สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาทางพยาธิสภาพของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างเดือน กรกฎาคม – ธันวาคม 2551 ของหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ที่อาศัยอยู่ในหาดหิน อ่าวอัษฎางค์ อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี

Histological study of *Isognomon nucleus* from July – December 2008 collected from Au Asadang, Srichang, Chon Buri

T104642

โดย

นายไพโรจน์ ณรงค์วงศ์วัฒนา

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104642
วันเดือนปี - 5 พ.ย. 2552

.b.....
.i.....

วิทยาศาสตรบัณฑิต

เทคโนโลยีการประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง

การศึกษาทางพยาธิสภาพของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างเดือน กรกฎาคม – ธันวาคม 2551 ของหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ที่อาศัยอยู่ในหาดหิน อ่าวอัษฎางค์ อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี

Histological study of *Isognomon nucleus* from July – December 2008 collected from Au Asadang, Srichang, Chon Buri

ชื่อนักศึกษา นายไพโรจน์ ณรงค์วงศ์วัฒนา

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.มณฑล แก่นมณี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....มณฑล แก่นมณี.....

(ดร.มณฑล แก่นมณี)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....ปวีณา ทวีกิจการ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 25 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาทางพยาธิสภาพของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2551 ของหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ที่อาศัยอยู่ในหาดหิน อ่าวอัษฎางค์ อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี

Histological study of *Isognomon nucleus* from July – December 2008 collected from Au Asadang, Srichang, Chon Buri

กระบวนการทดแทนที่ (Recruitment process) เป็นกระบวนการหนึ่งของสิ่งมีชีวิต ในการรักษาการดำรงอยู่ของประชากรในระบบนิเวศน์ กระบวนการดังกล่าวนี้ถูกควบคุมโดยปัจจัยทั้งทางกายภาพและปัจจัยทางชีวภาพ การศึกษาเพื่อให้ทราบถึงระยะเวลาที่สิ่งมีชีวิตมีความสมบูรณ์เพศและพร้อมที่จะสืบพันธุ์เป็นเรื่องสำคัญประการหนึ่งที่สามารถทำความเข้าใจถึงกระบวนการทดแทนที่ในสิ่งมีชีวิตใดๆ ได้

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาทางพยาธิสภาพเพื่อศึกษาระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ซึ่งพบได้ทั่วไปบริเวณหาดหิน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการศึกษากระบวนการทดแทนที่ในหอยชนิดนี้ โดยทำการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2551 บริเวณหาดหิน ของเกาะสีชัง จ.ชลบุรี เดือนละ 15 ตัว ผลการศึกษาพบว่าหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* มีอัตราส่วนระหว่างเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1 : 1.5 การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้พบการพัฒนาทั้งหมด 5 ระยะคือ ระยะการพักตัว ระยะกำลังพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ ระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่ ระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้ว ส่วนในเพศเมียพบการพัฒนาทั้งหมด 4 ระยะคือ ระยะการพักตัว ระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่ ระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้ว ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์สมบูรณ์เต็มที่ในเดือน กรกฎาคม และหลังจากนั้นหอยจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาในเดือน สิงหาคม – ตุลาคม ซึ่งในเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคมการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์จะเริ่มสิ้นสุดและเข้าสู่ระยะพักซึ่งหอยจะเตรียมพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้งในรอบถัดไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ ดร.มณฑล แก่นมณี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ และอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง เป็นอย่างยิ่ง ที่คอยให้คำปรึกษาและแนะนำ ตลอดจนวิธีการแก้ไขปัญหาในการทำงาน

ขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่คอยให้ความห่วงใยและคอยให้ความช่วยเหลือทุกด้าน คอยเลี้ยงดูเอาใจใส่และส่งเสียเล่าเรียนตลอดจนอบรมให้เป็นคนดี

ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณนิพนธ์ จิตตำนาน คุณนภพล เผ่าพนัส เจ้าหน้าที่และผู้ดูแลห้องปฏิบัติการของภาควิชาทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและเปิดห้องให้ในวันหยุด

ขอบคุณพี่สุจิตรา พี่ชลดา และพี่สาธิต พี่สุรีวัลย์ พี่สุริยา พี่ปิยศักดิ์ พี่อารยา พี่รุ่งนภาและพี่ปริญญาโท ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและแนะนำในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้จนปัญหาเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

นายไพโรจน์ ณรงค์วงศ์วัฒนา

เมษายน 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญภาพ	II
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	13
สรุปและข้อเสนอแนะ	24
เอกสารอ้างอิง	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะภายนอกหอย *Isognomon nucleus*	3
2	ลักษณะภายในหอย *Isognomon nucleus* 2Aแสดงภาพจากเปลือก 2B แสดงภาพจากการฝังในพาราฟิน	3
3	ภาพแสดงการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอย *Callista chione* A แสดงระยะที่ I B ระยะที่ II C ระยะที่ III D ระยะที่ IV E ระยะที่ V	7
4	ระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ II พบ spermatogonia(A) ล้อมรอบ spermatocyte (B)	16
5	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ III พบ spermatogonia(A)ล้อมรอบ spermatocyte (B)	16
6	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ IV A spermatocyte (A)	17
7	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ V spermatocyte (A) ที่ไม่สามารถปล่อยออกได้หมด เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เข้ามาแทรกบริเวณฟอลลิเคิล (B)	17
8	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ III oocyte(A) nucleus(B)	18
9	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ IV oocyte (A) nucleus(B) ช่องว่างที่ปล่อยไข่ออกแล้ว (C)	18
10	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ V oocyte (A) ที่ฝ่อแล้ว และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เข้ามาแทรกบริเวณฟอลลิเคิล (B)	19
11	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระยะที่ 0 เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ (A)	19
12	การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหอย *Isognomon nucleus*	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ หน้า

13 การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของหอย *Isognomon nucleus* 21

14 ขนาดไข่ของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

บริเวณหาดหินเกาะสีชัง จ.ชลบุรี จะพบได้ทั้งหาดหินและหาดทราย ซึ่งในการทำการศึกษาครั้งนี้ จะทำการศึกษาในบริเวณหาดหิน ที่อยู่บริเวณอ่าวอัษฎางค์ ของเกาะสีชัง ซึ่งระบบนิเวศหาดหินนั้นจะพบสิ่งมีชีวิตมากมาย รวมถึงหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ด้วย จะพบว่าหอยสองฝาชนิดนี้มีการกระจายตัวมากในบริเวณหาดหิน ซึ่งการกระจายตัวเป็นจำนวนมากนั้น จะสามารถใช้เป็นดรรชนีในการชีวัดสิ่งแวดล้อมในพื้นที่นั้น ๆ ได้ การศึกษาการกลับเข้ามาใหม่ และการทดแทนที่ของประชากรหอยนั้นเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแทนที่และการกลับเข้ามาใหม่ที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ การศึกษาระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ เพื่อที่จะได้ทราบถึงการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำไปประกอบการอธิบายการทดแทนที่และการกลับเข้ามาใหม่ของหอยชนิดนี้ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการพัฒนาระบบสืบพันธุ์และวงสืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus* เป็นเวลา 6เดือนตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – เดือนธันวาคม 2551
2. เพื่อศึกษาอัตราส่วนเพศระหว่างเพศผู้ และเพศเมียของหอยชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ระบบนิเวศหาดหิน

บริเวณหาดหินเป็นบริเวณที่มีความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางชีวภาพซึ่งมีอิทธิพลต่อการกระจายของพืชและสัตว์ทะเล เราจะเห็นการกระจายของพืชและสัตว์ทะเลเป็นการรวมกลุ่มเป็นแนวตามระดับความสูงวัดจากระดับน้ำทะเล การผุพังหรือการกัดเซาะของน้ำทะเลทำให้เกิดซอกเล็กซอกน้อยมากมาย จึงพบสิ่งมีชีวิตอาศัยอยู่มากบริเวณหาดหิน รวมทั้งยังเป็นแหล่งหลบภัยของสัตว์น้ำวัยอ่อนได้เป็นอย่างดี ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของระบบนิเวศหาดหิน คือ คลื่นลม น้ำขึ้น-น้ำลง การเปลี่ยนแปลงความเค็ม อุณหภูมิและสภาวะการสูญเสียน้ำ ทำให้สิ่งมีชีวิตต้องมีการปรับตัวทางด้านรูปร่างและหน้าที่การทำงานของอวัยวะเพื่อให้สามารถอาศัยในบริเวณนี้ได้ เช่น เพรียงหิน หอยนางรม จะยึดติดอยู่กับหิน มีเปลือกหนาปิดได้สนิท ลดการสูญเสียน้ำในร่างกาย พวกที่มีเส้นใยหรืออวัยวะช่วยในการยึดเกาะกับหิน เช่น หอยแมลงภู่ สาหร่ายเห็ดหูหนูและสาหร่ายบางชนิด นอกจากนี้เมื่อน้ำลงทำให้มีน้ำทะเลที่ค้างอยู่ตามแอ่งซอกหิน เราเรียกแอ่งหิน (tide pool)พืชและสัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ในแอ่งน้ำนี้ต้องมีการปรับตัวได้ดีมากต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนในรอบ 24 ชั่วโมง สัตว์ทะเลที่พบมากในแอ่งหินได้แก่ ปูหิน ปูเสฉวน ฟองน้ำ ดอกไม้ทะเล กุ้งและหอยฝาเดียวชนิดต่างๆ หาดหินบริเวณเกาะสีชัง ได้แก่ หาดหินบริเวณหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง และ บริเวณท่าเรือภาณุรังษี (http://www.arri.chula.ac.th/Cholatassathan_Z04.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอยสองฝาครอบครัว Isognomonidae

การจำแนกทางอนุกรมวิธาน

Kingdom Animalia

Phylum Mollusca

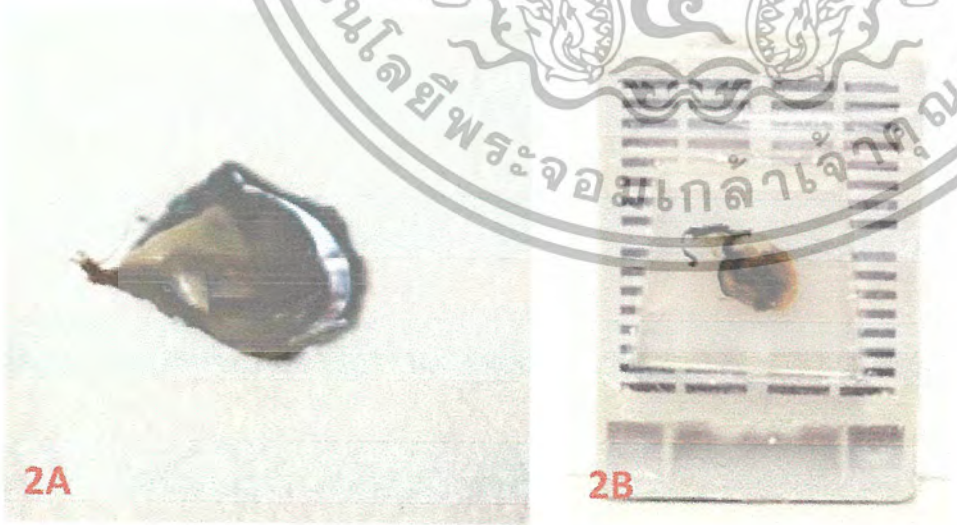
Class Bivalvia

Order Anisomyaria

Family Isognomonidae

Isognomon nucleus

ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกหอย *Isognomon nucleus*



ภาพที่ 2 ลักษณะภายในหอย *Isognomon nucleus* 2Aแสดงภาพจากเปลือก 2Bแสดงภาพจากการฝังในพาราฟิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทั่วไปของหอยครอบครัว Isognomonidae

หอยครอบครัว Isognomonidae จะพบมากในเขตร้อนและกึ่งร้อน บริเวณเขตน้ำขึ้นน้ำลง อยู่รวมกันเป็นกลุ่มเป็นจำนวนมาก อาศัยอยู่บริเวณรอยแยกของหินบริเวณน้ำขึ้นน้ำลง แต่มีการศึกษาและการตีพิมพ์ค่อนข้างน้อย โดยทั่วไปหอยในกลุ่มนี้จะมีลักษณะของเปลือกไม่แน่นอนเปลือกภายนอกมีผิวขรุขระและแหลมคม ซึ่งจะขึ้นอยู่กับที่อยู่อาศัย(Gmelin,1791) หอยในครอบครัว Isognomonidae มีอยู่หลายชนิดได้แก่ *Isognomon alatus I. bicolor I. ephippium I. isognomum I. janus I. legumen I. perna I. radiatus I. recognitus I. vulselloides* และ *I. neucleus* เป็นต้น

ระบบสืบพันธุ์ของหอยสองฝา

ลักษณะทางกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ของหอยสองฝาทั้งเพศผู้และเพศเมียจะคล้ายกันคือมีอวัยวะสืบพันธุ์อยู่ล้อมรอบต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) มีท่อสืบพันธุ์เป็นทางที่เซลล์สืบพันธุ์จะออกสู่ภายนอก พร้อมกับน้ำที่ไหลเวียนออกไปทางช่องซุปราแบรงเคียล (suprabranchial chamber) โดยเซลล์สืบพันธุ์จะออกจากอวัยวะสืบพันธุ์ไปสู่รูเปิดของระบบสืบพันธุ์ (สุชาติและคณะ, 2538)

ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝา

อสุจิ (sperm) ของหอนสองฝาประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนกลาง และส่วนหาง ส่วนหัวจะมีนิวเคลียส รูปร่างค่อนข้างยาว มีอะโครโซม (achrosome) ซึ่งมีเอนไซม์ (enzyme) ที่ใช้ย่อยผนังรังไข่ ส่วนกลางของอสุจิ มีไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ล้อมรอบเซนทริโอล (centriole) ส่วนหางของอสุจิ คือ แฟกเจลลัม (flagellum) ซึ่งมีไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เป็นปริมาณมาก (สุชาติและคณะ, 2538)

ไข่ (egg) หอยสองฝามีรูปร่างค่อนข้างกลมขนาดใหญ่มีเมือกหนาหุ้ม (gelatinous membrane) ไข่ประกอบไปด้วยส่วนของนิวเคลียส และไซโตพลาสซึม ภายในไซโตพลาสซึมพบไข่แดง ไข่แดงมีแกรนูล (granule) สองชนิดคือ ชนิดที่เป็นโปรตีนและชนิดที่เป็นไขมัน (สุชาติและคณะ,2538) ส่วนมากไข่แดงที่เป็นโปรตีนจะพบมากในหอยฝาเดียว ส่วนหอยสองฝาจะพบไข่แดงที่เป็นไขมัน (Reven,1966)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในหอยสองฝา

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenesis) ของหอยสองฝาโดยทั่วไปแล้วแล้วจะมีรูปแบบที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogenesis) จะเริ่มจากการแบ่งตัวแบบไมโตซิส (mitosis) ของเซลล์สืบพันธุ์ระยะแรก (primary germ cell) ที่อยู่รอบๆ ผนังฟอลลิเคิล ให้ สเปอร์มาโตโกเนียระยะแรก (primary spermatogonia) และระยะที่สอง (secondary spermatogonia) โดยสเปอร์มาโตโกเนียระยะแรกและระยะที่สองจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องใกล้กับศูนย์กลางของรูเมน ขนาดของสเปอร์มาโตโกเนียระยะแรก จะเล็กกว่าเซลล์สืบพันธุ์ระยะแรก แต่จะใหญ่กว่าสเปอร์มาโตโกเนียระยะที่สองแล้วสเปอร์มาโตโกเนียระยะที่สองจะเปลี่ยนไปเป็นสเปอร์มาโตไซต์ระยะแรก (primary spermatocyte) ซึ่งจะแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) ต่อไปเป็นสเปอร์มาโตไซต์ระยะที่สอง (secondary spermatocyte) หลังจากนั้นจะมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิสขั้นสุดท้ายเปลี่ยนแปลงไปเป็นสเปอร์มาติด (spermatid) การสร้างสเปอร์มาโตไซต์ระยะแรกและระยะที่สอง และสเปอร์มาติด (spermtid) เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจากผนังเซลล์เข้าสู่ศูนย์กลางของลูเมน สเปอร์มาติดจะเปลี่ยนแปลงเป็นสเปอร์มาโตซัว (spermatozoa) จนเต็มลูเมน ส่วนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (oogenesis) จะเริ่มจากการแบ่งตัวแบบไมโตซิสของเซลล์สืบพันธุ์ (germ cell) ตามผนังฟอลลิเคิลให้โอโอโกเนีย (oogonia) ซึ่งจะแบ่งตัวแบบไมโอซิสให้ (oocyte) และจะเข้าสู่ระยะก่อนให้การกำเนิดไข่แดง (previtellogenic) ซึ่งจะมีการเพิ่มปริมาณนิวเคลียส (neucleus) และไซโตพลาสซึม (cytoplasm) อย่างช้าๆ และเมื่อถึงระยะที่มีการให้กำเนิดไข่แดง (vitellogenic) แล้วจะพบว่ามีการเริ่มสะสมอาหารได้แก่ ไข่แดง (yolk) ไขมัน (lipid) และไกลโคเจน (glycogen) โอโอไซต์จะเริ่มเปลี่ยนรูปร่างด้วยการสะสมอาหารเหล่านี้ และเคลื่อนที่ออกจากผนังฟอลลิเคิล แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีบางส่วนที่ยังยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลโดยก้านบางๆ เมื่อได้ขนาดก็จะหลุดออกจากก้านเข้าสู่ลูเมนพร้อมที่จะถูกขับออกสู่ภายนอก การแบ่งตัวของเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นเรื่อย ๆ จนได้ไข่และเชื้อของตัวผู้แก่จัดพร้อมที่จะวางและผสมพันธุ์ได้ หอยที่มีการวางไข่และปล่อยเชื้อตัวผู้หมดแล้ว ลักษณะของถุงจะเหี่ยวและเล็กลง มีการสร้างเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันธุ์ขึ้นมาแทน ภายในถุงและระหว่างถุงซึ่งระยะสืบพันธุ์จะเข้าสู่ระยะเตรียมฟอลลิเคิลใหม่อีกครั้ง และพร้อมที่จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่ขึ้นอีก (Eversole,1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Moura *et al.* (2008) ที่ทำการศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอย *Callista chione* พบว่าลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของวงสืบพันธุ์ของหอยแบ่งออกเป็น 6 ระยะ คือ

ระยะ 0 คือระยะที่อยู่ในช่วงของการพักตัว เตรียมฟอลลิเคิล ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งไม่สามารถจำแนกทางเนื้อเยื่อวิทยาได้

ระยะ I คือระยะที่เริ่มมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งเป็นการพัฒนาช่วงต้น ๆ

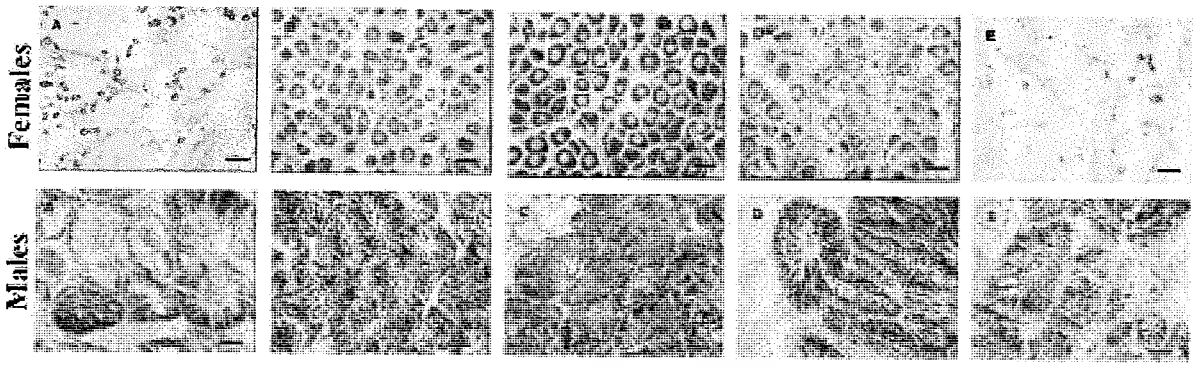
ระยะ II คือระยะกำลังพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์โดย เพศผู้จะมี spermatogonia เป็นจำนวนมาก และบางส่วนกลายเป็น spermatocyte แล้ว ส่วนเพศเมียจะเห็น ไข่เกือบเต็มฟอลลิเคิล แต่ขนาดจะไม่ใหญ่เต็มที่

ระยะ III คือระยะที่มีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่แล้วพร้อมที่จะมีการปล่อยออกมา ซึ่งตัวผู้จะมี spermatogonia ที่บางลงและมี spermatocyte เป็นจำนวนมากในฟอลลิเคิล ส่วนเพศเมียจะเห็นไข่เต็มฟอลลิเคิล และพบนิวเคลียสขนาดใหญ่ในไข่

ระยะ IV คือระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งในเพศผู้จะเห็น spermatocyte ที่น้อยลงเนื่องจากถูกปล่อยออก และเห็นช่องว่างในฟอลลิเคิล มากขึ้น ส่วนเพศเมียนั้นจะเห็นว่าไข่บางส่วนที่อยู่ในฟอลลิเคิล นั้นหลุดออกไปเหลือไว้เพียงช่องว่าง

ระยะ V คือระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้ว ในเพศผู้จะพบ spermatocyte ที่เหลือน้อยและพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์ ส่วนเพศเมียไข่ที่เหลือจะ ฝ่อและมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์เช่นกัน (ภาพที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ภาพแสดงการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอย *Callista chione* A แสดงระยะที่ I B ระยะที่ II C ระยะที่ III D ระยะที่ IV E ระยะที่ V

ที่มา : Moura *et al.* (2008)

นอกจากนั้น Delgado *et al.* (2005) ได้ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยนางรม *Pinctada fucata martensii* ในประเทศเกาหลี พบว่าลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของวงสืบพันธุ์ของหอยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะพัก คือระยะที่ ฟอลลิเคิลของ gonad ไม่มีการพัฒนา เนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นพวกกล้ามเนื้อ อวัยวะเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เท้า ไม่สามารถที่จะพบเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศเมีย และผู้จากวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยาได้

ระยะเริ่มมีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ คือ เริ่มมีการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่ง เพศเมียจะมีการเพิ่มจำนวนของ Oocyte แต่ยังไม่สมบูรณ์ ส่วนในเพศผู้พบ spermatogonia และ spermatozoa

ระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระยะสูง พบว่าการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ได้เต็มที่แล้วเพศผู้มี spermatozoa เป็นจำนวนมากในฟอลลิเคิล ส่วนเพศเมียจะเห็นไข่เต็มฟอลลิเคิล และพบนิวเคลียสขนาดใหญ่ในไข่ ซึ่งอวัยวะภายใน กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในระยะนี้จะมีขนาดเล็กลง

ระยะการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (ระยะการแพร่พันธุ์) เซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเมียที่มีการเจริญเต็มที่จะมีการปล่อยออก ซึ่งจะเห็นช่องว่างบริเวณฟอลลิเคิล ซึ่งเป็นระยะสิ้นสุดการพัฒนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุนันท์และประนอม (2534) ได้ศึกษาการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยตลับ จังหวัดตราด สามารถแบ่งขั้นตอนการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ ทั้งเพศผู้และเมียออกเป็น 6 ระยะคือ

ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา (prefollicular development) ในเพศเมียพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นเซลล์บางๆ มีกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆ ติดสีน้ำเงินเข้มรอบๆ บริเวณที่เป็นฟอลลิเคิล ซึ่งฟอลลิเคิลยังคงมีขนาดเล็ก ส่วนในเพศผู้ก็ยังคงมีลักษณะคล้ายกันคือ พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นเซลล์บางๆ เริ่มสร้างฟอลลิเคิล โดยกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กรวมกลุ่มหนาโดยรอบบริเวณที่จะสร้างเป็นฟอลลิเคิล

ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนา (initial development) ในเพศเมียพบเซลล์สืบพันธุ์ (gemetogonia) ขนาดเล็กรอบๆ ผนังฟอลลิเคิล ซึ่งจะแบ่งเซลล์ให้เซลล์สืบพันธุ์ขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนในเพศผู้พบเซลล์สืบพันธุ์มีการแบ่งเซลล์ให้สเปอร์มาโตไซต์ (spermatocyte) ติดสีน้ำเงินจางๆ และสเปอร์มาติด (spermatid) ติดสีน้ำเงินเข้ม

ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนา (development) ในเพศเมียพบผนังฟอลลิเคิลหนาติดสีน้ำเงินเข้มที่มีการแบ่งเซลล์ให้โอโอไซต์ระยะแรก (primary oocyte) โอโอไซต์ระยะสอง (secondary oocyte) ซึ่งจะเจริญใหญ่ขึ้นไปเป็นโอโอไซต์ที่สมบูรณ์ (mature oocyte) ส่วนในเพศผู้จะพบเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปอร์มาโตซัว (spermatozoa) แต่มีจำนวนน้อย

ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (mature) ในเพศเมียพบถุงฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นภายในบรรจุโอโอไซต์ที่สมบูรณ์ อยู่กลางฟอลลิเคิลอย่างหนาแน่น ส่วนเพศผู้พบถุงฟอลลิเคิลขยายใหญ่ส่วนมากจะเป็นสเปอร์มาโตซัวมากที่สุด

ระยะที่ 5 ระยะเริ่มปล่อยเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (partially spawned) ในเพศเมีย บางฟอลลิเคิลพบเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะสมบูรณ์ บางฟอลลิเคิลเซลล์สืบพันธุ์ถูกปล่อยออกบางส่วน ที่เหลือจะเจริญเป็นโอโอไซต์ที่สมบูรณ์ ส่วนเพศผู้พบสเปอร์มาโตซัวถูกปล่อยออกจากถุงไปจะเห็นที่เหลือจากถุงเป็นหย่อมๆ

ระยะที่ 6 ระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (spent) ในเพศเมีย ภายในถุงว่างเปล่าเนื่องจากไข่ถูกปล่อยออกไปหมดแล้ว พนังของถุงจะเหี่ยวเล็กลงจนเหลือเป็นช่องว่าง เล็กๆ ซึ่งอยู่ระหว่างเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ในเพศผู้ ภายในถุงว่างเปล่า บางถุงอาจยังมีเซลล์สืบพันธุ์หลงเหลืออยู่บ้างพนังของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถุงจะเหี่ยวเล็กลงจนเหลือเป็นช่องว่าง เล็กๆ จะมีเซลล์ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสร้างขึ้นมาแทนที่ และพร้อมที่จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์อีกครั้ง

วงสืบพันธุ์ (reproductive Cycle)

สุนันท์ และเอกลักษณ์ (2529) ศึกษาการเจริญของเซลล์อวัยวะเพศในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ที่อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี และหมู่บ้านแสมขาว จังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าหอยแมลงภู่มีอวัยวะสืบพันธุ์ที่พร้อมสืบพันธุ์ได้ในช่วงระหว่างเดือนเมษายน ถึงกรกฎาคม กับช่วงระหว่างเดือนกันยายนถึงกุมภาพันธ์ ส่วนช่วงฤดูสืบพันธุ์จะพบสองช่วงคือระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม กับช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ส่วนถาวรและคณะ (2530) ศึกษาการพัฒนาศึกษาการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครง *Anadara granosa* ที่อ่าวสวี จังหวัดชุมพร ปี2527 พบว่าหอยแครงวางไข่ทุกเดือนในตลอดช่วงทำการศึกษาและพบมากที่สุดถึง 50% ที่เดือน กรกฎาคม พบหอยระยะ muture มากที่สุดถึง 73.33% ในเดือนกันยายน

สุนันท์ (2530) ศึกษาฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยลาย (*Paphia undulate*) ที่จังหวัดสุราษฎ์ธานี พบว่าหอยลายเริ่มมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่ ความยาว 28.1 ความสูง 16.2 ความกว้าง 9.1 มิลลิเมตรขึ้นไป และมีช่วงการวางเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงแรกเดือน มกราคม – เดือนมีนาคม และช่วงที่สอง ระหว่างเดือนสิงหาคม – เดือนตุลาคม

จารุนันท์และสันติ (2539) ศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยนางรม (*Saccostrea cucullata*) บริเวณอ่าวศิลาจังหวัดชลบุรี พบว่าหอยนางรมมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่เดือน มิถุนายน – เดือนกรกฎาคม และมีความสมบูรณ์เพศและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในเดือน สิงหาคม – พฤศจิกายน หลังจากนั้นความสมบูรณ์เพศจะลดลง และเริ่มพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้งเป็นวงสืบพันธุ์ต่อไป

Barber และ Blake (1983) ศึกษาการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยเชลล์ (*Argopecten irradians*) พบว่าหอยเชลล์มีความสมบูรณ์เพศมากที่สุดในช่วงปลายเดือนกันยายนถึงต้นเดือนตุลาคม นอกจากนั้น Hesselman *et al.* (1989) ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอย *Mercenaria spp.* ในอินเดียน ลากูน ฟลอริด้า (Indian River lagoon Florida) พบว่ามีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่ปลายฤดูร้อนหรือต้นฤดูใบไม้ร่วงจนถึงฤดูหนาว ระยะเวลาการวางไข่มี 2 ช่วง คือเดือนกันยายน – ธันวาคม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเดือนมีนาคม – มิถุนายน ขณะที่ Manzi et al. (1989) ได้ศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอย M. nercenaria ในเซาท์คาโรไลนา (South Carolina) พบว่าช่วงเวลาของการวางไข่มี 2 ช่วงคือ ช่วงแรกเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ส่วนช่วงที่ 2 อยู่ในเดือนตุลาคม

ปัจจัยการควบคุมการสืบพันธ์ของหอยสองฝา

การเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝาอยู่ภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งภายนอกและภายใน ปัจจัยภายนอกได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ อิทธิพลจากดวงจันทร์ ความลึกของน้ำ ความสมบูรณ์ของอาหารความหนาแน่นของประชากร ตลอดจนปรสิตภายในและปัจจัยอื่น ๆ ส่วนปัจจัยภายในนั้นพบว่าการวางไข่ของหอยสองฝาอยู่ภายใต้การควบคุมของเซลล์นิวโรเซคลีทอรี (neurosecretory cell) ในประเทศไทยพบว่าหอยสองฝาจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธ์ตลอดทั้งปีแต่จะมีการวางเซลล์สืบพันธุ์ที่เห็นชัดเจนเป็น 2 ช่วงได้แก่ฤดูร้อนและช่วงฤดูฝน ซึ่งสองช่วงนี้จะพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเค็มชัดเจน (สุชาติ และคณะ,2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดอุณหภูมิ
2. เวอร์เนียร์
3. เครื่อง tissue prossersor
4. สไลด์ และ cover glass
5. กล้องจุลทรรศน์
6. เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome)
7. paraffin bath
8. slide warmer
9. ชุดย้อมสีเนื้อเยื่อ
10. อ่างลอยชิ้นเนื้อ
11. 10% buffer formalin
12. หอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* ที่ใช้ทดลอง

วิธีการ

เก็บตัวอย่างหอยสองฝา บริเวณหาดหินที่ เกาะสีชัง จ.ชลบุรี โดยเก็บเดือนละ 15 ตัวเป็นเวลา 6 เดือนตั่งแต่เดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2551 จากนั้นวัดความยาวและนำเนื่องของอวัยวะสืบพันธุ์มาทำการศึกษาทางพยาธิสภาพ เพื่อทำการดูการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยชนิดนี้ และดูความแตกต่างและการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์

วิธีดำเนินการทดลอง

การเก็บตัวอย่าง

1. เก็บตัวอย่างหอยสองฝาชนิด *Isognomon nucleus* บริเวณหาดหิน อ่าวอัศฎางค์ ที่เกาะสีชัง จ.ชลบุรี บริเวณเขตน้ำขึ้นน้ำลงระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2551 เป็นเวลา 6 เดือน เดือนละ 15 ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วัดความยาวของเปลือกหอยด้วย vemer caliper จากนั้นแกะส่วน mantle ออกจากเปลือกนั้นนำไปแช่ buffer formalin 10%

ทำการวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อ

1. นำตัวอย่างหอยที่เก็บมาแช่ใน buffer formalin 10%
2. หลังจากนั้นดองแล้วอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างวางลงบน แคทเซ็ท แล้วปิดให้สนิท พร้อมเขียนรหัส แล้วนำชิ้นเนื้อที่จะเข้าเครื่อง tissue processor มาผ่านน้ำไหลประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ฟอร์มาลินออกจากเนื้อเยื่อ
3. นำเข้าเครื่อง tissue processor เพื่อดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ และฝังเนื้อเยื่อลงใน trim นำชิ้นเนื้อที่ตรึงกับ parafin มา ตัดส่วนที่เกินออก หรือเรียกว่าการแต่ง block (timming) จากนั้นนำเนื้อเยื่อมาตัด เนื้อเยื่อด้วยเครื่อง microtome ที่ความหนา 4 – 5 ไมโครเมตร
4. ทำการย้อมสี Hematoxylin และ Eosin เมื่อจบขั้นตอนการย้อมสีจะได้ สไลด์เนื้อเยื่อ และนำไปวิเคราะห์การพัฒนาของ ระบบสืบพันธุ์ของหอย ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และทำการวิเคราะห์โดยหลักการทาง pathology

สถานที่ทำการทดลอง

1. เกาะสีชัง จ.ชลบุรี
2. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2551 - กุมภาพันธ์ 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ลักษณะภายนอกและภายในของหอย *Isognomon nucleus*

จากการเก็บตัวอย่างหอย *Isognomon nucleus* จากเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – เดือนธันวาคม 2551 พบว่า หอยมีความยาวเฉลี่ย 12.70 ± 2.20 มิลลิเมตร (n=90) มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน ผิวขรุขระ แหลมคม เปลือกเป็นสีดำ ไม่สามารถแยกเพศได้จากลักษณะภายนอก (ภาพที่ 1) เมื่อแกะเปลือกออกมาพบเปลือกด้านในเรียบ มีสีมุกและพบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ลักษณะเป็นสีขาวขุ่น (ภาพที่ 2)

เพศ

จากการศึกษาทางทางเนื้อเยื่อของการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus* จากจำนวนศึกษา 90 ตัว เป็นเวลา 6 เดือน พบตัวผู้ร้อยละ 39.69% และเพศเมียร้อยละ 60.31% ซึ่งแสดงเป็นอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.5

ลักษณะทางเนื้อเยื่อของเซลล์สืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus*

เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatozoa) มีลักษณะกลมขนาดเล็กมาก ประกอบไปด้วยส่วนหัวและหาง บริเวณส่วนหัวนิวเคลียสพบติดสีน้ำเงินเข้ม ส่วนหางเป็นบริเวณของไซโตพลาสซึมติดสีชมพู เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุทรรศน์แบบใช้แสงไม่สามารถเห็นได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4)

เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (mature oocyte) มีลักษณะกลมขนาดประมาณ 30 - 40 ไมโครเมตร ภายในประกอบไปด้วยไซโตรพลาสซึมซึ่งเต็มไปด้วยอาหารมีลักษณะเป็นแกรนูล (yolk granule) ติดสีชมพูของ eosin (ภาพที่ 8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus* เพศผู้จากการศึกษาเนื้อเยื่อตามวิธีของ Moura *et al.* (2008)

จากงานวิจัยของ Moura *et al.* (2008) ที่ได้ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยสองฝาชนิด *Callista chione* พบว่าลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของวงสืบพันธุ์ของหอยแบ่งออกเป็น 6 ระยะ คือ

ระยะ 0 คือระยะที่อยู่ในช่วงของการพักตัว เตรียมฟอลลิเคิล ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งไม่สามารถจำแนกทางเนื้อเยื่อวิทยาได้

ระยะ I คือระยะที่เริ่มมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งเป็นการพัฒนาช่วงต้น ๆ

ระยะ II คือระยะกำลังพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์โดย เพศผู้จะมี spermatogonia เป็นจำนวนมาก และบางส่วนกลายเป็น spermatocyte แล้ว ส่วนเพศเมียจะเห็น ไข่เกือบเต็มฟอลลิเคิล แต่ขนาดจะไม่ใหญ่เต็มที่

ระยะ III คือระยะที่มีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่แล้วพร้อมที่จะมีการปล่อยออกมา ซึ่งตัวผู้จะมี spermatogonia ที่บางลงและมี spermatocyte เป็นจำนวนมากในฟอลลิเคิล ส่วนเพศเมียจะเห็นไข่เต็มฟอลลิเคิลและพบนิวเคลียสขนาดใหญ่ในไข่

ระยะ IV คือระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งในเพศผู้จะเห็น spermatocyte ที่น้อยลงเนื่องจากถูกปล่อยออก และเห็นช่องว่างในฟอลลิเคิล มากขึ้น ส่วนเพศเมียนั้นจะเห็นว่าไข่บางส่วนที่อยู่ในฟอลลิเคิลนั้นหลุดออกไปเหลือไว้เพียงช่องว่าง

ระยะ V คือระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้ว ในเพศผู้จะพบ spermatocyte ที่เหลือน้อยและพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์ ส่วนเพศเมียไข่ที่เหลือจะ ฝ่อและมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์เช่นกัน

จากการศึกษาครั้งนี้พบระยะการพัฒนาทั้งหมด 5 ระยะ คือ ระยะที่ 0, II, III, IV และ V

ระยะที่ 0 คือ ระยะที่อยู่ในช่วงของการพักตัว เตรียมฟอลลิเคิล ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งไม่สามารถจำแนกทางเนื้อเยื่อวิทยาได้

ระยะที่ II คือ ระยะ กำลังพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ โดย spermatogonia พบเป็นจำนวนมากในฟอลลิเคิล และบางส่วนกลายเป็น spermatocyte ในตรงกลางฟอลลิเคิล (ภาพที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะที่ III คือระยะที่มีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่แล้วพร้อมที่จะมีการปล่อยออกมา ซึ่ง spermatogonia จะพัฒนามาเป็น spermatocyte เป็นจำนวนมากบริเวณกลางฟอลลิเคิล (ภาพที่ 5)

ระยะที่ IV คือระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งจะเห็น spermatocyte ที่น้อยลงเนื่องจากถูกปล่อยออก และเห็นช่องว่างในฟอลลิเคิล มากขึ้น (ภาพที่ 6)

ระยะที่ Vระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้ว ในเพศผู้จะพบร่องรอยของ spermatocyte และพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์ (ภาพที่ 7)

ระยะการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus* เพศเมียทางเนื้อเยื่อตามวิธีของ Moura *et al.* (2008)

จากการศึกษาครั้งนี้พบระยะการพัฒนาทั้งหมด 4 ระยะ คือ ระยะที่ 0, III, IV และ V

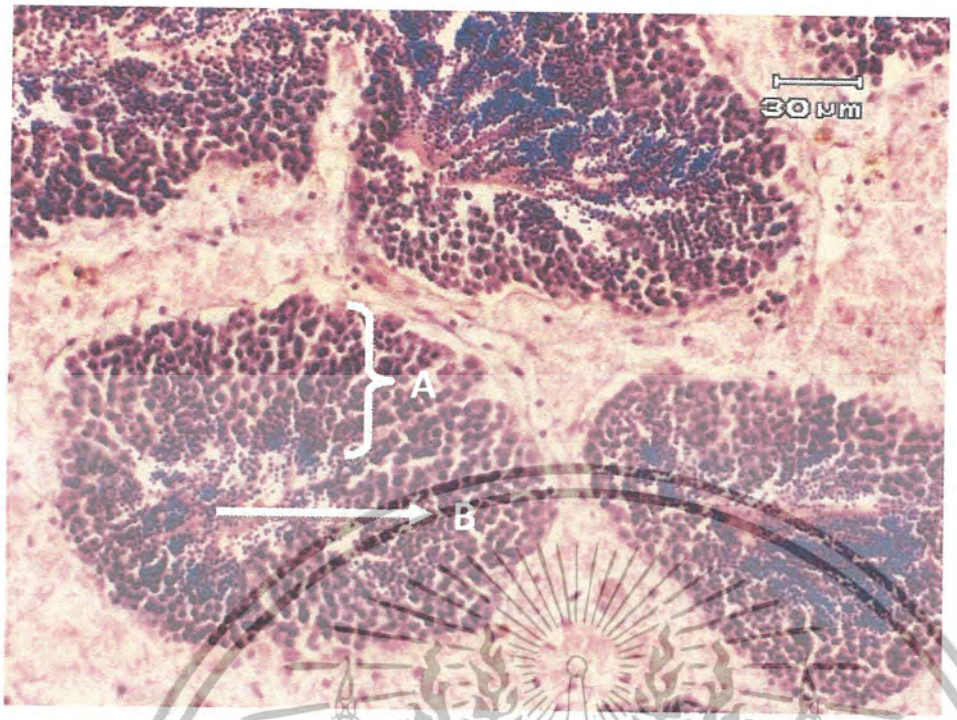
ระยะที่ 0คือ ระยะที่อยู่ในช่วงของการพักตัว เตรียมฟอลลิเคิล ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งไม่สามารถจำแนกทางเนื้อเยื่อวิทยาได้

ระยะที่ III คือระยะที่มีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เต็มที่แล้วพร้อมที่จะมีการปล่อยออกมาจะพบไข่อยู่เบียดเต็มฟอลลิเคิลติดสีชมพู และพบนิวเคลียสขนาดใหญ่ในไข่(ภาพที่ 8)

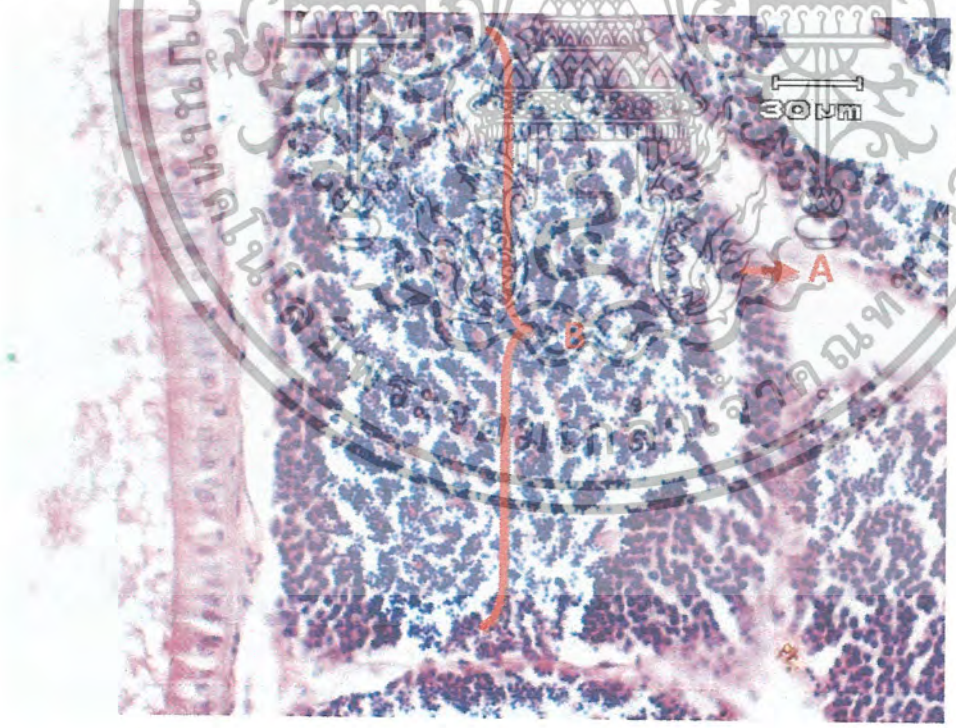
ระยะที่ IV คือระยะเริ่มมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ จะพบว่าไข่บางส่วนที่อยู่ในฟอลลิเคิล นั้นหลุดออกไปเหลือไว้เพียงช่องว่าง (ภาพที่ 9)

ระยะที่ V คือระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้วไข่ที่เหลือในฟอลลิเคิล จะฝ่อและมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทรกในระบบสืบพันธุ์ (ภาพที่ 10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



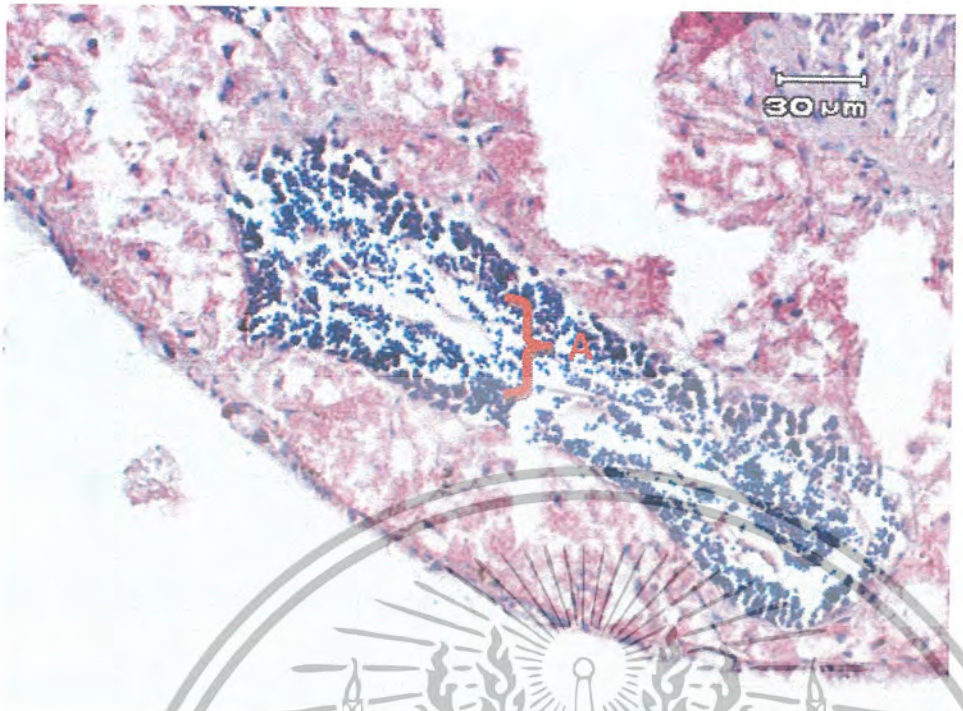
ภาพที่ 4 ระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ II พบ spermatogonia(A)ล้อมรอบ spermatocyte (B)



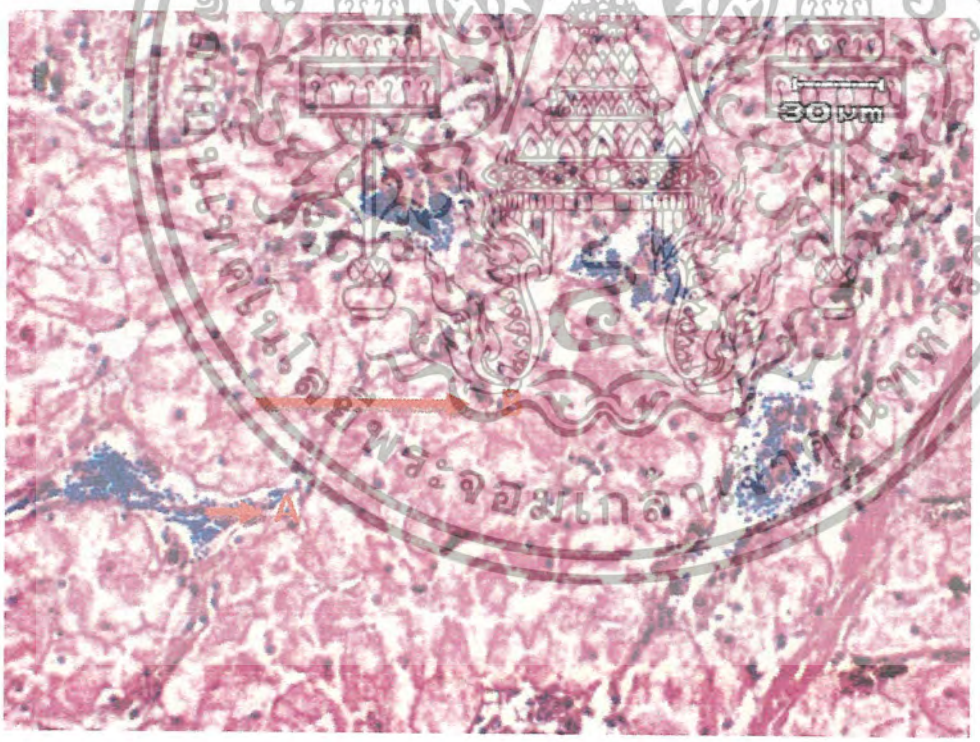
ภาพที่ 5 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ III พบ spermatogonia(A)ล้อมรอบ spermatocyte (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



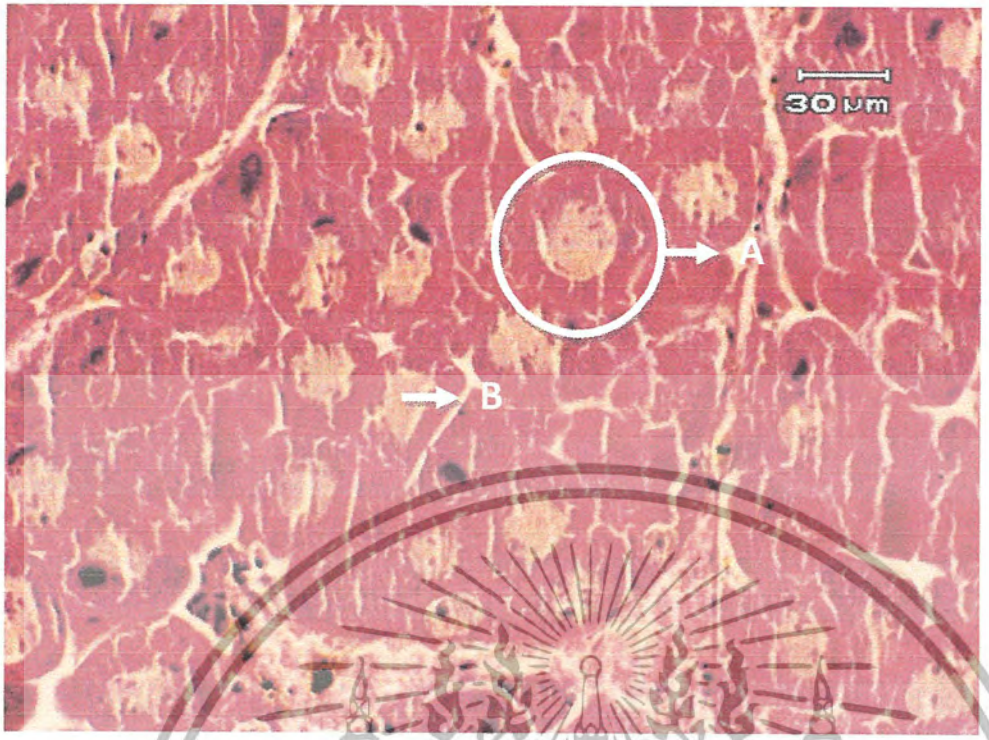
ภาพที่ 6 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ IV A spermatocyte (A)



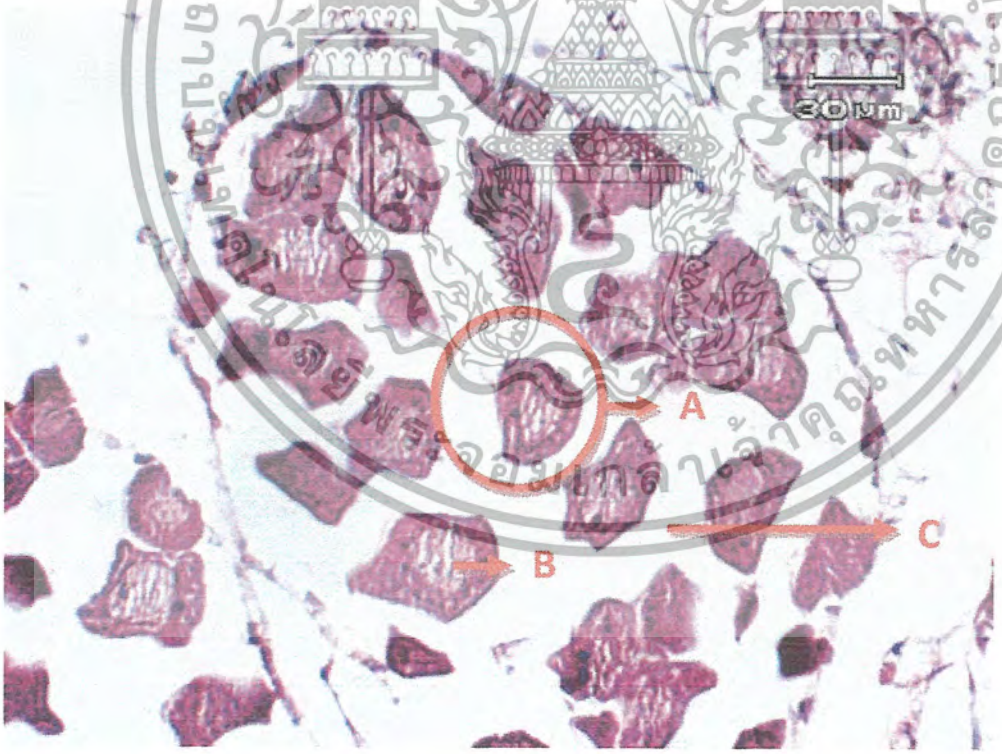
ภาพที่ 7 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะที่ V spermatocyte (A) ที่ไม่สามารถปล่อยออกได้หมด เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เข้ามาแทรกบริเวณฟอลลิเคิล (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104642

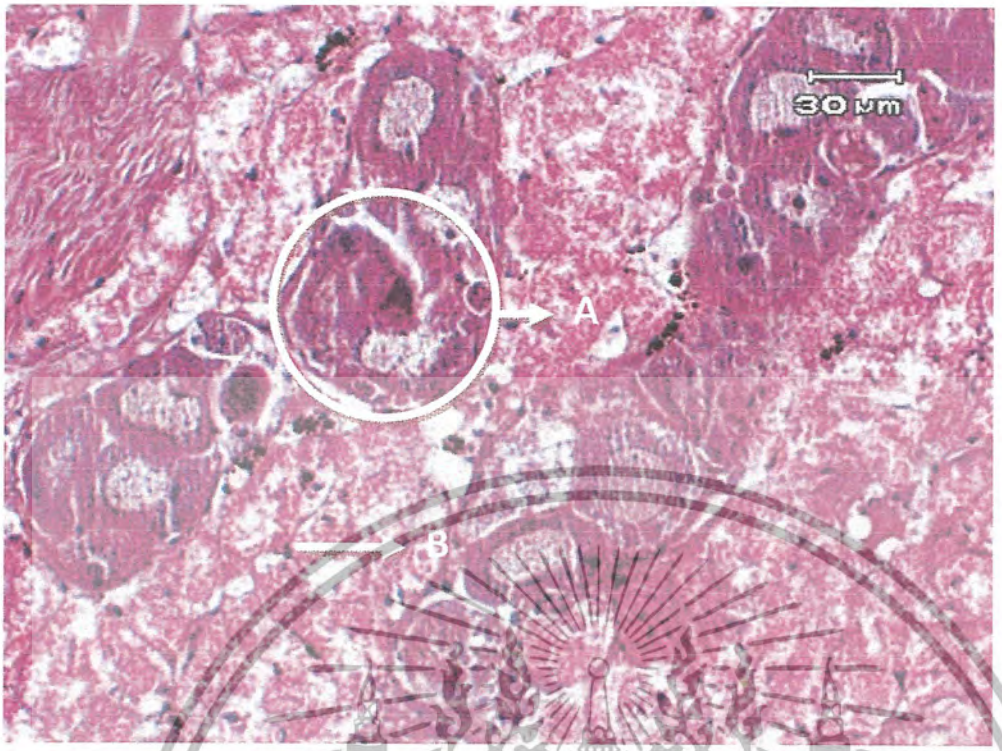


ภาพที่ 8 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ III oocyte(A) nucleus(B)

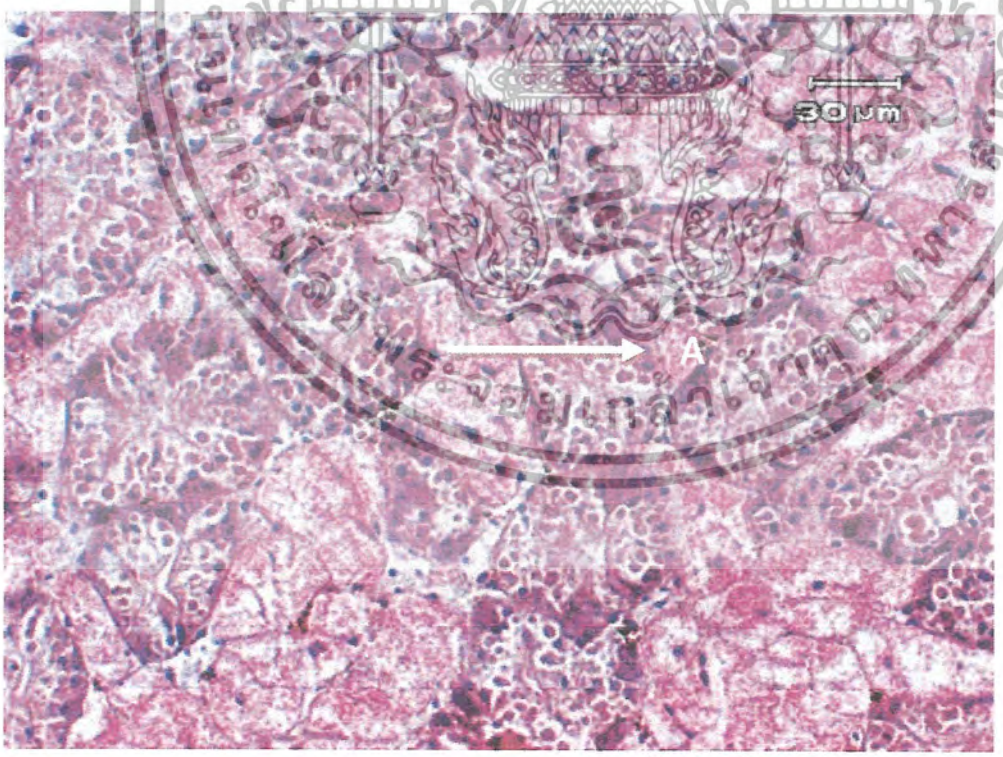


ภาพที่ 9 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ IV oocyte (A) nucleus(B) ช่องว่างที่ปล่อยไข่ออกแล้ว (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะที่ V oocyte (A) ที่ฝ่อแล้ว และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เข้ามาแทรกบริเวณฟอลลิเคิล (B)

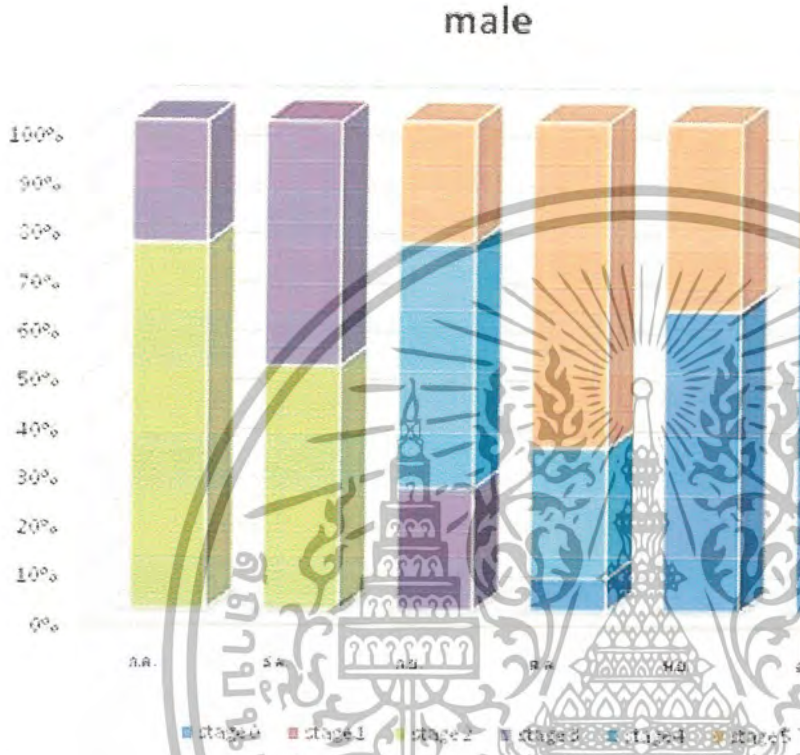


ภาพที่ 11 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ระยะที่ 0 เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไม่มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ (A)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของหอย *Isognomon nucleus* เป็นเวลา 6 เดือนตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – เดือนธันวาคม 2551

เพศผู้

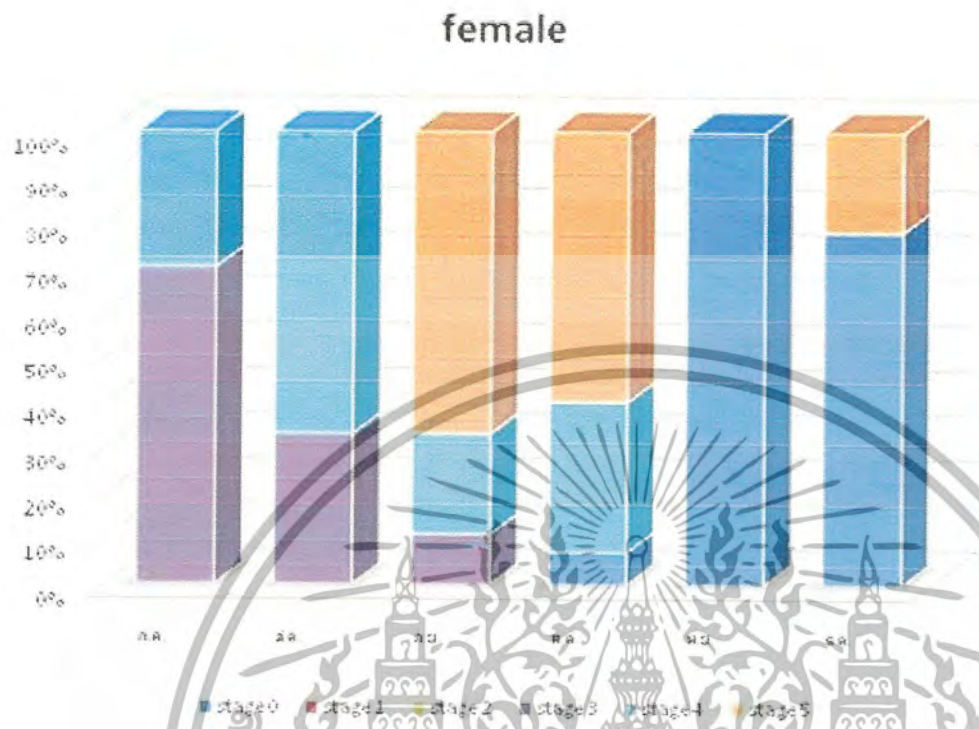


ภาพที่ 12 การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหอย *Isognomon nucleus*

พบว่าที่เดือน กรกฎาคมมีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 สูงถึง 75 % 25 % ตามลำดับ ในช่วงเดือนสิงหาคม พบระยะการพัฒนาในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 สูงถึง 50 % 50 % ช่วงเดือนกันยายน พบระยะที่ 3, 4, 5 ที่ 25% 50% และ 25% ตามลำดับเดือนตุลาคมพบระยะที่ 0, 4, 5, ที่ 7% 28% และ 65% เดือนพฤศจิกายนพบระยะที่ 0 และระยะที่ 5 ที่ 61.6% และ 38.4%ในเดือนธันวาคมพบระยะที่ 0 และระยะที่ 5 ที่ 69.3% และ 30.7% (ภาพที่ 12)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพศเมีย

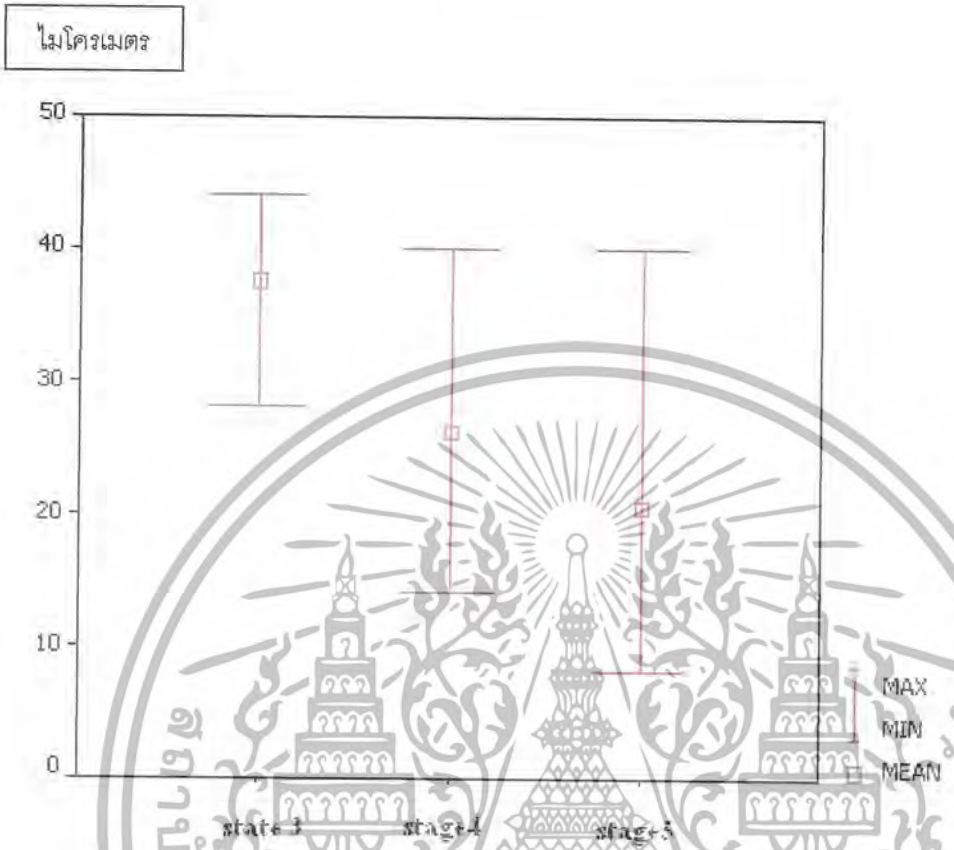


ภาพที่ 13 การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของหอย *Isognomon nucleus*

พบว่าที่เดือน กรกฎาคมพบการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ในระยะที่ 3 และระยะ 4 ที่ 70% และ 30 %ตามลำดับ ในช่วงเดือนสิงหาคม พบระยะการพัฒนาในระยะที่ 3 และระยะที่ 4 34% และ 66% ตามลำดับ ช่วงเดือนกันยายน พบระยะที่ 3, 4, 5 ที่ 12% 22% และ 66% ตามลำดับเดือนตุลาคม พบระยะที่ 0, 4, 5, ที่ 7% 23% และ 60% เดือนพฤศจิกายนพบระยะที่ 0 100%ในเดือนธันวาคมพบระยะที่ 0 และระยะที่ 5 ที่ 62% และ 18%(ภาพที่ 13)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดไข่ของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย



ภาพที่ 14 ขนาดไข่ของระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

ระยะที่ 3 ค่าเฉลี่ยในการวัดขนาดไข่อยู่ที่ 37.45 ไมโครเมตร ในระยะที่ 4 ค่าเฉลี่ยในการวัดขนาดไข่อยู่ที่ 26.13 ไมโครเมตร และระยะที่ 5 ค่าเฉลี่ยในการวัดขนาดไข่อยู่ที่ 20.44 ไมโครเมตร จะพบได้ว่าขนาดไข่เป็นดรรชนีที่ใช้ในการชี้วัด ระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ได้ (ภาพที่ 14) ขนาดไข่จะมีขนาดต่างกัน ในระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ที่ต่างกันด้วย

หอยทั้งเพศผู้และเพศเมียมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่สมบูรณ์เต็มที่เดือน กรกฎาคม หลังจากนั้นจะมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาในเดือน สิงหาคม- ตุลาคม ซึ่งในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคมการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์จะเริ่มสิ้นสุดและเข้าสู่ระยะพักซึ่งหอยจะเตรียมพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้ง ในรอบถัดไป ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ จารุนันท์ และสันติ (2539) ที่ทำการศึกษาการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยนางรม *Saccostrea cucullata* บริเวณอ่างศิลาจังหวัดชลบุรี พบว่าหอยนางรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่เดือน มิถุนายน – เดือนกรกฎาคม ซึ่งมีความสมบูรณ์เพศและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในเดือน สิงหาคม – พฤศจิกายน หลังจากนั้นความสมบูรณ์เพศจะลดลง และเริ่มพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้งเป็นวงสืบพันธุ์ต่อไป

ซึ่งความสอดคล้องดังกล่าวขึ้นอยู่กับชนิดและอยู่ภายใต้อิทธิพลของปัจจัยทั้งภายนอกและภายใน ปัจจัยภายนอกได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ อิทธิพลจากดวงจันทร์ ความลึกของน้ำ ความสมบูรณ์ของอาหารความหนาแน่นของประชากร ตลอดจนปรสิตภายในและปัจจัยอื่น ๆ ส่วนปัจจัยภายในนั้นพบว่าการวางไข่ของหอยสองฝาอยู่ภายใต้การควบคุมของเซลล์นิวโรเซคลีทอรี (neurosecretory cell) (สุชาติ และคณะ,2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์หอย *Isognomon nucleus* ทางเนื้อเยื่อ จำนวนศึกษา 90 ตัว เป็นเวลา 6 เดือน พบตัวผู้ร้อยละ 39.69% และเพศเมียร้อยละ 60.31% ซึ่งแสดงเป็นอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.5

ระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ทางเนื้อเยื่อวิทยา โดยอ้างอิงระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของ Moura *et al.* (2008) ทั้งเพศผู้และเพศเมียพบว่า การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์มีแนวโน้มไปทางเดียวกันคือมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่สมบูรณ์เต็มที่เดือน กรกฎาคม หลังจากนั้นจะมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาในเดือน สิงหาคม- ตุลาคม ในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคมการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์จะเริ่มสิ้นสุดเข้าสู่ระยะพักซึ่งหอยจะเตรียมพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้ง ในรอบถัดไป

ซึ่งระยะเวลาของการพัฒนาและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์นี้เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของหอยในรอบปี และสามารถนำข้อมูลไปเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการทำนายการกลับเข้ามาใหม่ของหอยชนิดนี้ในหาดหินบริเวณเกาะสีชัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จารุนันท์ ประทุมยศ สุขใจ รัตนยุวกร และสันติ เอี่ยนเหล็ง.2539. องค์ประกอบในกระเพาะอาหารและพัฒนาการ อวัยวะสืบพันธุ์ของหอยนางรมบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี. เอกสารงานวิจัยเลขที่ 74/2539. ชลบุรี : สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา.

ถาวร ธรรมเศวต วิรัช ภัทรภิญโญ จินตนา นักระนาด และคมน์ ศิลปาจารย์.2530. ชีววิทยาของหอยแครงศึกษาจากแหล่งปล่อยพ่อแม่พันธุ์และแปลงทดลองเลี้ยง ที่อ่าวสวี บ้านทุ่งคา อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร ปี2527. เอกสารวิชาการฉบับที่ 43/2530. ประจวบคีรีขันธ์: สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

สุชาติ อุปถัมภ์ มาลียา เครือตราชู เยาวลักษณ์ จิตรามวงศ์ และศิริวรรณ จันทเตมีย์.2538. สังขวิทยา. กรุงเทพมหานคร : ศักดิ์โสภาการพิมพ์.

สุนันท์ ทวยเจริญ และประนอม พรมผาย.2534. สภาวะแวดล้อมบางประการที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหอยตลับ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2534. สมุทรสาคร : ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

สุนันท์ ทวยเจริญ และเอกลักษณ์ แซ่โล้ว. 2529. การเจริญของเซลล์อวัยวะเพศในหอยแมลงภู่ที่ อ. บ้านแหลม จ.เพชรบุรี และหมู่บ้านแสมขาว จ. ฉะเชิงเทรา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 44/2529. กรุงเทพมหานคร : ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

สุนันท์ ทวยเจริญ. 2530.ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยลายที่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี. เอกสารงานวิชาการฉบับที่ 17/30. กรุงเทพมหานคร : ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

Barber, B.J. and Blake, N.J.1983.Growth and Reproduction of the Bay Scallop, *Argopecten irrdians* (Lamarck) at its Southern Distributional Limit. J. Exp. Biol. Ecol. 66 : 247-256

Delgado, M. and Camacho, A.P. 2005. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussates* (L.) (Mollusca : Bivalvia) and its relationship with available food. Scientia Marina. 69(1):87-97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Emelin. 1791. The Biology of *Isognomon legumen* (Bivalvia : pterioida) at cape D' Aguilar. Hongkong. 405-406.

Eversole A.G.1989. Gametogenesis and Spawning in North American Clam Populations : Implication for Culture in Clam Maricuture in North America. p.p. 75-103. Netherlands : Elsevier Science Publishers.

Hesselman D. M., Barber, B.J. and Blake, N. J. 1989. The Reprodutive Cycle of Adult Hard Clams, *Mercenaria spp.* In The India River Lagoon, Florida. J. Shellfish. Res. 8(1) : 43-49

Manzi, J.J. and Castagana, M. 1989. Clam Maricuture in North America. Netherlands : Elsevier Science Publishers.

Moura, P.,Gaspar, M.B. and Monteiro, C.C. 2008. Gametogenic of the smooth clam *Callista chione* on the south-western coast of Portugal. Marine Biological Association of United Kingdom. 88(1) : 161-167.

Reven, C.P.1966. Morphogenesis : The Analysis of Molluscan Development. 2 nd ed. New York : pergamon Press.

(http://www.arri.chula.ac.th/Cholatassathan_Z04.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้