



การเจริญเติบโตและการพัฒนาทางสัณฐานวิทยาของลูกปลาการ์ตูนลายปล้อง
(*Amphiprion clakii* Bennett, 1830) จากการเพาะอนุบาล
Growth and Early Life Morphological Development of Hatchery Reared Yellowtail
Clownfish (*Amphiprion clakii* Bennett, 1830)

สาโรจน์ เร่มดำริห์^{1*}, สันติ พวงเจริญ² และ อลงกต อินทรชาติ¹

Saroj Rermdumri^{1*}, Santi Pongcharean² and Alongot Intarachart¹

¹สถานีวิจัยประมงศรีราชา คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย

²ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย

¹Sriracha Fisheries Research Station, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Thailand

²Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Thailand

Received : 12 January 2024, Received in revised form : 2 April 2024, Accepted : 4 April 2024

Available online : 20 May 2024

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : การอนุบาลปล้อง *Amphiprion clakii* Bennetts, 1830 เป็นปลาทะเลสวยงามที่มีศักยภาพที่นำมาเพาะพันธุ์เพื่อเพิ่มรายได้แก่เกษตรกรและลดปริมาณการจับจากธรรมชาติ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามระยะการพัฒนาลูกปลาการ์ตูนลายปล้องเพื่อให้สามารถบริหารจัดการการเพาะอนุบาลปลาการ์ตูนลายปล้องได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการวิจัย : โดยดำเนินการเพาะพันธุ์และเก็บตัวอย่างลูกปลาตามระยะการพัฒนาลูกปลา 19 ระยะ 113 ตัวอย่าง (n)

ผลการวิจัย : พบว่าลูกปลาแรกฟักมีขนาดความยาวลำตัว (BL) 3.87 ± 0.00 mm BL (n = 10) พัฒนาสู่ระยะวัยอ่อนขึ้นหลังเมื่ออายุ 5 วัน ขนาด 4.42 ± 0.01 mm BL (n = 5) พัฒนาสู่ระยะวัยรุ่นเมื่ออายุ 35 วัน ขนาด 8.56 ± 0.04 mm BL (n = 5) มีสมการเชิงเส้นแบบถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุ (Age) และความยาวลำตัว (BL) คือ $BL = 0.1231Age + 3.9241$ ($r^2 = 0.9859$) ลูกปลาแรกฟักมีการสะสมจุดสีที่ลูกตา ปากพัฒนาอย่างสมบูรณ์และถุงอาหารสำหรับย่อยเกือบหมด มีลำตัวยาวปานกลางและแบนข้างโดยมีความลึกลำตัว 22.14 %BL หัวขนาดปานกลางโดยมีความยาวหัว (HL) 26.72 %BL ตากลมโตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45.71 %HL มีมัดกล้ามเนื้อลำตัว 26 มัด ลำตัวมีความลึกมากขึ้นเมื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะวัยอ่อนขึ้นหลังและระยะวัยรุ่นโดยมีความลึกลำตัวอยู่ในช่วง 42.31-42.45 %BL ตามลำดับ และปรากฏแถบสีพาดตามขวางบริเวณหัวและลำตัวทั้งสามแถบ เมื่อมีอายุ 15 วัน

สรุปผลการวิจัย : ลูกปลาการ์ตูนลายปล้องมีการพัฒนาทางสัณฐานวิทยาล้ำคลึงกับลูกปลากระดูกแข็งในกลุ่มปลากะพง (perciforms) เพียงแต่มีขนาดแรกฟักที่ใหญ่กว่าและมีพัฒนาการที่เร็วกว่า

คำสำคัญ : การพัฒนาทางสัณฐานวิทยา ; ชีวประวัติวัยอ่อน ; ลูกปลาวัยอ่อน ; ปลาการ์ตูนลายปล้อง



Abstract

Background and Objectives : Yellow- tail clownfish *Amphiprion clakii* Bennetts, 1830 a breeding potential ornamental sea fish for increasing farmers' incomes and reducing natural catchment.

Methodology : This study aimed to study the growth and morphological development of the fish for benefit breeding management. The fish breeding was performed and the larval and juvenile specimens for size-series collection. A total of 19 size series and 113 number of larval and juvenile specimens (n) were collected for size-series collection.

Main Results : The result showed that the new hatching larva has a body length (BL) of 3.87 ± 0.00 mm BL (n = 10), develops to post-flexion stage within 5 days 4.42 ± 0.01 mm BL (n = 5), and develops to juvenile stage within 35 days 8.56 ± 0.04 mm BL (n = 5). The linear regression relationship between age (Age) and body size (BL) was $BL = 0.1231 \text{Age} + 3.9241$ ($r^2 = 0.9859$). The new hatching larva has a moderate and compressed body with a body depth (BD) of 22.14 %BL, a moderate and compressed head with a head length (BD) of 26.72 %BL, a large and rounded eye with an eye diameter of 45.71 %HL, 26 total myomeres. The body was deeper when it reached the post-flexion and juvenile stages with a range of 42.31 - 42.45 %BL. The three vertical bars along the head and body appeared at 15 days of age.

Conclusions : Finally, the yellow tail clownfish has a morphological development similar to the general perciform fishes but differs by being larger in new hatching size and fast development.

Keywords : *Amphiprion clakii*; early-life histories; fish larva; morphological development

*Corresponding author : ffissrr@ku.ac.th

บทนำ

ปลาการ์ตูนลายปล้อง (*Amphiprion clakii* Bennett, 1830) จัดอยู่ในวงศ์ Pomacentridae เป็นปลาทะเลที่นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามและสามารถเพาะพันธุ์ได้ในสถานที่เลี้ยง มีลักษณะลำตัวสั้นและแบนข้างมาก หัวกลมมน ปากขนาดเล็กตั้งอยู่ปลายสุดของจะงอยปาก ครีบหลังตอนเดียวยาวและเว้าเล็กน้อย ครีบท้องอยู่ในแนวกับฐานครีบอก ครีบหางเว้าลึก เมื่อโตเต็มวัยจะมีสีพื้นลำตัวเป็นสีเทาดำ ลำตัวส่วนท้องเป็นสีเทาอ่อนหรือสีเหลืองซึ่งผันแปรไปตามแต่ละกลุ่มประชากร มีลักษณะเด่นคือ มีแถบสีขาวพาดเป็นแนวตามขวางบริเวณหัวส่วนท้าย กลางลำตัว และขอบหาง และมีพื้นสีแผ่นครีบอก ครีบท้อง ครีบหาง และปลายครีบท้องส่วนท้ายเป็นสีเหลืองสด (Allen, 1991) ในธรรมชาติจะอาศัยเป็นฝูงขนาดเล็กร่วมกับกอดอกไม้ทะเลตามแนวปะการังบริเวณชายฝั่งของมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก ออสเตรเลีย ไปจนถึงทะเลญี่ปุ่น กินสัตว์พื้นท้องน้ำและแพลงก์ตอน

สัตว์ขนาดเล็กเป็นอาหาร ปลาการ์ตูนลายปล้องมีพฤติกรรมจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ยึดติดกับวัสดุตามพื้นท้องน้ำ พ่อปลาจะดูแลไข่จนฟักเป็นตัว (Moyer & Nakazono, 1978 ; Thresher, 1984 ; Yeung, 2000)

การเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนลายปล้องนอกจากจะเป็นการเสริมสร้างรายได้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง ยังเป็นการลดปริมาณการจับจากธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงสายพันธุ์และอุปนิสัยให้เหมาะต่อการเลี้ยงและเป็นที่ต้องการของตลาดและลดต้นทุนจากการเพาะเลี้ยงได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามระบบการเพาะอนุบาลปลาการ์ตูนลายปล้องนั้นมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละระบบการเลี้ยง ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาทางสรีรวิทยาของลูกปลาภายใต้เงื่อนไขการเลี้ยงที่แตกต่างกัน (Kucharczyk *et al.*, 1997) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและบรรยายลักษณะทางสรีรวิทยาตามระยะการพัฒนาลูกปลาการ์ตูนลายปล้อง ซึ่งจะช่วยให้เกิดองค์ความรู้ด้านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและสามารถคาดการณ์การเจริญเติบโตของลูกปลาได้ ทำให้สามารถบริหารจัดการการเพาะอนุบาลปลาการ์ตูนลายปล้องได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งยังเป็นการสร้างองค์ความรู้ใหม่ในด้านความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของกลุ่มปลาการ์ตูน (clownfishes) และกลุ่มสลิคทะเล (damselfishes) อีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมพ่อแม่พันธุ์และการเพาะอนุบาล

นำพ่อแม่พันธุ์จากสถานีวิจัยประมงศรีราชา ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี โดยคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนลายปล้องที่มีความสมบูรณ์ คือ เพศผู้อายุประมาณ 1 ปีครึ่ง (ขนาด 2.5-3.5 นิ้ว) เพศเมียอายุประมาณ 2 ปี (ขนาด 3-4 นิ้ว) และปลามีพฤติกรรมเข้าคู่กันแล้ว ซึ่งสังเกตจากพฤติกรรมการว่ายน้ำคดเคลียกันและยามค่ำจะนอนอยู่ใกล้ๆ กัน คัดเลือกพ่อแม่ปลาจำนวน 3 คู่ ปล่อยลงในบ่อทดลองขนาด $1.0 \times 4.0 \times 1.5$ เมตร ซึ่งมีการเตรียมระบบและแบ่งช่องสำหรับพ่อแม่ปลาไว้แล้วจำนวน 3 ช่อง ปล่อยพ่อแม่ปลาลงไปช่องละ 1 คู่ ใส่แผ่นกระเบื้องดินเผาหรือกระเบื้องปูพื้นขนาด 20×20 เซนติเมตร ช่องละ 1 แผ่น สำหรับให้พ่อแม่ปลาใช้เป็นแหล่งหลบซ่อนและใช้เป็นวัสดุสำหรับวางไข่ ในบ่อทดลองมีการให้อากาศแบบหัวทรายตลอดเวลา ให้อาหารพ่อแม่ปลาด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 มื้อ อย่างเพียงพอในช่วงเช้าและเย็น เมื่อพ่อแม่ปลาพร้อมผสมวางไข่แล้ว พ่อแม่ปลาจะเริ่มทำความสะอาดบริเวณที่จะวางไข่บนแผ่นกระเบื้องและจะผสมพันธุ์วางไข่ในช่วงค่ำประมาณ 19:00-21:00 น. ไข่ปลาจะติดเป็นแพอยู่ตามแผ่นกระเบื้อง ระหว่างนี้พ่อและแม่ปลาจะดูแลไข่โดยใช้ครีบก้นโบกน้ำผ่านแพไข่จนกระทั่งพัฒนาใกล้ฟักเป็นตัวภายในระยะเวลา 6-7 วัน ซึ่งสังเกตได้จากตัวอ่อนในไข่ปลามีการสะสมสีดำและสีเงินวาวที่ลูกตาแล้ว จากนั้นจึงทำการย้ายแผ่นกระเบื้องที่มีไข่ติดอยู่มาไว้ในถังอนุบาลขนาด 250 ลิตร โดยให้อากาศแบบหัวทรายเบาเบาตรงใกล้กับแพไข่จนกระทั่งฟักเป็นตัว เริ่มให้อาหารลูกปลาแรกฟักด้วยไรดิเฟอร์อย่างเพียงพอหรือประมาณ 5-10 ตัวต่อมิลลิลิตร เมื่อลูกปลาเริ่มโตขึ้นจนมีอายุได้ 5 วัน ปรับการให้อาหารด้วยการให้ไรดิเฟอร์ร่วมกับอาร์ทีเมียแรกฟักอย่างเพียงพอ โดยระหว่างการอนุบาลลูกปลามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำ และตรวจวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ อุณหภูมิ น้ำ ความเค็ม น้ำ ความขุ่น และความเป็นกรดเป็นด่าง ด้วยเครื่องมือตรวจวัดคุณภาพน้ำ

แบบมัลติพารามิเตอร์ (Rinko Profiler Multi parameter CTD model ASTD 102) ปริมาณแอมโมเนีย ในไตรท์ และไนเตรท ตามวิธีของ Grasshoff (1976) และ APHA *et al.* (2017).

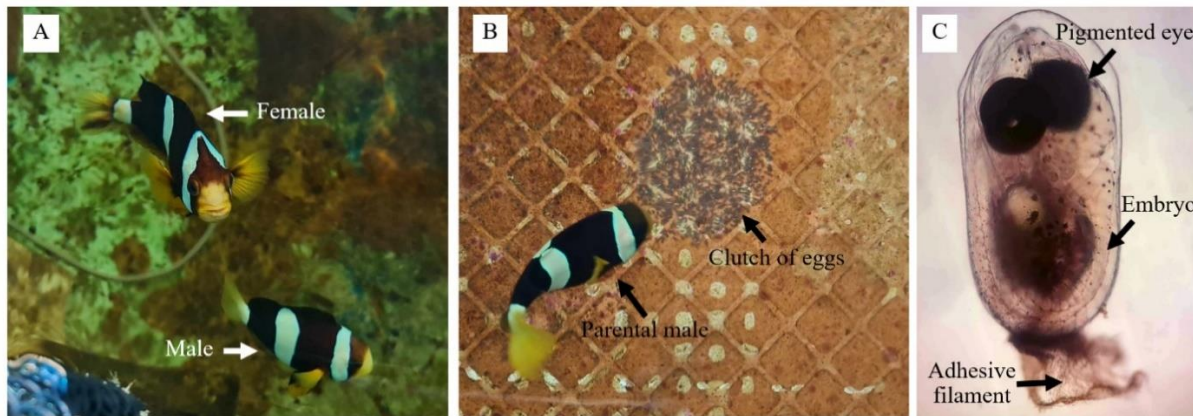


Figure 1 Live broodstocks and breeding of the *Amphiprion clarkii*. A = broodstock, B = parental care behavior, and C = Embryonic egg.

2. การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามระยะการพัฒนา

การศึกษากการพัฒนาของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องครั้งนี้ กำหนดให้มีการเก็บตัวอย่างตามลำดับอายุตาม Termvidchakorn (2003) ดังนี้ ระยะแรกฟัก, 12 ชั่วโมง, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15, 19, 21, 24, 29, 35, 40, 45 และ 50 วัน การสุ่มตัวอย่างลูกปลาแต่ละ series หรือ ตามลำดับอายุ ครั้งละ 3-10 ตัว เก็บรักษาตัวอย่างลูกปลาด้วยน้ำยาฟอรัมาลิน 10% ในขวดแก้ว จากนั้นถ่ายน้ำยาและเก็บรักษาด้วยน้ำยาฟอรัมาลินที่มีฤทธิ์เป็นกลาง 4% ตัวอย่างลูกปลาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ลงทะเบียนจัดเก็บตามสารบบงานพิพิธภัณฑ์ ณ พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หมายเลขทะเบียน KUMF 7789 จำนวน 19 ระยะ 113 ตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการโดยผู้ประพันธ์ที่ 2 ได้รับอนุญาต ใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ หมายเลขทะเบียน U1-02081-2558

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างลูกปลาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ วัดลักษณะต่าง ๆ ตาม Termvidchakorn (2003) ได้แก่ ความยาวลำตัว (Body Length [BL]), ความยาวหัว (Head Length [HL]), ความลึกหัว (Head Depth [HD]), เส้นผ่านศูนย์กลางตา (Eye Diameter [ED]), ความยาวหน้าช่องทวาร (Pre-anal Length [PAL]) และ ความลึกลำตัว (Body Depth [BD]) (figure 2) แบ่งระยะการพัฒนาของลูกปลาตาม Balon (1985) ได้แก่ ระยะแรกฟัก (new hatching stage), ระยะวัยอ่อนขั้นแรก (pre-flexion stage), ระยะเริ่มพัฒนาคีรีบาง (flexion stage), ระยะวัยอ่อนขั้นหลัง (post-flexion stage) และระยะวัยรุ่น (juvenile stage) โดยความยาวลำตัวของลูกปลาแรกฟักถึงระยะ flexion จะวัดจากปลายสุดของจะงอยปากถึงปลายสุดของกระดูกสันหลัง ส่วนลูกปลาระยะ post-flexion ถึงระยะ juvenile จะวัดจากปลายสุดของจะงอยปากถึงรอยต่อระหว่างกระดูกฐานครีบก้นและก้านครีบก้น

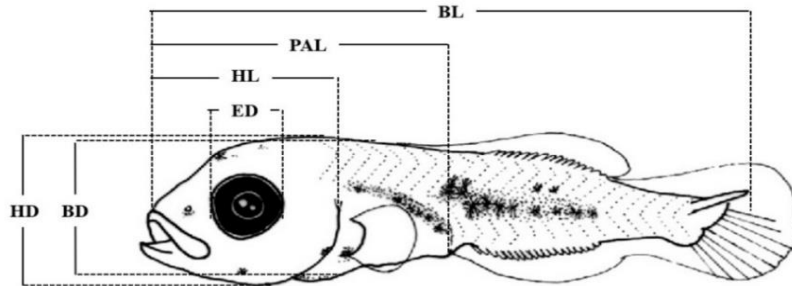


Figure 2 Measurements and abbreviations of body dimensions of *Amphiprion clarkii* larva: BL = body length, PAL = pre-anal length, HL = head length, ED = eye diameter, HD = head depth, and BD = body depth.

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานขนาดตัวอย่างลูกปลาแต่ละระยะการพัฒนาศักติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard variation [SD]) ศึกษาการเจริญเติบโตด้วยการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอายุ (Age, days after hatching [DAH]) และความยาวลำตัว, ความยาวหน้าช่องทวาร และความยาวหัวของลูกปลาด้วยแผนภูมิเชิงเส้นและสมการเชิงเส้นแบบถดถอย (linear regression) เปรียบเทียบสัดส่วนร่างกายของลูกปลาด้วยค่าร้อยละของความยาวลำตัว (%BL) และเปรียบเทียบสัดส่วนหัวด้วยค่าร้อยละของความยาวหัว (%HL)

ผลการวิจัย

1. คุณภาพน้ำและชีววิทยาการสืบพันธุ์

การเตรียมพ่อแม่และการเพาะอนุบาลลูกปลาการ์ตูนลายปล้องซึ่งดำเนินการภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบปิด โดยตลอดการเลี้ยงตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ทั้งในบ่อพ่อแม่พันธุ์และบ่ออนุบาลลูกปลาการ์ตูน คือ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 6.10-6.98 มิลลิกรัมต่อลิตร อุณหภูมิ น้ำ 28-32 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30-33 ส่วนในพันส่วน ความขุ่น 0.28-1.22 NTU ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.8-8.4 ปริมาณแอมโมเนีย 0.017-0.063 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจน 0.004-0.018 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณไนเตรต 0.005-0.245 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นช่วงคุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับใช้เพาะและอนุบาลปลาทะเลตามรายงานของ Mojjada *et al.* (2013) จากการสังเกตพฤติกรรมการผสมพันธุ์วางไข่ของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องในระบบเพาะอนุบาล พบว่าพ่อแม่ปลามีการผสมพันธุ์แบบปฏิสนธิภายนอก (external fertilization) โดยแม่ปลาจะวางไข่ติดกันเป็นกลุ่มไข่ (egg clutch) โดยไข่ปลาจะมีลักษณะเป็นรูปกลมรีติดกับแผ่นกระเบื้องที่ใช้เป็นวัสดุด้วยเส้นใยที่ปลายด้านหนึ่งของไข่ (adhesive egg) จากนั้นพ่อปลาจะปล่อยน้ำเชื้อออกมาผสมลงบนไข่ที่ติดอยู่บนแผ่นกระเบื้อง ซึ่งจากพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษานี้พบว่าปลาแต่ละครอกมีความตกไข่ในช่วง 155-211 ฟองต่อครอก

2. การเจริญเติบโตและระยะการพัฒนา

การเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องโดยพิจารณาคัดเลือกชุดตัวอย่างลูกปลา (size series) ที่สมบูรณ์และมีจำนวนมากเพียงพอต่อ table 1 พบว่าลูกปลาแรกฟักอยู่ในระยะวัยอ่อนขั้นแรก (pre-flexion stage) มีถุงอาหารสำรองยุบเกือบหมดแล้ว มีจุดสีดำสะสมที่ลูกตา ปลายกระดุกสันหลังยังเหยียดตรง มีความยาวลำตัวเฉลี่ย $\pm$ SD เท่ากับ 3.87 ± 0.00 mm BL (n=10) ลูกปลาพัฒนาเข้าสู่ระยะ flexion เมื่ออายุ 2 วัน มีความยาวลำตัว 4.13 ± 0.01 mm BL (n=10) ระยะนี้ปลายกระดุกสันหลังเริ่มยกขึ้นด้านบนเล็กน้อยและเริ่มพัฒนาก้านครีบทางส่วนล่าง ลูกปลาพัฒนาเข้าสู่ระยะวัยอ่อนขั้นหลัง (post-flexion stage) เมื่ออายุ 5 วัน มีความยาวลำตัว 4.42 ± 0.01 mm BL (n=5) มีการพัฒนากกระดูกฐานครีบทางและก้านครีบทางครบสมบูรณ์ และพัฒนาเข้าสู่ระยะวัยรุ่น (juvenile stage) เมื่ออายุ 35 วัน มีความยาวลำตัว 8.56 ± 0.04 mm BL (n=5) จากแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นแบบถดถอย (figure 2) ระหว่างอายุ (Age) และความยาวลำตัว (BL) ของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องเป็นไปดังสมการ $BL = 0.1231Age + 3.9241$ ($r^2 = 0.9859$) มีสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุและความยาวหน้าช่องทวาร (PAL) ดังสมการ $PAL = 0.090Age + 2.0121$ ($r^2 = 0.9825$) และมีความสัมพันธ์ระหว่างอายุและความยาวหน้าช่องทวาร (HL) ดังสมการ $HL = 0.0528Age + 1.2705$ ($r^2 = 0.9686$)

Table 1 Age, developmental stage and developmental sizes (average $\pm$ standard deviation) of *Amphiprion clarkii*

Age (DAH)	Number of specimens (n)	Developmental stage	Body length (mm)	Pre-anal length (mm)	Head length (mm)
0 (New hatching)	10	Pre-flexion	3.87 ± 0.00	1.87 ± 0.00	1.06 ± 0.00
0.5 (12 hours)	10	Pre-flexion	4.00 ± 0.00	1.94 ± 0.00	1.15 ± 0.00
1	8	Pre-flexion	4.06 ± 0.01	2.09 ± 0.00	1.21 ± 0.00
2	8	Flexion	4.13 ± 0.01	2.13 ± 0.00	1.26 ± 0.00
3	5	Flexion	4.35 ± 0.01	2.22 ± 0.01	1.43 ± 0.00
4	5	Flexion	4.40 ± 0.01	2.31 ± 0.01	1.51 ± 0.00
5	5	Post-flexion	4.42 ± 0.01	2.44 ± 0.01	1.65 ± 0.01
7	6	Post-flexion	4.72 ± 0.02	2.56 ± 0.01	1.71 ± 0.01
9	6	Post-flexion	4.77 ± 0.02	2.64 ± 0.01	1.68 ± 0.01
12	6	Post-flexion	5.33 ± 0.03	3.10 ± 0.02	2.01 ± 0.01
15	6	Post-flexion	5.94 ± 0.03	3.72 ± 0.03	2.02 ± 0.02
19	5	Post-flexion	6.35 ± 0.03	3.82 ± 0.03	2.44 ± 0.01
23	5	Post-flexion	6.73 ± 0.04	4.27 ± 0.03	2.67 ± 0.02
27	5	Post-flexion	7.78 ± 0.05	4.81 ± 0.03	2.89 ± 0.02
31	6	Post-flexion	8.16 ± 0.04	4.92 ± 0.03	3.04 ± 0.02
35	5	Juvenile	8.56 ± 0.04	5.33 ± 0.03	3.32 ± 0.02
40	4	Juvenile	8.67 ± 0.03	5.69 ± 0.03	3.38 ± 0.02
45	3	Juvenile	9.21 ± 0.07	5.87 ± 0.05	3.47 ± 0.03
50	5	Juvenile	9.72 ± 0.13	6.05 ± 0.07	3.57 ± 0.04

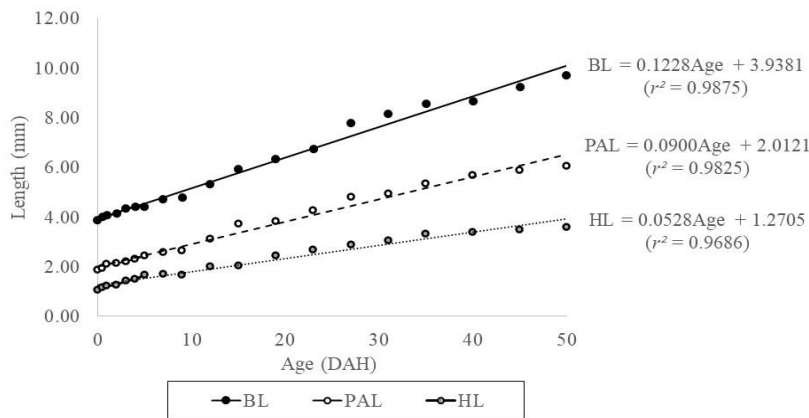


Figure 2 Relationship between age and length of the larval and juvenile yellowtail clownfish. Where; BL=body length (mm), PAL= pre-anal length, HL= head length, and Age = average age of each size series (Day after hatching [DAH]).

3. การพัฒนาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากตัวอย่างลูกปลาการ์ตูนลายปล้อง หมายเลขทะเบียน KUMF 7789 จำนวน 19 ระยะ 113 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกตัวอย่างบางช่วงอายุเป็นตัวแทนในการบรรยาย 10 ระยะ คือ ระยะแรกฟัก, ระยะ pre-flexion อายุ 1 วัน, ระยะ flexion อายุ 2 และ 5 วัน, ระยะ post-flexion อายุ 9, 15, 19, 27 วัน และระยะ juvenile อายุ 35 และ 50 วัน โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามระยะการพัฒนาลูกปลาการ์ตูนลายปล้องมีดังนี้

ระยะแรกฟัก ขนาด 3.87 mm BL (figure 3a) ลำตัวยาวปานกลางและแบนข้างโดยมีความลึกลำตัว 22.14 %BL กระจกอาหารสำรองยุบเกือบหมดแล้ว หัวขนาดปานกลางมีความยาวหัว 26.72 %BL และมีความลึกหัว 88.57 %HL ตากลมโตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45.71 %HL มีจุดสีส้มที่ลูกตาแล้ว จะงอยปากตัดตรงรูปสามเหลี่ยม ปากพัฒนาแล้วตั้งอยู่ปลายสุดของจะงอยปาก ทางเดินอาหารเปิดบริเวณกึ่งกลางลำตัวโดยมีความยาวหน้าช่องทวาร 49.62 % BL มัดกล้ามเนื้อลำตัวยังพัฒนาไม่ครบสมบูรณ์ ปลายกระดูกสันหลังยังเหยียดตรง ครีบต่าง ๆ ยังเป็นแผ่นครีบอก่อน จุดสีกระจายอยู่ด้านข้างลำตัวในบริเวณหลังช่องทวารถึงขอบหาง และขอบทางเดินอาหารส่วนบน

ระยะ pre-flexion อายุ 1 วัน ขนาด 4.06 mm BL (figure 3b) ลำตัวเรียวขึ้นเล็กน้อยเนื่องจากกระจกอาหารสำรองยุบหมดแล้ว โดยมีความลึกลำตัว 20.96 %BL ปลายกระดูกสันหลังยกขึ้นด้านบนเล็กน้อยและเริ่มมีการพัฒนาการครีบทหางส่วนล่าง กล้ามเนื้อลำตัวพัฒนาครบสมบูรณ์จำนวน 26 มัด แบ่งเป็นมัดกล้ามเนื้อหน้าช่องทวาร 9 มัด มัดกล้ามเนื้อหลังช่องทวาร 17 มัด จุดสีบริเวณลำตัวส่วนหางและทางเดินอาหารส่วนบนกระจายหนาแน่นมากขึ้น และพบจุดสีเพิ่มเติมบริเวณหน้าฐานครีบอกและส่วนหลังของหัว

ระยะ *flexion* อายุ 2 วัน ขนาด 4.13 mm BL (figure 3c) ปลากระดูกสันหลังยกขึ้นด้านบนในมุมที่มากขึ้นมีการพัฒนาก้านครีบกหางส่วนอย่างชัดเจนแต่ยังไม่ครบสมบูรณ์ มีการสร้างมัดกล้ามเนื้อบริเวณฐานครีบกหางส่วนท้าย ฐานครีบก้น และแผ่นครีบกอก จุดสีบริเวณทางเดินอาหารกระจายหนาแน่นมากขึ้นโดยเฉพาะบริเวณขอบบนและล่าง

ระยะ *post-flexion* อายุ 5 วัน ขนาด 4.42 mm BL (figure 3d) เริ่มมีการสร้างก้านครีบกหางส่วนท้ายและก้านครีบก้น อายุ 9 วัน ขนาด 4.72 mm BL (figure 3e) เริ่มพัฒนาก้านครีบกหางส่วนหน้า ก้านครีบกอก และแผ่นครีบท้องแล้ว ลำตัวมีความลึกมากขึ้นโดยมีความลึกลำตัว 30.51 %BL และมีจุดสีสะสมบริเวณลำตัวและทางเดินอาหารมากขึ้น, ลูกปลาอายุ 15, 19 และ 27 วัน ขนาด 5.94, 6.35 และ 7.78 mm BL ตามลำดับ (figure 3f-h) จะทยอยปากและหัวโค้งมน ความลึกลำตัวเพิ่มขึ้นในช่วง 42.31 - 42.45 %BL ปรากฏแถบสีเข้มพาดตามขวางลำตัว 3 แถบ คือ บริเวณแนวลูกตา บริเวณกลางลำตัวตั้งแต่ฐานครีบกหางส่วนหน้าถึงฐานครีบท้อง และบริเวณท้ายลำตัวตั้งแต่ฐานครีบกหางส่วนท้ายถึงฐานครีบก้น

ระยะ *juvenile* ลูกปลาอายุ 35 และ 50 วัน ขนาด 8.56 และ 9.72 mm BL (figure 4i-j) ครีบท่าง ๆ พัฒนาคบสมบูรณ์ ครีบก้นมีก้านครีบก้าง 10-11 ก้าน (ส่วนใหญ่ 10) ก้านครีบก้น 15-17 ก้าน (ส่วนใหญ่ 16), ก้านครีบกอก 19-22 ก้าน (ส่วนใหญ่ 21), ครีบท้องมีก้านครีบก้าง 1 ก้าน ก้านครีบก้น 5 ก้าน, ครีบก้นมีก้านครีบก้าง 2 ก้าน ก้านครีบก้น 12-15 ก้าน (ส่วนใหญ่ 14) และมีก้านครีบก้าง 17-18 ก้าน (ส่วนใหญ่ 17) แถบสีพาดตามขวางกลางลำตัวกระจายถึงกลางแผ่นครีบกหางส่วนหน้าและแผ่นครีบท้อง และแถบสีท้ายลำตัวกระจายถึงกลางแผ่นครีบกหางส่วนท้ายและกลางแผ่นครีบก้น และปรากฏแถบสีดำจาง ๆ บริเวณกลางแผ่นครีบก้าง ในลูกปลาอายุ 50 วัน มีการพัฒนาเกล็ดจนสังเกตเห็นได้ชัดเจน

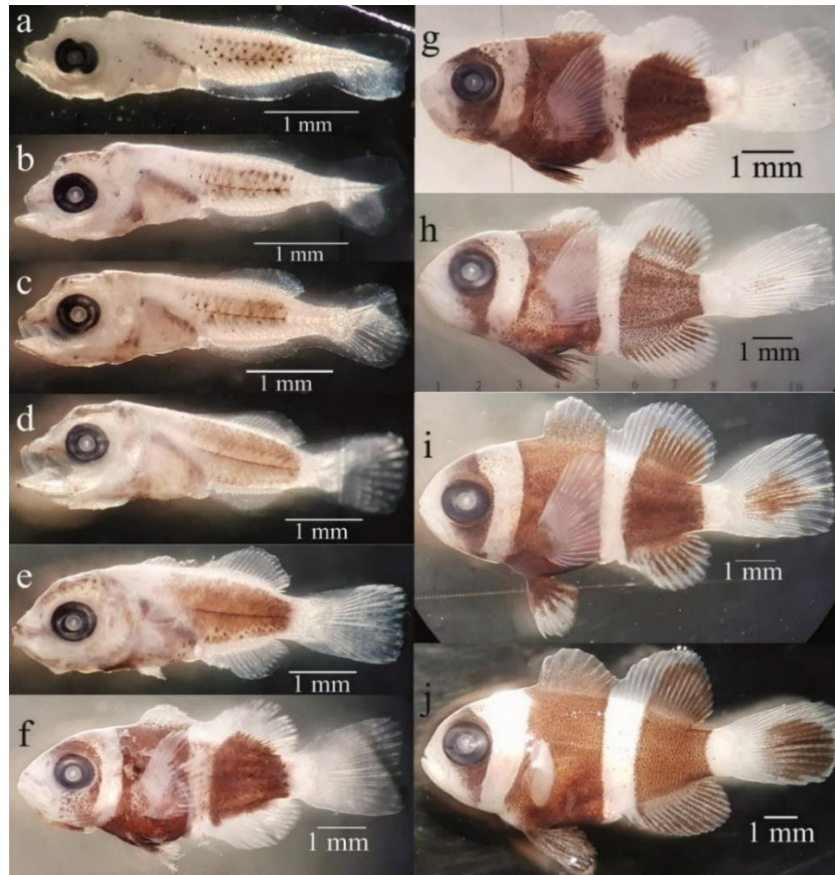


Figure 3 Morphological and pigmentation features of the larval and juvenile stages of *Amphiprion clarkii* (KUMF 7089) ; (a) New hatching larva (BL = 3.87 mm); (b) 1 DAH pre-flexion larva (BL = 4.06 mm); (c) 2 DAH pre flexion larva (SL = 4.13 mm); (d) 5 DAH flexion larva (BL = 4.42 mm); (e) 9 DAH post flexion larva (BL = 4.77 mm); (f) 15 DAH post-flexion larva (BL = 5.94 mm); (g) 19 DAH post-flexion larva (BL=6.35 mm); (h) 27 DAH post flexion larva (BL=7.78 mm); (i) 35 DAH juvenile (BL=8.56 mm); (j) 50 DAH juvenile (BL = 9.72 mm). (DAH: days after hatching; BL: body length)

วิจารณ์ผลการวิจัย

ลูกปลาการ์ตูนลายปล้องแรกฟักมีขนาด 3.87 ± 0.00 mm BL มีการสะสมเม็ดสีที่ลูกตาและถุงอาหารสำรองยวบเกือบหมดแล้วซึ่งถือว่าขนาดแรกฟักใหญ่กว่าและมีพัฒนาการมากกว่าลูกปลากระดูกแข็งทั่วไป โดยปรกติแล้วลูกปลากระดูกแข็งแรกฟักทั่วไปจะยังไม่มีเม็ดสีที่ลูกตาและยังมีถุงอาหารสำรองปรากฏอยู่ชัดเจน (Neira *et al.*, 1998) เนื่องจากปลาการ์ตูนมีความคึกไข่ประมาณ 100-200 ฟอง ทำให้จัดสรรพลังงานในรูปของถุงอาหารสำรองให้กับลูกปลาได้มาก อีกทั้งยังมีพฤติกรรมดูแลไข่และตัวอ่อน ทำให้ลูกปลามีเวลาพัฒนาอยู่ในไข่ได้นานและเมื่อฟักออกเป็นตัวจะมีความแข็งแรงและมีอัตรารอดสูงกว่าปลากกระดูกแข็งชนิดอื่นๆ ที่มีความคึกไข่สูงและไม่มีการดูแลตัวอ่อน (Allen, 1991; Balon, 1985)

การเปลี่ยนแปลงรูปร่างตามระยะการพัฒนา (stage transformation) ที่สำคัญของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องภายใต้สภาพแวดล้อมและคุณภาพน้ำการเพาะอนุบาลลูกปลาการ์ตูนลายปล้องครั้งนี้ ช่วยให้คาดการณ์และสังเกตการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของลูกปลาได้ชัดเจนมากขึ้น กล่าวคือ 1. ในระยะแรกปลาการ์ตูนสามารถกินอาหารได้ทันทีเนื่องจากการพัฒนาปากอย่างสมบูรณ์แล้วอีกทั้งถุงอาหารสำรองยุบเกือบหมดแล้ว 2. การเปลี่ยนระยะจาก pre-flexion เป็น post-flexion เมื่ออายุ 5 วัน ลูกปลาจะใช้พลังงานมากขึ้นเนื่องจากการพัฒนามัดกล้ามเนื้อลำตัวครบสมบูรณ์และเริ่มพัฒนาคีรีบต่าง ๆ เพื่อใช้ในการว่ายน้ำ และ 3. การเปลี่ยนระยะจาก post-flexion เป็น juvenile เมื่ออายุ 35 วัน ลูกปลาจะว่ายน้ำได้ด้วยตัวเองอย่างสมบูรณ์และเริ่มอาศัยอยู่ตามวัสดุตามพื้นท้องน้ำ ดังนั้นในการอนุบาลจึงควรจะต้องหมั่นสังเกตพฤติกรรมและปรับเทคนิคการเลี้ยงให้สอดคล้องกับอายุและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของลูกปลา เช่น การให้อาหารขนาดเหมาะสมกับขนาดของปากเมื่อลูกปลาฟักออกเป็นตัว การปรับขนาดและประเภทของอาหารให้สอดคล้องกับระยะการพัฒนาโดยเฉพาะเมื่อเข้าสู่ระยะ post-flexion และการให้อาหารที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและการจัดเตรียมวัสดุและดอกไม้ทะเลให้กับลูกปลาเมื่อลูกปลาพัฒนาเข้าสู่ระยะ juvenile (Escaffre & Bergot, 1984 ; Thresher, 1984)

การเจริญเติบโตในรูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นแบบถดถอยระหว่างอายุและความยาวของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องดัง figure 2 โดยเฉพาะความสัมพันธ์ระหว่างอายุและความยาวลำตัว (body length, BL) พบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในอัตราส่วนที่คงที่ แต่ในระยะ flexion เนื่องจากการยกของปลายกระดูกสันหลังข้อสุดท้าย (กระดูก urostyle) ทำให้การวัดระยะลำตัวสั้นกว่าที่ควรจะเป็น เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Pongcharean & Limpivadhana (2022) ซึ่งได้ทำการศึกษาในลูกปลากัดสกุล *Betta* วงศ์ Osphronemidae พบว่าเมื่อลูกปลาพัฒนาเข้าสู่ระยะ flexion มีการเปลี่ยนแปลงของเส้นแนวโน้มการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะ post-flexion มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าระยะ pre-flexion อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามการศึกษาค้างคานการภายใต้สภาพแวดล้อมและการเลี้ยงและให้อาหารตามที่รายงานไว้ข้างต้น ดังนั้นแนวโน้มการเจริญเติบโตของลูกปลาอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมและการเลี้ยงที่แตกต่างกัน (Escaffre & Bergot, 1984 ; Ninness *et al.*, 2006) และอาจเปลี่ยนแปลงเมื่อลูกปลาอายุมากกว่า 50 วัน ซึ่งเป็นช่วงอายุที่มากกว่าการศึกษาครั้งนี้ การพัฒนาทางสัณฐานวิทยาของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องมีความคล้ายคลึงกับการพัฒนาของปลากระดูกแข็งในกลุ่มปลากระพง (perciforms) เพียงแต่มีขนาดแรกฟักที่ใหญ่กว่าและมีพัฒนาการที่มากกว่า อีกทั้งมีจำนวนมัดกล้ามเนื้อลำตัวที่มากกว่า คือ 26 มัด ซึ่งปลาในกลุ่ม perciforms ส่วนใหญ่จะมีเพียง 24 มัด (Okiyama, 1988) การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกปลาการ์ตูนได้เคยมีรายงานไว้โดย (Leis & Carson-Ewart, 2000) ซึ่งเป็นการรายงานไว้ในระดับสกุล คือ *Amphiprion* โดยได้สรุปช่วงความผันแปรของจำนวนก้านครีบและจำนวนมัดกล้ามเนื้อ (ในรูปแบบจำนวนข้อกระดูกสันหลัง) และโดยเฉพาะจำนวนก้านครีบอ่อนของครีบหลัง ครีบอก และครีบกันซึ่งรายงานไว้ในช่วงกว้าง ดังนั้นการศึกษานี้เป็นข้อมูลเพิ่มเติมในระดับชนิด คือ ปลาการ์ตูนลายปล้อง *Amphiprion clarkii* ซึ่งมีความผันแปรของจำนวนก้านครีบอ่อนของครีบหลัง ครีบอกและครีบกันที่เฉพาะและผันแปรในช่วงแคบกว่า คือ 15-17 ก้าน (ส่วนใหญ่ 16), ก้านครีบอก 19-22 ก้าน (ส่วนใหญ่ 21) และ 12-15 ก้าน (ส่วนใหญ่ 14) ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

ลูกปลาการ์ตูนลายปล้อง *Amphiprion clarkii* Bennetts, 1830 มีขนาดขนาดแรกฟัก 3.87 ± 0.00 mm BL มีการสะสมจุดสีที่ลูกตาแล้วและถุงอาหารสำรองยุบเกือบหมด พัฒนาสู่ระยะวัยอ่อนขึ้นหลังเมื่ออายุ 5 วัน ขนาด 4.42 ± 0.01 mm BL และพัฒนาสู่ระยะวัยรุ่นเมื่ออายุ 35 วัน ขนาด 8.56 ± 0.04 mm BL ความสัมพันธ์ระหว่างอายุ (Age) และความยาวลำตัว (BL) แสดงด้วยสมการเชิงเส้นแบบถดถอย คือ $BL = 0.1231Age + 3.9241$ ($r^2 = 0.9859$) ลูกปลาแรกฟัก มีลำตัวยาวปานกลางและแบนข้างโดยมีความลึกลำตัว 22.14 %BL หัวขนาดปานกลางโดยมีความยาวหัว 26.72 %BL ตากลมโตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45.71 %HL มีมดกล้ามเนื้อลำตัว 26 มัด และปรากฏแถบสีพาดตามขวางหัวและลำตัวทั้งสามแถบ เมื่อมีอายุ 15 วัน โดยลูกปลาการ์ตูนลายปล้องมีการพัฒนาทางสัณฐานวิทยาคลายคลึงกับลูกปลากระดูกแข็งในกลุ่มปลากระพง (perciforms) โดยเฉพาะมีขนาดแรกฟักที่ใหญ่กว่าและมีพัฒนาการที่เร็วกว่า

เอกสารอ้างอิง

Allen, G.R. (1991). *Damselfishes of the world*. Melle, Germany: Mergus Publishers.

American Public Health Association (APHA), American Water Work Association (AWWA), & Water Environment Federation (WEF). (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23rd ed. Washington, D.C.: American Public Health Association.

Balon, E.K. (1985). *Early life histories of fishes: New developmental, ecological and evolutionary perspective*. Boston: Dr.W. Junk Publishers.

Escaffre, A., & Bergot, P. (1984). Utilization of the yolk in rainbow trout alevins (*Salmo gairdneri* Richardson): effect of egg size. *Reprod. Nutri. Develop.*, 24(4), 449-460.

Grasshoff, K. (1976). *Methods for Seawater Analysis*. New York: Veriag Chemie.

Kucharczyk, D., Luczynski, M., Kujawa, R., & Czerkies, P. (1997). Effect of temperature on embryonic and larval development of bream (*Abramis brama* L.). *Aquatic Sciences*, 59, 214-224.

Leis, J. M. & Carson-Ewart, M. (2000). *The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: an identification guide to marine fish larvae*. Brill, Netherlands.

Mojjada, S.K., Dash, B., Pattnaik, P., Anbarasui, M., & Joseph, I. (2013). Effect of stocking density on growth and survival of hatchery reared fry of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) under captive condition. *Indian J. Fish.*, 60(1), 71-75.



- Moyer, J.T., & Nakazono, A. (1978). Protandrous hermaphroditism in six species of the anemonefish genus *Amphiprion* in Japan. *Jap. J. Ichthyol.*, 25(2), 101-106.
- Neira, F.J., Miskiewicz, A.G., & Trnski, T. (1998). *Larvae of Temperate Australian Fishes: Laboratory Guide for Larval Fish Identification*. University of Western Australia Press. Nedlands, Australia.
- Ninness, M.M., Stevens, E.D., & Wright, P.A. (2006). Removal of the chorion before hatching results in increased movement and accelerated growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos. *The Journal of Experimental Biology*, 209, 1874-1882.
- Okiyama, M. (1988). *An Atlas of the early-stage fishes in Japan*. Japan: Tokai University Press.
- Poungcharean, S., & Limpivadhana, D. (2022). Morphology of developing larvae and a dichotomous key for five bubble-nesting Betta species (Teleostei: Osphronemidae). *Zootaxa.* , 5214 (1), 104-116.
- Termvidchakorn, A. (2003). *Freshwater fish larvae*. Bangkok: P. A. living, ltd. (in Thai)
- Thresher, R.E. (1984). *Reproduction in reef fishes*. New Jersey: T.F.H. Publications, Inc. Ltd.
- Yeung, Y.L. (2000). *The reproductive biology of Clark's anemone-fish, Amphiprion clarkii (Bennett, 1830), in Hong Kong*. Hong Kong: The University of Hong Kong, M.Phil. Thesis, 124 pp.