

## ผลการศึกษา



การศึกษาการเจริญเติบโตขั้นตอนของเมมบรอยู่ปลาคัตตี้ เป็นการศึกษาแบบ descriptive สังเกตการเปลี่ยนแปลงขั้นทางๆ ที่เห็นจากภายนอก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ การศึกษาส่วนใหญ่จึงจำเป็นต้องศึกษาจากตัวอย่างไข่ ที่มีชีวิต และกำลังเจริญเติบโต ผลจากการศึกษาพบว่า

1. การผสมพันธุ์ (mating) จะเริ่มเกิดขึ้นภายในหลังน้ำปลาตัวผู้และตัวเมียที่เที่ยบกูไว้มาใส่รวมกันในอ่างเพาะประมาณ 48 ชั่วโมง ในระยะแรกจะเริ่ม courtship ก่อน โดยปลาตัวผู้จะก่อหาดที่มุ่นอ่าง และชวนตัวเมียมารอยู่ใกล้หัวอด หลังจากมี courtship ประมาณ 1 ชั่วโมง จึงเริ่ม mate โดยตัวเมียจะลอดหัวเข้าไปในตัวผู้ และตัวผู้จะหัวตัวตัวเมีย ตรงบริเวณ genital pore

1.1 เวลาที่ปลา mate และวางไข่ เป็นเวลาระหว่าง 8.00-14.00 น.

1.2 ช่วงเวลา mate แต่ละคราว 10-15 วินาที

1.3 จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้งที่ mate 10-50 พอง

1.4 ระยะเวลาที่ตัวเมียวางไข่แต่ละครั้งที่ mate 20-35 วินาที ในตอนแรกตัวเมียจะลอดหัวเข้าไปในตัวผู้โดยเดียว ราว 10 วินาที จึงเริ่มน้ำในหลอดอุกมากทาง genital pore เมื่อไข่หมดแล้ว ยังลอดตัวผู้ต่อไปอีกระยะหนึ่ง จึงพดิกรัวหายนำไข่ ขณะที่ตัวเมียกำลังวางไข่ ตัวผู้จะวางไข่ไปตามไข่ที่กำลังจมลงไปทีกันอ่าง omnivor 10-20 วินาที จึงนำไปทันทีให้หัวอด

1.5 ระยะพักระหว่าง mating แต่ละครั้ง 1-2 นาที ในชั่วโมงแรก และทีหลังนานถึง 5 นาที ในชั่วโมงหลัง

1.6 ระยะเวลาที่วางไข่หักหมด ตั้งแต่เริ่มวางไข่จนเลิกวางไข่ แตกต่างกันมากตามขนาดของปลา ตั้งแต่ 2-6 ชั่วโมง

การสืบสุกการวางไข่ จะสังเกตได้จากการที่ mate ระยะทางออกไข่ จำนวนไข่ที่วางในแต่ละครั้งที่ mate ลดน้อยลง และในที่สุด แม่ปลาจะหนีไปอยู่นิ่งๆ ที่มุ่นอ่าง

บางครั้งพ่อปลาอาจไปป่านเว็บอยู่ใกล้ๆ เพื่อซ้อมไปให้หัวอุดก แม่ปลาจะว่ายน้ำหน้าไปอีกมุนหนึ่ง หลังจากนั้นราบ 1-2 ชั่วโมง เมื่อแม่ปลาเริ่มว่ายน้ำบ้าง พ่อปลาจะໄล่ไม่ให้เข้าไปใกล้หัวอุดก ถ้าไม่มีที่กำบังพอนรือ่องแคงเกินไป แม่ปลาอาจถูกพ่อปลาทักทานตายໄก์ แม่ปลาที่วางแผนไว้คราวหนึ่งแล้ว เมื่อนำไปเทียบชาตันพ่อปลาคุณเดิม อีกราบ 2 วัน น้ำนม mate ใหม่ได้

2. จำนวนไข่ที่แม่ปลาระหว่างคราวหนึ่งๆ แตกต่างกันมาก จากการนับจำนวนไข่ที่ได้จากการผสมปลาก็ 10 ถุง มีไข่ทั้งแท่ง 594 ฟอง ถึง 1093 ฟอง ห้องซื้นอยู่กับอายุและน้ำหนักตัวของปลาด้วย ปลาที่มีอายุยังร้า 6-7 เดือน น้ำหนักตัวต่ำกว่า 2.0 กก. ในไข่จำนวนน้อยกว่าปลาที่มีอายุ 8 เดือนขึ้นไป ซึ่งมีน้ำหนักตัวมากกว่า 2.0 กก.

3. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการวางไข่ ประมาณ  $26^{\circ}\text{C}$ - $28^{\circ}\text{C}$  และพบว่าในขณะที่อุณหภูมิต่ำมาก เช่น  $21^{\circ}\text{C}$  ปลาระหว่างไข่ไม่บ้าง แต่ไข่มากกว่า 90% ไม่ได้รับการผสมและไม่เจริญเติบโต

ที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $20^{\circ}\text{C}$  ไม่มีการวางไข่

4. การเจริญเติบโตของเมอมบริโอในไข่ปลาก็ มีลักษณะดังนี้

4.1 ลักษณะและส่วนประกอบของไข่ก่อน fertilization ไข่ปลาก็มีลักษณะเป็นรูปกลม แต่ในทันทีที่เริ่มวางไข่ มีลักษณะเป็นรูปรีเล็กน้อย ภายหลังที่พอปลาอ่อนชื้นมาพันไว้ให้หัวอุดกแล้ว จะเริ่มกสม มีผิวนางใส่สูดอยู่ชั้นนอกเรียกว่า Shell หรือ outer membrane ในบางแห่งเรียกว่า chorion ซึ่งมีหนาทึบจาก chorion ของสตัวชนิดอื่น outer membrane นี้มีความสำคัญของการเจริญเติบโตของตัวอ่อน โดยเป็นเครื่องป้องกันอันตราย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ป้องกันเย็บที่เรียกว่าไปท่อันตรายตัวอ่อน ถ้า outer membrane เป็น perivitelline space คือช่องกว้าง ทรงกระบอกเป็น yolk ถ้าใช้ไม้ถูกผสม yolk เป็นรูปกลมและทึบแสง แต่ถ้าใช้ถูกผสม germinal disc จะเริ่มใส มีขนาดใหญ่ขึ้น และอยู่ทางด้าน Dorsal

4.2 ขนาดไข่ของปลาก็ ภายหลังการผสมแล้ว วัดเส้นยาวคูณยกสองรวมทั้ง outer membrane ได้  $1.05 \pm .05$  มม.

4.3 การผสมของไข่ปลาก็ เป็นแบบ external fertilization เริ่ม

เกิดทันทีขณะที่ตัวเมียวางไข่ เพราะขณะที่ mate ตัวผู้จะอหัวรัดตัวเมียบริเวณ genital pore และปลดยน้ำเชื้อ (milt) ออกมานม เป็นตัวเมียวางไข่ sperm จะผสมทันที และสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ germinal disc ภายในเวลาประมาณ 15 นาที หลังจากเริ่มวางไข่

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มวางไข่มีดังนี้ (ตารางที่ 1)

Stage 1 unfertilized egg คือไข่ที่เพิ่งหลุดออกจากทาง female genital pore มีลักษณะกลมหรือรีเล็กน้อย

Stage 2 fertilized egg เริ่มเกิดทันทีที่แม่ปลาวางไข่ มีการเปลี่ยนแปลงที่ germinal disc สังเกตได้โดย germinal disc เริ่มใส มีลักษณะเป็นส่วนโคงเล็กๆอยู่ทางด้าน dorsal ขณะเดียวกัน ไข่จะดูดน้ำ ทำให้เปลี่ยนไข่ขยายตัวออกเล็กน้อย (ภาพที่ 1 ก)

Stage 3 cleavage เกิดทันทีหลังจากไข่ถูกผสมแล้ว cleavage เป็นแบบ meroblastic และ discoidal การแบ่งเซลล์เกิดขึ้นที่ germinal disc แทนน้ำ yolk ในมีการแบ่ง การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตเห็นได้คือ

1 st cleavage มีรอยแบ่งทางด้านบนของ germinal disc ลงมาตาม vertical plane (ภาพที่ 1 ข)

2 nd cleavage เกิดขึ้นในแนวตั้งจากกับ 1 st cleavage ใน vertical plane เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 1 ค)

3 rd cleavage เกิดในแนวข้างกับ 1 st cleavage ไช้เซลล์เรียงตัวกันเป็น 2 แต่

late cleavage หลังจาก 3 rd cleavage และ การแบ่งเซลล์เกิดขึ้นรวดเร็วมากจนมองเห็นได้ไม่ชัดเจน ไช้เซลล์ขนาดเล็กจำนวนมากอยู่เป็นกลุ่ม มีลักษณะเป็น cap อยู่ทางด้าน dorsal (ภาพที่ 2 ช)

Stage 4 blastulation มีการเปลี่ยนแปลงที่ cap blastoderm ซึ่งจะแยกตัวมาทางด้านข้าง ทำให้ blastoderm แบนราบลงเป็น flat blastula ระบบเชื่อมโยงขนาดเล็กมากอยู่ชิดกันแน่น จนเซลล์ซึ่งเคยมีลักษณะเป็น columnar เปลี่ยน

## เปลี่ยนเป็นเซลล์ปักกุณ (ภาพที่ 2 ก)

late blastula จะสังเกตเห็น blastoderm แยกตัวลงมามากขึ้น

Stage 5 gastrulation เกิดติดต่อไปกัน late blastula สังเกตเห็น blastoderm เป็นรูปถ่ายคลุม yolk อุบัติกรรม 1 ทางด้าน dorsal (ภาพที่ 3 ก) บริเวณที่เป็นขอบของ blastoderm มีส่วนหน้ามากกว่าบริเวณอื่น คือ germ ring และมีเซลล์ส่วนที่อยู่ตรงกลางແղกร่างออกไปเป็น embryonic shield

Stage 6 ระยะเกิดเป็นตัวปลา (body formation) embryonic shield เจริญมากขึ้น เกิดเป็นส่วนประกอบที่จะเจริญต่อไปเป็นลำตัว (ภาพที่ 3 ช) ขณะเดียวกัน germ ring ขยายตัวมากขึ้น ส่วนที่เป็นลำตัวเริ่มสังเกตเห็นส่วนหัวและหาง (ภาพที่ 3 ค) ภายหลังจาก blastopore ปิดแล้ว จะสังเกตเห็นการเกิดสมอง และตา (optic vesicle) เกิดขึ้นทางด้าน anterior (ภาพที่ 4 ก)

Stage 7 ระยะเกิดเป็น somite เริ่มเกิดทับบริเวณกึ่งกลางของลำตัว ก่อน แล้วขยายไปทาง posterior (ภาพที่ 4 ช)

ระยะ 9-12 somites เริ่มเกิด หู (auditory placode) ทางด้าน posterior ของส้มของ

ระยะ 15 somites มีการเปลี่ยนแปลงที่ตา (optic vesicle) มีลักษณะเป็นแองเจ้าเข้าไปเป็นรูปถ่าย (optic cup)

ระยะ 18-19 somites เกิด lens ใน optic cup และผนังของ auditory placode เกิดเป็นผนัง 2 ชั้น (ภาพที่ 4 ค)

ระยะ 25 somites เกิดหัวใจทางด้าน ventral ของลำตัวซึ่งกับ yolk มีสีแดงอ่อน และใกล้ๆกับ somite ข้อแรก มีปุ่มครึ่งอก (pectoral fin bud) เริ่มเกิดขึ้นที่ขอบของดูดหัว (optic cup) มีจุดสีดำ (retinal pigment) เกิดขึ้นรอบๆ

ระยะ 30 somites มีจุดสี (pigment) เกิดขึ้นที่ลำตัว (ภาพที่ 5 ก)

ระยะ 32 somites เริ่มเกิดครึ่งเหล็ก (Branchial arch)

ระยะ 35 somites เกิด otolith 2 อัน ใน auditory placode

ระยะหลังจากนี้ การเจริญเติบโตของอวัยวะต่างๆมีมากขึ้น ตามสีคำเพิ่มขึ้น  
สมองมีขนาดใหญ่ ชากรไร้กลางและชากรไร้บนเจริญเติบโต หางยาวขึ้นมาก  
pigmentation ขยายมาจนถึงส่วนโคนของลำตัวบริเวณท้องซึ่งกับ yolk เอเมบ์ริโอล  
หมุนตัวอย่างรวดเร็วตลอดเวลา มีครีบ (fin fold) เกิดโดยรอบหางเป็นแผ่นบางใส  
(ภาพที่ 5 ช.)

Stage 8 การฟักเป็นตัว (hatching) เกิดเมื่อเอเมบ์ริโอลอายุ 36-38 ชั่วโมง  
(ภาพที่ 6 ก, 6 ช.) ความยาวของลูกปลา (fry) วัดจากปากถึงปลายหาง 2.8-3.0  
มม. ส่วนหัวยังน้อกออกจาก yolk sac เล็กน้อย pectoral fin เริ่มทำงาน ลูกปลา  
 Georges อยู่ตามข้างของ หางคิง ว่ายน้ำเล็กน้อย (ตารางที่ 2)

หลังจากฟักเป็นตัวแล้ว ถุงอาหารยุบลงอย่างรวดเร็ว อวัยวะในการเคลื่อนไหว  
ทำหน้าที่ดีขึ้น เริ่มว่ายน้ำหลังออกจากการไข่ประมาณ 12 ชั่วโมง ความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย  
ลูกปลาอายุ 24 ชั่วโมง ความยาว 3 มม. ส่วนหนึ่งของลำตัวยังคงอยู่กับ  
yolk มีหนาม (spine) เกิดรอบๆส่วนหัว

ลูกปลาอายุ 36 ชั่วโมง ความยาวเพิ่มเล็กน้อย ประมาณ 3.1 มม. ส่วนหัว  
ยังน้อกออกจาก yolk มาจากนี้ เริ่มว่ายน้ำเร็วขึ้น ปากเปิด

ลูกปลาอายุ 60-132 ชั่วโมง ว่ายน้ำเร็วมาก มีก้านครีบ (fin ray) ของ  
ครีบหางเกิดขึ้นในชั่วโมงหลังๆ

ลูกปลาอายุ 214-262 ชั่วโมง ถุงอาหารถูกใช้หมด มือตระการตา สูงมาก