

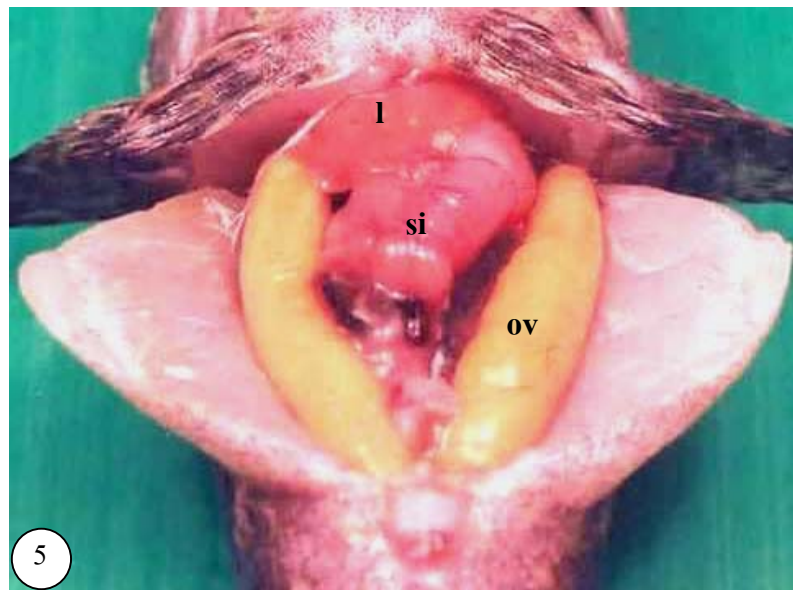
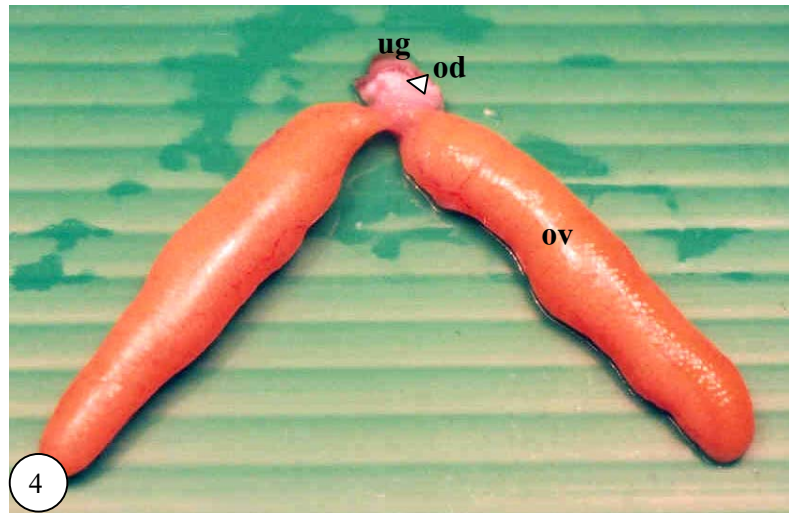
บทที่ 3

ผลการทดลอง

ปลาบู่ทรายจะมีรังไข่ 2 พู มีท่อนำไข่ (oviduct) ซึ่งมีขนาดสั้นมาก เชื่อมต่อระหว่างรังไข่กับดิงเพศ (urogenital papillae) ปลาบู่ทรายมีรูซึ่งเป็นทางออกของไข่ เรียกรังไข่แบบนี้ว่า cystovarian (รูปที่ 4) โดยรังไข่จะยึดติดกับช่องท้องด้วยเยื่อมีโซวาเรียม (mesovarium) ตอนเหนือของรังไข่เป็นที่อยู่ของตับ ระหว่างพูของรังไข่จะเป็นที่ตั้งของกระเพาะอาหาร และถ้าใส่รังไข่ระยะไข่สุกจะมีสีเหลือง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5-6.5 มิลลิเมตร มีความยาวเต็มช่องท้อง (รูปที่ 5) รังไข่ระยะไข่กำลังพัฒนาจะมีสีส้ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-4.0 มิลลิเมตร มีความยาวเป็น 1 ใน 2 ของความยาวช่องท้อง (รูปที่ 6) ส่วนรังไข่ระยะไข่อ่อนจะมีสีม่อนๆ ขนาดกลมเล็ก มีความยาวเป็น 1 ใน 3 ของความยาวช่องท้อง (รูปที่ 7)

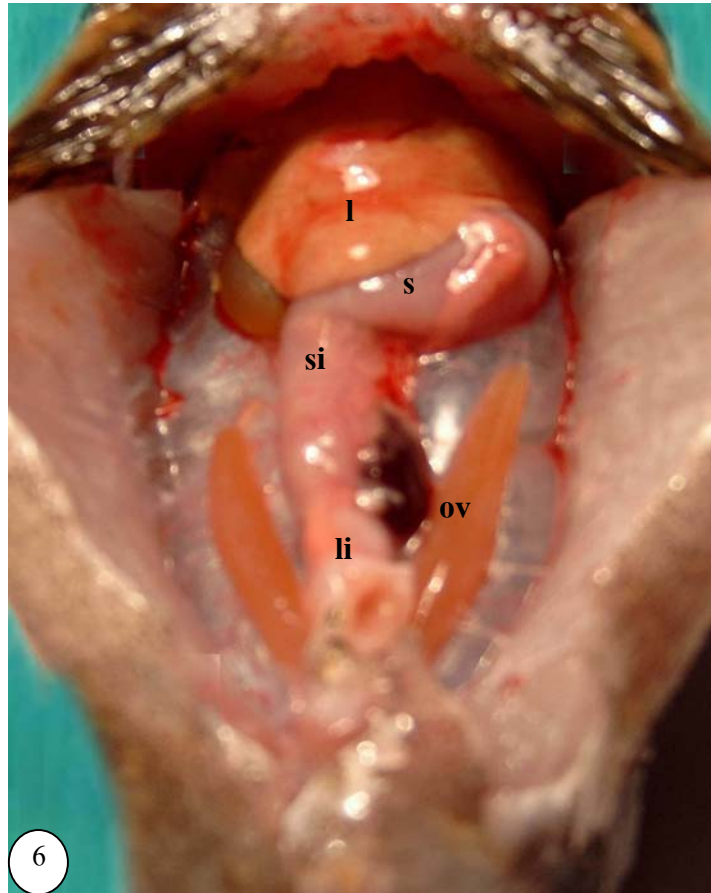
ปลาบู่ทรายที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ เป็นตัวเต็มวัยมีความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาอยู่ระหว่าง 15.1-36.5 เซนติเมตร และมีน้ำหนักของตัวปลาอยู่ระหว่าง 33.35-454.5 กรัม ซึ่งทั้งความยาวทั้งสิ้นและน้ำหนักของตัวปลามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางภาคผนวกที่ 4 และ 5) และแบ่งผลการศึกษออกเป็น 5 ส่วน คือ

1. ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์
2. ค่าความคดของไข่
3. เนื้อเยื่อวิทยา และวงจรการสืบพันธุ์
4. การสะสมของไขมัน
5. การศึกษาโครงสร้างละเอียดของโอวาเรียมฟอลลิเคิล

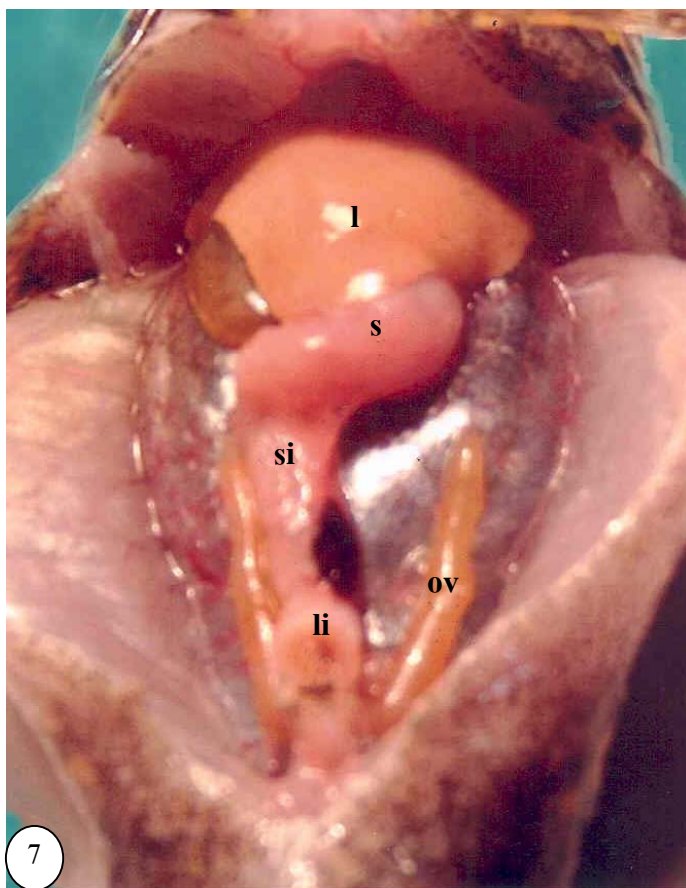


รูปที่ 4 แสดงรังไข่ปลาน้ำจืดทราย รังไข่มี 2 พู (cystovarian) ท่อนำไข่สั้นเชื่อมต่อกับตังเพศ
 ปลายสุดจะมีรูซึ่งเป็นทางออกของไข่ ; ug = urogenital papillae, od = oviduct,
 ov = ovary

รูปที่ 5 แสดงลักษณะของรังไข่ระยะไข่สุก รังไข่มีสีเหลือง มีความยาวเต็มช่องท้อง ;
 l = liver, ov= ovary, si = small intestine



รูปที่ 6 แสดงลักษณะของรังไข่ระยะไข่กำลังพัฒนา รังไข่มีสีส้ม มีความยาวประมาณ 1 ใน 2 ของความยาวช่องท้อง ; l = liver, li = large intestine, ov = ovary, s = stomach, si = small intestine



รูปที่ 7 แสดงลักษณะของรังไข่ระยะไข่อ่อน รังไข่มีสีส้มอ่อนๆ ขนาดเล็ก ;

l = liver, li = large intestine, ov = ovary, s = stomach, si = small intestine

1. ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์

ปลาบู่ทรายที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ จะมีค่าเฉลี่ยของดัชนีการเจริญพันธุ์แตกต่างกัน ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนสิงหาคม และจะมีค่าค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นในเดือนกันยายน จนมีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 และมีค่าต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ดัชนีการเจริญพันธุ์ของปลาบู่ทรายจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.1-5.92 % (ตารางที่ 1) ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา 12 เดือน จะมีเพียง 2 เดือนเท่านั้นที่รังไข่ของปลาบู่ทรายไม่มีรังไข่สุกอยู่เลย คือ เดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 มีค่าเฉลี่ยของดัชนีการเจริญพันธุ์ เท่ากับ 0.21 % และ 0.38 % ตามลำดับ ส่วนอีก 9 เดือน จะมีปลาบู่ทรายบางตัวที่มีไข่สุกพร้อมที่จะวางไข่ได้หรือไข่กำลังมีการพัฒนาจึงมีค่าดัชนีการเจริญพันธุ์สูงกว่าตัวอื่นๆ ที่มีไข่อ่อนเช่น ในเดือนสิงหาคม และเดือนกันยายน ปลาบู่ทรายบางตัวจะมีค่าดัชนีการเจริญพันธุ์สูงถึง 3.15 % และ 3.45 % ตามลำดับ แต่ในเดือนเดียวกันมีปลาบู่ทรายบางตัวมีค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ต่ำคือ 0.22 % และ 0.23 % ตามลำดับ จึงทำให้ค่าเฉลี่ยของดัชนีการเจริญพันธุ์มีค่าต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ (ตารางภาคผนวกที่ 1) แสดงให้เห็นว่า ทั้ง 9 เดือนจะมีปลาบู่ทรายบางตัว ไข่สุกพร้อมวางไข่ มากบ้างน้อยบ้างเกือบตลอดทั้งปีและจะมีการวางไข่มากที่สุดในเดือนพฤศจิกายน (กราฟที่ 1)

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีการเจริญพันธุ์กับน้ำหนักของรังไข่ พบว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน ($r = 0.759$) แสดงว่า เมื่อน้ำหนักของรังไข่เพิ่มขึ้นค่าดัชนีการเจริญพันธุ์จะเพิ่มขึ้น (กราฟที่ 2) ขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีการเจริญพันธุ์กับน้ำหนักของตัวปลาและความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาจะมีความสัมพันธ์กันน้อยในทิศทางตรงกันข้ามกัน (กราฟที่ 3 และ 4 และตารางภาคผนวกที่ 6) แสดงให้เห็นว่า ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักของตัวปลาเพิ่มขึ้น หรือความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาเพิ่มขึ้น หรือขนาดของปลาบู่ทรายไม่มผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ (ตารางที่ 2) ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ ขนาดความยาวของรังไข่ระยะไข่สุกอยู่ในช่วง 3.1-4.2 เซนติเมตร มีน้ำหนักของตัวปลาอยู่ระหว่าง 43.48-454.9 กรัม และความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาอยู่ระหว่าง 15.1-36.5 เซนติเมตร และพบว่า ไม่มีความแตกต่างของขนาดความยาวรังไข่ระยะไข่สุก ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตารางภาคผนวกที่ 11) แต่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักของตัวปลาและความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตารางภาคผนวกที่ 12 และ 13)

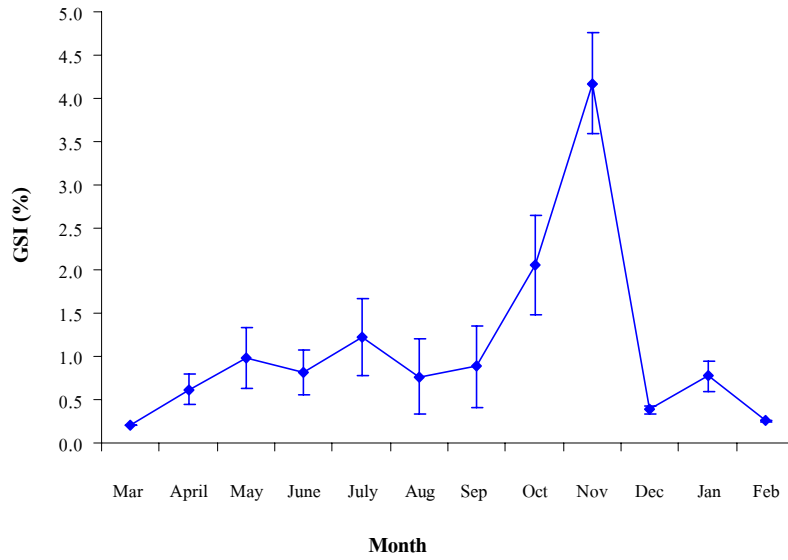
แสดงว่า ขนาดความยาวของรังไข่ไม่แปรผันตามน้ำหนักของตัวปลาและความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา

ตารางที่ 1 แสดงค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ของปลาบู่ทราย ที่เก็บจากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตจังหวัดปัตตานี ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

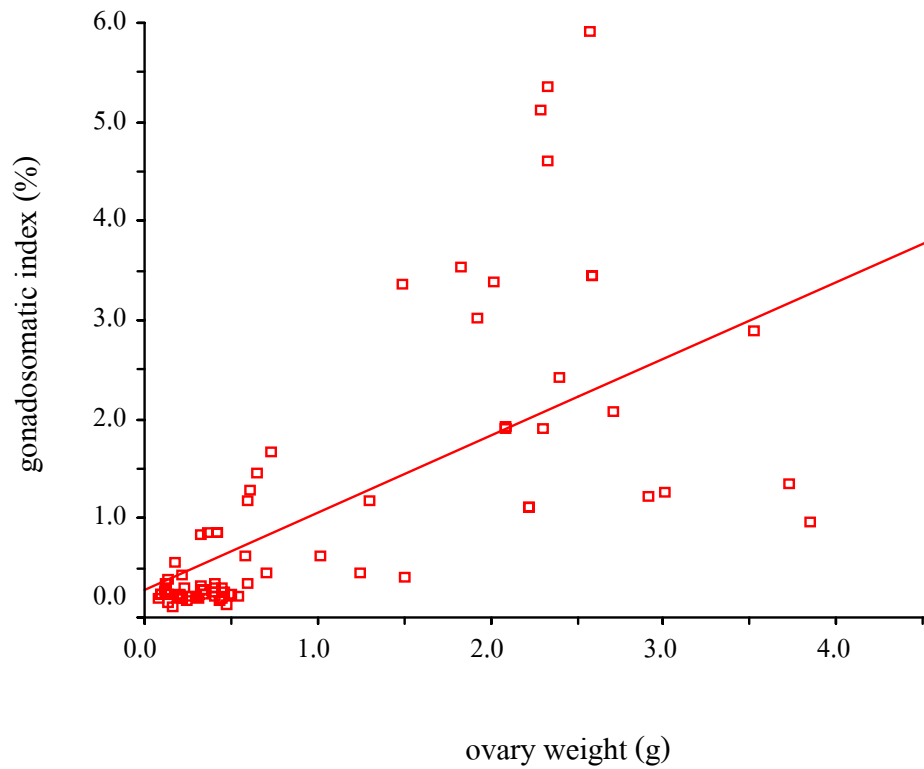
ครั้งที่	เดือน ปี	ดัชนีการเจริญพันธุ์ในแต่ละตัว						ดัชนีการเจริญพันธุ์เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	6	$\bar{X} \pm S.E.$
1.	มีนาคม 2545	0.22	0.19	0.18	0.24	0.20	0.21	0.21 ± 0.00708
2.	เมษายน 2545	0.22	0.31	0.62	0.21	1.26	1.11	0.62 ± 0.17281
3.	พฤษภาคม 2545	2.42	0.33	0.62	1.92	0.34	0.27	0.99 ± 0.35045
4.	มิถุนายน 2545	0.27	0.22	0.19	1.90	1.23	1.11	0.82 ± 0.26256
5.	กรกฎาคม 2545	0.24	0.15	2.89	1.90	2.08	0.10	1.23 ± 0.45205
6.	สิงหาคม 2545	0.29	0.29	0.26	3.15	0.22	0.38	0.76 ± 0.43573
7.	กันยายน 2545	0.23	0.26	0.86	0.27	0.23	3.45	0.88 ± 0.47781
8.	ตุลาคม 2545	3.36	0.84	0.85	1.45	4.6	1.28	2.06 ± 0.57923
9.	พฤศจิกายน 2545	5.92	5.13	1.68	3.38	3.53	5.35	4.14 ± 0.59213
10.	ธันวาคม 2545	0.55	0.38	0.35	0.20	0.42	0.40	0.38 ± 0.04192
11.	มกราคม 2546	1.17	0.45	0.18	0.44	1.35	1.06	0.78 ± 0.17833
12.	กุมภาพันธ์ 2546	0.30	0.26	0.24	0.20	0.22	0.29	0.25 ± 0.01448

ตารางที่ 2 แสดงค่าความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา น้ำหนักของตัวปลา และความยาวของรังไข่
ปลาบู๋ทรายระยะไข่สุก ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

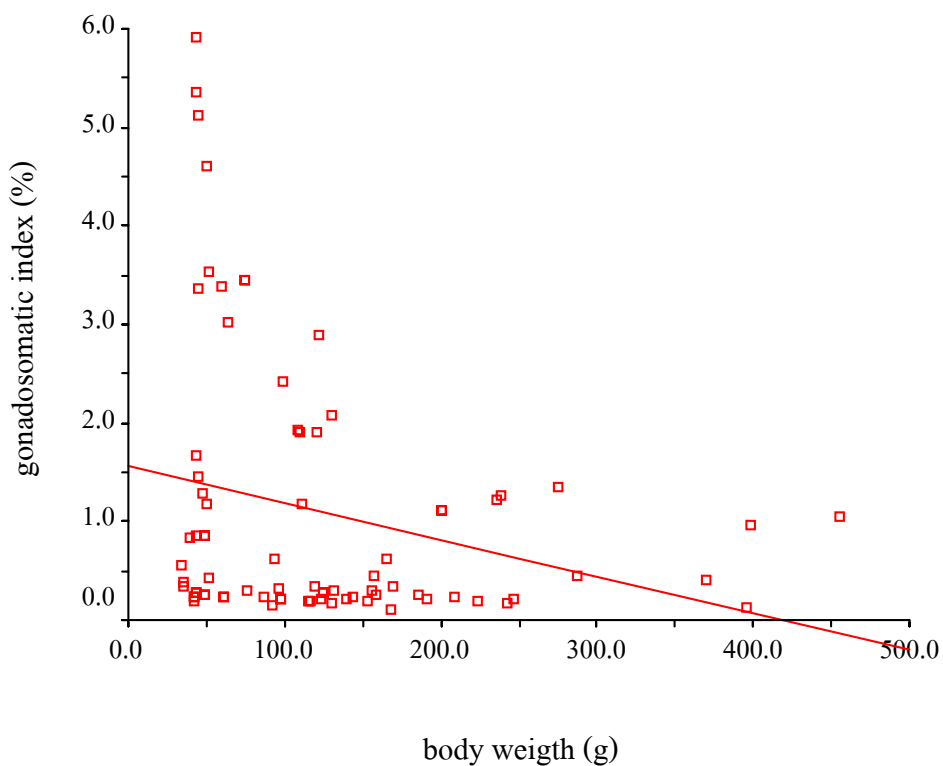
จำนวนตัว	ความยาวทั้งสิ้นของ ตัวปลา (เซนติเมตร)	น้ำหนักของตัวปลา (กรัม)	น้ำหนักของรังไข่ (กรัม)	ความยาวของรังไข่ (เซนติเมตร)	ดัชนีการเจริญพันธุ์ (เปอร์เซ็นต์)
1	27.2	238.20	3.01	3.8	1.26
2	26.5	200.00	2.22	3.5	1.11
3	20.3	99.10	2.40	3.6	2.42
4	21.6	108.71	2.09	3.3	1.92
5	22.0	110.00	2.09	3.3	1.90
6	27.2	236.00	2.91	3.8	1.23
7	26.5	200.00	2.22	3.6	1.11
8	22.0	122.20	3.52	4.1	2.89
9	21.5	120.8	2.3	3.7	1.90
10	21.0	130.10	2.71	3.7	2.08
11	18.0	64.36	2.02	3.5	3.15
12	18.0	75.15	2.59	3.65	3.45
13	15.5	44.30	1.49	3.3	3.36
14	16.0	50.66	2.33	3.7	4.60
15	15.1	43.48	2.58	3.8	5.92
16	15.5	44.70	2.29	3.7	5.13
17	17.0	59.71	2.02	3.6	3.38
18	15.9	51.63	1.82	3.4	3.53
19	15.2	43.50	2.33	3.7	5.35
20	21.6	111.30	1.31	3.2	1.17
21	28.5	275.10	3.72	4.0	1.35
22	32.2	454.9	4.817	4.2	1.06



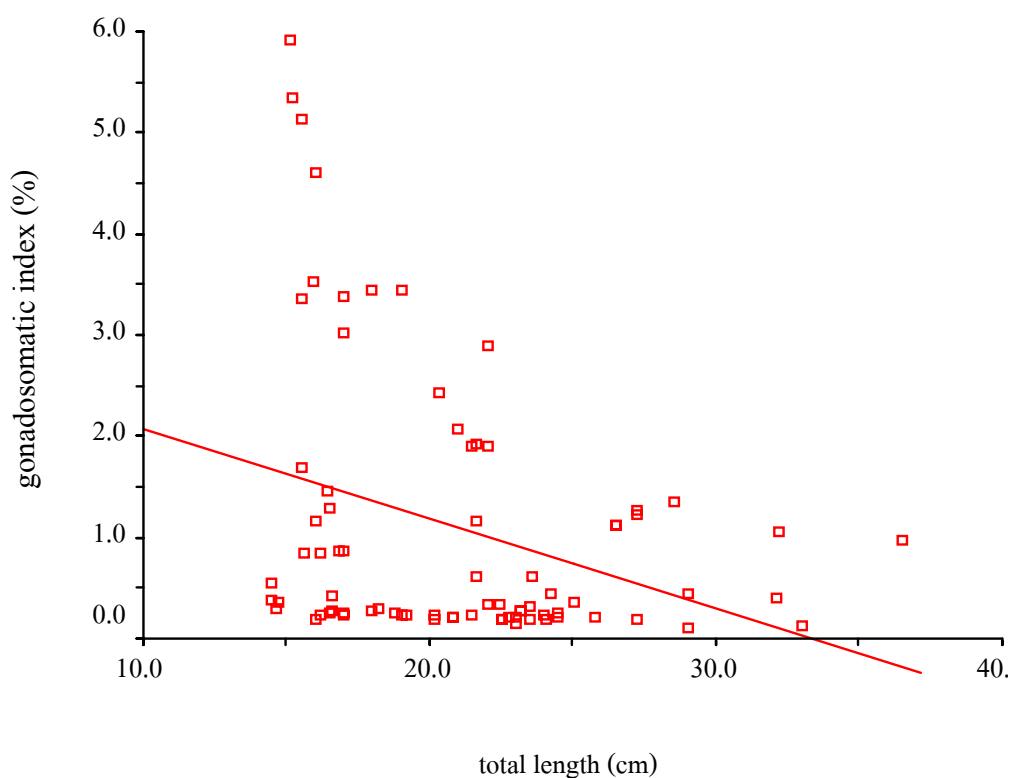
กราฟที่ 1 แสดงค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ (Quantitative Gonadosomatic Index) ของปลาบู่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีการเจริญพันธุ์กับน้ำหนักของรังไข่ของปลาบู่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีการเจริญพันธุ์กับน้ำหนักของตัวปลาของปลาบุ่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีการเจริญพันธุ์กับความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาบุ่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

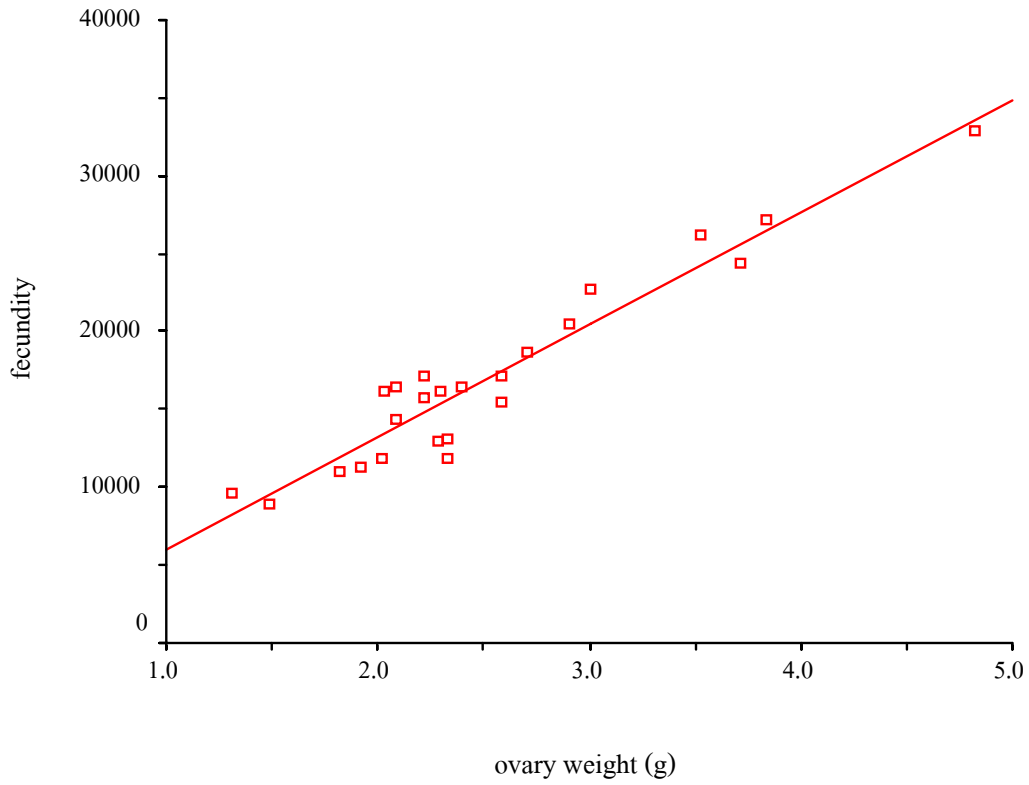
2. ค่าความคดของไข่

จากการศึกษาค่าความคดของไข่ปลาบุุทรายตลอดระยะเวลาการศึกษา พบว่า มีปลาบุุทรายจำนวน 22 ตัวที่มีรังไข่ระยะไข่สุก สามารถนำมาหาค่าความคดของไข่ได้ พบว่า ค่า ความคดของไข่อยู่ในช่วง 8,923 ถึง 32,959 ฟอง เฉลี่ย $17,004 \pm 1,224$ ฟอง/ตัว ($\bar{X} \pm S.E.$) และพบว่า ค่าความคดของไข่แต่ละตัวของปลาบุุทรายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางภาคผนวกที่ 7) และเมื่อเปรียบเทียบค่าความคดของไข่ในแต่ละส่วนคือส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายของรังไข่ พบว่า ค่าความคดของไข่ในแต่ละส่วนของรังไข่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงให้เห็นว่า ตลอดรังไข่ของปลาบุุทรายมีความหนาแน่นของเซลล์ไข่ไม่แตกต่างกัน นั่นคือ มีการกระจายของเซลล์ไข่อย่างสม่ำเสมอตลอดรังไข่

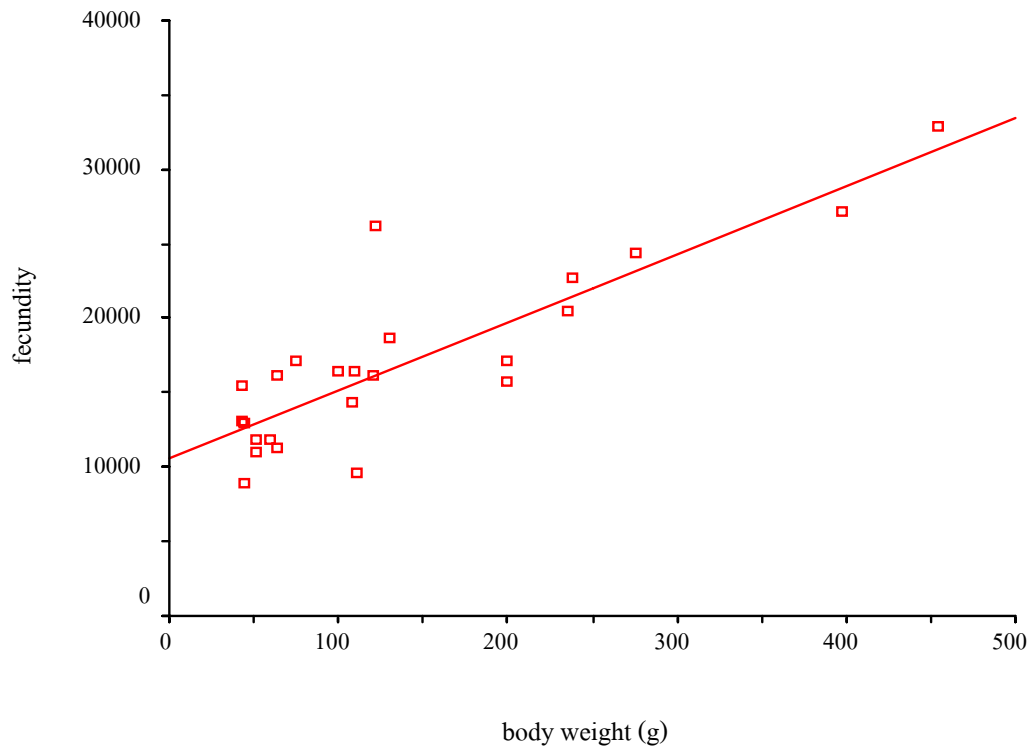
เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคดของไข่กับน้ำหนักของรังไข่ น้ำหนักของตัวปลาและความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา มีค่าความสัมพันธ์ $r = 0.957$, $r = 0.852$ และ $r = 0.799$ ตามลำดับ แสดงว่า ค่าความคดของไข่จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อน้ำหนักของรังไข่เพิ่มมากขึ้น (กราฟที่ 5) เช่นเดียวกับ ค่าความคดของไข่จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อน้ำหนักของตัวปลาและความยาวทั้งสิ้นของตัวปลาเพิ่มมากขึ้น แต่มีความสัมพันธ์น้อยกว่าน้ำหนักของรังไข่ (กราฟที่ 6 และ 7) ตามลำดับ และสามารถทำนายค่าความคดของไข่จากน้ำหนักของรังไข่ น้ำหนักของตัวปลา และความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา ได้ดังสมการ (ตารางภาคผนวกที่ 8, 9 และ 10)

$$\begin{aligned} \text{Fecundity} &= (-1,225) + 7223 (\text{OV}) \\ &= 10,656 + 45 (\text{BW}) \\ &= (-713) + 821 (\text{TL}) \end{aligned}$$

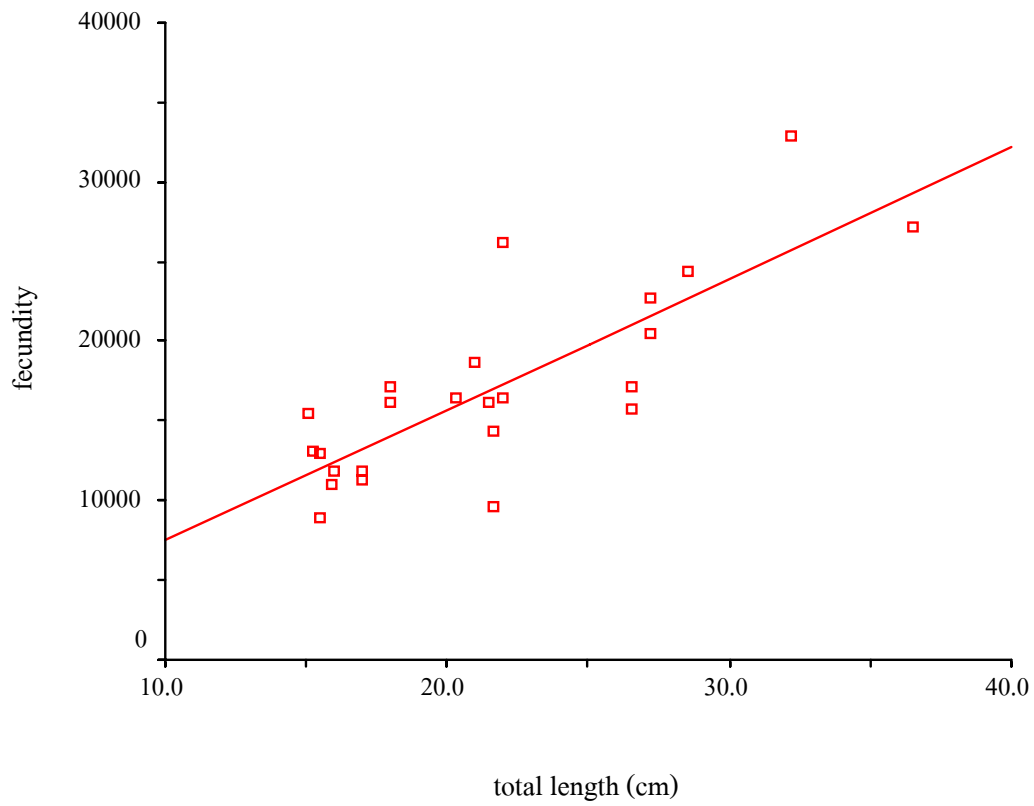
เมื่อ OV = ovary, BW = body weight และ TL = total length



กราฟที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคดของไข่กับน้ำหนักของรังไข่
ของปลาบู่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคดของไข่กับน้ำหนักของตัวปลา
ของปลาบู่ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคอกของไข่กับความยาวทั้งสิ้นของตัวปลา
ของปลาบู๋ทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

3. เนื้อเยื่อวิทยา และวงจรการสืบพันธุ์

จากการศึกษาเนื้อเยื่อรังไข่ของปลาบู่ทรายในครั้งนี้ พบว่า เนื้อเยื่อรังไข่จะถูกหุ้มด้วย เจอมีนัล อีพิเทเลียม (germinal epithelium) ใต้เจอมีนัล อีพิเทเลียมเป็นชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย (tunica albuginea) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีกล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่ด้วย โดยในรังไข่ระยะไข่สุกหรือรังไข่ที่เจริญเต็มที่แล้วชั้นทูนิกา อัลบูจิเนียจะพบกล้ามเนื้อเรียบจำนวนมาก และมีเส้นเลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก (รูปที่ 8) แต่ถ้าเป็นรังไข่ระยะไข่อ่อน ชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย ยังเจริญไม่สมบูรณ์ดี จะเห็นเป็นชั้นบางๆ มีเส้นเลือดมาเลี้ยงน้อย (รูปที่ 9) ภายในรังไข่จะมีเซลล์ไข่หลายระยะ เซลล์ไข่ที่ยังเจริญไม่เต็มที่ที่จะฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอยู่ภายใน โอวิเกอร์ส โฟลด์ (ovigerous fold) ซึ่งยื่นออกมาจากส่วนชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย ไปยังศูนย์กลางของรังไข่ เมื่อเซลล์ไข่เจริญเต็มที่แล้ว เนื้อเยื่อเกี่ยวพันส่วนของโอวิเกอร์ส โฟลด์ จะถูกสลายไป จากการศึกษารังไข่ นี้ สามารถจัดแบ่งระยะของเซลล์ไข่ตามระยะการเจริญและการพัฒนาได้ 6 ระยะคือ

1. ระยะโอโอโกเนีย (oogonia stage) เป็นเซลล์ลักษณะกลมรี ขนาดเล็ก เซลล์มีขนาด 5-10 ไมโครเมตร ดิสก์น้ำเงินเข้ม มองเห็นไม่ชัดเจน และพบได้น้อย โดยจะฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในโอวิเกอร์ส โฟลด์ (รูปที่ 10)

2. ระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส (chromatin nucleolus stage) ไซโตพลาซึมดิสก์น้ำเงินเข้ม หรือเป็น basophilic cell นิวเคลียสไม่ดิสก์ ภายในนิวเคลียสจะมีนิวคลีโอลัสหนึ่งอันดิสก์น้ำเงินเข้มสามารถเห็นได้ชัดเจน เซลล์มีขนาด 10-70 ไมโครเมตร และจะมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโตพลาซึมมีค่าสูงประมาณ 60% (รูปที่ 10)

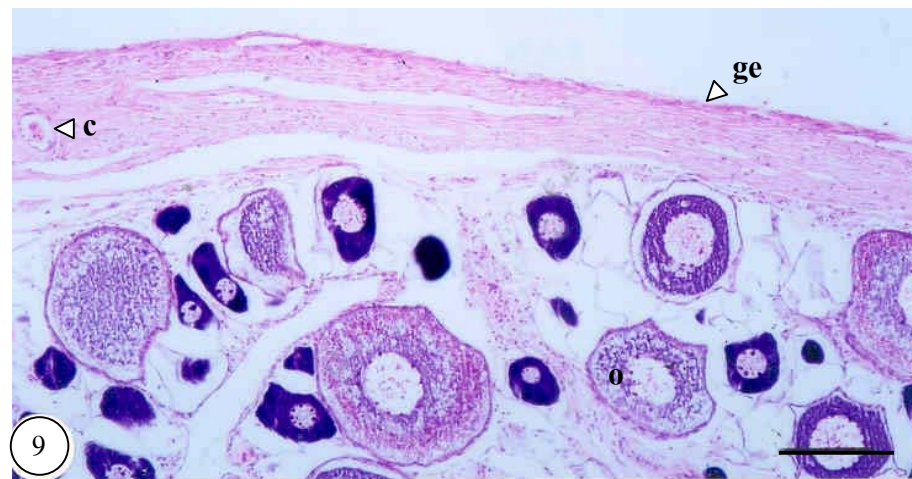
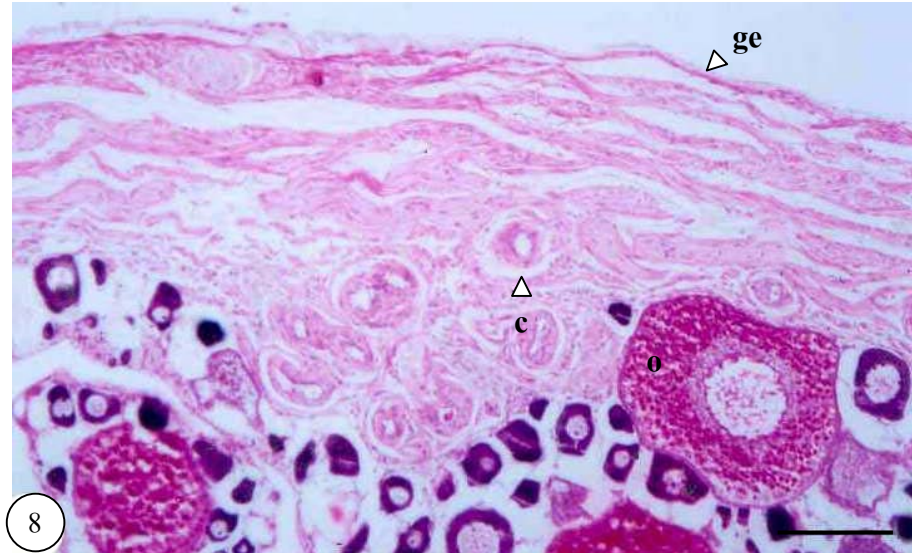
3. ระยะเพอรินิวคลีโอลัส (perinucleolus stage) ไซโตพลาซึมดิสก์น้ำเงินน้อยกว่าระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส (chromatin nucleolus stage) นิวคลีโอลัสเพิ่มจำนวนมากขึ้นเป็น 2-13 อัน เซลล์มีขนาด 50-130 ไมโครเมตร และจะมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโตพลาซึมมีค่าลดลงประมาณ 50% ยังมองไม่เห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิล ได้ชัดเจน เซลล์ในระยะนี้แบ่งออกเป็นระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นต้น (early perinucleolus stage) และระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นปลาย (late perinucleolus stage) เซลล์ทั้งสองระยะจะมีลักษณะที่เหมือนกันแต่จะแตกต่างที่เซลล์ระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นต้น นิวคลีโอลัสจะมีขนาดที่ไม่เท่ากันและเรียงตัวกระจัดกระจาย

ภายในนิวเคลียส แต่เซลล์ระยะเพอรินิวคลีโอลัสชั้นปลาย นิวคลีโอลัสจะเรียงตัวชิดขอบด้านในของนิวเคลียส (periphery of the nucleus) และนิวคลีโอลัสจะมีขนาดใกล้เคียงกัน (รูปที่ 11)

4. ระยะโอล์คเวสติกิล (yolk vesicle stage) เซลล์มีขนาด 80-310 ไมโครเมตร และจะมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโตพลาซิมมีค่าลดลงน้อยกว่า 50% มีนิวคลีโอลัสจำนวน 3-15 อัน มีขนาดใกล้เคียงกัน ในเซลล์ไ้ระยะนี้สามารถเห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิล ทั้งชั้นธีคา ชั้นแกรนูโลซา และ โซนา เรดิเอตา (zona radiata) โดยชั้นธีคา มีลักษณะเป็นชั้นบางๆ ล้อมรอบชั้นแกรนูโลซา ขณะที่เห็นเซลล์แกรนูโลซาเป็นรูปแบน (squamous cell) เรียงตัวอย่างหนาแน่น โซนา เรดิเอตา เห็นเป็นแถบติดสีชมพู ไซโตพลาซิมติดสีน้ำเงินไม่สม่ำเสมอ และไม่ใช่นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเซลล์ไ้เริ่มมีการสร้างโอล์คเวสติกิล (yolk vesicle) โดยจะเริ่มสะสมโอล์คเวสติกิลจากขอบด้านนอกติดกับโอวาเรียนฟอลลิเคิลและขอบด้านในติดกับเยื่อหุ้มนิวเคลียสก่อน เมื่อมีการสะสมมากขึ้นจะรวมเข้าด้วยกัน จนเต็มเซลล์ไ้ (รูปที่ 12)

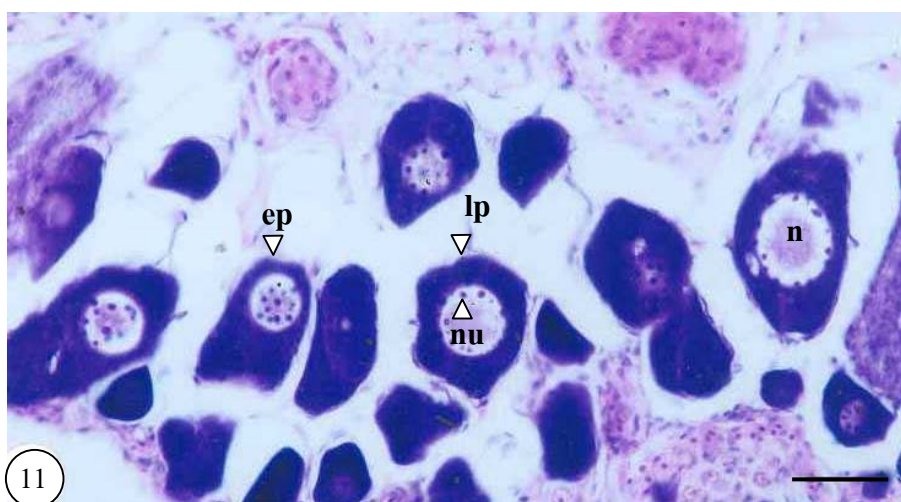
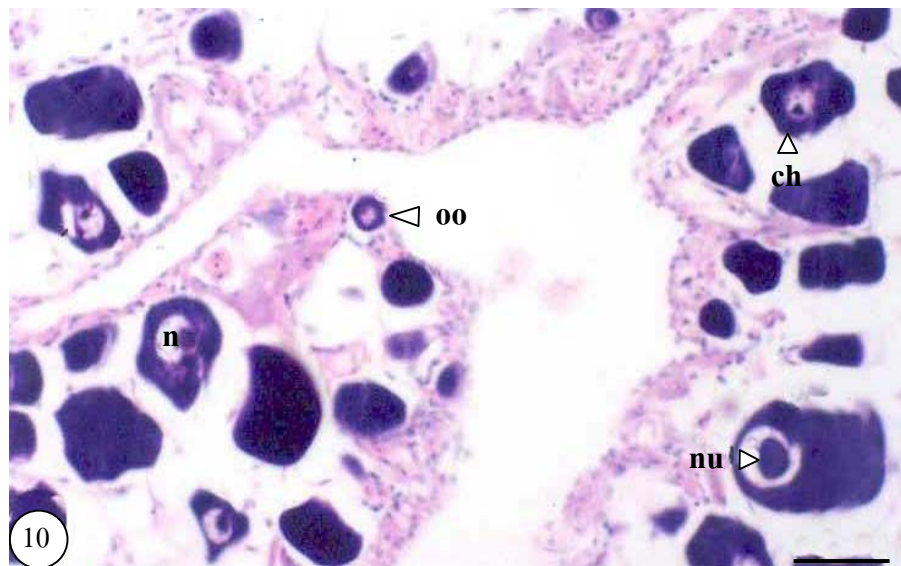
5. ระยะโอล์คแกรนูล (yolk granule stage) เซลล์ไ้มีขนาด 150-500 ไมโครเมตร เซลล์ติดสีชมพูเข้มหรือเป็น acidophilic cell เซลล์ไ้มีการสะสมโอล์คมากขึ้นจากโอล์คเวสติกิลเป็นโอล์คแกรนูล (yolk granule) ซึ่งมีขนาดประมาณ 5-17.5 ไมโครเมตร นิวเคลียสถูกบดบังด้วยโอล์คแกรนูลที่อัดแน่นเต็มเซลล์ไ้ จนมองไม่เห็นนิวเคลียส เซลล์ไ้ระยะนี้สามารถเห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิลได้ชัดเจน ทั้งชั้นธีคา ชั้นแกรนูโลซา และ โซนา เรดิเอตา (รูปที่ 13)

6. ระยะหลังวางไข่ (postovulatory follicle stage) เซลล์ไ้จะมีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเขตเซลล์ไม่ชัดเจน เห็นเป็นช่องว่างที่เกิดจากเซลล์ไ้ได้หลุดออกไป จึงย้อมไม่ติดสี Hematoxylin and Eosin (รูปที่ 14)



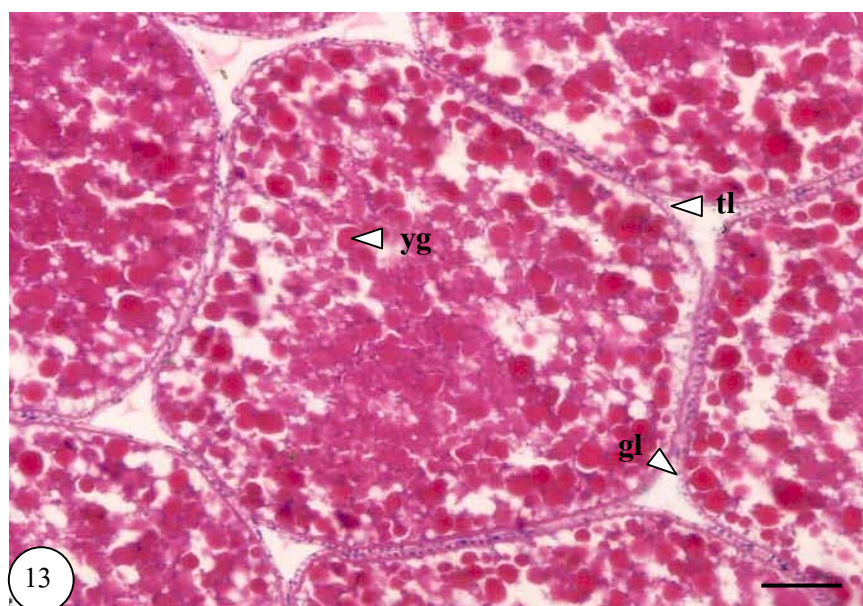
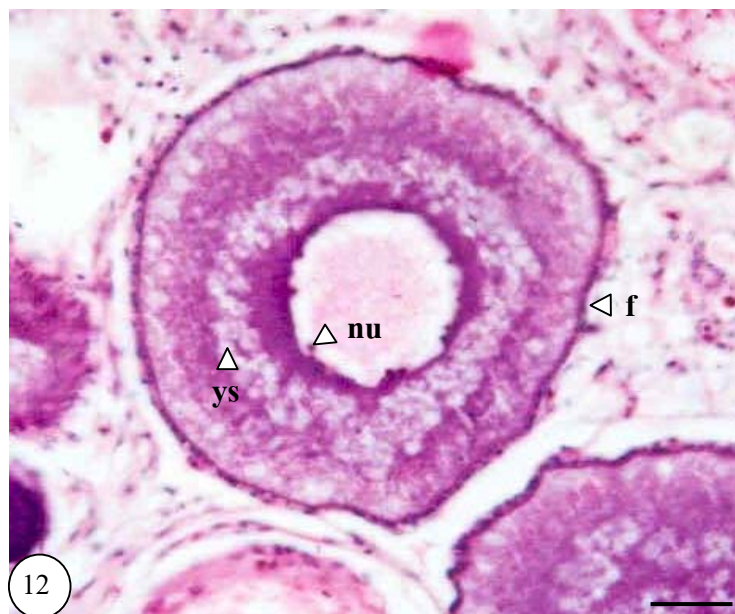
รูปที่ 8 แสดงลักษณะผนังรังไข่ระยะไข่สุก (gravid stage) ; c = capillary,
ge = germinal epithelium, o = oocyte (H&E, scale bar = 100 μ m)

รูปที่ 9 แสดงลักษณะผนังของรังไข่ระยะไข่อ่อน (immature stage) ; c = capillary
ge = germinal epithelium, o = oocyte (H&E, scale bar = 100 μ m)

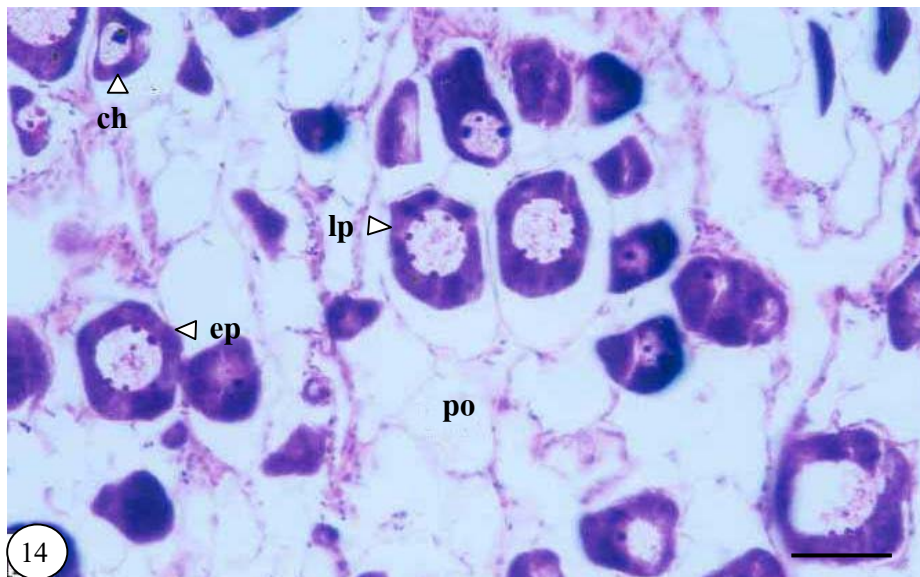


รูปที่ 10 แสดงลักษณะของเซลล์ไข่ระยะ โอโอโกเนียและโครมาติน นิวคลีโอลัส (oogonia and chromatin nucleolus stage) ; ch = chromatin nucleolus stage, n =nucleus, nu = nucleolus, oo = oogonia (H&E, scale bar = 25 μ m)

รูปที่ 11 แสดงลักษณะของเซลล์ไข่ระยะเพอรินิวคลีโอลัส (perinucleolus stage) ; ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage, n =nucleus, nu = nucleolus, (H&E, scale bar = 20 μ m)



- รูปที่ 12 แสดงลักษณะของเซลล์ไข่ระยะ โยล์คเวสทิเคิล (yolk vesicle stage) ; f = follicle layer, nu = nucleolus, oo = oogonia, yv = yolk vesicle, (H&E, scale bar = 20 μ m)
- รูปที่ 13 แสดงลักษณะของเซลล์ไข่ระยะ โยล์คแกรนูล (yolk granule stage) ; yg = yolk granule, tl = theca layer, gl = granulosa layer (H&E, scale bar = 20 μ m)



รูปที่ 14 แสดงลักษณะของเซลล์ไข่ระยะหลังวางไข่ (post ovulatory follicle stage) ;
ch = chromatin nucleolus stage, ep = early perinucleolus stage,
lp = late perinucleolus stage, po = post ovulatory follicle stage (H&E,
scale bar = 20 μ m)

จากผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อรังไข่ของปลาตู้ทราย พบว่า การเจริญและการพัฒนาของรังไข่เป็นแบบไข่พัฒนาพร้อมกันเป็นกลุ่ม (group synchronous oocyte development) โดยภายในรังไข่มีเซลล์ไข่ระยะต่างๆ หลายระยะ และมีขนาดไม่เท่ากันทุกฟอลลิเคิล (รูปที่ 15) ทำให้มีเซลล์ไข่สุกไม่พร้อมกันทั้งรังไข่ จึงเป็นปลาที่มีการวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งต่อปี การศึกษารังไข่จัดแบ่งระยะของรังไข่ตามการเจริญและการพัฒนาของเซลล์ไข่ได้ 5 ระยะ

1. ระยะไข่อ่อน (immature stage) รังไข่ระยะนี้จะพบเซลล์ไข่ระยะโอโอโกเนีย และโครมาติน นิวคลีโอลัสเด่นชัด ภายในรังไข่จะเห็น โอวิเกอร์ส โพล์ด ขึ้นออกจากผนังรังไข่เรียงตัวเข้าหาศูนย์กลางของรังไข่เป็นจำนวนมาก โดยไม่มีการแตกกิ่งของโอวิเกอร์ส โพล์ด รังไข่ระยะนี้จะเห็นช่องว่างระหว่างโอวิเกอร์ส โพล์ด มาก และมีผนังรังไข่บาง มีความหนาประมาณ 70-200 ไมโครเมตร (รูปที่ 16)

รังไข่ระยะนี้ สามารถพบได้เกือบทุกเดือนตั้งแต่เดือนมีนาคม เดือนเมษายน เดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน และพบเด่นชัดมากที่สุดในเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 คิดเป็นอัตราร้อยละ 66.67 , 50, 50, 50, 83.33, 16.67 และ 83.33 ตามลำดับ (กราฟที่ 8)

2. ระยะไข่พัฒนาขั้นต้น (early developing stage) รังไข่ระยะนี้จะพบเซลล์ไข่ระยะเพอร์นิวโอลัสเด่นชัดที่สุด จะพบเซลล์ทั้งที่เป็นเซลล์ระยะเพอร์นิวโอลัสขั้นต้น และเซลล์ระยะเพอร์นิวโอลัสขั้นปลาย ยังคงเห็นช่องว่างระหว่างโอวิเกอร์ส โพล์ด เซลล์ไข่ที่เกิดขึ้นก่อนจะค่อยๆ เจริญเข้าหาศูนย์กลางของโอวิเกอร์ส โพล์ด ผนังรังไข่มีความหนาประมาณ 90-200 ไมโครเมตร ภายในรังไข่จะมีเซลล์ไข่ระยะโอโอโกเนีย และโครมาติน นิวคลีโอลัส เจริญรวมอยู่ด้วย (รูปที่ 17)

รังไข่ระยะนี้ พบน้อยมาก รังไข่ระยะนี้จะเกิดเด่นชัดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 คิดเป็นอัตราร้อยละ 33.33 และในเดือนมกราคม และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 คิดเป็นอัตราร้อยละ 16.67 และ 16.67 ตามลำดับ และไม่พบรังไข่ระยะนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาหลายเดือนตั้งแต่เดือนเมษายน ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545

3. ระยะไข่พัฒนาขั้นปลาย (late developing stage) รังไข่ระยะนี้จะพบเซลล์ไข่ระยะโยลต์เวสสิเคิลเด่นชัดที่สุด ผนังรังไข่จะเพิ่มความหนามากขึ้นประมาณ 160-340 ไมโครเมตร เพราะเซลล์ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้นและเริ่มมีการสร้างโยลต์เวสสิเคิล จึงทำให้ผนังรังไข่เพิ่มความหนาขึ้นเพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับรังไข่เพื่อรองรับกับการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไข่ ขณะเดียวกัน ในรังไข่ระยะนี้ โอวิเกอร์ส โพล์ด มองเห็นไม่ชัดเจน เพราะเซลล์ไข่ได้เจริญและพัฒนา

มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงทำให้น้ำเชื้อเยื่อแก้วพัน ส่วนโอวิเกอร์ส โพล์ด ถูกดันให้ขยายออกทำให้ผนังของโอวิเกอร์ส โพล์ด บางและสลายไปในที่สุด นอกจากนี้แล้ว ยังพบเซลล์ไข่ทั้งระยะโอโอโกเนีย, โครมาติน นิวคลีโอลัส และเพอรินิวคลีโอลัส เจริญรวมอยู่ในรังไข่ด้วย (รูปที่ 18)

รังไข่ระยะนี้ จะเกิดขึ้นเด่นชัดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2545 คิดเป็นอัตราร้อยละ 50 และจะพบรังไข่ระยะนี้ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 คิดเป็นอัตราร้อยละ 16.67, 16.67 และ 33.33 ตามลำดับ นอกจากนี้แล้ว ยังไม่พบรังไข่ระยะนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาหลายคือ ตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 (กราฟที่ 10)

4. ระยะไข่สุก (gravid stage) รังไข่ระยะนี้จะพบเซลล์ไข่ระยะโพล์ดแกรนูลเด่นชัดที่สุดผนังรังไข่จะมีความหนาเพิ่มขึ้นประมาณ 200-340 ไมโครเมตร ภายในรังไข่จะมีเซลล์ไข่ระยะโพล์ดแกรนูลอัดแน่นเต็มรังไข่ ในรังไข่ระยะนี้อาจจะมีเซลล์ไข่ระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส และเพอรินิวคลีโอลัสเจริญรวมอยู่ด้วย รังไข่ระยะนี้จะมองไม่เห็นโอวิเกอร์ส โพล์ด เพราะเซลล์ไข่ส่วนใหญ่เจริญและพัฒนาเต็มที่พร้อมที่จะวางไข่ได้ ทำให้โอวิเกอร์ส โพล์ด สลายตัวไป (รูปที่ 19)

รังไข่ระยะนี้ สามารถพบติดต่อกันเป็นระยะเวลาหลายเดือนคือ ตั้งแต่เดือนเมษายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 เดือนมกราคม พ.ศ. 2546 แต่จะพบมากที่สุดในเดือนตุลาคม และเดือนพฤศจิกายน คิดเป็นอัตราร้อยละ 100 ของตัวอย่างปลาบุทรายที่นำมาศึกษา คิดเป็นอัตราร้อยละ 66.67 และ 33.33 ตามลำดับ แต่จะไม่พบรังไข่ระยะนี้ ในเดือนมีนาคมและเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 (กราฟที่ 11)

5. ระยะหลังวางไข่ (spent stage) รังไข่ระยะนี้จะเป็นรังไข่หลังจากปลาวางไข่แล้ว จึงพบเซลล์ไข่ระยะหลังวางไข่เด่นชัดที่สุด ผนังรังไข่มีความหนาประมาณ 140-200 ไมโครเมตร รังไข่ระยะนี้จะมีเซลล์ไข่ทั้งระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส และเพอรินิวคลีโอลัส เจริญขึ้นมาแทนที่เซลล์ไข่ที่ได้ถูกวางไข่ไปแล้ว (รูปที่ 20)

รังไข่ระยะนี้ พบได้น้อยมาก เพียง 2 เดือนเท่านั้น คือ เดือนกันยายน พ.ศ. 2545 และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 คิดเป็นอัตราร้อยละ 50 และ 50 ตามลำดับ และสามารถแบ่งช่วงเวลาที่ไม่พบรังไข่ระยะนี้ติดต่อกันได้ 2 ช่วง คือ ตั้งแต่เดือนมีนาคม ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2545 และช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2546 (กราฟที่ 12)

ผลการศึกษา การเปลี่ยนแปลงเซลล์ไข่ในเนื้อเยื่อรังไข่ของปลาวุทรายในครั้งนี้ พบว่ารังไข่ปลาวุทรายมีวงจรการสืบพันธุ์ในแต่ละเดือนแตกต่างกัน (กราฟที่ 13) คือ

เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 66.67 % และระยะไข่พัฒนาขึ้นต้น 33.33%

เดือนเมษายน พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 50 % และระยะไข่สุก 50 %

เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย 50 % และระยะไข่สุก 50 %

เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 50 % และระยะไข่สุก 50 %

เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 50 % และระยะไข่สุก 50 %

เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 83.33 % และระยะไข่สุก 16.67 %

เดือนกันยายน พ.ศ. 2545 จะพบรังไข่ระยะไข่อ่อน 16.67 % ระยะไข่สุก 33.33 % และระยะหลังวางไข่ 50 %

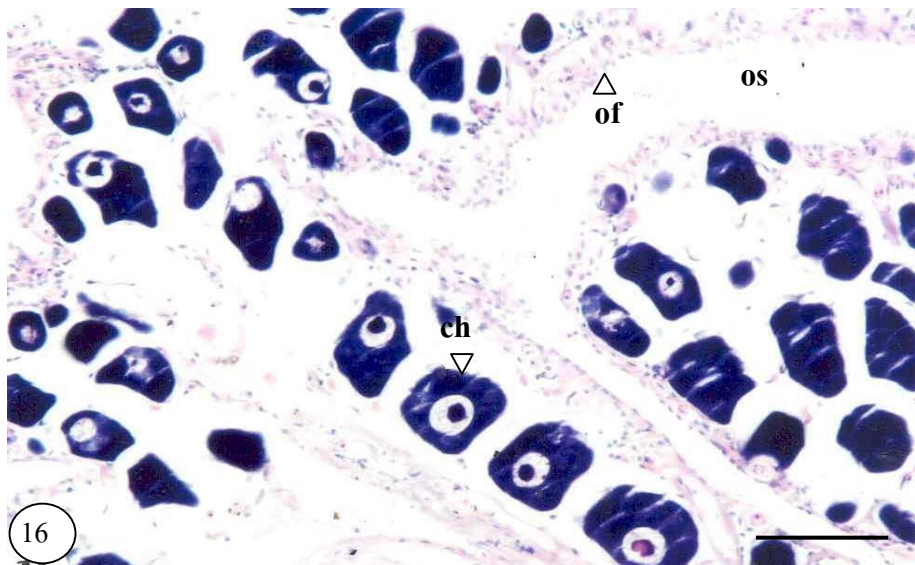
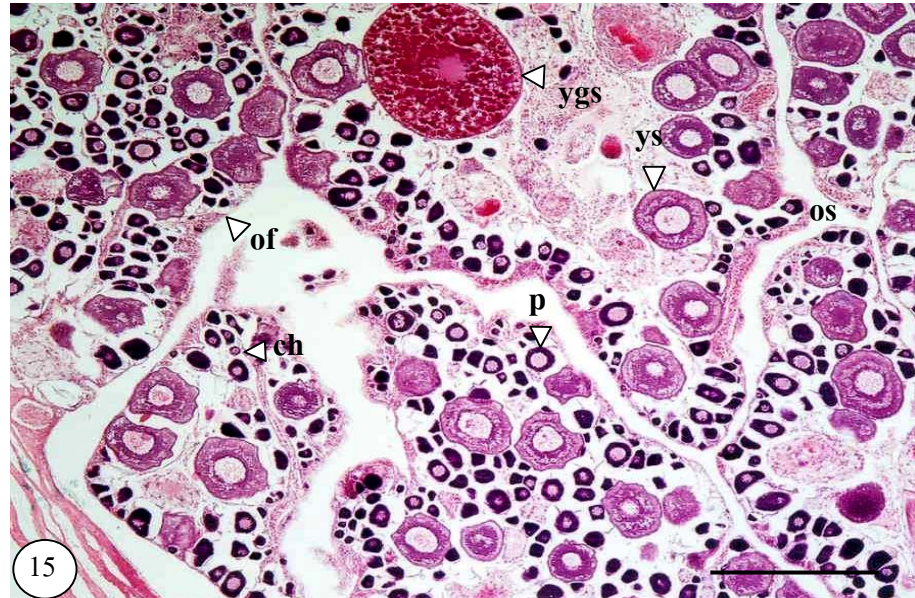
เดือนตุลาคม และเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่สุกทุกตัวคิดเป็น 100 %

เดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 พบรังไข่ระยะไข่อ่อน 83.33 % และระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย 16.67 %

เดือนมกราคม พ.ศ. 2546 พบรังไข่ระยะไข่พัฒนาขึ้นต้น 16.67 % ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย 16.67 % และระยะไข่สุก 66.67 %

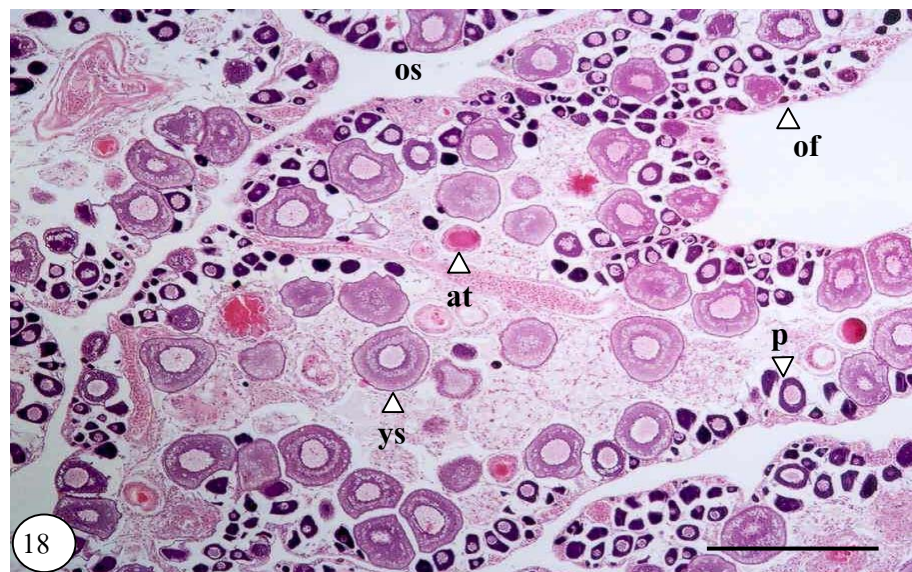
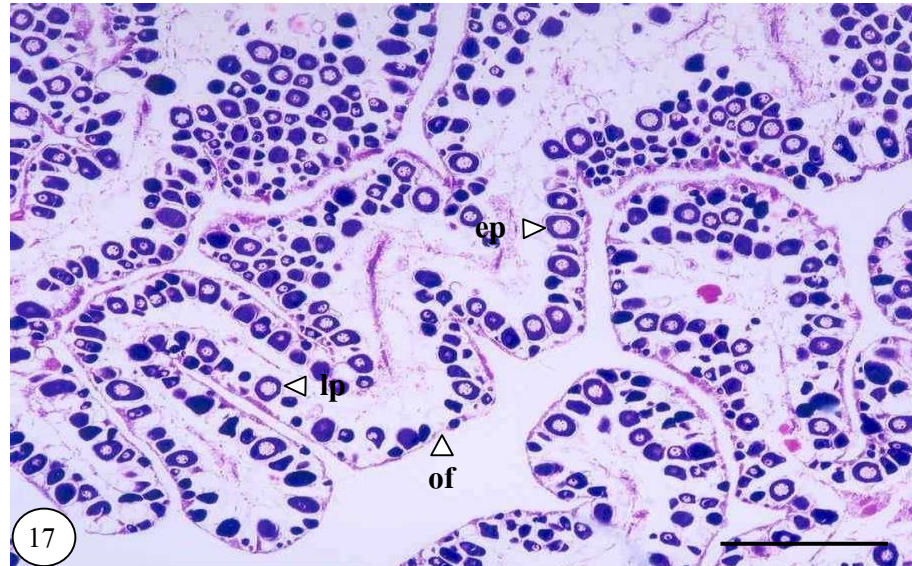
เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 พบรังไข่ระยะไข่พัฒนาขึ้นต้น 16.67 % ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย 33.33 % และระยะไข่สุก 50 %

และเมื่อเปรียบเทียบผลของดัชนีการเจริญพันธุ์เชิงปริมาณ (Quantitative Gonadosomatic Index) และดัชนีการเจริญพันธุ์เชิงคุณภาพ (Qualitative Gonad Index) (ภาคผนวก) ให้ผลสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน (กราฟที่ 14) จากผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่า ในแต่ละปีปลาบุทรายสามารถที่จะวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งอย่างแน่นอนหรือสามารถวางไข่ได้เกือบตลอดทั้งปี



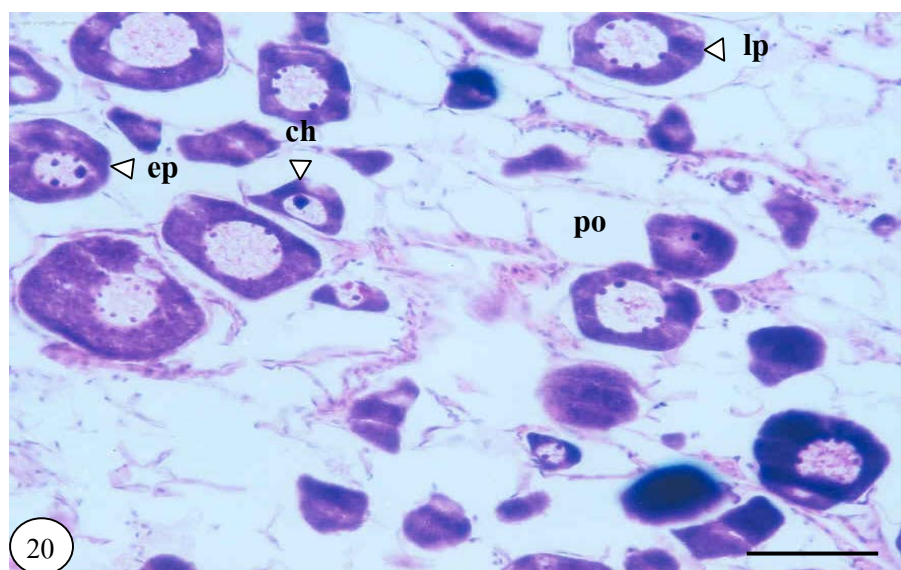
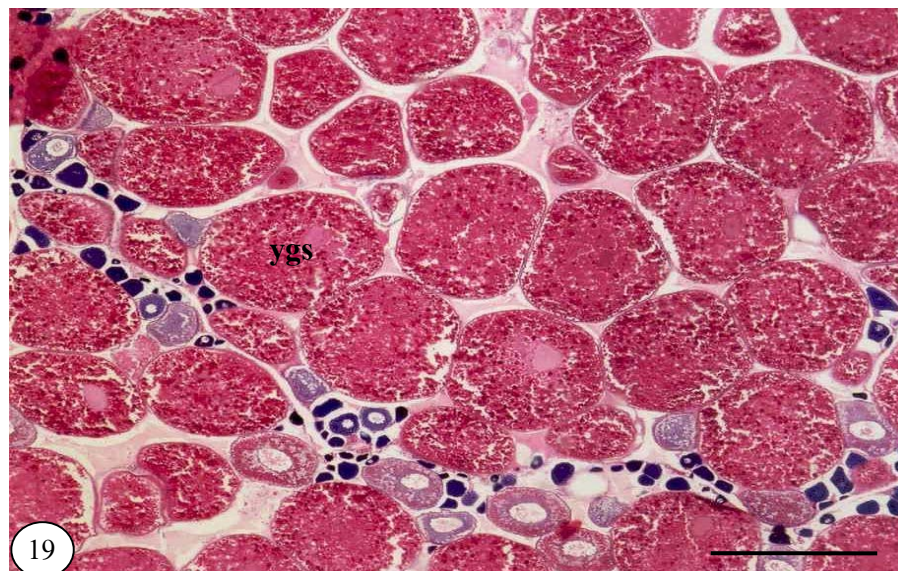
รูปที่ 15 แสดงลักษณะของรังไข่ปลาบู่ทราย เป็นแบบไข่พัฒนาพร้อมกันเป็นกลุ่ม (group synchronous oocyte development) ; ch = chromatin nucleolus stage, p = perinucleolus stage, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space, ygs = yolk granule stage, ys = yolk vesicle stage (H&E, scale bar = 500 μ m)

รูปที่ 16 แสดงรังไข่ระยะไข่อ่อน (immature stage) ; ch = chromatin nucleolus stage, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space (H&E, scale bar = 25 μ m)



รูปที่ 17 แสดงรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นต้น (early developing stage) ; ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space (H&E, scale bar = 500 μ m)

รูปที่ 18 แสดงรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นปลาย (late developing stage) ; at = atretic follicle, os = ovigerous fold space, p = perinucleolus stage, ys = yolk vesicle stage (H&E, scale bar = 500 μ m)



รูปที่ 19 แสดงรังไข่ระยะไข่สุก (gravid stage) ; ygs = yolk granule stage

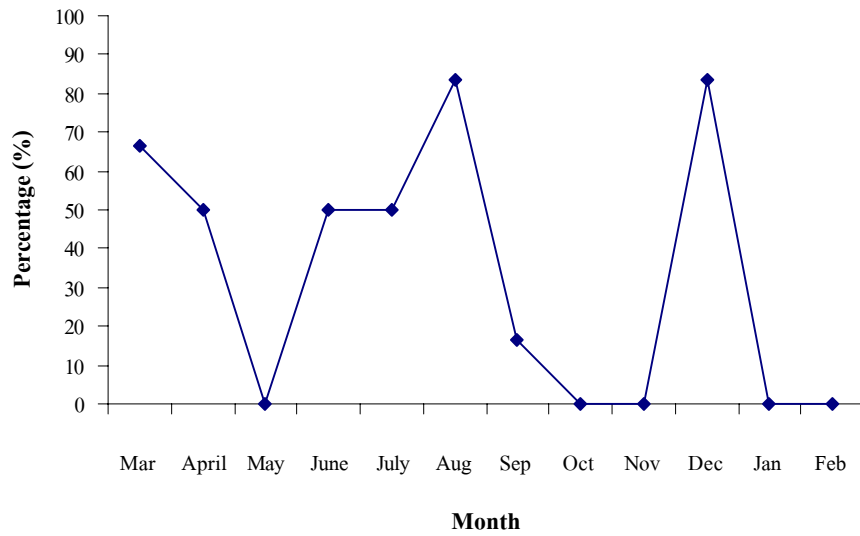
ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage,

po = post ovulatory follicle stage (H&E, scale bar = 500 μ m)

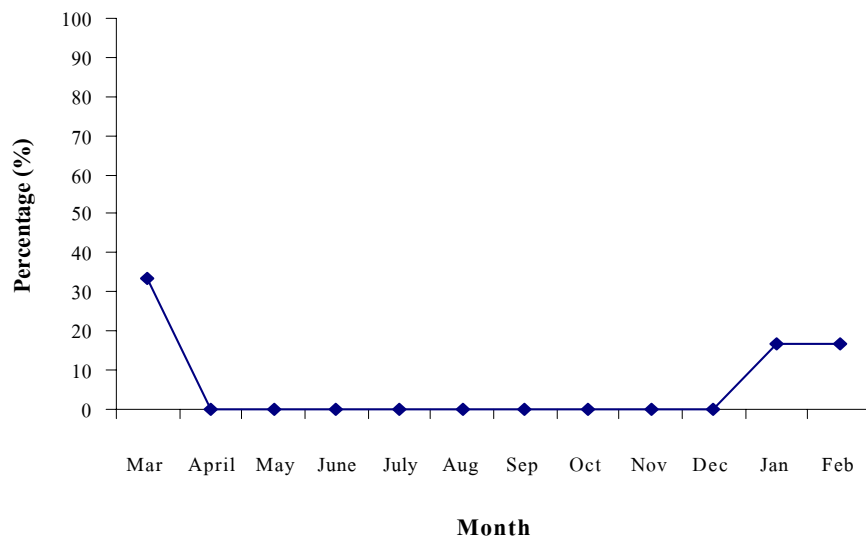
รูปที่ 20 แสดงรังไข่ระยะไข่หลังวางไข่ (spent stage) ; ch = chromatin nucleolus

stage, ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage, po = post

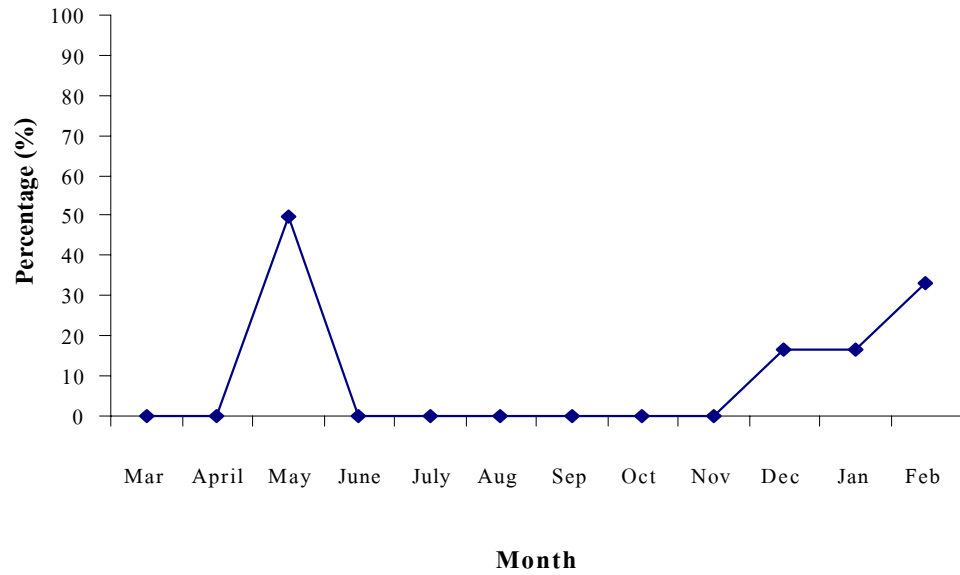
ovulatory follicle stage (H&E, scale bar = 25 μ m)



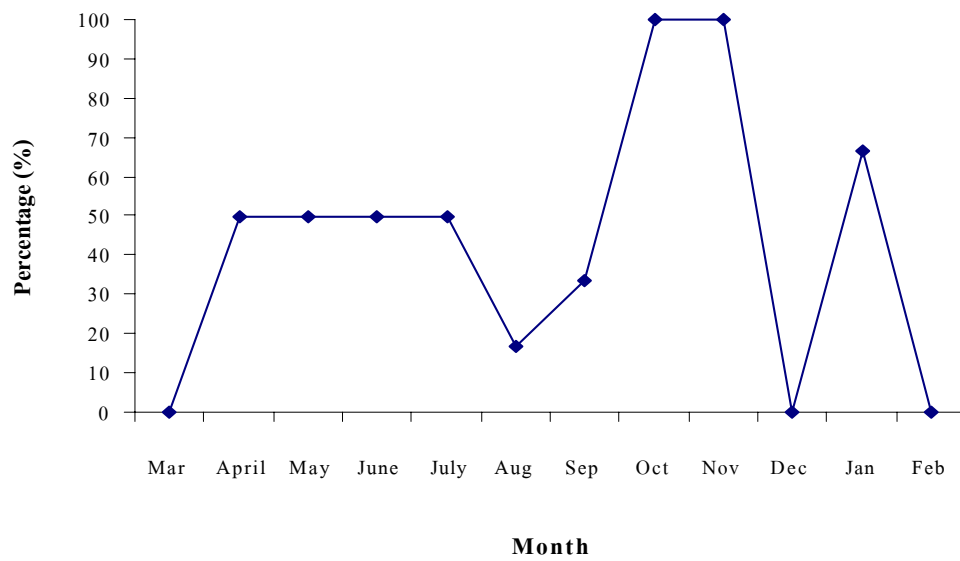
กราฟที่ 8 แสดงพัฒนาการเจริญของรังไข่ระยะไข่อ่อน (immature stage) ของ
ปลาบู่ทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



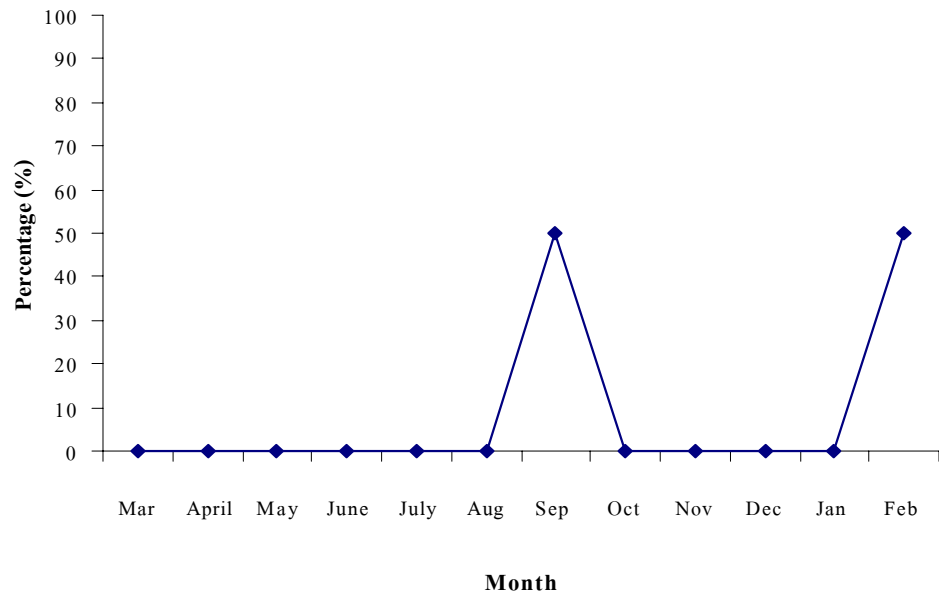
กราฟที่ 9 แสดงพัฒนาการเจริญของรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นต้น (early developing stage)
ของปลาบู่ทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



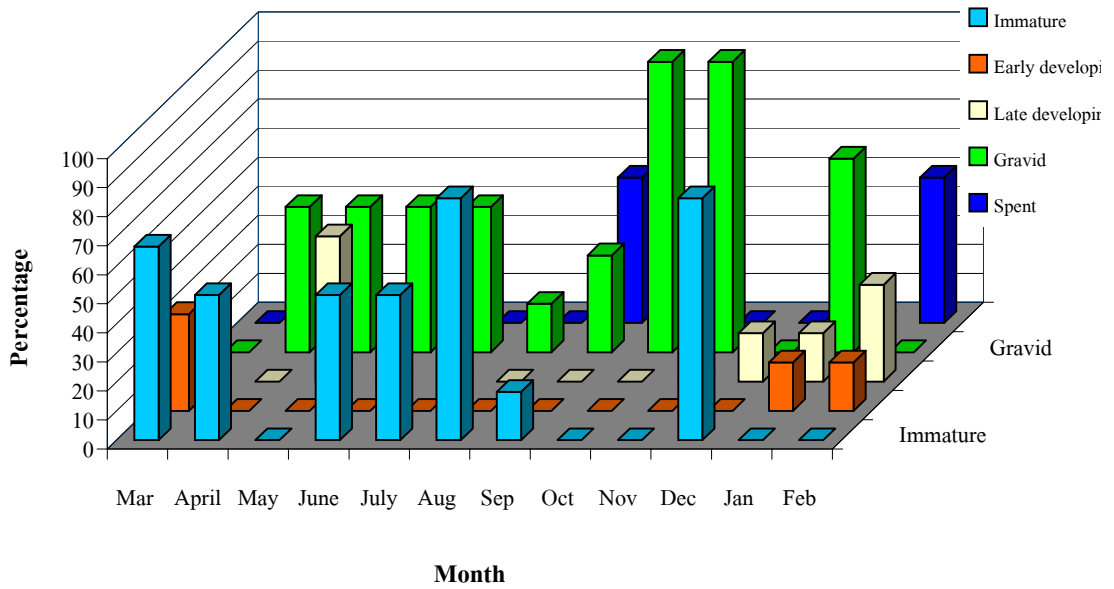
กราฟที่ 10 แสดงพัฒนาการเจริญของรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นปลาย (late developing stage) ของปลาบุู่ทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



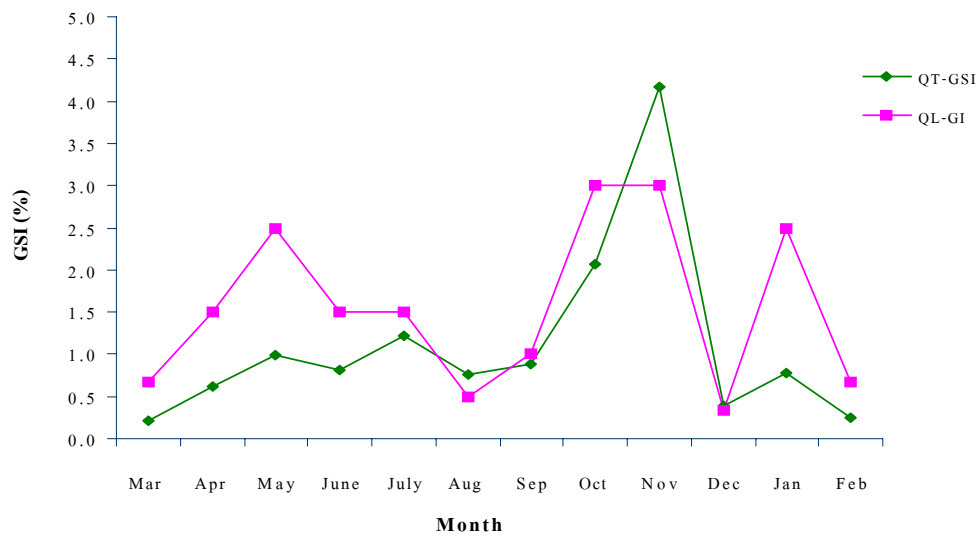
กราฟที่ 11 แสดงพัฒนาการเจริญของรังไข่ระยะไข่สุก (gravid stage) ของปลาบุู่ทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 12 แสดงพัฒนาการเจริญของรวงข้าวระยะไข่วางไข่ (spent stage) ของ
ปลาน้ำทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์ของระยะวัยไข่ปลาบุทราย ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546



กราฟที่ 14 เปรียบเทียบค่าดัชนีการเจริญพันธุ์เชิงปริมาณ (Gonadosomatic Index; QT-GSI) ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์เชิงคุณภาพ (Gonad Index, QL-GI) ของปลาบุทรายตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

4. ปริมาณการสะสมของโยลต์

เนื้อเยื่อรังไข่ของปลาบู่ทรายจะถูกหุ้มด้วยชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และมีกล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่ด้วย โดยในผนังรังไข่ระยะไข่อ่อนเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะติดสีฟ้าเข้ม โดยเฉพาะบริเวณขอบด้านนอกของชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย จะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอยู่หนาแน่นกว่าบริเวณด้านใน และมีกล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่ด้วยติดสีแดงส้ม โดยเฉพาะบริเวณขอบด้านนอกถัดจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาด้านในจะมีกล้ามเนื้อเรียบอยู่หนาแน่น ในรังไข่ระยะไข่อ่อนจะมีเส้นเลือดมาเลี้ยงน้อยและมีความหนาของผนังรังไข่บางประมาณ 70-200

ไมโครเมตร (รูปที่ 21) เมื่อรังไข่เข้าสู่ระยะไข่กำลังพัฒนาชั้นทูนิกา อัลบูจิเนีย จะมีความหนาเพิ่มขึ้นประมาณ 90-340 ไมโครเมตร เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผนังรังไข่และรองรับไข่ที่กำลังเจริญและพัฒนาเพิ่มมากขึ้น ในรังไข่ระยะนี้จึงมีกล้ามเนื้อเรียบเพิ่มมากขึ้นและแทรกอยู่อย่างสม่ำเสมอ ส่วนเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะลดน้อยลงกว่ารังไข่ระยะไข่อ่อน (รูปที่ 22) เมื่อรังไข่เข้าสู่ระยะไข่สุกและพร้อมที่จะวางไข่แล้ว ผนังของรังไข่มีกล้ามเนื้อเรียบจำนวนมากเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนังรังไข่ จึงมีความหนาของผนังรังไข่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 200-340 ไมโครเมตร และมีเส้นเลือดและเส้นประสาทมาเลี้ยงจำนวนมาก จึงไม่พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกอยู่ในผนังรังไข่ระยะไข่สุก (รูปที่ 23) และสามารถจัดแบ่งระยะของเซลล์ไข่ตามการเจริญและการพัฒนาได้ 6 ระยะคือ (1) ระยะโอโอโกเนีย (2) ระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส (3) ระยะเพอรินิวคลีโอลัส (4) ระยะโยลต์เวสทิเคิล (5) ระยะโยลต์แกรนูล และ (6) ระยะไข่หลังวางไข่ และระยะของรังไข่ได้ 5 ระยะ คือ (1) ระยะไข่อ่อน (2) ระยะไข่พัฒนาขึ้น (3) ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย (4) ระยะไข่สุก และ (5) ระยะไข่หลังวางไข่ ซึ่งการจัดแบ่งระยะเซลล์ไข่และระยะรังไข่เหมือนกับการย้อมสีด้วย H&E คือ

1. ระยะโอโอโกเนีย เซลล์ลักษณะกลมรี ขนาดเล็ก ติดสีม่วงน้ำเงิน และมองเห็นไม่ชัดเจน เพราะตัวเซลล์ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในโอวิเกอร์ส โพลต์ เซลล์ไข่ยังไม่มีการสะสมของโยลต์ (รูปที่ 24)

2. ระยะโครมาติน นิวคลีโอลัส เซลล์ไข่ระยะนี้ไซโทพลาซึมติดสีม่วงชมพู นิวเคลียสไม่ติดสี ภายในนิวเคลียสจะมีนิวคลีโอลัสหนึ่งอันติดสีส้ม สามารถเห็นได้ชัดเจน เซลล์มีขนาด 10-70 ไมโครเมตร และจะมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโทพลาซึมมีค่าสูงประมาณ 60% เซลล์ไข่ยังไม่มีการสะสมของโยลต์ (รูปที่ 24)

3. ระยะเพอรินิวคลีโอลัส ไชโตพลาซึมติดสีชมพูเข้ม นิวคลีโอลัสติดสีส้มและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเป็น 2-13 อัน เซลล์มีขนาด 50-130 ไมโครเมตร และมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไชโตพลาซึมมีค่าลดลงประมาณ 50% ยังมองไม่เห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิลได้ชัดเจน เซลล์ไข่ในระยะนี้แบ่งออกเป็นระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นต้น และระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นปลาย เซลล์ทั้งสองระยะมีลักษณะที่เหมือนกันแต่จะแตกต่างกันที่ เซลล์ระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นต้น นิวคลีโอลัสมีขนาดที่ไม่เท่ากันและเรียงตัวกระจายทั่วนิวเคลียส แต่เซลล์ไข่ระยะเพอรินิวคลีโอลัสขั้นปลาย นิวคลีโอลัสจะเรียงตัวชิดขอบด้านในของนิวเคลียส (periphery of the nucleus) และนิวคลีโอลัสจะมีขนาดใกล้เคียงกัน และเซลล์ไข่ยังไม่มีการสะสมของโอล์ค (รูปที่ 25)

4. ระยะโอล์คเวสทิเคิล เซลล์มีขนาด 80-310 ไมโครเมตร และจะมีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไชโตพลาซึมมีค่าลดลงน้อยกว่า 50% มีนิวคลีโอลัสจำนวน 3-15 อัน มีขนาดใกล้เคียงกัน ในเซลล์ระยะนี้สามารถเห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิล ทั้งชั้นธีคา ชั้นแกรนูโลซา และ โชนาเรดิเอตา โดยชั้นธีคา มีลักษณะเป็นชั้นบางๆ ล้อมรอบชั้นแกรนูโลซา ขณะที่เห็นเซลล์แกรนูโลซาเป็นรูปแบบเรียงตัวอย่างหนาแน่น ไชโตพลาซึมติดสีชมพูไม่สม่ำเสมอ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเซลล์ไข่เริ่มมีการสร้างโอล์คเวสทิเคิล โดยจะเริ่มสะสมโอล์คเวสทิเคิลจากขอบด้านนอกติดกับโอวาเรียนฟอลลิเคิลและขอบด้านในติดกับเยื่อหุ้มนิวเคลียสก่อน แล้วรวมเข้าด้วยกัน จนเต็มเซลล์ไข่ (รูปที่ 26)

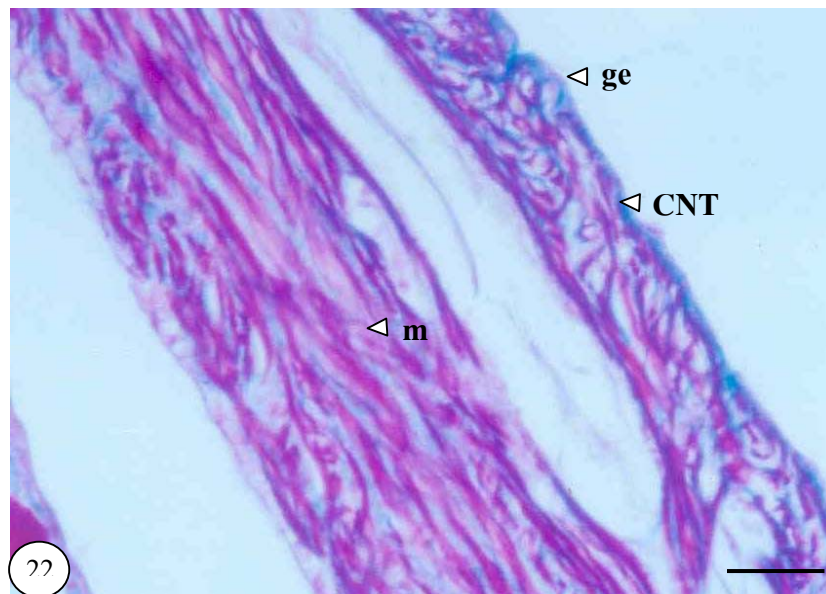
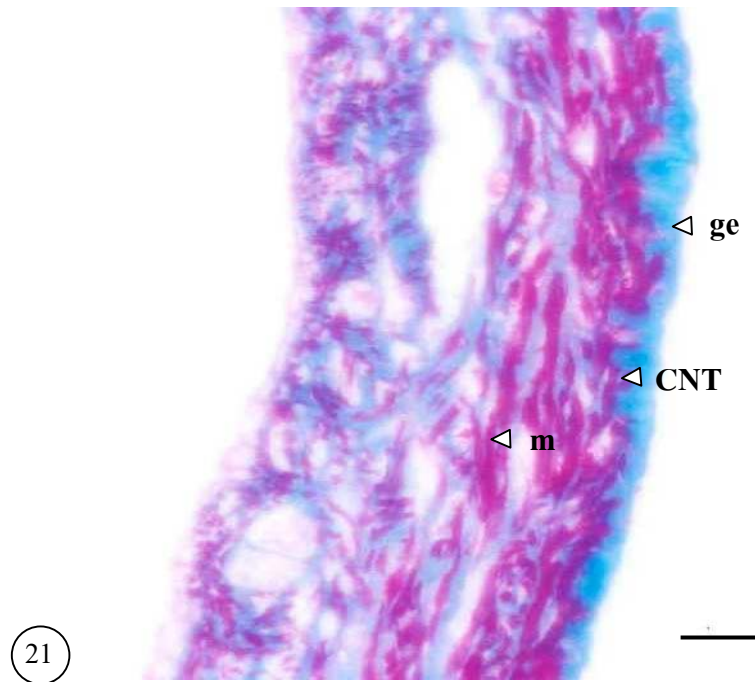
5. ระยะโอล์คแกรนูล เซลล์ไข่มีขนาด 150-500 ไมโครเมตร เซลล์ติดสีส้มแดงเข้ม เซลล์ไข่มีการสะสมโอล์คมากขึ้น จากโอล์คเวสทิเคิลเป็นโอล์คแกรนูล (yolk granule) โอล์คแกรนูลติดสีเหลืองส้มของ Mallory's trichrome ซึ่งมีขนาดประมาณ 5-17.5 ไมโครเมตร นิวเคลียสถูกบดบังด้วยแกรนูลของโอล์คที่อัดแน่นเต็มเซลล์ไข่ ระยะนี้สามารถเห็นโอวาเรียนฟอลลิเคิลได้ชัดเจน ทั้งชั้นธีคา ชั้นแกรนูโลซา และ โชนาเรดิเอตา (รูปที่ 27)

6. ระยะหลังวางไข่ เซลล์ไข่มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเขตเซลล์ไม่ชัดเจน เห็นเป็นช่องว่างที่เกิดจากเซลล์ไข่ได้หลุดออกไป ย้อมไม่ติดสี Mallory's trichrome (รูปที่ 28)

ผลการศึกษาการสร้างโอล์ค จะสังเกตเห็นครั้งแรกเมื่อเซลล์ไข่เริ่มเข้าสู่ระยะโอล์คเวสทิเคิล เห็นเป็นช่องว่าง ใส สีขาว เรียกว่า โอล์คเวสทิเคิล (yolk vesicle) โดยจะเริ่มเกิดขึ้นตรงบริเวณขอบด้านนอกของเซลล์ไข่ และขอบด้านในติดกับเยื่อหุ้มนิวเคลียส (รูปที่ 26) เมื่อมีโอล์คเวสทิเคิล เกิดมากขึ้น ตามการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไข่ จะเกิดรวมเข้าหากัน ขณะเดียวกัน

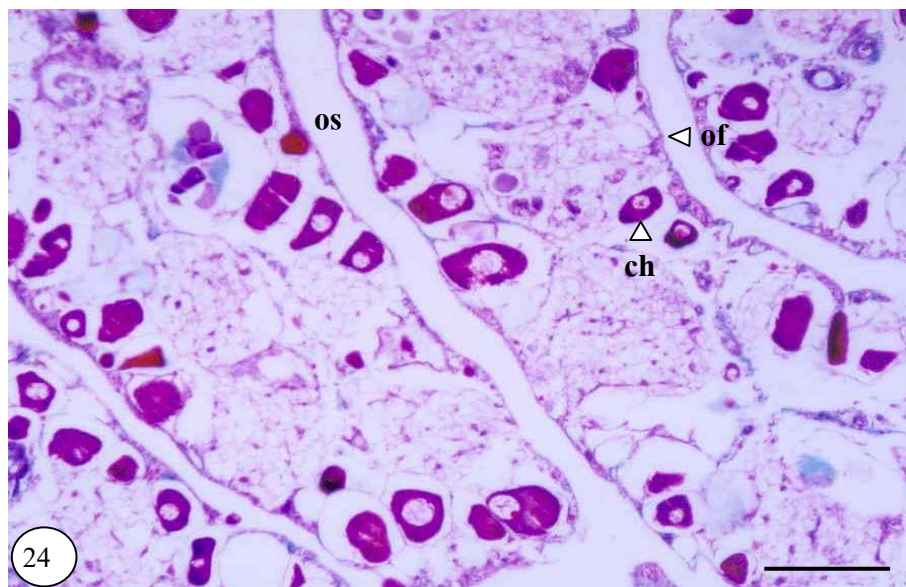
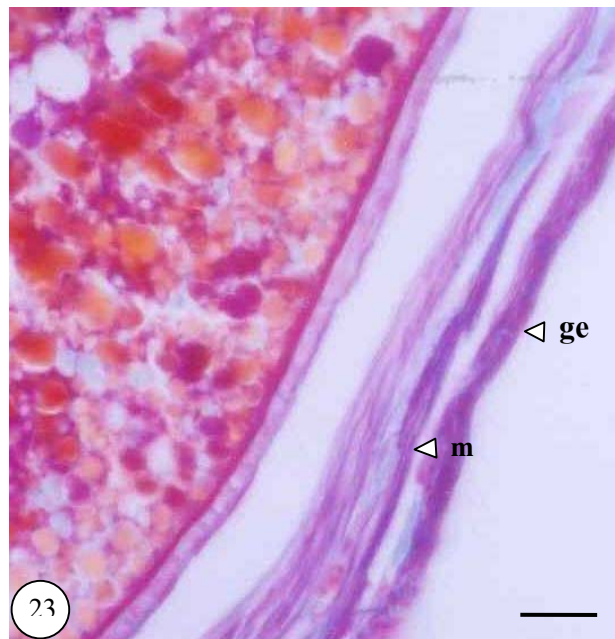
โอล์คเวสทีเคิลที่เกิดขึ้นจะเกิดการรวมตัวกันกลายเป็นเม็ดขนาดใหญ่ขึ้น เรียกว่า โอล์คแกรนูล (yolk granule) ทำให้เซลล์ไข่เข้าสู่ระยะโอล์คแกรนูล และมีการเพิ่มจำนวนของโอล์คแกรนูลมากขึ้นจนมีแกรนูลของโอล์คอัดแน่นเต็มไซโตพลาซึมของเซลล์ไข่ มีผลให้บดบังนิวเคลียส จนมองไม่เห็นนิวเคลียส จึงทำให้เซลล์ไข่ระยะโอล์คแกรนูลภายในไซโตพลาซึมมองเห็นแต่โอล์คแกรนูลอัดแน่นเต็มเซลล์ไข่ โอล์คแกรนูลที่เกิดขึ้นจะมีขนาด 5.0-17.5 ไมโครเมตร (รูปที่ 27)

เมื่อศึกษาถึงปริมาณการสะสมของไข่แดงในรังไข่ระยะไข่สุก จะเห็นว่า ส่วนของโอล์คแกรนูลติดสีเหลืองส้มของ Mallory's trichrome จะสังเกตเห็นว่า โอล์คแกรนูลตรงขอบพอลิเคิลจะให้สีที่เข้มขึ้นเป็นสีส้มแดงกว่าแกรนูลของโอล์คตรงบริเวณกลางเซลล์ไข่ที่ให้สีเหลืองส้ม (รูปที่ 27)



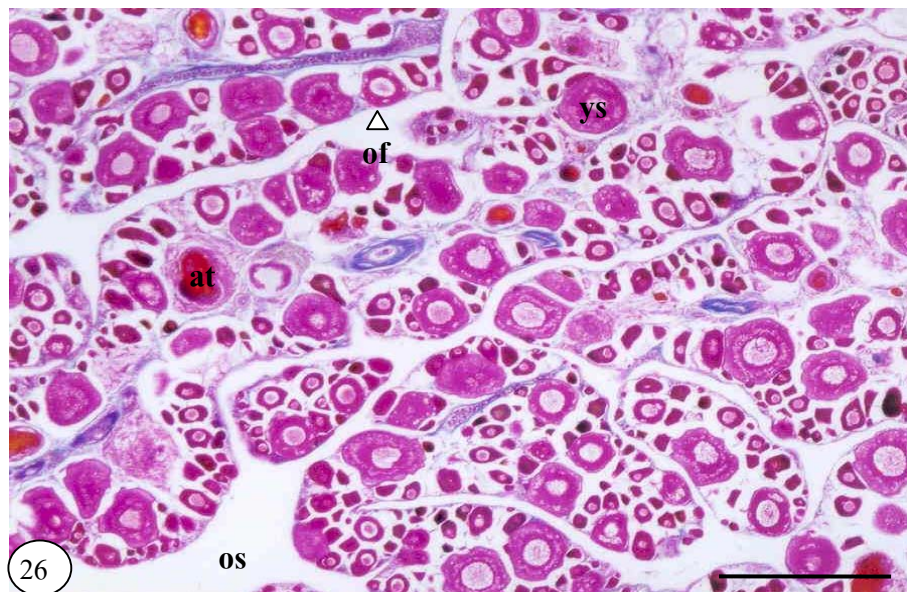
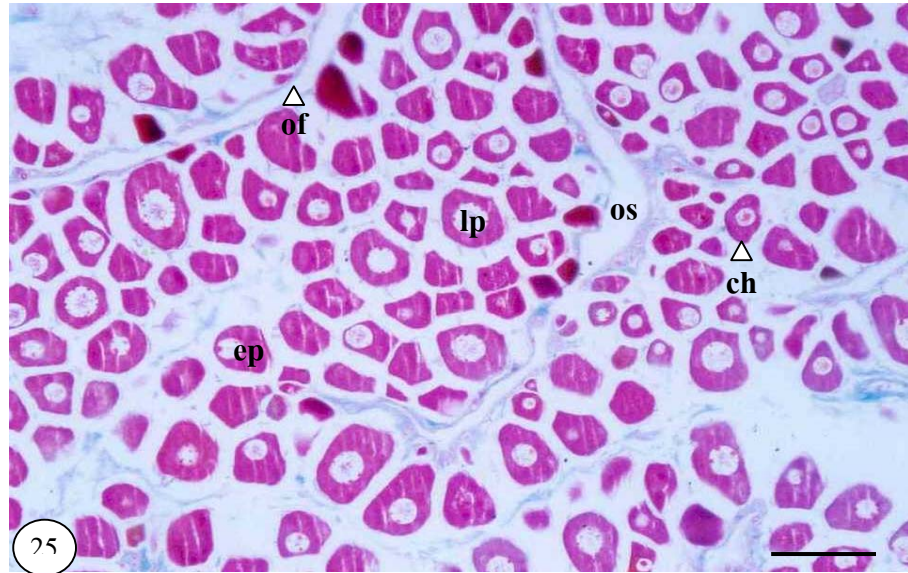
รูปที่ 21 แสดงลักษณะผนังรังไข่ระยะไข่อ่อน (immature stage) ; CNT = connective tissue, ge = germinal epithelium, m = muscle (Mallory's trichrome, scale bar = 5 μ m)

รูปที่ 22 แสดงลักษณะผนังรังไข่ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย (late developing stage) ; CNT = connective tissue, ge = germinal epithelium, m = muscle (Mallory's trichrome, scale bar = 5 μ m)



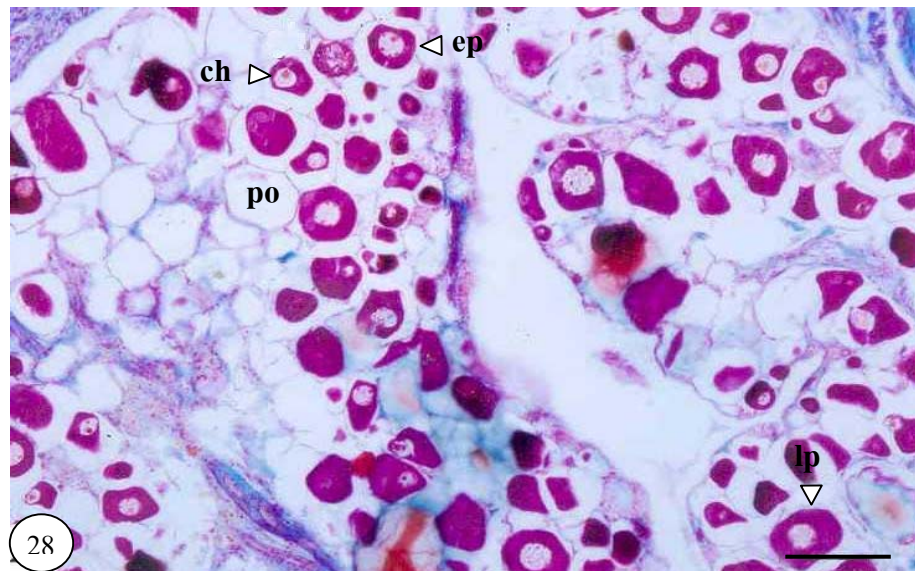
รูปที่ 23 แสดงลักษณะผนังรังไข่ระยะไข่สุก (gravid stage) ; ge = germinal epithelium, m = muscle (Mallory's trichrome, scale bar = 5 μ m)

รูปที่ 24 แสดงรังไข่ระยะไข่อ่อน (immature stage) ; ch = chromatin nucleolus stage, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space (Mallory's trichrome, scale bar = 100 μ m)



รูปที่ 25 แสดงรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นต้น (early developing stage) ; ch = chromatin nucleolus stage, ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space (Mallory's trichrome, scale bar = 100 μ m)

รูปที่ 26 แสดงรังไข่ระยะไข่พัฒนาขั้นปลาย (late developing stage) ; at = atretic follicle, of = ovigerous fold, os = ovigerous fold space, ys = yolk vesicle stage (Mallory's trichrome, scale bar = 500 μ m)



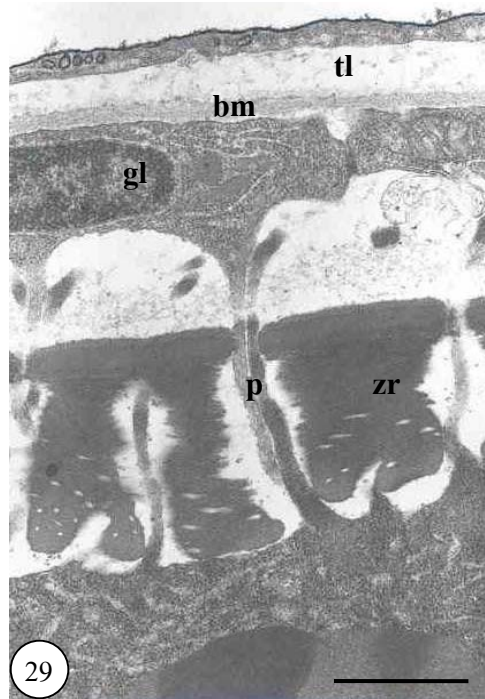
รูปที่ 27 แสดงรังไข่ระยะไข่สุก (gravid stage) ; p= perinucleolus stage, ygs = yolk granule stage, ys = yolk vesicle stage, (Mallory's trichrome, scale bar = 500 μm)

รูปที่ 28 แสดงรังไข่ระยะไข่หลังวางไข่ (spent stage) ; ch = chromatin nucleolus stage, ep = early perinucleolus stage, lp = late perinucleolus stage, po = postovulatory follicle stage (Mallory's trichrome, scale bar = 100 μm)

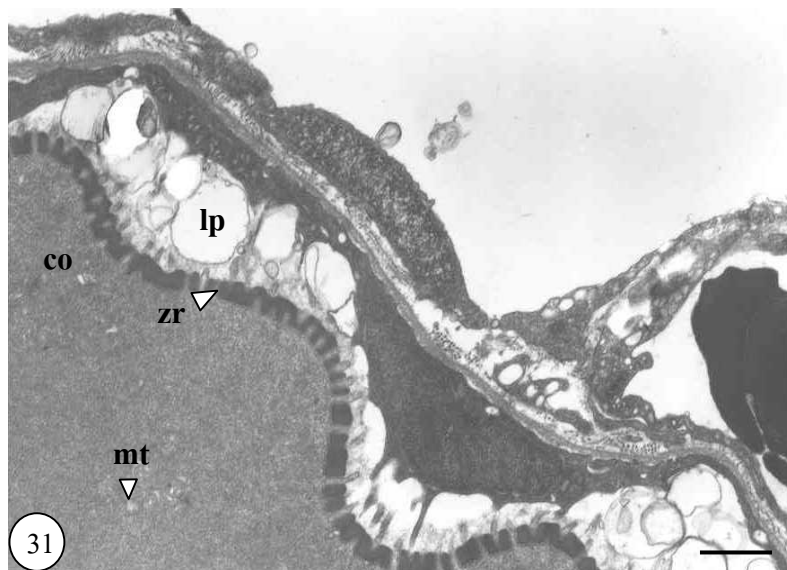
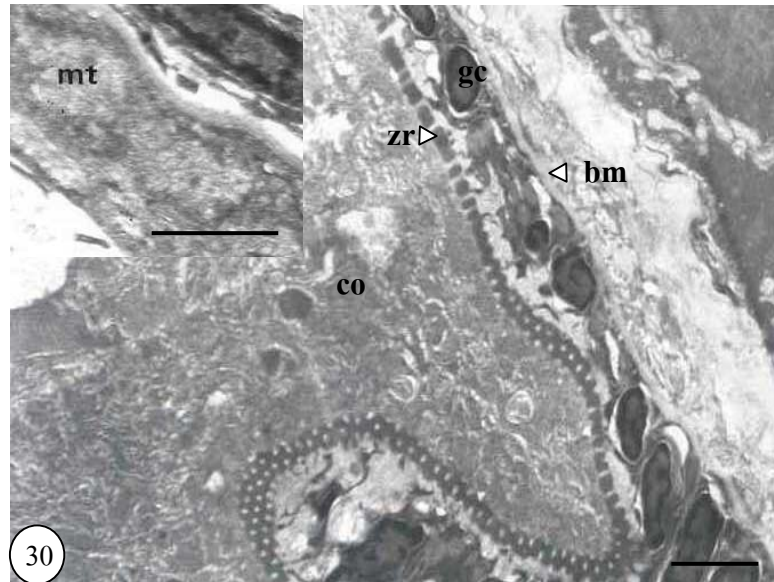
5. การศึกษาโครงสร้างละเอียดของโอวาเรียนฟอลลิเคิล

จากการศึกษาเนื้อเยื่อรังไข่ของปลาบู่ทรายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่า เซลล์ไข่จะประกอบด้วยเยื่อหุ้ม 2 ชั้น คือ ชั้นนอกเป็นชั้นธิกา (theca layer) ชั้นในเป็น ชั้นแกรนูโลซา (granulosa layer) ระหว่างชั้นธิกา กับชั้นแกรนูโลซา จะถูกกั้นด้วยเบสเมมเบรน (basement membrane) และระหว่างชั้นแกรนูโลซากับไซโตพลาซึมของเซลล์ไข่จะมีแขนง (process) คล้าย ไมโครวิลไล (microvilli) ยื่นออกมา จากทั้ง ชั้นแกรนูโลซา ยื่นเข้าหาไซโตพลาซึม และจากไซโตพลาซึม ยื่นเข้าชั้นแกรนูโลซาทั้ง 2 แขนง จะสัมผัสกันในระหว่างชั้นของโซนา เรดิเอตา (zona radiata) แต่บางที่ยื่นจากไซโตพลาซึม เข้าหาชั้นแกรนูโลซา จะแทรกเข้าไปในชั้นของโซนา เรดิเอตา (รูปที่ 29) และพบว่า เกือบทุกระยะของเซลล์ไข่ทั้งระยะเพอรินิวคลีโอลัส ระยะโพล์คเวสติกิล และระยะโพล์คแกรนูล จะมีไมโทคอนเดรียกระจายอยู่ทั่วไปภายในไซโตพลาซึม โดยเฉพาะในเซลล์ไข่ระยะโพล์คเวสติกิล และชั้นแกรนูโลซา มีการหนาตัวขึ้นของชั้นโซนา เรดิเอตา ทำให้มองเห็นชั้นของ โซนา เรดิเอตา หลายชั้น รวมทั้งจะเห็นว่า มีการเพิ่มจำนวนของไมโทคอนเดรีย มากขึ้นทั้งในชั้นแกรนูโลซา และไซโตพลาซึมของเซลล์ไข่ (รูปที่ 30) นอกจากนี้แล้วยังพบว่า มีหยดไขมัน (lipid droplet) จำนวนมากในชั้นแกรนูโลซา ของเซลล์ไข่ระยะโพล์คเวสติกิล (รูปที่ 31)

จากผลการศึกษาพบว่า ในชั้นแกรนูโลซาของเซลล์ไข่ระยะโพล์คเวสติกิล หรือรังไข่ระยะไข่พัฒนาขึ้นปลาย มีไมโทคอนเดรีย และหยดไขมันมากกว่าเซลล์ไข่ระยะอื่นๆ จึงคาดว่า ในชั้นแกรนูโลซา เลเยอร์ จะมีการสร้างฮอร์โมนสเตียรอยด์ (steroid hormone) จำพวกฮอร์โมนเพศ (sex hormone) ให้กับเซลล์ไข่ เพื่อให้เซลล์ไข่เจริญเต็มที่และมีความสมบูรณ์เต็มที่พร้อมที่จะตกไข่ได้



รูปที่ 29 แสดง โอวาเรียนฟอลลิเคิลของปลาบู่ทราย ; bm = basement membrane, gl = granulosa layer, tl = theca layer, zr = zona radiata, p = processes
(scale bar = 1 μ m)



รูปที่ 30 แสดงชั้นแกรนูโลซา โชนา เรดิเอตารี และการเพิ่มจำนวนขึ้นของไมโทคอนเดรีย ;

bm = basement membrane, co = cytoplasm of oocyte, gc = granulosa cell,
mt = mitochondria, zr = zona radiata (scale bar = 2 μm , ภาพเล็ก 1 μm)

รูปที่ 31 แสดงหยดไขมัน (lipid droplet) ที่เกิดขึ้นในชั้นแกรนูโลซา; co = cytoplasm of
oocyte, ld = lipid droplet, mt = mitochondria, zr = zona radiata (scale bar = 1 μm)