

การพัฒนาโอโอไซต์ของปลาลิ้นหมา (*Synaptura commersonii*) เน้นที่โครงสร้าง Zona Radiata และเยื่อหุ้มไข่ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

Development of Oocyte of *Synaptura commersonii*, Emphasizing on Zona Radiata and

Egg Membrane by Light and Scanning Electron Microscopes

สันสุณีย์ หุ่นท่าไม้ และ อัมพร ทองกู่เกียรติกุล*

Sunsunee Huntamai and Amporn Thongkukiatkul*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Biology Department, Faculty of Science, Burapha University

Received : 16 December 2016

Accepted : 10 March 2017

Published online : 17 March 2017

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสักร่าง zona radiata ในระยะต่างๆของการพัฒนาของโอโอไซต์ของปลาลิ้นหมา โดยเก็บตัวอย่างรังไข่ปลา แล้วรักษาสภาพด้วยสารละลายยูบูนอง นำตัวอย่างที่ได้ฝังในพาราฟินไปตัดที่มีความหนา 7 ไมโครเมตรและทำการย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและสีอีโอซิน เพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง หรือนำตัวอย่างเคลือบด้วยทองเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า โอโอไซต์ระยะ cortical alveoli เริ่มมี zona radiata หุ้มเป็นชั้นบาง หนาประมาณ 2.0-2.8 ไมโครเมตร และ zona radiata หนามากที่สุดในระยะ vitellogenesis หนาประมาณ 4-6 ไมโครเมตร มีลายตามขวาง ผิวด้านนอกของ zona radiata มีรูจำนวนมาก ไข่ปลาลิ้นหมามีลักษณะกลม ผิวด้านนอกเป็นสันนูน และมีรูจำนวนมากเรียงอย่างเป็นระเบียบ ไข่ปลาลิ้นหมามีเพียง 1 ไมโครโพล์เป็นชนิดที่ 3

คำสำคัญ : ปลาลิ้นหมา ไชน่า เรดดิเอต้า กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

Abstract

The present research aimed to study on formation of zona radiata of *Synaptura commersonii* during oocyte development stages. The ovarian samples were taken from animal bodies and fixed in Bouin's solution. The paraffin embed samples were sectioned at 7 μm -thickness which were stained with Hematoxylin & Eosin (H-E) and studied by using light microscopy. Some sections were coated with gold and studied by using scanning electron microscopy. At cortical alveoli stage, the zona radiata (ZR) was appeared as a thin layer (2.0-2.8 μm) and during vitellogenesis, ZR thickness was greatest (4.0-6.0 μm). Striations were obviously seen in the ZR layer. The external surfaces of the ZR, many pores could be distinguished. The egg of *S. commersonii* was round. The outer surface showed a slight undulating status. *S. commersonii*'s egg exhibited a type 3 micropyle.

Keywords : *Synaptura commersonii*, zona radiata, light microscopy, scanning electron microscopy

*Corresponding author. E-mail : amporn@buu.ac.th

บทนำ

โดยทั่วไปปลาแต่ละชนิดเริ่มสร้าง zona radiata ในระยะการพัฒนาของโอโอไซต์แตกต่างกัน (Shabanipour & Hossayni, 2010; Abraham *et al.*, 1984) ชั้น zona radiata มีชื่อเรียกต่างๆกันดังนี้ vitelline envelope หรือ chorion หรือ zona pellucida ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Wassarman, 1987a; Wassarman, 1987b) zona radiata มีสารประเภทไกลโคโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ทำหน้าที่ป้องกันการไข่จากแรงภายนอกหรือการติดเชื้อ และทำให้เกิดการจับจำเพาะระหว่างสเปิร์มและไข่ (Modig *et al.*, 2008) สเปิร์มของปลากระดูกแข็งส่วนมากไม่มีอะโครโซม (Baldacci *et al.*, 2001) จึงไม่สามารถผ่านชั้น zona radiata ไปปฏิสนธิกับไข่ สเปิร์มจึงต้องเข้าช่องไมโครโพล์ (Kudo, 1980) ไมโครโพล์ในไข่ปลาแบ่งเป็น 4 ชนิด ดังนี้ ชนิดที่ 1 มี micropylar pit ลึกแต่มี micropylar canal สั้น และบริเวณผิวไข่จะมี vestibule คล้ายกรวย ชนิดที่ 2 มี micropylar pit แบน แต่มี micropylar canal ยาว ชนิดที่ 3 ไม่มี micropylar pit พบเฉพาะ micropylar canal ชนิดที่ 4 มี vestibule 2 แห่งด้านนอกและด้านในบนผิวไข่ และมี micropylar canal สั้น (Riehl, 1993)

ปลาลิ้นหมา (*Synaptura commersonii*) เป็นปลากระดูกแข็งจัดในอันดับ Pleuronectiformes วงศ์ Soleidae มีลำตัวแบนราบ เมื่อโตเต็มวัยมีตา 2 ข้างอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของตัวปลา (Munroe, 2001) อาศัยตามพื้นท้องน้ำทะเล ปลาชนิดนี้เนื้ออร่อยรสชาติดี ปัจจุบันนี้นิยมนำมารับประทานทำให้ประชากรของปลาลิ้นหมาในธรรมชาติลดลงอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องสร้างความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ของปลาชนิดนี้ให้มากยิ่งขึ้น การศึกษาลักษณะของ zona radiata ทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างไข่และสเปิร์ม และสามารถจัดการสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับการผสมเทียม ซึ่งช่วยแก้ไขปัญหาการลดจำนวนประชากรในธรรมชาติได้ ลักษณะของไมโครโพล์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดอนุกรมวิธานของปลา

วิธีดำเนินการวิจัย

ชื่อปลาลิ้นหมาเพศเมียจำนวน 5 ตัว มีความยาวประมาณ 20-22 เซนติเมตร จากชาวประมงบริเวณหาดวอน จังหวัดชลบุรี เลี้ยงไว้ที่ห้องปฏิบัติการนาน 24 ชั่วโมง ทำการสลบปลาด้วย tricaine methane-sulfonate (MS-222) ปริมาณ 100 มิลลิกรัม/ ลิตร นานประมาณ 15-20 นาที เมื่อปลาสลบทำการผ่าท้องปลาเอารังไข่ทั้ง 2 ข้าง ตัดรังไข่เป็นชิ้นขนาดประมาณ 3-5 มิลลิเมตร นำเนื้อเยื่อไปแช่ในสารละลายบูแอง (Bouin) นาน 24 ชั่วโมง แล้วล้างชิ้นเนื้อเยื่อด้วย 70% เอทานอลจนกระทั่งไม่มีสีเหลืองของสารละลายบูแอง จากนั้นนำชิ้นเนื้อเยื่อไปศึกษาต่อไป

1. การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

นำเนื้อเยื่อที่แช่ใน 70% เอทานอล ผ่านกระบวนการดึ่งน้ำออกโดยเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลดังนี้ 80% เอทานอล 90% เอทานอล ขึ้นตอนละ 1 ชั่วโมง และแอบโซลูท เอทานอล 2 ครั้งครั้งละ 1 ชั่วโมง นำชิ้นเนื้อเยื่อฝังในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 7 ไมครอน ย้อม sections ด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและสีอีโอซิน (H-E) เพื่อศึกษาโครงสร้างของ zona radiata ด้วยกล้องจุลทรรศน์ Olympus BX50 (Humason, 1962)

2. การเตรียมตัวอย่างโอโอไซต์เพื่อศึกษากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

นำเนื้อเยื่อที่ฝังในพาราฟินจากข้อ 1 ตัดให้มีความหนา 5 ไมครอน แล้วติด sections บนกระจกปิดสไลด์ ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร ดึงพาราฟาสต์ออกด้วยไซลีนและดึ่งน้ำออกด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลดังนี้ 80%เอทานอล

90% เอทานอล ขั้นตอนละ 1 ชั่วโมง และแอบโซลูท เอทานอล 2 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง ทำตัวอย่างให้แห้งด้วยวิธี critical point drying จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ที่มี sections ติดบน stubs เคลือบ sections ด้วย gold-palladium นำตัวอย่างไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด LEO 1450 VP

3. ศึกษาผิวไขกัปล่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นำปลาลิ้นหมาเพศเมียจำนวน 3 ตัว ที่มีความยาวประมาณ 20-22 เซนติเมตร ทำการสลบปลาด้วย tricaine methane-sulfonate (MS-222) ปริมาณ 100 มิลลิกรัม/ ลิตร นานประมาณ 15-20 นาที เมื่อปลาสลบทำการผ่าท้องปลาแล้วเอาไขจากรังไข่ปลา รักษาสภาพไขปลาด้วย 4% glutaraldehyde ใน 0.1M PBS เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการ post-fixing ด้วย 2% osmium เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ดึงน้ำออกจากไขด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลดังนี้ 30%, 50%, 70%, 80%เอทานอล 90% เอทานอล ขั้นตอนละ 1 ชั่วโมง และแอบโซลูท เอทานอล 2 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง ทำตัวอย่างให้แห้งด้วยวิธี critical point drying เคลือบไขด้วย gold-palladium นำตัวอย่างไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด LEO 1450 VP

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การพัฒนาโอโอไซต์ของปลาลิ้นหมาสามารถแบ่งเป็น 4 ระยะ โดยใช้ลักษณะรูปร่างของนิวเคลียสและโอโอไซต์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ zona radiata

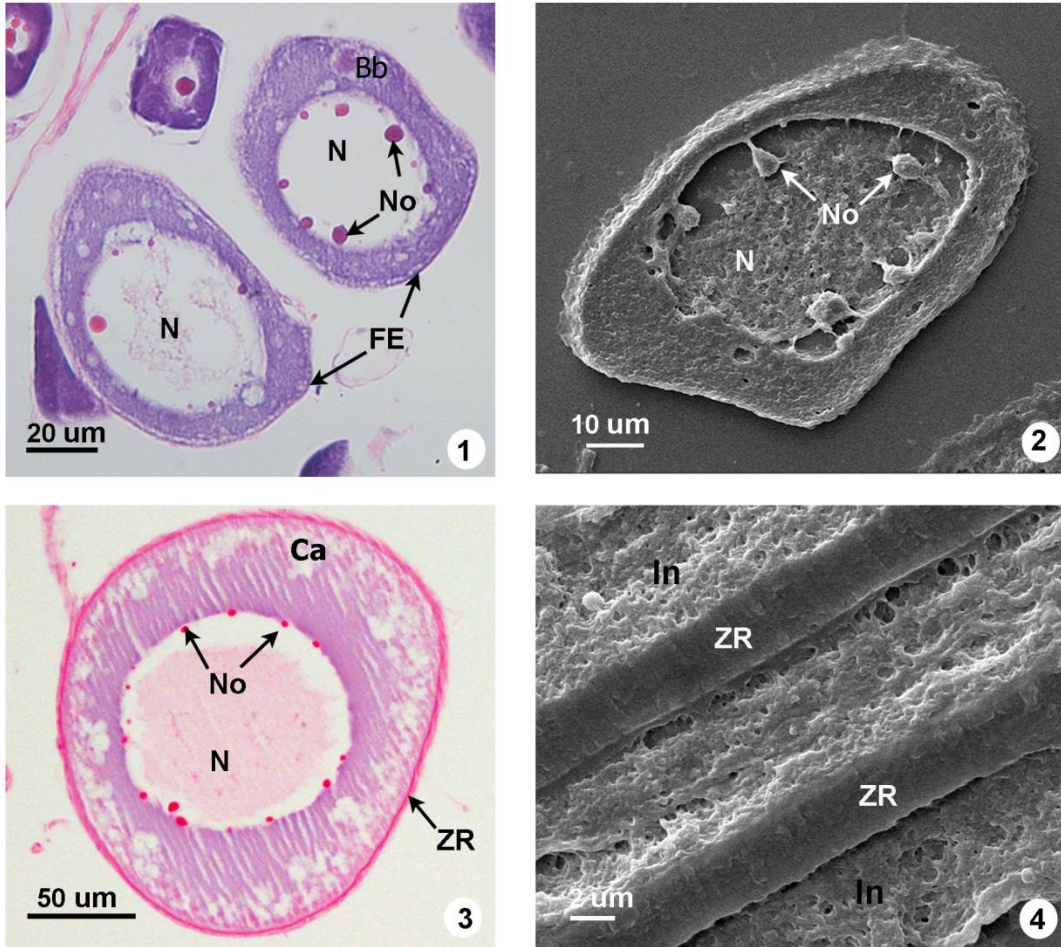
ระยะ primary oocyte growth

เซลล์มีรูปร่างทรงแปด มีขนาดประมาณ 87-125 ไมโครเมตร นิวเคลียสมีรูปร่างกลม พบนิวคลีโอลัสมีขนาดแตกต่างกัน ใกล้เยื่อหุ้มนิวเคลียส (ภาพที่ 1,2) ไซโทพลาสซึมย้อมติดสีน้ำเงิน เมื่อย้อมด้วยสี H-E นิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสจำนวนมากซึ่งบ่งชี้ว่าโอโอไซต์ระยะนี้มีการสังเคราะห์ rRNA จำนวนมากเพื่อใช้สำหรับสร้างโปรตีน (Selman *et al.*, 1986 ; Patiño & Sullivan, 2002; Selman & Wallace, 1989) นอกจากนี้ยังพบ Balbiani vitelline body ในไซโทพลาสซึม (ภาพที่ 1) เช่นเดียวกับที่พบในไซโทพลาสซึมในโอโอไซต์ของปลาชนิดอื่นๆเช่น ปลา *Xiphias gladius* (Minniti, 2005) ปลา *Zosterisessor ophiocephalus* (Giulianini *et al.*, 1994) และ ปลา *Scomber scombrus* (Coello & Grimm, 1990) Balbiani vitelline body เกิดจากการรวมของ ribonucleoprotein และออร์แกเนลล์ชนิดต่างๆเช่น mitochondria, nuages, multivesicular bodies, endoplasmic reticulum และ Golgi complexes (Wallace & Selman, 1981) นอกจากนี้ Balbiani vitelline body มีส่วนร่วมในการสังเคราะห์ lipid droplets ในโอโอไซต์ระยะ cortical alveoli (Muñoz *et al.*, 2002) โอโอไซต์ระยะนี้มี follicular epithelium บางๆหุ้ม follicular cells ทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีนและไขมัน ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการพัฒนาของโอโอไซต์และการสร้าง zona radiata (Hamlet *et al.*, 1999)

ระยะ cortical alveoli

เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 163-220 ไมโครเมตร นิวเคลียสมีรูปร่างกลม พบ cortical alveoli จำนวนมากติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ (ภาพที่ 3) cortical alveoli เก็บสาร mucopolysaccharides ไว้ภายในถุง (Guraya, 1986) และจะหลั่งสารเข้าบริเวณ previtelline space มีผลทำให้ zona radiata แข็งเพื่อป้องกันการเกิด polyspermy เมื่อเกิดการปฏิสนธิ (Nagahama, 1983; Zelazowska, 2010) โอโอไซต์ระยะนี้เริ่มมีชั้น zona radiata หุ้ม ซึ่งมีความหนาประมาณ 2.0-2.8 ไมโครเมตร (ภาพที่ 3,4) โอโอไซต์ระยะ cortical alveoli ของปลาลิ้นหมาเริ่มมีมี zona radiata หุ้ม คล้ายกับที่พบในโอโอไซต์ปลาชนิดอื่นเช่น

ปลา *Gymnotus sylvius* (França et al., 2010) ปลา *Cyprinus carpio* (Shabanipour & Hossayni, 2010) และปลา *Pseudosciaena crocea* (Ma et al., 2012)



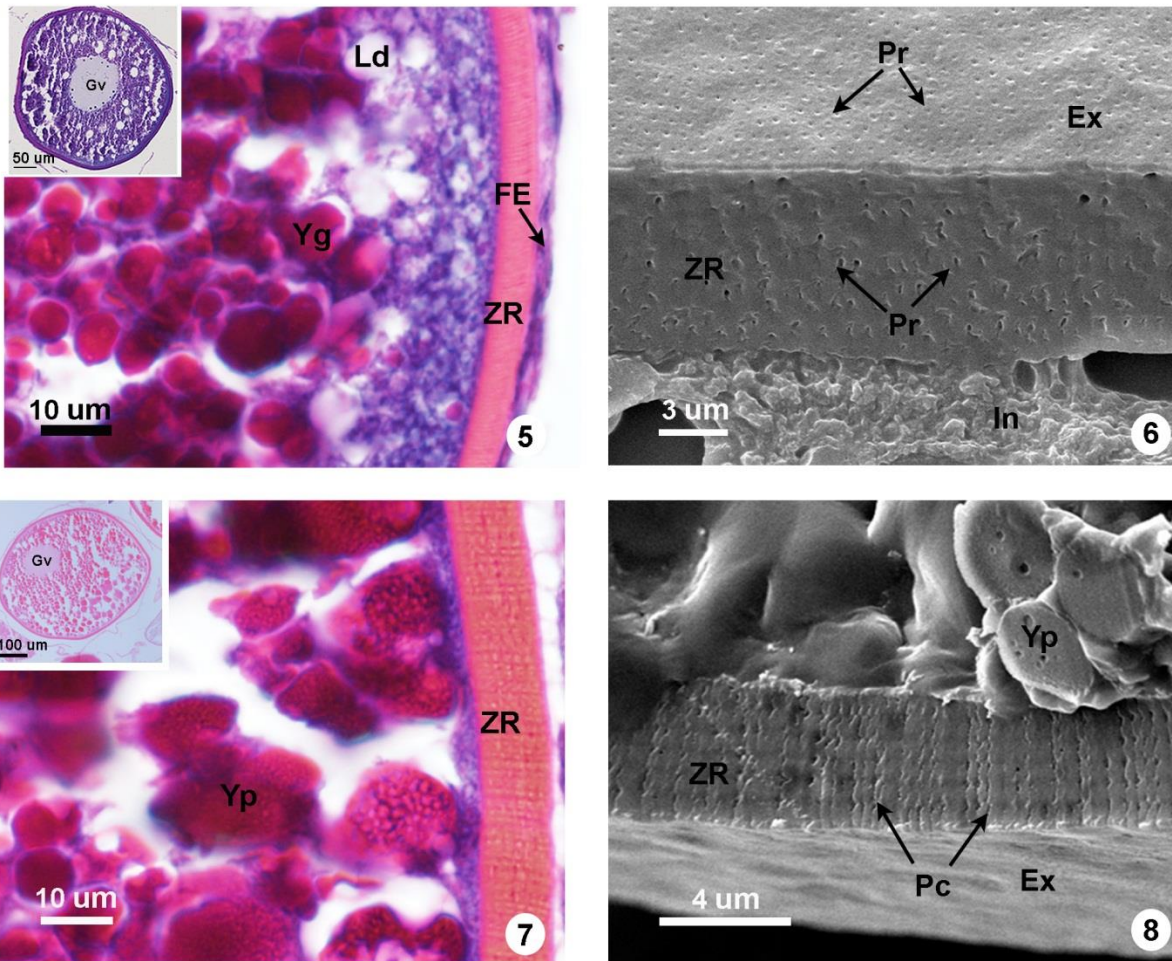
- ภาพที่ 1** โอโอไซต์ระยะ primary oocyte growth ย้อมด้วยสี H-E นิวเคลียส (N); นิวคลีโอลัส (No); Balbiani vitelline body (Bb); follicular epithelium (FE)
- ภาพที่ 2** โอโอไซต์ระยะ primary oocyte growth ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด นิวเคลียส (N); นิวคลีโอลัส (No)
- ภาพที่ 3** โอโอไซต์ระยะ cortical alveoli ย้อมด้วยสี H-E นิวเคลียส (N); นิวคลีโอลัส (No); cortical alveoli (Ca); zona radiata (ZR)
- ภาพที่ 4** Zona radiata หุ้มโอโอไซต์ระยะ cortical alveoli ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด zona radiata (ZR); ไทโทพลาสม (In)

ระยะ vitellogenesis

เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 340-393 ไมโครเมตร เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นเพราะเริ่มมีการสะสม yolk granules และ lipid droplets ในไซโทพลาสซึม (ภาพที่ 5) lipid droplets เก็บสาร triacylglycerol ไว้ภายใน (Cárdenas *et al.*, 2008) ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในการพัฒนาของโอโอไซต์ (Dunning *et al.*, 2014) และช่วยในการลอยของไข่ (Muñoz *et al.*, 2002) โอโอไซต์ถูกหุ้มด้วย zona radiata มีความหนาประมาณ 4.6-6.0 ไมโครเมตร เริ่มมีลายตามขวางใน zona radiata (ภาพที่ 5) ชั้น zona radiata สร้างจาก follicular cells (Oppen Berntsen *et al.*, 1992) เมื่อศึกษาด้วย SEM ผิวด้านนอกของ zona radiata พบรู (pores) จำนวนมาก (ภาพที่ 6)

ระยะ maturation

เซลล์มีรูปร่างทรงกลม ขนาดประมาณ 360-390 ไมโครเมตร germinal vesicle เคลื่อนไปยังด้าน animal pole ไม่พบนิวคลีโอลัส yolk granules รวมตัวเป็น yolk plates (ภาพที่ 7) เหมือนโอโอไซต์ระยะ maturation ในปลา *Thunnus thynnus* (Abascal & Medina, 2005) ปลา *Synbranchus marmoratus* (Aldo Ravaglia & Maggese, 2002) และปลา *Serrasalmus spilopleura* (Guimaraes & Quagio-Grassiotto, 2001) yolk เป็นสารประเภท glyco-phospho-lipoprotein มีชื่อเรียกว่า vitellogenin สร้างจากเซลล์ตับของปลาเพศเมียที่โตเต็มวัย เมื่อเซลล์ตับสร้างเสร็จจะหลั่งเข้าสู่กระแสเลือดแล้วนำเข้าสู่โอโอไซต์ขณะกำลังพัฒนาเพื่อสร้างเป็น yolk (Zanuy & Carrillo, 1987) โอโอไซต์ระยะนี้มี zona radiata หุ้มมีความหนามากที่สุดประมาณ 9.6- 10.2 ไมโครเมตร มีลายตามขวางชัดเจน (ภาพที่ 7) เช่นเดียวกับที่มีรายงานใน zona radiata ของปลา *Hemiodus* spp. (Brandão *et al.*, 2003) เมื่อศึกษาด้วย SEM พบว่าด้านบนของ zona radiata มีรู ซึ่งมี pore canals มาเปิดออก (ภาพที่ 8,9) ภายในรูพบไมโครวิลลัส (microvillus) (ภาพที่ 10) ไมโครวิลไลและ pore canals มีความสำคัญช่วยขนส่งสารจาก follicular cells เพื่อใช้สร้าง yolk ในไข่ที่กำลังพัฒนา (Shabanipour & Heidari, 2004; Groot & Alderdice, 1985)



ภาพที่ 5 โอโอไซต์ระยะ vitellogenesis ย้อมด้วยสี H-E lipid droplet (Ld); yolk granule (Yg); follicle epithelium (FE); zona radiata (ZR)

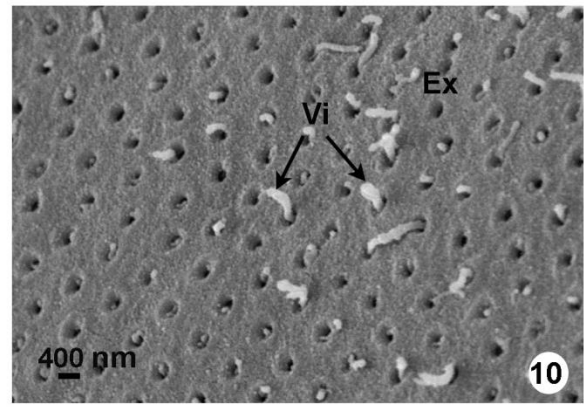
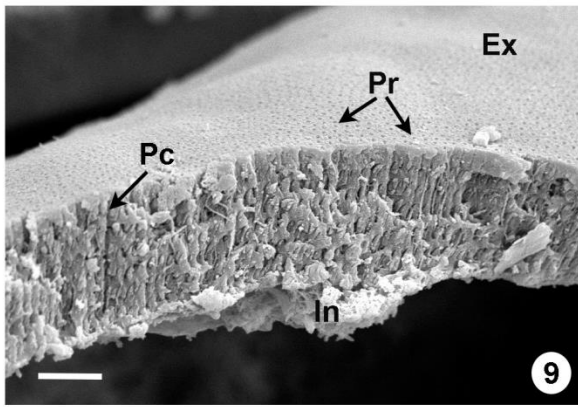
(ภาพแทรก โอโอไซต์ระยะ vitellogenesis ย้อมด้วยสี H-E germinal vesicle (Gv))

ภาพที่ 6 Zona radiata หุ้มโอโอไซต์ระยะ vitellogenesis ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด zona radiata (ZR); รู (Pr); ผิวด้านนอกของโอโอไซต์ (Ex); ไทโทพลาสซึม (In)

ภาพที่ 7 โอโอไซต์ระยะ maturation ย้อมด้วยสี H-E yolk plate (Yp); zona radiata (ZR)

(ภาพแทรก โอโอไซต์ระยะ maturation ย้อมด้วยสี H-E germinal vesicle (Gv))

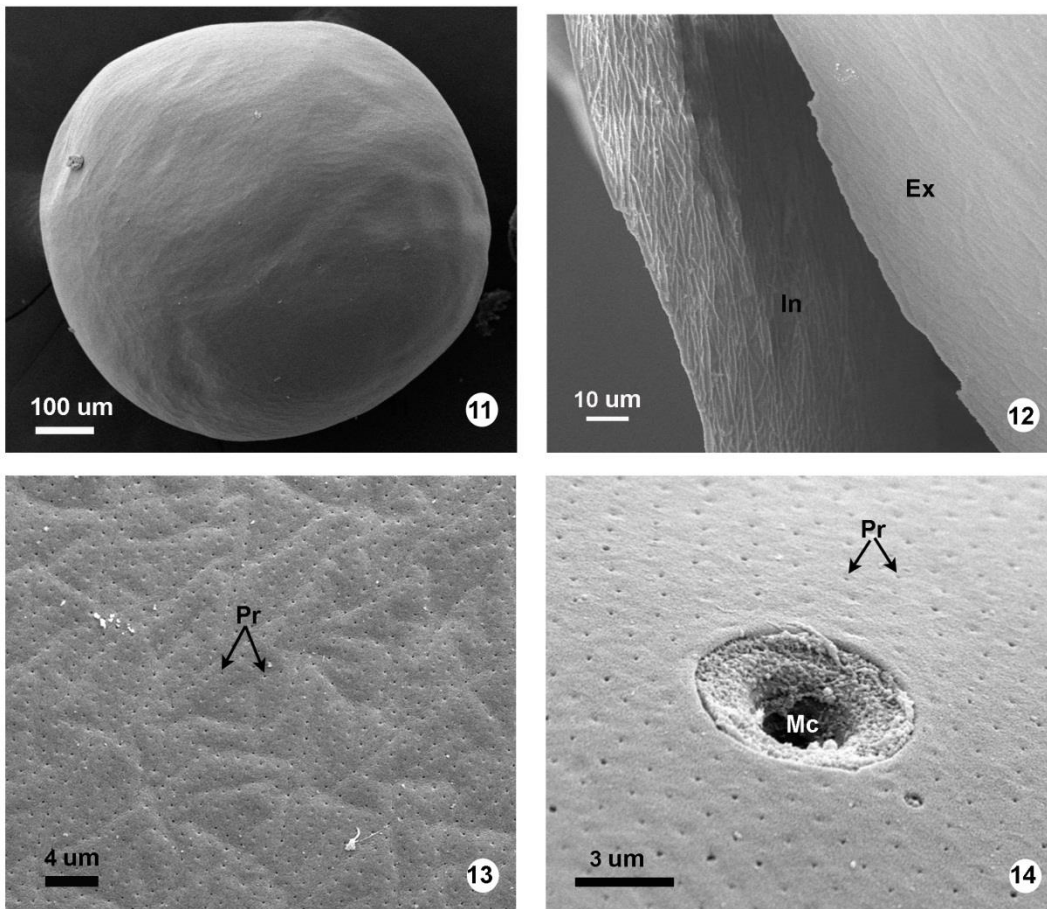
ภาพที่ 8 โอโอไซต์ระยะ maturation ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด yolk plate (Yp); zona radiata (ZR); pore canals (Pc); ผิวด้านนอกของโอโอไซต์ (Ex);



ภาพที่ 9 zona radiata fracture ของโอโอไซต์ระยะ maturation ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รู (Pr); pore canals (Pc); ผิวด้านนอกของโอโอไซต์ (Ex); ไชโทพลาสซึม (In)

ภาพที่ 10 ผิวด้านนอกของ zona radiata หุ้มโอโอไซต์ระยะ maturation ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ไมโครวิลไล (Vi); ผิวด้านนอกของโอโอไซต์ (Ex)

เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างของเยื่อหุ้มไข่ รูปร่าง ขนาดของไข่ และจำนวนไมโครโพล์ด้วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกชนิดของปลา (Esmaili & Johal, 2005; Li *et al.*, 2000) ไข่ปลาปลาลิ้นหมามีลักษณะกลม (ภาพที่ 11) เป็นชนิดไข่ลอย (pelagic egg) จึงไม่มี filaments ว่ายึดกับพื้น มีลักษณะคล้ายไข่ปลา *Micropogonias furnieri* (Berois *et al.*, 2011) เปลือกไข่บาง ผิวด้านนอกมีลักษณะเป็นสันนูนไม่สูง และมีรูจำนวนมาก ระยะห่างระหว่างรูเท่ากัน คล้ายไข่ปลา *Paralichthys olivaceus* (Yamamoto & Kobayashi, 1992) ส่วนผิวด้านในไม่เรียบเป็นสันนูนชัดเจนกว่าด้านนอก (ภาพที่ 12,13) ไข่ปลาลิ้นหมามี 1 ไมโครโพล์ มีช่องเปิดกว้างประมาณ 4-6 ไมครอน ไม่มี pit มี micropylar canal สั้น จึงเป็นไมโครโพล์ชนิดที่ 3 (ภาพที่ 14) (Riehl, 1980; Riehl & Greven, 1993) ซึ่งคล้ายไมโครโพล์ของไข่ปลา *Coregonus pidschian* และ *C. nasus* (Riehl, 1980) พื้นผิวรอบไมโครโพล์เรียบและมีรูที่เรียงกันอย่างเป็นระเบียบ จำนวนไมโครโพล์ในไข่ปลาแต่ละชนิดไม่เท่ากันเช่นไข่ปลา *Aulopyge huegeli* (Bless & Riehl, 2002) และไข่ปลา *Hypophthalmichthys molitrix* (Esmaili & Johal, 2005) มี 1 ไมโครโพล์ แต่ไข่ปลาบางชนิดมีมากกว่า 1 ไมโครโพล์ เช่นไข่ปลา *Huso huso* มีจำนวนไมโครโพล์มากกว่า 13 ไมโครโพล์และไข่ปลา *Acipenser transmontanus* มี 7 ไมโครโพล์ (Cherr & Clark, 1982)



ภาพที่ 11 ไข่ของปลาลิ้นหมา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ภาพที่ 12 เปลือกไข่ปลาลิ้นหมา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เปลือกด้านใน (In); เปลือกด้านนอก (Ex)

ภาพที่ 13 เปลือกด้านนอกของไข่ปลาลิ้นหมา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด pores (Pr)

ภาพที่ 14 ไมโครไพลบนไข่ปลาลิ้นหมา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด micropyle canal (Mc); pores (Pr)

สรุปผลการวิจัย

การสร้าง zona radiata เริ่มที่ระยะการพัฒนาของโอโอไซต์แตกต่างกันในปลากระดูกแข็งแต่ละชนิด ปลาลิ้นหมา เริ่มมี zona radiata หุ้มโอโอไซต์ในระยะ cortical alveoli งานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์ช่วยเพิ่มความรู้เกี่ยวกับการพัฒนาของโอโอไซต์และลักษณะของไข่ปลาวงศ์ Soleidae และเป็นความรู้พื้นฐานในการจัดการเรื่องการปฏิสนธิของปลาวงศ์นี้

เอกสารอ้างอิง

- Abascal, F.J., & Medina, A. (2005). Ultrastructure of oogenesis in the bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. *Journal of Morphology*, 264, 149–160.
- Abraham, M., Volker Hilge V., Lison, S., & Tibika, H. (1984). The cellular envelope of oocytes in teleosts. *Cell and Tissue Research*, 235, 403-410.
- Aldo Ravaglia, M., & Maggese, M.C. (2002). Oogenesis in the swamp eel *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795) (Teleostei; Synbranchidae). Ovarian anatomy, stages of oocyte development and micropyle structure. *Biocell*, 26, 325–337.
- Baldacci, A., Taddei, A.R., Mazzini, M., Fausto, A.M., Buonocore, F., & Scapigliati, G. (2001). Ultrastructure and proteins of the egg chorion of the Antarctic fish *Chionodraco hamates* (Teleostei, Notothenioidei). *Polar Biology*, 24, 417–421.
- Berois, N., Arezo, M.J., & Papa, N. (2011). Gamete interactions in teleost fish: the egg envelope. Basic studies and perspectives as environmental biomonitor. *Biological Research*. 44,119-124.
- Bless, R., & Riehl, R. (2002). Biology and egg morphology of the Dalmatian barbelgudgeon *Aulopyge huegeli*, an endangered endemic species in Croatia. *Environmental Biology of Fishes*, 63, 451-456.
- Brandão, C.A.S, Valentim, M.F.M., & Caramaschi, E.P. (2003). Ovary maturation stages and oocyte features in three species of the Neotropical fish *Hemiodus* (Muller, 1842). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 46, 433-441.
- Cárdenas, R, M. Chávez M., González, J. L., Aley, P., Espinosa, J, & Jiménez-García L.F. (2008). Oocyte structure and ultrastructure in the Mexican silverside fish *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniforme: Atherinopsidae). *Revista de Biología Tropical*, 56, 1371-1380.
- Cherr, G.N., & Clark, W.H. (1982). Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardoson. *Development Growth Differentiation*, 24, 341-352.
- Dunning, K.R., Darryl L Russel, D.L., & Robker, R.L. (2014). Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and β -oxidation. *Reproduction*, 148, 15-27.
- Esmaeili, H. R., & Johal, M. S. (2005). Ultrastructural features of the egg envelope of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes*, 72, 373-377.
- França, G.F., Grier, H.J., & Quagio-Grassiotto, I. (2010). A new vision of the origin and the oocyte development in the ostariophysii applied to *Gymnotus sylvius* (Teleostei, Gymnotiformes). *Neotropical Ichthyology*, 8, 787–804.

- Giulianini, P.G., Marcotulli, A.D., & Ferrero, E. E. (1994). Light microscopical and ultrastructural cytology of the ovaries in the sea-grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Osteichthyes, Gobiidae). *Bollettino di Zoologia*, 61, 135-144.
- Guimaraes, A.C., & Quagio-Grassiotto, I. (2001). Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte primary growth in *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Characidae). *Tissue and Cell*, 33, 241–248.
- Guraya, S.S. (1986). The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis. *Karger, Basel, New York, USA*.
- Groot, E. P., & Alderdice, D. F. (1985). Fine structure of the external egg membrane of five species of Pacific salmon and steelhead trout. *Canadian Journal of Zoology*, 63, 552–566.
- Hamlet, W.C, Jezior, M., & Spieler, R. (1999). Ultrastructural analysis of folliculogenesis in the ovary of the yellow spotted stingray *Urolophus jamaicensis*. *Annals of Anatomy*, 181, 159-172.
- Humason, G. L. (1962). *Animal Tissue Techniques*, San Francisco, W. H. Freeman and Co.
- Kudo, S. (1980). Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. *Development Growth and Differentiation*, 22, 403–414.
- Li, Y. H., Wu, C. C., & Yang, J. S. (2000). Comparative ultrastructural studies of the zona radiata of marine fish eggs in three genera in Perciformes. *Journal of Fish Biology*, 56, 615–621.
- Ma, X.X., Zhu, J.Q., Zhou, H., & Yang, W.X. (2012). The formation of zona radiata in *Pseudosciaena crocea* revealed by light and transmission electron microscopy. *Micron*, 43, 435–44.
- Minniti, F., & Bruno, R. (2005). Ultrastructural features of germ cells in immature swordfish *Xiphias gladius* (Teleostei, Xiphidae). *Italian Journal of Zoology*, 72, 217-221.
- Modig, C., Raldua, D., Cerda, J., & Olsson, P.E. (2008) Analysis of vitelline envelope synthesis and composition during early oocyte development in Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). *Molecular Reproduction and Development*, 75, 1351–1360.
- Munroe, T.A. (2001) . Soleidae. Soles. In Carpenter, K.E., & Niem, V. (Eds.), *FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Vol. 6. Bony fishes part 4 (Labridae to Latimeriidae), estuarine crocodiles* (pp. 3878-3889).
- Muñoz, M., Casadeval, M., & Bonet, S. (2002). Gonadal structure and gametogenesis of *Aspitrigla obscura* (Pisces, Triglidae). *Italian Journal of Zoology*, 6, 39-46.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish Physiology* (Hoar W., Randall D. and Donaldson E. eds.) vol IX - part A. Academic Press. New York, pp. 223-275.
- Oppen-Berntsen, D., Gram-Jensen, F., Water B.T. (1992). Zona radiata proteins are synthesized by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes in response to oestradiol 17 beta. *Journal of Endocrinology*, 135, 293-302.

- Patiño, R., & Sullivan, C. V. (2002). Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology Biochemistry*, 26, 57-70.
- Riehl, R. (1993). Surface morphology and micropyle as a tool for identifying fish eggs by scanning electron microscopy. *Microscopic Analytical*, 5, 59-66.
- Riehl, R. (1980). Micropyle of some salmonins and coregonins. *Environmental Biology of Fishes*, 1, 59-66.
- Riehl, R., & Greven, H. (1993). Fine structure of egg envelopes in some viviparous goodeid fishes, with comments on the relation of envelope thinness to viviparity. *Canadian Journal Zoology*, 71, 91-97.
- Selman, K., & Wallace R.A. (1986). Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *American Zoologist*, 26, 173-192
- Selman, K., & Wallace, R. A. (1989). Cellular aspects of oocytes growth in teleosts, *Zoological Science*, 6, 211-231.
- Shabanipour, N., & Hossayni, S.N. (2010). Histological and ultrastructural study of zona radiata in oocyte of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758). *Micron*, 41, 877-81.
- Shabanipour, N., & Heidari, B. (2004). A histological study of the zona radiata during the late oocyte developmental stages in the Caspian Sea mugilid, *Liza aurata* (Risso 1810). *Brazilian Journal Morphology Science*, 21, 191-195.
- Wallace, R. A., & Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist*, 21, 325-343.
- Wassarman, P.M. (1987a). The biology and chemistry of fertilization. *Science*, 235, 553-560.
- Wassarman, P.M. (1987b). Early events in mammalian fertilization. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 3, 109-142.
- Yamamoto, T.S., & Kobayashi, W. (1992). Closure of the micropyle during embryonic development of some pelagic fish eggs. *Journal of Fish Biology*, 40, 225-241.
- Zanuy, S., & Carrillo, M. (1987). La reproducción de los teleosteos y su aplicación en acuicultura. In: Reproducción en Acuicultura. CAICYT, Madri. 321p.
- Zelazowska, M. (2010). Formation and structure of egg envelopes in Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes: Acipenseridae). *Journal of Fish Biology*, 76, 694-706.