บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่า น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวสามารถผสมกับไข่ปลาหมอไทยได้ การใช้น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ที่ฉายรังสีอัลตราไวโอเลตเพื่อทำลายสารพันธุกรรมผสมกับไข่ปลาหมอไทย ทำให้ผลการทดลองในครั้งนี้มีความถูกต้องสูง เนื่องจากเป็นการผสมข้ามชนิด (อุทัยรัตน์, 2543ก; Varadi *et al*., 1999; Peruzzi and Chatain, 2000; Arai, 2001; Luckenbach *et al*., 2004) เพราะลูกปลาที่เกิดจากการผสมของน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวที่การทำลายสารพันธุกรรมทำได้ไม่สมบูรณ์จะตายทั้งหมด เช่นเดียวกับลูกปลาที่มีโครโมโซมชุดเดียว (haploid) ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำเพื่อเพิ่มชุดโครโมโซมทำได้ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากความผิดปกติที่เรียกว่า haploid syndrome (Mair, 1993; Kavumpurath and Pandian, 1994; Thorgaard *et al*., 1995; Varadi *et al*., 1999; Arai, 2001; Francescon *et al.,* 2004) ลูกปลาที่เหลือรอดของแต่ละชุดการทดลอง จึงเป็นลูกปลาหมอไทย (2n) ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำไจโนเจเนซีส แต่อย่างไรก็ตามลูกปลาไจโนเจเนซีสอาจเกิดขึ้นได้เอง (spontaneous gynogenesis) เมื่อมีการกระตุ้นไข่จากน้ำเชื้อที่ฉายรังสีแล้วแม้ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำโดยการช็อค (John *et al*., 1984; Levanduski, 1990; Komen *et al*., 1991; Galbusera *et al*., 2000) ดังเช่น พบในชุดควบคุมของชุดการทดลองที่ 2.3 จำนวน 0.22 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวกตารางที่ 6)

ระยะเวลาหลังการผสมไข่กับน้ำเชื้อก่อนนำไปช็อค ที่เหมาะสมของปลาหมอไทย คือ 5.5 นาที ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ ปลายี่สกเทศ (*L. rohita*) 4 นาที (John *et al*., 1984) ปลาไน (*C. carpio*) 6 นาที (Gomelsky *et al*., 1992) ปลาดุกอุย (*C. macrocephalus*) 3.5 - 4.5 นาที (Na-Nakorn *et al*., 1993) ปลา European sea bass (*D. labrax*) 5 นาที (Peruzzi and Chatain, 2000) ปลา southern flounder (*P. lethostigma*) 3-4 นาที (Luckenbach *et al*., 2004) แต่แตกต่างกับปลาตะเพียนขาว (*P. gonionotus*) ซึ่งใช้เวลาเพียง 1.5 นาที (นวลมณี และ ทวี, 2534) อาจเนื่องจากไข่ปลาตะเพียนขาวที่ผสมแล้วมีพัฒนาการเร็วกว่า

จากการช็อคไข่ปลาที่ระดับอุณหภูมิ 3 และ 5 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการช็อคนานขึ้น มีผลให้อัตราการฟักรวมลดลง เนื่องจากระดับอุณหภูมิดังกล่าวเป็นอันตรายต่อไข่ปลาหมอไทย สอดคล้องกับรายงานของ John และคณะ (1984) พบว่าถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศา

เซลเซียสจะเป็นอันตรายต่อไข่ปลายี่สกเทศ ในส่วนการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 7 กับ 9 องศาเซลเซียส และ 11 กับ 13 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการช็อคนานขึ้น อัตราการรอดของลูกปลาหมอไทยไจโนเจเนซีสมีแนวโน้มสูงขึ้น เนื่องจากความเย็นทำให้พัฒนาการของไข่ช้าลง จึงต้องเพิ่มระยะเวลาในการช็อค (Na-Nakorn *et al*., 1993)

การใช้แม่ปลาคนละชุดกันในแต่ละชุดการทดลอง ทำให้ผลการทดลองแตกต่างกัน ดังเห็นได้จากผลของการทดลองที่ 1 และผลของชุดการทดลองที่ 2.2 ซึ่งนำพ่อแม่พันธุ์ปลาหมอไทยจากฟาร์มเลี้ยงต่างกัน มาช็อคด้วยวิธีการเดียวกัน คือ ระยะเวลาหลังผสมไข่กับน้ำเชื้อนาน 5.5 นาที ช็อคที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ได้อัตราการรอดของลูกปลาไจโนเจเนซีสในการทดลองที่ 1 เท่ากับ 19.22 เปอร์เซ็นต์ แต่ค่าดังกล่าวของการทดลองที่ 2.2 เท่ากับ 1.89 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันมาก ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากลักษณะทางพันธุกรรม หรือสภาพการเลี้ยงต่างกันเนื่องจากนำปลาหมอไทยมาจากฟาร์มเลี้ยงต่างกัน หรือระยะของไข่แตกต่างกัน เนื่องจากแม่ปลาแต่ละตัวมีระยะของไข่ในท้องต่างกัน เมื่อฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์กระตุ้นให้วางไข่ ไข่ที่รีดออกมาจึงมีระยะการพัฒนาต่างกัน (Komen *et al*., 1988; Levanduski *et al*., 1990; Crandell *et al*., 1995; Linhart *et al*., 1995; Pongthana *et al*., 1995)

วิธีการที่เหมาะสมในการผลิตลูกปลาด้วยวิธีไจโนเจเนซีสของปลาหมอไทยและปลาดุกอุย (*C. macrocephalus*) มีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยระยะเวลาหลังผสมไข่กับน้ำเชื้อที่ฉายรังสีที่เหมาะสมก่อนทำการช็อคของไข่ปลาหมอไทยมีค่าเท่ากับ 5.5 นาที ซึ่งไข่ปลาดุกอุยมีค่าระหว่าง 3.5 – 4.5 นาที (Na-Nakorn *et al.,* 1993) โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการช็อคเท่ากันคือ 7 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการช็อคของไข่ปลาหมอไทยที่เหมาะสมคือ 15 นาที ซึ่งใกล้เคียงกับระยะเวลาการช็อคไข่ปลาดุกอุยคือ 14 นาที ทั้งที่ไข่ปลาหมอไทยมีขนาดเล็กกว่าไข่ปลาดุกอุยมาก โดยไข่ปลาหมอไทยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร (สมพงษ์, 2531) ไข่ปลาดุกอุยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.66 มิลลิเมตร (ภาณุ และคณะ, 2538) ขนาดของไข่ปลาจึงไม่น่าจะมีผลต่อระยะเวลาการช็อค ระยะเวลาการช็อคจึงน่าจะขึ้นอยู่กับพัฒนาการของไข่

จากการตรวจสอบเพศของปลาหมอไทยไจโนเจเนซีสอายุ 200 วัน พบว่าไม่ได้เป็นเพศเมียล้วน โดยมีอัตราส่วนของเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 3.59 : 1 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสุชาติและคณะ(ระหว่างพิมพ์) พบว่าปลาหมอไทยไจโนเจเนซีสไม่ได้เป็นเพศเมียล้วนเช่นกัน โดยมีสัดส่วนของเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 8.0 : 1 ในงานวิจัยดังกล่าวผู้วิจัยดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเชื้อ

ปลาตะเพียนขาวที่ผ่านการฉายรังสี UV ผสมกับไข่ปลาหมอไทย เมื่อระยะเวลาหลังผสมนาน 1.5 นาที นำไข่ปลาหมอไทยมาช็อคที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที ได้อัตราการรอดของลูกปลาหมอไทยไจโนเจเนซีสเท่ากับ 4.0 เปอร์เซ็นต์ นำลูกปลาดังกล่าวเลี้ยงในน้ำจืดที่ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำจืดชุมพรจนอายุ 4 เดือนมีอัตราการรอด 27.1 เปอร์เซ็นต์ จึงผ่าท้องปลาหมอไทยไจโนเจเนซีสเพื่อตรวจสอบเพศ จากผลการทดลองทั้งสองครั้งที่พบว่าปลาหมอไทยที่ผลิตด้วยกระบวนการไจโนเจเนซีสไม่เป็นเพศเมียล้วน จึงอาจสรุปได้ว่าการควบคุมเพศของปลาหมอไทยเพศเมียไม่ได้เป็นแบบ XX (female homogamety) และไม่สามารถผลิตลูกปลาหมอไทยเพศเมียล้วนด้วยวิธีไจโนเจเนซีส (Tave, 1993; Komen *et al*., 1995; Felip *et al*., 2002) อย่างไรก็ตามการควบคุมเพศของปลาอาจมีหลายปัจจัยประกอบกัน นอกเหนือจากโครโมโซมเพศ เช่น ยีนบนโครโมโซมร่างกาย (autosome) อุณหภูมิ หรือ ปัจจัยทางสังคม (Arai, 2001; Devlin and Nagahama, 2002; Felip *et al*., 2002) ตัวอย่าง เช่น Abucay และคณะ (1999) ทดลองเลี้ยงปลานิลเพศเมียล้วน (XX) ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส (ชุดควบคุมเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส) พบว่าปลานิลเพศเมียล้วนดังกล่าวเปลี่ยนเป็นเพศผู้ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ Ezaz และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาด้วยวิธีทดสอบลูก (progeny test) โดยทำการผสมพันธุ์ปลานิลเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพศแบบ YY (ได้จากกระบวนการ androgenesis) กับปลานิลเพศเมียปกติที่มีโครโมโซมเพศแบบ XX ซึ่งลูกปลาที่ได้ควรเป็นเพศผู้ล้วน (XY) แต่บางครั้งผลจากการผสมพันธุ์ดังกล่าวพบลูกปลานิลเพศเมีย 10 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ผู้วิจัยจึงสรุปว่ามียีนบนโครโมโซมร่างกายของปลานิล ที่มีผลต่อการกำหนดเพศ ในบางครั้งปลาชนิดเดียวกันมีรายงานว่ามีระบบควบคุมเพศต่างกัน เช่น ปลา African catfish (*C. gariepinus*) มีรายงานทั้งระบบควบคุมเพศแบบ female homogamety (XX) (Galbusera *et al*., 2000) และแบบ female heterogamety (WZ) (Ozouf-Costaz *et al*., 1990; Teugels *et al*., 1992; Varadi *et al*., 1999 อ้างโดย Galbusera *et al*., 2000) ระบบควบคุมเพศของปลาเป็นเรื่องซับซ้อน จึงต้องออกแบบการทดลองที่เหมาะสมเพื่อศึกษาเรื่องดังกล่าวต่อไป

ปลาหมอไทยที่ได้จากการผลิตด้วยวิธีไจโนเจเนซีสมีระดับ homozygosity สูง ทำให้สามารถคัดเลือกยีนด้อยออกจากประชากรได้ (John *et al.,* 1984; Kavumpurath and Pandian, 1994) เพราะยีนด้อยแสดงออกเมื่ออยู่ในสภาพ homozygous และสามารถสร้าง inbred line ได้รวดเร็ว ซึ่ง inbred line เหล่านี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นปลาสายพันธุ์แท้ แล้วนำสายพันธุ์แท้ดังกล่าวผสมข้ามกันเพื่อให้ได้ลูกผสมที่ดีกว่าพ่อแม่ (อุทัยรัตน์, 2543ก; John *et al.,* 1984) นอกจากนี้ ปลาที่ผลิตด้วยวิธี ไจโนเจเนซีส สามารถใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพันธุศาสตร์ (Mair, 1993; Quillet, 1994) เช่น การทดลองเรื่องการตอบสนองการคัดเลือก (Wiegertjes *et al*., 1995;

Bongers, *et al*., 1997) หรือการศึกษา inbreeding (Thompson, 1983; Allendorf and Leary, 1984) โดยเฉพาะปลาหมอไทย เพราะเป็นปลาที่เพาะเลี้ยงง่ายและทนต่อสภาพแวดล้อม