สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยบูรพา
งานบริการ ระดับ 5 สมุด 2548

รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการ

การเจริญและการพัฒนาของตัวอ่อนและปลาวัยอ่อน ในปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

Growth and Development of Saddleback Anemonefish (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

ใต้แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะขยายพันธุ์ปลาการ์ตูน

ประจำปี 2546

โดย

สุขใจ รัตนยุวกร กรรณิกา ชัชวาลวานิช

พิสุทธิ์ มังกรกาญจน์ อมรา ทองปาน

AB 00713 33
30 ส.ค. 2548
190665

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

พศ. 2546

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเจริญและการพัฒนาของตัวอ่อนและปลาวัยอ่อนในปลาการ์ตูนอานม้า

(*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

โดย

สุขใจ รัตนยุวกร[1] กรรณิกา ชัชวาลวานิช[2] พิสุทธิ์ มังกรกาญจน์[3] และ อมรา ทองปาน[4]

บทคัดย่อ

นำพ่อและแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758)) จากทะเล มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ปลาการ์ตูนอานม้ามีวงจรการสืบพันธุ์ทุกๆ 14-21 วันและสามารถวางไข่ได้ตลอดปี ทำการเก็บตัวอย่างไข่ปลาตั้งแต่ได้รับการปฏิสนธิจนกระทั่งเริ่มฟักเป็นตัวจนกระทั่งหมด ซึ่งใช้เวลาประมาณ 148 - 156 ชั่วโมง พัฒนาการของเอมบริโอจนฟักเป็นลูกปลาวัยอ่อนสามารถแบ่งออกได้เป็น 26 ระยะ ทุกระยะของการพัฒนาตัวอ่อนได้ทำการบันทึกเวลาตั้งแต่ไข่เริ่มมีการปฏิสนธิ แบ่งเซลล์ จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างต่อเนื่องอีก 30 วันเพื่อศึกษาพัฒนาการและการเจริญเติบโตของลูกปลาวัยอ่อนพบว่าลูกปลามีความสมบูรณ์ของรูปร่างที่เหมือนกับพ่อแม่ปลาทุกประการเมื่ออายุ 13 วัน มีอวัยวะครบสมบูรณ์และมีสีสันลวดลายของลำตัวเหมือนกับพ่อแม่ปลาทุกประการ เมื่ออายุ 24 วันจึงสิ้นสุดระยะ larvae ที่ระยะนี้

คำสำคัญ : การวางไข่, พัฒนาการของเอมบริโอ, ปลาการ์ตูนอานม้า

---

[1] สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน จังหวัดชลบุรี

[2] ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

[3] สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

[4] ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ ม. เกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Growth and Development of Saddleback Anemonefish (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

by

Sukjai Rattanayuvakorn [1] Kannika Chatchavalvanich [2]

Pisut Mungkornkarn [3] and Amara Thongpan [4]

Abstract

The broodstocks of saddleback anemonefish (*Amphiprion polymnus* Linnaeus(1758)) were captured from the sea and reared in the laboratory. Their reproductive cycle was 14-21 days. The spawning was continuously proceeded all-year- round. It took about 148- 156 hrs from fertilization to the hatching stage. The samples of fertilized eggs until hatching were collected for observation and timing of each stage was recorded.The embryonic development all stage of the saddleback anemonefish was divided into 26 stages. Afterhatching, the larvae sampled were continously for 30 days to study the growth and development. The result showed that shape of the larvae was similar to the parent in 13 days. The larvae sampletely metamorphosed in 24 days which the color and pattern on the body of the larvae was exactly the same as adult.

Key word : Spawning, Embryonic development, Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus*

---

[1] Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Chonburi, THAILAND.

[2]Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, THAILAND.

[3] Institute of Science, School of Biology, Walailuk University Nakhonsithammarat,THAILAND.

[4] Department of General Science, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, THAILAND.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	3
สารบาญภาพ	4
คำนำ	5
วัตถุประสงค์	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	30
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	34
สรุปผลการทดลอง	67
เอกสารอ้างอิง	69
ภาคผนวก	75

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบาญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 0 ชั่วโมง	48
2. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 1 ชั่วโมง	48
3. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 1 ชั่วโมง 40 นาที	48
4. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 2 ชั่วโมง	48
5. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 4 ชั่วโมง	48
6. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 4 ชั่วโมง 30 นาที	48
7. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 5 ชั่วโมง	48
8. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 6 ชั่วโมง	48
9. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 8 ชั่วโมง	48
10. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 9 ชั่วโมง	48
11. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 18 ชั่วโมง 34 นาที	48
12. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 21 ชั่วโมง 4 นาที	48
13. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 27 ชั่วโมง 30 นาที	50
14. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 30 ชั่วโมง	50
15. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 34 ชั่วโมง	50
16. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 42 ชั่วโมง	50
17. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 48 ชั่วโมง	50
18. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 55 ชั่วโมง	50
19. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 64 ชั่วโมง	50
20. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 75 ชั่วโมง 30 นาที	50
21. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 93 ชั่วโมง	50
22. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 97 ชั่วโมง	50
23. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 109 ชั่วโมง	50
24. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 119 ชั่วโมง	50
25. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 127 ชั่วโมง	52
26. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 148 ชั่วโมง	52

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
27. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 1 วัน	52
28. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 2 วัน	54
29. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 3 วัน	54
30. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 4 วัน	56
31. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 5 วัน	56
32. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 6 วัน	58
33. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 7 วัน	58
34. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 8 วัน	60
35. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 9 วัน	60
36. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 10 วัน	62
37. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 13 วัน	62
38. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 15 วัน	64
39. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 20 วัน	64
40. ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 24 วัน	66

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเจริญและการพัฒนาของตัวอ่อนและปลาวัยอ่อนในปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

Growth and Development of Saddleback Anemonefish (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758))

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยทรัพยากรทางธรรมชาติอย่างมาก โดยเฉพาะทรัพยากรทางทะเล เนื่องจากมีแนวประการังที่สวยงามซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของพรรณไม้น้ำและสัตว์น้ำนานาชนิดเช่น กุ้ง หอย ปูและปลาชนิดต่างๆที่มีรูปร่างแปลกและมีสีสันสวยสะดุดตาเป็นที่ต้องการของผู้ที่รักในการเลี้ยงปลาทะเลประเภทสวยงาม การเลี้ยงปลาทะเลประเภทสวยงามเป็นงานอดิเรกที่ให้ความเพลิดเพลิน ผ่อนคลายความเครียดและกล่อมเกลาจิตใจให้อ่อนโยนได้ ปัจจุบันความนิยมในการเลี้ยงปลาทะเลประเภทสวยงามได้แพร่หลายมากขึ้น และส่งผลให้เกิดอาชีพการจับปลาทะเลประเภทสวยงามเพื่อธุรกิจในเชิงพาณิชย์

ก่อนปี พ.ศ.2534 ประเทศไทยส่งปลาทะเลประเภทสวยงามเป็นสินค้าออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเป็นมูลค่าหลายล้านบาท ปัจจุบันการส่งออกปลาทะเลประเภทสวยงามและสัตว์ในแนวปะการังถูกควบคุมไม่ให้มีการจับและส่งออก โดยกรมประมงเสนอให้กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์เสนอต่อกระทรวงพาณิชย์ออกเป็นประกาศกระทรวงพาณิชย์ว่าด้วยการส่งสินค้าออกไปนอกราชอาณาจักรฉบับที่ 56 พ.ศ.2534 ข้อ 3 ให้ปลาทะเลประเภทสวยงามที่มีชีวิตจำนวน 400 ชนิด เป็นสินค้าที่ต้องขออนุญาตในการส่งออกไปนอกราชอาณาจักร (ราชกิจจานุเบกษาเล่ม 108 ตอนที่ 145 ลงวันที่ 20 สิงหาคม 2534) (อุ่นจิต, 2537) ถึงแม้จะมีกฎหมายห้ามจับและห้ามส่งออกปลาทะเลประเภทสวยงาม ก็ไม่ทำให้ความต้องการลดลงกลับส่งผลให้เกิดความเสียหายเพิ่มขึ้น เนื่องจากความต้องการมีมากขึ้นและราคาสูงขึ้นตามจึงทำให้มีการลักลอบจับมากขึ้น ส่งผลต่อระบบนิเวศที่ปลาเหล่านี้อาศัยอยู่ การออกกฎหมายห้ามจับและห้ามส่งออกไม่เป็นผลดีเท่าไรนัก รัฐควรจะมีมาตรการหรือการจัดการที่รัดกุม เช่น ส่งเสริมให้มีการจับอย่างถูกวิธี มีการจัดการภายหลังการจับให้ถูกต้องเพื่อลดความเสียหาย หรือการออกใบอนุญาตให้จับในปริมาณและชนิดตามที่กำหนดเท่านั้น การใช้มาตรการเหล่านี้จะช่วยลดปัญหาได้แต่ไม่ใช่เป็นการแก้ไขปัญหาในระยะยาว การแก้ไขระยะยาวที่ยั่งยืน คือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เร่งให้มีการศึกษาวิจัยวิธีการเพาะขยายพันธุ์ปลาทะเลประเภทสวยงามที่อาศัยอยู่ในแนวปะการังและพัฒนาเทคนิคการอนุบาลให้ได้ลูกปลาเป็นจำนวนมาก (mass culture) ซึ่งเป็นการลดการจับจากธรรมชาติหรือลดการนำเข้าจากประเทศเพื่อนบ้าน และส่งเสริมให้เป็นอาชีพกับชาวประมงต่อไป

ปลาการ์ตูนอานม้าหรือปลาการ์ตูนดำแดงหลังอาน เป็นปลาที่อาศัยในแนวปะการังของทะเลไทยชนิดหนึ่งที่กำลังเกิดปัญหาดังกล่าว ส่งผลให้มีจำนวนลดลงมาก จึงทำให้เกิดความสนใจและเป็นที่มาของการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญและการพัฒนาของตัวอ่อนและปลาวัยอ่อนในปลาการ์ตูนอานม้า ถึงแม้ว่าการศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเพื่อหาข้อมูลพื้นฐานแต่ก็เป็นงานที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการศึกษาการเพาะขยายพันธุ์และการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน ซึ่งจะทำให้ทราบระยะเวลาและการพัฒนาของไข่ปลาตั้งแต่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจนฟักเป็นตัว การเปลี่ยนแปลงรูปร่างหลังการฟักจนกระทั่งมีรูปร่างคล้ายพ่อแม่ ศึกษาระยะเวลาการพัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยพร้อมที่จะสืบพันธุ์ได้ การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างปลาการ์ตูนอานม้าพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ การศึกษาจำเป็นต้องอาศัยความรู้พื้นฐานเหล่านี้ เพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเทคโนโลยีการเพาะพันธุ์ปลาสมัยใหม่ ให้ผลผลิตตามต้องการ เช่น การเหนี่ยวนำให้ไข่ปลามีจำนวนโครโมโซมมากขึ้นเป็น 3 ชุด (triploid) หรือการนำจีนเร่งการเจริญเติบโต (growth hormone gene) มาฉีดในไข่ปลาเพื่อให้ลูกปลาที่ฟักออกมามีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เป็นต้น ในประเทศไทยไม่มีการศึกษาหรือข้อมูลของปลาการ์ตูนอานม้าชนิดนี้มากพอที่จะนำไปประยุกต์ใช้ได้ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปลาการ์ตูนอานม้าครั้งนี้จะทำให้ได้ข้อมูลและนำไปประยุกต์ใช้และทำให้ประเทศไทยเป็นแหล่งเพาะและผลิตปลาทะเลประเภทสวยงามเป็นสินค้าส่งออกอีกชนิดหนึ่งเหมือนกับอุตสาหกรรมส่งออกปลาน้ำจืดที่ไทยมีสถิติการส่งออกเป็นอันดับต้นๆของโลกได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาระยะและพัฒนาการของไข่ปลาตั้งแต่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจนฟักออกเป็นตัว และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายหลังการฟัก จนกระทั่งเหมือนพ่อแม่ของปลาการ์ตูนอานม้า Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การตรวจเอกสาร

ปลาการ์ตูนอานม้าหรือปลาการ์ตูนดำแดงหลังอาน Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758) เป็นปลาทะเลประเภทสวยงามชนิดหนึ่งในกลุ่มปลาการ์ตูนหลายชนิดในทะเลไทย และเป็นที่นิยมของนักเลี้ยงปลาทะเลประเภทสวยงามทั้งในและต่างประเทศ ปลาการ์ตูนอานม้ามีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธานดังนี้ (วิมล,2540; Allen,1991)

Phylum Chordata

Class Teleostomi

Subclass Actinopterygii

Order Perciformes

Suborder Percoidei

Family Pomacentridae

Subfamily Amphiprioninae

Genus *Amphiprion*

Species *Polymnus*

นอกจากนี้ปลาการ์ตูนอานม้า ยังมีชื่ออื่นที่ถูกตั้งไว้โดยนักอนุกรมวิธานหลายท่าน Allen(1980) ได้รวบรวมชื่อแรกและชื่อพ้อง(synonyms)ไว้ดังนี้

ชื่อแรกที่ใช้ คือ *Perca polymnus* Linnaeus (1758), Syst. Nat., ed. X: 291 (Indies).

ชื่อพ้อง คือ *Coracinus unimaculata* Meuschen (1781), Zoophylacium Gronovianum, 2nd ed.: Pisces, no. 227 (ไม่ทราบสถานที่เก็บ)

Anthias bifasciatus Bloch (1792), Naturgesch. Ausländ. Fische IV: 108 (E. Indies).

Lutjanus Jourdin Lacepède (1802), Hist. Nat. Poissons IV: 191 and 235 (Amboina).

Amphiprion laticlavius Cuvier (1830), Hist. Nat. Poissons V: 394 (New Guinae).

Amphiprion trifasciatus Cuvier (1830), Hist. Nat. Poissons V: 395 (Moluccas).

Amphiprion intermedius Schlegel and Muller (1839-1844), Verh. Nat. gesch. Ned. Overz. Beaitt. Zool.: 18 (Molucca Sea).

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Amphiprion bifasciatus annamenis Chevey (1932), Travaux Inst. Océan. Indochina. Mem. 4: 99 (Vietnam).

Paramphiprion hainanensis Wang (1941), Contr. Biol. Lab. Sci. Soc. China Nanking Zool., 15: 89 (Taiwan).

ปลาการ์ตูนจัดอยู่ในสกุล (genus) *Amphiprion* มีอยู่ 25 ชนิดทั่วโลก (Allen 1980) จากการสำรวจปลาการ์ตูนในประเทศไทยพบเพียง 7 ชนิด และแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในแถบฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย จุดที่สำรวจพบมากที่สุดคือ เกาะง่าม จังหวัดตราด เกาะง่ามที่จังหวัดชุมพร หมู่เกาะสุรินทร์และกองหินใต้น้ำบางแห่ง เช่น กองหินแดง จังหวัดตรัง เป็นต้น อุ่นจิต (2537) รายงานว่าปลาการ์ตูนที่พบในทะเลไทยฝั่งทะเลอันดามันมี 5 ชนิด ได้แก่ ปลาการ์ตูนส้มขาว False Clown Anemonefish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier (1830) ปลาการ์ตูนอินเดียน Yellow Skunk Anemonefish, *Amphiprion akallopisos* Bleeker (1853) ปลาการ์ตูนลายปล้องหางเหลือง Sebae Anemonefish, *Amphiprion sebea* Bleeker (1853) ปลาการ์ตูนลายปล้อง Clark's Anemonefish, *Amphiprion clakii* Bennett (1830) และปลาการ์ตูนแดงดำ Red Saddleback Anemonefish, *Amphiprion ephippium* Bloch (1790) ปลาการ์ตูนที่พบในอ่าวไทยมี 2 ชนิด ได้แก่ ปลาการ์ตูนอานม้าหรือปลาการ์ตูนดำแดงหลังอาน Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758) และปลาการ์ตูนอินเดียนแดง Pink Skunk Clownfish, *Amphiprion perideraion* Bleeker (1855)

ลักษณะทั่วไปของปลาการ์ตูนอานม้าที่พบในประเทศไทย ลำตัวมีสีน้ำตาลอมดำหรือดำ ส่วนหัว อกและครีบอกมีสีส้มอมเหลือง มีแถบขาว 2 แถบ แถบแรกพาดบนบริเวณส่วนหัวหลังดวงตา อีกแถบพาดบริเวณส่วนหลังของลำตัวเป็นแถบโค้งพาดเฉียงขึ้นไปถึงครีบหลัง ครีบหางมีสีดำและตัดขอบด้วยสีขาว ส่วนที่เป็นแถบสีดำจะเรียวเล็กลงไปจนถึงขอบของปลายหาง dorsal rays มี10 หรือ11 หรือ13-16 อัน anal rays ส่วนใหญ่มี 13 แต่ก็เคยพบ 11 หรือ12-14 อัน pectoral rays มี19 อันบางครั้งพบแค่ 18 อัน แถบเกล็ดบนแนวเส้นข้างลำตัว (lateral-line scale) มี 32-41 อัน predorsal scales มี 10-15 อัน เมื่อเปิดกระดูกปิดเหงือก(operculum) ของปลาขึ้นพบซี่กรองเหงือก (gill racker)บนแกนเหงือกอันแรก (first arch) ซึ่งมี 16-19 ซี่ มีฟันเป็นรูปกรวย (teeth conical) (Allen,1980; Allen,1991) สุภาพร (2542) จำแนกลักษณะฟันที่เป็นรูปกรวยว่าเป็นชนิดฟันเขี้ยว (canine) คือโคนใหญ่ ปลายเรียว อาจตั้งตรงหรือโค้งงอ มีขนาดเล็กใหญ่แตกต่างกัน Robert (n.d.) กล่าวถึงการดำรงชีวิตของปลาการ์ตูนอานม้าว่า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชอบอาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลชนิดที่ชอบฝังตัวอยู่ตามพื้นทรายคือ *Heteractis crispa* Ehrenberg (1834) ที่มีสีม่วงหรือสีน้ำตาล หนวดยาวมาก และดอกไม้ทะเล *Stichodactyla haddon* Saville-kent (1893) มีสีน้ำตาล หนวดสั้น อาศัยในระดับความลึก 2-30 เมตรหรือ 6.6-100 ฟุต อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียสหรือ 77-82 องศาฟาเรนไฮน์ ตัวเต็มวัยมีขนาดโดยเฉลี่ย 13 ± 5.1 เซนติเมตร ปลาการ์ตูนอานม้าชอบอาศัยอยู่เหนือพื้นโคลนหรือพื้นทราย ในแอ่งน้ำใต้ทะเล ตามซอกแนวปะการัง หรือบริเวณที่สามารถหลบซ่อนตัวได้ อาจพบเพียงตัวเดียวหรือเป็นคู่ และในบางครั้งมีลูกรวมอยู่ด้วย

พฤติกรรมในการสืบพันธุ์และวางไข่ของปลา

การสืบพันธุ์แบ่งได้ 3 แบบตามชนิดของปลา ดังนี้

1. การสืบพันธุ์แบบแยกเพศ (bisexual reproduction หรือ dioecious) โดยปลาเพศผู้และเพศเมียสร้างเซลล์สืบพันธุ์แยกกัน การผสมพันธุ์เป็นแบบภายนอกตัว (external fertilization) หรือแบบภายในตัว (internal fertilization) ก็ได้

2. การสืบพันธุ์แบบกะเทย (hermaphroditism หรือ monoecious) พบเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (testicular tissue) และเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (ovarian tissue) อยู่ในอวัยวะสืบพันธุ์ (gonad) ตัวเดียวกัน อาจพบเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดในเวลาเดียวกันหรือคนละช่วงเวลาก็ได้ การผสมพันธุ์อาจเกิดขึ้นภายในตัวเดียวกัน (self-fertilization) เมื่อพบเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองเพศสุกในเวลาเดียวกัน หรือมีการผสมพันธุ์ข้ามตัว (cross-fertilization) เมื่อพบเซลล์สืบพันธุ์เพียงเพศเดียวที่สุกและทำงานได้ การผสมพันธุ์ข้ามตัวสามารถแบ่งได้ 2 แบบ แบบที่ 1 คือกะเทยแบบ protandrous hermaphrodite หมายถึงปลาที่มีอวัยวะสืบพันธุ์ทำหน้าที่เป็นอัณฑะก่อนจึงทำหน้าที่เป็นรังไข่ พบในปลาทะเลกลุ่มปลานกแก้ว *Sparus auratus* ปลาหัวแบน *Inegocia crocodila* และปลาการ์ตูน แบบที่ 2 คือกะเทยแบบ protogynous hermaphrodite หมายถึงปลาที่ช่วงแรกมีอวัยวะสืบพันธุ์เป็นรังไข่ก่อนแล้วจึงเปลี่ยนเป็นอัณฑะ พบในปลาทะเล เช่น ปลานกแก้ว *Dentex tumifrons* ปลากะรังสกุล *Epinephelus*

3. การสืบพันธุ์แบบไข่ที่ไม่ได้รับการผสม (parthenogenesis หรือ gynogenesis) ไข่สามารถเจริญเป็นตัวอ่อนได้โดยเชื้อตัวผู้เป็นเพียงตัวกระตุ้นไข่ให้เกิดการเจริญและพัฒนาเท่านั้นโดยไม่ต้องผสม ลูกที่ได้จะมีโครโมโซมชุดเดียวและเป็นเพศเมียทั้งหมด พบในพวกปลากินยุง เช่น ปลาสอด ปลาหางนกยูง (วิมล, 2536; สุภาพร, 2542)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิมล (2536) กล่าวว่าปลาทุกชนิดมีฤดูกาลในการวางไข่ที่แน่นอน ปลาในเขตอบอุ่นจะวางไข่ในฤดูร้อน ปลาในเขตหนาวจะวางไข่ในฤดูใบไม้ร่วงและฤดูหนาว ปลาที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงกว้างมักวางไข่ในฤดูใบไม้ผลิ ส่วนปลาในเขตร้อนบางชนิดวางไข่ตลอดปี ระยะเวลาในการฟักของไข่ปลาในเขตร้อนใช้เวลาน้อยกว่าไข่ปลาในเขตหนาว พฤติกรรมของปลาเมื่อถึงฤดูวางไข่จะรวมกลุ่มกัน โดยว่ายทวนน้ำเข้ามาในแม่น้ำ จากทะเลลึกเข้าสู่ทะเลตื้น จากแม่น้ำสู่มหาสมุทร เพื่อหาแหล่งที่เหมาะสมปลอดภัยในการวางไข่ ในปลาทะเล เช่น ปลากะพงและปลากระบอกหลังเขียวว่ายรวมกันเป็นกลุ่ม เพื่อหาแหล่งวางไข่บริเวณชายฝั่ง การที่ปลามีพฤติกรรมในการรวมกลุ่มเพื่อเดินทางไปวางไข่ เป็นพฤติกรรมที่น่าเป็นห่วงมาก เนื่องจากชาวประมงสามารถล้อมจับฝูงปลาได้ง่ายและจับได้เป็นจำนวนมาก

อุ่นจิต (2537) ได้ศึกษาพฤติกรรมปลาการ์ตูนส้มขาว False Clown Anemonefish, *A. ocellaris* Cuvier (1830) ที่รวบรวมพ่อแม่พันธุ์จากกองหินบริเวณหน้าสถาบันวิจัยชีววิทยาและประมงทะเล จังหวัดภูเก็ต พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยปลาเพศผู้และเพศเมียสร้างเซลล์สืบพันธุ์แยกกันและผสมพันธุ์ภายนอกตัว เมื่อพ่อแม่ปลาพร้อมวางไข่ ปลาตัวเมียบริเวณท้องจะเป่งนูนกลมใหญ่กว่าปกติมาก และมี urogenital papilla รูปกรวยสีแดงจางๆโผล่ออกมาจากบริเวณช่องสืบพันธุ์ยาว 4-5 มิลลิเมตร ในปลาตัวผู้จะมีท่อสีขาวขนาดเล็กโผล่ออกมาจากช่องสืบพันธุ์ความยาว 2 มิลลิเมตรเช่นกัน ทั้งคู่เฝ้าดูแลความสะอาดวัสดุที่จะวางไข่ตลอดเวลา ในขณะที่วางไข่ ตัวเมียจะว่ายวนไปมาชิดกับวัสดุที่จะวางไข่ ส่วนของ urogenital papilla สัมผัสกับวัสดุที่วางไข่ เมื่อฟองไข่หลุด ขั้วด้านล่าง (ventral pole) ของไข่มีเยื่อเหนียวใสยึดกับวัสดุด้านล่างอย่างเหนียวแน่นทันที แม่ปลาจะว่ายวนเป็นวงกลมเป็นวงแคบๆก่อนแล้วค่อยขยายวงกว้างขึ้นขณะเดียวกันก็ปล่อยไข่ลงติดกับวัสดุวางไข่เพิ่มมากขึ้น และตัวผู้ว่ายตามติดพร้อมทั้งปล่อยน้ำเชื้อผสมทันที ในการวางไข่ใช้เวลา 40-60 นาที จำนวนไข่ที่วางประมาณ 145-1827 ฟอง ภายหลังจากวางไข่ urogenital papilla หดกลับเข้าที่เดิม ไข่ปลาการ์ตูนต้องอาศัยพ่อแม่เฝ้าดูแลและพัดโบก ไข่จึงจะพัฒนาและฟักออกเป็นตัวได้ หน้าที่สำคัญอีกอย่างคือ การปกป้องไม่ให้ศัตรูเข้าใกล้รังที่มีไข่ ขนิษฐาและรังสรรค์ (2543) กล่าวว่าปลาบางชนิดภายหลังการวางไข่ พ่อแม่ปลาอาจมีพฤติกรรมในการดูแลไข่และมีพฤติกรรมในการสร้างรังเช่นปลาการ์ตูน แต่ก็มีปลาหลายชนิดไม่มีการดูแลไข่ ปล่อยให้ฟักเองตามธรรมชาติและไม่สร้างรัง อุ่นจิต (2537) ซึ่งศึกษาในปลาการ์ตูนส้มขาว จำนวน 5 คู่ พบว่ามีบางคู่วางไข่สม่ำเสมอตลอดปี บางคู่หยุดวางไข่เป็นบางช่วงโดยจะทิ้งช่วงตั้งแต่ 82–365 วัน ปลาวางไข่หลังเที่ยงถึงเย็น ส่วนใหญ่วางเวลา 14.00-15.00 น. คิดเป็นร้อยละ 45 ไม่พบว่ามีการวางไข่ใน

ช่วงเช้า Verwey (1930) กล่าวว่าปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percula* Lacepède (1802) ที่เลี้ยงไว้จะพักวางไข่ประมาณ 2 เดือน โดยไม่สามารถกำหนดช่วงเวลาพักที่แน่นอนได้ และจะวางไข่ในช่วง 10.00-14.00 น. เท่านั้น (Garnaud,1951) ในปลาการ์ตูนลายปล้อง Clark's Anemonefish, *A. clakii* Bennett (1830) ที่พบทางตอนใต้ของประเทศญี่ปุ่นจะหยุดวางไข่ในช่วงฤดูหนาวและปลาชนิดนี้เมื่ออยู่ในเขตร้อนจะวางไข่ตลอดทั้งปี (Allen,1972; Bell, 1976) Henningsen (1989) ศึกษาในปลาการ์ตูน Tomato Clown, *A. fernatus* Brevoort (1856) พบว่าวางไข่ช่วงบ่ายถึงเย็นเท่านั้น Allen (1980) รายงานว่ามีการศึกษาการเพาะขยายพันธุ์ปลาการ์ตูนบางชนิดโดยศึกษาพฤติกรรม 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่วางไข่ในธรรมชาติและวางไข่ในโรงเพาะฟัก จะต้องมีระบบการจัดการที่ดี พ่อแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์ สภาพแวดล้อมของโรงเพาะฟักที่เหมาะสม Anonymous (1999) กล่าวว่าปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percula* Lacepède (1802) โดยธรรมชาติเพศผู้มีนิสัยดุและก้าวร้าว เมื่อถึงเวลาที่ต้องการมีคู่จะมีพฤติกรรมในการเลือกคู่โดยแสดงความก้าวร้าวมากขึ้นและไล่ทำร้ายเพื่อนในฝูงเพื่อสร้างอาณาเขตของรัง ในขณะเดียวกันจะแสดงออกให้ตัวเมียสนใจด้วยการว่ายน้ำและการแผงครีบหลังและครีบหางให้กว้างขึ้นเพื่ออวดเพศเมีย และเมื่อปลาจับคู่ได้แล้ว ทั้งคู่ก็จะช่วยกันคัดเลือกวัสดุในการสร้างรังต่อไป

ลักษณะของไข่ปลา

ไข่ปลาแต่ละชนิดมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกัน ส่วนใหญ่มีลักษณะกลม บางชนิดเป็นรูปรี หรือคล้ายหยดน้ำ เมื่อไข่สุกมีเยื่อบางๆห่อหุ้ม ถ้าเป็นปลาที่วางไข่จะมีเปลือกไข่หุ้มรอบไข่ ไข่ที่เจริญเต็มที่มีรูเปิดเล็กๆเรียกว่าช่องไมโครไพล์(micropyle) อยู่บริเวณเซลล์ขั้ว (polar body) ซึ่งเป็นช่องให้น้ำเข้า ทำให้เปลือกไข่ขยายออก ถ้าไข่ได้รับการผสมช่องไมโครไพล์จะปิดทำให้น้ำเข้าไม่ได้ แต่ยังคงมีการแพร่ของน้ำและก๊าซรอบๆเปลือกไข่ ไข่ที่ถูกน้ำ เปลือกจะแข็งขึ้นแต่ถ้าเป็นไข่ที่เจริญในตัวแม่เปลือกจะไม่แข็ง ไข่ปลาแต่ละฟองประกอบด้วย

1. เปลือกไข่ (egg shell หรือ egg capsule) เป็นเยื่อบางๆอยู่ชั้นนอก ชั้นรองถัดมาเรียกว่าชั้น chorion ไข่ปลาที่อยู่ในน้ำมีเปลือกที่ไม่แข็ง แต่มีวุ้นหรือเมือกเหนียวล้อมรอบ

2. Perivitelline space คือ ช่องว่างระหว่างเปลือกไข่กับ perivitelline membrane พบว่ามีน้ำอยู่ภายใน ช่วยในการลอยตัวของไข่ ทำให้ไข่หมุนได้รอบๆ

3. ไซโทพลาซึม (cytoplasm) คือส่วนของตัวไข่ มี perivitelline membrane หุ้มอยู่รอบๆ ภายในมีไข่แดงและ blastodisc

4. Blastodisc หรือ germinal disc อยู่ติดกับผิวของไซโทพลาซึมส่วนใดส่วนหนึ่งที่ค่อนข้างจะหนาทึบมากกว่าส่วนอื่นๆ ภายในมีนิวเคลียส (nucleus) ซึ่งมีโครโมโซมสำหรับถ่ายทอดลักษณะของแม่ปลาไปสู่ลูกปลา

5. ไข่แดง (yolk) อยู่ใต้ blastodisc เป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับตัวอ่อน ภายในอาจมีหยดไขมันหรือหยดน้ำมันสะสมอยู่ (วิมล, 2540)

ประเภทของไข่ปลา

การแบ่งประเภทของไข่ปลา แบ่งตามการลอยน้ำออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้คือ

1. ไข่ลอย (pelagic egg หรือ buoyant egg) ไข่มีลักษณะเปลือกบาง ใส ไม่มีเมือกเหนียว ไข่ไม่เกาะติดกัน ในบางชนิดมีหยดน้ำมันปนในไข่แดงทำให้ลอยน้ำได้ดี และ perivitelline space แคบเพราะดูดน้ำได้เพียงเล็กน้อย พบในปลาทะเลส่วนมากและปลาน้ำจืดบางชนิด

2. ไข่จม (demersal egg) เป็นไข่ที่มีขนาดใหญ่ เปลือกไข่หนาทำให้ไข่ทึบ มี perivitelline space แคบ จึงมักจะจมลงสู่ท้องน้ำ สามารถแบ่งย่อยได้เป็นไข่จมไม่เกาะติดวัสดุ (non adhesive egg) จะไม่มีสารเหนียว (adhesive layer) ที่บริเวณเปลือกไข่ เช่นไข่ปลานิล ไข่ปลาตะพัด และไข่จมติดวัสดุ (adhesive egg) จะมีสารเหนียวที่บริเวณเปลือกไข่ ทำให้ไข่เหนียวติดวัสดุได้ง่าย ความเหนียวของไข่ปลามีความแตกต่างกันไปตามชนิดของปลาและพบว่าเมื่อไข่ฟักเป็นตัวความเหนียวจะลดลง พบในปลาบึก ปลาทอง ปลาปอมบาดัวร์ (วีระพงศ์, 2536) และปลาการ์ตูน (Allen, 1991)

3. ไข่ครึ่งลอยครึ่งจม (semibouyant egg) จะมีความถ่วงจำเพาะใกล้เคียงกับน้ำ เมื่อไข่สัมผัสน้ำจะจม แต่เมื่อดูดน้ำเข้าใน perivitelline space ทำให้ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้นโดยจะจมน้ำเมื่ออยู่นิ่งๆ และจะลอยน้ำเมื่ออยู่ในน้ำไหล มีลักษณะครึ่งๆกลางๆระหว่างไข่ลอยและไข่จม เปลือกไข่บางและโปร่งแสง ไข่ไม่ติดกับวัตถุใดๆ พบมากในกลุ่มปลาน้ำจืด (วีระพงศ์, 2536)

อุ่นจิต (2537) รายงานว่าไข่ปลาการ์ตูนส้มขาวที่วางใหม่ ส่วนที่เป็นไข่แดงมีสีเหลืองอ่อนๆ บางครั้งก็มีสีเหลืองอมส้มจางๆ ส่วนอื่นๆของไข่จะใส ด้านที่เป็น animal pole มีส่วนของใยเหนียวสั้นๆสำหรับยึดไข่ให้ติดกับวัสดุวางไข่ ไข่สามารถโบกพัดไปมาได้ถึง 180 องศาเซลเซียส ตามการพัดของกระแสน้ำ ในโรงเพาะฟักวัสดุที่ปลาการ์ตูนชนิดนี้เลือกวางไข่ ได้แก่ เปลือกหอยมือเสือ แผ่นพีวีซี แผ่นกระจก หิน กระถางดินเผา แต่ในธรรมชาติปลาการ์ตูนส่วน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ใหญ่จะวางไข่บนหิน Moyer and Steene (1979) ศึกษาในปลาการ์ตูนอานม้า Saddleback Anemonefish, *A. polymnus* Linnaeus (1758) ชอบอาศัยกับดอกไม้ทะเลที่ฝั่งทราย หากขาดวัสดุวางไข่จะใช้เปลือกหอยเม่นในการวางไข่ โดยก่อนการวางไข่ 2-5 วัน ปลาการ์ตูนเพศผู้จะเป็นผู้คัดเลือกวัสดุในการวางไข่ อุ่นจิต (2537) ได้สรุปผลการทดลองว่า ปลาการ์ตูนส้มขาววางไข่สม่ำเสมอตลอดปี โดยทิ้งช่วงเวลาในการวางไข่อยู่ระหว่าง 14-15 วัน และ 1 ปีวางไข่ 24 ครั้ง จำนวนไข่ที่วางน้อยที่สุด 145 ฟองและมากที่สุด 1827 ฟอง ค่าเฉลี่ยของการวางไข่แต่ละครั้งประมาณ 876 ฟอง ขนาดของไข่ปลายาว 2.34 มิลลิเมตร กว้าง 1 มิลลิเมตร ไข่รูปทรงรีคล้ายแคปซูล(capsule) Allen (1972) กล่าวว่าจำนวนไข่ขึ้นอยู่กับแม่ปลา และพบว่าปลาที่จับคู่กันเป็นเวลานานจำนวนไข่ที่วางจะมากกว่าปลาที่เริ่มจะจับคู่กัน ปลาการ์ตูนแต่ละชนิดจำนวนไข่ที่วางจะแตกต่างกัน เช่น ปลาการ์ตูน Orange-Fin Anemonefish, *A. chrysopterus* Cuvier (1830) ในธรรมชาติ 1 คู่จะวางไข่ประมาณ 3,000-5,000 ฟอง ในเวลา 1 ปี และปลาการ์ตูน Pink Anemonefish, *A. perideraion* Bleeker (1855) 1 คู่วางไข่ประมาณ 2,000-4,000 ฟองต่อปี Verway (1930) ได้ประมาณไข่ของปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percula* Lacepède (1802) ที่เลี้ยงใน Onrust Aquarium ใน Batavia พบว่าวางไข่ปีละ 5,000 ฟอง และจำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้งไม่เท่ากัน ส่วนขนาดของไข่มีความยาว 2.2 มิลลิเมตร และกว้าง 0.9 มิลลิเมตร (Delsman, 1930) Ross (1978) ศึกษาในปลาการ์ตูน Red and Black Anemonefish, *A. melanopus* Bleeker (1852) พบวางไข่แต่ละครั้งมีจำนวน 200-400 ฟอง แต่ Fishelson (1965) ศึกษาในปลาชนิดเดียวกันพบวางไข่ครั้งละ 600- 1,600 ฟอง Bell (1976) ศึกษาในปลาการ์ตูนลายปล้อง Clark's Anemonefish, *A. clakii* Bennett (1830) พบว่าวางไข่ครั้งละประมาณ 500-800 ฟอง ในตู้เลี้ยง

การเจริญพัฒนาของคัพภะ (embryonic development)

Balon (1975) ได้ทำการศึกษาและแบ่งช่วงต่างๆของพัฒนาการของปลาตั้งแต่ระยะที่มีพัฒนาการจนถึงตายออกเป็น 5 ระยะ คือ

1. ระยะคัพภสภาวะ (embryonic period) เริ่มตั้งแต่ไข่ถูกปฏิสนธิและแบ่งตัว ระยะนี้แบ่งออกเป็น 3 ขั้น(phase) ได้แก่ ขั้นแบ่งเซลล์(cleavage phase) เป็นขั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาภายในเนื้อเยื่อของไข่จนกระทั่งเริ่มต้นการสร้างอวัยวะ(organogenesis) ขั้นเริ่มก่อตัวอ่อน(embryonic phase)เริ่มต้นจากการเกิดอวัยวะและอวัยวะต่างๆเริ่มมีการพัฒนาจนถึงตัว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อ่อนฟักออกจากไข่อย่างสมบูรณ์ ขั้นตัวอ่อน(eleutheroembryonic phase) เริ่มตั้งแต่ตัวอ่อนฟักออกจากไข่กลายเป็นลูกปลาวัยอ่อน และลูกปลาเริ่มหาอาหารกินเองได้

2. ระยะลูกปลา (larval period) ลูกปลาเริ่มหาอาหารกินจากภายนอกจนกระทั่งถึงการเจริญของเซลล์กระดูกซึ่งมาสะสมที่กระดูกแกนกลางและสันครีบต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงของการเกิดครีบอย่างสมบูรณ์ ในระยะนี้แบ่งออกได้เป็น 2 ขั้น ได้แก่ ขั้นก่อนการเกิดครีบ(protopterygiolarval phase) และขั้นเกิดครีบ(pterygiolarval phase หรือ finfold phase)

3. ระยะวัยรุ่น (juvenile period) อวัยวะชั่วคราวต่างๆได้เปลี่ยนเป็นอวัยวะที่สมบูรณ์ ระยะนี้สิ้นสุดเมื่อเริ่มมีการสุกของเซลล์สืบพันธุ์

4. ระยะโตเต็มวัย(adult period) เริ่มตั้งแต่ที่เซลล์สืบพันธุ์เริ่มสุกและเริ่มมีการวางไข่

5. ระยะชรา(senescent period) เป็นระยะที่มีอายุมาก อัตราการเจริญเติบโตลดลง ไม่มีการสืบพันธุ์ ระยะนี้กินเวลานานหลายปีจนกว่าจะตาย

ในการศึกษาการจัดแบ่งช่วงพัฒนาการของปลา ขึ้นกับความคิดเห็นและแนวทางในการศึกษาของนักชีววิทยาหรือนักวิจัยเอง ดังนั้นจึงไม่มีกฎเกณฑ์ที่แน่นอนของการแบ่งระยะต่างๆ

การปฏิสนธิ (fertilization) หมายถึง การรวมกันของนิวเคลียสของไข่และตัวอสุจิ เกิดเมื่อปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ การปฏิสนธิเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาของไข่ปลา ตัวอสุจิจะเข้าสู่ไข่ทางช่องไมโครไพล์ และขบวนการปฏิสนธิจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อเชื้อตัวผู้แตะผิวของไข่ในส่วนที่ใกล้กับนิวเคลียส ส่วนของไซโตพลาสมและเปลือกไข่จะแยกจากกันในขณะที่ไข่เกิดปฏิกริยาโดยเชื้อตัวผู้ หลังจากนั้นช่องไมโครไพล์ก็จะปิดอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันตัวอสุจิเข้าผสมหลายตัว จากนั้นไข่ปลาจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส พร้อมกับมีการดูดน้ำเข้าไปแทรกระหว่างผนังเปลือกไข่ และทำให้เกิดช่องว่างที่เรียกว่า perivitelline space การดูดน้ำเข้าไปที่ช่องนี้ทำให้ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้นและทำให้ไข่สามารถหมุนรอบตัวเองได้ กระบวนการที่ไข่ดูดน้ำเข้าไปนี้เรียกว่า water hardening ไข่ปลาในระยะ ripe จะดูดน้ำได้ดีกว่าไข่ในระยะ over ripe การปฏิสนธิมีผลให้ไข่ปลาที่เคยหยุดการพัฒนาของไข่ในระยะเมตาเฟส II (metaphase II) ถูกกระตุ้นให้มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส II (meiosis II) ต่อไป มีผลทำให้เซลล์ขั้ว(polar cell) หลุดออกจากไข่ปลาภายใน 2-3 นาที ฉะนั้นนิวเคลียสของไข่ ก็สามารถรวมกับนิวเคลียสของตัวอสุจิ ได้เป็น zygote มีโครโมโซม 2 ชุด (2n) และพร้อมที่จะแบ่งเซลล์ต่อไป อย่างไรก็ตามพบว่าไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจากตัวอสุจิ ก็มีการแบ่งเซลล์ได้ช่วงหนึ่ง แต่จะแตกต่างกับที่ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิกล่าวคือเมื่อพัฒนาถึงระยะ blastopore ปิด ไข่มีลักษณะขาวขุ่นชัดเจนซึ่งบ่งบอกถึงไข่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้อีก ในขณะที่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจะกลมและสีสดใสเป็น

ปกติซึ่งเป็นลักษณะของไข่ที่มีการพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนต่อไป ไข่ปลาเมื่อพัฒนาถึงระยะ blastoporeปิด สามารถบอกความแตกต่างของไข่ดีและไข่เสียได้ชัดเจน ในการศึกษาเรื่องการปฏิสนธิของสัตว์ทุกชนิด ถ้าตัวอ่อนสามารถแบ่งตัวและพัฒนาถึงระยะ blastoporeปิดได้แสดงว่าตัวอ่อนได้รับการปฏิสนธิ แต่ถ้าหากพบว่าตัวอ่อนพัฒนาไปไม่ถึงระยะ blastoporeปิดแสดงว่าการปฏิสนธิล้มเหลว (วีระพงศ์, 2536) โดยทั่วไปการแบ่งเซลล์ของไซโกตนั้น ปริมาณของไข่แดงเป็นตัวกำหนดพัฒนาการของไซโกต ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด

1. Oligolecithal egg หรือ homolecithal egg เป็นชนิดไข่แดงน้อยหรือไม่มีไข่แดงเลย การแบ่งเซลล์ในระยะแรกจะเป็นการแบ่งเซลล์ไข่ตลอดทั้งใบ เรียกว่าเป็นการแบ่งแบบ holoblastic

2. Mesolecithal egg เป็นชนิดไข่แดงปานกลาง การแบ่งเซลล์ในระยะแรกก็จะเป็นแบบ holoblastic เช่นกัน

3. Polylecithal egg เป็นชนิดไข่แดงมาก การแบ่งเซลล์จะแบ่งเฉพาะบางส่วนเรียกว่าการแบ่งแบบ meroblastic โดยแบ่งทางด้าน animal pole เท่านั้น ส่วนทางด้าน vegetal pole ซึ่งมีไข่แดงอยู่มากจะไม่มีการแบ่งเซลล์ (วิมล, 2536)

ขั้นตอนต่างๆในการเจริญพัฒนาของคัพภะของปลาทั่วไป อุทัยรัตน์ (2538) แบ่งเป็น

1. ระยะ cleavage ไซโกตแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนจาก 1 เป็น 2, 4, 8, 16 ตามลำดับ cleavage ของสัตว์มีกระดูกสันหลังมี 2 แบบ คือแบบ holoblastic และ meroblastic ในปลากระดูกแข็งจะเป็นการแบ่งแบบ meroblastic เนื่องจากไข่ปลาส่วนใหญ่มีปริมาณไข่แดงมาก การแบ่งเซลล์ระยะนี้ทำให้ได้เซลล์เป็นจำนวนมากที่มีขนาดเล็กกว่าเดิม เรียกแต่ละเซลล์ว่า blastomeres กลุ่มของเซลล์ blastomeres เรียกว่า blastoderm หรือ blastodisc เนื่องจากกลุ่มเซลล์นี้มีลักษณะคล้ายจาน ตอนปลายของระยะนี้เรียกว่า ระยะ morula

2. ระยะ blastula ระยะนี้จะเกิดช่องว่าง blastocoel ขึ้นระหว่างกลุ่ม blastoderm ชั้นบน ซึ่งเป็นส่วนที่เจริญเป็นคัพภะกับชั้นบางๆของ blastoderm ที่อยู่ชิดกับไข่แดง เรียกว่าชั้นperiblast หรือ trophoblast ชั้น periblast ทำหน้าที่ส่งอาหารจากไข่แดงไปให้คัพภะใช้ในการเจริญเติบโต ในระยะ late blastula ชั้นของ blastoderm เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่างๆของอวัยวะเรียกว่า presumptive organ forming area ประกอบไปด้วยชั้น endoderm ซึ่งเป็นแนวกึ่งกลางของชั้น blastoderm จะเจริญเป็นส่วนของprechordal plate ชั้นโนโต

คอร์ด(notochord) ชั้น neural ectoderm และ ชั้น epidermal-ectodermตามลำดับ ส่วนที่เป็นชั้น mesoderm จะอยู่สองข้างของชั้นendoderm ชั้นblastoderm ของส่วนต่างๆจะมีขนาดต่างกันตามชนิดของปลา

3. ระยะ gastrula ระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลงของคัพภะเกิดขึ้น 2 ลักษณะคือ การม้วนตัวของ ชั้น blastoderm เข้าด้านใน (emboly) และการขยายตัวลงมาคลุมไข่แดง (epiboly) ของชั้น blastoderm

3.1 Emboly เมื่อเริ่มระยะ gastrula ขอบของ blastodisc จะหนาขึ้นทำให้เกิดลักษณะคล้ายวงแหวนล้อมรอบไข่แดง เรียกว่า germ ring ส่วนของ germ ring บริเวณที่เจริญเป็นหางมีเซลล์มารวมกันหนาแน่นมากทำให้เกิดมีลักษณะเหมือนรูปไข่เล็กๆยื่นเข้าไปข้างใน ส่วนของ blastoderm ตรงจุดนี้คือต้นกำเนิดของคัพภะเรียกว่า embryonic shield เมื่อขบวนการ gastrulation เริ่มขึ้น ส่วนของชั้น endodermจะเคลื่อนที่เข้าไปภายใน blastocoel ทำให้เกิดเป็นช่องเปิดรูปพระจันทร์เสี้ยวขึ้นเรียกช่องนี้ว่า dorsal lip of blastopore หลังจากการม้วนตัวเข้าของชั้น endodermแล้ว prechordal plate และ notochord ก็จะเคลื่อนตามเข้าไปอยู่ในแนวแกนกลางลำตัว และชั้น mesoderm จะเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ในตำแหน่ง 2 ข้างของ notochord โดยแทรกระหว่างชั้น endoderm กับชั้น ectoderm ในระยะต้นของการเกิด gastrula ชั้นต่างๆที่ม้วนเข้าไปยังไม่แยกจากกันชัดเจน แต่ในระยะหลังของ gastrula เนื้อเยื่อชั้น mesoderm, notochord และ endoderm จึงจะแยกชั้น (delamination) โดยnotochordมีลักษณะเป็นแท่งกลมบริเวณกึ่งกลาง มีชั้น mesoderm อยู่ 2 ข้าง ด้านล่างสุดคือชั้น endoderm

3.2 Epiboly ในขณะที่มีการม้วนตัวเข้าด้านใน ส่วนของชั้น ectoderm และ periblast ขยายตัวลงมาด้านล่างและคลุมไข่แดงทีละน้อยจนไข่แดงถูกหุ้มเกือบหมด คงเหลือเพียงบริเวณแคบๆเล็กๆที่มองเห็นไข่แดงได้เรียกว่า yolk plug พร้อมกันนั้นเซลล์ในส่วนของชั้น neural ectoderm ซึ่งไม่ได้ม้วนเข้าด้านในจะเคลื่อนตัวเข้าสู่แกนกลางลำตัวตามแนวแกนของคัพภะทำให้เกิดสันเป็นแนวยาวตามแนวตั้งฉากกับ germ ring และจมลงในแนว notochord ที่อยู่ด้านล่างของ neural plate และเมื่อสิ้นสุดระยะ gastrulation ไข่แดงจะถูกหุ้มเรียกระยะ blastopore ปิดและชั้น mesoderm จะเริ่มจัดตัวมองเห็นลักษณะเป็นปล้องที่เรียกว่า somite

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. ระยะ tubulation ระยะนี้เนื้อเยื่อทั้ง 3 ชั้น ได้แก่ ectoderm, mesoderm และ endoderm จัดเรียงตัวเป็นท่อ 5 ท่อและเจริญเป็นอวัยวะต่างๆดังนี้ neural tube, epidermal tube, endodermal tube และมี mesodermal tube 2 ท่อ การเกิดท่อเหล่านี้ซับซ้อนมาก

4.1 การเกิด neural tube เกิดจาก neural ectoderm ที่หนาตัวขึ้นตามแนวสันหลังของคัพภะจะขยายตัวและจมลงด้านล่างของ epidermal ectoderm ต่อมเกิดเป็นช่องว่างตลอดความยาวของ neural tube โดย neural tube ส่วนหน้าเจริญไปเป็นสมอง ส่วนที่เหลือเจริญไปเป็นไขสันหลัง

4.2 การเกิด epidermal tube พบว่าลักษณะลำตัวของคัพภะจะแบนราบเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้คัพภะยกตัวสูงขึ้นจากชั้น blastoderm อย่างชัดเจน โดยเริ่มจาก ectoderm บริเวณหัวของคัพภะจะยกตัวสูงขึ้นต่อมา endoderm และ neural tube ก็ยกตัวตามไปด้วย จากนั้น ectoderm, mesoderm และ endoderm ก็เจริญขึ้นด้านบนในลักษณะเดียวกัน ทำให้ลำตัวของคัพภะนูนขึ้นจากผิวไข่ ส่วนหางก็ยื่นยาวออกทำให้แยกจากผิวไข่ได้ชัดเจนขึ้น

4.3 การเกิดท่อทางเดินอาหาร(gut tube) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของชั้น endoderm โดยชั้น endoderm ในระยะ gastrula จะเจริญโค้งขึ้นด้านบนและเชื่อมกันเป็นท่อ แบ่งออกได้ 3 บริเวณคือ ท่อทางเดินอาหารส่วนหน้า(fore gut) ส่วนกลาง(mid gut)และส่วนท้าย(hind gut)

4.4 การเกิด mesodermal tube ในระยะนี้ชั้น mesodermal ซึ่งทอดตัวอยู่ 2 ข้างของnotochord เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยเซลล์ด้านบน (epimere)จัดเรียงตัวเป็นปล้องที่เรียกว่า somite และเซลล์บริเวณถัดลงมา mesomere ก็จัดเรียงตัวเป็นปล้องเช่นกัน โดยเซลล์เหล่านี้เจริญเป็นอวัยวะบางส่วนในระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์ ส่วนเซลล์ mesoderm ด้านล่าง (hypomere)ไม่เกิดปล้อง

5. ระยะพัฒนาการของอวัยวะและลักษณะรูปร่าง (organogenesis and body form development) ในระยะนี้ชั้นเนื้อเยื่อที่จะเจริญเป็นอวัยวะต่างๆ (primitive organ forming tube) ทั้ง 5 ได้แก่ ชั้นectoderm ชั้นmesoderm ชั้นendoderm และ neural tube รวมทั้ง notochord จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะเบื้องต้นของระบบต่างๆของร่างกายต่อไป ได้แก่ ectodermal tube เจริญเป็นเยื่อบุผิว ฟันชั้นนอก ผนังของหู เลนส์ของตาและหูชั้นใน mesodermal tube จะแบ่งได้เป็น 3 ส่วน ส่วนบนเกิดจากการสร้าง somite เจริญเป็นโครง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กระดูก กล้ามเนื้อลำตัว กระดูกและกล้ามเนื้อระยางค์ เกล็ดและเนื้อเยื่อของชั้นdermis ส่วนกลางเจริญเป็นไตและบางส่วนของรังไข่หรืออัณฑะและท่อของอวัยวะดังกล่าว mesodermal tube ส่วนข้างเจริญเป็นเยื่อหุ้มหัวใจและช่องท้อง หัวใจและเลือด endodermal tube เจริญเป็นสมองและไขสันหลัง และตาส่วนที่เหลือรวมถึง จอตา(retina)และประสาทตา เซลล์สารสี(pigment cell) กลุ่มเซลล์ mesenchyme ในส่วนหัวเจริญเป็นตาชั้นนอก กระดูกส่วนหัว ฟันชั้นใน

Allen (1991) กล่าวว่าภายหลังการปฏิสนธิ ปลาการ์ตูนฟักเป็นตัวในช่วงเย็นของวันที่ 6 หรือวันที่ 7 และไข่ปลาการ์ตูนมีลักษณะเป็น capsule เรียวยาว เป็นไข่จมติดวัสดุโดยมีสารเหนียวที่บริเวณเปลือกไข่ แต่ Ross (1978) ศึกษาพบว่าปลาการ์ตูน Red and Black Anemonefish, *A. melanopus* Bleeker (1852) ใช้เวลาในการฟักโดยเฉลี่ยประมาณ 7.5-8.5 วัน Bell (1976) ศึกษาในปลาการ์ตูนลายปล้อง Clark's Anemonefish, *A. clakii* Bennett (1830) กล่าวว่าระยะเวลาในการฟักจะขึ้นกับอุณหภูมิของน้ำเช่น ใช้เวลาเพียง 6.5 วันในการฟักออกเป็นตัวที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่จะใช้เวลาในการฟักนานถึง 13.5 วัน ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส และไข่ปลาจะฟักเป็นตัวภายหลังแสงอาทิตย์ลับขอบฟ้าไปแล้ว 1-2 ชั่วโมงเสมอ (Bell, 1976; Ross, 1978)

อุ่นจิต (2537) ศึกษาพัฒนาการของไข่ปลาการ์ตูนส้มขาวภายหลังการปฏิสนธิเป็นดังนี้

- 2 ชั่วโมง 29 นาที ระยะ 1 เซลล์ ลักษณะเซลล์โค้งตามฟองไข่
- 2 ชั่วโมง 37 นาที แบ่งเป็น 2 เซลล์
- 3 ชั่วโมง 11 นาที แบ่งเป็น 4 เซลล์
- 3 ชั่วโมง 30 นาที แบ่งเป็น 8 เซลล์
- 4 ชั่วโมง แบ่งเป็น 16 เซลล์
- 4 ชั่วโมง 45 นาที แบ่งเป็น 32 เซลล์
- 5 ชั่วโมง 09 นาที แบ่งเป็น 64 เซลล์
- 12 ชั่วโมง เข้าสู่ระยะ blastula
- 20 ชั่วโมง ระยะ gastrula
- 24 ชั่วโมง เริ่มสร้างตัวอ่อนโดยส่วนหัวอยู่ด้านเดียวกับเซลล์ขั้วไข่
- 27 ชั่วโมง เริ่มเห็น somite และ กระบอกตา (optic cup)
- 34 ชั่วโมง เห็น pigment ที่ไข่แดงและตัวอ่อน พบมากที่ส่วนหลัง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- 36 ชั่วโมง ตัวอ่อนเคลื่อนมาสุดขอบไข่แดง ส่วนหัวหมุนตัวลงมาด้านตรงข้ามกับเซลล์ขั้วไข่
- 42 ชั่วโมง เห็นการเต้นของหัวใจ 92 ครั้ง/นาที มีการไหลเวียนของของเหลว
- 48 ชั่วโมง ลูกตาชัดเจน, ตัวอ่อนใส, ไข่แดงน้อย, pigmentมากขึ้น, somite สมบูรณ์
- 65 ชั่วโมง มีโลหิตไหลเวียน,ลูกตาเป็นรูปวงแหวนสีดำแต่ส่วนปลายไม่เชื่อมกัน
- 72 ชั่วโมง นับการเต้นของหัวใจได้ 125 ครั้ง/นาที, pigment กระจายทั่วไข่
- 4 วัน เห็นครีบอกและครีบก้นและปาก, ไข่แดงเล็กมาก, ตาเริ่มมีสีเงินวาว
- 5 วัน ปากเจริญมากขึ้น, ตัวอ่อนมีสีขุ่นและเจริญเต็มกระเปาะ, หัวโตมาก
- 6 วัน ลูกตาดำสนิทและมีสีเงินวาวตรงกลาง, ปากสมบูรณ์, หัวใจเต้น 157ครั้ง/นาที
- 7 วัน ตัวอ่อนสมบูรณ์เต็มที่พร้อมที่จะฟักออกจากเปลือก

Sunobe and Nakazono (1989) ศึกษาพัฒนาการของปลาทะเล Gobiid fish, *Priolepsis naraharac* ซึ่งเป็นไข่จมติดวัสดุและไข่มีขนาดใกล้เคียงกับไข่ปลาการ์ตูน แต่มีรูปร่างแตกต่างกันเล็กน้อยคือปลาชนิดนี้ไข่เป็นเซลล์รูปไข่ ป่องตรงกลาง และใช้เวลาเพียง 98 ชั่วโมงเท่านั้นจึงฟักออกเป็นตัว ดังนี้

- 3 ชั่วโมง แบ่งเป็น 2 เซลล์
- 4 ชั่วโมง แบ่งเป็น 16 เซลล์
- 6 ชั่วโมง เข้าสู่ระยะ morula
- 10 ชั่วโมง ระยะ early gastrula, และ blastodermal cup เริ่มแยกออกจากไข่แดง
- 12 ชั่วโมง เกิด germ ring เคลื่อนปกคลุม 2/3 ส่วนของไข่แดง
- 15 ชั่วโมง blastopore ปิดและเริ่มสร้างตัวอ่อน
- 19 ชั่วโมง เกิดปุ่มตา 1 คู่, และ Kupffer's vesicle
- 20 ชั่วโมง Kupffer's vesicle ขยายใหญ่ขึ้น, พบ myomere 4 คู่
- 25 ชั่วโมง เห็นตาชัดเจนขึ้นและมี granule ที่ตา, notochord เป็นสันยาวถึงปลายหาง
- 28 ชั่วโมง เซลล์มีการพัฒนาไปเป็นสมองและหัวใจ, Kupffer's vesicle หายไป
- 52 ชั่วโมง พบปุ่ม pactoral fin, พบ melanophores ด้านหลังของผนังท้องและหาง
- 98 ชั่วโมง ตัวอ่อนสมบูรณ์พร้อมฟัก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Long and Ballard (2001) ศึกษาพัฒนาการของไข่ในปลา Longnose gar, *Lepisosteus osseus* ซึ่งเป็นปลาโบราณที่กำลังจะสูญพันธุ์ ไข่ปลามีลักษณะเป็นรูปกลมคล้ายผลส้มเป็นไข่จมแบบไม่เกาะติดวัสดุและมีระยะเวลาฟักใกล้เคียงปลาการ์ตูนคือ 7 วัน ดังนี้

- ระยะที่ 1 1 เซลล์ใช้เวลา 3 ชั่วโมงที่ 17 องศาเซลเซียส
- ระยะที่ 2 แบ่ง 2 เซลล์ใช้เวลา 5.5 ชั่วโมงที่ 14 องศาเซลเซียส
- ระยะที่ 3 แบ่ง 4 เซลล์ใช้เวลา 9 ชั่วโมงที่ 14 องศาเซลเซียส
- ระยะที่ 4 แบ่ง 8 เซลล์ใช้เวลา 10.5 ชั่วโมงที่ 14 องศาเซลเซียส
- ระยะที่ 5 แบ่งเป็น 16-32 เซลล์
- ระยะที่ 6 แบ่งเป็น 64-512 เซลล์
- ระยะที่ 7-8 ระยะ early blastula เซลล์มีการจัดเรียงขนาดของเซลล์ให้ใกล้เคียงกัน
- ระยะที่ 9-10 เริ่มเกิด epiboly, และepiboly เคลื่อนปกคลุมลงมาถึงบริเวณที่มีไข่แดง
- ระยะที่ 11-12 เกิด blastoderm กระจายบริเวณ animal pole
- ระยะที่ 13-15 เริ่มเกิด yolk plug จนกระทั่งอุดช่อง blastopore
- ระยะที่ 16-17 เซลล์ที่ม้วนเข้าในช่อง blastopore มีการเลื่อนที่ไปยังตำแหน่งต่างๆ, เห็นปุ่มที่พัฒนาไปเป็นตาชัดเจน
- ระยะที่ 18 เห็นปุ่มที่จะพัฒนาไปเป็นสมองและหาง
- ระยะที่ 19-20 เห็นโครงร่างของตัวอ่อนชัดเจนขึ้น, พบ somite 30-40 อัน.
- ระยะที่ 21-22 โครงร่างตัวอ่อนยังคงเป็นรูปเกือกม้า, ปลายหางยังไม่กางออก, เริ่มมีการสร้างปุ่มของครีบต่างๆขึ้น
- ระยะที่ 23-29 ตัวอ่อนมีการพัฒนาความสมบูรณ์มากขึ้นและพร้อมที่จะฟักเป็นตัว

จากรายงานไม่สามารถบอกช่วงเวลาที่แน่นอนได้ เพียงแต่กำหนดเป็นระยะเท่านั้น โดยตัวอ่อนเริ่มฟักเมื่อเข้าสู่ระยะที่ 28 และ 29

Kimmel *et al.* (1995) ได้ศึกษาพัฒนาการของไข่ปลา Zebrafish โดยแบ่งออกเป็น 7 คาบ (period) 33 ระยะ (stages) และใช้เวลาในการฟัก 72 ชั่วโมง ดังนี้

1. zygote เริ่มตั้งแต่การปฏิสนธิได้ 1 เซลล์
2. cleavage เริ่มตั้งแต่ 2 เซลล์ ถึง 64 เซลล์
3. blastula เริ่มตั้งแต่ 128 เซลล์ ถึงเริ่มเกิด epiboly ได้ 30 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. gastrula เริ่มตั้งแต่เกิด epiboly ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ถึงเริ่มเกิดปุ่มหาง
5. segmentation เริ่มตั้งแต่ 1 somite ถึง 26 somite ในระยะนี้มีการสร้างเนื้อเยื่อชั้นต่างๆและอวัยวะบางส่วน
6. pharyngula เริ่มตั้งแต่การเกิดสีที่ผิวและ retina ถึงการมีอวัยวะภายในครบและบางส่วนของอวัยวะเริ่มทำงานได้
6. hatching ระยะฟักออกจากไข่

การเจริญของลูกปลาวัยอ่อน (larvae) ภายหลังการฟัก

ลูกปลาจะออกจากไข่ต่อเมื่ออวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น หัวใจ เจริญดีแล้ว ขบวนการฟักจะเริ่มจาก hatching gland ลูกปลาสร้างน้ำย่อยออกมาย่อยเปลือกไข่ให้อ่อนตัวลง พร้อมกับแรงกระแทกที่ลูกปลาสะบัดหางก็จะช่วยให้เปลือกไข่แตกออกได้ วิธีการฟักออกจากไข่ของปลาแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน ขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ที่ไข่ปลาแต่ละชนิดสร้างขึ้นมา ลูกปลาที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆจะมีถุงไข่แดงติดท้องมาด้วย เรียกลูกปลาระยะนี้ว่าลูกปลาวัยอ่อนหรือปลาตุ้ม (early larva หรือ sac fry) จากนั้นอวัยวะในระบบต่างๆที่ยังไม่เจริญเต็มที่ก็จะทำหน้าที่ได้เหมือนพ่อแม่ในที่สุด อวัยวะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนคือ ระบบทางเดินอาหาร โดยจะมีการเจริญของท่อทางเดินอาหาร ปากเริ่มเจริญและจะเจริญสมบูรณ์เมื่อปลาเริ่มกินอาหาร ทวารหนักก็จะเปิดติดต่อกับภายนอก ครีบต่างๆเริ่มมีก้านครีบและเคลื่อนไหวได้ ถุงลมเจริญเต็มที่ มีผลให้ลูกปลาระยะหลังว่ายน้ำได้เหมือนพ่อและแม่ นอกจากนี้จุดสีต่างๆก็เจริญไปตามชนิดของปลา ลูกปลาระยะเริ่มกินอาหารเรียกว่า feeding larva หรือ early fry ซึ่งลูกปลาเหล่านี้จะเจริญเป็นปลานิ้ว (fingerling)ต่อไป อย่างไรก็ตามลูกปลาต่างชนิดกันก็มีการเจริญพัฒนาที่ต่างกัน (วิมล,2536; อุทัยรัตน์,2538; วิมล,2540) Russell (1976) กล่าวว่าลักษณะ, ขนาด, องค์ประกอบและลำดับขั้นของการพัฒนาของไข่ปลาและลูกปลาวัยอ่อนสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของปลาได้ การแบ่งระยะการศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนไม่แน่นอนขึ้นกับวิธีการในการศึกษาของแต่ละบุคคล

มีรายงานและการศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนในกลุ่มปลาการ์ตูนภายหลังจากฟัก พบอุ่นจิต (2537) รายงานการพัฒนารูปร่างของปลาการ์ตูนส้มขาว ภายหลังที่ฟักเป็นตัว พบว่า ลูกปลาที่ฟักได้ 12 วันจะมีรูปร่างเหมือนแม่ปลาทุกประการคือครีบต่างๆจะสมบูรณ์และทำหน้าที่ได้ดี เมื่ออายุ 23 วันจะแสดงสีและแถบชัดเจนมากขึ้น Delsman (1930) รายงานว่า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทันทีที่ลูกปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percula* Lacepède (1802) ฟักออกจากไข่ ลูกปลามีความยาว 4 มิลลิเมตร พบถุงไข่แดงและ oil globule ถูกดูดซึมไปไม่หมด ปลายหางมีการเคลื่อนไหว บริเวณลำตัวมี vertebrae 11-15 และจำนวนของ trunk vertebrae สัมพันธ์กับจำนวน trunk myotomes ตำแหน่งของ anus ยังคงอยู่ที่เดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง พบเซลล์สารสีดำแบบกิ่งก้าน (branching black pigment cells) ที่หัว, ด้านข้างของส่วนหางและส่วนของถุงลม บริเวณรอบๆอวัยวะดังกล่าวพบเซลล์สารสีเหลืองแบบจุด (yellow pigment cells spots) ดวงตามีสีเทา หลังจากนั้นจึงเกิดแถบสีส้มและสีขาว โดยเริ่มจากลำตัวส่วน anterior ไปยัง posterior ในปลาการ์ตูน *A. ephippium* และ *Premnas biaculeatus* ก็มีลักษณะของพัฒนาการที่พบคล้ายกับ *A. percula* แตกต่างกันที่ลูกปลา *Premnas biaculeatus* ทันทีที่ฟักมีขนาดเพียง 3.5 มิลลิเมตรเท่านั้นและ *A. ephippium* จะพบแถบสีขาวพาดผ่านลำตัวเมื่ออยู่ในระยะที่เป็นลูกปลาเท่านั้นและหายไปเมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย

Meyer-Pochow (1972) ได้ศึกษาไข่ของปลาจวด *Johnius hololepidotus* ซึ่งเป็นปลาทะเลชนิดหนึ่ง กล่าวว่าเมื่อลูกปลาฟักออกจากไข่พบหยดไขมันในไข่แดงของลูกปลาจะอยู่ใกล้กับรูทวารหนักหรืออยู่ทางด้านท้ายของถุงไข่แดง ในขณะที่ถุงไข่แดงเกิดการหดตัวเนื่องจากไข่แดงถูกใช้ไป หยดไขมันจะเคลื่อนตัวมาอยู่ใต้ตุ่มครีบอกและจะสลายไปเมื่อไข่แดงถูกใช้ไปหมด หลังจากลูกปลาฟักจากไข่ได้ 2 วันไข่แดงจะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วและจะใช้จนหมดเมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน บริเวณลำตัวปลาพบจุดสีกระจายทั่วไป ตาและผิวไข่แดงยังไม่มีสี ลูกปลาจะว่ายน้ำได้ทันทีที่ฟักออกจากไข่ วิมล(2536) กล่าวว่าเมื่อลูกปลาใช้ไข่แดงหมดไปแล้ว, ลูกปลาจะเริ่มหาอาหารกินเอง ระยะนี้พบว่าลูกปลามีอัตราการตายค่อนข้างสูงเนื่องจากขาดแคลนอาหารและหาอาหารได้ไม่เหมาะสมกับลูกปลา ในระยะนี้อวัยวะต่างๆที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีพจะเจริญและพัฒนาจนใช้งานได้ดี

Sunobe and Nakazono (1989) ศึกษาพัฒนาการของปลาทะเลชนิดหนึ่ง Gobiid fish, *Priolepsis naraharac* รายงานว่าทันทีที่ลูกปลาฟักออกจาก capsules พบ 8+17 myomeres ในขณะที่ตัวเต็มวัยพบ 10+16 myomeres ปากเปิดและพบการบีบตัวแบบ peristalsis ของระบบทางเดินอาหาร ลูกปลาวัยอ่อนตอบสนองการเคลื่อนที่เข้าหาแสง พบเซลล์สารสี melanophores ที่ส่วนหลังของลำตัว (dorsal region of the body), ด้านหลังบริเวณช่องท้อง (dorsal part of the abdomen),ลำตัวด้านหน้า(ventral part of the body)และที่ถุงลม เมื่อลูก

190665

ปลาอายุ 1 วันไข่แดงถูกดูดซึมและเมื่อลูกปลาอายุได้ 3 วันจึงให้ลูกหอยนางรมวัยอ่อนเป็นอาหาร

Akagawa et al. (1995) ศึกษาพัฒนาการของปลาทะเล Filefish, *Brachaluteres ulvarum* เป็นปลาทะเลที่ชอบวางไข่ในช่องosculumของฟองน้ำ Calcareous sponge, *Grantessa mitsukurii* พบว่าทันทีที่ลูกปลาฟักออกจากไข่มีความยาวของโนโตคอร์ด (notochord length) 20 myomeres ถุงไข่แดงเป็นรูปไข่และพบ oil globule ขนาดใหญ่เป็นครึ่งหนึ่งอยู่ภายในถุงไข่แดง ไข่แดงจะถูกดูดซึมได้อย่างสมบูรณ์ในเวลา 4-5 วันภายหลังจากฟักทันทีที่ลูกปลาฟักปากและทวารหนักไม่เปิดเนื่องจากท่อทางเดินอาหารยังคดงอและไม่สมบูรณ์และจะสมบูรณ์เมื่อลูกปลาอายุ 3-4 วัน ตำแหน่งของทวารหนักจะอยู่กลางลำตัว พบการเกิดเซลล์สารสี melanophoresครั้งแรกที่ส่วนหัวและช่องท้องเมื่อไข่มีอายุได้เพียง 70 ชั่วโมง เมื่อลูกปลาฟักเซลล์สารสี melanophoresเพิ่มมากขึ้น และกระจายไปที่จงอยปาก(snout), ต้นคอ (nape)และช่องท้อง และจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อลูกปลามีอายุมากขึ้น เมื่อลูกปลามีอายุ 1 วันพบเซลล์สารสี melanophores ที่ดวงตา ลูกปลาอายุ 4 วันพบช่องท้องมีสีดำอย่างสมบูรณ์

Long and Ballard (2001) ศึกษาพัฒนาการของลูกปลา Longnose gar, *Lepisosteus osseus* ภายหลังจากฟักจนกระทั่งถุงไข่แดงถูกดูดซึมไปหมด พบว่า

- ระยะที่ 1 เมื่อลูกปลาฟักออกจากไข่
- ระยะที่ 2 พบถุงไข่แดงขนาดใหญ่และขนาดจะเล็กลงเมื่อใกล้ปลายหาง dorsal fin fold มีลักษณะกร่อนเหมือนถูกกัดบริเวณกลางลำตัว ครีบหูขนาดใหญ่เป็นรูปพระจันทร์เสี้ยวและเป็นปีกยื่นออกมา ช่องเหงือก(operculum)มี 2 แผ่น มีขนาดเท่ากับลูกตา พบ gill filaments 3 อันที่ branchial arch
- ระยะที่ 3 ถุงไข่แดงมีปริมาณลดลงครึ่งหนึ่ง somitesมีรูปร่างเหมือนบั้งหรือก้างปลา (chevron shaped)เห็นได้ชัดเจนที่บริเวณครีบหาง ครีบหูลักษณะเหมือนปีกและมีขนาดกว้างขึ้น ขอบของoperculumด้านนอกยื่นยาวติดกับครีบหู พบช่องจมูก (nasal pit)1ช่องเป็นรูกลมชัดเจนขึ้น ช่องจมูกพบเห็นครั้งแรกก่อนที่เอมบริโอฟักออกเป็นตัวเพียงแต่มีขนาดเล็กมากทำให้มองเห็นไม่ชัดเจนนัก
- ระยะที่ 4 ปริมาณไข่แดงมีขนาดลดลงเหลือเท่ากับขนาดของหัวปลา ครีบท้องเป็นปุ่มนูนเรียบชัดเจนขึ้น nasal pit ที่พบเพียง 1 ช่องมีลักษณะยาวขึ้น จงอยปาก (snout)เริ่มปรากฏขึ้นเป็นแนวยาว ขากรรไกรล่าง(lower jaw)เคลื่อนไหวเป็น

จังหวะ พบฟันที่ขากรรไกรและ operculumเริ่มเปิด ครีบหูเป็นสันหนาขึ้นเพื่อช่วยว่ายน้ำ

- ระยะที่ 5 ไข่แดงมีปริมาณลดลงมากขึ้นและมีขนาดเล็กกว่าส่วนหัวของปลา fin fold ที่อยู่ระหว่างครีบก้นและครีบหางหดสั้นลง ในขณะที่fin foldระหว่างครีบหลังกับครีบหางก็หดสั้นลงและขาดออกจากกันทำให้ครีบหลังแยกออกจากครีบหางได้อย่างสมบูรณ์ พบ finray ซึ่งทำให้ครีบมีความยืดหยุ่นได้ดีในการว่ายน้ำ nasal pit ในระยะนี้จะทำหน้าที่เป็นช่องเปิดสำหรับน้ำเข้าออก incurrent และ excurrent
- ระยะที่ 6 ไม่พบถุงไข่แดง ครีบท้องเป็นรูปพระจันทร์เสี้ยว ส่วนปลายเป็นปีกยื่นออกมา ที่ขากรรไกรพบฟันที่แหลมคมและแข็งแรงขึ้น

การศึกษาในลูกปลา Longnose gar, *Lepisosteus osseus* ไม่ได้บ่งบอกวันเวลาในการเกิดการเปลี่ยนแปลง

Long and Ballard (1976) ศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนในปลา White Sucker,*Catostomus commersoni* ไข่มีลักษณะเป็นไข่กลมและใช้เวลาในการฟักประมาณ 17-19 วัน ดังนี้

- ทันทีที่ลูกปลาวัยอ่อนฟักออกจากไข่
- ลูกปลาอายุ 1-3 วัน พบครีบหูมีลักษณะเป็นแผ่นเหมือนจานมีขนาดใหญ่กว่าเลนส์ตาแต่เล็กกว่าลูกตา และบริเวณขอบของครีบพบเส้นเลือดเวนเริ่มเกิดขึ้น ดวงตามีสีเทาดำ พบเซลล์สี melanophores ที่ลำตัว ปากยังไม่เปิด พบการไหลเวียนของเลือดที่ aortic arches 2-3 คู่ ลูกปลาวัยอ่อนจะบิดตัวไปมาโดยไม่มีการเคลื่อนที่ไปด้านหน้าครีบหางเป็น finray ไม่เป็น lobe ครีบหลังยาวต่อเนื่องจนถึงกลางลำตัว พบเส้นเลือด dorsal aorta และ caudal vein ที่ ventral tailfin
- ลูกปลาอายุ 10 วัน ครีบหูมีการเคลื่อนไหวในลักษณะหมุนควงเป็นวงและมีขนาดใหญ่ ขึ้นเท่ากับลูกตา ปากเริ่มเปิดและขากรรไกรเคลื่อนที่เป็นจังหวะ พบการไหลเวียนของเลือดที่ aortic arches เพิ่มขึ้นเป็น 5-7 คู่และมีการไหลเวียนไปยัง pharyngeal segment พบ first gill arch เกิดขึ้นแต่ไม่พบการหมุนเวียนของเลือด ไม่พบ capillaries ที่ตับแต่พบน้ำดีสีส้มที่ถุงน้ำดี พบเซลล์สารสี melanophores มีจำนวนเพิ่มขึ้นที่ส่วนหัวและเกิดเป็นแนวยาว 3 แนวจากลำตัวไปถึงส่วนหาง
- ลูกปลาอายุ 14 วัน ครีบหูมีขนาดใหญ่กว่าดวงตาและเคลื่อนไหวเป็นจังหวะมากขึ้นแต่ ยังคงไม่มีทิศทางที่แน่นอน ขากรรไกรและ hyobranchial มีการเคลื่อนไหวเป็น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จังหวะการว่ายน้ำดีขึ้นแต่มักจะพักหยุดนิ่งที่พื้นขอบตู้ operculumขยายคลุมส่วน first branchial arches พบ aortic arches ทั้ง 6 คู่, gill filaments และ branchial arches ทำงานเป็นระบบมากขึ้น ที่ตับพบเม็ดเลือดที่มาจาก vitelline veinsกระจายอยู่ทั่วไป ตับ, ถุงลมและ anus มีขนาดใหญ่ขึ้นจึงทำให้ถุงไข่แดงมีขนาดเล็กลง พบเซลล์สารสีมี จำนวนเพิ่มขึ้นมองเห็นเป็น 4 แถวตามลำตัว ได้แก่แถวที่หนึ่งบนกล้ามเนื้อลำตัวใกล้กับ แนวครีบหลัง แถวที่สองที่ตำแหน่ง nasal pit ยาวถึงปลายหาง แถวที่สามเหนือส่วนของลำไส้และถุงลม แถวที่สี่บริเวณขอบถุงไข่แดงด้าน ventral และบริเวณ pericadium

- ลูกปลาอายุ 21 วัน พบเซลล์สารสีตามลำตัวมากขึ้น ครีบหลังถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วนชัดเจนขึ้น ด้าน anterior เป็น dermal finrays และด้าน posterior เป็น bony ray ถุงลม ถูกแบ่งเป็น 2 ส่วนคือด้าน anterior และ posterior

Eda et al. (1994a) ศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนในปลา Dragonets 2 ชนิดคือ *Repomucenus richardsonii* และ *R. valenciennei* และได้แบ่งพัฒนาการของ *R. richardsonii* ออกเป็นระยะต่างๆดังนี้

- ทันทีที่ลูกปลาฟักออกจากไข่(newly hatched prolarvae)มีความยาวทั้งหมด (total length) 1.17± 0.04 มิลลิเมตร และ notochord length 1.13±0.04 มิลลิเมตร ถุงไข่แดงเป็นรูปไข่ขนาดใหญ่ พบทวารหนักอยู่ถัดจากถุงไข่แดงไปทางด้าน posterior พบ 8-9+11-12 myomeres ไม่พบปากและไม่พบเซลล์สารสีที่ตา พบเซลล์สารสี melanophores ที่หัวและหางต่อจากโนโตคอร์ด พบเซลล์สารสี xanthophores บริเวณลำตัวและบางส่วนของถุงไข่แดงด้าน ventral หน้าทวารหนัก
- เมื่อลูกปลาวัยอ่อนอายุ 1 วัน(one day old prolarva) มี total length 1.97 มิลลิเมตรและ notochord length 1.85 มิลลิเมตร พบปุ่มของครีบหูเกิดขึ้นและพบ spinous finflods ที่ครีบบริเวณส่วน dorsal และส่วน ventral พบเซลล์สารสี melanophoresเป็นรูปดาวบริเวณลำตัว,หางและจะเข้มขึ้นบริเวณขอบของปลายหางทั้งส่วนdorsalและส่วนventral และยังพบที่ระบบทางเดินอาหาร, หัวและโนโตคอร์ดร่วมด้วย
- เมื่อลูกปลาวัยอ่อนอายุ 3 วัน(three day old prolarva) มี total length 2.11 มิลลิเมตรและ notochord length 1.99 มิลลิเมตร ปากเปิดและดวงตามีเซลล์สีจำนวนมาก ระบบทางเดินอาหารคดงอค่อนข้างซับซ้อน ไข่แดงยังเหลืออยู่ กลไก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ของการเกิด spinous finfoldsเริ่มเห็นเป็นรูปร่างมากขึ้นและมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ถุงลมมีขนาดใหญ่ขึ้น เซลล์สารสี melanophores มีจำนวนมากขึ้นและเรียงตัวเป็นแถวที่ ventral edgeของลำตัวและปลายหาง พบเซลล์สารสีชนิดนี้ที่ขากรรไกรล่างและmid dorsalและmid ventralของหาง

- เมื่อลูกปลาวัยอ่อนอายุ 6 วัน(six day old postlarva) มี total length 2.23 มิลลิเมตรและ notochord length 2.10 มิลลิเมตร แถบเซลล์สารสี melanophores เป็นแนวยาวขึ้นที่ lateral mid line ในระยะนี้melanophoresที่กระจายอยู่ทั่วไปบริเวณหัวหาย รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้นที่ส่วนบนสุดของหัวเท่านั้น
- ลูกปลาวัยอ่อน (postlarva) มี total length 2.87 มิลลิเมตรและ notochord length 2.73 มิลลิเมตร ระยะนี้พบปุ่มของครีบท้องและolfactory lobe เซลล์สารสี melanophoresมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นที่บริเวณลำตัว,ส่วนบนสุดของหัวและposterior halfของลำตัวและanterior halfของส่วนหาง ในระยะนี้แถบของเซลล์สารสี melanophoresพบเป็นแถบยาวมากขึ้นที่ lateral mid line และventral adgesของลำตัวและหาง และเริ่มพบเซลล์สารสีดังกล่าวที่ครีบหูและด้านข้างของหัว
- ลูกปลาวัยอ่อน (postlarva) มี total length 3.70 มิลลิเมตรและ notochord length 3.56 มิลลิเมตร เริ่มพบcaudal fin rays พบเซลล์สารสี melanophores 2-3 เซลล์ที่ branchiostegal membrane
- ลูกปลาวัยอ่อน (postlarva) มี total length 4.32 มิลลิเมตรและ notochord length 4.15 มิลลิเมตร โนโตคอร์ดเริ่มคด(flex) พบ1-2 spines dorsal fin, ครีบก้น, ครีบหูเริ่มเกิดขึ้น พบรอยเว้าของopercleที่upper cornor และพบเซลล์สารสี melanophores ขนาดเล็กๆที่ช่องท้อง
- ระยะจูวิไนล์ มี total length 5.6 มิลลิเมตรและ standard length 4.5 มิลลิเมตร พบครีบทุกชนิด ส่วนหัวมีขนาดเล็กลง ดวงตามีการเคลื่อนไหว
- ระยะจูวิไนล์ มี total length 6.3 มิลลิเมตรและ standard length 5.2 มิลลิเมตร พบรอยเว้าของopercleที่upper cornor ชัดเจนขึ้น พบpreopercular projection นูนออกมา พบเซลล์สารสี melanophores ขนาดเล็กมากมีจำนวนเพิ่มขึ้นและกระจายทั่วไปตามลำตัว แต่ลดความเข้มของสารสีลงที่ตำแหน่ง ventral sideและช่องท้อง เริ่มพบเซลล์สารสีชนิดนี้ที่ครีบท้อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- ระยะจูวิไนล์ มี total length 11.2 มิลลิเมตรและ standard length 9.0 มิลลิเมตร หัวมีขนาดเล็กลงและดวงตาเริ่มโปนออก ช่องเหงือกที่เปิดอ้าเริ่มปิดได้ พบdorso-cephalic lateral lines ในระยะนี้กล่าวได้ว่าปลามีรูปร่างที่สมบูรณ์ เซลล์สารสี melanophoresขยายไปที่ventral sideเพื่อไปสร้างเป็นvertical bands และที่ 1st และ2ndของครีบหลังและครีบหาง เซลล์สารสี melanophoresที่บริเวณช่องท้องหายไปในระยะนี้
- ระยะจูวิไนล์ มี total length 15.8 มิลลิเมตรและ standard length 12.9 มิลลิเมตร ช่องเหงือกปิดได้อย่างสมบูรณ์ ด้านบนของ preopercular projection พบspines 5 อัน พบเซลล์สารสี melanophoresที่ครีบท้องมากขึ้น

การศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนในปลา Dragonets ทั้ง 2 ชนิด *R. richardsonii* และ *R. valenciennei* ในขณะเดียวกัน Eda et al. (1994b) ก็ได้ศึกษาปลา Dragonets เพิ่มอีก 1 สปีชีส์คือ *R. beniteguri* และได้แบ่งระยะต่างๆของการศึกษาเหมือนกัน พบว่ามีการพัฒนาการของอวัยวะต่างๆ, ครีบและเซลล์สารสีตามลำตัวเหมือนกัน แตกต่างกันที่ total length, notochord length และ standard length โดยพบว่า *R. beniteguri* มีความยาวมากที่สุด *R. valenciennei* และ*R. Richardsonii* มีความยาวรองลงมาตามลำดับ

Wamatsu (1994) ศึกษาพัฒนาการของปลา Medaka, *Oryzias latipes* และแบ่งระยะการศึกษาภายหลังจากฟักดังนี้

- ระยะที่1 fry stage เริ่มจากทันทีที่ฟักจนถึงพบfin raysที่ ครีบหางและครีบหู
- ระยะที่2 fry stage มีการเชื่อมของfin rays ที่ pectoralfins และพบfin rays ที่ครีบหลังและครีบก้น
- ระยะที่3 fry stage เกิดventral fin raysและพบเกล็ด(scales)ที่ครีบหลังและครีบก้น
- ระยะที่1 young fry stage เป็นระยะที่เริ่มพบ secondary sexual characteristics
- ระยะที่1 young fry stage ระยะตัวเต็มวัย ปลาวางไข่ได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Morrison et al. (2001) ศึกษาพัฒนาการในปลา *Oreochromis niloticus* และได้แบ่งระยะต่างๆดังนี้

- Hatching period ลูกปลามีอายุ 100 ชั่วโมงหรือประมาณ 5 วัน เป็นระยะที่ลูกปลาเริ่มฟัก พบกลุ่มของเซลล์สารสีที่ลำตัวด้านposteriorถึงโคนครีบหูที่สัมผัสกับถุงไข่แดงและพบจุดสี 2 จุดที่ผิวด้านหลังของตัวอ่อน
- Early larval period ลูกปลามีอายุ 124 ชั่วโมงหรือประมาณ 6 วัน มีความยาว 4.8±0.3 มิลลิเมตร เป็นระยะที่ตัวอ่อนมีการฟักมากที่สุด พบถุงไข่แดงขนาดใหญ่ มีเซลล์สารสี melanophore เพียงเล็กน้อยที่ dorsalและventral fin foldและบริเวณผิวด้านหลังส่วนหัว
- ลูกปลามีอายุ 147-148 ชั่วโมงหรือประมาณ 7 วัน มีความยาว 5.4±0.7 มิลลิเมตร พบส่วนของครีบหูหมุนได้ ที่ dorsalและventral fin fold และบริเวณผิวด้านหลังส่วนหัวพบเซลล์สารสี melanophoreเพิ่มขึ้น พบmyotomesเป็นรูปV-shaped แทรกเข้าไปใน dorsalและventral bundles ของ myoseptum ในระยะนี้ปากของลูกปลาเปิดออกและขากรรไกรมีการเคลื่อนไหว ถุงไข่แดงยังคงมีขนาดใหญ่ ที่บริเวณหางด้านventral พบ hypural cartilages 4 อัน
- ลูกปลามีอายุ 169-172 ชั่วโมงหรือประมาณ 8 วัน มีความยาว 6.3±0.7 มิลลิเมตร เซลล์สารสี melanophoreที่บริเวณผิวด้านหลังส่วนหัวมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ถุงไข่แดงเริ่มมีขนาดเล็กลง เริ่มพบกระดูกอ่อนที่บริเวณหัวและพบกระดูกแข็งรอบๆโนโตคอร์ดซึ่งจะมีการพัฒนาไปเป็นกระดูกcentra และที่บริเวณหางนอกจากจะพบ hypural cartilages 4 อัน ยังพบกระดูกอ่อนที่humel arches จำนวน 2 อันที่ช่วยยึดจับ fin rays ของครีบหางและพบกระดูกอ่อนhumer arches ซึ่งแทรกระหว่าง myotomes เป็นรูป S-shaped อีกด้วย พบการเกิดของกระดูกอ่อนโดยการย้อมสี alcian blue
- ลูกปลามีอายุ 193-196 ชั่วโมงหรือประมาณ 9 วัน มีความยาว 7.03±0.6 มิลลิเมตร พบ เซลล์สารสี melanophoreเป็นแนวยาวที่บริเวณผิวลำตัวด้าน dorsal ของลูกปลาวัยอ่อน และพบ melanophore เพียงเล็กน้อยที่ด้านข้างของลำตัวและที่ ventral fin flod ส่วนของmyotomesมีลักษณะเป็นshaped มีการสร้างส่วนของครีบหลังและครีบก้นชัดเจนขึ้น เริ่มพบกระดูกแข็งรอบๆneural, hemel arch และส่วนของspines ในระยะนี้พบกระดูกแข็งที่ premaxillary ชัดเจนขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิมล (2536) กล่าวว่าลูกปลาวัยอ่อนจะมีเซลล์เม็ดสีเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดของลูกปลา เซลล์เม็ดสีมีหลายชนิดเช่นสีดำหรือสีน้ำตาล เรียกว่า melanophore เป็นสีที่มีความสำคัญและพบเห็นมากที่สุด สีเหลืองเรียกว่า xanthophore สีแดงเรียกว่า erythrophore นอกจากนี้อาจพบสีเงินเรียกว่า iridophore บ้างเล็กน้อย ในระยะที่เป็นลูกปลา จุดสีต่างๆเหล่านี้จะอยู่ในตำแหน่งที่แน่นอนและเด่นชัด ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการใช้จำแนกชนิดของลูกปลา Russell (1976) กล่าวว่าเซลล์เม็ดสีในสัตว์มีกระดูกสันหลังมีจุดกำเนิดมาจาก neural crestของตัวอ่อนและผิวหนังส่วนectodermal.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

วิธีการ

1. การศึกษาการเพาะเลี้ยงและการอนุบาลลูกปลาการ์ตูนอานม้า

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าเมื่อฟักออกจากไข่ จะต้องทำการแยกพ่อแม่ออกทันที เพื่อป้องกันไม่ให้แม่ปลากินลูกปลา อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงลูกปลาวัยอ่อน ในช่วงแรกจะใช้อาหารที่มีชีวิต ได้แก่ โรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย เมื่อลูกปลามีขนาดใหญ่ขึ้นจะปรับเปลี่ยนจากอาหารที่มีชีวิตไปเป็นอาหารที่ไม่มีชีวิตได้แก่เนื้อหอยลายสับ การเปลี่ยนอาหารจะพิจารณาจากขนาดของปากลูกปลาเป็นหลัก ใน 1 วันให้อาหาร 2 ครั้ง คือเช้าและเย็น และต้องกำจัดเศษอาหารที่เหลือในตู้เลี้ยงทุกครั้ง ลูกปลาตั้งแต่ฟักจนกระทั่งมีอายุ 2 เดือนจะเลี้ยงในระบบเปิด คือต้องมีการเปลี่ยนน้ำในตู้เลี้ยง 10-25 เปอร์เซ็นต์ทุกวันขึ้นกับความหนาแน่นและขนาดของลูกปลา สำหรับลูกปลาที่มีอายุตั้งแต่ 2 เดือนขึ้นไปจะเลี้ยงในระบบปิด ที่มีการหมุนเวียนน้ำผ่านระบบกรองภายในตู้ โดยเปลี่ยนน้ำทุกเดือนและเปลี่ยนทั้งระบบพร้อมทั้งทำความสะอาดระบบกรองทุกครั้ง

2. การศึกษาโดยการทำ whole mount

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาคือ ไข่ปลาการ์ตูนอานม้าภายหลังจากปฏิสนธิจนกระทั่งฟักออกเป็นลูกปลาวัยอ่อน เก็บตัวอย่างทุกระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและลูกปลาวัยอ่อน อายุตั้งแต่ 1-30 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกวัน

2.2 วิธีการ นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษาทำให้คงสภาพในน้ำยาคงสภาพ 10% neutral buffered formalin solution ระยะเวลาที่ใช้ขึ้นกับขนาดของตัวอย่าง

2.3 จากนั้นล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง และนำไปผ่านขบวนการขจัดน้ำออกจากตัวอย่าง (dehydration) และทำให้ตัวอย่างใส (clearing)

2.4 นำไปย้อมสีด้วยสี Semichon's acetonecarmine (Conn, 1991) และนำไปวางบนสไลด์หลุม ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

2.5 ศึกษาลักษณะรูปร่างภายนอกด้วยกล้องสเตอรีโอและกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา วิเคราะห์ผล ถ่ายภาพและวาดรูปลายเส้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกระดูกโดยวิธีการดองใส (อุทัยวรรณ 2536 ; Taylor, 1976)

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาคือ ลูกปลาการ์ตูนอานม้าวัยอ่อนตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนกระทั่งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของกระดูกจากกระดูกอ่อนเป็นกระดูกแข็งจนสมบูรณ์

3.2 วิธีการ นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษาทำให้คงสภาพในน้ำยาคงสภาพ 10% neutral buffered formalin solution ระยะเวลาที่ใช้ขึ้นกับขนาดของตัวอย่าง

3.3 ล้างตัวอย่างด้วยน้ำประปาหลายๆครั้ง แล้วนำไปฟอกสีให้ขาวและย่อยกล้ามเนื้อออกด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% 9 ส่วนต่อโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 2 % 1 ส่วน จนกระทั่งตัวอย่างขาวใสเห็นกระดูกสันหลังชัดเจน

3.4 นำไปย้อมสีกระดูกอ่อน ด้วย alcian blue และย้อมสีกระดูกแข็งด้วย alizarin red s ไม่กำหนดเวลาที่แน่นอนขึ้นกับชนิดและขนาดของตัวอย่าง สังเกตจากสีของกระดูกสันหลัง

3.5 จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในกลีเซอรีนเพื่อให้ตัวใส โดยกลีเซอรีนจะเข้าไปแทนที่กล้ามเนื้อที่ถูกย่อยสลายไป ในขั้นตอนนี้ แช่ในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.5% ต่อกลีเซอรีน ในอัตราส่วน 3:1 1:1 1:3 และกลีเซอรีนบริสุทธิ์ นานครั้งละ 1-2 วัน จนตัวอย่างใส

3.6 นำเก็บในขวดตัวอย่างโดยแช่ในกลีเซอรีนบริสุทธิ์ ใส่ thymal 1-2 เกล็ดเพื่อป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย

3.7 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกระดูกด้วยกล้องสเตอรีโอและกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา วิเคราะห์ผล ถ่ายภาพ

การวางแผนงานวิจัย

1. ศึกษาพัฒนาการของไข่ปลาตั้งแต่เริ่มวางไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว นำพ่อแม่ปลาการ์ตูนอานม้าจากธรรมชาติที่พบว่าเป็นตัวเต็มวัย มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการการเพาะเลี้ยง โดยจัดสิ่งแวดล้อมให้เหมือนกับธรรมชาติให้มากที่สุด ทำการเลี้ยงเพื่อให้แม่ปลาปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่และให้อาหารเสริม เช่น ไข่แดง น้ำมันตับปลา เพื่อให้แม่ปลาวางไข่ในห้องปฏิบัติการให้ได้ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างไข่ปลาตั้งแต่แม่ปลาเริ่มวางไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว โดยนำไข่ปลาที่ได้ไปทำการศึกษาพัฒนาการในการเจริญเติบโต เฝ้าติดตามการแบ่งเซลล์และการสร้างอวัยวะต่างๆจนกระทั่งฟักออกเป็นตัว โดยวิธีทำ whole mount และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ศึกษาลูกปลาวัยอ่อนตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนกระทั่งครบ 30 วันซึ่งลูกปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอกเหมือนกับพ่อแม่ ทำการเก็บตัวอย่างลูกปลาภายหลังที่ฟักออกเป็นตัวทันที ในช่วงสัปดาห์แรกเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บทุกๆ 24 ชั่วโมงจนครบ 30 วัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนกระทั่งมีรูปร่างภายนอกเหมือนกับพ่อแม่ ใช้วิธีการทำ whole mount การทำดองใส และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

สถานที่และระยะเวลาในการทำวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงและอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน ห้องปฏิบัติการทางมิญชวิทนาและสรีรวิทยา สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

ห้องปฏิบัติการทางมิญชเคมี ภาควิชาสัตววิทยาและศูนย์ปฏิบัติการวิจัยกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ตั้งแต่ เดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ถึง เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2547

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ผลและวิจารณ์

ผลการสำรวจการแพร่กระจายของปลาการ์ตูนอานม้าหรือปลาการ์ตูนดำแดงหลังอาน Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758) และเก็บตัวอย่างปลาการ์ตูนอานม้าบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก พบว่าบริเวณหมู่เกาะแสมสารจังหวัดชลบุรี หมู่เกาะมันและเกาะทะลุจังหวัดระยอง เกาะง่าม เกาะหมากจังหวัดตราดมีปลาการ์ตูนอานม้าอาศัยอเป็นจำนวนมากยู่ ลักษณะโดยทั่วไปของปลาการ์ตูนอานม้าที่พบในประเทศไทย ลำตัวมีสีน้ำตาลอมดำหรือดำ ส่วนหัว อกและครีบอกมีสีส้มอมเหลือง มีแถบขาว 2 แถบ แถบแรกพาดบนบริเวณส่วนหัวหลังดวงตา อีกแถบพาดบริเวณส่วนหลังของลำตัวเป็นแถบโค้งพาดเฉียงขึ้นไปถึงครีบหลัง ครีบหางมีสีดำและตัดขอบด้วยสีขาว ส่วนที่เป็นแถบสีดำจะเรียวเล็กลงไปจนถึงขอบของปลายหาง (Allen,1980; Allen,1991) ลักษณะของสีบริเวณลำตัวสามารถปรับให้เข้มหรือจางได้จากสิ่งแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ ปลาการ์ตูนอานม้าชอบอาศัยอยู่ตามพื้นทรายใกล้ๆแนวปะการัง และอาศัยร่วมกับดอกไม้ทะเล 2 ชนิดคือ *Heteractis crispa* Ehrenberg (1834) เป็นดอกไม้ทะเลที่ฝังตัวอยู่ตามพื้นทรายมีสีม่วงหรือสีน้ำตาล หนวดยาวมาก และดอกไม้ทะเล *Stichodactyla haddon* Saville-kent (1893) สีน้ำตาล หนวดสั้น (Robert, n.d.) ปลาการ์ตูนอานม้าอาศัยในระดับความลึก 2-30 เมตรหรือ 6.6-100ฟุต อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส พ่อแม่ปลาที่ได้จากธรรมชาติตัวเต็มวัยมีขนาดโดยเฉลี่ย 10 เซนติเมตรขึ้นไป ปลาการ์ตูนอานม้าชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูง เมื่อพร้อมที่จะสืบพันธุ์จึงเริ่มแยกตัวออกจากกลุ่มจับคู่สร้างอาณาเขตและสร้างรังใหม่ต่อไป

พฤติกรรมในการสืบพันธุ์และวางไข่ของปลาการ์ตูนอานม้า

การศึกษาพัฒนาการของเอมบริโอในปลาการ์ตูนอานม้า จำเป็นต้องติดตามพฤติกรรมร่วมกับการวางไข่ด้วยเพื่อให้ได้ตัวอย่างของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิทันที จากการศึกษาการวางไข่ของปลาการ์ตูนอานม้าในห้องปฏิบัติการ พบว่าเมื่อแม่ปลาพร้อมวางไข่ บริเวณท้องจะเป่งนูนใหญ่กว่าปกติและมี urogenital papilla รูปกรวยสีแดงจางๆยื่นออกจากช่องเพศยาว 4-5 มิลลิเมตร ส่วนในปลาเพศผู้จะมี urogenital duct สีขาวขนาดเล็กยื่นออกจากช่องเพศยาว 2 มิลลิเมตร ขณะวางไข่ตัวเมียจะว่ายชิดกับวัสดุที่จะวางไข่เพื่อให้ urogenital papilla สัมผัสกับวัสดุวางไข่ เมื่อไข่ถูกปล่อยออกมาขั้วด้านล่างของไข่จะมีเยื่อเหนียวใส (stalk) ยึดติดกับวัสดุอย่างเหนียวแน่นทันที เมื่อตัวเมียปล่อยไข่ได้จำนวนหนึ่ง ตัวผู้ซึ่งว่ายตามติดตัวเมีย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตลอดเวลาก็จะปล่อยน้ำเชื้อผสมทันที ทำเช่นนี้สลับไปมาจนกระทั่งสิ้นสุดการวางไข่ ในการวางไข่ใช้เวลาประมาณ 40-120 นาที จำนวนไข่ที่วางประมาณ 400-1,800 ฟองขึ้นอยู่กับอายุ ขนาดและความสมบูรณ์ของพ่อและแม่ปลา ปลาการ์ตูนอานม้าวางไข่ในช่วงเวลา 13.00-17.00 นาฬิกา และใช้เวลา 6-7 วันจึงฟักออกมา ไข่ปลาฟักในช่วงเวลา 19.00-21.00 นาฬิกา เสมอ ปลาการ์ตูนอานม้าวางไข่สม่ำเสมอตลอดทั้งปีถ้าหากไม่มีสิ่งเร้าภายนอกรบกวนหรือทำให้เกิดความเครียด พ่อปลาและแม่ปลามีพฤติกรรมในการเฝ้าดูแลเอมบริโอจนกระทั่งฟัก Allen (1980) ศึกษาปลาการ์ตูนหลายชนิดและรายงานว่าปลาการ์ตูนตัวผู้มีพฤติกรรมในการเฝ้าดูแลเอมบริโอมากกว่าตัวเมีย ช่วงของการวางไข่อยู่ระหว่าง 14-21 วัน ใน 1 ปีวางไข่ประมาณ 20-24 ครั้ง พฤติกรรมเหล่านี้ของปลาการ์ตูนอานม้าคล้ายกับที่พบในปลาการ์ตูนส้มขาว (อุ่นจิต,2537), ปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percular* Lacepéde (1802) (Delsman,1930), ปลาการ์ตูน Red and Black Anemonefish, *A. melanopus* Bleeker (1852) (Ross,1978), และปลาการ์ตูนชนิดอื่นๆ (Allen,1980)

ลักษณะของไข่ปลาการ์ตูนอานม้า

ไข่ปลาการ์ตูนอานม้าเป็นไข่ประเภทไข่จมติดกับวัสดุที่ใช้วางไข่ (adhesive egg) รูปร่างรีปลายมนทั้งสองข้าง มีแคปซูลใสหุ้ม ขั้วด้านหนึ่งของแคปซูลมีเยื่อเหนียวใสใช้ยึดติดกับวัสดุ ไข่มีขนาดความยาวประมาณ 2.1 มิลลิเมตร กว้าง 0.9 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1) ไข่ที่วางใหม่ๆมีสีส้มอ่อนและสีเข้มขึ้นเมื่ออายุของไข่มากขึ้น ขนาดของไข่ปลาการ์ตูนอานม้าใกล้เคียงกับปลาการ์ตูนชนิดอื่น เช่นปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percular* Lacepéde (1802) ซึ่งไข่มีขนาดความยาว 2.2 มิลลิเมตร กว้าง 0.9 มิลลิเมตร (Delsman,1930) ไข่ปลาการ์ตูน *A. chrysopterus.* Cuvier (1830) มีขนาดความยาว 2.4 มิลลิเมตรและกว้าง 0.9 มิลลิเมตร (Allen, 1972) ในปลาการ์ตูนส้มขาว *A. ocellaris* Cuvier (1830) ไข่มีขนาดความยาว 2.34 มิลลิเมตร กว้าง 1 มิลลิเมตร (อุ่นจิต, 2537) Sunobe and Nakazono (1989) ศึกษาปลา Gobiid fish, *Priolepsis naraharae* ซึ่งเป็นปลาทะเลที่อาศัยในแนวปะการังอีกชนิดหนึ่งที่เป็นประเภทไข่จมติดกับวัสดุที่ใช้วางไข่เหมือนกับไข่ปลาการ์ตูน แต่มีขนาดเล็กกว่า พบว่าไข่ของปลา Gobiid fish มีความยาวเพียง 0.92 มิลลิเมตร กว้าง 0.46 มิลลิเมตร ใช้เวลาในการฟักเพียง 98 ชั่วโมงเท่านั้น และพบไข่เกาะติดกับเพดานโพรงหินหรือปะการัง ในที่ลับตาโดยมีพ่อปลาเฝ้าดูแลไข่ตลอดเวลา Purkett (1961) รายงานว่าไข่ปลา Paddlefish, *Polyodon spathula* (Walbaum) ซึ่งเป็นไข่ติดที่มีลักษณะกลม ภายหลังการปฏิสนธิมีการสร้างเมือกเหนียวห่อหุ้มไข่และเกาะติดกับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ก้อนกรวดหรือก้อนหิน สารเหนียวที่ใช้หุ้มไข่นั้นมีความเหนียวมากทำให้ไม่สามารถเคลื่อนย้ายไข่หรือขูดไข่ออกจากบริเวณนั้นได้ เพราะจะทำให้ไข่แตกได้ง่าย

พัฒนาการของเอมบริโอ

ลำดับขั้นในพัฒนาการของไข่ปลาการ์ตูนอานม้ามีลักษณะคล้ายคลึงกับปลาชนิดอื่นๆ แต่ระยะเวลาในการพัฒนาการของระยะต่างๆจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของปลา อุณหภูมิ ความเข้มแสง ปลาบางชนิดใช้เวลาตั้งแต่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจนกระทั่งฟักเพียง 11 ชั่วโมง เช่น ปลา*Callionymus calliste* (Takita, 1983) บางชนิดใช้เวลาถึง 19 วัน เช่นปลา *Catostomus commersoni* (Long and Ballard, 1976) แม้แต่ปลาชนิดเดียวกันพัฒนาการที่เกิดขึ้นก็อาจไม่พร้อมกัน จึงไม่สามารถเปรียบเทียบได้อย่างชัดเจน

พัฒนาการของไข่ปลาการ์ตูนอานม้าที่ศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 26 ระยะดังนี้

1. ระยะ 1 เซลล์ ที่ 0 ชั่วโมง (ภาพที่ 1) เริ่มปฏิสนธิ (just fertilization egg or zygote) ในระยะนี้ยังไม่มีการแบ่งเซลล์ ขั้วไข่ด้านล่างที่มีเยื่อเหนียวยึดติดกับวัสดุที่วางไข่คือด้าน animal pole (ปลายลูกศรชี้) ซึ่งเป็นด้านที่จะมีการแบ่งเซลล์และมีลักษณะเป็นรูปครึ่งวงกลม ไซโทพลาซึมของไข่ที่เริ่มปฏิสนธิจะใส ด้าน vegetal poleพบไข่แดงจำนวนมากและพบหยดไขมัน (oil globule) หลายขนาดกระจายทั่วไปในไข่แดง แต่ไข่ของปลา Medaka, *Oryzian latipes* ที่ยังไม่ปฏิสนธิพบหยดไขมันกระจายบริเวณขอบไซโทพลาซึม และเมื่อไข่ได้รับการปฏิสนธิและมีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้น หยดไขมันที่พบเป็นจำนวนมากมีการเชื่อมต่อกันทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นและเคลื่อนที่มาด้าน vegetal pole มากขึ้น (Iwamatsu, 1994)

2. ระยะ 2 เซลล์ ที่ 1 ชั่วโมง (ภาพที่ 2) ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิมีการแบ่งตัวแบบไมโทซิสครั้งที่ 1 เป็นการแบ่งแบบ meroblastic เนื่องจากไข่ปลามีไข่แดงมาก (polylecithal egg) จึงมีการแบ่งเซลล์เฉพาะด้าน animal pole เท่านั้น ในระยะนี้ได้ 2 เซลล์รูปครึ่งวงกลมขนาดเท่ากัน (ปลายลูกศรชี้) แต่ละเซลล์เรียกว่า blastomere ซึ่งมีขนาดเล็กลงเป็นครึ่งหนึ่งของระยะ 1 เซลล์ เซลล์มีไซโทพลาซึมใส ส่วนของไข่แดงยังคงพบหยดไขมันจำนวนมากกระจายอยู่และบางส่วนเคลื่อนที่ไปอยู่ด้าน vegetal pole จากการศึกษาของ Long and Ballard (2001) ในปลา Longnose gar, *Lepisosteus osseus* และ Kimmel et al.(1995) ในปลา Zebrafish, *Danio* (*Brachydanio*) *rerio* พบว่ามีรอยย่นจำนวนมากบริเวณที่มีการแบ่งเซลล์ เพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวให้กับเซลล์ในการแบ่งครั้งต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. ระยะ 4 เซลล์ ที่ 1 ชั่วโมง 40 นาที (ภาพที่ 3) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 2 โดยแบ่งในแนวตั้งฉากกับการแบ่งครั้งแรก ทำให้ได้ blastomeres 4 เซลล์ขนาดเท่ากันและขนาดของเซลล์เล็กลงเป็นครึ่งหนึ่งของระยะ 2 เซลล์ ยังคงพบหยดไขมันขนาดเล็กกระจายอยู่ในส่วนของไข่แดง แต่ในปลา Medaka, *Oryzian latipes* พบหยดไขมันขนาดต่างๆกัน ขนาดเล็กมักพบกระจายทั่วไปส่วนขนาดใหญ่พบบริเวณ vegetal pole เท่านั้น (Iwamatsu, 1994)

4. ระยะ 8 เซลล์ ที่ 2 ชั่วโมง (ภาพที่ 4) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 3 ตามยาว ทำให้ได้ blastomeres 8 เซลล์ขนาดเท่าๆกัน Yamamota (1975) พบว่าการแบ่งเซลล์จาก 4 เซลล์เป็น 8 เซลล์ของปลา Medaka จะแบ่ง 2 ครั้งในลักษณะขนานกับการแบ่งครั้งแรก ทำให้เซลล์ที่ได้มีรูปร่างยาว

5. ระยะ 16 เซลล์ ที่ 4 ชั่วโมง (ภาพที่ 5) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 4 ตามยาว ได้ blastomeres เพิ่มเป็น 16 เซลล์ขนาดเท่าๆกัน Yamamota (1975) รายงานว่าการแบ่งเซลล์ในระยะนี้มีการแบ่งเซลล์พร้อมกัน 2 ครั้งโดยแบ่งในแนวตั้งฉากกับการแบ่งครั้งที่ 3 ทำให้เซลล์ที่ได้เป็นรูปลูกบาศก์มากขึ้น

6. ระยะ 32 เซลล์ ที่ 4 ชั่วโมง 30 นาที (ภาพที่ 6) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 5 ทำให้ได้ blastomeres เพิ่มเป็น 32 เซลล์ขนาดเท่าๆกันและเห็นเซลล์เรียงซ้อนกัน Iwamatsu (1994), Yamamota (1975) พบว่าการแบ่งจาก 16 เซลล์เป็น 32 เซลล์จะแบ่ง 2 ครั้งต่อเนื่องกัน โดยครั้งที่ 1 จะมีการแบ่งของเซลล์ที่อยู่รอบนอก 12 เซลล์ก่อนจึงแบ่งครั้งที่ 2 ที่ 4 เซลล์ด้านในต่อเนื่องกัน เซลล์ที่ได้จะมีการจัดเรียงตัวเป็นเนื้อเยื่อ 2 ชั้น

7. ระยะ 64 เซลล์ ที่ 5 ชั่วโมง (ภาพที่ 7) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 6 ทำให้ได้ blastomeres เพิ่มเป็น 64 เซลล์ขนาดเท่าๆกัน เมื่อเซลล์มีจำนวนมากขึ้น กลุ่มเซลล์ที่แบ่งก็แผ่ขยายออกด้านข้างมากขึ้น ทำให้มองเห็นมีลักษณะเหมือนจาน จึงเรียกกลุ่มเซลล์เหล่านี้ว่า blastoderm หรือ blastodisc (ปลายลูกศรชี้) ในปลา Medaka, *Oryzian latipes* เซลล์ที่พบมีการจัดเรียงตัวเป็นเนื้อเยื่อ 3-4 ชั้น (Iwamatsu, 1994)

8. ระยะ 128 เซลล์ ที่ 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 8) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 8 ทำให้ได้ blastomeres เพิ่มเป็น 128 เซลล์ขนาดเท่าๆกัน ขนาดของเซลล์มีขนาดเล็กลงมาก

9. ระยะ 256 เซลล์ ที่ 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 9) เอมบริโอแบ่งตัวครั้งที่ 9 ทำให้ได้เซลล์ blastomeres เพิ่มเป็น 256 เซลล์ขนาดเท่าๆกันเซลล์ที่พบมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถนับจำนวนได้ชัดเจน ในปลา Medaka, *Oryzian latipes* เซลล์ที่พบมีการจัดเรียงตัวเป็นเนื้อเยื่อ 4-5 ชั้น (Iwamatsu, 1994)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

10. ระยะ morula ที่ 9 ชั่วโมง (ภาพที่ 10) เอมบริโอแบ่งตัวหลายครั้ง ทำให้ blastomeres เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากและเซลล์มีขนาดเล็กมาก อยู่รวมกันคล้ายผลน้อยหน่า เรียกระยะนี้ว่า morula (ปลายลูกศรชี้) ซึ่งเป็นตอนปลายของระยะ cleavage Iwamatsu (1994) รายงานว่าระยะ morula ในปลา Medaka, *Oryzian latipes* พบ blastomere ประมาณ 1,000 กว่าเซลล์และชั้น blastoderm เรียงตัวเป็นชั้นหนาขึ้น

11. ระยะ blastula ที่ 18 ชั่วโมง 34 นาที (ภาพที่ 11) พบ blastoderm หรือ blastodisc ยกตัวสูงขึ้นทำให้เกิดช่องว่างเรียกว่า blastocoel แยก blastomeres ออกจากส่วนของไข่แดงอย่างชัดเจน (ปลายลูกศรชี้) ในระยะ blastula ของปลา Paddlefish, *Polyodon spathula* (Walbaum) พบblastoderm มีสีเทาและปกคลุมบางส่วนของไข่แดง บริเวณไข่แดงจะมีสีเข้ม (Purkett,1961)

12. ระยะ gastrula ที่ 21 ชั่วโมง 4 นาที (ภาพที่ 12) กลุ่ม blastomeres มีการขยายตัวลงมาปกคลุมบางส่วนของไข่แดง ลักษณะเช่นนี้เรียกว่าการเกิด epiboly (ปลายลูกศรชี้) และมีการม้วนตัวของ blastomeres เข้าด้านใน ทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อชั้นต่างๆขึ้น

13. ระยะ early neurula ที่ 27 ชั่วโมง 30 นาที (ภาพที่ 13) ระยะนี้พบ nerve cord (ปลายลูกศรชี้) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดที่ยกตัวสูงขึ้น เนื่องจากการม้วนตัวของ blastomeres เข้าด้านในและดันให้เนื้อเยื่อชั้นนอกสุดเกิดการยกตัว มีลักษณะเป็นสันนูนยาววางขนานและติดกับส่วนของไข่แดงตามความยาวของแคปซูล Iwamatsu (1994) รายงานว่าในระยะ early neurula หรือ head formation ของปลา Medaka, *Oryzian latipes* พบส่วนที่พัฒนาไปเป็นสมองอยู่ด้าน anterior ของลำตัวเอมบริโอ vacuoles หรือ Kupffer's vesicles มีขนาดเล็กอยู่ทางด้าน posterior ของลำตัว (Iwamatsu, 1994)

14. ระยะ late neurula ที่ 30 ชั่วโมง (ภาพที่ 14) พบ neural tube (ปลายลูกศรชี้) ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อขนาดใหญ่ยาววางขนานและติดกับส่วนของไข่แดง neural tube ต่อไปจะพัฒนาไปเป็นส่วนสมองและไขสันหลัง แต่ไม่สามารถแยกส่วนหัวกับส่วนลำตัวได้ชัดเจน ในระยะนี้พบ vacuoles ในเอมบริโอ Iwamatsu (1994) รายงานว่าในระยะ late neurula หรือ optic bud formation ของปลา Medaka, *Oryzian latipes* สมองและ nerve cord ที่พบในลำตัวของเอมบริโอ มีลักษณะคล้ายลูกธนูและจะพัฒนาขึ้นพร้อมกัน โดยส่วนที่เป็นหัวลูกธนูจะพัฒนาไปเป็นตา และส่วนแกนธนูพบกลุ่มเซลล์จัดเรียงตัวเป็นสันนูนยาว พบ vacuoles ขยายขนาดขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

15. ระยะที่ 34 ชั่วโมง (ภาพที่ 15) ระยะนี้สามารถแยกส่วนหัวกับลำตัวออกจากกันได้อย่างชัดเจนโดยส่วนหัวจะสังเกตได้จากการเกิดปุ่มนูน 2 ข้างที่พัฒนาไปเป็นตา (ปลายลูกศรชี้)และด้าน anterior ของส่วนหัวพบช่องปาก ส่วนที่เป็นลำตัวมีลักษณะใส ไม่พบกล้ามเนื้อ

16. ระยะที่ 42 ชั่วโมง (ภาพที่ 16) เกิดการหมุนตัวกลับของเอมบริโอ ทำให้ส่วนหัวซึ่งอยู่ด้าน animal pole หมุนกลับไปด้าน vegetal pole และพบว่าเอมบริโอมีการพัฒนาและขยายขนาดมากขึ้น แต่ลำตัวยังคงติดกับส่วนของไข่แดง เริ่มพบเลนส์ตา ปุ่มหางและเซลล์สารสี (pigment cell) จำนวนเล็กน้อยที่บริเวณส่วนหัวและบางส่วนของผิวไข่แดง เซลล์สารสีที่พบไม่สามารถจำแนกชนิดได้ อุ่นจิต (2537) รายงานว่าการหมุนตัวกลับและการเกิดเซลล์สารสีที่ส่วนของไข่แดงและลำตัวของเอมบริโอในไข่ปลาการ์ตูนส้มขาว พบได้เมื่อเอมบริโอมีอายุ 36 ชั่วโมงเท่านั้น Takita(1980) รายงานว่าเซลล์สารสีในปลา Dragonets 3 ชนิด *Callionymus flagris, C. richardsoni, C. ornatipinnis* คือเซลล์ melanophores ซึ่งกระจัดกระจายทางด้าน dorsal ของลำตัวและบางส่วนของถุงไข่แดง(yolk sac)ใกล้กับเอมบริโอ และพบเซลล์ xanthophores ทางด้าน lateral ของลำตัวและบนถุงไข่แดงด้วย Kawase and Nagazona (1994) ให้ข้อคิดเห็นว่า ความแตกต่างของตำแหน่งที่เกิดเซลล์สารสีในครั้งแรกสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของปลาได้

17. ระยะที่ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 17) เอมบริโอมีการหมุนตัวกลับอย่างสมบูรณ์ ลำตัวใสมีขนาดใหญ่และยาวขึ้น ส่วนของลำตัวยังคงติดกับไข่แดงแต่ปลายหางแยกออก ลักษณะเด่นในระยะนี้คือเริ่มพบการเต้นของหัวใจและพบกล้ามเนื้อตามลำตัว บริเวณส่วนหัวพบเซลล์สารสีมากขึ้น อุ่นจิต (2537) พบการเต้นของหัวใจเมื่อลูกปลาการ์ตูนส้มขาวมีอายุได้เพียง 42 ชั่วโมง และมีกล้ามเนื้อครบสมบูรณ์และพบเซลล์สารสีหนาแน่นในส่วนของไข่แดงเมื่อลูกปลามีอายุ 48 ชั่วโมง

18. ระยะที่ 55 ชั่วโมง (ภาพที่ 18) พบก้อนหินปูนในกระดูกหูส่วนใน (otolith) (ปลายลูกศรชี้) มีขนาดเล็ก พบครีบอ่อนยาวต่อเนื่องกันและขนานไปกับลำตัว บริเวณปลายหางเริ่มเคลื่อนไหว Kawase *et al.* (1993) พบ otolith เมื่อลูกปลา *Chromis notatus* ฟักออกเป็นตัว แต่ otolith ในปลากระดูกแข็งแต่ละชนิดพบได้ในระยะที่แตกต่างกัน Kawase and Nakazono (1994) ทำการศึกษาปลา *Parika scabar* และปลาในกลุ่ม Damselfishes 4 ชนิด และรายงานว่าการเพิ่มขนาดของ otolith จะสัมพันธ์กับอายุของลูกปลา

19. ระยะที่ 64 ชั่วโมง (ภาพที่ 19) เอมบริโอมีขนาดใหญ่ขึ้น ไข่แดงมีขนาดเล็กลง ส่วนหัวและส่วนลำตัวแยกจากกันอย่างชัดเจน บริเวณส่วนหัวพบลูกตามีขนาดใหญ่และมีสีน้ำตาลเข้ม แยกเบ้าตากับเลนส์ตาได้ชัดเจน(ปลายลูกศรชี้) สมองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

forebrain, midbrain และhindbrain พบเซลล์สารสีเพิ่มมากขึ้นที่บริเวณส่วนหัวและส่วนหาง เริ่มพบเซลล์สารสีเพียงเล็กน้อย บริเวณลำตัวมองเห็นแนวกระดูกสันหลังไม่ชัดเจนนักแต่พบเซลล์เม็ดเลือดอยู่ภายในแสดงว่าเมื่อหัวใจเต้นมีการสูบฉีดเลือดไปเลี้ยงร่างกาย

20. ระยะที่ 75 ชั่วโมง 30 นาที (ภาพที่ 20) เอมบริโอเจริญเติบโตมากขึ้น ทำให้ส่วนหัวและลำตัวมีขนาดใหญ่ มองเห็นสมองแบ่งเป็น 3 ส่วนชัดเจนขึ้น พบหัวใจ (ปลายลูกศรชี้) และotolithชัดขึ้น และเกิดปุ่มนูนซึ่งจะพัฒนาไปเป็นครีบหู นอกจากนี้ยังพบพบเซลล์เม็ดเลือดและกล้ามเนื้อส่วนลำตัวชัดเจนขึ้น ลูกตาขยายใหญ่และมีสีเข้มมากขึ้น เห็นครีบอ่อนซึ่งยาวต่อเนื่องกันและขนานไปกับลำตัวชัดเจนมากขึ้น ผนังช่องท้องขยายปกคลุมส่วนของไข่แดงมากขึ้น

21. ระยะที่ 93 ชั่วโมง (ภาพที่ 21) ส่วนหัวมีขนาดใหญ่ ดวงตาใหญ่และมีสีน้ำตาลเข้ม สมองทั้ง 3 ส่วนเชื่อมต่อกัน พบเซลล์สารสีกระจายตลอดทั่วลำตัวเป็นจำนวนมาก

22. ระยะที่ 97 ชั่วโมง (ภาพที่ 22) เอมบริโอมีขนาดใหญ่ขยายจนเต็มแคปซูล ครีบหูมีขนาดใหญ่ขึ้น และพบว่ามีการหมุนและขยับตัวไปมาบ่อยครั้งขึ้น

23. ระยะที่ 109 ชั่วโมง (ภาพที่ 23) เป็นระยะใกล้ฟัก พบว่าส่วนหัวและลำตัวของเอมบริโอขยายเต็ม แคปซูล ส่วนของไข่แดงมีขนาดเล็กลง เซลล์สารสีที่พบตลอดทั่วลำตัวมีสีเข้มและมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น พบผนังช่องท้องปกคลุมส่วนของไข่แดงจนหมด (ปลายลูกศรชี้)

24. ระยะที่ 119 ชั่วโมง (ภาพที่ 24) ระยะนี้ส่วนของไข่แดงลดขนาดลงมาก ขนาดของส่วนหัวมีขนาดเป็นหนึ่งในสามของแคปซูล สังเกตได้ว่าภายในแคปซูลหนาแน่นมากเนื่องจากเอมบริโอมีขนาดใหญ่จนเต็มแคปซูลและเอมบริโอก็มีการเคลื่อนไหวโดยการหมุนตัวไปมามากขึ้น

25. ระยะที่ 127 ชั่วโมง (ภาพที่ 25A, B) เป็นระยะเริ่มฟักออกจากแคปซูล โดยเอมบริโอพยายามบิดและโยกลำตัวไปมาเพื่อให้แคปซูลขยายและแตกออกพร้อมกับดันตัวออกมา ในปลาการ์ตูนอานม้าการฉีกขาดของแคปซูลมักพบบริเวณครึ่งท้ายของแคปซูลด้านที่มีเยื่อเหนียวที่ใช้ยึดไข่กับวัสดุที่วางไข่เนื่องจากบริเวณนี้เป็นตำแหน่งของส่วนลำตัวและส่วนหางซึ่งมีแรงดันที่ทำให้แคปซูลฉีกขาดได้ง่าย (ปลายลูกศรชี้ที่ภาพ 25B) Iwamatsu (1994) รายงานว่าพบแคปซูลของไข่ปลา Medaka, *Oryzian latipes* ถูกกำหนดให้ฉีกขาดที่ตำแหน่งกระเพาะลม (swim bladder)

26. ระยะที่ 148 ชั่วโมง (ภาพที่ 26) ทันทีที่หลุดออกจากแคปซูล ลูกปลาวัยอ่อนสามารถอ้าและขยับปากได้ และพบส่วนของครีบหลัง ครีบหาง ครีบก้นเชื่อมต่อกันเป็นแนวยาว นอกจากนี้ยังพบครีบหูแต่ไม่พบครีบท้อง ส่วนของไข่แดงมีขนาดเล็กลงมาก พบช่องเปิดของ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ระบบขับถ่าย (ปลายลูกศรชี้) ในปลา Medaka, *Oryzian latipes* เมื่อลูกปลาวัยอ่อนฟักออกมา พบก้านครีบ (fin ray) ของครีบห่างและครีบหู (Iwamatsu, 1994) Purkett (1961) รายงานว่าเอมบริโอของปลา Paddlefish, *Polyodon spathula* (Walbaum) มีการหมุนตัวและดิ้นไปมาก่อนจะฟักและใช้ส่วนหางช่วยทำให้แคปซูลแตก และการที่ไข่มีเยื่อเหนียวที่ยึดติดกับก้อนหินจะช่วยให้เอมบริโอดิ้นหลุดออกจากแคปซูลได้ง่ายขึ้น

การเจริญและพัฒนาการของลูกปลาภายหลังการฟัก

ลำดับขั้นของการพัฒนาของลูกปลาการ์ตูนอานม้าที่ฟักออกจากไข่มีลักษณะคล้ายคลึงกับปลาชนิดอื่น ในการศึกษาทดลองครั้งนี้เฝ้าติดตามการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและพัฒนาการต่างๆเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 30 วันซึ่ง อุ่นจิต (2537) ได้รายงานการพัฒนาการรูปร่างของปลาการ์ตูนส้มขาวภายหลังจากที่ฟักเป็นตัวว่าเมื่อลูกปลาการ์ตูนส้มขาววันอ่อนอายุ 12 วันมีรูปร่างเหมือนพ่อแม่ปลาทุกประการ ครีบสมบูรณ์ทำหน้าที่ได้ดีและเมื่อลูกปลาวัยอ่อนมีอายุได้ 23 วันจะแสดงสีและแถบชัดเจนมากขึ้น ในการศึกษาวิจัยเริ่มตั้งแต่เอมบริโอดิ้นหลุดออกจากแคปซูลซึ่งจะถูกเรียกว่าลูกปลาวัยอ่อน (Juvenile) จนกระทั่งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเกิดสีและแถบเหมือนกับพ่อแม่ทุกประการ ในการทดลองรายงานผลตามระยะเวลาสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงที่พบเห็น ซึ่งผลการทดลองในปลาแต่ละชนิดหรือชนิดเดียวกันในแต่ละครอก(crop)มีความแตกต่างกัน

พัฒนาการของลูกปลาอานม้าภายหลังการฟักแบ่งการเปลี่ยนแปลงได้ดังนี้

1. ระยะที่ลูกปลาฟักออกจากไข่ (ภาพที่ 26) ลูกปลามีขนาด 3.80มิลลิเมตร เป็นระยะต่อเนื่องจากลูกปลาหลุดออกจากแคปซูลของไข่ได้หมดทุกฟอง โดยเฉลี่ยจะใช้เวลาฟักทั้งหมดประมาณ 3-4 ชั่วโมง จากการเฝ้าสังเกตการฟักออกจากไข่ของลูกปลาการ์ตูนอานม้าพบว่าเริ่มฟักในช่วงเวลาโดยเฉลี่ยประมาณ 18.00-22.00 นาฬิกา ซึ่งอุ่นจิต(2526), Delsman(1930), Bell(1978), Ross(1976) ได้รายงานตรงกันว่าไข่ของปลาการ์ตูนมักฟักภายหลังจากพระอาทิตย์ตกดินแล้วเสมอ ลูกปลาการ์ตูนอานม้าทันทีที่ฟักออกจากไข่สามารถขยับปากไปมาและกินอาหารได้เนื่องจากปริมาณไข่แดงมีจำนวนไม่มากนักเมื่อเทียบกับปลาชนิดอื่น การศึกษาของ Delsman (1930) รายงานว่าทันทีที่ลูกปลาการ์ตูน Clown Anemonefish, *A. percula* Lacepède (1802) ฟักออกจากไข่ ถุงไข่แดงและ oil globuleจะถูกดูดซึมไปจนหมด ลูกปลาจึงกินอาหารทันที ซึ่งแตกต่างจากลูกปลาโดยทั่วไปที่พบว่าเมื่อฟักออกจากไข่ ปากจะปิดสนิทและใช้ไข่แดงเป็นแหล่งอาหารก่อนในช่วงแรก จนกระทั่งปริมาณไข่แดงลดลงหรือหมดไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(วีระพงศ์,2536),(Takita,1983) (Russell,1976) ในปลาทะเล Pomacanthid fish, *Chaetodontoplus duboulayi* พบว่าลูกปลาอายุ 24 ชั่วโมงสามารถขยับปากไปมาได้แต่ระบบทางเดินอาหารยังไม่ทำงาน จึงทำให้ลูกปลากินอาหารไม่ได้โดยสังเกตจากช่องanusที่ยังไม่เปิด(Arai,1994) วิมล(2536) กล่าวว่าระบบทางเดินอาหารของปลาวัยอ่อนเมื่อฟักออกจากไข่จะยังคงไม่สมบูรณ์จนกระทั่งปริมาณไข่แดงลดลง ระบบทางเดินอาหารจะทำงานได้อย่างสมบูรณ์หรือไม่ สังเกตได้จากช่องanusที่เปิดออกหรือไม่เช่นกัน โดยพบว่าระบบย่อยอาหารทำงานได้ดีเมื่อช่องanusเปิด มีรายงานในปลา Filefish, *Brachaluteres ulvarum* ไข่แดงถูกดูดซึมไปใช้อย่างสมบูรณ์ใช้เวลา 4-5 วัน (Akagawa et al.,1995) ในปลาจวด *Johnius hololepidotus* ไข่แดงถูกใช้หมดเมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน (Meyer-Pochow, 1972) ปลาการ์ตูนอานม้าในระยะนี้พบ fin rayของแผงครีบหลัง ครีบหาง ครีบก้นเชื่อมต่อกันเป็นแนวยาว พบปุ่มครีบหูแต่ไม่พบครีบท้อง เห็นแกนกระดูกสันหลังชัดเจน ผนังลำตัวบริเวณช่องท้องกับถุงไข่แดงแยกออกจากกันได้ไม่ชัดเจนนัก พบช่องเปิดของระบบขับถ่าย(anus)เป็นท่อเปิดขนาดใหญ่ยื่นออกนอกร่างกาย Akagawa et al. (1995) กล่าวว่าในปลา Filefish, *Brachaluteres ulvarum* ทันทีที่ฟักออกจากไข่ ช่องปากและanusปิดสนิทเนื่องจากท่อทางเดินอาหารยังคดงอและไม่สมบูรณ์ จะสมบูรณ์เมื่อลูกปลามีอายุ 3-4 วัน โดยสังเกตจากปริมาณไข่แดงที่ลดลง พบ otocystic หรือaudinary sac ซึ่งภายในพบ otolit ชัดเจน เซลล์เม็ดสีตามร่างกายมีจำนวนน้อยจึงไม่ชัดเจนนัก

2. ลูกปลาอายุ 1 วัน (ภาพที่ 27) ลูกปลามีขนาด 3.92 มิลลิเมตร ช่องปากเปิดกว้างและขยับได้ดีและบ่อยมากขึ้น จากการทดลองในห้องปฏิบัติการการเพาะเลี้ยง ทันทีที่ลูกปลาฟักออกจากไข่ ซึ่งพบเป็นเวลาค่ำเสมอ สังเกตได้ว่าลูกปลามีการขยับปากไปมาเพื่อกินอาหารได้ทันทีแต่จะยังคงไม่ให้อาหารในทันทีจะรอจนกระทั่งรุ่งเช้าจึงเริ่มให้อาหารแก่ลูกปลาเป็นครั้งแรก เมื่อลูกปลามีอายุเฉลี่ยประมาณ 1 วันเพราะพบว่าปริมาณไข่แดงมีจำนวนลดน้อยลงมากในช่วงแรกๆของการเพาะเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนอานม้าใช้โรติเฟอร์เพียงอย่างเดียวในการเลี้ยงลูกปลาวัยอ่อน จากนั้นมีการปรับเปลี่ยนอาหารโดยใช้โรติเฟอร์ผสมกับอาร์ทีเมียเมื่อลูกปลามีขนาดโตขึ้นและในท้ายที่สุดมีการฝึกให้กินอาหารตายจำพวกเนื้อหอยสับผสมวิตามิน โดยการปรับเปลี่ยนอาหารจะสังเกตจากขนาดของอาหารมีขนาดพอเหมาะกับปากของลูกปลา Sunobe and Nakazono (1989) กล่าวว่าอาหารชนิดแรกที่ใช้เลี้ยงลูกปลาทะเล Gobiid fish, *Priolepsis naraharac* วัยอ่อน ภายหลังจากที่ไข่แดงถูกดูดซึมไปจนหมดคือลูกหอยนางรมวัยอ่อน วีระพงศ์(2536) กล่าวว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปลาวัยอ่อนครั้งแรกมีความสำคัญมากเพราะต้องคำนึงถึงการทำงานครั้งแรกของระบบย่อยอาหารของลูกปลา จึงจำเป็นมากที่จะต้องเลือกอาหารให้เหมาะสมไม่เช่นนั้นอาจทำให้ลูกปลาตายได้ ลูกปลาการ์ตูนอานม้าระยะนี้ถุงไข่แดงมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขนาดเล็กลงและพบoil globuleใกล้กับช่องเปิดของanusแต่ไม่ชัดเจนนัก ท่อเปิดanus ยังคงเป็นท่อเปิดขนาดใหญ่ ในระยะนี้พบปริมาณไข่แดงลดน้อยลงทำให้เห็นผนังช่องท้องแยกออกจากถุงไข่แดงได้ชัดเจน ส่วนของครีบหลัง, ครีบหางและครีบก้นยังไม่แยกออกจากกัน บริเวณครีบหูพบก้านครีบชัดเจนแต่ไม่พบแผ่นครีบ(fin ray) คล้ายกับปลาDragonet, *Repomucenus richardsonii* ที่มีอายุ1วัน พบเฉพาะก้านครีบหูซึ่งเป็นหนามแหลม (spine)แต่ไม่พบแผ่นครีบ(Eda et. al.,1994a) ไม่พบครีบท้อง ลูกปลาในระยะนี้ไม่ว่ายน้ำแต่จะนอนจมที่พื้นตู้หรือเคลื่อนที่ตามแรงพ่นของออกซิเจนของน้ำภายในตู้ Long and Ballard (1976) ศึกษาในปลา White Sucker,*Catostomus commersoni* รายงานว่าลูกปลาอายุ 1-3 วันไม่สามารถว่ายน้ำได้แต่จะใช้การบิดตัวไปมาเพื่อให้ลำตัวเกิดการเคลื่อนไหวเท่านั้น บริเวณoccipital พบเซลล์เม็ดสีแบบ branched 2-3 เซลล์ บริเวณ antorbitalและแนวแกนกระดูกสันหลังตลอดแนวลำตัวพบเซลล์เม็ดสีแบบstellate 2-3 เซลล์และพบเป็นจำนวนมากที่internal peritoneal

3. ลูกปลาอายุ 2 วัน (ภาพที่ 28) ลูกปลามีขนาด 4.0 มิลลิเมตร ขนาดของส่วนหัวและลำตัวของลูกปลามีความสัมพันธ์กันมากขึ้น เนื่องจากส่วนหัวและถุงไข่แดงมีขนาดเล็กลง พบoil globule ขนาดใหญ่ใกล้ช่องเปิดanus fin rayของครีบหลัง, ครีบหางและครีบก้นยังคงเชื่อมต่อกันเป็นแผงยาว เริ่มพบรอยคอดเพื่อแยกส่วนของครีบระหว่างครีบหลังกับครีบหางและครีบก้นกับครีบหาง ครีบหูพบก้านครีบและfin ray ที่แผ่กว้างมีขนาดใหญ่ชัดเจนขึ้นและทำงานได้ดีมากขึ้น การทำงานของครีบหูของปลาการ์ตูนอานม้าเป็นการพัดโปกเพื่อให้ลำตัวเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ซึ่งแตกต่างจากปลา White Sucker,*Catostomus commersoni* ซึ่งการทำงานของครีบหูในช่วงแรกเป็นการหมุนควงเป็นวงกลมมากกว่าจะเกิดการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า(Long and Ballard,1976) การทำงานของครีบหูมีความสัมพันธ์กับการทำงานของ operculum Iwamatsu (1994) รายงานว่าในปลา Medaka, *Oryzias latipes* อายุ 2วัน เริ่มพบfinrayของครีบหู, ครีบหลังและครีบก้น พบปุ่มของครีบท้อง แนวแกนของกระดูกสันหลังยาวต่อเนื่องไปถึงส่วนmediolateralพบว่าแกนของกระดูกสันหลังส่วนposteriorเป็นปลายแหลมแนวตรงไม่เอียงไปด้าน hypural หรือ epural

4. ลูกปลาอายุ 3 วัน (ภาพที่ 29) ลูกปลามีขนาด 4.0 มิลลิเมตร ปริมาณไข่แดงลดลงมากและพบถุงไข่แดงขนาดเล็กๆใกล้กับ anus จึงทำให้มองเห็นถุงกระเพาะอาหารได้ชัดเจนมากขึ้น ระหว่างครีบหลังกับครีบหางและครีบก้นกับครีบหางรอยคอดของครีบชัดเจนมากขึ้นทำให้แยกส่วนของครีบทั้งสามออกจากกันได้ แต่ fin rayยังคงเชื่อมต่อเป็นแผ่นเดียวกัน เช่นเดียวกับที่พบในปลา Medaka, *Oryzias latipes* อายุ 3วัน (Iwamatsu,1994) เริ่มพบกระดูกก้านครีบหลัง, ครีบก้นและครีบหาง เห็นซี่ฟันชัดเจนขึ้น ที่บริเวณแกนกระดูกสันหลังพบกระดูกribชัด

เจน พบเซลล์เม็ดสีแบบbranedและstellateค่อนข้างหนาแน่นบริเวณ occipital, posterbital และinternal peritoneal ที่บริเวณabdominalและanusพบเซลล์เม็ดสีกระจัดกระจายทั่วไป Morrison et al. (2001) กล่าวว่าเมื่อลูกปลา *Orechromis niloticus* ฟักออกจากไข่ได้ 3 วัน พบว่ามีกะโหลกศรีษะหลายชิ้นที่เป็นกระดูกอ่อน Eda et al. (1994a) รายงานว่าลูกปลา Dragonet, *Repomucenus richardsonii* ที่มีอายุ 3 วัน รอบปากและดวงตาเต็มไปด้วยเซลล์เม็ดสีเป็นจำนวนมาก และพบว่าเมื่อช่องปากเปิดและปริมาณไข่แดงลดลง ทำให้ท่อทางเดินอาหารที่พบว่ามีความคดงอมีลักษณะตรงมากขึ้นจึงทำงานได้ดีขึ้น พบspineที่ก้านครีบหูมีความแข็งและแหลมคมมากขึ้น

5. ลูกปลาอายุ 4 วัน (ภาพที่ 30) ลูกปลามีขนาด 4.60 มิลลิเมตร ในช่วงนี้ลูกปลาเติบโตค่อนข้างรวดเร็ว พบกล้ามเนื้อลำตัวมีมากขึ้นทำให้มองเห็น otocystic ไม่ชัดเจนนักบริเวณส่วนหัวเริ่มแบ่งส่วนของ snout แยกออกส่วนหัวได้ชัดเจน ช่องเปิดของ anusมีขนาดที่เล็กลงกว่าเดิม แนวแกนกระดูกสันหลังบริเวณ mediolateral พบว่าส่วนปลายยังคงเป็นปลายแหลมแต่ไม่เป็นแนวตรงแต่จะเป็นแนวเฉียงทำมุมประมาณ 45 องศาชี้ขึ้นไปด้าน epural

6. ลูกปลาอายุ 5 วัน (ภาพที่ 31) ลูกปลามีขนาด 4.82 มิลลิเมตร ครีบหลังและครีบก้นมีขนาดเล็กลงและมีสัดส่วนสัมพันธ์กับลูกปลามากขึ้น รอยคอดระหว่างครีบหลังกับครีบหางและครีบก้นกับครีบหาง สามารถใช้แบ่งแผงครีบทั้งสามแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ที่แผงครีบหางพบก้านครีบเป็นแกนยาวชัดเจนมากแต่ไม่พบว่ามีการแบ่งออกเป็นข้อหรือปล้อง ส่วนของ anus เป็นช่องเปิดขนาดเล็กลงมากและไม่ยื่นออกนอกลำตัวปลา operculum และครีบหูทำงานสัมพันธ์กันได้ดี พบปุ่มครีบท้องยืดยาวทำให้เห็นเป็นก้านครีบชัดเจนมากขึ้นแต่ยังคงไม่สามารถใช้งานได้ ลูกปลายังคงว่ายน้ำโดยไม่สามารถกำหนดทิศทางในการว่ายได้ จึงว่ายน้ำในลักษณะกระตุกและพุ่งตรงไปด้านหน้าเท่านั้น บางครั้งพบว่ามีการหยุดพักที่ขอบตู้เป็นเวลานานกว่าจะเคลื่อนที่ต่อไปอีกครั้ง Sunobe and Nakazono (1989) กล่าวว่าการว่ายน้ำของลูกปลาในระยะแรกจะว่ายน้ำตอบสนองโดยการเคลื่อนที่เข้าหาแสง เช่นเดียวกับปลาAtherinid fish, *Hypoatherina tsurugae* อายุ 3 วัน ลูกปลาจะว่ายน้ำอยู่ที่พื้นบ่อในลักษณะเคลื่อนที่ตามแสง (Tsukamoto and Kimura,1993) พบเซลล์เม็ดสีชนิด branedจำนวนมากบริเวณ occipital, antorbital และ peritoneal ทำให้ลูกปลามีลักษณะเป็นลายจุดตามลำตัว Yamamoto (1975) กล่าวว่าเมื่อลูกปลา Medakaฟักออกจากไข่ได้ 5 วันพบเซลล์เม็ดสีหนาแน่นมากที่ถุงลม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

7. ลูกปลาอายุ 6 วัน (ภาพที่ 32) ลูกปลามีขนาด 5.40 มิลลิเมตร เริ่มพบก้านครีบที่ครีบหลังและครีบก้นแต่ไม่ชัดเจนนักเพราะไม่สามารถแยกส่วนของก้านครีบที่เป็น spine ออกจากก้านครีบธรรมดาได้ กระดูกก้านครีบหางถูกแบ่งออกเป็นข้อ3 ข้อ เริ่มพบแผ่นกระดูก 2 ชิ้น ขนาดใหญ่บริเวณmediolateralส่วนhypural Russell(1976)กล่าวว่าการเกิดของแผ่นกระดูกที่บริเวณmediolateralส่วนhypurals มักพบว่าเกิดก่อนส่วนepuralเสมอ Morrison et al. (2001) กล่าวว่าเมื่อลูกปลา *Orechromis niloticus* ที่ฟักออกจากไข่3วัน เริ่มพบแผ่นกระดูกอ่อน 4 ชิ้นที่hypuralและพบกระดูกอ่อน2ชิ้นที่ตำแหน่งเดียวกันถูกพัฒนาไปเป็น hemal arch ของครีบหาง

8. ลูกปลาอายุ 7 วัน (ภาพที่ 33) ลูกปลามีขนาด 5.6 มิลลิเมตร ที่บริเวณmediolateralส่วนhypuralsพบแผ่นกระดูกชิ้นเล็กเกิดขึ้นแทรกระหว่างแผ่นกระดูกชิ้นใหญ่ 2 ชิ้นแรกจึงมองเห็นเป็นแผ่นกระดูก 3 ชิ้นเรียงกัน ส่วน epural พบแผ่นกระดูกเพียงแผ่นเดียวเท่านั้น เซลล์เม็ดสีตามลำตัวมีสีเข้มมากขึ้นและพบกระจายทั่วไปตามลำตัว พบ lateral line ชัดเจนที่กล้ามเนื้อกลางลำตัว ในปลาWhite Sucker,*Catostomus commersoni* อายุ 7วัน ครีบหูมีลักษณะเป็นแผ่นวงกลมและมีเส้นผ่าศูนย์กลางใกล้เคียงกับเส้นผ่าศูนย์กลางของดวงตา ช่องปากเริ่มเปิดและขากรรไกรมีการเคลื่อนไหวเป็นจังหวะ เริ่มพบเส้นกลางตัว 3 เส้นบริเวณลำตัวถึงปลายหาง(Long and Ballard,1976)

9. ลูกปลาอายุ 8 วัน (ภาพที่ 34) ลูกปลามีขนาด 5.6 มิลลิเมตร ก้านครีบหลังพบspineมีลักษณะหนาและมีปลายแหลม แต่spineที่พบมีขนาดเล็กตามลักษณะรูปร่างของปลาที่ยังไม่โตเต็มวัย ก้านครีบในทุกครีบมีขนาดเพิ่มขึ้นและพบเห็นได้ชัดเจนขึ้น

10. ลูกปลาอายุ 9 วัน (ภาพที่35) ลูกปลามีขนาด 6.15 มิลลิเมตร ลำตัวลูกปลายาวขึ้นมาก สังเกตจากครีบหางที่ยาวขึ้น ก้านครีบของกระดูกครีบหางมีจำนวนข้อเพิ่มขึ้นเป็น 4 ข้อ และแบ่งเป็นปล้องได้ประมาณ 5 ปล้องจึงทำให้ปลายหางยาวขึ้นมาก หัวปลามีขนาดเล็กลงและได้สัดส่วนเหมือนกับพ่อแม่ปลามากขึ้น ส่วนครีบท้องยังคงพบเฉพาะก้านครีบที่เด่นชัดส่วนfin rayยังไม่ชัดเจนนัก เซลล์เม็ดสีที่ส่วนหัวและลำตัวเด่นชัดมากขึ้นเรื่อยๆ Richards and Saksena (1980)ทำการศึกษาพัฒนาการของครีบ โดยพบว่าเมื่อลูกปลา Gray snapper, *Lutjanus griseus* อายุ 9วัน เริ่มพบspineของครีบหลังและครีบท้อง

11. ลูกปลาอายุ 10 วัน (ภาพที่ 36) ลูกปลามีขนาด 6.40 มิลลิเมตร spine ที่ก้านครีบหลังยืดยาวชัดเจนขึ้น ก้านครีบของกระดูกหางถูกแบ่งเป็นข้อปล้องมากขึ้นทำให้นับจำนวนไม่ได้ชัดเจน แผ่นหางแผ่ขยายได้กว้างมาก พบก้านครีบและfin rayของครีบท้องครบสมบูรณ์แต่ยังทำหน้าที่ได้ไม่ดีนัก สังเกตได้จากการว่ายน้ำและการควบคุมทิศทางในการว่ายได้ไม่ดี เซลล์

เม็ดสีกระจายทั่วตัวและมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ในปลา White Sucker,*Catostomus commersoni* อายุ 10วัน ครีบหูมีขนาดใหญ่ขึ้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของดวงตา กระดูกขากรรไกรและhyobranchial มีการทำงานสัมพันธ์กันอย่างเป็นจังหวะ ลูกปลาว่ายน้ำได้ดี แต่ยังคงชอบพักที่ขอบตู้ operculumปกคลุมส่วนของ branchial arch คู่แรกเพียงบางส่วนเท่านั้น(Long and Ballard,1976)

12. ลูกปลาอายุ 13 วัน (ภาพที่ 37) ลูกปลามีขนาด 6.75 มิลลิเมตร ครีบท้องทำงานได้ดีและสมบูรณ์ ลูกปลาควบคุมทิศทางในการว่ายน้ำได้ดี ในระยะนี้กล่าวได้ว่าลูกปลามีรูปร่างเหมือนกับพ่อแม่ทุกประการ ครีบทุกครีบครบสมบูรณ์และทำหน้าที่สัมพันธ์กันเป็นอย่างดี

13. ลูกปลาอายุ 15 วัน (ภาพที่ 38) ลูกปลามีขนาด 7.42 มิลลิเมตร เริ่มพบแถบสีขาวที่บริเวณหลังดวงตาแต่ยังไม่เด่นชัดนัก ในปลา Gray snapper, *Lutjanus griseus* อายุ 15 วัน ครีบหูมีความสมบูรณ์และพบว่าทำงานได้ดีเมื่อลูกปลามีอายุ 26 วัน (Richards and Saksena,1980)

14. ลูกปลาอายุ 20 วัน (ภาพที่ 39) ลูกปลามีขนาด 9.26 มิลลิเมตร แถบสีขาวหลังดวงตาชัดเจนมากขึ้นและพบว่ามีขนาดความกว้างประมาณ 0.6 มิลลิเมตร บริเวณ posterior dorsal fin เริ่มพบแถบสีขาวจางๆ

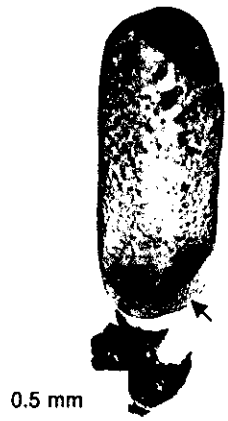
15. ลูกปลาอายุ 24 วัน (ภาพที่ 40) ลูกปลามีขนาด 9.50 มิลลิเมตร แถบสีขาวที่ posterior dorsal fin ชัดเจนมากขึ้น กล่าวได้ว่าลูกปลาในระยะนี้มีแถบสีตามลำตัวชัดเจนเหมือนแถบสีพ่อแม่ปลาทุกประการ ในระยะนี้ลูกปลาการ์ตูนอานม้ามีรูปร่างและอวัยวะทุกส่วนครบสมบูรณ์ มีเพียงบางอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เท่านั้นที่พัฒนาไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าลูกปลาสิ้นสุดระยะ larvae ที่ระยะนี้ และเข้าสู่ระยะyoung หรือ juvenileต่อไป

การศึกษาพัฒนาการของลูกปลาชนิดอื่นๆภายหลังการฟัก มีการแบ่งระยะการศึกษาที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบให้เห็นชัดเจนในแต่ละช่วงเวลาได้ ส่วนใหญ่การศึกษา embryonic period เริ่มจากเมื่อไข่ได้รับการปฏิสนธิจนกระทั่งลูกปลาฟักออกจากไข่และทำการศึกษาพัฒนาการต่อเนื่องไปอีกเพียง 1-3 วันเท่านั้น จากนั้นแบ่งระยะของการศึกษาออกเป็นช่วงกว้างขึ้นโดยแบ่งเป็นระยะ larvae เริ่มตั้งแต่ภายหลังที่ลูกปลาฟักออกจากไข่จนกระทั่งมีรูปร่างเหมือนพ่อแม่ ระยะ youngหรือ juvenile โดยเฉลี่ยในปลาส่วนใหญ่ใช้เวลาประมาณ 1 ปี โดยเริ่มตั้งแต่ลูกปลาที่มีรูปร่างเหมือนพ่อแม่และอวัยวะต่างๆทำงานได้ครบสมบูรณ์ รวมทั้งอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ หลังจากนั้นเข้าสู่ระยะ adult เป็นช่วงที่ปลาเริ่มวางไข่เป็นครั้งแรก (Lagler, 1969).

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 1-12 แสดงระยะต่างของพัฒนาการของเอมบริโอในปลาการ์ตูนอานม้า *Amphipirion polymnus* Linnaeus (1758)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



1 At 0 hr

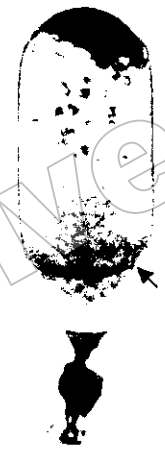
2 At 1 hr

3 At 1 hr 40 min

4 At 2 hrs

5 At 4 hrs

6 At 4 hrs 30 min



7 At 5 hrs

8 At 6 hrs

9 At 8 hrs

10 At 9 hrs

11 At 18 hrs 34 min

12 At 21 hrs 4 min

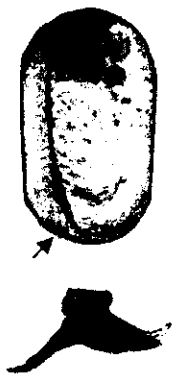
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 13-24 แสดงระยะต่างของพัฒนาการของเอมบริโอในปลาการ์ตูนอานม้า *Amphipirion polymnus* Linnaeus (1758)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

13

At 27 hrs 30 min



14

At 30 hrs

15

At 34 hrs

16

At 42 hrs

17

At 48 hrs

18

At 55 hrs

19

At 64 hrs

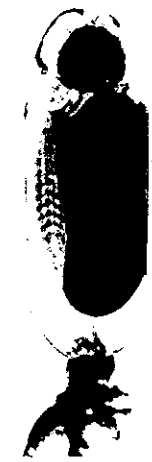
20

At 75 hrs 30 min

0.5 mm

21

At 93 hrs



22

At 97 hrs

23

At 109 hrs

24

At 119 hrs

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 25 แสดงระยะพัฒนาการของเอมบริโอในปลาการ์ตูนอานม้า *Amphipirion polymnus* Linnaeus (1758) ที่ 127 ชั่วโมง ในระยะนี้สามารถพบได้เป็น 2 ช่วงคือ

25 A ระยะก่อนการฟัก

25 B ระยะกำลังฟักออกจากฝักไข่

ตารางภาพที่ 26 แสดงระยะลูกปลาวัยอ่อนทันทีที่ฟักออกจากฝักไข่

ตารางภาพที่ 27 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 1 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

0.5 mm

25A

At 127 hrs

0.5 mm

25B

At 127 hrs

0.5 mm

26

At 148 hrs

27

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 1 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 28 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 2 วัน

ตารางภาพที่ 29 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 3 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

28

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 2 วัน

29

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 3 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 30 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 4 วัน

ตารางภาพที่ 31 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 5 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

30

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 4 วัน

31

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 5 วัน

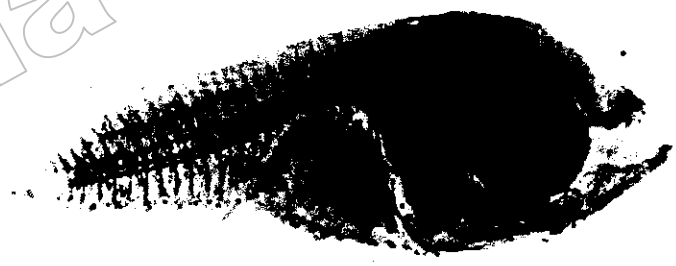
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 32 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 6 วัน
ตารางภาพที่ 33 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 7 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

32

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 6 วัน



33

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 7 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 34 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 8 วัน
ตารางภาพที่ 35 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 9 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

34

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 8 วัน

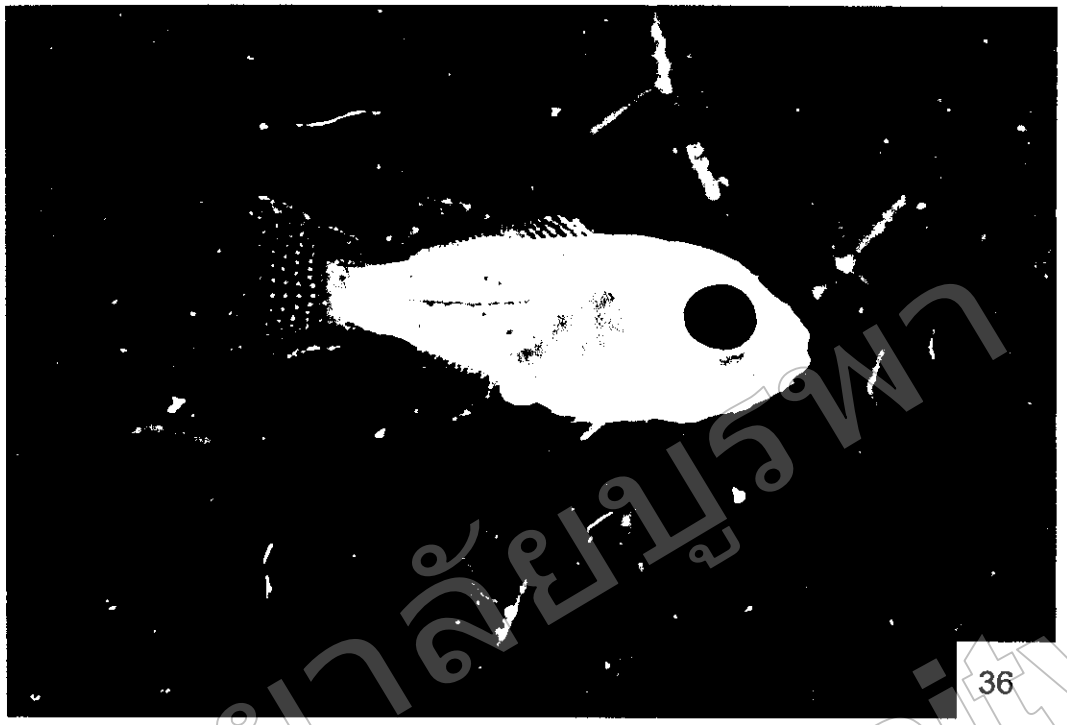
35

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 9 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

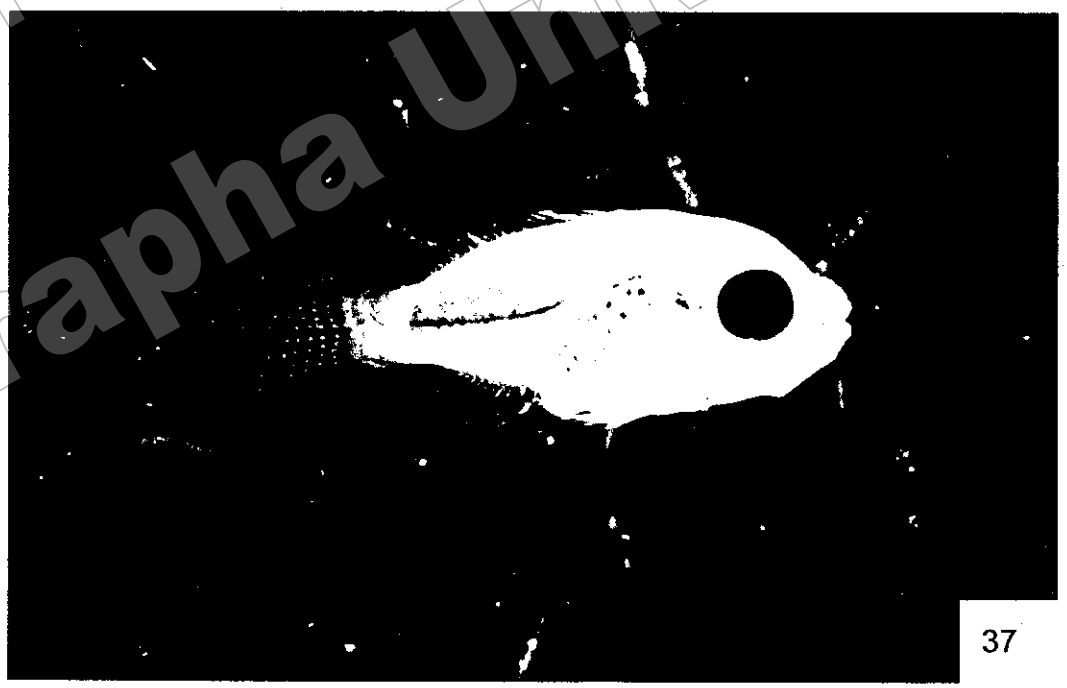
ตารางภาพที่ 36 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 10 วัน
ตารางภาพที่ 37 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 13 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University



36

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 10 วัน



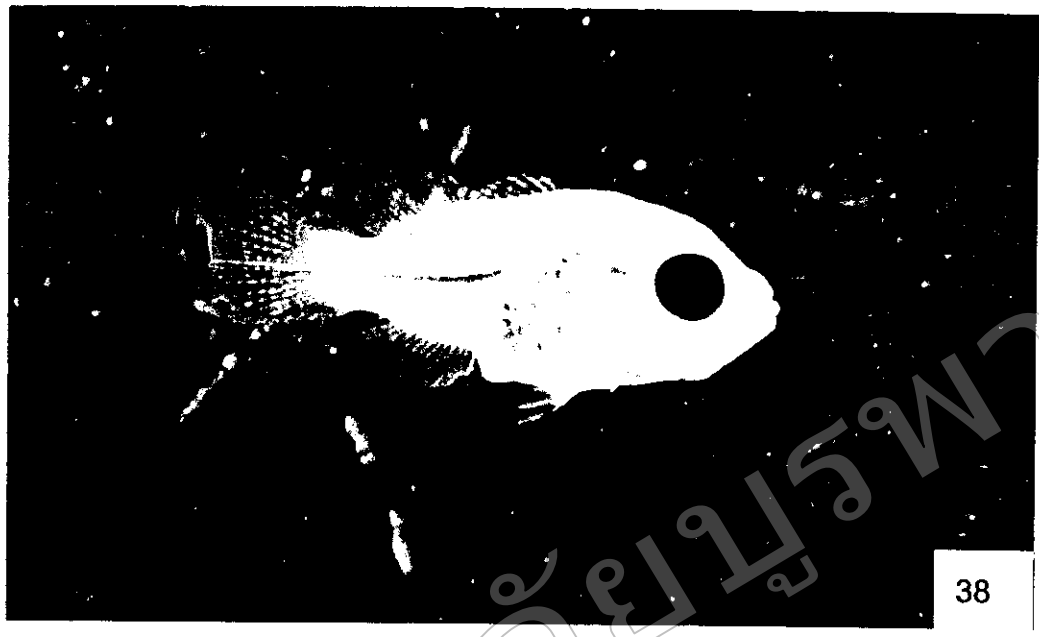
37

ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 13 วัน

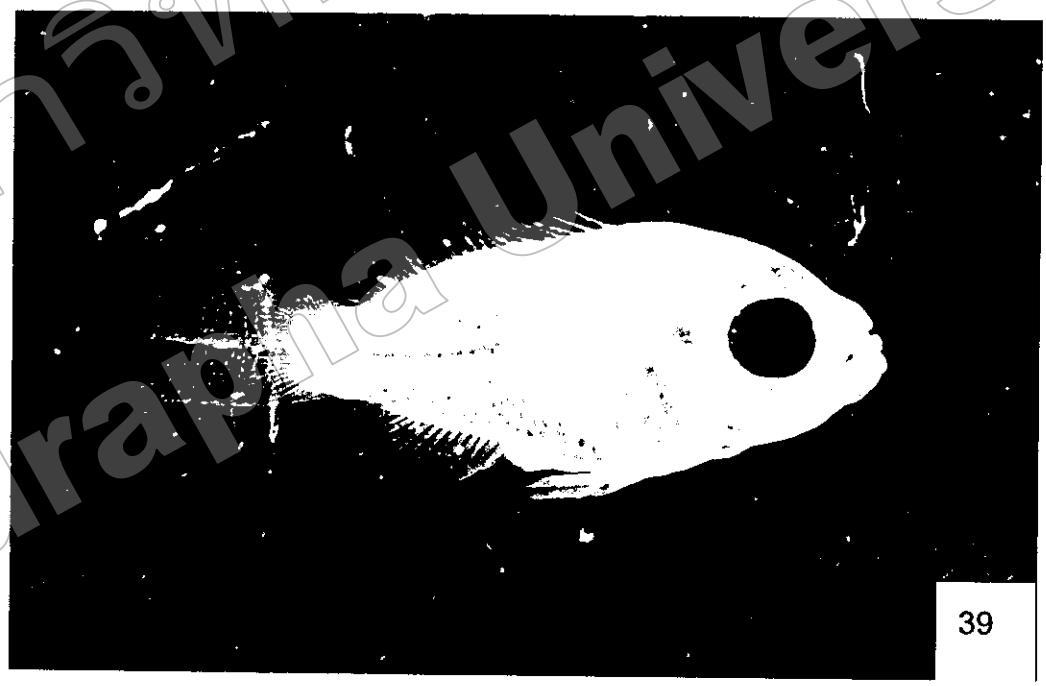
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 38 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 15 วัน
ตารางภาพที่ 39 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 20 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ลูกปลาการ์ตูนอานม้า 15 วัน



ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 20 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางภาพที่ 40 แสดงระยะที่ลูกปลาการ์ตูนอานม้าอายุ 24 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

40

ลูกปลาการ์ตูนอานม้า 24 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าพัฒนาการของไข่ปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus* Linnaeus (1758)) ที่ได้จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ปลาการ์ตูนอานม้ามีวงจรการสืบพันธุ์ทุกๆ 14-21 วันและสามารถวางไข่ได้ตลอดปี จำนวนไข่ที่วางครั้งละ 400-1,800 ฟองทั้งนี้ขึ้นกับอายุ ขนาดและความสมบูรณ์ของพ่อและแม่ปลา ระยะเวลาตั้งแต่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจนกระทั่งฟักเป็นตัวใช้เวลาประมาณ 148 ชั่วโมง ซึ่งพัฒนาการของเอมบริโอจนฟักเป็นลูกปลาวัยอ่อนสามารถแบ่งออกได้เป็น 26 ระยะ ภายหลังจากที่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เซลล์ (ที่ 1 ชั่วโมง), 4 เซลล์ (ที่ 1 ชั่วโมง 40 นาที), 8 เซลล์ (ที่ 2 ชั่วโมง), 16 เซลล์ (ที่ 4 ชั่วโมง), 32 เซลล์ (ที่ 4 ชั่วโมง 30 นาที), 64 เซลล์ (ที่ 5 ชั่วโมง), 128 เซลล์ (ที่ 6 ชั่วโมง), 256 เซลล์ (ที่ 8 ชั่วโมง) และเข้าสู่ระยะmorula (ที่ 9 ชั่วโมง), blastula (ที่ 18 ชั่วโมง 34 นาที), gastrola (ที่ 21 ชั่วโมง 4 นาที), early neurula (ที่ 27 ชั่วโมง 30 นาที), late neurula (ที่ 30 ชั่วโมง), และมีการสร้างอวัยวะต่างๆ ได้แก่การเกิดปุ่มตา (ที่ 34 ชั่วโมง), การสร้างสารสี (ที่ 42 ชั่วโมง), การหมุนตัวกลับของเอมบริโอ (ที่ 48 ชั่วโมง), การเกิดก้อนหินปูนในกระดูกหูส่วนใน (ที่ 55 ชั่วโมง), สมองแบ่งออกเป็น 3 ส่วนได้อย่างชัดเจน (ที่ 64 ชั่วโมง), การเกิดปุ่มครีบหู (ที่ 75 ชั่วโมง 30 นาที), และเอมบริโอมีขนาดใหญ่ขึ้นจนกระทั่งเต็มแคปซูล ไข่แดงเริ่มลดลงและเอมบริโอมีการหมุนตัวมากขึ้นตามลำดับ (ที่ 93, 97, 109, 119 ชั่วโมง), เอมบริโอเริ่มฟักและฟักออกมาเป็นลูกปลาวัยอ่อนได้หมด (ที่ 127 และ148 ชั่วโมง) ตามลำดับ การเจริญและพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนภายหลังการฟัก มีลักษณะคล้ายคลึงกับปลาชนิดอื่นๆ โดยพบว่าลูกปลาการ์ตูนอานม้าเริ่มฟักในช่วงเวลาประมาณ 18.00-22.00 นาฬิกา ทันทีที่ลูกปลาฟักออกจากไข่ลูกปลาสามารถขยับปากไปมาและกินอาหารได้ทันที เนื่องจากถุงไข่แดงมีขนาดเล็กและมีปริมาณไข่แดงน้อย และพบว่าfin ray ของแผงครีบหลัง ครีบหางและครีบก้นเชื่อมต่อกันเป็นแนวยาว พบ ปุ่มครีบหู ช่องเปิดของ anusเป็นช่องเปิดขนาดใหญ่ เมื่อลูกปลามีอายุ 1 วัน ถุงไข่แดงในระยะนี้มีขนาดเล็กลงชัดเจน พบก้านครีบหูเป็นหนามแหลมไม่มีแผ่นครีบ ในระยะนี้ลูกปลาไม่ว่ายน้ำแต่นอนจมที่พื้นหรือเคลื่อนที่ไปตามแรงพ่นของออกซิเจนของน้ำในตู้ เริ่มพบรอยคอดเพื่อแยกส่วนของแผงครีบหลังกับครีบหางและครีบก้นกับครีบหางเมื่อลูกปลามีอายุ 2 วัน ลูกปลาอายุ 3 วันพบถุงไข่แดงเล็กลงมากจนเกือบหมดจึงทำให้เห็นกระเพาะอาหารชัดเจนขึ้นและเห็นผนังช่องท้องแยกจากผนังของกระเพาะอาหารชัดเจน เมื่อลูกปลาอายุ 4 วันสามารถแยก snout ออกจากส่วนหัวได้ชัดเจน ช่องเปิด anus มีขนาดเล็ก ลูกปลาอายุ 5 วันพบรอยคอดของครีบหลังกับครีบหางและครีบก้นกับครีบหางแยกสามารถใช้แบ่งแยกครีบทั้งสามออก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากกันได้อย่างชัดเจนและการว่ายน้ำของลูกปลาในระยะนี้เป็นการว่ายน้ำแบบเคลื่อนที่เข้าหาแสง เมื่อลูกปลาอายุ 7 วันพบเซลล์เม็ดสีตามลำตัวเป็นจำนวนมากและชัดเจนมากที่กล้ามเนื้อตามแนว lateral line พบก้านครีบทุกครีบของปลาการ์ตูนอานม้าเมื่อลูกปลามีอายุ 8 วัน เมื่อลูกปลาอายุ 10 วันพบก้านครีบและfin ray ของครีบท้องครบสมบูรณ์แต่ทำหน้าที่ในการควบคุมทิศทางในการว่ายน้ำได้ไม่ดี และเมื่อลูกปลามีอายุ 13 วันลูกปลาควบคุมทิศทางในการว่ายน้ำได้ดี และลูกปลามีรูปร่างเหมือนกับพ่อแม่ทุกประการ ครีบทุกครีบครบสมบูรณ์และทำหน้าที่ได้สัมพันธ์กันเป็นอย่างดี และเมื่อลูกปลาอายุ 24 วันแถบสีตามลำตัวของลูกปลาเหมือนพ่อแม่ทุกประการและมีรูปร่างและอวัยวะซึ่งทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ ยกเว้นเพียงอวัยวะสืบพันธ์เท่านั้นที่ยังไม่ทำหน้าที่เนื่องจากยังไม่สมบูรณ์เพศ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสิ้นสุดระยะ larvae และลูกปลาจะมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะ young หรือระยะ juvenile ต่อไป.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ขนิษฐา ทรรพนันทน์ และ รังสรรค์ ฉายากุล. 2543. ชีววิทยาประชากร 1: การศึกษาชีวประวัติสัตว์น้ำ, น. 7-14. ใน ขนิษฐา ทรรพนันทน์, บรรณาธิการ. **ชีววิทยาประมง**. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 146 หน้า.

วิมล เหมะจันทร. 2536. **ปลาวัยอ่อน : ความรู้เบื้องต้น**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 242 น.

วิมล เหมะจันทร. 2540. **ชีววิทยาปลา**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 318 น.

วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. **การเพาะขยายพันธุ์ปลา**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 194 น.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2542. **มีนวิทยา**. สำนักพิมพ์พิมพ์ดีจำกัด, กรุงเทพฯ. 568 น.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. **การเพาะขยายพันธุ์ปลา**. สำนักพิมพ์รั้วเขียว มหาวิทยาเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 231 น.

อุทัยวรรณ โกวิทวที. 2536. **เอกสารประกอบการสอนวิชาการเก็บรักษาตัวอย่างสัตว์**. ภาควิชาสัตววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 254 น.

อุ่นจิต ปาติยเสวี. 2537. การศึกษาพฤติกรรมการวางไข่และการเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนส้มขาว False Clown Anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Covier 1830), น. 393-412. ใน **รายงานการสัมนาวิชาการปี** 2537. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

Akagawa, I., Y. Tsukamoto. And M. Okiyama. 1995. Sexual dimorphism and pair spawning into a spong by the filefish, *Brachaluters ulvarum*, with a description of the eggs and larvae. **Jap. J. Ichthyol.** 41 (4) : 397-407.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Allen, G.R. 1972. **The Anemonefishes: Their Classification and Biology.** T.F.H. Publications, Inc., Neptune City. New Jersey. 288 p.

----------. 1980. **Anemonefishes of the World: Species, Care, and Breeding.** Aquarium Systems. Mentor. Ohio. 104 p.

----------. 1991. **Demselfishes of the World.** MERGUS Publishers Hans A. Baensch. Melle. 271 p.

Anonemous. 1999. **Courtship,spawing and incubation: Breeding.** Available Source: http://www.uoguelph.ca/~laurelma/breeding.htm, July 14, 2002.

Anonemous. 2002. **Anemonefishes-damselfishes (Amphiprioninae).** Available Source:http://www.starfish.ch/reef/anemonefish.html, July 12, 2002.

Anonemous. n.d. **Anemonefishes and their nost sea anemones.** Available Source: http://www.biodiversity.uno.edu/ebooks/ch1.html, July 16, 2002.

Arai, H. 1994. Spawning behavior and early ontogeny of a Pomacanthid Fish, *Chaetodontoplus duboulayi*, in an aquarium. **Jap. J. Ichthyol.** 41(2): 181-187.

Balon, E. K. 1975. Terminalogy of intervals in fish development. **J. Fish Res. Bd. Can.** 32 : 1663-1667.

Bell, L.J. 1976. Note on the nesting success and fecundity of the anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-Jima. **Jap. J. Ichthyol.** 22 (4) : 207-211.

Conn, D. B. 1991. **Atlas Invertebrate Reproduction and Development.** Wiley-Liss, Inc., New York. 252 p

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Delsman, H.C. 1930. Fish eggs and larvae from the Java Sea. **Treubia** 12 (3-4) : 367-370.

Eda, H., T. Takita and Y. Uno. 1995a. Larval and juvenile development of dragonets, *Repomucenus richardsonii* and *R. valenciennei,* reared in a laboratory. **Jap. J. Ichthyol.** 41(2): 149-158.

Eda, H., T. Fujiwara and T. Takita. 1995b. Embryonic larval and juvenile Development in laboratory-reared dragonets, *Repomucenus beniteguri.* **Jap. J. Ichthyol.** 40(4): 465-473.

Fishelson, L. 1965. Observation and experiments on the Red Sea anemones and Their symbiotic fish *Amphiprion bicinctus*. **Bull. Sea Fish, Red Stat. Haifa.** 39 : 1-14.

Garnaud, J. 1951. Nouvelles donnees sur l'Ethologie d'un Pomacentride : *Amphiprion percula* Lacepede. **Bull. Inst. Oceanogr Monaco** 998: 1-12. Cited by G. R. Allen. 1972. **The Anemonefishes: Their Classification and Biology.** T.F.H. Publications, Inc., Neptune City. New Jersey.

Henningsen, A.D. 1989. An introduction to breeding clownfishes. **Trop. Fish Hobbyist.** 1989 : 97-99.

Iwamatsu, T. 1994. Stages of normal development in the Medaka, *Oryzias latipes.* **Zoo. Sci.** 11 : 825-839.

Kawase, H., N. Mochioka. and A. Nakazono. 1993. Otolith increment formation and Planktonic larval duration of a temperate damselfish, *Chromis notatus notatus.* **Jap. J. Ichthyol.** 40 : 377-380.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Kawase, H. and A. Nakazono. 1994. Embryonic and pre-larval development and Otolith Increments in two Filefishes, *Rudarius ercodes* and *Paramonacanthus japonicus* (Monacanthidae). **Jap. J. Ichthyol.** 41 (1) : 57-63.

Kimmel, C. B., W. W. Ballard., S. R. Kimmel., B. Ullmann. And T. F. Schilling. 1995. Stages of embryonic development of the Zebrafish. **Dev. Dyn.** 203: 253-310.

Lagler, K. F. 1969. **Freshwater Fishery Biology.** WM. C. Brown company publishers, Dubugue. Iowa. 412 p.

Long, W. L. and W. W. Ballard. 2001. Normal embryonic stages of the longnose gar, *Lepisosteus osseus*. **Dev. Biol.** 1(1): 1-16.

Long, W. L. and W. W. Ballard. 1976. Normal embryonic stages of the White sucker, *Catostomus commersoni*. **Copeia.** 1976: 342-351.

Mayer, I., S. E. Shackley and J. S. Ryland. 1988. Aspect of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. An histilogical and histochemical study of oocyte development. **J. Fish Biol.** 33: 609-622

Morrison, C. M., T. Miyaki. And J. R. Wright, Jr. 2001. Histological study of the development of the embryo and early larvae of *Orechromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). **J. Morphol.** 247: 172-195.

Moyer, J.T. and R.C. Steene. 1979. Nesting behavior of the anemonefish *Amphiprion polymnus*. **Jap. J. Ichthyol.** 26 (2) : 209-214.

Purkett, C. A. 1961. Reproduction and early development of the Paddlefish. **Trans. Am. Fish. Soc.** 90(2) : 125 -129.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Richards, W. J. and V. P. Saksena. 1980. Description of larvae and early juvenile of laboratory-reared Gray snapper, *Lutjianus griseus* (lLinnaeus) (Pisces, Lutjanaidae). **Bull. Marine. Sci.** 30(2): 515-522.

Ross, R.M. 1978. Reproductive behavior of the anemonefish *Amphiprion melanopus* on Guam. **Copeia** 1: 103-107.

Russell, F. S. 1976. **The Egg and Planktonic Stage of Britis Marine Fishes.** Academic Press Inc. London. Ltd., 524 p.

Sunobe, T. and A. Nakazono. 1989. Embryonic development and pre-larva of a gobiid fish Priolepsis naraharae. **Jap. J. Ichthyol.** 35(4): 484-487.

Takita, T. 1983. Embryonic and larval development of the Callionymid fish, *Callionymus calliste*. **Jap. J. Ichthyol.** 20(4): 441-445.

Taylor, W. R. 1967. Outline of method of clearing tissue with pancreatic enzyme and Staining bones of small vertebrates. **Turtox News.** 45 (12): 308-309.

Tsukamoto, Y. and S. Kimura. 1993. Development of laboratory-reared eggs, larvae and juveniles of the Atherinid Fish, *Hypoatherina tsurugae*, and comparison with related species. **Jap. J. Ichthyol.** 40(2): 261-267.

Verway, J. 1930. Coral reef studies. I. The symbiosis between damselfishes and sea anemones in Batavia Bay. **Treubia** 12 : 305-366.

Wamatsu, T. 1994. Stage of normal development in the medaka, *Oryzias latipes*. **Zool. Sci.** 11: 825-839.

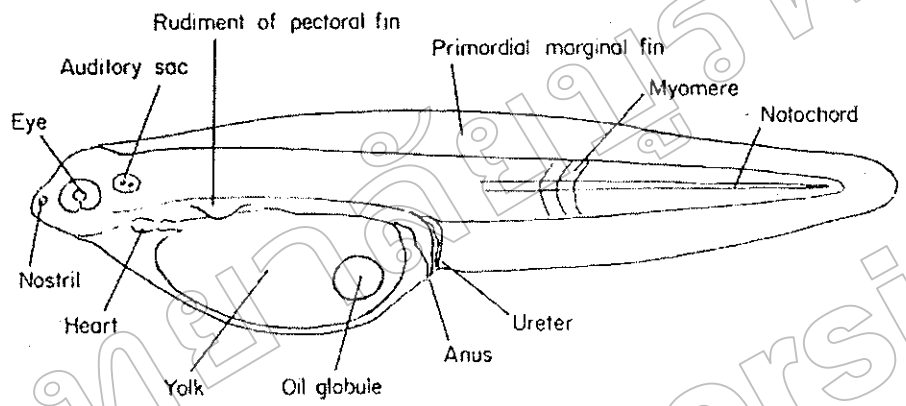
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Yamamoto, T. 1975. Stage in the development. Available Source: http://www.biol1.bio.nagoya-u.ac.jp:8000/Stages.html, July 21, 2002.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก

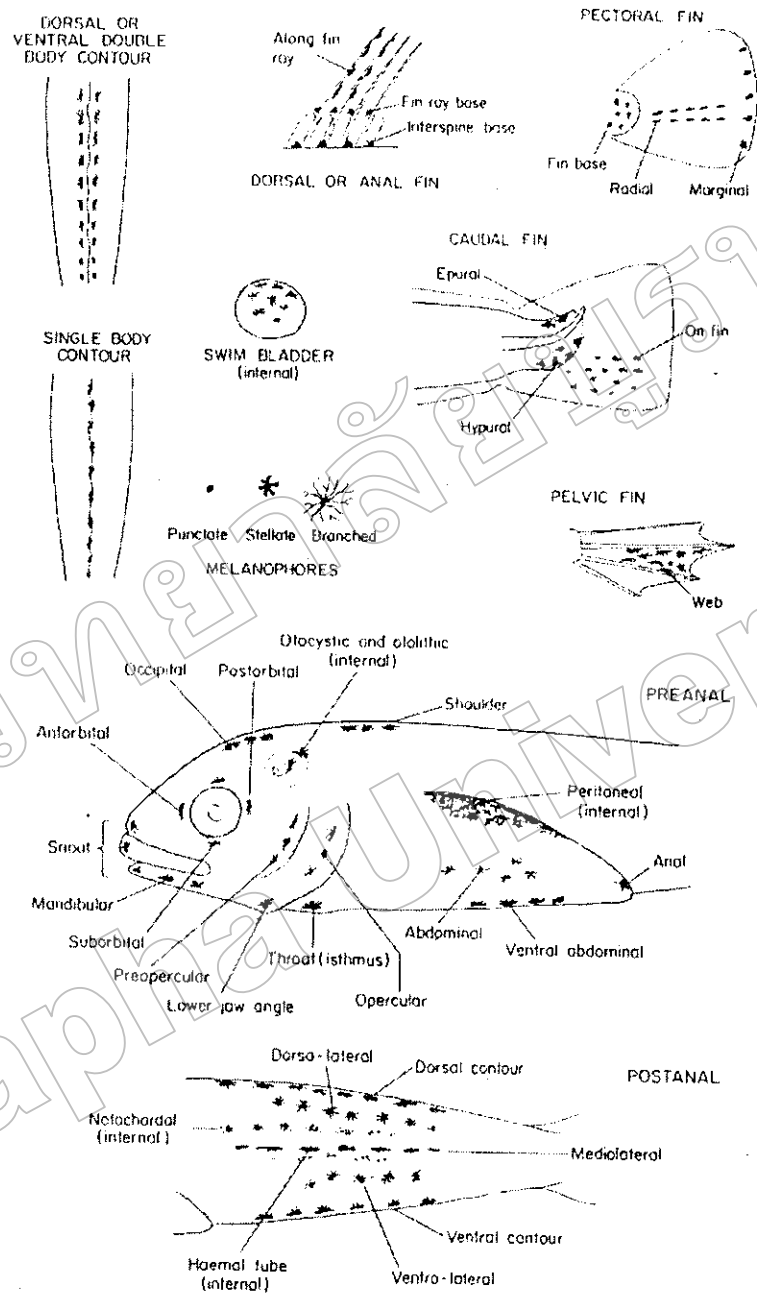
มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University



ภาพภาคผนวกที่1. แสดงตำแหน่งของอวัยวะต่างๆในตัวอ่อนของลูกปลา

(จาก Russell, 1976)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพภาคผนวกที่ 2. แสดงตำแหน่งของการเกิดเซลล์สารสีของตัวอ่อนลูกปลา

(จาก Russell, 1976)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเตรียมสารเคมีและสีย้อม

สารเคมีและสีย้อมในการศึกษาโดยการทำ whole mount

1. น้ำยาคงสภาพ 10% Neutral buffered formalin solution

37-40% formalin	100.0 ml
distilled water	900.0 ml
sodium phosphate monobasic	4.0 gm
sodium phosphate dibasic (anhydrous)	6.5 gm

2. glecerin jelly

gelatin	10.0 gm
glycerin	70.0 ml
phenol	1.0 ml
distilled water	60.0 ml

ต้มน้ำเพื่อละลาย gelatin ให้ใสก่อนแล้วยกลง ค่อยๆเติม glycerin และ phenol คนให้เข่ากัน ก่อนใช้ต้องทำให้สารละลายอุ่นก่อนจึงใช้ได้

สารเคมีและสีย้อมในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกระดูกโดยวิธีการดองใส

1. น้ำยาคงสภาพ 10% Formalin solution

37-40% formalin	100.0 ml
water	900.0 ml

2. สีย้อมกระดูกอ่อน Alcian blue solution

Alcian blue	10.0 ml
Ethyl alcohol	80.0 ml
Glacial acetic acid	20.0 ml

ละลายสี alcian blue ใน ethyl alcohol ให้หมดก่อนจึงค่อยเติม glacian acetic acid คนให้เข้ากัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

190665

3. สีย้อมกระดูกแข็ง Alizarin red s solution

3.1 stock solution

alizarin red s, saturated in 50%acetic acid	5.0 ml
1% choral hydrate	60.0 ml
glycerin	10.0 ml

stock solution ควรเก็บไว้ในขวดสีชาและไว้ในตู้ที่เย็น

3.2 working solution

stock solution	15.0 ml
2% potassium hydroxide	1,000.0 ml

4. 2% potassium hydroxide

potassium hydroxide	2 gm
water	100.0 ml

5. 1% choral hydrate

choral hydrate	1 gm
water	100.0 ml

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University