



## ABSTRACT

The colour pattern in larval and juvenile of queen danio (*Devario regina*) were observed at 2 to 60 days old after hatched out. Throughout 60 days of nursing in concrete tank dimension 3x3x0.6 m. with density of 1,000 larvae/m<sup>2</sup>, four feed types were fed respectively; chlorella (200 cell/ml), rotifer, boiled egg for 4-9 days old, young moina for 10-15 days old larvae, adult moina for 15-30 and pellet for 31-60 days old juvenile. The study showed that four horizontal melanophore lines in 3 days old larvae and 13 days old juvenile. That line showed two stripes on the midbody; xanthophore and melanophore. At 35 days old the 2 stripes of xanthophores and blue iridophores stripe were occurred and at 45 days old juvenile there were found the 2 stripes of xanthophores and 1 stripe of blue iridophores.

**Key words:** queen danio, *Devario regina*, colour pattern, larval and juvenile

### 1. บทนำ

การศึกษาแบบสีปลาในสกุล *Danio* ได้นำมาใช้เป็นแบบอย่างในการศึกษาวิวัฒนาการของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ซึ่งพบว่า การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของปลาจากรุ่นสู่รุ่นปรากฏผลได้ชัดและรวดเร็ว อันนำไปสู่การศึกษาการกลายพันธุ์ที่แสดงออกจากสีของปลา รวมทั้งสีของปลายังนำมาประยุกต์ใช้กับการเปลี่ยนแปลงทางนิเวศวิทยาและการเฝ้าระวังผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (McClure and McCune, 2003) ซึ่งปลากลุ่มนี้สามารถปรับสภาพของสีให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มันอาศัยอยู่ได้ นอกจากนี้ปลายังแสดงสีให้เข้ากับสิ่งเร้าและพฤติกรรม ซึ่งมีผลต่อแบบสีบนลำตัวและมีบทบาทในการเข้าฝูง การยอมรับการผสมพันธุ์จากการเลือกคู่ผสมพันธุ์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้มีผลอย่างยิ่งต่อการผสมข้ามสายพันธุ์เพื่อให้ได้แบบสีที่มีผลหลายหลาย ๆ รูปแบบ (Parichy, 2006) โดยทั่วไปแบบสีปลาในสกุล *Danio* ประกอบด้วย melanophore (สีดำ), xanthophore (สีเหลือง), erythrophore (สีแดง), iridophore (สีเหลือบแสงประกายรุ้ง) และ leucophore (สีขาว) หรือ cyanophore (สีเงินซึ่งเหลือบสะท้อนแสง) สีที่พบในปลากลุ่ม *Danio* พบว่ามีจุดกำเนิดมาจากบางส่วนของ neural crest ในระยะวัยอ่อนที่กระจายไปเกิดเป็นเซลล์กำเนิดสี (chromatophore) ในส่วนผิวหนังและช่องท้อง (Kelsh, 2004) จากความสำคัญของการศึกษาแบบสีปลาในสกุล *Danio* จึงได้นำมาใช้ในการศึกษาแบบสีลูกปลาชีวไบโอฟิล์ม (Queen Danio; *Devario regina* (Fowler, 1934)) ซึ่งเป็นการศึกษาแบบสีในส่วนผิวหนังของลูกปลาในระยะหลังฟักออกจากไข่จนเข้าสู่

ระยะวัยรุ่นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาชีวไบโอฟิล์มให้มีความสวยงามยิ่งขึ้นต่อไป

## 2. วิธีการวิจัย

### การเตรียมพ่อแม่พันธุ์ปลาชีวไบโอฟิล์ม

รวบรวมปลาชีวไบโอฟิล์มจากแหล่งน้ำ อำเภอรพท.ศรี จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยใช้สวิงช้อน ตัวอย่างปลาในเวลากลางคืนจำนวน 100 ตัว แล้วนำปลาไปพักไว้ในบ่อซีเมนต์ ขนาด 2x2 เมตร ลึก 0.5 เมตร

### การเพาะและอนุบาลลูกปลาชีวไบโอฟิล์มที่ใช้สังเกตแบบสี

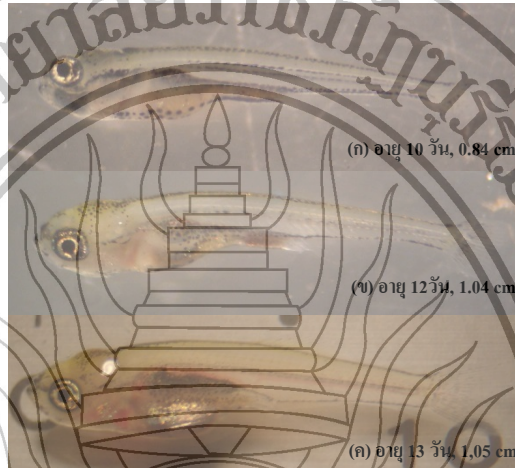
นำพ่อแม่พันธุ์จากบ่อซีเมนต์ ที่มีความสมบูรณ์เพศโดยคัดเลือกปลาเพศเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย  $2.84 \pm 0.25$  กรัม ความยาวเฉลี่ย  $6.13 \pm 0.69$  เซนติเมตร และปลาเพศผู้มีน้ำหนักเฉลี่ย  $2.54 \pm 0.81$  กรัม ความยาวเฉลี่ย  $6.05 \pm 0.84$  เซนติเมตร นำมาเพาะขยายพันธุ์โดยฉีดบูเซอริลิน 15 ไมโครกรัมร่วมกับดอมเพอริโดน 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมในปลาเพศเมียและปลาเพศผู้ฉีดบูเซอริลิน 5 ไมโครกรัมร่วมกับดอมเพอริโดน 5 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ตรงตำแหน่งฐานครีบหลังแล้วปล่อยปลาในตู้กระจกบรรจุน้ำ 70 ลิตร จำนวน 5 ตู้แต่ละตู้ปล่อยแม่ปลา 4 ตัว ในอัตราส่วนแม่:พ่อพันธุ์ 1:2 เมื่อปลาวางไข่ติดพื้นตู้กระจกจนหมดจึงนำพ่อแม่พันธุ์ออกจากตู้ โดยไม่มีการพัฒนาในระยะต่าง ๆ จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว จึงนำลูกปลาที่ฟักออกจากไข่ มาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาด 9 ตารางเมตร ระดับน้ำลึก 25 เซนติเมตร จำนวน 3 บ่อ ด้วยอัตราปล่อย 1,000 ตัว/ตารางเมตร โดย 2-3 วันแรกจะไม่ให้อาหารเนื่องจากลูกปลายังมีถุงไข่แดง มีขั้นตอนการให้อาหารแต่ละระยะ คือ การอนุบาลช่วง 4-9 วันแรกหลังถุงไข่แดงยุบ จะให้กินน้ำเขียว (*Chlorella* sp. 200 cell/ml), โรติเฟอร์ (0.1 กรัม) ไข่แดงต้มสุก (1 ฟอง/100,000 ตัว) วันละ 3 มื้อ จากนั้นเมื่อลูกปลาอายุวันที่ 10-15 จะให้กินตัวอ่อนไรแดง หลังจากนั้นจะอนุบาลจนถึงอายุ 60 วันโดยใช้ไรแดงและอาหารสำเร็จรูป

### การสังเกตแบบสีในส่วนผิวหนังของลูกปลาชีวไบโอฟิล์ม

การสังเกตแบบสีปลาชีวไบโอฟิล์ม ใช้วิธีการดูสีบริเวณผิวหนังลูกปลาที่อนุบาลในบ่อซีเมนต์ โดยสุ่มลูกปลามาครั้งละ 30 ตัว ในอายุ 2 วัน จนถึงอายุ 60 วัน นำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ โดยใช้ภาพรูปแบบสีที่ศึกษาในปลา *Danio rerio* ของ Kesh (2004) Parichy (2006a) และ Parichy (2006b) พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักและวัดความยาวปลาในแต่ละวันด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์



แถบ xanthophores และแถบ melanophores เพิ่มปริมาณหนาขึ้นมาจากด้านคอดหางไปยังส่วนหัวทำให้ septal melanophore line เริ่มจาง เมื่อลูกปลามีอายุ 13 วัน จะปรากฏแถบชัดขึ้น (ภาพที่ 3 ข)



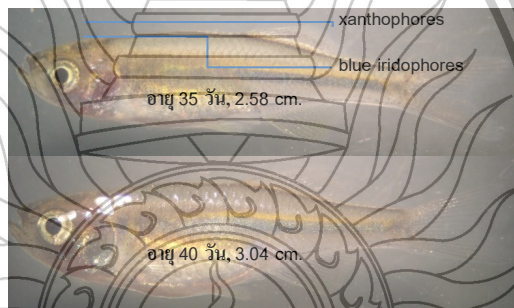
ภาพที่ 3 melanophore line เริ่มจางและเกิดแถบสีของ xanthophores และแถบ melanophores

ในช่วงอายุ 15 วัน ลูกปลาเข้าสู่ระยะวัยรุ่น(juvenile) แถบ xanthophores และ melanophores เริ่มหนาขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น ขณะที่บริเวณท้องปรากฏ iridophores และ leucophores รวมทั้งมีการกระจายของ melanophores ที่บริเวณท้อง ในลูกปลาอายุ 30 วัน เริ่มปรากฏ melanophores บริเวณขอบเกล็ด ลูกปลาในช่วงอายุ 28-34 วัน เริ่มมีแถบสีขนาดใหญ่ขึ้น 2 แถบ เริ่มต้นมาจากคอดหางยาวขึ้นมาตามส่วนกลางของลำตัวเป็นแถบ yellow xanthophores อยู่ด้านบนส่วนแถบล่างเป็นแถบ blue iridophores (สีน้ำเงินแกมเขียว)(ภาพที่ 4)

ลักษณะของแถบสีจะปรากฏเห็นเป็นแถบชัดขึ้นเมื่อลูกปลามีอายุ 35 วัน ด้านข้างลำตัวมี แถบ 2 แถบ xanthophores และ blue iridophores ขยายหนาขึ้นจากโคนหางขึ้นมายังส่วนท้อง ลูกปลาอายุ 35-40 วัน แถบสีบนลำตัวชัดเจขึ้นโดยปรากฏเป็นแถบสีเหลืองหนึ่งแถบอยู่เหนือแถบสีน้ำเงินแกมเขียว (ภาพที่ 5)

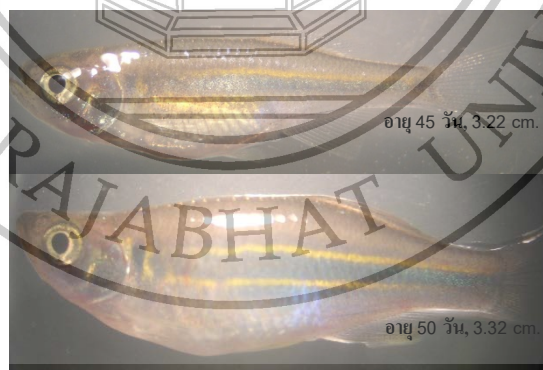


ภาพที่ 4 ลูกปลาอายุ 15-30 วัน



ภาพที่ 5 แถบสีเหลืองและแถบสีน้ำเงินแกมเขียวของลูกปลาอายุ 35 – 40 วัน

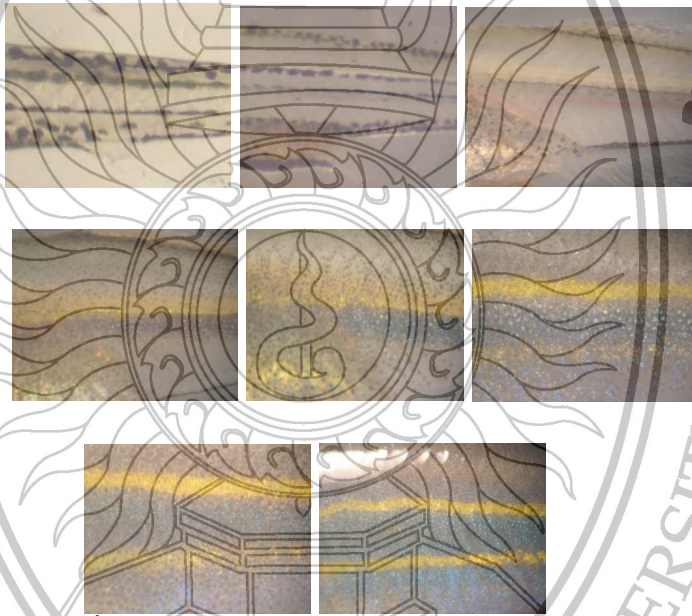
และเมื่อลูกปลามีอายุ 45 วัน เริ่มปรากฏแถบสีเหลืองเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งแถบอยู่ด้านล่างของแถบสีน้ำเงินแกมเขียวและแถบสีปรากฏชัดเจนเป็น 3 แถบ บริเวณด้านข้างกลางลำตัวตั้งแต่โคนหางจนถึงกระดูกปิดเหงือกในลูกปลาอายุ 50 วันจนถึงอายุ 60 วัน(ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ลูกปลาอายุ 45 วัน และอายุ 50 วัน มีแถบสีบนลำตัว 3 แถบ

การสังเกตแบบสีของลูกปลาชีวไปไฟในระยยะลูกปลา(larval period) จนถึงระยยะวัยรุ่น (juvenile period) พบว่าในระยยะลูกปลาตั้งแต่อายุ 3-12 วัน บนลำตัวของลูกปลาปรากฏแบบสี

melenophore line จำนวน 4 แถว ลักษณะปรากฏเช่นนี้เริ่มจางหายไปเมื่อลูกปลาเข้าสู่ระยะวัยรุ่น เริ่มต้นจากลูกปลาอายุได้ 13 วัน โดยเริ่มมีแถบสีที่ใกล้เคียงกับระยะตัวเต็มวัย หนาและเข้มมาจาก คอดหางกลางลำตัว 2 แถบ คือ xanthophores เป็นแถบบน และแถบล่างคือ melenophores รวมทั้งบริเวณท้องปรากฏ leucophores (สีเงินเหลือบสะท้อนแสง) เมื่อลูกปลาอายุ 35-40 วัน ปรากฏแถบสี 2 แถบกลางลำตัวและมีสีเข้มแบบเดียวกับตัวเต็มวัย โดยแถบบนคือ xanthophores ขณะที่แถบล่างเปลี่ยนจากแถบ melenophores เป็น blue iridophores ซึ่งมองเห็นเป็นสีน้ำเงินแกมเขียว และเมื่อลูกปลามีอายุเพิ่มขึ้นเป็น 45 วันขึ้นไปเริ่มปรากฏแถบ xanthophores ขึ้นอีกหนึ่ง แถบอยู่ด้านล่างของแถบ blue iridophores และแถบสีเข้มชัดเจนเป็น 3 แถบในลูกปลาอายุ 50 วัน (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แบบสีลูกปลาชีวใบไฟในระยะลูกปลาดังระยะวัยรุ่น

## 5. วิจัยและสรุปผลการวิจัย

แบบสีลูกปลาชีวใบไฟในระยะลูกปลาดังระยะวัยรุ่นพบว่ามี 4 สี คือ melanophores, xanthophores, iridophores และ leucophores ในขณะที่ erythrophore ไม่พบในลูกปลาระยะนี้ โดยปกติในระยะตัวเต็มวัย (adult) ปลาจะมี red erythrophores ผสมบนแถบ xanthophores ของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่นำมาใช้ในการเพาะขยายพันธุ์ในครั้งนี้ สำหรับการเกิด melenophore line จำนวน 4 แถว ในระยะลูกปลาซึ่งปรากฏชัดในอายุ 3 วัน หลังจากออกจากไข่ เป็นระยะที่สัมพันธ์กับการสิ้นสุดของการได้อาหารจากถุงอาหารสำรอง (yolk) ซึ่งเป็นลักษณะที่เกิดขึ้นเช่นเดียวกับการศึกษาในสกุลปลา Danio ชนิดอื่น ซึ่งมีประโยชน์มากต่อการเริ่มต้นวางแผนการให้อาหารแก่ลูก

ปลาในระยะเริ่มต้น ที่ลูกปลาจะได้รับอาหารจากการให้โดยผู้เลี้ยง melenophores ที่พบในระยะ ลูกปลามีความสำคัญมากที่จะช่วยให้เกิดสีอื่น ๆ บนตัวปลาและสำคัญต่อการนำไปใช้ในการศึกษา ปลาวัยอ่อน (Lamoreux et al., 2005) และการจัดการอาหารลูกปลาที่เสริมสร้างเม็ดสีที่สมบูรณ์ขึ้น

การศึกษา melenophore line ในปลาสกุล *Danio* พบว่าจำนวนแถวของ melenophores ในปลา *Danio rerio* มีผลต่อขนาดและจำนวนของแถบสีของปลาระยะเต็มวัย การมี melenophore line ในระยะลูกปลา กล่าวได้ว่าปลาชนิดนั้นเมื่อโตเข้าสู่วัยรุ่นและวัยเจริญพันธุ์จะมีแบบสืบลำตัวเป็นแถบยาว นอกจากนี้ขนาดของลูกปลาวัยอ่อนที่มี melenophore line มากจะมีขนาดที่โตกว่าปลาสกุล *Danio* ชนิดอื่น ที่มีจำนวนแถวน้อยกว่าและลักษณะที่ปรากฏนี้จะสัมพันธ์กับความกว้างของลำตัว (McClure and McCune, 2003) ในระยะเริ่มต้นเข้าสู่วัยรุ่นของปลาชีวไบโอฟิล์มเริ่มปรากฏ xanthophores กลางลำตัวโดยเริ่มมาจากโคนหางไปด้านหัวของลูกปลามองเห็นเป็น yellow xanthophores เพียงอย่างเดียว ซึ่งแตกต่างกับที่พบในระยะเต็มวัย จะพบว่า ในแถบ xanthophores เกิดการผสมสีของ red xanthophores และ red erythrophores แต่จะพบในปลา ที่มีอายุ 80 วัน (Parichy, 2006) สำหรับ iridophores บนแถบ yellow xanthophores ของลูก ปลาชีวไบโอฟิล์มจะเห็นชัดเมื่อลูกปลามีอายุ 50 วัน ซึ่ง iridophores ที่เกิดผสมสีบนแถบ xanthophores มีผลให้มองเห็นแถบสีได้ชัดขึ้น

ลูกปลาชีวไบโอฟิล์มตั้งแต่ 35 วันขึ้นไป แถบ melenophores ที่ปรากฏอยู่กลางลำตัวจาก คอคอดหางจนถึงท้องได้เกิด blue iridophores ขึ้น โดยมองเห็นเป็นสีน้ำเงินแกมเขียวล้อมรอบด้วย melenophores เป็นลักษณะของสีเหลือบแสงซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อ melenophores เจริญเต็มที่และ แสดงว่าปลากำลังเข้าสู่ระยะเต็มวัย (Lamoreux et al., 2005)

## 6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัย แห่งชาติ โครงการวิจัยการพัฒนาศักยภาพด้านความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักงานคณะกรรมการ การอุดมศึกษา และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สนับสนุน งบประมาณอุดหนุนการวิจัย



## เอกสารอ้างอิง

- Kelsh, N. Robert. (2004). Genetics and evolution of pigment patterns in fish. *Pigment Cell Res.* 17:326-336.
- Lamoreux, Lynn M., Kelsh, N. Robert, Wakamatsu, Yoko and Ozato, Kenjiro. (2005). Pigment pattern formation in the medaka embryo. *Pigment Cell Res.* 18 :64-73.
- McClure, Michelle and McCune, R. Amy.(2003). Evidence for developmental linkage of pigment patterns with body size and shape in Danios(Teleostei:Cyprinidae). *Evolution.* 57:1863-1875.
- Parichy, M. David. (2006a). Evolution of danio pigment pattern development. *Heredity* 97:200-210.
- Parichy, M. David. (2006b). Homology and the evolution of novelty during *Danio* adult pigment pattern development. *Journal of Experimental Zoology.* 306B:1-13.