

พัฒนาการเจริญของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) อายุ 1-20 วัน

Development of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Aged 1-20 Days

อาทิตยาพร ชุศรีพัฒน์ (Arthittayaporn Chusripat)* พรพิมล เจียรนัยปริเปรม (Pornpimol Jearanaiprepare)**

ชุตินา หาญจวนิช (Chutima Hanjavanit)***

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาพัฒนาการเจริญของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) อายุ 1-20 วัน โดยสังเกตลักษณะภายนอกภายใต้กล้องสเตอริโอ ผลการศึกษาพบว่าไข่โกตอยู่ในปากแม่พันธุ์นาน 24 ชั่วโมง มีการเจริญระยะ gastrula ต่อมาเป็นเอ็มบริโอระยะ segmentation (24-37 ชั่วโมง) มีการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ (1) โซไมท์ (somite) ที่ 24-28 ชั่วโมง (2) เริ่มสร้างตาที่เวลา 31-34 ชั่วโมง (3) ร่องรอยของสมองปรากฏที่ 34-37 ชั่วโมง ระยะ pharyngula มีพัฒนาการของอวัยวะต่าง ๆ เช่น (1) หัวใจเริ่มเต้นที่ 46-49 ชั่วโมง (2) retina มีการสร้างรงควัตถุที่เวลา 52-55 ชั่วโมง (3) มี blood circulation ที่เวลา 58-61 ชั่วโมง (4) หัวมีขนาดใหญ่ขึ้นในช่วงเวลา 55-58 ชั่วโมง hatching เกิดในช่วงเวลา 88-93 ชั่วโมง (3 วัน) ระยะ early larva มีการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ดังนี้ (1) แผ่นปิดเหงือกเริ่มปรากฏที่ 99-105 ชั่วโมง (4 วัน) (2) ปากเริ่มเปิดและมีการเคลื่อนไหวของขากรรไกรที่ 105-111 ชั่วโมง (4 วัน) (3) ฟันเริ่มปรากฏที่ 135-141 ชั่วโมง (5 วัน) (4) ถุงลมเริ่มปรากฏและเริ่มว่ายน้ำที่ 141-147 ชั่วโมง (9 วัน) ต่อมาระยะ late larva ที่ 187-198 ชั่วโมง (13 วัน) ระยะนี้พบไข่แดงลดปริมาณลง 75 % ระยะ early juvenile เริ่มเมื่ออายุ 198-275 ชั่วโมงเป็นต้นไป พบไข่แดงถูกใช้หมดไป

ABSTRACT

Aim of this study was to investigate development of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) aged 1-20 days by external morphology observation under stereo-microscope. Results showed that zygotes were in mouth of maternal brooders for 24 h and developed to gastrula stage. Segmentation stage occurred during 24-37 h, somite and eye formation were found at 24-28 and 31-34 h, respectively, whereas rudiment of brain appeared at 34-37 h. Pharyngular stage, heart beat at 46-49 h, retinal pigment and blood circulation occurred at 52-55 and 58-61 h, respectively and head enlargement was found at 55-58 h. Hatching appeared at 88-93 h (3 days). Early larval period, gill cover started to form at 99-105 h (4 days), mouth open and jaws movement at 105-111 h (4 days), teeth occurred at 135-141 h (5 days) and swim bladder inflated and swimming at 141-147 h (9 days). Late larva appeared at 187-198 h (13 days) and amount of yolk was absorbed and reduced to 75%. Early juvenile started at 198-275 h and completely absorption of yolk.

คำสำคัญ: พัฒนาการปลานิล อายุ 1-20 วัน *Oreochromis niloticus*

Keywords: Development of Nile tilapia, Aged 1-20 days, *Oreochromis niloticus*

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ปลานิลมีชื่อสามัญ Nile tilapia ชื่อวิทยาศาสตร์ *Oreochromis niloticus* อยู่ในสกุล *Oreochromis* วงศ์ Cichidae และอันดับ Perciformes มีถิ่นอาศัยในแม่น้ำจอร์แดนประเทศจอร์แดน แม่น้ำไนล์ประเทศอียิปต์ และตามหนอง บึง ทะเลสาบในทวีปแอฟริกา (สมโภชน์, 2548) ปลานิลสกุล *Oreochromis* เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุดสกุลหนึ่งที่ได้รับ ความนิยมในการเพาะเลี้ยง ทั่วโลกมีมากกว่า 75 ประเทศที่เพาะเลี้ยงปลานิลนี้ *Oreochromis niloticus* เป็นปลานิลชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญมากที่สุด ในปัจจุบันมีการใช้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็น ตัวอย่างในการศึกษาด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล (molecular genetic) (Agnese et al., 1997; Kocher et al., 1988; Oliveira, Wright, 1998) ระบบต่อมไร้ท่อ (endocrinology) (Yang et al., 1997a; Wright et al., 1998b, 2000) xenotransplantation (Yang et al., 1997b; Wright et al., 1998a; Yang, Wright, 1999; Yu, Wright, 1999) และ transgenic research เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายในตู้ปลา และมีขนาดใหญ่พอที่จะใช้ในการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาหลังจากศึกษา transgenic manipulation (Chen et al., 1995; MacKenzie, 1996; Wright, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่า ปลานิลเป็นปลาที่ออกลูกดก (ให้ไข่หลายพันฟองต่อ 1 คอก) สามารถผสมพันธุ์ได้ทั้งปี และมีช่วงอายุแต่ละรุ่นสั้น (ตั้งแต่ปฏิสนธิจนถึงวัยเจริญพันธุ์) ประมาณ 5-6 เดือน (Rahman et al., 1998; Wright, 2001)

ดังนั้นการศึกษานี้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษา การเจริญของเอ็มบริโอ และลูกปลาวัยอ่อนระยะแรก ของปลานิลที่ห้องปฏิบัติการภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาพัฒนาการปลา ชนิดต่างๆ และนำไปใช้ประยุกต์เพื่อใช้ในการ เพาะเลี้ยงและอนุรักษ์พันธุ์ปลาชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังสามารถนำความรู้ที่ได้ใช้เลือกอายุของปลาที่จะนำมา ศึกษาความเป็นพิษทางน้ำได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาพัฒนาการการเจริญระยะต่าง ๆ ของลูกปลานิลอายุ 1-20 วัน

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

ไข่ปลานิลที่ได้รับการปฏิสนธิจากพ่อพันธุ์ แม่พันธุ์จิตรลดา 1 จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดขอนแก่น จำนวน 5,000 ฟอง

การฟักเอ็มบริโอ

นำไข่ปลานิลที่ได้รับการปฏิสนธิ จำนวน 1,000 ฟอง มาฟักในถังพลาสติกขาวบรรจุน้ำประปาที่ ปราศจากคลอรีนปริมาตร 2 ลิตร โดยมีระบบน้ำไหล ผ่านตลอดเวลา จำนวน 5 ถึง ที่เรือนสัตว์ทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การศึกษาพัฒนาการของเอ็มบริโอปลานิล

การศึกษานี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิที่นำมาฟักในถังพลาสติกขาวทันที ถือว่าเป็น 0 ชั่วโมงของเอ็มบริโออายุ 1 วัน ต่อมาสุ่มเก็บ ตัวอย่างเอ็มบริโออายุ 1-4 วัน ทุกๆ 4 ชั่วโมง สุ่มเก็บ ตัวอย่างเอ็มบริโออายุ 5-7 วัน ทุกๆ 6 ชั่วโมง และสุ่มเก็บตัวอย่างเอ็มบริโออายุ 8-11 วัน ทุกๆ 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างเอ็มบริโออายุ 12-20 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง ซึ่งชั่วโมงที่เลือกเก็บตัวอย่างในการศึกษานี้ตามการศึกษาของอภิชาติ (2546) ในการเก็บตัวอย่างเอ็มบริโอแต่ละครั้งเก็บจำนวน 10 ตัว จากนั้นนำมาศึกษาลักษณะภายนอกของเอ็มบริโอ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Olympus SZX-A, Japan) และบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Olympus SZX-AS, Japan) ที่มีกล้องสำหรับถ่ายภาพ พร้อมวัดขนาดความยาวลำตัวของลูกปลาอายุแต่ละวัน จากภาพถ่าย

ผลการศึกษา

พัฒนาการการเจริญระยะต่างๆ ของปลาชนิด

อายุ 1-20 วัน

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ใช้เกณฑ์ของ Fujimura และ Okada (2007) ในการแบ่งพัฒนาการการเจริญของลูกปลานิลออกเป็นระยะต่างๆ ดังนี้ (1) Embryo ประกอบด้วยระยะ zygote cleavage blastula gastrula segmentation pharyngula และ hatching (2) Larva ประกอบด้วยระยะ early larva และ late larva (3) Juvenile แบ่งเป็น ระยะ early juvenile และ late juvenile เนื่องจากตัวอย่างปลานิลที่นำมาศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วและอยู่ในปากแม่พันธุ์ ซึ่ง embryo มีการเจริญระยะ gastrula ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานภายนอกของลูกปลานิลอายุ 1-20 วัน (ตารางที่ 1) เป็นดังนี้

Embryo อายุ 24-28 ชั่วโมง อยู่ใน ระยะ segmentation ลำตัวมีลักษณะใส รูปร่างยาวรี วางตัวอยู่ทางด้านบนของไข่แดงก่อนไปทางด้านแหลม มีการสร้างโซไมท์ (somite) แต่สังเกตได้ไม่ชัดเจน สมอเริ่มมีการพัฒนา เบ้าตา (Optic cup) เริ่มพัฒนา (รูปที่ 1-1)

Embryo อายุ 28-31 ชั่วโมง อยู่ใน ระยะ segmentation Embryo มีขนาดเพิ่มขึ้น โซไมท์ (somite) มีจำนวนมาก embryo มีขนาดใหญ่ขึ้น เบ้าตา (optic cup) พัฒนาเป็นวงกลม สมอมีขนาดใหญ่ขึ้น หางมีความยาวมากขึ้น (รูปที่ 1-2)

Embryo อายุ 31-34 ชั่วโมง ระยะ segmentation โซไมท์ (somite) มีจำนวนมากขึ้น ช่องว่างระหว่างเชื้อหุ้มไข่แดงกับไข่แดงมีขนาดเล็กลง (รูปที่ 1-3)

Embryo อายุ 34-37 ชั่วโมง ระยะ segmentation รังควัตถุ (melanophore) เริ่มปรากฏ ประมาณ 10-20 จุด (รูปที่ 1-4)

Embryo อายุ 37-40 ชั่วโมง ระยะ segmentation เบ้าตา (optic cup) พัฒนาล้ำวงกลม สมอมีขนาดใหญ่ขึ้น รังควัตถุกระจายเพิ่มมากขึ้น ประมาณ 20-40

จุด และเมื่อดำเนินการรวมตัวกันเป็นจุดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 1-5)

Embryo อายุ 40-43 ชั่วโมง ระยะ segmentation embryo มีขนาดเพิ่มมากขึ้น โซไมท์ มีสีขาวขุ่นกระจุกเส้นเลือดเล็กๆทางด้านหน้า embryo เริ่มปรากฏและรวมตัวกันบริเวณด้านหลังขากรรไกร (รูปที่ 1-6)

Embryo อายุ 43-46 ชั่วโมง ระยะ pharyngula หัวใจเริ่มปรากฏ embryo เริ่มปรากฏรังควัตถุ ประมาณ 3-10 จุด embryo เริ่มขยับและเคลื่อนไหว (รูปที่ 1-7)

Embryo อายุ 46-49 ชั่วโมง ระยะ pharyngula หัวใจเริ่มต้น เส้นเลือดที่บริเวณใต้ไข่แดงรวมตัวกันจำนวนมาก (รูปที่ 1-8)

Embryo อายุ 49-52 ชั่วโมง ระยะ pharyngula ลำตัวและหางมีลักษณะยาว สมอขยายขนาดมากขึ้น เส้นเลือดแตกแขนงเป็นเส้นเลือดฝอยจำนวนมาก (รูปที่ 1-9)

Embryo อายุ 52-55 ชั่วโมง ระยะ pharyngula เส้นเลือดฝอยกระจายจากบริเวณหัวใจลงมาทางด้านล่างไข่แดงวนไปถึงหาง (รูปที่ 1-10)

Embryo อายุ 55-58 ชั่วโมง ระยะ pharyngula หัวขยายขนาดมากขึ้นและสมอมีขนาดใหญ่มากขึ้น ตุ่มครีบออกเริ่มปรากฏ รังควัตถุกระจายไปบนลำตัวของ Embryo มากขึ้น (รูปที่ 1-11)

Embryo อายุ 58-61 ชั่วโมง ระยะ pharyngula ตาเริ่มปรากฏสีเทาดำลักษณะใส เห็นเป็น 2 ชั้น คือ เลนส์กับตารอบเลนส์ (รูปที่ 1-12)

Embryo อายุ 61-64 ชั่วโมง ระยะ pharyngula ครีบออกพัฒนามากขึ้น (รูปที่ 1-13)

Embryo อายุ 64-67 ชั่วโมง ระยะ pharyngula กระดูกเหงือกและกระดูกขากรรไกรพัฒนา เหงือกและแผ่นปิดเหงือกสามารถสังเกตได้ รังควัตถุกระจายตัวไปยังส่วนหัวของ Embryo (รูปที่ 1-14)

Embryo อายุ 67-70 ชั่วโมง ระยะ pharyngula สังเกตเห็นถุงลม (swim bladder) ในช่องท้อง (รูปที่ 1-15)

Embryo อายุ 70-73 ชั่วโมง ระยะ pharyngula
บริเวณรอบเลนส์ตามีความเข้มมากขึ้น (รูปที่ 1-16)

Embryo อายุ 73-78 ชั่วโมง ระยะ pharyngula
เส้นเลือดฝอยกระจายทั่วไขแดง (รูปที่ 1-17)

Embryo อายุ 78-83 ชั่วโมง ระยะ pharyngula
หัวและหางของ embryo แยกจากไขแดงครีบอกชัดเจน
และครีบท้องขึ้น (รูปที่ 1-18)

Embryo อายุ 83-88 ชั่วโมง ระยะ hatching
embryo พีกออกจากไข่ (รูปที่ 1-19)

Larva อายุ 88-93 ชั่วโมง ระยะ early larva
พบครีบท้อง 4 คู่ คือ ครีบท้อง ครีบอก ครีบกาง และ
ครีบท้อง (รูปที่ 1-20)

Larva อายุ 93-99 ชั่วโมง ระยะ early larva
ขากรรไกรล่างเคลื่อนไหวได้ ส่วนหัวมีรงควัตถุ
กระจายมากขึ้น (รูปที่ 1-21)

Larva อายุ 99-105 ชั่วโมง ระยะ early larva
หัวใจมีขนาดใหญ่ รังควัตถุที่บริเวณท้องมีมากขึ้นและ
รงควัตถุที่บริเวณหัวปรากฏชัดเจน (รูปที่ 1-22)

Larva อายุ 105-111 ชั่วโมง ระยะ early
larva สีของลำตัวขาวนวลระบบทางเดินอาหารส่วน
ปลายสังเกตเห็นชัดเจน (รูปที่ 1-23)

Larva อายุ 111-117 ชั่วโมง ระยะ early larva
หัวใจมี 2 ห้องสมบูรณ์ และเคลื่อนไปอยู่ในตำแหน่งที่
เหมาะสม (รูปที่ 1-24)

Larva อายุ 117-123 ชั่วโมง ระยะ early
larva ปริมาณไขแดงลดลง รังควัตถุที่บริเวณท้องมีสีดํา
เข้ม (รูปที่ 1-25)

Larva อายุ 123-129 ชั่วโมง ระยะ early larva
ครีบกางแผ่ขยายออกและครีบท้องยาว (รูปที่ 1-26)

Larva อายุ 129-135 ชั่วโมง ระยะ early larva
ครีบอกเคลื่อนไหวได้ แผ่นปิดเหงือกขยายขนาด (รูปที่
1-27)

Larva อายุ 135-141 ชั่วโมง ระยะ early larva
เหงือกและซี่เหงือกเห็นเป็นแถบชัดเจน (รูปที่ 1-28)

Larva อายุ 147-153 ชั่วโมง ระยะ early larva
ด้านบนลำตัวมีรงควัตถุกระจายทั่วไป (รูปที่ 1-29)

Larva อายุ 153-159 ชั่วโมง ระยะ early larva
ครีบกางมีความยาวมากขึ้น มีซิโม่และร่องครีบท้อง
เพิ่มขึ้น (รูปที่ 1-30)

Larva อายุ 159-165 ชั่วโมง ระยะ early larva
เลนส์ตาขยับไปมา กรอกตาไปมา กระดูกกางแผ่ออก
เหมือนพัด (รูปที่ 1-31)

Larva อายุ 165-176 ชั่วโมง ระยะ early larva
บริเวณใต้เหงือกมีสีเข้มเป็นแถบ ปลามีขนาดลำตัว
ใหญ่รงควัตถุที่หัวกระจุกรวมกันมีสีดําเข้ม (รูปที่ 1-
32)

Larva อายุ 176-187 ชั่วโมง ระยะ early larva
ลักษณะเนื้อเยื่อตาเห็นเป็น 2 วง หัวมีสีเข้มมากครีบท้อง
ตรงกลางเว้าเข้าเป็นแถบ ขากรรไกรยาวและ
แข็งแรง (รูปที่ 1-33)

Larva อายุ 187-198 ชั่วโมง ระยะ late larva
ครีบกางมีลักษณะตรงปลายหักไขแดงมีปริมาณลดลง
(รูปที่ 1-34)

Larva อายุ 198-209 ชั่วโมง ระยะ late larva
หัวและลำตัวมีลักษณะยาว หัวใจเคลื่อนเข้าไปยัง
ตำแหน่งใต้เหงือกสมบูรณ์ ไขแดงลดปริมาณลงเกือบ
ทั้งหมด กระดูกกางแยกเป็นแฉก 2 แฉก (รูปที่ 1-35)

Larva อายุ 209-220 ชั่วโมง ระยะ late larva
แถบของฟันบนขากรรไกรเริ่มสังเกตเห็นชัดเจน (รูปที่
1-36)

Larva อายุ 220-231 ชั่วโมง ระยะ late larva
รงควัตถุกระจายลงมายังขากรรไกรบนบริเวณ
premaxilla (รูปที่ 1-37)

Larva อายุ 231-242 ชั่วโมง ระยะ late larva
รงควัตถุบริเวณลำตัวกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ (รูปที่
1-38)

Larva อายุ 242-253 ชั่วโมง ระยะ late larva
ร่องริมฝีปากโค้งขึ้นไปทางด้านบนทำให้ขากรรไกร
ล่างยื่นยาวไปทางด้านหน้ามากกว่าขากรรไกรบน (รูป
ที่ 1-39)

Juvenile อายุ 253-264 ชั่วโมง ระยะ early juvenile ลำตัวมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเข้ม (รูปที่ 1-40)

Juvenile อายุ 264-275 ชั่วโมง ระยะ early juvenile รังควัตถุกระจายทั่วไปบนลำตัวและกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ไข่แดงหดหายไปทั้งหมด (รูปที่ 1-41)

Juvenile อายุ 275-298 ชั่วโมง ระยะ juvenile แผ่นปิดเหงือกเริ่มเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีดำ ตามีขนาดใหญ่ (รูปที่ 1-42)

Juvenile อายุ 298-321 ชั่วโมง ระยะ juvenile ลำตัวมีสีเขียวอ่อนและขาวขุ่น (รูปที่ 1-43)

Juvenile อายุ 321-344 ชั่วโมง ระยะ juvenile รังควัตถุบริเวณหัวส่วนกันเป็นร่างแหขาวพาดไปยังสันคิริบหลัง (รูปที่ 1-44)

Juvenile อายุ 344-367 ชั่วโมง ระยะ juvenile รอยต่อระหว่างหัวและหลังมีลักษณะนูนขึ้น (รูปที่ 1-45)

Juvenile อายุ 367-390 ชั่วโมง ระยะ juvenile รังควัตถุบนลำตัวกระจายตัวเป็นระเบียบ (รูปที่ 1-46)

Juvenile อายุ 390-413 ชั่วโมง ระยะ juvenile หัวมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อบริเวณท้องเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นน้ำตาลอ่อน (รูปที่ 1-47)

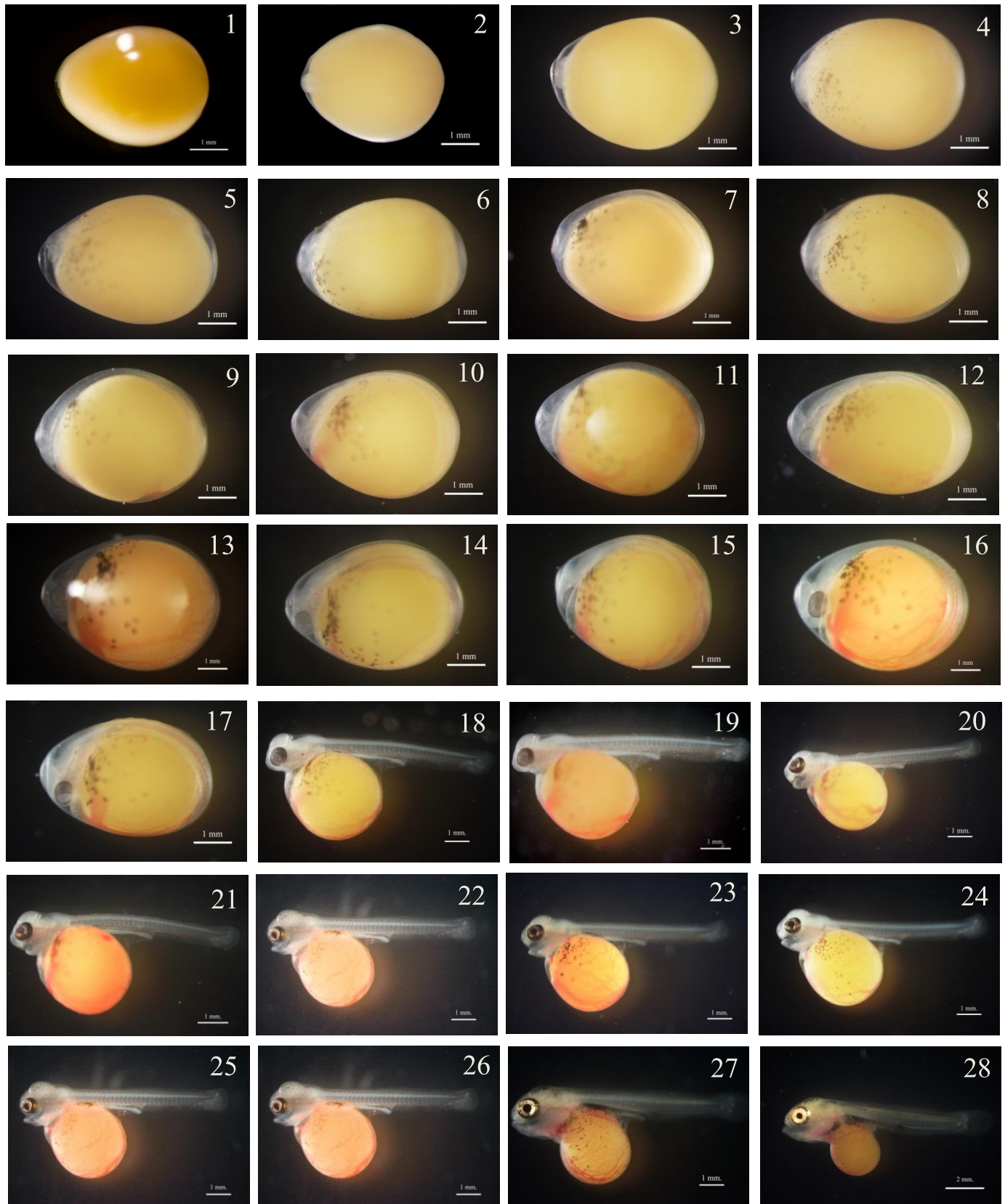
Juvenile อายุ 413-518 ชั่วโมง ระยะ juvenile รังควัตถุมีขนาดใหญ่ขึ้นปกคลุมเนื้อเยื่อบนลำตัวเกือบทั้งหมด เป็นสีน้ำตาลและเป็นจุด ลูกปลาวายน้ำได้ติ (รูปที่ 1-48)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

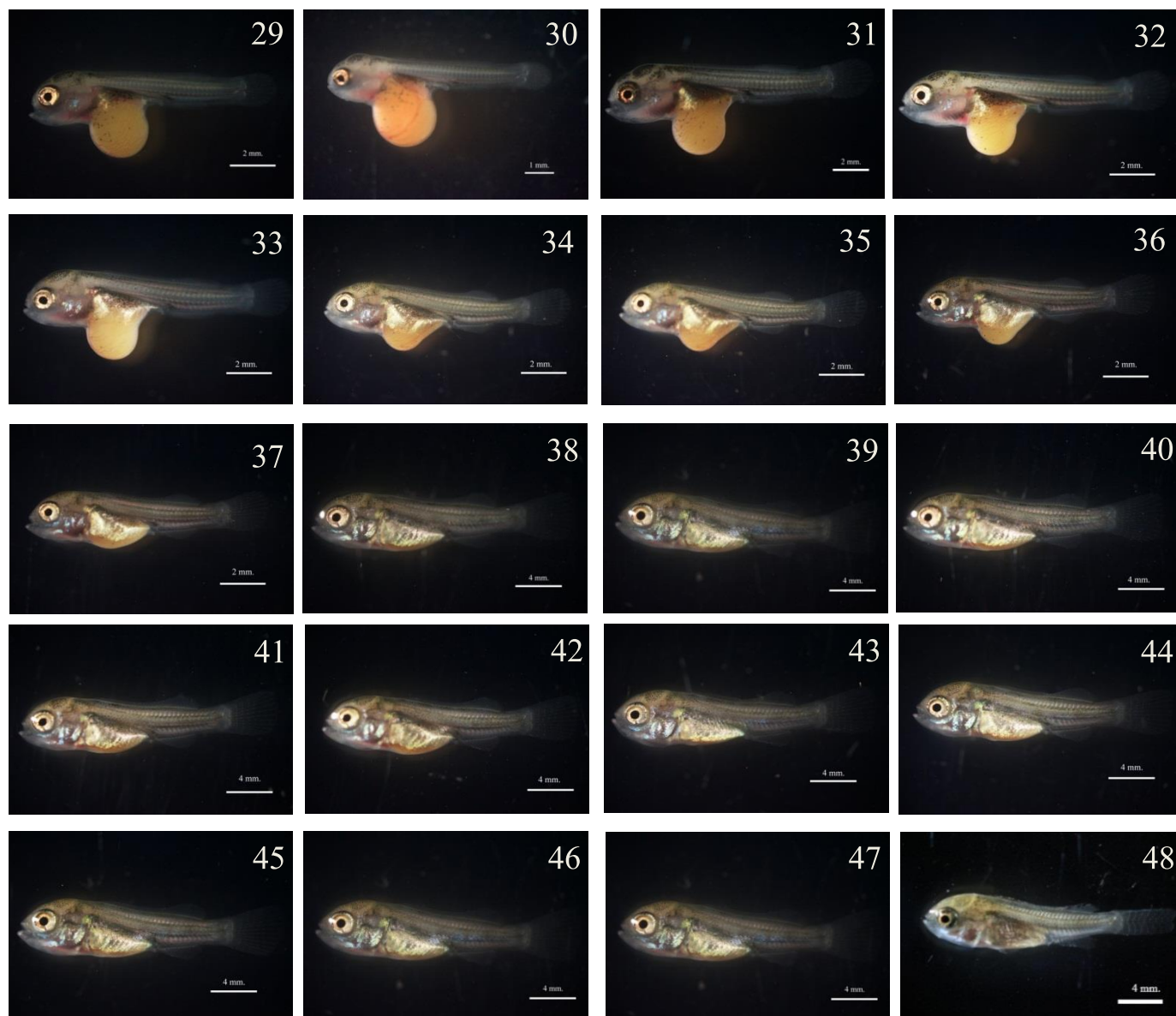
ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่นิยมนำมาบริโภคอย่างมาก เพื่อให้การเพาะเลี้ยงปลานิลมีศักยภาพสูง และขยายกว้างออกไป ดังนั้นความรู้เกี่ยวกับพัฒนาการของ early larva และการให้อาหารจึงเป็นเรื่องจำเป็นที่ต้องศึกษา จากผลการศึกษาลักษณะภายนอกของปลานิลอายุ 1-20 วันในครั้งนี ไม่พบเอ็มบริโอระยะ zygote cleavage blastula และ gastrula ซึ่งเป็นระยะที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยระยะ zygote

เกิดขึ้นภายใน 1.5 ชั่วโมง ระยะ cleavage เกิดขึ้นภายใน 1.5-4 ชั่วโมง ระยะ blastula เกิดขึ้นภายใน 4-22 ชั่วโมง gastrula เกิดขึ้นภายใน 22-26 ชั่วโมง (Fujimura, Okada, 2007) เนื่องจาก embryo อยู่ในปากของแม่พันธุ์นาน 24 ชั่วโมงก่อนที่จะนำมาศึกษา ดังนั้นเอ็มบริโอที่นำมาศึกษาจึงมีอายุประมาณ 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป โดยพบว่าเป็นเอ็มบริโอระยะ Segmentation ซึ่งมีการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ (1) มีการสร้างโซไมท์ (somite) ที่ 24-28 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในปลานิลของ Morrison et al.(2001) ที่เวลา 26-30 ชั่วโมง แต่ Fujimura, Okada (2007) รายงานว่าเอ็มบริโอระยะ segmentation ของปลานิลเกิดที่เวลา 26-40 ชั่วโมง (2) เริ่มสร้างตาที่เวลา 31-34 ชั่วโมง เหมือนกับรายงานของ Morison et al. (2001) พบว่าเอ็มบริโอสร้างตาที่ 31 ชั่วโมง แต่แตกต่างจากการศึกษาของ Fujimura, Okada (2007) ที่เวลา 40-44 ชั่วโมง และ (3) ร่องรอยของสมองปรากฏที่เวลา 34-37 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) ที่เวลา 46 ชั่วโมง และ 44-48 ชั่วโมง ตามลำดับ

เอ็มบริโอระยะถัดมาเป็นระยะ pharyngula พบมีพัฒนาการของอวัยวะต่าง ๆ เช่น (1) หัวใจเริ่มเต้นที่ 46-49 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาใกล้เคียงกับรายงานของ Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) ที่ 50 ชั่วโมง และ 48-60 ชั่วโมง ตามลำดับ (2) retina มีการสร้างรังควัตถุที่เวลา 52-55 ชั่วโมง



รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของ embryo larva และ juvenile ของปลานิล



รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของ embryo larva และ juvenile ของปลานิล (ต่อ)

ตารางที่ 1 แสดงพัฒนาการของปลานิลอายุ 1-20 วัน

ระยะพัฒนาการ		ลักษณะพัฒนาการ	วัน	ชั่วโมง
Embryo	Segmentation	โซไมท์ เริ่มปรากฏ	1	24-28
		ตาเริ่มปรากฏ	1	31-34
		สมองเริ่มแบ่งตัว	2	34-37
	Pharyngula	หูเริ่มปรากฏ	-	-
		รงควัตถุที่ตาเริ่มปรากฏ	2	48-52
		หัวใจเริ่มเต้น	3	52-55
		ระบบหมุนเวียนเลือดเริ่มปรากฏ	3	55-58
		หัวมีขนาดใหญ่	4	58-61
	Hatching	เริ่มฝักออกจากไข่	4	88-93
Larva	Early larva	เหงือกเริ่มปรากฏ	4	88-93
		ปากเริ่มเปิด ขากรรไกรเริ่มขยับ	5	93-99
		ฟินเริ่มปรากฏ	6	135-141
		เริ่มมีการกินอาหาร	7	141-147
		ถุงลมเริ่มปรากฏ เริ่มว่ายน้ำ	7	141-147
	Late larva	-	-	187-198
	Early juvenile	-	-	253-264

ซึ่งเร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001) ที่ 76 ชั่วโมง (3) มี blood circulation ที่เวลา 58-61 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Fujimura, Okada (2007) ได้รายงานไว้ที่เวลา 60-72 ชั่วโมง (4) หัวมีขนาดใหญ่ขึ้นในช่วงเวลา 55-58 ชั่วโมงซึ่งเร็วกว่า Fujimura, Okada (2007) ได้รายงานไว้ที่เวลา 72-90 ชั่วโมง ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถระบุการสร้าง otic vesicles แต่ Morrison et al. (2001) รายงานว่าการเกิด otic vesicles ที่ 76 ชั่วโมง

เอ็มบริโอถัดจากระยะ pharyngula เป็นระยะ hatching เกิดในช่วงเวลา 88-93 ชั่วโมง ซึ่งต่างจาก Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) ที่ 100-125 ชั่วโมง และ 90-110 ชั่วโมง ตามลำดับ

การพัฒนาในระยะต่อมาเป็นระยะ early larva พบว่า larva ระยะนี้มีการสร้างอวัยวะต่างๆ ดังนี้ (1) แผ่นปิดเหงือกเริ่มปรากฏที่ 99-105 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) ที่ 124 และ 110-120 ชั่วโมง ตามลำดับ (2) ปากเริ่มเปิดและมีการเคลื่อนไหวของขากรรไกรที่ 105-111 ชั่วโมงซึ่งเร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) ที่ 147 และ 120-132 ชั่วโมง ตามลำดับ (3) ฟินเริ่มปรากฏที่ 135-141 ชั่วโมงใกล้เคียงกับรายงานของ Fujimura, Okada (2007) ที่ 132-144 ชั่วโมง แต่เร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001) ที่ 148 ชั่วโมง และ (4) ถุงลมเริ่มปรากฏ และ larva เริ่มว่ายน้ำที่ 141-147 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่ารายงานของ Morrison et al. (2001)

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบพัฒนาการของปลานิล

ระยะพัฒนาการ		ลักษณะพัฒนาการ	การศึกษา	Morrison et al., 2001	Fujimura, 2007
			27 °C (ชั่วโมง)	27-29°C (ชั่วโมง)	28±1°C (ชั่วโมง)
Embryo	Zygote	Protoplasm เริ่มปรากฏ	-	1.5	0-1.5
	Cleavage	พบเซลล์ 2 เซลล์	-	1.5-2	1.5-2
		พบเซลล์ 4-8 เซลล์	-	2-3	2-3
		พบเซลล์ 16 เซลล์	-	4	4
		พบเซลล์ 32-64 เซลล์	-	4-4.5	-
	Blastula	ระยะ Morula หรือ Blastula ระยะแรก	-	5.5	4-12
		ระยะ Blastula	-	-	12-17
		Blastula ระยะกลาง	-	5.5-14	17-22
	Gastrula	Gastrula ระยะแรก และ เชื้อหุ้มเอ็มบริโอ	-	22	22-26
		Epibody เกิดขึ้น 30-40%,	-	22	-
	Segmentation	โซไมท์ เริ่มปรากฏ	24-28	26-30	26-40
		ตาเริ่มปรากฏ	31-34	31	40-44
		สมองเริ่มแบ่งตัว	34-37	46	44-48
	Pharyngula	หูเริ่มปรากฏ	-	76	48-60
		รงควัตถุที่ตาเริ่มปรากฏ	48-52	50	48-60
		หัวใจเริ่มเต้น	52-55	76	-
		ระบบหมุนเวียนเลือดเริ่มปรากฏ	58-61	-	60-72
Larva	Early larva	หัวมีขนาดใหญ่	55-58	-	72-90
		เริ่มฝักออกจากไข่	88-93	100-125	90-110
		เหงือกเริ่มปรากฏ	99-105	124	110-120
		ปากเริ่มเปิด ขากรรไกรเริ่มขยับ	105-111	147	120-132
		ฟันเริ่มปรากฏ	135-141	148	132-144
	Late larva	เริ่มมีการกินอาหาร	141-147	196	8-9 วัน
		ถุงลมเริ่มปรากฏ เริ่มว่ายน้ำ	141-147	196	132-144
Juvenile	Early juvenile	-	253-264	-	14-32 วัน

และ Fujimura and Okada (2007) ที่ 196 ชั่วโมง และ 132-144 ชั่วโมง ตามลำดับ ต่อมาเป็นระยะ late larva เริ่มที่อายุ 9 วัน (141-147 ชั่วโมง) เป็นต้นไป ระยะนี้พบไข่แดงลด

ปริมาณลง 75 % ซึ่งคล้ายกับ Fujimura and Okada (2007) ที่รายงานพบใน late larva 8-9 วัน เป็นต้นไป

ระยะต่อมาคือระยะ early juvenile เริ่มเมื่ออายุ 13 วัน (187-198 ชั่วโมง) เป็นต้นไป ระยะนี้พบไข่แดงถูกใช้จนหมดไป ซึ่งคล้ายกับการรายงานของ Fujimura and Okada (2007) กล่าวว่าระยะ Early juvenile เกิดเมื่ออายุ 12-13 วัน

ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าพัฒนาการของปลานิลอายุ 1-20 วันประกอบด้วยระยะ embryo larva และ juvenile เหมือนกับรายงานของการศึกษาก่อนหน้านี้ แต่ช่วงเวลาของพัฒนาการในแต่ละระยะในการศึกษานี้เกิดขึ้นได้เร็วกว่า (ตารางที่ 2) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงปลานิล คือ 27 องศาเซลเซียส แต่จากการศึกษาของ Morrison et al. (2001) และ Fujimura, Okada (2007) อุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงปลานิลมีช่วงกว้างกว่า คือ 27-29 องศาเซลเซียส กล่าวว่า อุณหภูมิมีอิทธิพลอย่างมากต่อพัฒนาการของปลา เช่นเดียวกับ Morrison et al. (2001) กล่าวว่าความแปรปรวนของช่วงเวลาในแต่ละระยะพัฒนาการของปลาอาจเนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงในแต่ละการศึกษามีความแตกต่างกัน และยังพบว่าอัตราของการพัฒนา (rate of development) ของลูกปลายังขึ้นกับอายุของพ่อแม่พันธุ์ โดยทั่วไปพบว่าไข่ที่เกิดจากพ่อแม่พันธุ์อายุมากจะมีช่วงเวลาของพัฒนาการในแต่ละระยะช้า และยังขึ้นกับสายพันธุ์อีกด้วย อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษานี้ยังอยู่ในช่วง 27-29 องศาเซลเซียส ดังนั้นความแตกต่างในช่วงเวลาของพัฒนาการแต่ละระยะอาจเนื่องจากความแตกต่างของสภาพที่ใช้เลี้ยงและสายพันธุ์ของปลา ซึ่งในที่นี้ใช้สายพันธุ์จิตรลดาการศึกษา มากกว่าอุณหภูมิที่ซึ่งสนับสนุนโดย Morrison et al. (2001)

ความเค็มยังเป็นปัจจัยสำคัญข้อหนึ่งต่อพัฒนาการของ embryo โดยมีการศึกษาจากนักวิจัยหลายท่าน ได้แก่ Okamoto et al. (2009) กล่าวว่าสภาพความเค็มของน้ำที่ใช้ระหว่างการฟัก และเพาะเลี้ยงลูกปลามีผลต่อพัฒนาการของ embryo อย่างชัดเจน โดยมีผลต่ออัตราการฟัก (hatching rate) อัตราการรอดชีวิต (survival rate) ลดลง และทำให้ Larva มีรูปร่างผิดปกติ (deformities in larvae) Fielder et al. (2005) กล่าวว่าความเค็มยังมีผลต่อขนาดของ larva โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงปลาในน้ำที่มีความเข้มข้นสูงเกินกว่าที่ปลาจะทนได้ มีผลทำให้ปลา มีขนาดเล็กลง Rodriguez-Montes de Oca et al. (2015) ศึกษาผลของความเค็มต่อพัฒนาการของ *Oreochromis* sp. 3 สายพันธุ์ พบว่า larva มีความทนต่อความเค็ม ซึ่งความเค็มมากกว่า 35‰ มีผลทำให้ความยาวลำตัวทั้งหมดของ larva ลดลง และดูไข่แดงของ larva มีขนาดเล็กลงด้วย แสดงว่า larva มีการใช้ไข่แดงเพิ่มขึ้น Hui et al. (2014) ยังกล่าวว่าความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ความเค็ม และค่า pH ของน้ำยังมีผลต่อการปฏิสนธิ และประสิทธิภาพการฟักตัวของปลานิล โดยพบว่าระดับความเค็ม 9.2‰ ที่ 27.1 องศาเซลเซียส และค่า pH ของน้ำ 7.4 เป็นค่าเหมาะสมที่สุดที่ทำให้ไข่ปลา มีอัตราการฟักเป็นตัวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ประเภของไข่ปลาก็ยังมีผลต่อพัฒนาการของปลา Kuwamaru, Mihiko (1988) กล่าวว่า ปลานิลวงศ์ Cichidae พวกที่อมไข่ไว้ในปาก จะมีจำนวนไข่น้อยแต่มีขนาดใหญ่กว่าพวกที่วางไข่ติดกับวัตถุ ต่อมาตัวอ่อนของพวกที่อมไข่ไว้ในปากจะกินอาหารจากภายนอก และมีพัฒนาการเร็วกว่าตัวอ่อนของพวกที่วางไข่ติดกับวัตถุ

ในการศึกษานี้ พบว่ารังควัดเริ่มปรากฏเมื่อ Embryo อายุ 34-37 ชั่วโมง โดยเกิดขึ้นที่บริเวณด้านข้างของไข่แดงได้บริเวณลำตัว embryo จากนั้นรังควัดจะขยายลงมาบริเวณด้านล่างและกระจายไปทั่วไข่แดง เมื่อ embryo อายุมากขึ้น รังควัดจะกระจายตัวไปที่บริเวณหัวและลำตัว เช่นเดียวกับรายงานของ Lingling, Qianru (1981) Fujimura, Okada (2007) พบ

รงควัตถุที่ตาของ Embryo ปลานิลอายุ 70 ชั่วโมง ซึ่งสามารถใช้บอกระยะของ embryo ที่มีตาปรากฏ ดังนั้นการปรากฏของรงควัตถุบนไข่แดงในระหว่างช่วงที่เป็น Embryo อาจใช้บอกระยะต่าง ๆ ของ embryo ได้ และอาจใช้จำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานของปลา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างไข่ปลานิลในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

สมโภชน์ อังคะทวีวัฒน์. สารานุกรม ปลาน้ำจืดไทย

เล่ม 2. องค์การคำครุสภา: กรุงเทพฯ; 2548.

Agnese JF, Adepo-Gourene B, Abban EK, Fermon Y.

Genetic differentiation among natural populations of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei, cichlidae). *Heredity* 79 (Pt 1): 88–96; 1997.

Chen T T, Lu J-K, Shambloot M J, Cheng C M,

Lin C M, Burns JC, Reimschuessel R, Chatakondi N, Dunham RA. Transgenic fish: ideal models for basic research and biotechnological applications. *Zool Stud* 34: 215–234; 1995.

Hui W, Xiaowen Z, Haizhen W, Jun Q, Pao X,

Ruiwei L. Joint effect of temperature, salinity and pH on the percentage fertilization and hatching of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 45: 259-269; 2014.

Koji Fujimura, Norihiro Okada. Development of the embryo larva and early juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) Developmental staging system. *Develop. Growth Differ* 49: 301-324; 2007.

Kocher TD, Lee WJ, Sobolewska H, Penman D,

Mc, rew B. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics* 148: 1225 –1232; 1998.

Kuwamura T, Mihigo N K. Early ontogeny of a

substrate-brooding cichlid, *Oreochromis microlepis*, compared with mouthbrooding species in Lake Tanganyika. *Physiology and Ecology Japan*, 25: 19-25; 1988.

Lingling W, Qianru C. Observation on the embryonic

And larval development of *Tilapia nilotica*. *Acta Zool Sinica* 27: 327–336; 1981.

Lopes T M, Garcia de Oliviera F, Bialecki A,

Agostinho A A. Early development in the mouth-brooding cichlid fish *Satanoperca pappaterra* (Perciformes: Cichlidae). *Rev Biol. Trop* 63(1):139-153; 2015.

MacKenzie D. Doctors farm fish for insulin. *New Scientist* 152: 20; 1996.

Morrison C M, Miyake T, James R, Wright Jr.

Histological study of the development of the embryo and early larva of *reochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Journal of Morphology* 247: 172-195; 2001.

- Okamoto T, Tadahide K, Koichiro G, Koji M, Kazuharu N, Shin K K, Hajime M, Hiromi O, Hideke T. Influence of salinity on morphological deformities in cultured larvae of Japanese el, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. *Aquaculture*, 293: 113-118; 2009.
- Oliveira C, Wright JM. Molecular cytogenetic analysis of heterochromatin in the chromosomes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae). *Chromosome Res*. 6: 205–211; 1998.
- Rahman MA, Mak R, Ayad H, Smith A, Maclean N. Expression of a novel piscine growth hormone gene results in growth enhancement in transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Transgenic Res* 7: 357–369; 1998.
- Rodriguez-Montes de Oca A, Critóbal Román-Reyes J, Alaniz-Gonzalez A, Omar Serna-Delval C, Muñoz-Cordava G, Rodriguez-González H. Effect of salinity on three tilapia (*Oreochromis* sp.) strains: hatching rate, length and yolk sac size. *International Journal of Aquatic Science* 6(1): 96-107; 2015.
- Steward Fielder D, Bardsley W J, Geoff L A, Patricia M. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pargus auratus* larvae. *Aquaculture*, 250: 201-214; 2005.
- Wright JR Jr. Transgenic fish. In: Foong C, Harvey-Clark C, (in press). editors. CCAC guidelines for the use of fish in teaching, research and testing. Ottawa: Canadian Council on Animal Care; 2001.
- Wright JR Jr, O'Hali W, Yang H, Bonen A. GLUT-4 deficiency and absolute peripheral resistance to insulin in the teleost fish tilapia. *Gen Comp Endocrinol* 111: 20-27; 1998b.
- Wright JR Jr, Bonen A, Conlon JM, Pohajdak B. Glucose homeostasis in the teleost fish tilapia: insights from Brockmann body xenotransplantation studies. *Am Zool* 40: 234–245; 2000.
- Wright JR Jr, Yang H, Dooley KC. Tilapia a source of hypoxia-resistant islets for encapsulation. *Cell Transplant* 7: 299-307; 1998b.
- Yang H, Wright JR Jr. Co-encapsulation of sertoli enriched testicular cell fractions further prolongs fish-to-mouse islet xenograft survival. *Transplantation* 67: 815–820; 1999.
- Yang H, O'Hali W, Kearns H, Wright JR Jr. Long-term function of fish islet xenografts in mice by alginate encapsulation. *Transplantation* 64: 28; 1997b.
- Yang H, Dickson B, O'Hali W, Kearns H, Wright JR Jr. Functional comparison of mouse, rat, and fish islet grafts transplanted into diabetic nude mice. *Gen Comp Endocrinol* 106: 384-388; 1997.
- Yu W, Wright JR Jr. Heterotopic cardiac xenotransplantation: fish-to-rat. *Xenotransplantation* 6: 213-219; 1999.