันธุ์ปลามาจนถึงปัจจุบันจะนิยมใช้ฮอร์โมนที่ได้จากต่อมใต้สมองของปลาชนิดต่าง ๆ เพื่อเร่งให้พ่อแม่ปลาที่มีน้ำเชื้อและไข่อยู่ในขั้นสุกเต็มที่สามารถที่จะทำการรีดไข่ผสมเทียม วิธีการนี้ใช้ได้ผลดีในปลาเกือบทุกชนิด และแพร่หลายนิยมปฏิบัติกันในกลุ่มผู้เพาะพันธุ์ปลาทั่วไป ในขณะที่การเพาะเลี้ยงปลามีการขยายตัวอย่างรวดเร็วตลอดช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมาความต้องการพันธุ์ปลาชนิดต่าง ๆ เพื่อนำไปเลี้ยงมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น จนทำให้ราษฎรจำนวนมากหันมาประกอบอาชีพเพาะพันธุ์ปลา เพื่อจำหน่ายให้แก่ผู้ต้องการนำไปเลี้ยงเป็นปลาเพื่อการบริโภค จากจำนวนฟาร์มเพาะพันธุ์ที่ทวีจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ปริมาณความต้องการใช้ต่อมใต้สมองปลาเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้เกิดธุรกิจการซื้อขายต่อมใต้สมองปลาขึ้น ในตลาดที่มีการซื้อขายปลาสดกันเป็นจำนวนมาก เช่น บริเวณตลาดเก่าเยาวราช ในกรุงเทพฯ เป็นต้น แม้กระนั้นต่อมใต้สมองปลาที่มีอยู่ก็ยังไม่สามารถตอบสนองต่อความต้องการของผู้ใช้ได้อย่างเพียงพอ ต่อมใต้สมองปลาจึงมีราคาแพงและหายากขึ้น ดังนั้นนักวิชาการจึงพยายามแก้ไขปัญหาดังกล่าวนี้ด้วยการศึกษาคุณสมบัติของฮอร์โมนตัวอื่น ที่ให้ผลในการกระตุ้นการวางไข่ของปลา และมีการศึกษาพบว่า Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) ซึ่งมีกำเนิดในสมองส่วนไฮโพทาลามัส (Hypothalamus) ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถกระตุ้นให้ปลาวางไข่ได้ (Donaldson and Hunter, 1983; วัฒนะ ลีลาภัทร, 2532) สำหรับผลของ LHRH ต่อการกระตุ้นให้เกิดการวางไข่ในปลาดุกอุย ยังไม่มีการนำมาเปรียบเทียบกับผลของต่อมใต้สมองของปลาที่กระตุ้นให้เกิดการวางไข่ในปลาดุกอุย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาระยะต่าง ๆ ของไข่ปลาดุกอุย
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงภายในรังไข่ปลาดุกอุย
3. เปรียบเทียบผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาและ LHRHa ต่อรังไข่ปลาดุกอุย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบการเจริญของไข่ปลาดุกอุยระยะต่าง ๆ
2. เป็นแนวทางในการใช้ฮอร์โมนชนิดใหม่ เพื่อการเพาะขยายพันธุ์ปลา

การตรวจเอกสาร

ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther)

1. ลักษณะโดยทั่วไป

ปลาดุกอุยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias macrocephalus* Gunther มีชื่อสามัญว่า Gunther's walking catfish จัดอยู่ในวงศ์ Clariidae สกุล *Clarias* มีรูปร่างยาวเรียวส่วนหัวแบนลงมากมีแผ่นกระดูกบาง ๆ ต่อกันเป็นชั้น ๆ ปกคลุมทั้งด้านบนและด้านล่าง ภายในกระโหลกศีรษะมีอวัยวะที่ช่วยในการหายใจเรียกว่า aborescent organ หรือ dendrite มีลักษณะคล้ายพุ่มไม้ ลำตัวไม่มีเกล็ด มีหนวด 4 คู่ ตาเล็ก ฐานครีบหลังยาวเกือบตลอดส่วนหลัง ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางแยกออกจากกัน ฐานครีบก้นยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของฐานครีบหลัง ครีบหูมีก้านครีบใหญ่ 1 อัน เรียก pectoral spine ซึ่งมีลักษณะหยักเฉพาะด้านหน้าหรือหยักทั้งสองด้านลำตัวมีสีเทาปนดำ อาจมีจุดหรือไม่มี (โสภา อารีรัตน์, 2513)

2. ความแตกต่างระหว่างเพศและฤดูวางไข่

ปลาดุกอุยเจริญพันธุ์เมื่ออายุได้ 8 เดือนขึ้นไป โดยความแตกต่างระหว่างเพศจะสังเกตได้ชัดเจนจากลักษณะของอวัยวะเพศ ซึ่งเป็นทางออกของไข่ และน้ำเชื้ออยู่ถัดจากทวารหนักลงมา ปลาเพศเมียจะมีอวัยวะเพศรูปร่างรีรูปไข่ปลายมน ส่วนปลาเพศผู้มีอวัยวะเพศยาวเรียว ปลายแหลม ฤดูวางไข่ของปลาดุกอุยจะอยู่ในช่วงฤดูฝน ซึ่งเมื่อถึงฤดูวางไข่ปลาเพศเมียจะมีท้องอูมพอง ส่วนปลาเพศผู้จะมีลำตัวยาวเรียวเห็นได้ชัด (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

3. ลักษณะทั่วไปของไข่

ไข่ปลาดุกอุยเป็นไข่จม และติดกับวัสดุ สีน้ำตาลอมแดง มีลักษณะเป็นเม็ดกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.2 มิลลิเมตร (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

4. การสร้างไข่

กระบวนการสร้างไข่เรียกว่า oogenesis เกิดขึ้นในรังไข่ของปลาเพศเมีย แบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ คือ

4.1 oogonia proliferation เป็นระยะที่มีการเพิ่มจำนวนของ oogonia

4.2 vitellogenesis เป็นระยะที่มีการสร้าง และสะสม yolk ซึ่งเป็นอาหารของตัวอ่อน ซึ่งจะมีทั้งการสร้าง yolk ภายในเซลล์ของ oocyte และการรับ yolk จากภายนอกซึ่งตับเป็นตัวสร้าง แล้วปล่อยมาตามกระแสเลือด (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

4.3 oocyte final maturation เป็นระยะของการเจริญขั้นสุดท้ายของ oocyte เมื่อสิ้นสุดการเจริญขั้นสุดท้ายของ oocyte จะได้ไข่อย่างสมบูรณ์ ซึ่งถ้าหากสภาพของฮอร์โมนเหมาะสมก็จะเกิดการตกไข่ขึ้น โดยจะหลุดจาก follicle และเข้าสู่ช่องว่างภายในรังไข่หรือช่องท้องในปลาบางชนิด แต่ถ้าหากไม่เกิดการตกไข่ไข่ก็จะถูกทำลาย และถูกดูดซึมกลับเข้าสู่ตัวปลา (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531; Hoar, 1969)

5. <u>การแบ่งระยะของไข่</u>

การแบ่งระยะของไข่ภายในรังไข่มีการศึกษากันในปลาหลายชนิด เช่น การศึกษาของ Goswami และ Sundararaj (1971) ในปลาจีด (*Heteropneustes fossilis*) Al-Daham และ Bhatti (1979) ในปลา *Barbus luteus* Treasurer และ Holliday (1981)ในปลา perch (*Perca fluviatilis*) Forberg (1982) ในปลา capelin (*Mallotus villosus*), Groman (1982) ในปลา striped bass (*Morone saxatilis*) Richter และ Van Den Hurk (1982) ในปลา African catfish (*Clarias lazera*) Robb (1982) ในปลา haddock (*Melanogrammus aegtefinus*) Jalabert และ Fostier (1984) ในปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*)

การศึกษาระยะของไข่ภายในรังไข่ปลาดุก ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ (2530) ได้ทำการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อในปลาดุกด้าน พบว่าสามารถแบ่งระยะของไข่ออกได้เป็น 6 ระยะตามที่ Groman (1982) อธิบายไว้ในปลา striped bass คือ

ระยะที่ 1 (oocyte stage 1) ไข่จะมีขนาดเล็กและยังอยู่ในรูปของ oogonia เป็นกลุ่มก้อนมีเนื้อเยื่อบาง ๆ คลุม ไซโทพลาซึมติดสีชมพู มีนิวเคลียสกลมขนาดใหญ่อยู่ตรงกลางเซลล์

ระยะที่ 2 (oocyte stage 2) ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่มากอยู่ตรงกลางเซลล์ โครมาตินกระจายติดสีจางกว่าไซโทพลาซึม ไข่ระยะนี้เป็นระยะ prophase ของ meiosis I ขณะที่ primary oocyte เจริญเติบโตจะมี follicular epithelium บาง ๆ ชั้นเดียวมาห้อมล้อม ไข่ระยะนี้จะเริ่มเคลื่อนตัวออกมาจากผนัง lamellae ที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ยึดไข่

ระยะที่ 3 (oocyte stage 3) ไข่จะมีขนาดใหญ่ขึ้นมีการพัฒนาของ follicular cell มากขึ้น นิวเคลียสอาจจะอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้น นิวเคลียสติดสีชมพู และเริ่มเห็น provitelline nucleoli กระจายอยู่ในนิวเคลียส และบางส่วนจะเริ่มเคลื่อนตัวไปอยู่รอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียสเกิดเป็น euvitelline nucleoli

ระยะที่ 4 (oocyte stage 4) ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น รูปร่างมักเป็นเหลี่ยม พบ euvitelline nucleoli ที่ขอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส นิวเคลียสติดสีชมพู ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจางกว่าในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 เริ่มมีการเกิด yolk vacuoles (fat vacuoles) และ yolk granules ในไซโทพลาซึมชั้น zona radiata เริ่มแยกจากชั้น follicular epithelium

ระยะที่ 5 (oocyte stage 5) ไข่จะมี yolk vacuoles และ yolk granules เป็นจำนวนมากในไซโทพลาซึม ยกเว้นบริเวณซึ่งติดกับนิวเคลียส ซึ่งไซโทพลาซึมจะติดสีน้ำเงินเทา ส่วนนิวเคลียสจะมีขนาดเล็กติดสีชมพู เยื่อหุ้มนิวเคลียสและ karyoplasm เริ่มเสื่อมลงพบชั้น zona radiata ชัดเจน และ follicle epithelium จะมีเซลล์เป็นรูป cuboidal หรือ columnar

ระยะที่ 6 (oocyte stage 6) ไข่มี yolk vacuoles ขนาดใหญ่ในไซโทพลาซึมและมี yolk granules ติดสีส้มแดง นิวเคลียสมีขนาดเล็กลงและติดสีชมพู ผนังที่ล้อมรอบไข่มีความหนาไม่เท่ากันตลอด ยังคงเห็น zona radiata, follicular cells และ theca ชัดเจน

การแบ่งระยะของไข่อาจจะแบ่งออกเป็น 3 ระยะก็ได้ตามที่ Treasurer และ Holliday (1981) รายงานในปลา perch และ Al-Daham และ Bhatti

(1979) ศึกษาในปลา *Barbus luteus* คือ ระยะ immature oocyte จะเหมือนกับไข่ระยะที่ 1, 2 และ 3 ระยะ maturing oocyte เหมือนกับไข่ระยะที่ 4 และ 5 ส่วน mature oocyte จะเหมือนกับไข่ระยะที่ 6

การแบ่งระยะของไข่อีกวิธีหนึ่งโดย Jalabert และ Fostier (1984) ในปลา rainbow trout ทำโดยพิจารณาตำแหน่งและลักษณะของนิวเคลียส หรือ germinal vesicle ตั้งแต่ระยะ post vitellogenic follicle จนถึงระยะสุดท้ายก่อนไข่สุก โดยใช้กล้อง stereo microscope ส่องดู สามารถแบ่งระยะไข่ได้ดังนี้

ระยะที่ 1 ระยะสิ้นสุดกระบวนการสร้าง yolk จะมองไม่เห็น germinal vesicle แต่จะเห็นว่าไซโทพลาซึมได้มารวมกันเป็นกลุ่มหนาอยู่ด้านหนึ่งของไข่

ระยะที่ 2 germinal vesicle เคลื่อนไปบริเวณรอบนอก มองเห็นเป็นจุดใส ๆ อยู่กลางไซโทพลาซึมที่มีลักษณะทึบ

ระยะที่ 3 germinal vesicle อยู่ในตำแหน่งชิดกับเปลือกไข่ มองเห็นเป็นจุดกลมใสชัดเจนและอยู่ติดกับเปลือกไข่ในตำแหน่งกึ่งกลางของไซโทพลาซึม

นอกจากนี้ Goswami และ Sundararaj (1971) ได้ทำการศึกษาขั้นตอนการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ปลาจีด โดยใช้ตัวอย่างสดนำมาส่องดูด้วยกล้อง stereo microscope และแบ่งไข่ออกเป็น 4 ระยะคือ

ระยะที่ 1 นิวเคลียสของไข่อยู่ในระยะ prophase ผนังชั้นนอกของไข่อยู่ชิดกับชั้น granulosa ซึ่งแยกจากฟองไข่โดยชั้น chorion ที่มีลักษณะบางมี yolk อยู่เต็มช่องว่างในไซโทพลาซึม

ระยะที่ 2 เยื่อหุ้มนิวเคลียสสลายไป และไซโทพลาซึมส่วนใหญ่จะเคลื่อนไปทางด้าน animal pole และเกิดการแบ่งเซลล์แบบ meiosis I มีการสร้าง spindle fiber และ first polar body ไข่จะมีลักษณะโปร่งแสง

ระยะที่ 3 ระยะไข่สุกโดยไซโทพลาซึมที่แทรกอยู่ระหว่าง yolk granules จะเคลื่อนไปอยู่ทางด้าน animal pole เป็นกลุ่มชัดเจนไข่จะยังอยู่ใน follicle

ระยะที่ 4 ระยะไข่หลุดออกจาก follicle ไข่สุกจะดูดน้ำเข้าสู่เซลล์ และแยกตัวจาก follicle ซึ่งไข่ที่หลุดออกมาจะมีวุ้นหุ้มอยู่ด้วย

6. ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของไข่และการตกไข่

6.1 gonadotropin

เป็นฮอร์โมนมีคุณสมบัติเป็นสารพวก glycoprotein (Tucker, 1985) สร้างจาก gonadotrops ในต่อมใต้สมอง เมื่อถูกกระตุ้นโดย releasing hormone จากสมองส่วนไฮโพทาลามัส ทำหน้าที่ในการควบคุมการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ ลักษณะเพศภายนอกและพฤติกรรมการสืบพันธุ์ จากการศึกษาของ Idler และ Ng(1983) สรุปได้ว่า gonadotropin ประกอบด้วยฮอร์โมน 2 ชนิด คือ maturational hormone และ vitellogenic hormone สำหรับคุณสมบัติทางเคมีของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน ทราบแต่เพียงว่า maturational hormone มีแนวโน้มที่จะประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมาก ส่วน vitellogenic hormone ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตในปริมาณน้อย (Idler and Ng, 1983; Stacey, 1983) ในปลาบางชนิดฮอร์โมนเหล่านี้จะมีทั้งแบบน้ำหนักโมเลกุลสูง และน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งอาจบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่าง monomer กับ dimer (Ng and Idler, 1978) ส่วนในปลาบางชนิดจะเป็นแบบเดียว เช่น ปลา common carp (Idler and Ng, 1979) และก็มีความเป็นไปได้ด้วยว่าปลาบางชนิดจะมี gonadotropin ที่ประกอบด้วยฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว (Sundararaj, 1981; Sundararaj et al., 1982) ซึ่งอาจเนื่องมาจากเทคนิคที่ไม่สามารถแยก gonadotropin ออกเป็น 2 ส่วนก็เป็นได้ (Ng and Idler, 1983) สำหรับในด้านหน้าที่ของฮอร์โมน 2 ชนิดนี้ พบว่า maturational hormone ในปริมาณน้อยจะกระตุ้นให้ oocyte เริ่มการสร้างและสะสม yolk ในระยะการรับ yolk จากภายนอกเซลล์โดยกระตุ้นให้รังไข่สร้าง vitellogenin ในตับ ส่วน vitellogenin hormone จะควบคุมการรับ vitellogenin เข้าสู่ oocyte และกระตุ้นการสร้างและสะสม yolk นอกจากนี้ maturation hormone มีหน้าที่กระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่และสร้างสเตอรอยด์ โดยแบบแผนของการกระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่จะมี 2 แบบ คือ ในกลุ่มปลาแซลมอน และกลุ่มอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น ปลาทอง (*Carasius auratus*) (Jalabert, 1976) ปลาดุกแอฟริกัน(*Clarias gariepinus*) (Richter et al.,

1985) maturational hormone จะกระตุ้นให้ follicle สร้างสเตอรอยด์ควบคุมการสุกของไข่ เรียกว่า maturational steroids ซึ่งพบว่าอาจเป็น 17 α-OH, 20 β-dihydroprogesterone ซึ่งได้มีการพิสูจน์แล้วในปลา trout, common carp, salmon และกลุ่มปลาตาเดียว (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531) ทำให้ไข่เจริญในขั้นสุดท้าย ส่วนในปลาจีด และ yellow perch (*Perca flavescens*) maturational hormone จะกระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ โดยกระตุ้นเนื้อเยื่อ interrenal ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่กระจายอยู่ในไตให้สร้างสเตอรอยด์ควบคุมการสุกของไข่ ซึ่งอาจเป็น cortisol มีผลทำให้ไข่เจริญขั้นสุดท้าย

6.2 estrogens

เป็นพวกสเตอรอยด์ฮอร์โมนเกี่ยวข้องกับการเจริญของไข่ โดยการสร้าง estrogens จะเป็นผลมาจากการกระตุ้นของgonadotropinจากต่อมใต้สมอง ซึ่งตัวอย่างของ estrogens ได้แก่ 17 β-estradiol และestrone ซึ่งจะมีหน้าที่ควบคุมการสร้างและสะสม yolk ใน oocyte กลไกการทำงานของ estrogens จะมีทั้งผลสะท้อนกลับในทางบวกและลบ (positive and negative feedback) ต่อการหลั่ง gonadotropin โดยจะเป็นผลสะท้อนกลับในทางบวก ในปลาที่ยังไม่เจริญพันธุ์ คือจะกระตุ้นการสร้าง gonadotropin มีผลให้ระดับ gonadotropinในกระแสเลือดสูงขึ้น ส่วนในปลาที่เจริญพันธุ์แล้วจะมีกลไกแบบสะท้อนกลับในทางลบ (negative feedback) คือ เมื่อมีปริมาณ estrogens ในกระแสเลือดจนถึงระดับหนึ่ง ก็จะมีผลไปยับยั้งการสร้าง gonadotropin มีผลให้ระดับ gonadotropin ในกระแสเลือดต่ำลง (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

6.3 androgens

เป็นพวกสเตอรอยด์ฮอร์โมน ซึ่งการสร้าง androgens จะถูกควบคุมโดย gonadotropin และมีกลไกที่เป็นทั้งผลสะท้อนกลับในทางบวกและลบ เช่นเดียวกับ estrogens พบว่า androgens บางชนิดเช่น androstenedione และ testosterone เป็นสารเริ่มต้นของ estrogens (Fostier et al., 1983)

6.4 corticosteroids

เป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่ควบคุมการเจริญขั้นสุดท้าย ของไข่ปลาบางชนิด เช่น ปลาจืด พบว่าฮอร์โมนนี้ถูกสร้างอยู่ระหว่างไต เป็นส่วนใหญ่ (Goswami and Sundararaj, 1971) โดยมีgonadotropinเป็นตัวควบคุม

6.5 progestins

เป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่ควบคุมการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่และพบว่าอนุพันธ์ของ progesterone สามารถกระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ปลาได้ แต่การตกไข่จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อระดับ gonadotropin ในตัวปลาสูงพอ ในปลาแซลมอนจะพบ 17 α และ 20 β progesterone (Jalabert and Fosteir, 1984)

6.6 ovulation hormones

เป็นฮอร์โมนที่ควบคุมการตกไข่โดยจะกระตุ้นให้ follicle มีการบีบตัวทำให้ไข่หลุดออกมาสู่ช่องว่างของรังไข่หรือช่องท้องในปลาบางชนิด ซึ่ง ovulation hormones อาจเป็น prostaglandins (Stacey, 1983) และ Goetz (1983) พบว่ารังไข่ที่มีการตกไข่นั้น การตกไข่จะไม่ขึ้นกับอิทธิพลของสเตอรอยด์ แต่จะถูกกระตุ้นโดย protaglandins ซึ่งอาจสร้างจากรังไข่ พบว่าการฉีด 17 α-20 β-DHP ซึ่งเป็นสเตอรอยด์ที่กระตุ้นการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ จะทำให้เกิดการตกไข่ได้ก็ต่อเมื่อ oocyte อยู่ในระยะที่นิวเคลียสเคลื่อนไปยังขอบเซลล์แล้ว ซึ่งในขณะนั้น gonadotropin ในกระแสเลือดจะอยู่ในระดับสูง และหมายความว่าแม้จะมีการสร้าง และสะสม prostaglandins ในระดับที่เพียงพอแล้วก็ตาม หากระดับของ gonadotropin ในกระแสเลือดยังไม่สูงพอ 17 α -20β-DHP จะไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้เลย และในปลาที่ผสมพันธุ์ภายนอกโดยการวางไข่นั้น ไข่ที่หลุดจาก follicle ไปรวมกันในช่องว่างภายในรังไข่ หรือช่องท้องจะกระตุ้นให้มีการสร้าง prostaglandins เพิ่มขึ้น เพื่อควบคุมพฤติกรรมการวางไข่อีกด้วย (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

7. <u>ฮอร์โมนที่ใช้เร่งให้ปลาตกไข่</u>

ในการเพาะปลาโดยวิธีการผสมเทียม โดยใช้ฮอร์โมนเป็นตัวกระตุ้นนั้นเป็นการกระตุ้นการตกไข่ทำให้ไข่หลุดจาก follicle ลงมารวมกันในช่องว่างภายในรังไข่

หรือช่องท้อง ส่วนการวางไข่นั้นในกรณีนี้จะไม่เกิดขึ้นเนื่องจากไข่จะถูกรีดออกมาผสมกับน้ำเชื้อภายนอกตัวปลา ซึ่งการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นให้ปลาตกไข่นั้น อาศัยหลักการที่ว่าระดับของ gonadotropin ในกระแสเลือดเป็นปัจจัยควบคุมการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ และการตกไข่ (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531) gonadotropin ที่ใช้ในการกระตุ้นการตกไข่ของปลาได้มาจาก 2 แหล่งใหญ่ ๆ คือ จากปลา (piscine gonadotropin) และจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian gonadotropin) ซึ่ง gonadotropin ชนิดที่ใช้กันแพร่หลายและได้ผลดี คือ gonadotropin ที่ได้จากต่อมใต้สมองปลาบด (fish pituitary extract) จัดเป็น gonadotropin ที่ได้จากปลา และ Human Chorionic Gonadotropin เป็น gonadotropin ที่สกัดจากปัสสาวะสตรีมีครรภ์ จัดเป็นgonadotropinที่ได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

7.1 ต่อมใต้สมองปลา

เป็นแหล่ง gonadotropin ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยจะใช้ในลักษณะที่นำต่อมใต้สมองมาบดแล้วฉีดให้แก่ปลา โดยที่ไม่ได้มีการวัดปริมาณของ gonadotropin ในต่อมใต้สมองนั้นเสียก่อน จึงทำให้มีปัญหาเกี่ยวกับเรื่องปริมาณต่อมที่ใช้ เพราะปริมาณของ gonadotropin ในต่อมใต้สมอง จะผันแปรไปตามปัจจัยหลายประการ เช่น ความสมบูรณ์ของปลาต่อม ฤดูกาล ชนิดของปลา อายุ สภาพของต่อม ฯลฯ และเนื่องจากความผันแปรของ gonadotropin ในต่อมใต้สมอง ทำให้เกิดปัญหาในการกำหนดหน่วยที่ใช้ซึ่งในปัจจุบันหน่วยต่อมใต้สมองที่ใช้มี 2 แบบ คือ

7.1.1 บอกเป็นน้ำหนักของต่อมใต้สมองต่อหน่วยน้ำหนักของปลา ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

7.1.2 บอกเป็นโดส โดยเปรียบเทียบน้ำหนักของปลาที่ใช้เก็บต่อมกับน้ำหนักของปลาที่จะฉีด

$$\text{โดส} = \frac{\text{น้ำหนักของปลาต่อม}}{\text{น้ำหนักของปลาที่จะฉีด}}$$

ส่วนในด้านการเก็บรักษาต่อมใต้สมองนั้น พบว่าการเก็บไว้ในน้ำยาอะซิโตน

เข้มข้นจะได้ผลดีมาก โดยการใช้น้ำยาอะซิโตนที่เย็นจัดและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นจะช่วยให้ต่อมใต้สมองคงประสิทธิภาพไว้ได้นานขึ้น (Sneed and Clemens, 1960) นอกจากอะซิโตนแล้วอาจเก็บรักษาต่อมใต้สมองในแอลกอฮอล์เข้มข้นก็ได้ แต่จะได้ผลไม่ดีเท่าอะซิโตน ส่วนการเก็บต่อมใต้สมองโดยใช้วิธี freeze drying หรือ lyophilization โดยนำต่อมใต้สมองที่แช่ในน้ำยาอะซิโตนไปทำให้แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสแล้วนำไปใส่ในสูญญากาศเพื่อให้น้ำในต่อมระเหยออกไปจนหมด ก็จะได้ผลิตต่อมใต้สมองที่สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องได้เป็นเวลานานนับปี โดยที่ประสิทธิภาพยังคงเดิม และผลิตของต่อมใต้สมองสามารถละลายน้ำได้ทันทีเมื่อต้องการจะใช้ (สมศรี งามวงศ์ชน และคณะ, 2530)

7.2 Human Chorionic Gonadotropin (HCG)

ฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาสกัดมาจากปัสสาวะสตรีมีครรภ์ ซึ่งรกจะสร้าง gonadotropin แล้วปล่อยสู่กระแสเลือด และถูกขับออกมากับปัสสาวะปริมาณฮอร์โมนในปัสสาวะจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยจะมีปริมาณสูงสุดในเดือนที่ 3 (Ngamwongchon, 1981; มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2531 ; สมศรี งามวงศ์ชน และ มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, 2528; อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531) HCG เป็น glycoprotein ชนิดหนึ่ง ซึ่งหมายความว่า HCG มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ และมีลักษณะเหมือน glycoprotein ตัวอื่น เช่น Follicle Stimulating Hormone (FSH) และ Luteinizing Hormone (LH) คือ จะมี 2 subunits มีน้ำหนักโมเลกุล 38,000 (สมศรี งามวงศ์ชน และมานพ ตั้งตรงไพโรจน์, 2526; สุกัญญา วีรวัฒนกุมพะ, 2525) ในด้านรูปแบบของ HCG นั้น HCG บริสุทธิ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมีราคาค่อนข้างแพง มีลักษณะเป็นผงบรรจุในหลอดแก้วหรือขวดเล็ก ๆ ซึ่งมีชื่อการค้าต่างๆกัน เช่น Pregnyl, Puberogen, Antuitrin-S, APL, CG-2 ฯลฯ (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531) ส่วนในประเทศไทยปัจจุบันสามารถผลิต HCG ได้ในราคาถูกและสามารถนำไปใช้ในการผสมเทียมปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน ปลาสวาย และปลากดเหลือง ได้ผลดี (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2531; สมศรี งามวงศ์ชน และมานพ ตั้งตรงไพโรจน์, 2528) วิธีการใช้ HCG ในรูปผงนั้นจะใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดย HCG

ที่บรรจุขวดนั้น หน่วยของฮอร์โมนจะเป็น International Unit (I.U.) เมื่อจะใช้จำเป็นต้องละลาย HCG ทั้งหลอด โดยต้องทราบปริมาตรของตัวทำละลายที่แน่นอน เพื่อที่จะสามารถแบ่ง HCG ที่ละลายแล้วมาใช้ได้อย่างถูกต้อง (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2531)

7.3 Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH)

LHRH ซึ่งมีกำเนิดในสมองส่วนไฮโพทาลามัสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เมื่อฉีดฮอร์โมนนี้เข้าไปในตัวปลา จะกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองของปลาสร้าง gonadotropin ขึ้นมาเป็นจำนวนเพียงพอให้ปลาสืบพันธุ์วางไข่ได้ การใช้ dopamine antagonist ซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำลาย dopamine หรือสกัดกั้นไม่ให้สมองผลิต dopamine ออกมาควบคู่กับ LHRH เข้าไปด้วยจะทำให้ปลาวางไข่ได้ (วัฒนะ ลีลาภัทร, 2532)

7.4 gonadotropin-releasing hormone

การหลั่งของฮอร์โมน gonadotropin (gonadotropin, GTH) จากต่อมใต้สมอง (pituitary gland) ในปลากระดูกแข็ง (teleost) ทั่ว ๆ ไป อยู่ภายใต้การควบคุมของสาร neuroendocrine 2 ชนิด ที่มาจากสมองส่วนไฮโพทาลามัส คือ gonadotropin releasing hormone (GnRH) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น และ gonadotropin release inhibitory factor (GRIF) ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง (Peter et al., 1986)

ในขณะเดียวกันได้มีการค้นคว้าเพื่อหา GnRH ที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการหลั่ง GTH ของปลาและพบว่า [D-Arg^{6}, Trp^{7}, Leu^{8}, Pro^{9}-NHEt]-GnRH (sGnRHA) ซึ่งเป็น GnRH ที่สกัดมาจากสมองปลาแซลมอนซึ่งมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการกระตุ้นการหลั่ง GTH เมื่อเทียบกับ GnRH ธรรมชาติ หรือ GnRH ที่สกัดมาจากสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หรือสัตว์ปีก โดยได้ทำการทดลองในปลาทอง (Peter et al., 1985) ปลา rainbow trout, *Salmo gairdneri*, ปลา landlocked salmon และปลา winter flounder (Crim et al., 1988)

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการเปรียบเทียบผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาและ LHRHa ต่อการพัฒนาของรังไข่ปลาดุกอุย ซึ่งการศึกษาผลของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้ต่อการพัฒนารังไข่ของปลาดุกอุย จะเป็นวิธีที่บอกถึงการตอบสนองของรังไข่ปลาดุกอุยที่มีต่อฮอร์โมนว่ามีความเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมปลาทดลอง

ทำการคัดเลือกแม่พันธุ์ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther) ที่มีความสมบูรณ์เพศระหว่างฤดูกาลผสมพันธุ์มีน้ำหนักประมาณ 150 กรัมต่อตัว โดยคัดเลือกแม่พันธุ์ที่มีส่วนท้องอูมเป่ง ผนังท้องบาง อวัยวะเพศมีสีแดง และอวบอูม ทำการตรวจสอบภายในรังไข่ของแม่พันธุ์ตามวิธีของ Soh and Lam (Lam, 1982) โดยใช้หลอดแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรสอดเข้าทางช่องเพศ สุ่มตัวอย่างไข่มาจำนวน 10-20 ฟอง แม่พันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกจะต้องมีไข่สีน้ำตาลอมแดง รูปร่างกลมมีขนาดสม่ำเสมอ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตรขึ้นไปนำไปหักก่อนฉีดฮอร์โมนประมาณ 3-5 ชั่วโมง ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 2 ตัน ใส่น้ำประมาณ 10 ลิตรต่อถัง ในอัตรา 12 ตัวต่อถัง

2. การฉีดสารกระตุ้นแม่พันธุ์ปลาดุกอุย โดยใช้สารละลาย 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม แบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่ม	ต่อมใต้สมอง[1] 2 เข็มเว้นช่วง 6 ช.ม. 0.5,1.5 โดส ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	Suprefact[2] 20ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	Motilium[3] 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	น้ำกลั่น
1	/	-	-	/
2	-	/	-	/
3	-	-	/	/

กลุ่ม	ต่อมใต้สมอง[1] 2 เข็มเว้นช่วง 6 ช.ม. 0.5,1.5 โดส ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	Suprefact[2] 20ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	Motilium[3] 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 ก.ก.	น้ำกลั่น
4	-	/	/	/
5	-	-	-	/

1 ต่อมใต้สมองที่ใช้คือ ต่อมใต้สมองที่ได้จากปลาหัวโต ซึ่งมีความสมบูรณ์เพศ อายุประมาณ 2 ปี

2 ชื่อการค้าของ LHRHa

3 ชื่อการค้าของ dopamine antagonist

3. วิธีการศึกษาการเจริญของไข่ก่อน และหลังการกระตุ้นโดยวิธีการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

3.1 วิธีการศึกษาการเจริญของไข่ก่อนการกระตุ้นในแต่ละกลุ่มการทดลอง

วิธีการศึกษาการเจริญของไข่ก่อนการกระตุ้น โดยสุ่มแม่ปลาก่อนฉีดจำนวน 6 ตัว ผ่าท้องแม่ปลานำรังไข่ส่วนปลายออกมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ดองรังไข่ไว้ใน Bouin's fixative solution นาน 12-24 ชั่วโมงแล้วจะเปลี่ยนลงไว้ใน 70%, 95%, 100% แอลกอฮอล์อย่างละ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ ฝังตัวอย่างในขี้ผึ้ง (paraplast) แล้วนำมาตัดด้วยเครื่องไมโครโตม (microtome) ความหนาของ section ประมาณ 8-10 ไมครอน ติด section บนแผ่นสไลด์แก้ว จากนั้นนำไปย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin ตามวิธีของ Harris (เวคิน นพนิตย์, 2524) และทำเป็นสไลด์ถาวรแล้วนำมาตรวจหาไข่ระยะต่างๆตามแนวจำแนกของ Groman (1982) แม่ปลาแต่ละตัวจะหาค่าเฉลี่ย (ร้อยละ)ของไข่ระยะต่าง ๆ จากสไลด์ถาวรจำนวน 10 แผ่น โดยใช้แม่ปลาทั้งหมด 6 ตัว และผลใช้เปรียบเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง

3.2 วิธีการศึกษาการเจริญของไข่หลังการกระตุ้น

ผ่าท้องแม่พันธุ์นำรังไข่แม่พันธุ์ หลังจากการกระตุ้นในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยหลังจากการฉีด 6 ชั่วโมง และหลังจากการฉีด 12 ชั่วโมง นำรังไข่แม่พันธุ์ของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ช่วงเวลาดังกล่าวมากลุ่มละ 6 ตัว ผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่นเดียวกับการศึกษาการเจริญของไข่ก่อนการกระตุ้น

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำค่าเฉลี่ย(ร้อยละ)ที่นับได้ของไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocytes ของแม่ปลาแต่ละตัวรวมทั้งสิ้น 6 ตัว แต่ละกลุ่มการทดลองมาเปรียบเทียบกันและค่าเฉลี่ยที่ได้ถูกเปลี่ยนเป็นค่า log ฐาน 10 ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ข้อมูล โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

5. การศึกษาทาง Stereology Method

นำสไลด์ถาวรนับจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ ก่อนการกระตุ้นและอัตราการเจริญของไข่ระยะต่าง ๆ หลังการกระตุ้นต่อหน่วย ตามวิธีของ Weibel et al. (1966) โดยใช้แผ่น grid ส่องดูสไลด์ถาวรและนับจำนวนจุดตัด นำมาคำนวนหาอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะต่าง ๆ (volume of sturcture i) ใน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยคำนวนจากสูตร

$$Vvi = \frac{Pi}{Pt}$$

Vvi คือ อัตราส่วนระหว่างจุดตัดของไข่ที่ระยะ i กับจำนวนจุดตัดทั้งหมด (volumetric density ของ i)

Pi คือ จำนวนจุดตัด (Random point) บนไข่ที่ระยะ i

Pt คือ จำนวนจุดตัด (Random point) ทั้งหมด

$$Vi = Vvi.V$$

Vi คือ อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ i (volume of sturcture i)

V คือ ปริมาตรรวมทั้งหมดของไข่ทุกระยะ

ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีดสารกระตุ้น โดยวิธีการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาระยะของไข่ภายในรังไข่ปลาดุกอุย พบว่าทั้งก่อนและภายหลังการฉีดสารกระตุ้นแก่แม่ปลาดุกอุย ภายในรังไข่จะมีไข่ระยะต่างๆกันทั้งหมด 6 ระยะ ตามแนวจำแนกของ Groman (1982) ไข่ทั้ง 6 ระยะจะมีลักษณะที่แตกต่างกันดังนี้

ระยะที่ 1 ไข่จะมีขนาดเล็กอยู่ในรูป Oogonia ไซโทพลาซึมติดสีชมพู นิวเคลียสกลมใหญ่อยู่กลางเซลล์

ระยะที่ 2 ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น ไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสใหญ่ มากติดสีเทาอยู่บริเวณกลางเซลล์

ระยะที่ 3 ไข่จะมีขนาดใหญ่ขึ้นไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสติดสีชมพู นิวเคลียสอาจอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์เริ่มเห็น Provitelline nucleoli กระจายอยู่ในนิวเคลียส (รูปที่ 2-4)

ระยะที่ 4 ไข่มีขนาดใหญ่รูปร่างมักเป็นเหลี่ยมไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินจางลงนิวเคลียสติดสีชมพู พบ euvitelline nucleoli ที่ขอบของเยื่อหุ้มนิวเคลียส เกิด vacuoles เล็กๆภายในไซโตพลาซึม (รูปที่ 3 และ 4)

ระยะที่ 5 ไข่จะมีขนาดใหญ่ พบ follicular cell ที่ขอบด้านนอกชัดเจน ไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินปนเทา มี yolk vacuoles และ yolk granules มากขึ้น นิวเคลียสมีขนาดเล็กลงและติดสีชมพู (รูปที่ 2 และ 4)

ระยะที่ 6 ไข่มีขนาดใหญ่มาก ไซโตพลาซึมมี yolk granules ขนาดใหญ่ และมี yolk granules เป็นจำนวนมากติดสีส้มแดง นิวเคลียสมีขนาดเล็กติดสีชมพู ผนังไข่ โดยรอบจะมีความหนาไม่เท่ากันโดยตลอด (รูปที่ 1-4)

2. จำนวนเฉลี่ย (ร้อยละ)ของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ก่อน การฉีดกระตุ้น

จากการศึกษาพบว่าภายในรังไข่ปลาดุกอุยก่อนฉีดสารกระตุ้น (0 ชั่วโมง) ประกอบด้วยไข่หลายระยะปะปนกัน โดยจะพบไข่ระยะที่ 6 ในสัดส่วนสูงที่สุด รองลงมาคือไข่ระยะ 4, 3, 5 และ 2 ตามลำดับ และไม่พบไข่ระยะที่ 1

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ x(±SE) ภายในรังไข่ก่อนฉีดสารกระตุ้นประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 0.95 (±0.20), 19.80(±0.99), 32.47(±1.16), 9.07(±0.64) และ 37.71(±1.41) ตามลำดับ

2. จำนวนเฉลี่ย (ร้อยละ) ของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่หลังการฉีดกระตุ้นจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสารที่ฉีดกระตุ้นให้แก่แม่พันธุ์ ดังผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-5

2.1 การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุย ที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 1.08(±0.15), 13.90(±0.42), 31.23(±0.53), 8.48 (±0.28) และ 45.31(±0.42) ตามลำดับ

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุย ที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 1.17(±0.15), 13.10(±0.30), 30.23(±0.62), 5.70(±0.38) และ 49.80(±1.09) ตามลำดับ

2.2 การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีด Suprefact

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมงปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 0.86(±0.05), 21.09(±0.70), 30.59(±0.47), 7.84(±0.46) และ 39.62(±1.10) ตามลำดับ

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ปรากฏว่ามี ไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 1.05(±0.09), 18.35(±0.78), 31.77(±1.20),7.92 (±0.46) และ 40.91(±1.15) ตามลำดับ

2.3 การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีด Motilium

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Motilium ที่ช่วง

เวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 0.83(±0.08), 19.66(±0.53), 33.60(±0.73), 8.63 (±0.45) และ 37.28(±0.77) ตามลำดับ

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 1.07(±0.10), 18.32(±0.78), 33.24(±0.56), 9.23(±0.58) และ 38.14(±1.12) ตามลำดับ

2.4 การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 0.82(±0.04), 15.03(±0.60), 31.23(±0.51), 7.90(±0.56) และ 45.02(±0.58) ตามลำดับ

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00(±0.00), 0.90(±0.34), 15.68(±0.34), 30.21 (±0.72), 7.26(±0.38) และ 45.95(±1.23) ตามลำดับ

2.5 การศึกษาการเจริญของไข่ภายหลังการฉีดน้ำกลั่น

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุย ที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมงปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00 (±0.00), 1.06(±0.12), 22.02(±0.83), 29.50(±0.84), 8.98(±0.53) และ 38.44(±0.62) ตามลำดับ

จำนวนเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุย ที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ร้อยละ 0.00 (±0.00), 1.21(±0.10), 19.96(±0.71), 32.99(±0.97), 7.53(±0.50) และ 38.31(±1.80) ตามลำดับ

3. เปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ย (ร้อยละ) ก่อนการฉีดและหลังการฉีดฮอร์โมน

3.1 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 6 ชั่วโมง พบว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ ร้อยละ 45.31($\pm$0.42) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 0.00 ($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต และระยะที่ 2 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 12 ชั่วโมง จะมีไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ ร้อยละ 49.80($\pm$1.09) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำสุด คือร้อยละ0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต และไข่ระยะที่ 2 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต สำหรับไข่ระยะที่ 1 ไม่พบทั้งก่อนและหลังการฉีด ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตหลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตกับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตจะมีไข่ระยะที่ 3 และ 5 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 2, 4 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่น กับการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตหลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตกับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตจะมีไข่ระยะที่ 2, 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.2 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ ร้อยละ 39.62($\pm$1.10) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 2, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact และระยะที่ 3 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 12 ชั่วโมง จะมีไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ ร้อยละ 40.91 ($\pm$1.15) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำสุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact และไข่ระยะที่ 2 และ6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefactจะมีไข่ระยะที่ 2, 3 และ

5 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 4 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact หลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact จะมีไข่ระยะที่ 2, 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.3 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Motilium 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ ร้อยละ 37.28($\pm$0.77) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 2, 3 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Motilium และระยะที่ 4 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Motilium ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 12 ชั่วโมง จะมีไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ ร้อยละ 38.14 ($\pm$1.12) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำสุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Motilium และไข่ระยะที่ 2, 4 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Motilium แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับไข่ระยะที่ 1 ไม่พบทั้งก่อนและหลังการฉีด

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Motilium จะมีไข่ระยะที่ 2, 3 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่นและไข่ระยะที่ 4 และ 5 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Motilium หลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Motilium จะมีไข่ระยะที่ 2, 3 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่นและไข่ระยะที่ 4 และ 5 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น ซึ่งจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.4 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ ร้อยละ 45.02($\pm$0.58) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 2, 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium และระยะที่ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 12 ชั่วโมง จะมีไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือร้อยละ 45.95($\pm$1.23) และมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 ต่ำสุด คือ ร้อยละ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด

Suprefact ผสมกับ Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะที่ 2, 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าปลาที่ก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium และไข่ระยะที่ 6 สูงกว่าปลาที่ก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefactผสมกับ Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium จะมีไข่ระยะที่ 2 ,3 และ 5 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 4 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium จะมีไข่ระยะที่ 2, 3, 4 และ 5ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่นและไข่ระยะที่ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

4. การศึกษาการเจริญของไข่ก่อนการฉีดสารกระตุ้น และการหาอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะต่าง ๆ (volume of structure i) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้วิธี Stereology (Weibel et al.,1966)

จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ x(±SE)ก่อนฉีดสารกระตุ้น(0ชั่วโมง) อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด รองลงมา คือ ไข่ระยะ 4, 3 และ 5

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ x(±SE) ก่อนฉีดสารกระตุ้นประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00 (±0.00), 0.99(±0.48), 4.89(±0.63), 0.77(±0.39) และ 93.35(±1.00) ตามลำดับ

5. การศึกษาการเจริญของไข่หลังการฉีดสารกระตุ้น และการหาอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure)ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้วิธี Stereology (Weibel et al., 1966)

5.1 อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ทุกระยะ ของปลาดุกอุยหลังฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 6)

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.69(±0.34), 3.25(±0.54), 1.42 (±0.38) และ 94.64(±0.88) ตามลำดับ

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.53(±0.24), 3.14(±0.46), 0.85(±0.29) และ 95.48(±0.44) ตามลำดับ

5.2 อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ทุกระยะของปลาดุกอุยหลังฉีด Suprefact ตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 7)

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.89(±0.29), 4.79(±0.56), 1.03(±0.38) และ 93.29(±0.70) ตามลำดับ

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีด Suprefact ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.88(±0.43), 4.78(±0.45), 1.25 (±0.11) และ 93.09(±0.58) ตามลำดับ

5.3 อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย ของไข่ทุกระยะของปลาดุกอุยหลังฉีด Motilium ตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 8)

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีด Motilium

ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 1.06(±0.26), 4.19(±0.85), 1.06(±0.47) และ 93.69(±0.80) ตามลำดับ

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะ ของปลาดุกอุยที่ฉีด Motilium ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.89(±0.31), 4.50(±0.44), 0.88(±0.31) และ 93.23(±0.52) ตามลำดับ

5.4 อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ทุกระยะของปลาดุกอุยหลังฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 9)

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะของปลาดุกอุย ที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.84(±0.29), 3.39 (±0.44), 1.20(±0.27) และ 94.57(±0.55) ตามลำดับ

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่แต่ละระยะของปลาดุกอุย ที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ประกอบด้วย ไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.69(±0.23), 3.37 (±0.66), 1.54(±0.27) และ 94.40(±0.69) ตามลำดับ

5.5 อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะต่าง ๆ หลังการฉีดน้ำกลั่นตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 10)

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ แต่ละระยะของปลาดุกอุยที่ฉีดน้ำกลั่นช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 1.25(±0.44), 0.0412(±0.71), 0.89(±0.37) และ 93.74(±0.65) ตามลำดับ

อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ แต่ละระยะของปลาดุกอุยที่ฉีดน้ำกลั่นช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง ประกอบด้วยไข่ระยะที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ดังนี้ 0.00(±0.00), 0.00(±0.00), 0.94(±0.36), 5.05(±0.35), 0.80(±0.39) และ 93.21(±0.62) ตามลำดับ

6. เปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยก่อนและหลังการฉีดฮอร์โมนกระตุ้น

6.1 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 6 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ 94.64($\pm$0.88) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำที่สุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาที่ไม่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต และระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต 12 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุดคือ 95.48($\pm$0.44) และมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำสุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตหลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตกับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตจะมีไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโต หลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดต่อม

ใต้สมองปลาหัวโตกับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีดต่อมใต้สมองปลาหัวโตจะมีไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่นและไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

6.2 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับการฉีด Suprefact 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 6 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ 93.29($\pm$0.70) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำที่สุด คือ 0.00 ($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาที่ก่อนฉีด Suprefact พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3, 4 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ก่อนฉีด Suprefact และระยะที่ 5 สูงกว่าปลาที่ก่อนฉีด Suprefact

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact 12 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย ไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ 93.09($\pm$0.58) และมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำสุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3, 4 และ 6 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact และไข่ระยะที่ 5 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact จะมีไข่ระยะที่ 3 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 4 และ5 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

เปรียบเทียบผลของการฉีดด้วยน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact หลังเวลาฉีด 12

ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact จะมีไข่ระยะที่ 3, 4 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

6.3 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับการฉีด Motilium 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 6 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ 93.69($\pm$0.80) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำที่สุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาที่ก่อนฉีด Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Motilium ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 4 ต่ำกว่าปลาที่ก่อนฉีด Motilium และระยะที่ 3, 5 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Motilium

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Motilium 12 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ 93.23($\pm$0.52) และมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำสุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนไข่ระยะที่ 3, 4 และ 6 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Motilium และไข่ระยะที่ 5 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Motilium

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Motilium จะมีไข่ระยะที่ 3 และ 6 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 4 และ 5 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Motilium หลังเวลาฉีด 12

ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Motilium จะมีไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

6.4 เปรียบเทียบผลก่อนการฉีดกับหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

ผลก่อนการฉีดกับการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 6 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 6 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 สูงสุด คือ 94.57($\pm$0.55) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำที่สุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง จะมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium

และที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium 12 ชั่วโมง อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 6 มีค่าสูงสุด คือ 94.40($\pm$0.69) และมีอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะที่ 1 และ 2 ต่ำสุด คือ 0.00($\pm$0.00) เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง กับปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง จะมีจำนวนไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาก่อนฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium

ผลการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาการฉีด 6 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด

Suprefact ผสมกับ Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 6 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium จะมีไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

เปรียบเทียบผลของการฉีดน้ำกลั่นกับการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium หลังเวลาฉีด 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย ไข่ระยะต่าง ๆ ของปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium กับปลาที่ฉีดน้ำกลั่นที่ช่วงเวลาหลังการฉีด 12 ชั่วโมง พบว่าปลาที่ฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium จะมีไข่ระยะที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น และไข่ระยะที่ 5 และ 6 สูงกว่าปลาที่ฉีดน้ำกลั่น

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) ของจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ตามการจำแนกของ Groman (1982) ของปลาดุกอุยที่ก่อนฉีดและหลังฉีดต่อมใต้สมอง 2 ครั้ง เว้นช่วง 6 ชั่วโมง (เข็มที่ 1 0.5 โดส, เข็มที่ 2 1.5 โดส)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.95(±0.20)	19.80(±0.99)	32.47(±1.16)	9.07(±0.64)	37.71(±1.41)
6	0.00(±0.00)	1.08(±0.15)	13.90(±0.42)	31.23(±0.53)	8.48(±0.28)	45.31(±0.42)
12	0.00(±0.00)	1.17(±0.15)	13.10(±0.30)	30.23(±0.62)	5.70(±0.38)	49.80(±1.09)

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) ของจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ตามการจำแนกของ Groman (1982) ของปลาดุกอุยที่ก่อนฉีดและหลังฉีด Suprefact ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.95(±0.20)	19.80(±0.99)	32.47(±1.16)	9.07(±0.64)	37.71(±1.41)
6	0.00(±0.00)	0.86(±0.05)	21.09(±0.70)	30.59(±0.47)	7.84(±0.46)	39.62(±1.10)
12	0.00(±0.00)	1.05(±0.09)	18.35(±0.78)	31.77(±1.20)	7.92(±0.46)	40.91(±1.15)

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) ของจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ตามการจำแนกของ Groman(1982) ของปลาดุกอุยก่อนฉีด และหลังฉีด Motilium ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.95(±0.20)	19.80(±0.99)	32.47(±1.16)	9.07(±0.64)	37.71(±1.41)
6	0.00(±0.00)	0.83(±0.08)	19.66(±0.53)	33.60(±0.73)	8.63(±0.45)	37.28(±0.77)
12	0.00(±0.00)	1.07(±0.10)	18.32(±0.78)	33.24(±0.56)	9.23(±0.58)	38.14(±1.12)

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) ของจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ตามการจำแนกของ Groman (1982) ของปลาดุกอุยที่ก่อนฉีดและหลังฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

ช่วงเวลาหลัง	ระยะไข่					
การฉีด(ช.ม.)	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.95(±0.20)	19.80(±0.99)	32.47(±1.16)	9.07(±0.64)	37.71(±1.41)
6	0.00(±0.00)	0.82(±0.04)	15.03(±0.60)	31.23(±0.51)	7.90(±0.56)	45.02(±0.58)
12	0.00(±0.00)	0.90(±0.34)	15.68(±0.34)	30.21(±0.72)	7.26(±0.38)	45.95(±1.23)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนเฉลี่ยเป็นร้อยละ (±SE) ของจำนวนไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ตามการจำแนกของ Groman (1982) ของปลาดุกอุยที่ก่อนฉีดและหลังฉีดน้ำกลั่น

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.95(±0.20)	19.80(±0.99)	32.47(±1.16)	9.07(±0.64)	37.71(±1.41)
6	0.00(±0.00)	1.06(±0.12)	22.02(±0.83)	29.50(±0.84)	8.98(±0.53)	38.44(±0.62)
12	0.00(±0.00)	1.21(±0.10)	19.96(±0.71)	32.99(±0.97)	7.53(±0.50)	38.31(±1.80)

ตารางที่ 6 แสดงค่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ก่อนและหลังการฉีดต่อมใต้สมองในอัตรา 2 โดส (เข็มที่ 1 0.5 โดส, เข็มที่ 2 1.5 โดส) โดยวิธี Stereology ตาม Weibel et al. (1966)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่(ลบ.ซม.ต่อ 100 ลบ.ซม.)					
	1	2	3	4	5	6
0 (ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.99(±0.48)	4.89(±0.63)	0.77(±0.39)	93.35(±1.00)
6	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.69(±0.34)	3.25(±0.54)	1.42(±0.38)	94.64(±0.88)
12	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.53(±0.24)	3.14(±0.46)	0.85(±0.29)	95.48(±0.44)

ตารางที่ 7 แสดงค่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ก่อนและหลังการฉีด Suprefact ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยวิธี Stereology ตาม Weibel et al. (1966)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่(ลบ.ซม.ต่อ 100 ลบ.ซม.)					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.99(±0.48)	4.89(±0.63)	0.77(±0.39)	93.35(±0.10)
6	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.89(±0.29)	4.79(±0.56)	1.03(±0.38)	93.29(±0.70)
12	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.88(±0.43)	4.78(±0.45)	1.25(±0.11)	93.09(±0.58)

ตารางที่ 8 แสดงค่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ก่อนและหลังการฉีด Motilium ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยวิธี Stereology ตาม Weibel et al. (1966)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่(ลบ.ซม.ต่อ 100 ลบ.ซม.)					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.99(±0.48)	4.89(±0.63)	0.77(±0.39)	93.35(±1.00)
6	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	1.06(±0.26)	4.19(±0.85)	1.06(±0.47)	93.69(±0.80)
12	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.89(±0.31)	4.50(±0.44)	0.88(±0.31)	93.23(±0.52)

ตารางที่ 9 แสดงค่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ก่อนและหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม โดยวิธี Stereology ตาม Weibel et al. (1966)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่(ลบ.ซม.ต่อ 100 ลบ.ซม.)					
	1	2	3	4	5	6
0(ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.99(±0.48)	4.89(±0.63)	0.77(±0.39)	93.35(±1.00)
6	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.84(±0.29)	3.39(±0.44)	1.20(±0.27)	94.57(±0.55)
12	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.69(±0.23)	3.37(±0.66)	1.54(±0.27)	94.40(±0.69)

ตารางที่ 10 แสดงค่าอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure)(±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรของไข่ระยะต่าง ๆ 6 ระยะ ก่อนและหลังการฉีดน้ำกลั่น โดยวิธี Stereology ตาม Weibel et al. (1966)

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	ระยะไข่(ลบ.ซม.ต่อ 100 ลบ.ซม.)					
	1	2	3	4	5	6
0 (ก่อนฉีด)	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.99(±0.48)	4.89(±0.63)	0.77(±0.39)	93.35(±1.00)
6	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	1.25(±0.44)	4.12(±0.71)	0.89(±0.37)	93.74(±0.65)
12	0.00(±0.00)	0.00(±0.00)	0.94(±0.36)	5.05(±0.35)	0.80(±0.39)	93.21(±0.62)

วิจารณ์และสรุป

1. ผลของฮอร์โมนหลังการฉีดกระตุ้นแม่พันธุ์ปลาดุกอุยโดยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

1.1 แม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ถูกกระตุ้นด้วยต่อมใต้สมองปลาหัวโต

จากผลการทดลองโดยใช้ต่อมใต้สมองปลาหัวโตซึ่งเป็นแหล่งของ gonadotropin กระตุ้นให้แม่พันธุ์ปลาดุกอุย ทำให้ไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocyte มีค่าเพิ่มขึ้นทั้งจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย คือก่อนฉีดจะมีจำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 37.71(±1.41) หลังการฉีด 6 ชั่วโมง จำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าเป็น 45.31(±0.42) และหลังจากฉีดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 49.80 (±1.09) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือก่อนฉีดจะมีค่า 93.35(±1.00) และหลังจากการฉีด 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 94.64 (±0.88) และในชั่วโมงที่ 12 จะมีค่า 95.48(±0.44) แสดงว่าผลจากการทดลองนี้การฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองปลาหัวโต ให้แก่แม่พันธุ์ปลาดุกอุย 2 เข็ม ในอัตรา 0.5 และ 1.5 โดส มีผลในการกระตุ้นให้แม่ปลาดุกอุยมีจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้น การทดลองนี้จะได้ผลเช่นเดียวกับ จันทวรัจฉร์ จันทรสารทูล (2532) ได้ทดลองใช้ต่อมใต้สมองปลาจีนฉีดให้ปลาดุกอุยในอัตราต่าง ๆ กัน คือ 2.00, 2.25, 3.00 และ 4.00 โดส โดยแบ่งการฉีดเป็น 2 เข็ม พบว่าสามารถกระตุ้นให้ปลาดุกอุยมีไข่ระยะสุดท้ายเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด วิทย์ ธารชลานุกิจ และคณะ (2525) แนะนำให้ใช้ในอัตรา 0.5 โดส เว้นช่วง 6 ชั่วโมง แล้วฉีดเข็มสองในอัตรา 1.0-1.5 โดส เว้นช่วง 6 ชั่วโมง จึงทำการรีดและผสมเทียม หรือฉีดเข็มเดียวในอัตรา 1.0-1.5 โดส เว้นช่วง 12 ชั่วโมง จึงทำการรีดไข่และผสมเทียม สำหรับพ่อพันธุ์ให้ฉีดพร้อมเข็มสองของแม่พันธุ์ในอัตรา 0.5-1.0 โดส อุทัยรัตน์ ณ นคร (2531) แนะนำการฉีดปลาดุกอุยว่าควรแบ่งการฉีดฮอร์โมนออกเป็น 2 เข็ม โดยเว้นช่วงระหว่างการฉีดเข็มที่ 1 และเข็มที่ 2 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยใช้ต่อมใต้สมองปลาดุกด้านในอัตราเข็มที่ 1 ใช้ 1.0 โดส และเข็มที่ 2 ใช้ 2.0 โดส ส่วนพ่อพันธุ์ฉีดพร้อมเข็มที่ 2 ของแม่พันธุ์ในอัตรา 0.5 โดส หรือใช้ต่อมใต้สมองปลาสวายในอัตราเข็มที่ 1 ใช้ 1.5 โดส และเข็มที่ 2 ใช้ 3.0 โดส ส่วนพ่อพันธุ์ฉีดพร้อมเข็มที่ 2 ของแม่พันธุ์ในอัตรา 1.0

โดส ทำการรีดไข่และผสมเทียมหลังจากฉีดเข็มที่ 2 เป็นเวลา 10-20 ชั่วโมง Melotti et al.(1989) ใช้ต่อมใต้สมองปลาไนฉีดให้ปลา *Clarias gariepinus* เช่นเดียวกับ Saidin(1986) ใช้ต่อมใต้สมองปลาดุกอุยและปลาดุกด้านในอัตรา 1.5-2.0 โดส ในการเพาะและขยายพันธุ์ปลา ซึ่งจะได้ผลดี Zonneveld et al. (1988) รายงานว่าการใช้ต่อมใต้สมองปลาคาร์พฉีดให้ปลาดุกด้าน *(Clarias batrachus)* ในอัตรา 6 มิลลิกรัมต่อแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม สามารถทำให้ไข่ปลาดุกด้านแก่และวางไข่ หลังจากการฉีดกระตุ้นเป็นเวลา 17 ชั่วโมง

1.2 แม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ถูกกระตุ้นด้วย Suprefact เพียงอย่างเดียว

จากผลทดลองโดยใช้ Suprefact กระตุ้นให้แม่พันธุ์ปลาดุกอุย ไม่ได้ทำให้ไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocyte มีค่าเปลี่ยนแปลงมากนักทั้งจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย คือก่อนฉีดจะมีจำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 37.71($\pm$1.41) หลังการฉีด 6 ชั่วโมง จำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าเป็น 39.62($\pm$1.10) และหลังจากฉีดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 40.91($\pm$1.15) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือก่อนฉีดจะมีค่า 93.35($\pm$1.00) และหลังจากการฉีด 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 93.29($\pm$0.70) และในชั่วโมงที่ 12 จะมีค่า 93.09($\pm$0.58) แสดงว่าผลจากการทดลองนี้ การฉีด Suprefact ให้แก่แม่พันธุ์ปลาดุกอุย 1 เข็ม ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นให้แม่ปลาดุกอุยมีจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับ นฤมล สุขุมาสวิน และวัฒนะ ลีลาภัทร (2535) พบว่าการฉีด sGnRHa เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จาก 0-10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ให้ปลาตะเพียนขาว มีประสิทธิภาพต่ำในการกระตุ้นให้แม่ปลาวางไข่ Peter และ Lin(1988) กล่าวว่าการใช้ GnRHa เพียงอย่างเดียวฉีดกระตุ้นให้ปลา chinese carp ปลาจะสร้างสาร dopamine ขึ้นมายับยั้งการทำงานของ GnRHa Fermin (1991) ทดลองใช้ LHRHa เพียงอย่างเดียวฉีดให้ปลาหัวโต (*Aristichthys nobilis*) พบว่าไข่ปลาที่ทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองนี้ได้ผลเช่นเดียวกับ Manickam และ Joy (1989) ทดลองใช้ LHRHa เพียงอย่างเดียวฉีดให้ปลาดุกด้าน

(Clarias batrachus) ซึ่งให้ผลไม่ดี วัฒนะ ลีลาภัทร (2532) กล่าวว่า ปลาที่ฉีด LHRHa เพียงอย่างเดียว ในสมองปลาจะสร้าง dopamine ขึ้นมาสกัดกั้นการออกฤทธิ์ของ LHRHa ปลาจึงวางไข่ไม่สม่ำเสมอ จากผลการทดลองนี้ พบว่าการใช้ LHRHa เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพต่ำ ในการกระตุ้นให้ปลาดุกอุยไข่แก่และวางไข่

1.3 แม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ถูกกระตุ้นด้วย Motilium เพียงอย่างเดียว

จากผลทดลองโดยใช้ Motilium กระตุ้นให้แม่พันธุ์ปลาดุกอุย ไม่ได้ทำให้ไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocyte มีค่าเปลี่ยนแปลงมากนักทั้งจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย คือก่อนฉีดจะมีจำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 37.71(±1.41) หลังการฉีด 6 ชั่วโมง จำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าเป็น 37.28(±0.77) และหลังจากฉีดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 38.14(±1.12) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือก่อนฉีดจะมีค่า 93.35(±1.00) และหลังจากการฉีด 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 93.69 (±0.80) และในชั่วโมงที่ 12 จะมีค่า 93.23(±0.52) แสดงว่าผลจากการทดลองนี้ การฉีด Motilium ให้แก่แม่พันธุ์ปลาดุกอุย 1 เข็ม ในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นให้แม่ปลาดุกอุยมีจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาพบว่า dopamine ทำหน้าที่เป็น gonadotropin releasing inhibitory factor หรือ GRIF ในปลาทอง (*Carassius auratus*) (Chang and Peter, 1983) และปลาอื่น ๆ อีกหลายชนิด (De Leeuw et al., 1986; Lin and Peter, 1986; Van Der Kraak et al., 1986 และ Peter et al., 1987) ต่อมาได้มีการนำยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ dopamine หลายชนิดมาทดลองใช้กับปลาโดยมีวัตถุประสงค์ที่จะหาทางเพิ่มระดับความเข้มข้นของ GTH และพบว่า domperidone(DOM) ซึ่งเป็น dopamine receptor antagonist มีประสิทธิภาพสูงที่สุดและให้ผลข้างเคียงน้อยที่สุด (Peter et al., 1986 และ Omeljanink et al., 1987) นอกจากนี้ DOM ยังมีผลต่อการลดระดับของสาร dopamine ในต่อมใต้สมองได้โดยตรง (Sloley et al., 1991) Fermin (1991) พบว่าการใช้ domperidone เพียงอย่างเดียวฉีดให้ปลาหัวโต*(Aristichthys nobilis)* ครั้งเดียว

หรือสองครั้ง ไม่มีผลต่อการสุกหรือแก่ของไข่แต่อย่างใด Tan (1992) ทดลองฉีดปลาดุกอุยโดยใช้ pimozide (dopamine antagonist) ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ฉีดให้แม่พันธุ์ปลาดุกอุยและพบว่าแม่ปลาไม่วางไข่ นฤพล สุขุมาสวิน และวัฒนะ ลีลาภัทร (2535) ทดลองกระตุ้นปลาตะเพียนขาว โดยใช้ domperidone เพียงอย่างเดียวในอัตรา 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม จะพบว่าไม่มีแม่ปลาวางไข่นั้นแสดงให้เห็นว่า domperidone เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพต่ำในการกระตุ้นให้ปลาตะเพียนขาววางไข่ Manickam และ Joy (1989) พบว่าการใช้ pimozide เพียงอย่างเดียวฉีดให้ปลาดุกด้าน *(Clarias batrachus)* จะให้ผลไม่ดี

1.4 แม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ถูกกระตุ้นโดย Suprefact ผสมกับ Motilium

จากผลทดลองโดยใช้ Suprefact ผสมกับ Motilium กระตุ้นให้แม่พันธุ์ปลาดุกอุย ทำให้ไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocyte มีค่าเปลี่ยนแปลงทั้งจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย คือก่อนฉีดจะมีจำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 37.71 (±1.41) หลังการฉีด 6 ชั่วโมง จำนวนเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าเป็น 45.02 (±0.58) และหลังจากฉีดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 45.95 (±1.23) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือก่อนฉีดจะมีค่า 93.35(±1.00) และหลังจากการฉีด 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 94.57(±0.55) และในชั่วโมงที่ 12 จะมีค่า 94.40(±0.69) แสดงว่าผลจากการทดลองนี้ การฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ให้แก่แม่พันธุ์ปลาดุกอุย 1 เข็ม ในอัตรา 20 ไมโครกรัมและ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นให้แม่ปลาดุกอุยมีจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นหลังจากฉีด Suprefact เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการค้นพบว่าในการควบคุมระดับของ gonadotropin ในต่อมใต้สมอง นอกจาก GnRH แล้ว GRIF ก็มีอิทธิพลอย่างสำคัญในการยับยั้งการเพิ่มระดับ gonadotropin ในกระแสเลือด ในปลาทองนั้นพบว่าสาร dopamine มีฤทธิ์เหมือน GRIF และหากฉีดปลาทองด้วย pimozide ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง dopamine จะมีผลให้ระดับ gonadotropin ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ในการฉีด pimozide ร่วมกับ LHRHa พบว่าทำให้ปลาที่ฉีดตอบสนองต่อ LHRHa ดีขึ้นมาก (Billard et al., 1984; Sokolowska

et al., 1984) จากผลการทดลองใช้ Suprefact ผสมกับ Motilium ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม หลังการฉีดกระตุ้นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งจะสอดคล้องกับ Ngamwongchon et al.(1988) ได้รายงานถึงอัตราการฉีด LHRHa ให้แก่ปลาดุกอุยที่เหมาะสมไว้ว่าควรฉีดในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม Tavarutmaneegul et al.(1992) แนะนำให้ใช้ LHRHa กระตุ้นปลาดุกอุยในอัตรา 20-30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม Thomas และ Boyd (1989) รายงานการใช้ LHRHa ในอัตรา 10-25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ทำให้ปลา spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*) วางไข่ได้ Gracia(1990) แนะนำให้ใช้ LHRHa ให้ปลากระพงขาวในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม Prentice (1987) ทดลองใช้ LHRHa ในอัตรา 10-20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับ pimozide 5.0-10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ให้ปลา *Cynoscion xanthulus* จะให้ผลการทดลองดี Busch และ Steeby(1990) แนะนำให้ใช้ LHRHa ในอัตรา 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม โดยฉีดให้ปลา channel catfish *(Ictalurus punctapus)* ซึ่งจะให้ผลดี และ Saidin (1986) แนะนำให้ใช้ LHRHa ในอัตรา 200 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และจากผลการทดลองหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ให้แก่แม่ปลาดุกอุยเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ไม่เปลี่ยนแปลง อาจมาจากสาเหตุหลายประการ ซึ่ง Lam(1982) กล่าวว่าในการใช้ LHRH และ LHRHa ในระดับฮอร์โมนเดียวกันพบว่าถ้าแบ่งการฉีดเป็น 2 เข็ม จะได้ผลดีกว่าการฉีดฮอร์โมนทั้งหมดไปในครั้งเดียว โดยการฉีดเข็มแรกมีผลให้การรับฮอร์โมนจากเข็มที่ 2 เข้าสู่ต่อมใต้สมอง เกิดได้รวดเร็วกว่าเดิม เช่น ความถี่และอัตราของการฉีด ในปลาซีกเดียว (*Solea solea* Linn) ซึ่ง Ramos (1986) ได้ทดลองใช้ HCG ฉีดเข็มเดียวในอัตราต่าง ๆ กันพบว่าที่อัตรา 250-500 I.U. ต่อแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัมจะให้ผลดีที่สุด สำหรับปลาสวาย *(Pangasias sutchi)* สามารถตกไข่ได้เมื่อฉีด LHRHa 2 เข็มในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม

และ 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม และจากการทดลองในปลาเนื้ออ่อน *(Kryptopterus sp.)* จิรพงษ์ นุตะศะริน (2532) พบว่าการฉีด LHRH ผสมกับ domperidone 2 เข็ม ในอัตรา 2 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ผสมกับ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ผสมกับ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม จะสามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ Garcia (1989) ทดลองใช้ LHRHa ฉีดกระตุ้นให้ปลากระพงขาว *(Lates calcarifer)* ในอัตรา 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม พบว่าการใช้ LHRHa ในอัตรา 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมจะมีเปอร์เซ็นต์ของแม่ปลาที่วางไข่สูงกว่าการใช้ LHRHa ในอัตรา 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม Ngamwongchon et al. (1988) พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาเกล็ดเงิน *(Hypophthalmichthys molitrix)* ปลาหัวโต *(Aristichthys nobilis)* ต้องใช้ LHRHa แบ่งฉีด 2 ครั้งในอัตรา 5 และ 15 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ Thomas และ Boyd (1989) กล่าวว่าการใช้ LHRHa ในปลา spotted seatrout *(Cynoscion nebulosus)* 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมเป็นอัตราที่พอเหมาะ Carolsfeld et al. (1988) กล่าวว่าการใช้ LHRHa กระตุ้นให้ปลาเพียงครั้งเดียวควรใช้ในอัตรา 50-100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม Ferraz et al. (1988) กล่าวว่าการใช้ GnRHa ร่วมกับ domperidone ฉีดให้ปลา pacu *(Piaractus mesopotamicus)* จะต้องแบ่งฉีดฮอร์โมน 2 ครั้งในอัตราความเข้มข้นของฮอร์โมนที่เท่ากับการฉีดครั้งเดียว ปลาชนิดนี้จึงจะตอบสนองต่อฮอร์โมน Kaul และ Rishi (1986) พบว่าการเพาะพันธุ์ปลา indian major carp *(Cirrhina mrigala)* โดยใช้ LHRHa ในอัตรา 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับ pimozide ปรากฏว่าการใช้ LHRHa ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม แม่ปลาทุกตัววางไข่ และแม่ปลาที่ฉีดด้วยฮอร์โมนระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ไม่มีแม่ปลาวางไข่ Saidin และ Othman (1986) Lam (1982) กล่าวว่า ระยะเวลาระหว่างการฉีดจนถึงการตกไข่ (latency period) ค่อนข้างยาวเมื่อฉีดปลาด้วย LHRHa ซึ่งได้

สอดคล้องกับการทดลองของ Thomas และ Boyd (1989) ใช้ LHRHa 10-25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ฉีดให้ปลา milkfish (*Chanos chanos*) ซึ่งจะต้องใช้เวลา 32-38 ชั่วโมง แม่ปลาจึงจะวางไข่ และ Garcia (1990) ใช้ LHRHa ฉีดกระตุ้นปลา spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*) จะวางไข่หลังการฉีดเป็นเวลา 38-47.3 ชั่วโมง ความสมบูรณ์ของปลาจะเป็นตัวกำหนดความถี่ในการฉีดฮอร์โมน จันทวรัจฉร์ จันทรศารทูล (2532) ได้กล่าวว่าชนิดของฮอร์โมนที่เหมาะสมจะมีผลต่อการตอบสนองของแม่ปลา และได้ทดลอง ใช้ต่อมใต้สมองปลาจีน ในอัตรา 1.5-4.0 โดส และใช้ HCG ในอัตรา 2,000-4,000 I.U.ต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม กระตุ้นให้ปลาดุกด้าน ผลปรากฏว่าไข่ระยะสุดท้ายเพิ่มขึ้นน้อยมาก และ อรพรหมื่นผล (2531) พบว่า การฉีด HCG ให้แก่แม่พันธุ์ปลาดุกด้าน ในอัตรา 3,000 I.U. ต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม จะให้ผลดีและเร็วกว่าการใช้ต่อมใต้สมองปลาในอัตรา 0.75 และ 1.50 โดส ในเข็มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยจะทำให้ ไข่ระยะ Germinal Vesicle Breakdown (GVBD) เพิ่มขึ้นรวดเร็ว และปริมาณการตกไข่สูงกว่า สมศรี งามวงศ์ชน (2527) ได้ทดลองใช้ HCG กับปลาดุกอุยในอัตรา 6,000 I.U. ต่อแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม พบว่าปลาดุกอุยสามารถวางไข่ได้ ส่วนอุทัยรัตน์ ณ นคร (2531) แนะนำให้ใช้ HCG ฉีดปลาดุกอุยโดยแบ่งเป็น 2 เข็ม เข็มที่ 2 เว้นช่วงจากเข็มที่ 1 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยใช้ HCG เข็มที่ 1 อัตรา 1,000 I.U. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม และเข็มที่ 2 อัตรา 2,000 I.U. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม เว้นช่วง 9-10 ชั่วโมง จึงรีดไข่หรือใช้ HCG เพียงเข็มเดียวในอัตรา 3,000 I.U. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม และรีดไข่หลังจากฉีด 12 ชั่วโมง ส่วนพ่อพันธุ์ฉีดในอัตรา 500 I.U. ต่อน้ำหนักพ่อพันธุ์ปลา 1 กิโลกรัม โดยฉีดพร้อมแม่พันธุ์ในเข็มที่ 2 Carreon et al. (1976) พบว่า HCG เป็นตัวเหนี่ยวนำการตกไข่ที่ดี ในการเพาะปลาดุกอุยในทางการค้า แม้ว่า HCG จะไม่ให้ผลดีเท่าต่อมใต้สมองปลาแต่ Mollah และ Tan (1983) กล่าวว่าการฉีดปลาดุกอุยด้วย HCG อัตรา 2,000 I.U.ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กิโลกรัม จะได้ผลดีเกือบเท่ากับการฉีดด้วยต่อมใต้สมองปลาในอัตรา 3.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 100 กรัม Mollah และ Tan (1983) อ้างถึง Micha (1973) ว่า ฮอร์โมน HCG จะ

ใช้ไม่ได้ผลในปลา *Clarias lazera* หรือบางครั้งการใช้ฮอร์โมนชนิดเดียวจะให้ผลไม่ดีเท่าที่ควร จำเป็นต้องใช้ฮอร์โมนผสม เช่นในปลา indian carps ส่วนใหญ่จำเป็นที่จะต้องฉีดฮอร์โมนผสมระหว่าง HCG กับต่อมใต้สมองปลาคาร์พ จึงจะสามารถทำให้มันวางไข่ได้ (Chauhuri, 1976) หรือในปลากระรังต้องการฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองเข็มแรก และฉีดตามด้วย HCG ในเข็มที่สอง จะทำให้แม่ปลาวางไข่ได้ (Chen et al., 1977; Kuo et. al, 1988) ได้ศึกษาปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ฤดู ฯลฯ ก็มีผลต่อการตอบสนองฮอร์โมนด้วยเช่นกัน ดังที่ Stacey (1983) พบว่าอุณหภูมิสูงขึ้นคงจะมีผลในทางกระตุ้นบ้าง โดยพบว่าปลาทองที่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส ไม่วางไข่ แม่ปลาจะมีไข่แก่เต็มท้องเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 20 องศาเซลเซียส ปลาจะวางไข่ทุกครั้ง Barua et al. (1986) อ้างถึง Idyll (1969) ว่าปลาดุกด้านสามารถที่จะวางไข่ได้เกือบตลอดทั้งปีภายใต้อากาศที่อบอุ่น และมีฝนตกมากกว่าปกติในฟลอริดา Breder และ Rosen (1966) รายงานว่าปลาเฉาจะวางไข่เต็มที่ภายหลังฝนตกหนักหลาย ๆ ครั้ง ส่วนปลาดุกอัฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ก็วางไข่หลังฝนตกเช่นกัน (Bruton, 1979)

จากผลการทดลองนี้แสดงว่าการใช้ LHRHa ผสมกับ Motilium สามารถกระตุ้นให้ปลาดุกอุยมีไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นทั้งจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยหลังจากการฉีดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แต่หลังจากการฉีดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 จนถึงชั่งโมงที่ 12 จำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ไม่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมาจากชนิดของฮอร์โมน ความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ ระยะเวลาจากการฉีดจนถึงการตกไข่และการแบ่งฮอร์โมนฉีดกระตุ้น

1.5 แม่พันธุ์ปลาดุกอุยก่อนและหลังการกระตุ้นด้วยน้ำกลั่น

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่ปลาดุกอุยก่อนและหลังฉีดน้ำกลั่น 12 ชั่วโมง พบว่าภายในรังไข่ มีไข่หลายระยะปะปนกัน โดยที่ไข่ระยะต่าง ๆ เหล่านี้ จะมีการจัดเรียงตัว โดยที่ไข่ที่อ่อนที่สุดจะกระจายอยู่บริเวณด้านนอกติดผนังรังไข่ ส่วนไข่ที่แก่กว่าจะถัดเข้ามาด้านในเรื่อย ๆ จนกระทั่งไข่ที่แก่จัดจะอยู่บริเวณตรงกลางของรังไข่ พร้อมที่จะหลุดสู่ช่องว่างภายในรังไข่เมื่อเกิดการตกไข่ ระยะของเซลล์สืบพันธุ์ภายในรังไข่

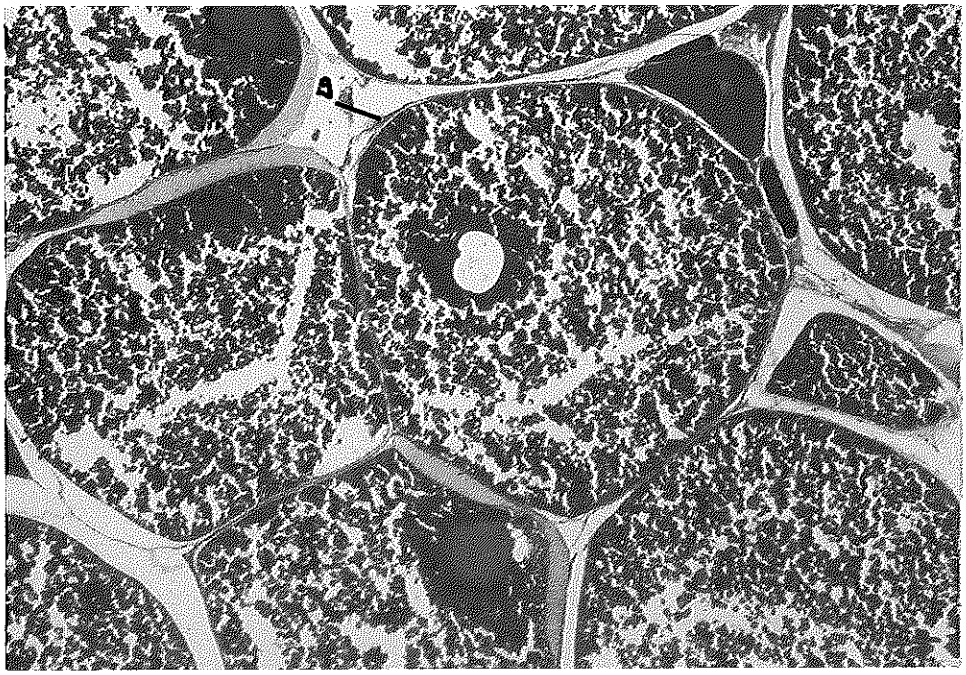
จะสามารถบอกความถี่ในการวางไข่ของปลาได้ ในรังไข่ที่มีเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะเดียวกันตลอดทั้งรังไข่ แสดงว่าปลาชนิดนั้นวางไข่เพียงครั้งเดียวแล้วก็ตาย เช่น ปลาตูหนา ปลาที่ภายในรังไข่มีไข่ซึ่งแบ่งกลุ่มตามระยะการเจริญของไข่ได้อย่างน้อย 2 กลุ่ม พวกนี้จะวางไข่ปีละครั้งและช่วงฤดูวางไข่ก็สั้นมาก ส่วนปลาที่วางไข่ตลอดปี หรือวางไข่ได้ในเวลายาวนาน เช่น ปลาเมืองร้อนทั่วไป ภายในรังไข่จะมีเซลล์สืบพันธุ์ทุก ๆ ระยะปรากฏอยู่ (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2535) เช่นเดียวกับการศึกษาในปลา capelin (Forberg, 1982) ปลา haddock (Robb, 1982) และปลาบู่ชิชิบู (*Tridentiger obseurus*) (Kaneko et. al, 1986) ที่มีไข่หลายระยะปะปนกันภายในรังไข่ ซึ่งปลาทั้งสามชนิดนี้มีการวางไข่ได้หลายครั้งในรอบ 1 ปี

Bye(1983) ได้สรุปไว้ว่าสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อสืบพันธุ์ของปลาเขตอบอุ่น และแถบขั้วโลก ก็คืออุณหภูมิ ความยาวของกลางวันและอาหารที่มีในธรรมชาติ ส่วนในเขตร้อนเนื่องจากทั้งอุณหภูมิและแสงมีเพียงพอทุกฤดูกาลมีผลให้แหล่งน้ำมีความอุดมสมบูรณ์ตลอดเวลา ปัจจัยดังกล่าวจึงไม่น่าจะมีอิทธิพลต่อปลาเขตร้อนมากมายนัก Kuo et al.(1974) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและช่วงแสงต่อการเจริญของไข่ปลากระบอก (*Mugil cephalus* L.) พบว่าช่วงแสงมีอิทธิพลมากกว่าอุณหภูมิ โดยปลาที่ได้รับแสงนานวันละ 6 ชั่วโมง (6l:18D) แทนที่จะเป็นวันละ 12 ชั่วโมง (12L:12D) ตามปกติจะทำให้ปลากระบอกที่เพิ่งเสร็จสิ้นการวางไข่ เริ่มมีการสร้างและสะสม yolk ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสม (17- 21 องศาเซลเซียส) จะช่วยเสริมให้การเจริญของไข่ดีขึ้นจนเจริญเต็มที่ ในทางตรงกันข้ามถ้าให้ปลาได้รับแสงมากกว่าวันละ 12 ชั่วโมง จะทำให้การเจริญของไข่ชะงัก ยิ่งอุณหภูมิสูงขึ้นจะยิ่งเป็นการยับยั้งการเจริญของไข่ ช่วงแสงนี้มีผลต่อปลากระบอกเพศผู้ในลักษณะเดียวกัน (Lee and Weber, 1986) นอกจากนี้ Lam และ Soh (1975) ซึ่งศึกษาในปลากลุ่มปลาสลิดหิน (*Siganus canaliculatus*) พบว่าเมื่อให้ปลาได้รับแสงนานวันละ 18 ชั่วโมง (18L:6D) จะมีผลให้การเจริญของไข่ถูกยับยั้ง Bye (1983) ได้สรุปเกี่ยวกับเรื่องนี้ว่า ช่วงแสงจะมีผลในการกระตุ้นให้เซลล์สืบพันธุ์เริ่มเจริญได้หากอุณหภูมิคงที่ ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการจึงมักนำมาใช้ในสภาพธรรมชาติไม่ได้ผล เพราะในธรรมชาติอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ซึ่งในสภาพเช่นนี้อุณหภูมิจะมี

อิทธิพลมากกว่าช่วงแสง คุณสมบัติของน้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของไข่และน้ำเชื้อของปลา เมื่อน้ำมีคุณสมบัติไม่เหมาะสมจะมีผลยับยั้งการเจริญของไข่และน้ำเชื้อ ในกรณีที่น้ำเป็นกรดมีผลทำให้ปลาบางชนิด เช่น ปลา *Jordanella floridae* สร้างเชื้อตัวผู้ลดลงถึงร้อยละ 35.29 เมื่อความเป็นกรด เป็นด่าง (pH) เท่ากับ 4.5 ส่วนปลาเพศเมียได้รับผลกระทบมากกว่าโดยสร้างไข่ลดลงร้อยละ 91.8 ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่างเดียวกัน Ruby et al. (1978) ผู้ศึกษาสันนิษฐานว่าเมื่อน้ำเป็นกรดมีผลให้เลือดปลาเป็นกรด จึงรับออกซิเจนได้น้อยลงซึ่งออกซิเจนนี้เป็นสิ่งจำเป็นในขบวนการสร้างพลังงาน เมื่อออกซิเจนไม่พอ ก็จะทำให้พลังงานไม่พอเพียงที่จะนำไปใช้ในการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามปลาบางชนิดสามารถปรับตัวได้ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่างค่อนข้างกว้าง จึงทำให้สามารถสืบพันธุ์ได้เป็นปกติในน้ำที่เป็นกรด (pH ไม่ต่ำกว่า 4) เช่น ปลาสลิด เป็นต้น (ชื่นหทัย หวังเอียด, 2529) ซึ่งการที่นบไข่หลายระยะภายในรังไข่ปลาดุกอุยนี้เป็นการบ่งบอกว่าปลาดุกอุยสามารถวางไข่ได้หลายครั้งในรอบ 1 ปี และพบว่าปลาดุกอุยหลังฉีดน้ำกลั่น (12 ชั่วโมง) จะมีไข่ระยะที่ 1 ในสัดส่วนที่ต่ำที่สุด และจะมีไข่ระยะที่ 6 ในสัดส่วนสูงสุด จะเห็นได้ว่าในสภาพที่ก่อนฉีดฮอร์โมนปลาดุกอุยจะมีการพัฒนาของไข่ที่ดี เนื่องจากปลาดุกอุยมีไข่ระยะที่ 6 ซึ่งเป็น mature oocyte ในสัดส่วนที่สูงสุด ดังนั้นปลาดุกอุยจึงมีแนวโน้มความพร้อมในการตกไข่ เมื่อระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ในกระแสเลือดสูงพอ

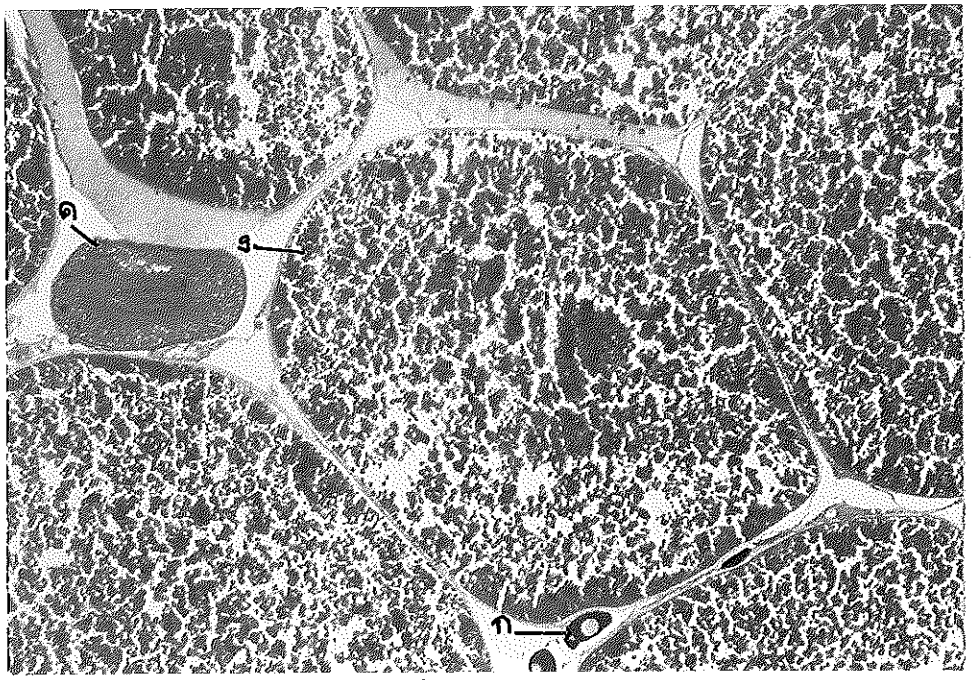
จากผลการทดลองพบว่าจำนวนเฉลี่ย และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ตลอดช่วงการทดลอง (ตารางที่ 11) แม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ฉีดต่อมใต้สมองมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากการฉีดเข็ม 1 และเพิ่มขึ้นอีกหลังจากการฉีดเข็มที่ 2 สำหรับแม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่ฉีดด้วย Suprefact ผสมกับ Motilium ไข่ระยะที่ 6 จะมีจำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 6 แต่หลังจากนั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และปลาที่ฉีดด้วย Suprefact หรือ Motilium เพียงอย่างเดียว จำนวนเฉลี่ยและอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ระยะที่ 6 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 5) จากผลการทดลองนี้พอที่จะสรุปได้ว่า ฮอร์โมนจากต่อมสมองปลาหัวโตมีแนวโน้มว่าจะมีประสิทธิภาพ

ดีกว่า ฮอร์โมนสังเคราะห์(LHRHa) ผสมกับ dopamine antagonist ในการกระตุ้นแม่พันธุ์ปลาดุกอุย สำหรับเรื่องบทบาทของฮอร์โมนในการเพาะพันธุ์ปลานี้พอสรุปได้ว่า ฮอร์โมนที่กระตุ้นการวางไข่ที่ใช้กันแพร่หลาย ได้แก่ gonadotropin ที่ได้จากปลา (piscine gonadotropin) HCG และ LHRHa ซึ่งต้องการใช้ร่วมกับ dopamine antagonist LHRHa นี้ เกษตรกรรายใหญ่นิยมใช้มาก เพราะเทียบราคาต้นทุนแล้วถูกที่สุด แต่ถ้าฉีดปลาครั้งละไม่มากนัก ก็จะไม่คุ้มเพราะขนาดบรรจุค่อนข้างมาก แต่เนื่องจากสามารถสังเคราะห์ได้ นักวิชาการส่วนมากจึงฝากความหวังไว้กับฮอร์โมนชนิดนี้ว่าจะสามารถแก้ปัญหาการขาดแคลนต่อมใต้สมองที่กำลังเป็นปัญหาใหญ่ในบางประเทศได้



รูปที่ 1 ไข่ปลาดุกอุยที่ 12 ชั่วโมง หลังการฉีดต่อมใต้สมองในอัตรา 2 โดส (เข็มที่ 1 0.5 โดส , เข็มที่ 2 1.5 โดส) ซึ่งจะมีไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้นก่อนการฉีดฮอร์โมนอย่างเด่นชัด

ง คือไข่ระยะที่ 6

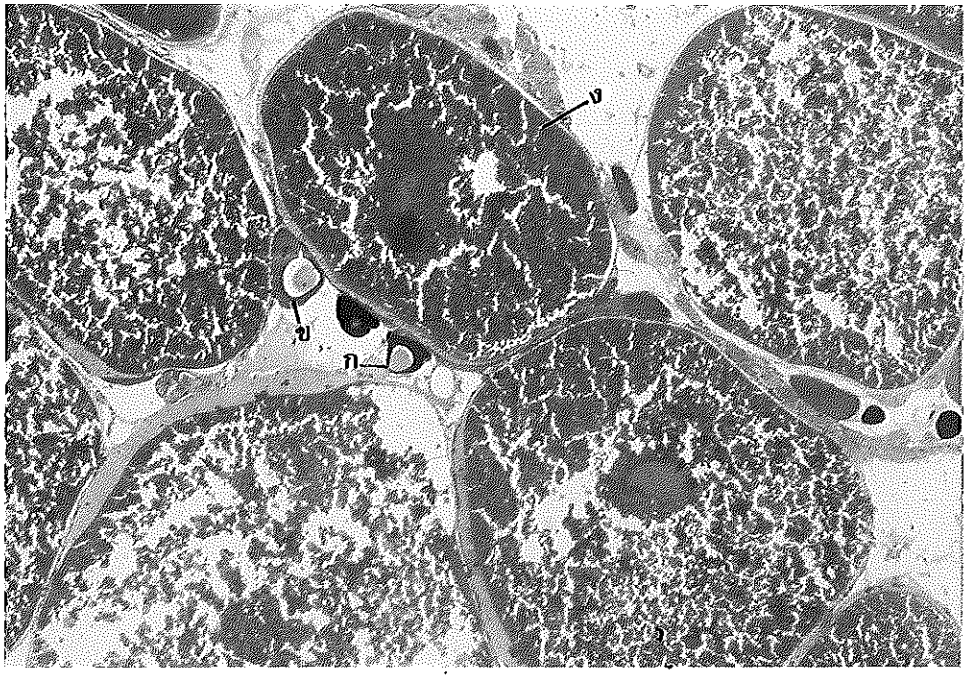


รูปที่ 2 ไข่ปลาดุกอุยที่ช่วงเวลาหลังการฉีด Suprefact ผสมกับ Motilium ในอัตรา 20 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งจะมีไข่ระยะที่ 6 เพิ่มขึ้น

ก คือไข่ระยะที่ 3

ค คือไข่ระยะที่ 5

ง คือไข่ระยะที่ 6

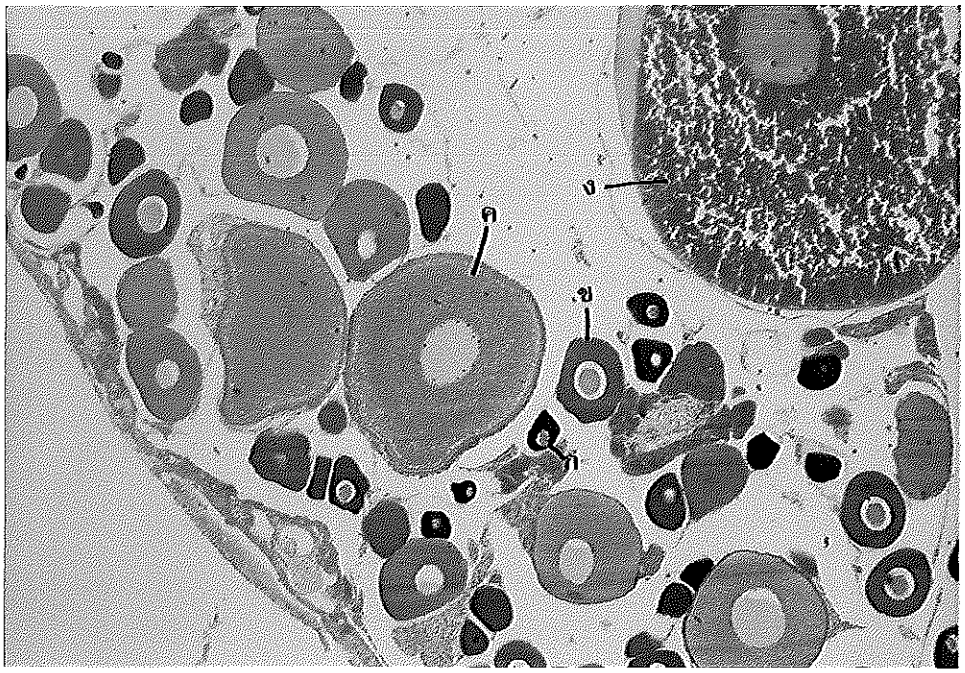


รูปที่ 3 ไข่ปลาคุกอุยก่อนฉีดสารกระตุ้น (0 ช.ม.) ซึ่งมีไข่ระยะที่ 6 เป็นจำนวนมาก

ก คือไข่ระยะที่ 3

ข คือไข่ระยะที่ 4

ง คือไข่ระยะที่ 6



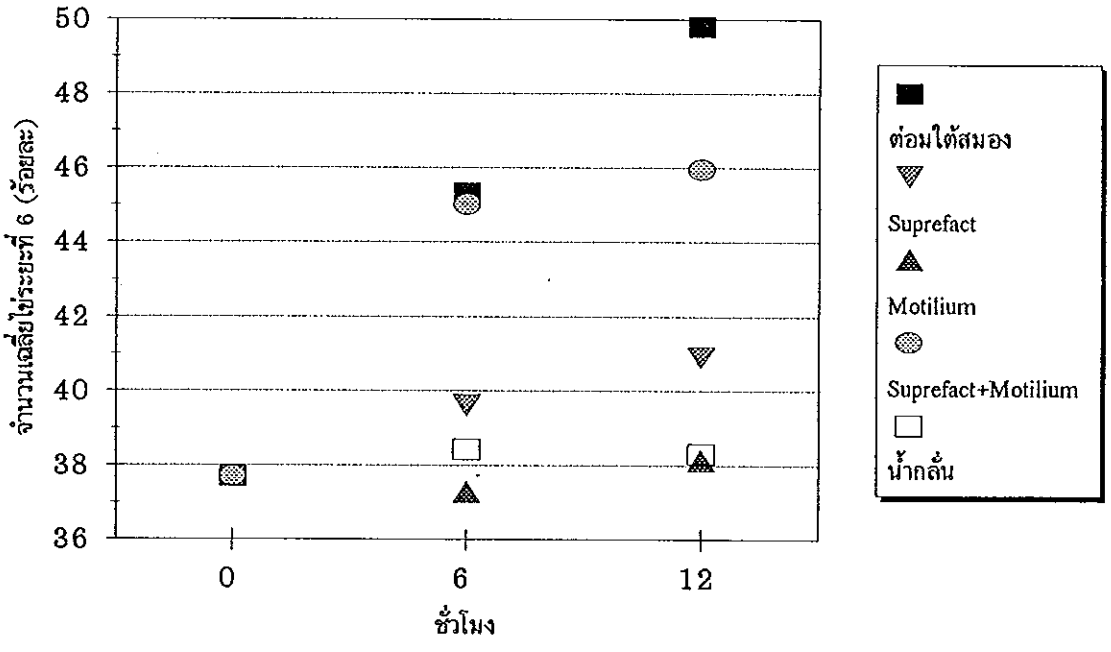
รูปที่ 4 แสดงการจัดเรียงตัวของไข่ระยะต่าง ๆ ซึ่งไข่ระยะแรก ๆ จะกระจายบริเวณด้านนอกติดผนังรังไข่ ส่วนไข่ที่แก่จะถัดเข้ามาด้านใน

ก คือไข่ระยะที่ 3

ข คือไข่ระยะที่ 4

ค คือไข่ระยะที่ 5

ง คือไข่ระยะที่ 6



รูปที่ 5 จำนวนไข่ระยะที่ 6 เป็นร้อยละ
ที่ฉีดสารกระตุ้นต่าง ๆ กัน

ตารางที่ 11 แสดงค่าจำนวนเฉลี่ย (ร้อยละ) (±SE) และอัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (volume of structure) (±SE) ในจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของไข่ระยะที่ 6 ก่อนและหลังการฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง และ Suprefact ผสมกับ Motilium

ช่วงเวลาหลังการฉีด(ช.ม.)	จำนวนเฉลี่ย(ร้อยละ)			อัตราส่วนปริมาตรโดยเฉลี่ย (ลบ.ซม./100 ลบ.ซม.)		
	น้ำกลั่น	ต่อมใต้สมอง	Suprefact ผสมกับ Motilium	น้ำกลั่น	ต่อมใต้สมอง	Suprefact ผสมกับ Motilium
0	37.71(±1.41)	37.71(±1.41)	37.71(±1.41)	93.35(±1.00)	93.35(±1.00)	93.35(±1.00)
6	38.44(±0.62)	45.31(±0.42)	45.02(±0.58)	93.74(±0.65)	94.64(±0.88)	94.57(±0.55)
12	38.31(±1.80)	49.80(±1.09)	45.95(±1.23)	93.21(±0.62)	95.48(±0.44)	94.40(±0.69)

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาผลของอัตราการใช้ฮอร์โมนแต่ละชนิดในช่วงเวลาที่ต่างกัน

2. ควรมีการศึกษาช่วงเวลาการรีดไข่ที่เหมาะสม อัตราการผสม อัตราการฟัก อัตราการรอด ตลอดจนการเจริญเติบโตในการเพาะขยายพันธุ์ปลาดุก เพื่อให้ทราบถึงผลต่อเนื่องที่เกิดขึ้นจากการใช้ฮอร์โมนแต่ละชนิดที่อัตราต่าง ๆ กัน ซึ่งสามารถที่จะนำมาใช้ประกอบการพิจารณาในการที่จะเลือกใช้ฮอร์โมนในปลาดุกได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

จันทวรัจฉร์ จันทรสารทูล. 2532. ผลของฮอร์โมนต่อการพัฒนาของไข่ปลาดุกอุยและปลาดุกด้านและลักษณะทางเนื้อเยื่อของลูกปลาวัยอ่อน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิรพงษ์ นุตะศะริน. 2532. การศึกษาชีวประวัติปลาเนื้ออ่อนในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์. น. 17-30 ใน รายงานประจำปี. งานพัฒนาประมงแหล่งน้ำขนาดใหญ่, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ, ปวีณา กิจสวัสดิ์ และสุปราณี ชินบุตร. 2530. เนื้อเยื่อของปลาดุกด้าน. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 138 น.

ชื่นฤทัย หวังเอียด. 2529. ความเป็นกรดของน้ำที่มีผลต่อปลานิล (*Sarotherodon niloticus*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

นฤพล สุขุมาสวิน และวัฒนะ ลีลาภัทร. 2535. ผลของฮอร์โมน [D-Arg^{6}, Trp^{7}, Leu^{8}, Pro^{9}, NHET] gonadotropin-releasing hormone และ domperidone ต่อการหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินและการวางไข่ของปลาตะเพียนขาว *Puntius gonionotus* Bleeker. วารสารการประมง. 45: 1125-1131.

ปวีณา กิจสวัสดิ์. 2530. การศึกษาทางเนื้อเยื่อของปลาดุกด้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ สุจินต์ หนูขวัญ. 2531. การผลิต Crude HCG จากปัสสาวะหญิงมีครรภ์เพื่อใช้ในการผสมเทียมพันธุ์ปลา. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 83. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 15 น.

เมม บุญพราหมณ์, วิทย์ ธารชลานุกิจ และประวิทย์ สุรนีรนาถ. 2520. การทดลองผสมข้ามพันธุ์ปลาดุก. ข่าวสารเกษตรศาสตร์. 23: 45-61.

วัฒนะ ลีลาภัทร. 2532. การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์และยาเสริมฤทธิ์ในการเพาะปลา. วารสารการประมง. 42: 275-278.

วิทย์ ธารชลานุกิจ, เวียง เชื้อโพธิ์หัก, ประวิทย์ สุรนีรนาถ และอุทัยรัตน์ ณ นคร. 2525. การเพาะเลี้ยงปลาดุกหลักการและแนวปฏิบัติ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 58 น.

เวดิน นพนิตย์. 2524. เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, หาดใหญ่. 168 น.

สมศรี งามวงศ์ชน. 2527. การผสมเทียมปลาดุกอุยด้วยฮอร์โมนสกัดจากปัสสาวะหญิงมีครรภ์. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพ ฯ. 30 น.

สมศรี งามวงศ์ชน, นิคม ชัยศิริ และอภิรัตนา คุ้มเดช. 2530. การผลิตและการหาวิธีที่เหมาะสมในการเก็บรักษา HCG, น. 19 ใน บทคัดย่อการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

สมศรี งามวงศ์ชน และมานพ ตั้งตรงไพโรจน์. 2526. การผสมเทียมปลาดุกอุยด้วยฮอร์โมนสกัดจากปัสสาวะหญิงมีครรภ์. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพ ฯ. 37 น.

---------- . 2528. การผสมเทียมปลาดุกอุยด้วยปัสสาวะหญิงมีครรภ์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 46. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 30 น.

สุกัญญา วีรรัฒนกุมพะ. 2525. การฝึกอบรมทางห้องปฏิบัติการเรดิโออีมมิวโนเอสเสย์ ครั้งที่ 1. ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา, คณะแพทย์ศาสตร์และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 213 น.

โสภา อารีรัตน์. 2513. พันธุ์ปลาดุกที่พบในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 9. กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพ ฯ. 18 น.

อรพร หมื่นผล. 2531. ผลของฮอร์โมนต่อการเจริญขั้นสุดท้ายของไข่ปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus* Linn.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2525. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 130 น.

———————. 2531. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 148 น.

———————. 2535. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 239 น.

Al-Daham, N.K. and Bhatti, M.N. 1979. Annual changes in the ovarian activity of the freswater teleost, *Barbus luteus* (Heckell) from Southern Irag. J. Fish. Biol. 14: 381-387.

Barua, G., Islam, M.A. and Mollah, M.F.A. 1986. Some aspects of reproductive biology of *Clarias batrachus* (Linneaus) with motes on some climatological parameters. Bangladesh J. Fish. 9: 23-31.

Billard, R., Reinaud, P., Hollebecg, M.G. and Breton, B. 1984. Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LHRHa combined or not with pimozide. Aquaculture. 43: 57-66.

Breder, C.M. and Rosen, D.E. 1966. Modes of Reproduction in Fishes. The Natural History Press., New York. 941 p.

Bruton, M.N. 1979. Control of the timing of ovulation by exogenous and endogenous factors. pp. 208-222. *In* Fish Reproduction Strategies and Tactics. Potts, G.W. and Wootton, R.J.(eds.). The FSBI International Symposium, Plymouth Polytechnic, Plymouth, Devon.

Busch, R.L. and Steeby, J.A. 1990. An evaluation of a luteinizing hormone-releasing hormone analogue to induce spawning of channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. world Aquacult. Soc. 21: 10-15.

Bye, V.J. 1983. The role of enviromental factors in the timing of reproductive cycles. pp. 187-202. *In* Fish Reproduction Strategies and Tactics. Potts, G.W. and Wootton, R.J. (eds.). The FSBI International Symposium, Plymouth Polytechic, Plymouth, Devon.

Carolsfeld, J., Ramos, S.M., Ormanezi, R., Gomes, J.H., Barbosa, J.M. and Harvey, B. 1988. Analysis of protocols for application of an LHRH analogue for induced final maturation and ovulation of female pacu (*Piaractus meopotmicus* Holmberg 1887). pp. 49-55. *In* Proceedings of a Fish Breeding Workshop. Crim, L.W., Lee, C.S., Peter, R.E., Sherwood, N.M.(eds.). Singapore.

Carreon, J.A., Estocapio, F.A. and Enderz, E. M. 1976. Recommended procedures for induced spawning and fingerling production of *Clarias macrocephalus* Gunther. Aquaculture. 8: 269-281.

Chang, J.P. and Peter, R.E. 1983. Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. Neuroendocrinol. 36: 351-357.

Chang, J.p., Mackenzie, D.S., Gould, D.R. and Peter, R.E. 1984. Effects of dopamine and norepinephine on *in vitro* spontaneous and gonadotropin-releasing hormone-induced gonadotropin releas by dispered cells or fragments of goldfish pituitary. Life Sci. 35: 2027-2033.

Chaudhuri, H. 1976. Use of hormone in induced spawning of carps. J. Fish. Res. Board. Can. 33: 940-947.

Chen, F.Y., Chow, T.M. and Lim, R. 1977. Artificial spawning and larval rearing of the Grouper, *Epinephelus tauvina* (Forskal) in Singapore. Singapore J. pre. Ind. 5: 1-21.

Cheng, C-S., Liao, I-C., Yu, Y-L., Kuo, C-M. and Shih, S-H. 1987. A study on the induced maturation and spawning of milkfish *Chanos chanos* by LHRH-analogue. pp. 188-198. *In* Proceedings of the Symposium on Fish Reproduction an Endocrine Control. Chen, S-J.(eds.). Taipei, Taiwan.

Crim, L.W., Nestor, J.R. and Wilson, C.E. 1988. Studies of the Biological activity of LHRH analogue in the rainbow trout, Landlocked salmon, and winter flounder. Gen. Comp. Endocrinol. 71: 372-382.

De Lueew, R., Goos, H.J.T., Richter, C.J.J. and Eding, E.M. 1985. Pimozide modulates the luteinizing hormone-releasing hormone: Effect on gonadotropin relase in the African catfish *Clarias lazra.* Gen Come. Endocrinol. 58: 120-127.

De Lueew, R., Goos, H.J.T. and Van Oordt, P.G.W.J. 1986. The domperiminergic inhibition of the gonadotropin-reasleasing hormone-induced gonadotropin release. An *in vitro* study with fragments and cell suspensions from pituitary of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). Gen. Comp. Endocrinol. 63: 171-177.

De Lueew, R., Habibi, H.R., Narhorniak, C.S. and Peter, R.E. 1989. Domperiminergic regulation of pituitary gonadotropin releasing hormone receptor activity in the goldfish *(Carassius auratus)*. J. Endocrinal. 121: 239-247.

Donaldson, H.K. and Hunter, G.A. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation. pp. 351-403. *In* Fish Physiology Vol. IX B. Hoar, W.S., Randall D.J. and Donaldson, E.M.(eds.). Academic Press, Inc., New York.

Fermin, A.C. 1991. LHRHa and domperidone induced oocyte maturation and in bighead carp, *Aristichthys nobilis* (Richardson). Aquaculture. 93: 87-94.

Ferraz de Lima, J.A., Carolsfeld, J., Ramos, S.M., Alcantara, R.C.G. and Ramos, R.O. 1988. Use of Ovaprim (luteinizing hormone releasing hormone sGnRH-A combinated with domperidone for induced final maturation and ovulation in pacu (*Piaratus mesopotamicus*) reared in captivity. Biol. Tec. Cepta. 1: 1-9.

Forberg, K.G. 1982. A histological study of development of oocytes in capelin, *Mallotus villosus* (Muller). J. Fish. Biol. 20: 143-154.

Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B. and Zohar, V. 1983. The gonadal steroids. pp. 277-372. *In* Fish Physiology Vol. 9A. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson, E.M. (eds.). Academic Press, Inc., New York.

Garcia, L.M.B. 1989. Spawning response of mature female sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), to a single injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue: Effect of dose and initial oocyte size. J. Appl. Ichthyol. Z. Angew. Ichthyol. 5: 177-184.

Garcia, L.M.B. 1990. Spawning response latency and egg production capacity of LHRHa injected mature female sea bass, *Lates calcarifer* Bloch. J. Appl. Ichthyol. Z. Angew. Ichthyol. 6: 167-172.

Goetz, F.W. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. pp. 117-170. *In* Fish Physiology Vol 9 B. Hoar, W.S., Randoll, D.J. and Donaldson, E.M.(eds.). Academic Press, Inc., New York.

Goswami, S.V. and Sundararaj, B.I. 1971. Temporal effects of ovine lutenizing hormone and deoxycorticosterone acetate on maturation and ovulation of oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch): An *in vivo* and *in vitro* study. J. Exp. Zool. 178: 457-468.

Groman, D.B. 1982. Histology of Striped Bass. American Fisheries Society Monograph Number 3, Bethesda, Maryland. 116 p.

Hoar, W.S. 1969. Reproduction. pp. 1-72. *In* Fish Physiology Vol. 3. Hoar, W.S. and Randall D.J.(eds.). Academic Press, New York.

Idler, D.R. and Ng, T.B. 1979. Studies on two types of gonadotropins from both salmon and carp pituitaries. Gen. Comp. Endocrinol. 38: 421-440.

———————————. 1983. Teleost gonadotropins: isolation, biochemistry, and function. pp. 187-222. *In* Fish Physiology Vol. 9 B. Hoar, W.S., Randall D.J. and Donaldson, E.M.(eds.). Academic Press, Inc., New York.

Jalabert, B. 1976. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*) J. Fish. Res. Board Can. 33: 974-988.

Jalabert, B. and Fostier, A. 1984. The follicular sensitivity *in vitro* maturation inducing hormones in rainbow trout, *Salmo gairdneri*: role of estradiol-17. Aquaculture. 43: 1-11.

Kaneko, T., Aida, K. and Hanyu, I. 1986. Changes in ovarian activity and fine structure of pituitary gonadotrophs during spawning cycle of the Chichibu-goby. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52: 1923-1928.

Kaul, M. and Rishi, K.K. 1986. Induced of the Indian major carp, *Cirrhina mrigala*(Ham), with LHRHa or pimozide. Aquaculture. 54: 45-48.

Kuo, C-M., Nash, C.E. and Shehadeh, Z.N. 1974. The effects of temperature photoperiod on ovarian development in captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.). Aquaculture. 3: 25-43.

Kuo, C-M., Ting Y-Y., and Yeh, S-L. 1988. Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario.* Aquaculture. 74: 113-126.

Lam, T.J. and Soh, C.L. 1975. Effect of photoperiod on gonadal maturation in the rabbitfish *Siganus canaliculatus* Park 1979. Aquaculture. 5: 407-410.

Lam, T.J. 1982. Application of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 111-137.

Lee, C.S. and Weber, G.M. 1986. Effects of salinity and photoperiod on 17β - methyltestosterone induced spermatogenesis in the grey mullet, *Mugil cephalus* L. Aquaculture. 56: 53-62.

Leelapatra, W. 1988. Carps culture in Thailand with particular emphasis on induced spawning. pp. 331-337. *In* Proceedings of The Aquaculture International Congress and Exposition. Vancouver, B.C. Canada.

Legendre, M. 1986. Seasonal changes in sexual maturity and fecundity of the African catfish *Heterobranchus longifilis* Val. (Clariidae), rared in Ebrie Lagoon (Ivory Coast). Aquaculture. 55: 201-213.

Lin, H.R., and Peter, R.E. 1986. Induction of gonadotropin secretion and ovulation in teleossts using LHRH analogue and catecholaminergic drugs: Areview. pp. 667-670. *In* The Frist Asian Fisheries Forum. Maclean, J.L., Dizon, L.B. and Hosillos, L.V.(eds.). Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Lin, H.R., Van Der kraak, G., Zhou, X.J., Liang, J.Y., Peter, R.E., Rivier, E. and Vale, W.W. 1988. Effects of [D-Arg^{6}, Trp^{7}, Leu^{8}, Pro^{9}, NET]- Luteinizinghormone - releasing hormone (sGnHRA) and [D-Ala^{6}, Pro^{9}, Net] - Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH-A), in combination with pimozide or domperidone, on gonadotropin

release and ovulation in the Chinese loach and common carp. Gen. Endocrinol. 69: 31-40.

Manickam, P. and Joy, K.P. 1989. Induction of maturation and ovulation by pimozide-LHRH analogue treatment and resulting high quality egg production in the Asian catfish, *Clarias batrachus*. Aquaculture. 83: 193-199.

Melotti, P., Belvedere, P., Vitali, A. and Roncarati, A. 1989. Preliminary trials on induced reproduction and larval rearing of African catfish *Clarias gariepinus* (Burch). Aquaculture. 24: 155-159.

Mollah, M.F.A. and Tan, E.S.P. 1983. HCG-induced spawning of the catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther). Aquaculture. 35: 293-247.

Ng, T.B. and Idler, D.R. 1978. "Big" and "little" form of plaice vitellogenic and maturational hormones. Gen. Comp. Endocrinol. 34: 408-412.

_____. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. pp. 373-404. *In* Fish Physiology Vol. 9A. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson, E.M.(eds.). Academic Press. Inc., New York.

Ngamwongchon, S. 1981. A preliminary study of the hormone from the urine of pregnent women to induce some freshwater fishes spawning in Thailand. M.S. Thesis, Mahidol University, Bangkok.

Ngamwongchon, S., Pawaputanon, O., Leelapatra, W. and Johnson, W.E. 1988. Effectiveness of an LHRH analogue for

induced spawning of carp and catfish in Northeast Thailand. Aquaculture. 74: 35-40.

Omeljaniuk, R.J., Shih, S.H. and Peter, R.E. 1987. *In vivo* evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary of the goldfish, *Carassius auratus*. J. Endocrinol. 114: 449-458.

Omeljaniuk, R.J., Habibi, H.R. and Peter, R.E. 1989. Alterations in pituitary GnRH and dopamine receptors associated with the season variation and regulation of gonodotropin release in the goldfish *(Carassius auratus)* Gen. Comp. Endocrinol. 74: 392-399.

Peter, R.E. 1983. The brain and neurohomones in teleost reproduction. pp. 97-136. *In* Fish Physiology Vol. IX A. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson, E.M.(eds.). Academic Press, Inc., New York.

Peter, R.E., Narhorniak, C.S., Chang, J.P. and Crim, L.W. 1984. Gonadotropin release from the pars distalis of goldfish, *Carassius auratus*, transplanted beside the brain or into the brain ventricles: Additional evidence for gonadotropin release-inhibitory factor. Gen. Comp. Endocrinol. 55: 337-346.

Peter, R.E., Narhorniak, C.S., Sokolowska, M., Chang, J.p., Rivier, J.E., Vale, W.W., King, J.A. and Millar, R.P. 1985. Structure-activity relationships of mammalian, Chicken and salmon gonadotropin-releasing hormones *in vivo* in goldfish. Gen. Comp. Endocrinol. 58: 231-242.

Peter, R.E., Chang, J.P., Narhorniak, C.S., Omeljanik, R.J., Sololowska, M., Shih, S.H. and Billard, R. 1986. Interaction of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. Recent. Prog. Horm. Res. 42: 513-548.

Peter, R.E., Lin, H.R. and Van Der Kraak, G. 1987. Drug hormone induced breeding of Chinese teleosts. pp. 120-123. *In* Proceedings of the Third International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Idler, D.R., Crim, L.W. and Walsh, J.M.(eds.). Momorial University, St. John, Newfoundland, Canada.

Peter, R.E. and Lin, H.R. 1988. Induced spawning in Chinese carps. p. 35. Aquaculture International and Exposition, Vancouver, Canada.

Prentice, J.A. 1987. Successful spawning of orangemouth corvina following injection with des-Gly super(10), (D-Ala super(6)) -luteinizing hormone releasing hormone(1-9) ethylamide and pimozide. Prog. Fish Cult. 49: 66-69.

Ramos, J. 1986. Induction of spawning in Common Sole (*Solea solea* L.) with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture. 56: 239-24.

Richter, C.J.J. and Van Den Hurk, R. 1982. Effects of 11-deoxycorticosterone acetate and carp pituitary suspension on follicle maturation in the ovaries of the African catfish, *Clarias lazera* (C.& V.). Aquaculture. 29: 53-66.

Richter, C.J.J., Eding, E.H. and Roem, A.J. 1985. 17-hydroxyprogesterone-induced breeding of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), without priming with gonadotropin. Aquaculture. 44: 285-293.

Robb, A.P. 1982. Histological observations and the reproductive biology of the haddock, *Melanogrammus aegtefinus* (Linn.). J. Fish Biol. 20: 397-408.

Ruby, S.M., Aczel, J. and Craig, G.R. 1978. The effects of depressed pH on spermatogenesis in flagfish *Jordanella floridae.* Water Research. 12: 621-626.

Saidin, T. 1986. Induced spawning of *Clarias macrocephalus* (Gunther). pp. 683-686. *In* Proceeding of The First Asian Fisheries Forum, Manila, Phillippines.

Saidin, T. and Othman, A.F. 1986. Induced spawning of *Pangasius sutchi* (Fowler) using an analogue of luteinizing releasing hormone and homoplastic pituitary extract. pp. 687-688. *In* Proceeding of The First Asian Fisheries Forum, Manila, Phillippines.

Sloley, B.D., Trudeau, V.L., Dalka, J.G. and Peter, R.E. 1991. Selective depletion of dopamine in the goldfish pituitary caused by domperidone. Can. J. Physiol. Pharmacol. 69: 776-781.

Sokolowska, M., Peter, R.E., Nahorniak, C.S., Pan, C.H., Chang, J.P., Crim, L.W. and Weil, C. 1984. Induction of ovulation in goldfish, *Carasius auratus,* by pimozide and analogues of LHRH. Aquaculture. 36: 7-83.

Sneed, K.E. and Clemens, H.P. 1960. Use of the fish pituitaries to induce spawning in Channel catfish. U.S. Fish Wildlife Service. Special Scientific Report-Fisheries. 329: 1-12.

Stacey, N.E. 1983. Control of the timing of the ovulation by exogenous and endogenous factors. pp. 208-222. *In* Fish reproduction Strategies and Tactics. Potts, G.W. and Wootton, R.J.(eds). The FSBI International Symposium, Plymouth Polytechnic, plymouth, Devon.

Sundararaj, B.I. 1981. Reproductive Physiology of Teleost Fishes. United Nations Development Progamme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Sundararaj, B.I., Nath, P. and Gerard, F.B. 1982. Synthesis of vitellogenin and its uptake by the ovary in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) in response to carp gonadotropin and its subunits. Gen. Comp. Endocrinol. 46: 91-98.

Tan, F. 1992. Iduction of oocyte maturation and ovulation in the freshwater Asian catfish, *Clarias macrocephalus* by LHRHa and pimozide. J. Appl. Ichthyol. Z. Angew. Ichthyol. 8: 90-98.

Tavarutmaneegul, P., Nukwan, S. and Lawonyawut, K. 1992. Induced spawning of some economics freshwater fish species of Thailand. Department of Fisheries. 32 p.

Thomas, P., Boyd, N.W. 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). Aquaculture. 80: 363-370.

Treasurer, J.W. and Holliday, F.G.T. 1981. Gom aspects of the reproductive biology of perch *Perca fluviatilis* L. A histological description of the reproductive cycle. J. Fish. Biol. 18: 359-376.

Tucker, C.S. 1985. Channel Catfish Culture. Development in Aquaculture and Fisheries Science, 15. Elsevier, Amsterdam. 657 p.

Van Der Kraak, G., Donaldson, E.M. and Chang, J.P. 1986. Dopamine involvement in the regulation of gonadotropin secretion in coho salmon. Can. J. Zool. 64: 1245-1248.

Weibel, E.R., Kistler, G.S. and Scherle, W.F. 1966. Practical stereological methods for morphologic cytology. J. Cell Biol. 30: 23-38.

Yamamoto, N.Y. and Yamazaki, F. 1966. Cited after Stacey, N.E. 1983. Control of the timing of ovulation by exogenous and endogenous factors. pp. 208-222. *In* Fish Reproduction Strategies and Tactics. Potts, G.W. and Wooton, R.J. (eds.). The FSBI International Symposium, Plymouth Polytechnic, Phymouth, Devon.

Zonneveld, N., Viveen, W.J.A.R, Mudana, W. 1988. Induced spawning and egg incubation of the Asian catfish, *Clarias batrachus*. pp. 41-47. *In* Poceedings of a Fish Breeding Workshop. Crim, L.W., Lee, C.S., Peter, R.E., and Sherwood, N.M.(eds.). Singapore.

ภาคผนวก

1. สารเคมีและวิธีการย้อม Hematoxylin & Eosin (เวคิน นพนิตย์, 2524)

1.1 Harris's Haematoxylin

Haematoxylin	5.0	g
Absolute alcohol	50.0	g
Aluminum Ammonium Sulfate (Ammonium alum)	100.0	g
Distilled water	1000.0	g
Mercuric oxide	2.5	g

ละลายผง hematoxylin ใน alcohol ใน beaker ขนาด 200 ml โดยใช้ความร้อนช่วย (ทำบน Hot plate) และละลาย aluminium alum ด้วยน้ำกลั่นภายใน Erlenmeyer flask ขนาด 2000 ml โดยใช้ความร้อนช่วยเช่นกัน ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน และคนให้เข้ากันดี ต้มให้เดือดภายในเวลารวดเร็ว โดยใช้ตะเกียงบุนเสน หรือเตาแก๊ส เอาลงจากเตาแล้วค่อย ๆ ใส่ผง mercuric oxide ลงไปทีละน้อย ในขณะที่สารละลายดังกล่าวกำลังร้อนจนหมดปริมาณ (2.5 g) คนให้เข้ากันดี สารละลายที่ได้จะมีสีม่วงดำ จุ่ม flask ที่มีสารละลายนี้ลงในอ่างที่มีน้ำเย็นจนกระทั่งสารละลายสีเย็นลง ซึ่งนำมาใช้ได้ทันที แต่เพื่อจะให้สีสุกตามกระบวนการทางเคมีจะต้องทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 2-3 วัน

<u>การทดสอบสี hematoxylin</u>

เพื่อจะตรวจดูว่าสีนี้มีคุณภาพดี ใช้ 1 หยดของสีลงบนกระดาษกรองสีขาว หากขอบนอกของสีเป็นสีน้ำเงินเข้มแสดงว่าสีนี้ใช้ได้ หากไม่เกิดวงนอกสีน้ำเงินบนกระดาษกรองแสดงว่าสีนี้ไม่มีประสิทธิภาพ

<u>ข้อควรปฏิบัติ</u>

กรองสีก่อนจะใช้ย้อมอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในตอนเช้า และควรตรวจสอบคุณภาพสัปดาห์ละครั้ง เก็บสีที่ยังไม่ได้นำมาใช้ในภาชนะหรือขวดสีน้ำตาล

1.2 การเตรียม 1% alcoholic eosin (stock solution)

Eosin Y	10.0 g

Distilled water 50.0 ml

ละลาย Eosin Y ในน้ำจนเข้ากันดีแล้ว 940.0 ml

เติม 95% Ethyl alcohol

1.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ย้อมสี

Stock (1% alcoholic eosin) solution 1 ส่วน

95% ethyl alcohol 1 ส่วน

ผสมให้เข้ากันและใช้ย้อมสี

1.4 การเตรียม 1% acid alcohol

70% Ethyl alcohol 1,000 ml

HCl , concentrated 10 ml

1.5 การเตรียม Saturated Lithium Carbonate

Lithium Carbonate 3 g

Distilled Water 1,000 ml

2. วิธีย้อมสี

2.1 นำ sections ลงใน Xylene 2 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที โดยจุ่มขึ้นลง

2.2 ล้าง Xylene ออกใน absolute alcohol 2 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที

2.3 นำ slide ไปยัง 95% Ethyl alcohol 2 ครั้งๆ ละ นาที

2.4 ล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลอยู่ตลอดเวลา ประมาณ 5 นาที

2.5 ย้อมด้วย Hematoxylin 6 นาที

2.6 Differentiate ใน 1% acid alcohol 5 วินาที โดยจุ่มขึ้นลง

2.7 ล้างน้ำประปา 2 นาที

2.8 ทำให้มีสีน้ำเงิน (Blueing) หรือ Neutralize ด้วย Saturated lithium carbonate ประมาณ 30 วินาที

2.9 ล้างน้ำ 1-2 นาที

2.10 ย้อมด้วย Eosin (Working solution) 30 วินาที ถึง 1 นาที

2.11 ล้างสี Eosin ด้วย 95% Alcohol 2 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที

2.12 Dehydrate ใน absolute alcohol ครั้ง ๆ ละ 2 นาที

2.13 Clear ด้วย Xylene 2-3 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที

2.14 Mount ด้วย Permount

ผล นิวเคลียสติดสีม่วง - น้ำเงินเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีชมพู

connective tissue ติดสีชมพู - แดง เม็ดเลือดแดงติดสีส้ม