สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

วงจรสืบพันธุ์ของหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (RODING, 1798) บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

REPRODUCTIVE CYCLE OF *Gafrarium tumidum* (RODING, 1798) AT KUNG KRABAEN BAY, CHANTHABURI PROVINCE

นายโสภณ สุขสวัสดิ์
SOPON SUKSAWAT

12 [illegible] 2551
1652

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล
คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา

หัวข้อปัญหาพิเศษ	วงจรสืบพันธุ์ของหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัด จันทบุรี Reproductive cycle of *Gafarium tumidum* (Roding 1798), at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province
โดย	นายโสภณ สุขสวัสดิ์
คณะ	คณะเทคโนโลยีทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุขใจ รัตนยุวกร
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์บัญชา นิลเกิด

คณะเทคโนโลยีทางทะเลได้พิจารณาปัญหาพิเศษฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะเทคโนโลยีทางทะเล

(อาจารย์วศิน ยุวนะเตมีย์)

คณะกรรมการตรวจสอบปัญหาพิเศษ

.....ประธาน

(ดร. สุขใจ รัตนยุวกร)

.....กรรมการ

(อาจารย์บัญชา นิลเกิด)

.....กรรมการ

(อาจารย์สหรัฐ ธีระคัมพร)

ประกาศคุณูปการ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาของ ดร.สุขใจ รัตนยุวกร อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้าในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จนลุล่วงไปได้ด้วยดี และให้ความกรุณาในการเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ตรวจแก้ไขข้อผิดพลาดในการทำปัญหาพิเศษ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่ดีอีกทั้งดูแลข้าพเจ้าด้วยดีตลอดระยะการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ ซึ่งผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์บัญชา นิลเกิด อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะและคำปรึกษาเพื่อแก้ไขปรับปรุงปัญหาพิเศษฉบับนี้ และทำให้เกิดแรงบันดาลใจให้เกิดการศึกษาในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์สหรัฐ ธีระคัมพร ที่ช่วยให้คำแนะนำ และยังสละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการนำเสนอปัญหาพิเศษของข้าพเจ้า

ขอกราบของพระคุณ คณาจารย์คณะเทคโนโลยีทางทะเลทุกท่านที่ได้กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆ และคอยช่วยเหลือสนับสนุนให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้ของข้าพเจ้า สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณศรีภาพรรณ ตรีเจตน์ ที่อำนวยความสะดวกในการทำการทดลองตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสารสนเทศจันทบุรี ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ คณะเทคโนโลยีทางทะเลทุกคนที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือและเป็นกำลังที่ดีให้ข้าพเจ้าเสมอมา

สุดท้ายของกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนในการทำปัญหาพิเศษทั้งการเรียน การเงิน ให้คำปรึกษาแนะนำและกำลังใจที่ดีตลอดมา และขอบคุณน้องสาวและน้องชายทั้ง 2 ของข้าพเจ้าที่คอยเป็นกำลังใจที่ดีให้ข้าพเจ้าเสมอมา

โสภณ สุขสวัสดิ์

มีนาคม 2551

47330682 : สาขาวิชา: เทคโนโลยีทางทะเล; วท.บ. (เทคโนโลยีทางทะเล)

คำสำคัญ : หอยสองฝา, หอยกระปุก (*Gafrarium tumidum* Roding, 1798), วงจรสืบพันธุ์

โสภณ สุขสวัสดิ์: วงจรสืบพันธุ์ของหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี (REPRODUCTIVE CYCLE OF *Gafrarium tumidum* (RODING, 1798) AT KUNG KRABAEN BAY, CHANTHABURI PROVINCE) อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ: สุขใจ รัตนยุวกร,วท.ด., อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: บัญชา นิลเกิด, วท.ม. 75 หน้า. 2550

งานวิจัยฉบับนี้เป็นการศึกษาถึงการพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และวงจรสืบพันธุ์ของหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรีโดยการเก็บตัวอย่างหอยกระปุกเดือนละ 30 ตัว ตั้งแต่เดือนกันยายน 2549 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 นำมาศึกษาเนื้อเยื่อโดยใช้วิธีทางพาราฟินเทคนิค การย้อมสี hematoxylin และ eosin แล้วนำมาวิเคราะห์ถึงพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์โดยดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อทราบถึงลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์และศึกษาถึงฤดูกาลสืบพันธุ์ในรอบปี พบว่าหอยกระปุกมีความยาวเปลือกเฉลี่ยสูงสุด3.40 ± 0.20 เซนติเมตร (n=360) และความกว้างเปลือกเฉลี่ยสูงสุด 2.95 ± 0.3 เซนติเมตร (n=360) พบหอยกระปุกเพศผู้ 181 ตัว (ร้อยละ 50) หอยกระปุกเพศเมีย 177 ตัว (ร้อยละ 49) หอยกระปุกเพศกะเทย 2 ตัว (ร้อยละ 1) หอยกระปุกมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ สเปอร์มาโทโกเนีย, สเปอร์มาโทไซต์, สเปอร์มาทิด และสเปอร์มาโทซัว การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ได้แก่ โอโอโกเนีย, โอโอไซต์ระยะแรก, โอโอไซต์ระยะสอง, โอโอไซต์ระยะสาม, โอโอไซต์ระยะสี่ และโอโอไซต์ระยะห้า ส่วนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะก่อนพัฒนาการ, ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนาการ, ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนาการ ,ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก, ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน และระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ ฤดูกาลวางเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกระปุกจะเกิดขึ้นในช่วงเดือนพฤษภาคม มิถุนายน และกรกฎาคม คิดเป็นร้อยละ 63, 33 และ40 ตามลำดับ

47330682 : MAJOR: MARINE TECHNOLOGY; B.Sc. (MARINE TECHNOLOGY)

KEYWORDS : CLAMS, *Gafrarium tumidum* (RODING, 1798), REPRODUCTIVE CYCLE

SOPON SUKSAWAT: REPRODUCTIVE CYCLE OF *Gafrarium tumidum* (RODING, 1798) AT KUNG KRABAEN BAY, CHANTHABURI PROVINCE.

SPECIAL PROBLEM ADVISOR: SUKJAI RATTANAYUVAKORN,Ph.D.

SPECIAL PROBLEM CO - ADVISOR: BUNCHA NILKERD, M.Sc. 75 PAGE. 2007.

Clams, *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) were collected from Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, from September 2006 to August 2007, and examined using histological analysis by paraffin technique in conjunction with hematoxylin and eosin staining for the study of gametogenesis, gonadal development and spawning cycle. Clams in this study had an average maximum shell length of 3.40 ± 0.20 cm (n=360) and average maximum shell width of 2.95 ± 0.3 cm (n=360). Spermatocyte was divided into four stages : spermatogonium, spermatocyte, spermatid and spermatozoa, whereas oogenesis was divided into 6 stages : oogonium, and oocytes stage 1 - 5, primary young oocyte, secondary young oocyte, previtellogenic oocyte, vitellogenic oocyte and matuer oocyte. The gonadal development cycle was classified into six stages : Prefollicular development, Initial development, Developing, Mature, Partially spawed and spent. There was peaks of spawning, in May (63%), June (33%) and July (40%), respectively.

สารบัญ

หน้า

ประกาศคุณูปการ..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

ขอบเขตของการศึกษา..... 2

สถานที่ทำการศึกษา..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา..... 4

ลักษณะทั่วไปของหอยสองฝา..... 4

การจัดลำดับอนุกรมวิธานของหอยกระปุก..... 5

ชีววิทยาทั่วไป..... 5

นิเวศวิทยา..... 10

การแพร่กระจาย..... 10

ประโยชน์..... 10

ชนิดที่นำมาบริโภค..... 10

ระบบสืบพันธุ์ในสองฝา..... 12

หอยสองฝาที่มีอวัยวะเพศผู้และเพศเมียแยกกัน..... 12

หอยสองฝาที่มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียอยู่ในลำตัวเดียวกัน..... 13

การสืบพันธุ์ของหอยกระปุก..... 13

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์..... 14

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogenesis)..... 14

ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ 15

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (oogenesis)	15
	ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย	17
	การปฏิสนธิในหอยสองฝา	17
	พฤติกรรมการสืบพันธุ์	17
	ปัจจัยควบคุมวงจรการสืบพันธุ์	18
	ฤดูกาลของเซลล์สืบพันธุ์	18
	ข้อมูลพื้นฐานของสถานที่ศึกษา	20
	ที่ตั้งและอาณาเขต	20
	ลักษณะภูมิประเทศ	21
	ลักษณะสภาพภูมิอากาศ	21
	ลักษณะของน้ำในอ่าวคุ้งกระเบน	21
	ลักษณะของดินในอ่าวคุ้งกระเบน	22
	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	23
3	อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	27
	อุปกรณ์การทดลอง	27
	สารเคมี	28
	วิธีการเก็บตัวอย่าง	28
	วิธีการศึกษา	29
	การเตรียมเนื้อเยื่อ	29
	การย้อมสี	31
4	ผลการวิจัย	32
	ลักษณะทั่วไปของหอยกระปุก	32
	ลักษณะภายนอก	32
	ลักษณะภายใน	33
	เพศและอัตราส่วนเพศ	33
	ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก	34
	ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์	34
	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์	37

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	37
	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย	38
	พัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก	47
	ขั้นตอนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยกระปุกเพศผู้	47
	ขั้นตอนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยกระปุกเพศเมีย	48
	ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยกระปุก	54
5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา		58
	สรุปผลการศึกษา	58
	อภิปรายผลการศึกษา	61
	ข้อเสนอแนะ	66
บรรณานุกรม		67
ภาคผนวก		72
ประวัติย่อของผู้วิจัย		75

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค 29

2 ขั้นตอนการย้อมสี hematoxylin และ eosin 31

3 ความยาวและความกว้างเฉลี่ย น้ำหนักของหอยกระปุกก่อนแกะเปลือกและหลังแกะเปลือก..... 32

4 เพศ และอัตราส่วนเพศของหอยกระปุก..... 33

5 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้ในระยะต่างๆ..... 40

6 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียในระยะต่างๆ..... 41

7 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศเมีย..... 50

8 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศผู้..... 50

9 ระยะพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก..... 55

10 ค่าความเค็ม อุณหภูมิ และpH ในอ่าวคุ้งกระเบน..... 56

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 รูปภาพตัดขวางลำตัวของหอยสองฝา 7

2 อวัยวะภายในของหอยสองฝา 7

3 ลักษณะกายวิภาคของหอยสองฝา *Mercenaria mercenaria*..... 8

4 รูปหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798)..... 8

5 ลักษณะเปลือกภายนอกของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี..... 9

6 ลักษณะเปลือกภายในของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี..... 9

7 ลักษณะที่อยู่อาศัยของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี..... 11

8 ชาวบ้านบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี หาหอยกระปุกเพื่อนำไปบริโภค..... 11

9 แผนที่แสดงพื้นที่บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัด จันทบุรี..... 20

10 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศผู้ที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์..... 35

11 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศเมียที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์..... 35

12 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศกระเทยที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์..... 36

13 เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะต่างๆ..... 42

14 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอโกเนีย..... 43

15 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะแรก..... 43

16 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสอง..... 44

17 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสาม..... 44

18 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสี่..... 45

19 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะห้า..... 45

20 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียในระยะต่างๆ..... 46

21 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศเมีย..... 52

22 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศผู้..... 53

23 ระยะต่างๆของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยกระปุกแต่ละเดือน 57

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ป่าชายเลนบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จ.จันทบุรี เป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งในด้านการป่าไม้ การประมง และสิ่งแวดล้อม เช่น ในด้านป่าไม้จากป่าชายเลน โดยเฉพาะไม้โกงกางสามารถนำมาทำฟืน เผาถ่าน ทำสิ่งก่อสร้าง เฟอร์นิเจอร์ และกลั่นเอาสารเคมีที่เป็นประโยชน์ เช่น แทนนิน แอลกอฮอล์ และกรดน้ำส้ม ในด้านการประมงป่าชายเลนเป็นแหล่งขยายพันธุ์ แหล่งอาหารอันอุดมสมบูรณ์ และเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์นานาชนิด เช่น กุ้ง อันได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย ปลา อันได้แก่ ปลากะพงขาว ปลาเก๋า ปลากระบอก และปลานวลจันทร์ทะเล และสัตว์น้ำประเภทหอยที่มีค่าทางเศรษฐกิจที่พบบริเวณป่าชายเลนและพื้นที่ใกล้เคียง เช่น บนที่ราบดินเลน ที่ราบดินทรายปนเลน ได้แก่ หอยนางรม หอยแมลงภู่ หอยแครง และหอยกะพง หอยหมู และหอยกระปุก ซึ่งเป็นหอยสองฝาที่ชาวบ้านในบริเวณนั้นจับมาขาย และนำมาบริโภคมากที่สุด

ในปัจจุบันนี้จำนวนของหอยสองฝาบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จ.จันทบุรี มีจำนวนน้อยลงมาก และมีราคาในตลาดค่อนข้างสูงขึ้น เนื่องจากการจับหอยสองฝามาบริโภคเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนมากยิ่งขึ้น รวมทั้งการนำเปลือกหอยไปใช้ประโยชน์ในด้านการค้า เช่น การทำเครื่องประดับ เครื่องตกแต่งบ้านเรือน และทำเป็นของที่ระลึก การทำประมงเกินกำลังการผลิต การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ป่าชายเลนเพื่อทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการทำนากุ้งกุลาดำ การทำเหมืองแร่ การขยายตัวของแหล่งชุมชน การสร้างท่าเทียบเรือ การขุดคลองร่องน้ำ และการตัดไม้เกินกำลังการผลิตของป่าเนื่องจากความต้องการถ่านและฟืนจำนวนมาก ซึ่งการทำลายป่าชายเลนนั้นจะส่งผลกระทบในหลายๆด้านได้แก่

1. ผลกระทบทางด้านกายภาพและเคมีภาพ (physiochemical properties) เช่น อุณหภูมิของน้ำ ปริมาณออกซิเจนน้ำ ธาตุอาหาร ความเค็ม สภาพทางอุทกวิทยา (การขึ้นลงของน้ำทะเลและปริมาณน้ำจืด) การตกตะกอนและน้ำขุ่นขึ้น ปริมาณสารพิษในน้ำ การพังทลายของดิน

2. ผลกระทบทางด้านชีวภาพ (biological properties) เช่น การเปลี่ยนแปลงชนิด ปริมาณและลักษณะโครงสร้างของพืชและสัตว์น้ำ

3. ผลกระทบต่อความสมดุลของระบบนิเวศ (ecological balance) เช่น การสืบพันธุ์ การวางไข่ การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงของลักษณะที่อยู่อาศัย การเปลี่ยนแปลงหลังการใช้อาหารที่เกิดในป่าชายเลนและระบบนิเวศประเภทอื่น บริเวณชายฝั่งและใกล้เคียงป่าชายเลน

หอยกระปุกหรือหอยแครงลิง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) และมีชื่อสามัญว่า Tumid Venus เป็นหอยสองฝาที่มีรูปร่างภายนอกกลมพอง เปลือกมีความกว้างตั้งแต่ 1.3 - 2.7 เซนติเมตร มีความยาวตั้งแต่1.5 - 2.7 เซนติเมตร และมีน้ำหนักตัวประมาณ 4.7 กรัม เป็นหอยที่มีขนาดกลางเปลือกหนาหนัก ลักษณะเปลือกมีสีน้ำตาลอ่อนปนเหลืองมีสันยาวยกนูนขึ้นเห็นชัดเจน สันตามขวางพาดจากด้านหน้าไปถึงด้านท้ายตัวทำให้เกิดลักษณะคล้ายปุ่มหรือปม สันบริเวณท้ายตัวมีขนาดเล็กกว่าด้านหน้าและพาดเฉียง เปลือกด้านในมีสีขาวขุ่นขอบเปลือกด้านในเรียบ พบได้ทั่วไปบริเวณพื้นทราย หรือฝังตัวในแนวหญ้าทะเล และโผล่บางส่วนขึ้นมาเหนือพื้นทะเล ฝังตัวอยู่ลึกประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร (กิตติสุดา วรเชษฐ์, 2544)

จากผลกระทบที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ทำให้เราต้องมีการศึกษาถึงวงจรการสืบพันธุ์ของหอยกระปุกบริเวณป่าชายเลนที่อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ซึ่งเป็นหอยสองฝาที่ประชาชนในบริเวณนั้นจับมาเพื่อบริโภคเป็นจำนวนมาก เลยทำให้เกิดการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วนั้น เพื่อที่ให้ทราบถึงวงจรการสืบพันธุ์ ช่วงฤดูของการพัฒนาวงจรการสืบพันธุ์ และฤดูกาลในการวางไข่ของหอยกระปุก เพื่อที่จะได้เป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุ์ของหอยกระปุก และสามารถที่จะผลักดันและส่งเสริมให้หอยกระปุกเป็นสัตว์เศรษฐกิจได้ในอนาคตสืบต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะชีววิทยาของเซลล์สืบพันธุ์และฤดูกาลสืบพันธุ์ในรอบปีของหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798)

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงการเจริญพันธุ์ในขั้นต่างๆ และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์หอยกระปุก
2. ทราบถึงช่วงเวลาที่หอยกระปุกพร้อมที่จะผสมพันธุ์
3. เป็นแนวทางในการอนุรักษ์และพัฒนาการเลี้ยงหอยกระปุกในเชิงพาณิชย์
4. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของผู้สนใจที่จะทำการศึกษาและวิจัยค้นคว้าต่อไป

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จ. จันทบุรี โดยเก็บเดือนละ 30 ตัว แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาเพื่อดูวงจรสืบพันธุ์ และการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งในเพศผู้และเพศเมียภายในระยะเวลา 1 ปี

1.5 สถานที่ทำการศึกษา

ทำการศึกษารวมถึงการวิเคราะห์ผลที่ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสารสนเทศจันทบุรี และห้องสรีรวิทยา สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของหอยสองฝา

หอยสองฝาจัดอยู่ใน Phylum Mollusca อยู่ใน Class Bivalvia หรือ Pelecypoda มีลักษณะสำคัญดังต่อไปนี้ (วันทนา อยู่สุข, 2528)

1. ลำตัวซีกขวาเหมือนกันและเท่ากัน
2. หัวเห็นไม่ชัดเจน
3. ไม่มีแผงฟัน (radura)
4. เหงือกมีขนาดใหญ่ใช้สำหรับหายใจและกรองอาหาร
5. มีแมนเทิลคลุมตัว
6. เปลือกมีฝา 2 ฝาทั้งสองยึดติดกันด้วยบานพับ
7. การผสมพันธุ์เป็นแบบภายนอกตัว (External Fertilization)
8. ระยะที่เป็นตัวอ่อนจะเป็นแพลงก์ตอน

หอยสองฝาที่จัดอยู่ใน Phylum Mollusca อยู่ใน Class Bivalvia มีลักษณะโดยทั่วไปที่เหมือนกันคือ

1. หัวและเท้า (head and foot) เป็นอวัยวะที่เจริญดีเห็นเด่นชัด และจะเชื่อมติดกัน ทำหน้าที่รับความรู้สึกและเคลื่อนที่เป็นหลัก ในหอยสองฝานั้น ส่วนหัวไม่เจริญ แต่ส่วนมากจะมีเท้าเป็นรูปลิ่ม มีกล้ามเนื้อที่แข็งแรง ซึ่งให้สามารถขุดทรายเพื่อช่วยในการฝังตัวได้อย่างรวดเร็ว เช่น หอยหลอด และหอยเสียบ

2. อวัยวะภายใน (visceral mass) อวัยวะภายในประกอบด้วย ระบบย่อยอาหาร ระบบหมุนเวียน ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์

3. แมนเทิลหรือพาเลียม (mantle, pallium) แมนเทิลเป็นแผ่นเยื่อที่เจริญจากผนังลำตัวทางด้านหลังของอวัยวะภายใน เป็นแผ่นเยื่อที่ห้อยลงมาด้านท้อง หอยสองฝามีเยื่อแมนเทิลสองแผ่นหุ้มอวัยวะภายในไว้ ช่องระหว่างเยื่อแมนเทิลกับอวัยวะภายในแมนเทิลมีเหงือก (gill) (บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์, 2547) ในกลุ่มหอยแครงและหอยมีกล้ามเนื้อยึดเปลือกฝาเพียงอันเดียว เช่น หอยนางรม หอยมุก ขอบของแผ่นแมนเทิลซ้ายขวาไม่เชื่อมติดกัน ช่องแมนเทิลเปิดออกติดกับภายนอกได้รอบตัว ในหอยบางกลุ่ม ขอบของแมนเทิลซ้ายขวาจะเชื่อมติดกันตอนท้ายของลำตัว ทำให้เกิดเป็นช่องน้ำเข้า (inhalant siphon) และช่องน้ำออก (exhalent siphon) ในพวกที่อาศัยฝังตัวอยู่ใต้พื้นหรืออยู่ในช่อง การเชื่อมติดกันของขอบแมนเทิลเกิดขึ้นเกือบรอบตัว เหลือช่องให้เท้ายื่นออก (pedal gape) ภายในช่องแมนเทิลมี เหงือก และเท้า (นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร, 2542)

2.2 การจัดลำดับอนุกรมวิธานของหอยกระปุก

จากการศึกษาของกิตติสุดา วรเชษฐ์ (2544) โดยนำตัวอย่างไปตรวจสอบอนุกรมวิธานที่สถาบันวิจัยชีววิทยา และประมง (Phuket marine Biological center) กรมการประมง จังหวัดภูเก็ต ตามรหัสตัวอย่าง PMBC 9460 โดยจำแนกชนิดควบคู่กับตำราที่เกี่ยวข้อง คือ สมนึก ใช้เทียมวงศ์ (2521), วัฒนา อยู่สุข (2537), สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ (2538) และBunjamine (1992)

Kingdom Animalia

Phylum Mollusca

Class Bivalvia

Order Veneridae

Family Veneridae

Genus *Gafrarium*

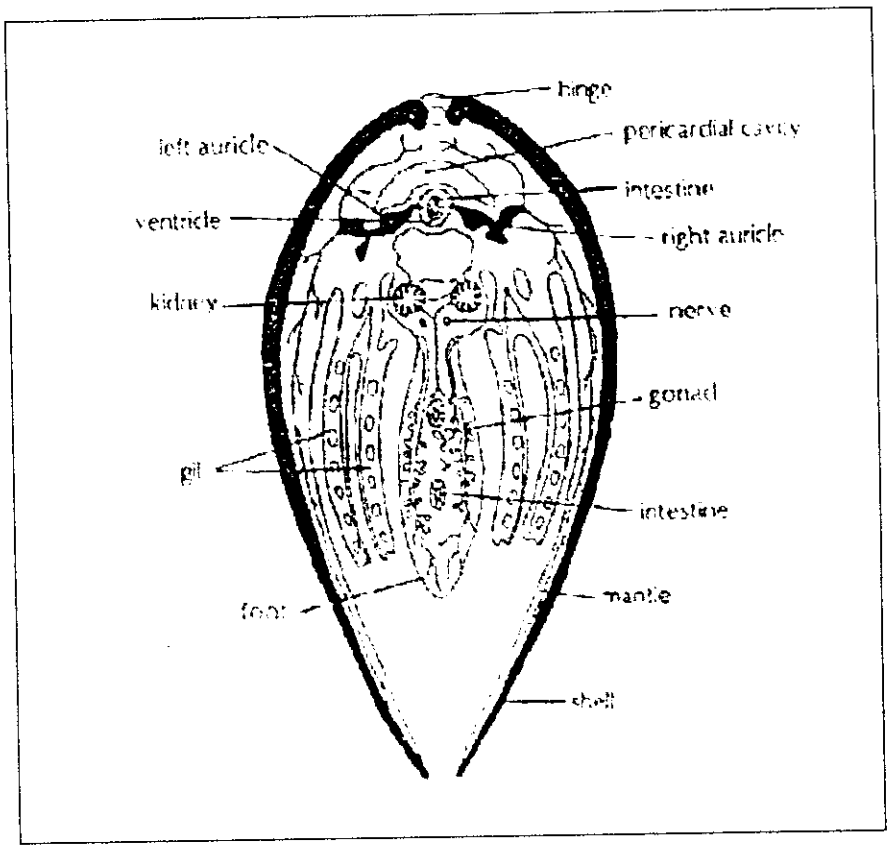
Species *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798)

หอยกระปุก (ภาพที่ 4) มีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษว่า Tumid Venus และมีชื่อภาษาไทยที่เรียกตามพื้นบ้านว่า หอยกระปุก (จันทบุรี) หอยเปลือกหนา หอยกลม (ระยอง) และหอยแครงลิง หอยลาย และหอยขาว (วราริน วงษ์พานิช และราตรี สุขสุวรรณ์, มปป)

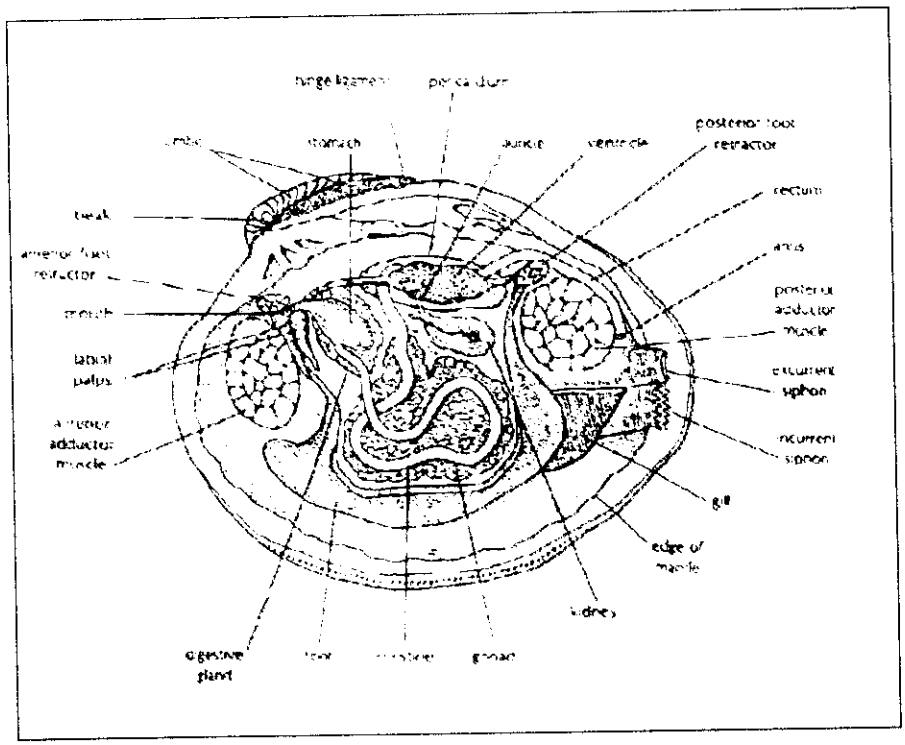
2.3 ชีววิทยาทั่วไป

หอยกระปุกจัดเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง อยู่ในไฟลัมมอลลัสกา (Phylum Mollusca) สัตว์ในไฟลัมนี้มักมีเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกายเพื่อป้องกันอันตราย และป้องกันสภาพแวดล้อมที่อาจเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิต ร่างกายทั่วไปแบ่งออกเป็น 4 ส่วนด้วยกันคือ ส่วนหัว (head) ส่วนเท้า (foot) ส่วนอวัยวะภายใน (visceral mass) และแมนเทิล (mantle) (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538) หอยกระปุกจะจัดอยู่ในคลาสไบวาลเวีย (Class Bivalvia) หอยในคลาสนี้จะมีเปลือกที่มีลักษณะเป็นสองชิ้นประกบกัน และยึดติดกันโดยฟันเปลือก (hinge teeth) ร่วมกับโครงสร้างลักษณะคล้ายเอ็นหรือหนังเรียกว่าลิกาเมนต์ (ligament) ที่อยู่ด้านบน (dorsal) ของเปลือก ลำตัวของหอยกระปุกมีตำแหน่งอยู่ระหว่างเปลือกทั้งสอง ไม่มีส่วนหัวที่เด่นชัด ไม่มีแฝงฟัน กินอาหารโดยการกรองโดยใช้เหงือกที่เรียกว่าเทนิเดียม (tenidium) และส่วนมากมักมีส่วนเท้าที่แข็งแรง หอยกระปุกถือว่า เป็นหอยสองฝาขนาดปานกลางรูปร่างภายนอกกลมพอง เปลือกหนา รูปทรงเป็นสามเหลี่ยมหรือรูปไข่ส่วนท้ายตัวโค้งและตัดตรงลงสู่ด้านล่างของ

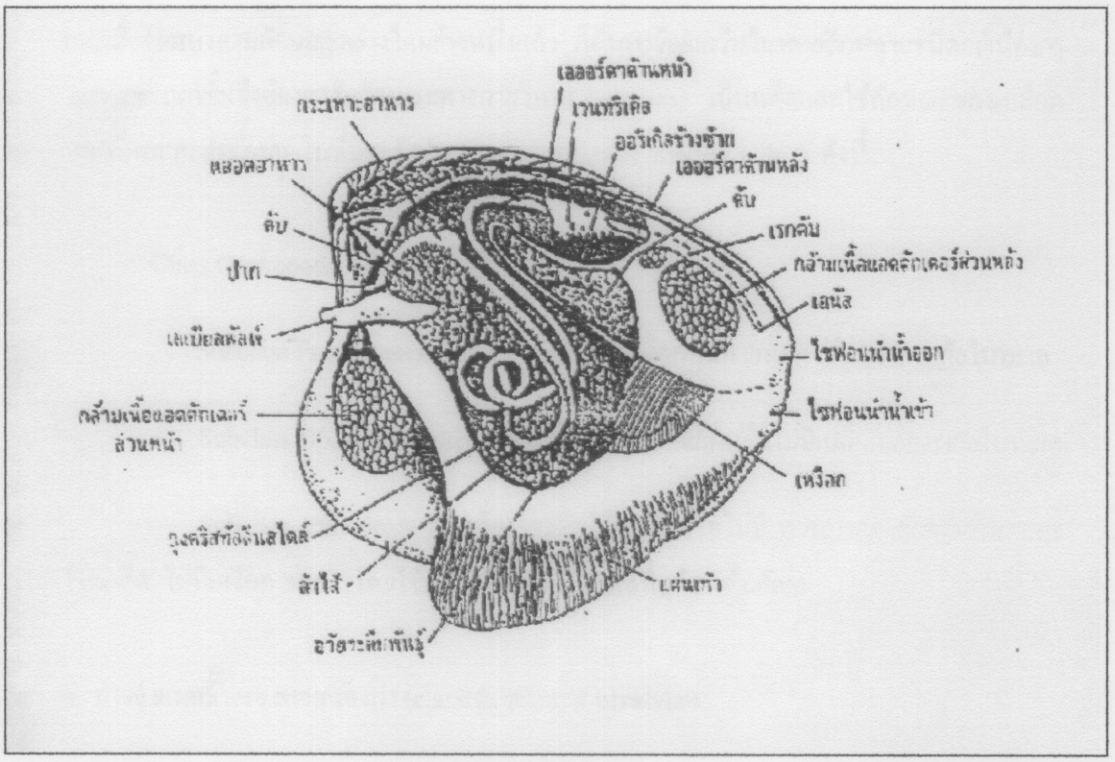
ตัว เปลือกด้านนอกเป็นสันมีลักษณะเป็นตุ่มเรียงตัวในแนวตั้ง หรือแยกออกเป็นสองทางในบางสัน สีเปลือกเป็นสีขาวขุ่น หรือมีแต้มสีน้ำตาลที่รอบๆอัมโบ ด้านในเปลือกมีสีขาวเป็นมันวาว หรืออาจมีแต้มสีม่วงอยู่ด้านใต้อัมโบ (วราริน วงษ์พานิช และราตรี สุขสุวรรณ์, มปป) เปลือกมีความกว้างตั้งแต่ 1.3 - 2.7 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.75 เซนติเมตร มีความยาวตั้งแต่ 1.5 - 2.7 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.1 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 4.7 กรัม ฝาหอยทั้งสองฝามีขนาดเท่ากัน ผิวภายนอก เป็นสีครีมถึงสีน้ำตาลอ่อน รอยสลักภายนอกเป็นแบบ nodulous radial rids ยกขึ้นเป็น secondary radial rids ปกคลุมอยู่บนเปลือกหอย ประมาณพื้นที่ 1 ใน 4 มี lunule และ ligament ที่เจริญดี บางครั้งเปลือกอาจมีตะไคร่น้ำมาเกาะมากจึงเห็นเป็นสีเขียว อาศัยอยู่บริเวณพื้นทราย เขตน้ำขึ้น - น้ำลง จนถึงระดับลึก 3 เมตร เขตป่าชายเลนที่เป็น ทรายปนโคลน ใกล้กับโคนต้นไม้ป่าชายเลน ส่วนใหญ่บริโภคกันในท้องถิ่น โดยชาวบ้านที่อาศัยอยู่ใกล้กับชายฝั่งจะออกไปเก็บรวบรวมหอยชนิดนี้ เพื่อบริโภคเฉพาะมื้อ (กิตติสุดา วรเชษฐ์, 2544)



ภาพที่ 1 ภาพตัดขวางลำตัวของหอยสองฝา (Pechenik, 1996)

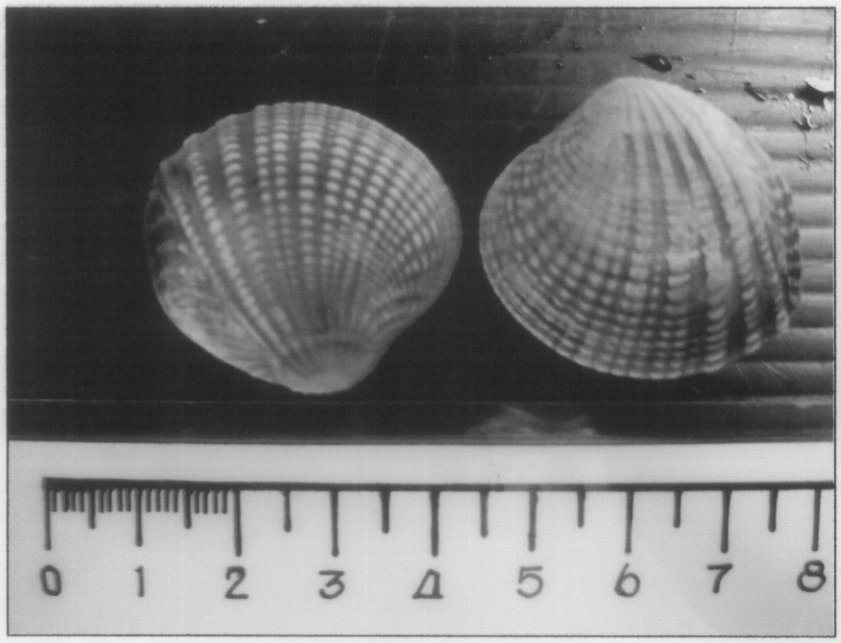


ภาพที่ 2 อวัยวะภายในของหอยสองฝา (Pechenik, 1996)

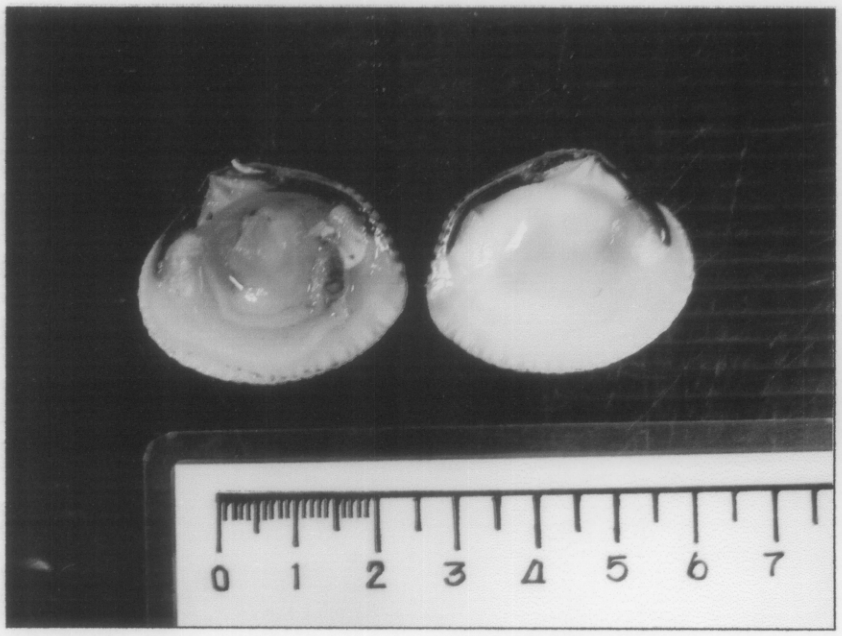


ภาพที่ 3 ลักษณะทางกายวิภาคของหอยสองฝา *Mercenaria mercenaria*
(สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

ภาพที่ 4 หอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798)



ภาพที่ 5 ลักษณะเปลือกภายนอกของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 6 ลักษณะเปลือกภายในของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

2.4 นิเวศวิทยา

หอยกระปุกเป็นหอยสองฝาที่อาศัยอยู่โดยลำพังในบริเวณพื้นเลนที่มีทรายปนอยู่มาก โดยไม่ยึดติดกับสิ่งใด อยู่ลึก ประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร หอยกระปุกสามารถเคลื่อนที่ได้โดยการเปิดเปลือกทั้งสองข้าง และใช้กล้ามเนื้อเท้าที่แข็งแรงในการขุดทรายเพื่อช่วยในการฝังตัว

2.5 การแพร่กระจาย

จังหวัดที่พบ จันทบุรี ตราด ชุมพร ปัตตานี นราธิวาส สงขลา

2.6 ประโยชน์

เนื้อหอยสามารถใช้เป็นอาหาร เปลือกหอยนำมาทำเป็นของที่ระลึก

2.7 ชนิดที่นำมาบริโภค

Gafrarium tumidum (Roding, 1798), *Gafrarium divaricatum* (Gmelin, 1791)

(วรารินวงษ์พานิช และราตรี สุขสุวรรณ์, มปป)

ภาพที่ 7 ลักษณะที่อยู่อาศัยของหอยกระปุกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

ภาพที่ 8 ชาวบ้านบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี หาหอยกระปุกเพื่อนำไปบริโภค

2.8 ระบบสืบพันธุ์ในหอยสองฝา

พบว่าหอยสองฝามีระบบสืบพันธุ์แบบเพศผู้และเพศเมียแยกกัน (สุชาติ และคณะ, 2538) หอยสองฝามี gonad 1 คู่ซึ่ง gonad เป็นอวัยวะที่ใช้เรียกทั้ง testies และ ovary ระหว่างฤดูผสมพันธุ์ gonad จะมีขนาดใหญ่และเห็นได้ชัด แต่ก็ยังไม่สามารถแยกเพศได้ชัดเจน เมื่อเข้าระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก พบว่า testies มีสีค่อนข้างขาว เยื่อผิวของโพรงในลำตัว (coelomic epithelium) มีขนาดใหญ่ พัฒนาเป็น spermatozoa โดย gonad มีท่อสั้นๆเป็นหลอดนำอสุจิ (vas deferens) ovaries มีสีแดงเรื่อ เยื่อบุผิวของโพรงในลำตัวพัฒนาเป็น ovary มีท่อเป็นท่อนำไข่ (oviduct) (Kotpal, 1979)

2.8.1 หอยสองฝาแบ่งตามระบบสืบพันธุ์ คือ

2.8.1.1.หอยสองฝาที่มีเพศผู้และเพศเมียแยกกัน (gonochoristic bivalve) ในหอยกลุ่มนี้ลักษณะทางกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ของหอยสองฝาทั้งเพศผู้และเพศเมียจะคล้ายคลึงกัน โดยมีอวัยวะสืบพันธุ์หนึ่งคู่อยู่ใกล้ๆกับตับ ซึ่งอวัยวะสืบพันธุ์ที่เป็นคู่นี้จะอยู่ชิดกันมากจนแยกไม่ออกในหอยสองฝาหลายๆชนิด ในหอยสองฝาส่วนใหญ่ อวัยวะสืบพันธุ์ที่เป็นนี้มักมีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน แต่ในหอยสองฝาบางสปีชีส์ อาจมีการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการ เหลืออวัยวะเพียงอันเดียว หรืออวัยวะสืบพันธุ์ข้างหนึ่งจะลีบเล็กลง เป็นต้น ท่อสืบพันธุ์มีขนาดสั้น เพราะอวัยวะสืบพันธุ์อยู่ใกล้กับรูเปิดของระบบสืบพันธุ์ (gonopore) ในหอยสองฝาชั้นสูงที่มีท่อสืบพันธุ์แยกออกมา ท่อสืบพันธุ์เป็นทางที่เซลล์สืบพันธุ์จะออกสู่ภายนอก พร้อมกับน้ำที่ไหลเวียนออกไปทางช่อง suprabranchial โดยมี 3 ทางแล้วแต่ชนิดของหอย คือ

1. จากอวัยวะสืบพันธุ์ไปสู่ไตและออกไปทางรูเปิดของไต (nephridiopore)
2. จากอวัยวะสืบพันธุ์ไปสู่ท่อยูรีเตอร์ (ureter) และออกไปทางรูเปิดออกไต
3. จากอวัยวะสืบพันธุ์ไปสู่รูเปิดของระบบสืบพันธุ์

ในหอยสองฝาเมื่อดูจากลักษณะภายนอกนั้นไม่สามารถแยกเพศได้ เพราะหอยเพศผู้และเพศเมียมีลักษณะเปลือกภายนอกที่เหมือนกันมาก แต่ก็มีหอยสองฝาบางสปีชีส์เท่านั้นที่สามารถแยกเพศได้โดยอาศัยลักษณะภายนอกและภายในบางลักษณะ เช่น ในหอยลาย บางสปีชีส์พบว่าหอยเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าหอยเพศผู้

2.8.1.2 หอยสองฝาที่มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียอยู่ในลำตัวเดียวกัน (Hermaphrodites bivalve) ในหอยกลุ่มนี้ระบบสืบพันธุ์ของหอยสองฝาที่มีสองเพศในตัวเดียวกันจะซับซ้อนมากกว่าระบบสืบพันธุ์ของหอยพวกแรกเล็กน้อย ระบบสืบพันธุ์ที่ซับซ้อนน้อยที่สุดประกอบด้วยอวัยวะสืบพันธุ์หนึ่งคู่ติดกันตรงกลางลำตัวและมีท่อสืบพันธุ์สั้นๆหนึ่งคู่ไปเปิดออกที่ไตหรือที่ช่อง suprabranchial ในหอยสองฝาชั้นสูงมักมีอวัยวะสืบพันธุ์ที่ประกอบด้วย อะซินัส (acinus) ซึ่งมีเซลล์สเปิร์มและไข่อยู่แยกกัน โดยส่วนหนึ่งของอวัยวะสืบพันธุ์ทำหน้าที่สร้างเสปิร์มและอีกส่วนหนึ่งทำหน้าที่เป็นรังไข่ สร้างไข่ โดยปกติแล้ว หอยสองฝาที่มีสองเพศในตัวเดียวกันมักไม่มีอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ สภาวะการมีสองเพศในตัวเดียวกัน แบ่งเป็น 4 ลักษณะดังนี้

1. สภาวะที่มีการผลิตสเปิร์มและไข่ในเวลาเดียวกัน โดยปกติแล้วหอยเหล่านี้จะเป็นเพศผู้ระยะสั้นๆแล้วจึงเป็นเพศเมีย
2. สภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงเพศเพียงครั้งเดียว คือ หอยที่ยังอ่อนอยู่เป็นเพศผู้ก่อนแต่เมื่อเจริญเต็มที่แล้วจึงเป็นเพศเมีย ดังนั้นจะมีช่วงที่เป็นสองเพศเพียงระยะสั้นๆ
3. สภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงเพศมากกว่าหนึ่งครั้ง คือ การเปลี่ยนเพศมากกว่าหนึ่งครั้ง
4. สภาวะที่มีการเปลี่ยนเพศสลับกัน คือ หอยที่เจริญเต็มที่จะมีเพศแยกกันและอาจมีหรือไม่มีการเปลี่ยนเพศในฤดูกาลของการสืบพันธุ์ (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

2.9 การสืบพันธุ์ของหอยกระปุก

ระบบสืบพันธุ์ของหอยสองฝา มีลักษณะคล้ายกับหอยสองฝาชนิดอื่นๆ พบว่าทั้งเพศผู้และเพศเมียมีอวัยวะสืบพันธุ์หนึ่งคู่ ซึ่งอวัยวะสืบพันธุ์ที่เป็นคู่นี้จะอยู่ชิดกันมากจนแยกไม่ออกในหอยสองฝาหลายๆชนิด และอวัยวะสืบพันธุ์จะอยู่ใกล้กับกระเพาะอาหาร ลำไส้ และตับ ส่วนใหญ่ท่อสืบพันธุ์จะเปิดออกสู่ช่องแมนเทิล ไปสู่รูเปิดของระบบสืบพันธุ์ (gonopore) ซึ่งจะอยู่ใกล้ๆกับรูเปิดของไต (nephridiopore) (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538) หอยกระปุกจัดเป็นหอยสองฝาที่การสืบพันธุ์เป็นแบบแยกเพศ (dioeceous) แต่ก็มีหอยสองฝาบางชนิดที่เป็นกะเทย เช่น เพรียง หอยมือเสือ เป็นต้น เมื่อหอยเจริญเติบโตเต็มที่ ก็จะสามารถวางไข่ได้ โดยเมื่อหอยกระปุกมีอวัยวะสืบพันธุ์สมบูรณ์ไข่หรือเสปิร์มที่สุกเต็มที่จะถูกปล่อยออกผ่านไปที่รูเปิดของระบบสืบพันธุ์และเกิดการปฏิสนธิภายนอกเรียกว่า external fertilization ลูกหอยที่เกิดขึ้นจะล่องลอยอยู่ในน้ำทะเลไปตามกระแสน้ำทะเลไปตามกระแสลมและคลื่นและถ้าหากไปตกบริเวณชายฝั่งที่เป็น โคลน หรือโคลน

ปนทรายละเอียดก็จะสามารถเจริญเติบโตและเคลื่อนที่หาอาหารในแหล่งที่มีความอุดมสมบูรณ์อีกครั้งหนึ่ง ก็จะสามารถสืบพันธุ์วางไข่ต่อไปได้

การสืบพันธุ์ของหอยสองฝาเมื่อเกิดการปฏิสนธิภายนอก (external fertilization) แล้วจะได้ไซโกต (zygote) ซึ่งจะเจริญไปเป็นตัวอ่อนที่ไม่มีเปลือก เรียกตัวอ่อนนี้ว่า โทรโคฟอร์ (trochophore) ตัวอ่อนของหอยระยะนี้ก็จะมีการพัฒนาอีกหลายขั้นตอนเป็นวีลิเจอร์ (veliger) ซึ่งตัวอ่อนของหอยระยะนี้ก็จะมีวีลัม (velum) ใช้ในการว่ายน้ำและกรองอาหารจากน้ำ จากนั้นจะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่เรียกว่า เพดิวีลิเจอร์ (pediveliger) เป็นระยะที่ยังว่ายน้ำและมีเท้าพร้อมที่จะลงเกาะและจมลงสู่พื้นทะเลเพื่อฝังตัวและเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยต่อไป (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544)

2.10 กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

2.10.1กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogenesis)

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ อธิบายได้จากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อ gonad ของ *Pinctada albina* พบว่าการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เริ่มต้นจาก (primary germ cell) มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ที่อยู่รอบผนังรอบฟอลลิเคิล จากนั้นพัฒนาเป็น spermatogonia ระยะนี้ ไซโทพลาซึมภายในเซลล์ลดลง จากนั้น spematogonia พัฒนาไปเป็น primary spermatocyte และ secondary spermatocyte ตามลำดับ ซึ่งระยะนี้มีการแบ่งเซลล์เร็วมาก ได้ spermatid และพัฒนาเป็น spermatozoa ซึ่งเกิดขึ้นในช่องว่างภายในฟอลลิเคิล เมื่อจำนวนของ spermatozoa เพิ่มมากขึ้น จำนวนเซลล์ในระยะต้นๆจะลดลง ในระยะ mature ภายในฟอลลิเคิลเต็มไปด้วย spermatozoa พบว่าลักษณะของ spematozoa ในหอยสองฝาที่ต่างสปีชีส์กันจะไม่แตกต่างกันนัก ขบวนการสร้างสเปิร์มเมื่อพัฒนาถึงระยะสุดท้าย gonad จะเข้าสู่ระยะ resting เพื่อเตรียมตัวสร้างเสปิร์มใหม่ (Giese and John, 1979)

จากงานวิจัยของศิริวรรณ แววสวัสดิ์, 2549 ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix casta* (Gmelin, 1791) จากบริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จังหวัดตราด พบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ตามขนาด รูปร่าง และลักษณะการติดสีของฮีมาท็อกไซลิน (hematoxylin) และอีโอซิน (eosin) ดังนี้

สเปอร์มาโทโกเนีย (spermatogonia) พบในเซลล์มีรูปร่างกลมขนาดเล็กอยู่บริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิล (follicular wall) มีขนาดประมาณ 3.52 ± 0.05 x 3.51 ± 0.07 ไมครอน (n=30) พบไซโทพลาซึม (cytoplasm)ใส ติดสีชมพูจากของอีโอซิน พบโครมาทิน (chromatin) ติดสีน้ำเงินของฮีมาท็อกไซลินอยู่แบบกระจายภายในนิวเคลียส (nuclear)

สเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte) เป็นเซลล์รูปร่างกลม อยู่ในตำแหน่งถัดจากเซลล์สเปอร์มาโทโกเนียเข้ามาในลูเมน มีขนาดเล็กประมาณ 3.13 ± 0.01 x 3.11 ± 0.04 ไมครอน (n=30) พบไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้มขึ้น โครมาทินติดสีน้ำเงินขึ้นอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นภายในนิวเคลียส

สเปอร์มาทิด (spermatid) พบเป็นเซลล์อยู่ถัดจากสเปอร์มาโทซัว มีขนาดเล็กประมาณ 2.53 ± 0.02 x 2.50 ± 0.02 ไมครอน (n=30) ภายในนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้มจัดอยู่ถัดจากสเปอร์มาโทไซต์เข้ามาในฟอลลิเคิล

สเปอร์มาโทซัว (spematozoa) พบเซลล์มีขนาดเล็กประมาณ 1.32 ± 0.01 x 1.29 ± 0.06 ไมครอน (n=30) มีหางเส้นเล็กๆติดสีชมพู เมื่ออยู่รวมกันมากจะเห็นเป็นแถบสีชมพู ส่วนหัวเป็นบริเวณนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้ม พบอยู่ถัดมาจากสเปอร์มาทิดเข้ามาสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลโดยหันหางเข้าหาศูนย์กลางฟอลลิเคิล

2.10.2 ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ หรือสเปิร์ม (sperm) มีลักษณะที่คล้ายกับสเปิร์มของสัตว์ทั่วๆไป คือ ประกอบด้วย ส่วนหัว ส่วนกลาง และส่วนหาง โดยส่วนหัวมีนิวเคลียสรูปร่างค่อนข้างยาว และมีอะโครโซม (acrosome) ซึ่งมีเอนไซม์ใช้ในการย่อยผนังของไข่ ส่วนกลางของสเปิร์มมีไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ส่วนหาง คือ แฟลกเจลลัม (flagellum)

นิวเคลียสของสเปิร์มมีรูปร่างได้หลายๆแบบแล้วแต่ชนิดของหอยสองฝา เช่น อาจเป็นรูปไข่ (ในหอย *Mytilus*) เป็นรูปกรวยสั้น (ในหอย *Lyrodus*) เป็นรูปกลม (ในหอย *Crassostrea*) เป็นรูปแท่งดินสอ (ในหอย *Corbicula*) หรือเป็นรูปโค้งยาวเรียวคล้ายเคียว (ในหอย *Tapes*) รูปร่างของนิวเคลียสนี้สามารถใช้เป็นลักษณะอย่างหนึ่งในการจำแนกหอยสองฝาได้ (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ , 2538)

2.10.3 กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (oogenesis)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝาเพศเมียจะเริ่มจากการแบ่งตัวแบบไมโทซิสของเซลล์สืบพันธุ์ (primary germ cell) ตามผนังฟอลลิเคิลให้โอโอโกเนีย (oogonia) ซึ่งจะแบ่งไมโอซิสให้โอโอไซต์ (oocyte) และจะเข้าสู่ระยะก่อนให้การกำเนิดไข่แดง (previtellogenic) ซึ่งจะมีการเพิ่มปริมาณนิวเคลียส (nucleus) และไซโทพลาซึม (cytoplasm) อย่างช้าๆและเมื่อถึงระยะที่มีการให้กำเนิดไข่แดง (vitellogenic) และพบว่าเริ่มมีการสะสมอาหารได้แก่ ไข่แดง (yolk) ไขมัน (lipid) และไกลโครเจน (glycogen) โอโอไซต์จะเริ่มเปลี่ยนแปลงรูปร่างด้วยการสะสมอาหารเหล่านี้และเคลื่อนที่จากผนังฟอลลิเคิลเข้าสู่ส่วนกลางของฟอลลิเคิล แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีบางส่วนที่ยังยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลโดยก้านบางๆ เมื่อได้ขนาดก็จะหลุดออกจากก้านเข้าสู่ลูเมนพร้อมที่จะ

ถูกขับออกสู่ภายนอก การแบ่งเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นเรื่อยๆและเซลล์ไข่จะมีการพัฒนาจนกระทั่งสมบูรณ์และพร้อมที่จะวางไข่และผสมพันธุ์ หอยที่วางไข่และปล่อยเชื้อตัวผู้หมดแล้ว ลักษณะถุงฟอลลิเคิลจะเริ่มมีการเปลี่ยนรูปร่างแตกต่างไปจากเดิม บางฟอลลิเคิลเริ่มฉีกขาดและเหี่ยวลง หลังจากนั้นจะมีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันขึ้นมาแทนที่ในถุงฟอลลิเคิล ระหว่างนั้นอวัยวะสืบพันธุ์จะเข้าสู่ระยะเตรียมพร้อม และเริ่มมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้ง (Eversole, 1989)

จากงานวิจัยของศิริวรรณ แววสวัสดิ์, 2549 ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix casta* (Gmelin, 1791) จากบริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จังหวัดตราด พบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ตามขนาด รูปร่างและลักษณะการติดสีของฮีมาท็อกไซลิน (hematoxylin) และอีโอซิน (eosin) ของบริเวณไซโทพลาซึม โครมาทินใน นิวเคลียส และ นิวคลีโอลัส ได้ดังนี้

โอโอโกเนีย (oogonia) มีลักษณะเป็นรูปยาวรีอยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิลเซลล์มีขนาดประมาณ 18.27 ± 1.55 x 4.53 ± 0.78 ไมครอน (n=30) มีนิวเคลียสรูปไข่ ขนาดใหญ่ ในนิวเคลียสพบยูโครมาทิน อยู่กระจายกันอย่างหนาแน่น ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจาง

โอโอโกไซต์ระยะแรก (primary young oocyte) มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม เซลล์มีขนาดประมาณ 18.87 ± 1.28 x 14.70 ± 0.84 ไมครอน (n=30) นิวเคลียส มีลักษณะกลมขนาดใหญ่ พบยูโครมาทินกระจายอยู่ทั่วไปอย่างหนาแน่น ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม

โอโอโกไซต์ระยะสอง (secondary young oocyte) บางเซลล์เริ่มมีก้านขนาดเล็กยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล เซลล์มีขนาดประมาณ 18.60 ± 1.10 x 17.37 ± 0.98 ไมครอน (n=30) นิวเคลียสขนาดใหญ่ ภายในพบยูโครมาทินกระจายอยู่ทั่วไปอย่างหนาแน่น ไซโทพลาซึมพบ yolk granule ติดสีน้ำเงินเข้ม

โอโอโกไซต์ระยะสาม (previtellogenic oocyte) เซลล์เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงมีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำมีก้านยาวยึดกับผนังฟอลลิเคิล เซลล์มีขนาดประมาณ 36.87 ± 2.83 x 22.77 ± 0.98 ไมครอน (n=30) นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ พบยูโครมาทินกระจายอยู่ทั่วไปอย่างหนาแน่นมากขึ้น ไซโทพลาซึมพบ yolk granule ขนาดใหญ่ติดสีน้ำเงินเข้มอยู่บ้าง และเริ่มพบแกรนูลติดสีชมพู

โอโอโกไซต์ระยะสี่ (vitellogenic oocyte) เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก โดยยังมีก้านยึดติดอยู่กับฟอลลิเคิล เซลล์มีขนาดประมาณ 41.17 ± 3.37 x 35.77 ± 1.50 ไมครอน (n=30) นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ พบเฮทเทอโรโครมาทิน (heterochormatin) บริเวณผนังนิวเคลียส ไซโทพลาซึมพบ yolk granule ขนาดเล็กติดสีชมพูกระจายอยู่ทั่วไป

โอโอโกไซต์ระยะห้า (mature oocyte) เซลล์มีรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม เซลล์มีขนาดประมาณ 45.23 ± 2.61 x 45.00 ± 2.15 ไมครอน (n=30) นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ พบเฮทเทโรโครมาทิน (heterochormatin) บริเวณผนังนิวเคลียส ไซโทพลาซึมพบ yolk granule ขนาดเล็กติดสีชมพูมากขึ้นกระจายอยู่เต็มไซโทพลาซึม

2.10.4 ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

ไข่ (egg) มักมีรูปร่างกลม พวกหอยสองฝาที่มีระยะตัวอ่อนเจริญอยู่ภายนอกมักมีไข่ขนาดเล็กส่วนหอยสองฝาที่มีระยะตัวอ่อนอยู่ภายในมักมีไข่ขนาดใหญ่ ไข่ของหอยสองฝาน้ำเค็มมีปริมาณไข่แดงมากถึงร้อยละ 30 ของปริมาตรไข่ทั้งหมด ไข่แดงมีแกรนูลสองชนิดคือ ชนิดที่เป็นโปรตีน และชนิดที่เป็นไขมัน หอยสองฝาที่มีไข่ขนาดเล็กมักจะผลิตไข่ได้จำนวนมาก อาศัยอยู่ในแถบน้ำตื้น เช่น หอยนางรมชนิดต่างๆ *Crassoatrea virginic, C.gigas* และ *Ostrea edulis* ส่วนหอยสองฝาที่มีไข่ขนาดใหญ่และมีระยะตัวอ่อนที่เจริญอยู่ภายในนั้นมักจะผลิตไข่เป็นจำนวนน้อย เช่น *nucula* สปีชีส์ที่อาศัยอยู่ชายฝั่งทะเล หรือ *Microgloma* ที่อาศัยอยู่ใต้ทะเลลึก (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

2.11 การปฏิสนธิในหอยสองฝามี 2 แบบ ได้แก่

การปฏิสนธิข้ามตัว (cross fertilization) หอยสองฝาส่วนใหญ่มีการปฏิสนธิข้ามตัวโดยหอยเพศผู้ปล่อยสเปิร์มและหอยเพศเมียปล่อยไข่ลงในน้ำเมื่อเกิดการปฏิสนธิแล้วได้ไซโกต (zygote) ซึ่งเจริญไปเป็นตัวอ่อนที่ไม่มีเปลือกเรียก ตัวอ่อนระยะนี้ว่า โทรโคฟอร์ (trochophore) จากนั้นพัฒนาต่อไปอีกหลายขั้นตอนเช่น วิลีเจอร์ (veliger) และเพดิวิลีเจอร์ (pediveliger) จนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวอ่อนที่พร้องลงเกาะ และจมลงสู่พื้นทะเลเพื่อฝังตัวเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

การปฏิสนธิภายในตัว (self fertilization) หอยสองฝาที่มีสองเพศอยู่ในตัวเดียวกันอาจมีการปฏิสนธิภายในตัว โดยการผสมสเปิร์มและไข่จากอวัยวะเดียวกัน เมื่อสเปิร์มและไข่ยังอยู่ภายในท่อสืบพันธุ์ โดยมากมักจะพบในหอยสองฝาที่มีท่อสืบพันธุ์ร่วมกัน

2.12 พฤติกรรมการสืบพันธุ์

หอยสองฝาส่วนใหญ่มักไม่พบพฤติกรรมการผสมพันธุ์ เนื่องจากหอยเหล่านี้ไม่มีอวัยวะที่ใช้ในการผสมพันธุ์ แต่ในหอยบางสปีชีส์ เช่น *Bankia gouldi* มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์โดยมีการจับเป็นคู่ ส่วนหอยแครงที่หอยเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าหอยเพศผู้ จะพบหอยแครงเพศผู้อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อแมนเติลของหอยเพศเมีย (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

2.13 ปัจจัยควบคุมวงจรการสืบพันธุ์

ปัจจัยภายนอก ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความลึกของน้ำ อิทธิพลจากดวงจันทร์ ความสมบูรณ์ของอาหาร และความหนาแน่นของประชากร ซึ่งอุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดต่อการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์และการหลั่งเซลล์สืบพันธุ์ ส่วนมากหอยสองฝาในเขตหนาวจะหลั่งเซลล์สืบพันธุ์เพียงปีละครั้ง ในเขตอบอุ่นปีละสองครั้งและในเขตร้อนอาจจะหลั่งเซลล์สืบพันธุ์ได้ตลอดปี อิทธิพลของอุณหภูมิและความลึกของน้ำมักมีผลต่อการวางไข่และขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์ การสืบพันธุ์ด้วย การเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์หรือ การผลิตเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อหอยได้รับอาหารที่สมบูรณ์ อัตราการสืบพันธุ์ของหอยสองฝาขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของหอยด้วย ปรสิตภายใน (endoparasite) มักทำให้หอยเป็นหมันหรือมีผลหยุดยั้งการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอย รวมถึงปัจจัยอื่นๆเช่น อิทธิพลจาก ดวงจันทร์ การลดความเค็มของน้ำก็เป็นปัจจัยกระตุ้นให้หอยนางรมวางไข่ได้ หรือแม้แต่การใส่เซลล์สืบพันธุ์เพศตรงกันข้ามของหอยเข้าไปในน้ำ ก็มีผลกระตุ้นการวางไข่ในหอยสองฝา หลายสปีชีส์ เช่น หอยนางรม หอยลาย เป็นต้น

ปัจจัยภายใน ที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ได้แก่ ฮอร์โมน อย่างเช่น หอยนางรมมีฮอร์โมนไดแอนทลิน (diantlin) ทำหน้าที่กระตุ้นการหลั่งไข่ ชั้นวุ้นที่หุ้มไข่ของหอยนางรมและหอยเชลล์มีฮอร์โมนแกโมน (gamone G II) หรือ เฟอร์ทิไลซิน (fertilizin) ซึ่งทำให้เกิดการตกของเสปิร์ม นอกจากนี้ การวางไข่ของหอยสองฝา ยังอยู่ภายใต้การควบคุมของเซลล์ neurosecretory เช่น หอยแมลงภู่ และหอยนางรม เซลล์ cerebral ganglion มีส่วนในการยับยั้งการตอบสนองต่อปัจจัยที่ทำให้เกิดการวางไข่ ฮอร์โมนมีส่วนสำคัญในการหลั่งเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝาด้วย สเปิร์มของหอยนางรมมีฮอร์โมน diantlin ทำหน้าที่กระตุ้นการหลั่งไข่ สารบางอย่างในเนื้อเยื่อ testies สามารถกระตุ้นการหลั่งไข่และสเปิร์มในหอยแมลงภู่เพศเมีย และหอย *Tridacna* เพศผู้ตามลำดับ (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

2.14 ฤดูกาลของเซลล์สืบพันธุ์

หอยสองฝาส่วนใหญ่ โดยเฉพาะพวกที่อาศัยอยู่ในทะเลลึกและหอยสองฝาน้ำจืดในแฟมิลียูนิโอนาเซีย มีการสืบพันธุ์ปีละครั้ง โดยมีการผสมพันธุ์ในฤดูใบไม้ผลิ ส่วนหอยสองฝาที่อยู่ในเขตอบอุ่นมีการผสมปีละครั้ง คือ ระหว่างฤดูร้อนหรือฤดูใบไม้ผลิ ส่วนหอยสองฝาในเขตร้อนอาจมีการผสมพันธุ์ได้สองครั้งและบางสปีชีส์ก็เกือบทั้งปี (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2538)

Baron. J (1992) ได้ศึกษาถึงวงจรการสืบพันธุ์ของหอย *Gafrarium tumidum* ในระยะเวลา1ปีที่ New Caledonia และสามารถแบ่งระยะของเซลล์สืบพันธุ์ออกเป็น 4 ระยะ คือ 1 ระยะยังไม่มีการพัฒนาจะเกิดขึ้นเป็น 2 ช่วง คือเดือนกรกฎาคมจนถึงเดือนกันยายนและเดือนเมษายนจนถึงเดือนพฤษภาคม 2 ระยะกำลังพัฒนาเกิดขึ้นในเดือนกรกฎาคม และสิงหาคม 3 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก เกิดขึ้นในช่วง เดือนสิงหาคม จนถึงเดือนมีนาคม และระยะที่ 4 ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ เกิดขึ้นในช่วงเดือน เมษายนจนถึงเดือนมิถุนายน

จิโรจน์ พีระเกรียรติขจร และวัฒนา วัฒนากุล (2543) ศึกษาฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยตะเภา จังหวัดตรัง พบฤดูกาลวางเซลล์สืบพันธุ์ 2 ช่วง คือเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน และเดือนธันวาคม ถึงเดือนเมษายน วรรณภา กสิฤกษ์ (2543) ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix meretrix* จากบริเวณหาดบางแสน พบว่าช่วงเวลาการวางเซลล์สืบพันธุ์ของหอยตลับมีสองช่วง คือเดือนพฤษภาคม และเดือนกันยายน Metzner et al. (2006) ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยเสียบ (*Donax hanleyanus*) จากประเทศอาร์เจนตินาพบว่าช่วงที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ (active) เดือน พฤศจิกายนถึงเดือนมีนาคม และช่วงที่ไม่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ (inactive) เดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม Gil and Thome (2004) ศึกษาหอยเสียบ (*D.hanleyanus*) หาด Arroio Teixeira ทางใต้ของบราซิล พบสองช่วงที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ คือช่วงฤดูหนาว และฤดูร้อน ซึ่งพบว่าอุณหภูมิน้ำเป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์สืบพันธุ์เพิ่มและวางเซลล์สืบพันธุ์

2.15 ข้อมูลพื้นฐานของสถานที่ศึกษา

ภาพที่ 9 แผนที่แสดงพื้นที่บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัด จันทบุรี

ที่มา : ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2541

2.15.1 ที่ตั้งและอาณาเขต

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (2541) รายงานว่า โครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตั้งอยู่ในบริเวณเขตชายฝั่งทะเลทางภาคตะวันออกของประเทศไทย (ทิศตะวันออกเฉียงเหนือของอ่าวไทย) ครอบคลุมพื้นที่บางส่วนของอำเภอท่าใหม่ ตำบลคลองขุด และกิ่งอำเภอนายายอาม คือตำบลสนามไชยเขต อยู่ห่างจากอำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ไปทางทิศตะวันตกประมาณ 30 กิโลเมตร และห่างจากกรุงเทพฯ ไปทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ประมาณ 230 กิโลเมตร โดยมีอาณาเขตติดต่อพื้นที่รอบข้างดังนี้

ทิศเหนือ	จดเขาใหญ่ เขาปากโกรก บ้านหนองน้ำเค็ม
ทิศใต้	จดอ่าวไทยที่เขาเจ้าหลาว และแหลมท้ายร้านดอกไม้
ทิศตะวันออก	จดทิวเขาใหญ่ เขามือเล็ก เขาท่าศาลา เขาเตาหม้อ เขาร้อยรู้ เขาตาเกิด เขาหมูดุด เขาอัมพวา
ทิศตะวันตก	จดอ่าวไทยที่เขาคุ้งกระเบน แหลมหินคัน และแหลมน้อยหน่า

2.15.2 ลักษณะภูมิประเทศ

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน (2538) รายงานว่า เป็นพื้นที่ลุ่มขนาดเล็กมีลักษณะเป็นรูปทรงลิ่มแคบๆส่วนกลางของอ่าวมีพื้นที่ ประมาณ 4,000 ไร่ รูปทรงไต ปากอ่าวกว้างประมาณ 650 เมตร กว้าง ประมาณ 2.6 กิโลเมตร ยาว 4.6 กิโลเมตร ลึกสูงสุด 8 เมตร มีคลองสั้นๆ ไหลลงอ่าว 7 คลองรอบอ่าวมีป่าชายเลนขึ้นค่อนข้างสมบูรณ์ โค้งไปตามขอบอ่าว ยาวประมาณ 5 กิโลเมตร ความกว้างของแนวป่าโดยเฉลี่ย ประมาณ 30 - 200 เมตร ถัดขึ้นไปเป็นพื้นที่เพาะเลี้ยงกุ้งของราษฎรในโครงการถัดจากบ่อกุ้งเป็นนาข้าว และถัดจากนาข้าวเป็นเนินสูงขึ้นไปจนถึงภูเขา มีการทำสวนยางและสวนผลไม้ อยู่ตามเชิงเขาทั่วไป

2.15.3 ลักษณะสภาพภูมิอากาศ

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (2541) สามารถแบ่งอากาศออกเป็น 3 ฤดูดังนี้

ฤดูฝน เริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคมเป็นระยะเวลาประมาณ 6 เดือน โดยมีฝนตกเฉลี่ยรายเดือนมากกว่า 250 มิลลิเมตร โดยเฉลี่ยตกมากที่สุดในเดือนมิถุนายนประมาณ 512.6 มิลลิเมตร อุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงฤดูฝนอยู่ในช่วง 26.6 - 27.7 องศาเซลเซียส

ฤดูหนาว เริ่มตั้งแต่เดือน พฤศจิกายนถึงต้นเดือนกุมภาพันธ์เป็นระยะเวลา 3 เดือน เดือนมกราคมเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิต่ำที่สุด ประมาณ 24.5 องศาเซลเซียสและมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยน้อยที่สุด 122 มิลลิเมตร

ฤดูร้อน เริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงต้นเดือนพฤษภาคม เดือนเมษายนมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดถึง 28.0 องศาเซลเซียสและมีฝนตกเฉลี่ย 111.1 มิลลิเมตร

2.15.4 ลักษณะของน้ำในอ่าวคุ้งกระเบน

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (2541) รายงานว่า ลักษณะการขึ้นลงของน้ำทะเลในอ่าวคุ้งกระเบนเป็นแบบน้ำเดี่ยว (regular diurnal tide) กล่าวคือ มีการขึ้นลงวันละครั้งเดียว ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนมีนาคม น้ำทะเลจะขึ้นในช่วงเวลากลางคืนและจะลงในช่วงเวลากลางวัน ค่าเฉลี่ยน้ำขึ้นสูงสุดมีค่า 0.55 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง โดยมีค่าช่วงน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุดที่ระดับ 0.77 เมตร ต่ำกว่าน้ำทะเลปานกลาง โดยมีค่าช่วงน้ำขึ้นน้ำลงเฉลี่ย (mean tidal range) 1.22 มิลลิเมตร

2.15.5 ลักษณะของดินในอ่าวคุ้งกระเบน

ลักษณะของดินในป่าชายเลนที่หอยอาศัยอยู่ ส่วนมากจัดเป็นดินโคลนปนทราย เล็กน้อย มีการระบายน้ำของดินค่อนข้างต่ำ ทำให้ค่าออกซิเจนในดินมีค่าต่ำ บางส่วนเกิดจากการทับถมของตะกอนสารแขวนลอยที่ถูกพัดพาลงมาตามลำคลองสายสั้นๆ ที่อยู่รอบอ่าว ลักษณะดินสามารถจำแนกออกได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มดินที่เกิดใหม่ตามแนวชายฝั่งที่มักเรียกว่า หาดเลนมีเนื้อดินเป็นดินเลนปนทราย มีปริมาณอินทรียวัตถุสะสมอยู่น้อย และจะมีปริมาณของฟอสฟอรัสค่อนข้างสูง อีกกลุ่มหนึ่งเป็นดินอินทรีย์ ซึ่งอยู่ลึกเข้าไปในเขตป่าชายเลนเนื้อดินจะมีปริมาณของดินเหนียวอยู่มาก มีการสะสมอยู่ของสารอินทรีย์ที่เกิดจากการสลายตัวของซากพืชและซากสัตว์ ในป่าชายเลนค่อนข้างมาก นอกจากนี้ ยังพบอินทรีย์วัตถุ ที่ฝังตัวหรือสลายตัวไม่สมบูรณ์สะสมอยู่ด้วย (ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนฯ, 2538)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

2.16 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

มีการศึกษาการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยสองฝา ด้วยกรรมวิธีทางไมโครเทคนิคจากพื้นที่ต่างๆเพื่อให้ทราบถึงฤดูกาลที่เซลล์สืบพันธุ์แก่และพร้อมที่จะผสมพันธุ์ในช่วงเวลาต่างๆผู้ที่ทำการศึกษา ได้แก่

Baron. J (1992) ศึกษาถึงวงจรการสืบพันธุ์ของหอย *Gafrarium tumidum* ในระยะเวลา1ปีที่ New Caledonia และสามารถแบ่งระยะของเซลล์สืบพันธุ์ออกเป็น 4 ระยะ คือ 1 ระยะยังไม่มีการพัฒนาจะเกิดขึ้นเป็น 2 ช่วง คือเดือนกรกฎาคมจนถึงเดือนกันยายนและเดือนเมษายนจนถึงเดือนพฤษภาคม 2 ระยะกำลังพัฒนาเกิดขึ้นในเดือนกรกฎาคม และเดือนสิงหาคม 3 ระยะ เซลล์สืบพันธุ์สุก เกิดขึ้นในช่วง เดือนสิงหาคม จนถึงเดือนมีนาคม และระยะที่ 4ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ เกิดขึ้นในช่วงเดือน เมษายนจนถึงเดือนมิถุนายน

Goggin (1994) ศึกษาการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอย *Trichomya hirsute* โดยเก็บตัวอย่างทั้งเพศผู้และเพศเมียรวมกันครั้งละ 20 ตัวทุกๆ 4 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 เดือน จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ โดยการแบ่งการพัฒนาเป็น 6 ระยะ ดังนี้ ระยะ resting หรือ indeterminate เป็นระยะที่ยังแยกเพศได้ยาก ไม่ชัดเจน ระยะ early development เป็นระยะที่เริ่มมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ระยะ secondary development เซลล์สืบพันธุ์มีการพัฒนาขึ้นและมีจำนวนมากยิ่งขึ้น ระยะ ripe อวัยวะสืบพันธุ์พบเซลล์สืบพันธุ์เจริญเต็มที่ มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์ลดลงไปมาก ระยะ spawning เป็นระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ระยะ regression เป็นระยะที่มีเซลล์สืบพันธุ์เหลืออยู่เล็กน้อย และเริ่มมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ขึ้นใหม่

Jasim and Brand (1989) ทำการศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของ *Modiolus modiolus* โดยการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือน จากเดือนเมษายน 1982 ถึงเดือนมีนาคม 1984 การศึกษาวงสืบพันธุ์ ศึกษาในระยะเวลา 2 ปีโดยการแยกระยะศึกษานั้นศึกษาทั้งลักษณะภายนอกและลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ สำหรับการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคสามารถแบ่งระยะการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ได้ 6 ระยะ ได้แก่ ระยะ immature อวัยวะสืบพันธุ์มีรายละเอียดภายในเล็กน้อยมีกลุ่มของ primordial germ cells อยู่ภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่สานกันหลวมๆ ระยะ early recovering ระยะนี้มี follicles ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ระยะ late recovering เป็นระยะ foricles เริ่มรวมกลุ่มกันหนาขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีน้อยลง ระยะ Full หรือ ripe เนื้อเยื่อเกี่ยวพันหายไปหมด และ follicles ขยายมากขึ้น ระยะนี้เซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียและเพศผู้เจริญเต็มที่ ระยะ partially spent ระหว่าง follicles เริ่มมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดขึ้นโดยเฉพาะในอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศเมียระยะนี้มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และระยะ Spent อวัยวะสืบพันธุ์ พบ follicles เล็กๆและมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจำนวนมาก

1652

จากการศึกษาพบว่า มีระยะ immature, spent, early recovering และlate recovering จำนวนน้อย ส่วนระยะ partially spent พบมากในเดือนพฤศจิกายนและเดือนธันวาคม และระยะ full พบสูงสุดในช่วงฤดูร้อนและพบต่ำที่สุดในช่วงฤดูหนาว

สุนันท์ ทวยเจริญ และเอกลักษณ์ (2529) ทำการศึกษาการเจริญของเซลล์อวัยวะเพศในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) โดยเก็บตัวอย่าง 100 ตัวต่อเดือน เป็นเวลา 16 เดือน นำมาศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะเพศ สามารถแบ่งขั้นตอนการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ได้เป็น 6 ระยะ คือ ระยะ prefollicular development เป็นระยะเริ่มต้น พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสานกัน มีเซลล์ขนาดเล็กเป็นจุดเข้มบนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ระยะ initial development กลุ่มเซลล์ซึ่งยึดติดสีเข้มของ hematoxylin แบ่งตัวให้เซลล์สืบพันธุ์ใหม่เพิ่มมากขึ้น ผนังของ follicles เริ่มขยายกว้างขึ้น สามารถแยกเพศได้ชัดเจน ระยะ Development พบเซลล์สืบพันธุ์มากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น ระยะ mature เป็นระยะที่เซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะพร้อมจะผสมพันธุ์ ระยะ partially เซลล์สืบพันธุ์ถูกปล่อยออกไปจาก follicles และระยะ spent เป็นระยะที่เซลล์สืบพันธุ์ถูกปล่อยออกไปจาก follicles ไปหมด ทำให้ follicles ว่างเปล่า หรืออาจหลงเหลือเซลล์สืบพันธุ์อยู่บ้าง

จากการศึกษาพบว่า หอยมีเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะ mature พบมากในช่วงระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม,เดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ส่วนช่วงฤดูกาลวางเซลล์สืบพันธุ์พบ 2 ช่วงเช่นกัน คือ ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม และเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์

สุนันท์ ทวยเจริญ และประนอม พรมผาย (2534) ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix meretrix* บริเวณปลายแหลมกลัด จังหวัดตราด พบว่า หอยตลับมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตลอดทั้งปี โดยจะเริ่มสร้างเซลล์สืบพันธุ์ประมาณเดือนกุมภาพันธ์และในเดือนสิงหาคมเป็นเดือนที่หอยตลับวางไข่ และเชื้อตัวผู้หมดแล้ว และเริ่มมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นอีกในเดือนกันยายน ในช่วงเวลา 1 ปี หอยตลับจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ถึง 2 ครั้งด้วยกันคือ ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือน สิงหาคมกับเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ดังนั้นหอยตลับจะมีช่วงการวางไข่และเชื้อตัวผู้ถึง 2 ช่วงด้วยกัน ระยะเวลาจากการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ระยะ prefollicular deyelopment) จนถึงระยะที่ไข่และเชื้อตัวผู้ถูกวางไข่หมดแล้ว (ระยะ spent) จะใช้เวลาประมาณ 5 - 6 เดือน แล้วอวัยวะสืบพันธุ์จะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่มาอีกครั้งหนึ่ง

สุนันท์ ทวยเจริญ (2526) ศึกษาพัฒนาการของอวัยวะเพศและความสุกของไข่หอยแครง *Anadara granosa* (Linnaeus, 1758) ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม 2529 อวัยวะเพศของหอยมีความสมบูรณ์พร้อมที่จะสืบพันธุ์ ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม ซึ่งจะพบมากในเดือนกุมภาพันธ์ ประมาณ 54 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่วงระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม

เป็นช่วงที่หอยแครงกำลังวางเซลล์สืบพันธุ์ พบสูงถึง 54 เปอร์เซ็นต์ ในเดือนมีนาคม ส่วนในการศึกษาของ ถาวร ธรรมเศวต และคณะ (2530) ศึกษาพัฒนาการของอวัยวะเพศของหอยแครง *Anadara granosa* ที่อ่าวสวี จังหวัดชุมพร ปี 2527 พบว่าหอยแครงวางไข่ทุกเดือนตลอดช่วงที่ทำการศึกษา (มกราคม – สิงหาคม 2527) และพบมากในเดือนกรกฎาคม

สุนันท์ ทวยเจริญ (2530) ศึกษาฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยลาย *Paphia undulate* (Born, 1778) ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าหอยลายเริ่มมีการพัฒนาการของอวัยวะเพศ พบตั้งแต่ความยาว 28.1 มิลลิเมตร ความสูง 16.2 มิลลิเมตร ความกว้าง 9.1 มิลลิเมตร ขึ้นไป และหอยลายจะมีช่วงการวางเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงแรกระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม กับช่วงที่สองซึ่งคาดว่ามีการวางระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม

สุนันท์ ทวยเจริญ และคณะ (2532) ศึกษาฤดูเปลี่ยนแปลงของอวัยวะเพศและการพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยตะพง *Arcuatula arcuatula* (Hanley, 1843) ที่บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดชลบุรี ในระหว่างเดือนมีนาคม 2526 ถึงเดือนกันยายน 2527 พบว่าหอยตะพงมีฤดูกาลเปลี่ยนแปลงของอวัยวะเพศเกิดขึ้นถึง 2 ช่วงในรอบ 1 ปี ช่วงแรกระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนสิงหาคม ในช่วงที่สองระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ระยะสมบูรณ์เพศพบมากในเดือนกรกฎาคมและเดือนธันวาคม ส่วนฤดูที่หอยตะพงวางเซลล์สืบพันธุ์เพื่อการผสมพันธุ์พบระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม และเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม

รัชฎา ขาวหนูนา (2537) ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยตะโกรม *Crassostrea belcheri* (Sowerby, 1762) ในอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นระยะเวลา 1 ปี ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม 2535 พบว่าหอยตะโกรมสามารถสืบพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี ช่วงเวลาที่หอยปล่อยเซลล์สืบพันธุ์มากมี 2 ช่วง ช่วงแรกระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมิถุนายนและช่วงที่สองระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน

จารุนันท์ ประทุมยศ และคณะ (2539) ศึกษาพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยนางรม *Saccostrea cucullata* (Born, 1778) บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี พบว่าหอยนางรมมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม และมีความสมบูรณ์เพศมากที่สุดในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายน หลังจากนั้นความสมบูรณ์เพศจะลดลงและเริ่มพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่

วรรณภา กสิกฤษ์ (2543) กล่าวว่าหอยตลับ *Meretrix meretrix* ที่มีขนาดเล็กกว่า 2.85 เซนติเมตร ไม่มีการเจริญของเซลล์อวัยวะสืบพันธุ์เกิดขึ้น และจากการศึกษาหอยตลับ จำนวน 120 ตัว พบเพศผู้ 45 ตัว (ร้อยละ 37.50) เพศเมีย 52 ตัว (ร้อยละ 43.33) ไม่สามารถแยกเพศได้ 23 ตัว (ร้อยละ 19.17)

วิราวรรณ มีแจ้ง (2543) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยหมู บริเวณบ้านบางโป่ง จ.ชลบุรี พบว่าหอยหมูมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ไม่เป็นฤดูกาล มีการสร้างและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ที่เจริญเต็มที่ตลอดทั้งปี โดยแต่ละเดือนพบเซลล์สืบพันธุ์หลายๆระยะ หอยหมูเพศผู้และเพศเมียมีการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ค่อนข้างเหมือนกัน

ศิริวรรณ แววสวัสดิ์ (2549) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด พบว่าหอยตลับมีการวางเซลล์สืบพันธุ์แบ่งออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ช่วงเดือนพฤษภาคมและเดือนกันยายน หลังจากนั้นความสมบูรณ์เพศจะลดลงและเริ่มพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ใหม่

สุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครงพบว่า หอยแครงสามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียออกเป็น 6 ระยะคือ ระยะโอโอโกเนีย 1 ระยะ และโอโอไซต์ 5 ระยะ หอยแครงสามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ออกเป็น 4 ระยะ คือ สเปอร์มาโทโกเนีย สเปอร์มาโทไซต์ สเปอร์มาทิด และสเปอร์มาโทซัว และสามารถแบ่งระยะการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เป็น 5 ระยะ คือ ระยะเริ่มพัฒนาการ ระยะกำลังพัฒนาการ ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วนและ ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์

สุขใจ รัตนยุวกร และคณะ (2550) ศึกษาชีววิทยาบางประการและฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว *Meretrix casta* (Gmelin, 1791) บริเวณชายฝั่งทะเลแหลมกลัด จังหวัดตราด แล้วพบว่าสามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียออกเป็น 6 ระยะคือ ระยะโอโอโกเนีย 1 ระยะ และโอโอไซต์ 5 ระยะ สามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ออกเป็น 4 ระยะ คือ สเปอร์มาโทโกเนีย สเปอร์มาโทไซต์ สเปอร์มาทิด และสเปอร์มาโทซัว และสามารถแบ่งระยะการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เป็น 6 ระยะ คือ ระยะก่อนการพัฒนา ระยะเริ่มพัฒนาการ ระยะกำลังพัฒนาการ ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน และระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

1) ถุงสำหรับเก็บตัวอย่าง
2) กระปุกเก็บตัวอย่าง
3) เครื่องวัดความเค็ม (hand Refracto mater)
4) เครื่องวัด DO (CONSORT C932)
5) อุปกรณ์วัดขนาด (เวอร์เนียร์)
6) คีมคีบปลายแหลม
7) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
8) อุปกรณ์ผ่าตัด
9) ปากคีบ
10) ขวดใส่ตัวอย่าง
11) เครื่อง automatic tissue processor Leica jung histokinete 2000
12) เครื่อง rotary microtome Leitz 1516
13) ใบมีด (microtome knife)
14) เครื่องหยด paraplast Medax 71010
15) เครื่อง slide warmer
16) อุปกรณ์ย้อมสี
17) ตะแกรงใส่สไลด์
18) ตู้ดูดควัน
19) กล่องพลาสติกใส่สไลด์
20) สไลด์มีฝา
21) แผ่นปิดสไลด์
22) กล้องจุลทรรศน์ Olympus BH-2
23) บีกเกอร์
24) กระบอกตวง

3.2 สารเคมี

1. Formalin 37 - 40%
2. Distilled water
3. Sodium phosphate dibasic (anhydrous)
4. Sodium phosphate monobasic
5. Picric acid (sat aqu.)
6. Glacial acetic acid
7. Hematoxylene crystal
8. Absolute alcohol
9. Ammonium alum
10. Mercuric oxide
11. Eosin Y
12. Phloxin B
13. Alcohol
14. Hydrochloric acid
15. Ammonium hydroxide 28%
16. Egg albumin
17. Permount
18. Xylene
19. Dioxin
20. Paraplast

3.3 วิธีการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างหอยกระปุกจากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรีบริเวณน้ำลงต่ำสุด จำนวน 30 ตัวต่อเดือน เพื่อนำมาศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์

3.4 วิธีการศึกษา

3.4.1 การเตรียมเนื้อเยื่อ

1. นำตัวอย่างหอยกระปุกจากอ่าวคุ้งกระเบน โดยทำการเก็บในช่วงเวลาที่น้ำลง เก็บตัวอย่างเดือนละ 30 ตัว ตั้งแต่เดือน กันยายน 2549 ถึง เดือนสิงหาคม 2550 รวม 360 ตัว

2. นำตัวอย่างหอยกระปุกล้างทำความสะอาด ทำการวัดความยาว ความกว้างของเปลือก น้ำหนักทั้งตัว และน้ำหนักเนื้อ นำเนื้อที่แกะแล้วแช่น้ำยาคงสภาพ 10% Neutral Buffered Formalin นาน 24 ชั่วโมง

3. แล้วแช่น้ำประปา 1 ชั่วโมง

4. จากนั้นเปลี่ยนเป็น 70% alcohol

5. ตัดเนื้อเยื่อบริเวณที่เป็นอวัยวะสืบพันธุ์โดยการตัดตามขวางของลำตัวของลำตัวหอยกระปุก

6. นำตัวอย่างหอยกระปุกผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค ด้วยเครื่อง automatic tissue processor (ตารางที่ 1)

7. นำชิ้นเนื้อที่ได้ไปหล่อบล็อก โดยการฝังชิ้นเนื้อด้วยพาราพลาสต์ที่จุดหล่อตัวประมาณ 55-60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นจนแข็งตัว

8. นำบล็อกที่ได้ไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (rotary microtome) โดยตั้งเครื่องให้ตัดชิ้นเนื้อให้มีความหนาประมาณ 6 ไมครอน

9. นำตัวอย่างที่ได้มาติดบนสไลด์ที่ทาด้วย egg albumin แล้วนำแผ่นสไลด์วางบน slide warme

10. นำแผ่นสไลด์ที่แห้งแล้วมาย้อมสีด้วย Harris hematoxylin และ eosin (H&E) (ตารางที่ 2)

11. สไลด์ที่ผ่านกระบวนการย้อมสีแล้ว นำมาหยด permount และปิดด้วย cover glass

12. วิเคราะห์ผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์และถ่ายภาพประกอบ

ตารางที่ 1 ขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค (Kim et al., 2006)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	70% alcohol I	1
2	70% alcohol II	1
3	80% alcohol I	1
4	80% alcohol II	1
5	95% alcohol I	1
6	95% alcohol II	1
7	absolute alcohol I	1
8	absolute alcohol II	1
9	dioxin I	1
10	dioxin II	1
11	paraplast I	1
12	paraplast II	1

ตารางที่ 2 ขั้นตอนการย้อมสี hematoxylin และ eosin (Kim et al., 2006)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	Xylene I	5
2	Xylene II	5
3	absolute alcohol I	2
4	absolute alcohol II	2
5	95% alcohol	2
6	70% alcohol	2
7	distilled water	2
8	Hematoxylin	5 - 8
9	distilled water	5
10	acid alcohol	2 - 3 ครั้ง
11	distilled water	5
12	ammonia water	1
13	distilled water	5
14	70% alcohol	2
15	Eosin	2
16	95% alcohol I	2
17	95% alcohol II	2
18	absolute alcohol I	2
19	absolute alcohol II	2
20	Xylene I	5
21	Xylene II	5

บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 ลักษณะทั่วไปของหอยกระปุก

4.1.1 ลักษณะภายนอก

หอยกระปุกเป็นหอยสองฝาขนาดปานกลางรูปร่างภายนอกกลมพอง เปลือกหนา รูปทรงเป็นสามเหลี่ยม หรือรูปไข่ส่วนท้ายตัวโค้งและตัดตรงลงสู่ด้านล่างของตัว เปลือกด้านนอกเห็นเป็นสันที่มีลักษณะเป็นตุ่มเรียงตัวในแนวตั้ง หรือแยกออกเป็นสองทางในบางสัน สีเปลือกเป็นสีขาวขุ่น หรือมีแต้มสีน้ำตาลที่รอบๆอัมโบ ด้านในเปลือกมีสีขาวเป็นมันวาว หรืออาจมีแต้มสีม่วงอยู่ด้านใต้ อัมโบ (ภาพที่ 1, 2, และ3) เมื่อดูจากลักษณะภายนอกนั้นไม่สามารถแยกเพศของหอยกระปุกได้ ขนาดที่นำมาศึกษามีความยาวเปลือกระหว่าง 3.20 ± 0.79 - 3.68 ± 0.62 เซนติเมตร โดยมีความยาวเฉลี่ย 3.40 ±0.20 เซนติเมตร ความกว้างของเปลือกอยู่ระหว่าง 2.76 ± 0.26 - 3.19 ± 0.52 เซนติเมตร โดยมีความกว้างเฉลี่ย 2.95 ± 0.36เซนติเมตร และน้ำหนักเนื้อเฉลี่ย 1.79 ± 0.45 กรัม (n=360)

ตารางที่ 3 แสดงความยาวและความกว้างเฉลี่ย และน้ำหนักของหอยกระปุกก่อนแกะและหลังแกะเปลือก

เดือน	ความยาวเฉลี่ย(ซ.ม.) $\bar{X}$ ± SD (n=30)	ความกว้างเฉลี่ย(ซ.ม.) $\bar{X}$ ± SD (n=30)	น้ำหนัก (กรัม)	
			รวมเปลือก	เนื้อ
ก.ย. 49	3.20 ± 0.79	2.81 ± 0.51	11.25 ± 5.91	1.67± 0.65
ต.ค. 49	3.60 ± 0.50	3.19 ± 0.52	15.18 ± 9.31	1.85 ± 0.65
พ.ย. 49	3.68 ± 0.62	3.31 ± 0.51	16.99 ± 11.19	1.79 ± 0.58
ธ.ค. 49	3.35 ± 0.45	2.94 ± 0.86	13.31 ± 5.41	1.80 ± 0.66
ม.ค. 50	3.47 ± 0.47	3.01 ± 0.41	12.89 ± 5.69	1.85 ± 0.61
ก.พ. 50	3.26 ± 0.44	2.78 ± 0.32	14.46 ± 9.08	1.81 ± 1.32
มี.ค. 50	3.43 ± 0.67	2.93 ± 0.57	16.35 ± 4.77	1.90 ± 0.58
เม.ย. 50	3.45 ± 0.55	2.95 ± 0.65	17.41 ± 6.70	2.24 ± 1.06
พ.ค. 50	3.24 ± 0.36	2.76 ± 0.26	13.99 ± 5.44	1.55 ± 0.67
มิ.ย. 50	3.37 ± 0.63	2.87 ± 0.82	14.54 ± 7.47	1.57 ± 1.15
ก.ค. 50	3.35 ± 0.35	2.93 ± 0.37	18.94 ± 6.38	1.88 ± 0.48
ส.ค. 50	3.41 ± 0.31	2.90 ± 0.40	19.84 ± 6.43	1.68 ± 0.47
เฉลี่ย	3.40 ±0.20	2.95 ± 0.36	15.43 ±4.41	1.79 ± 0.45

4.1.2 ลักษณะภายใน

เมื่อแกะเปลือกพบว่าหอยกระปุกมีเนื้อสีขาวครีม ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ด้านหน้ามีปากและท่ออาหารต่อกับกระเพาะอาหาร ลำไส้ และมีส่วนเท้าที่เป็นกล้ามเนื้อที่แข็งแรงใช้สำหรับขุดทรายเพื่อฝังตัว เมื่อดูจากลักษณะภายในนั้นไม่สามารถแยกเพศของหอยกระปุกได้เช่นกัน ดังนั้นการแยกเพศหอยกระปุกจึงต้องทำการศึกษาด้านเนื้อเยื่อวิทยา ด้วยกรรมวิธีทางไมโครเทคนิค ซึ่งพบว่าระบบสืบพันธุ์ของหอยกระปุกอยู่รอบระบบย่อยอาหาร โดยหอยกระปุกมีระบบสืบพันธุ์แบบแยกเพศผู้และเพศเมีย แต่บางตัวก็พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบกะเทยแต่มีจำนวนน้อยมาก

4.2 เพศและอัตราส่วนเพศ

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หอยกระปุกทั้งหมด 360 ตัว พบเพศผู้ 181 ตัว (50 เปอร์เซ็นต์) เพศเมีย 177 ตัว (49 เปอร์เซ็นต์) กะเทย 2 ตัว (1 เปอร์เซ็นต์) อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1.02 : 1.00

ตารางที่ 4 แสดงเพศ และอัตราส่วนเพศของหอยกระปุก ตั้งแต่เดือน กันยายน 2549 ถึง เดือน สิงหาคม 2550 รวม 360 ตัว

เดือน	จำนวน	เพศผู้		เพศเมีย		กะเทย		อัตราส่วนเพศ
	ตัว	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	ผู้ : เมีย
ก.ย.	30	12	37	18	60	-	-	1 : 1.64
ต.ค.	30	15	50	14	47	1	3	1.06 : 1
พ.ย.	30	12	40	18	60	-	-	1 : 1.50
ธ.ค.	30	15	50	14	47	1	3	1 : 1.07
ม.ค.	30	12	40	18	60	-	-	1 : 1.50
ก.พ.	30	24	80	6	20	-	-	4 : 1
มี.ค.	30	15	50	15	50	-	-	1 : 1
เม.ย.	30	15	50	15	50	-	-	1 : 1
พ.ค.	30	14	47	16	53	-	-	1 : 1.14
มิ.ย.	30	15	50	15	50	-	-	1 : 1
ก.ค.	30	18	60	12	40	-	-	1.63 : 1
ส.ค.	30	14	47	16	55	-	-	1 : 1.25
รวม	360	181	50	177	49	2	1	1.02 : 1.00

4.3 ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก

จากการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกพบว่าหอยกระปุกมีการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ในหอยกระปุกที่ยังไม่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์จะพบว่าเนื้อเยื่อเกี่ยวพันติดสีชมพูอยู่ตรงบริเวณต่อมย่อยอาหาร ส่วนในหอยที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์แล้วจะพบว่าบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์จะมีลักษณะเป็นฟอลลิเคิลอยู่รอบต่อมย่อยอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ของทั้งเพศผู้และเพศเมียจะถูกล้อมรอบด้วยผนังฟอลลิเคิลที่มีการพัฒนามาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ในเพศผู้และเพศเมียพบว่าบริเวณผนังฟอลลิเคิลจะมีเซลล์สืบพันธุ์เริ่มต้น (primary germ cell) เกาะติดอยู่

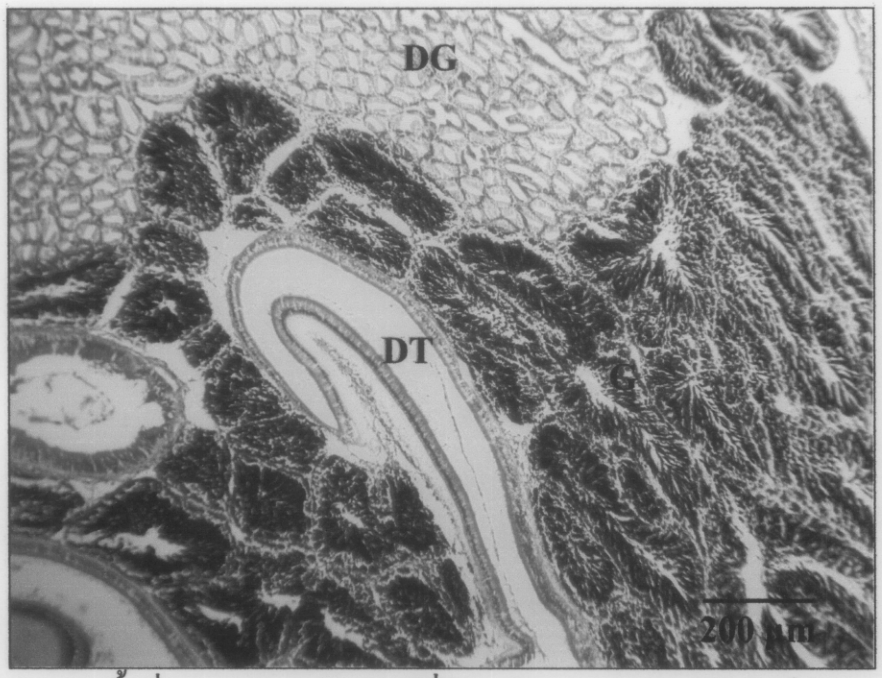
ในเพศผู้จะพบเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปอร์มาโทโกเนียติดอยู่กับผนังของฟอลลิเคิลซึ่งเป็นเซลล์ระยะต้น ถัดเข้ามาในฟอลลิเคิลก็จะพบเซลล์ระยะกลาง เช่น สเปอร์มาโทไซต์ สเปอร์มาทิด ตามลำดับ และพบว่าระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก เช่น สเปอร์มาโทซัวอยู่กลางฟอลลิเคิล สเปอร์มาโทซัวที่เจริญเต็มที่จะพบว่าบริเวณหัวติดสีน้ำเงินของอีมาท็อกไซลิน และส่วนหางติดสีชมพูของอีโอซิน

ในเพศเมียจะพบเซลล์สืบพันธุ์ระยะโอโอโกเนียติดอยู่กับผนังของฟอลลิเคิลซึ่งเป็นเซลล์ระยะต้น จากนั้นจะมีการแบ่งตัวให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเป็นโอโอโกไซต์ระยะ1 โอโอโกไซต์ระยะ 2 โอโอโกไซต์ระยะ3 โอโอโกไซต์ระยะ4 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 ระยะนี้จะแยกออกจากผนังฟอลลิเคิลมากขึ้นแต่ก็ยังคงติดกับผนังฟอลลิเคิลอยู่ ส่วนโอโอโกไซต์ระยะ 5 ซึ่งเป็นระยะเซลล์สืบพันธุ์สุกจะมองเห็นว่าแยกออกมาจากผนังฟอลลิเคิลอย่างสมบูรณ์และอยู่บริเวณตรงกลางของฟอลลิเคิล แต่ละระยะของการพัฒนาจะมีขนาดและการติดสีแตกต่างกันไป

4.4 ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์

เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatozoa) มีลักษณะกลม ประกอบไปด้วยส่วนหัวและส่วนหาง บริเวณส่วนหัวมีนิวเคลียสพบว่าติดสีน้ำเงินเข้มของฮีมาท็อกไซลิน ส่วนหางเป็นบริเวณของไซโทพลาซึมพบว่าติดสีชมพูของอีโอซิน เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จึงไม่สามารถมองเห็นส่วนประกอบภายในได้อย่างชัดเจน

เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (mature oocyte) มีลักษณะกลมหรืออาจมีหลายเหลี่ยม ภายในเซลล์ประกอบด้วยไซโทพลาซึมซึ่งเต็มไปด้วยสารอาหารมีลักษณะเป็นแกรนูล (yolk granule) ซึ่งติดสีชมพูของอีโอซิน นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ เห็นเนื้อเยื่อหุ้มนิวเคลียสชัดเจน ภายในนิวเคลียสพบโครมาทินและนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มของฮีมาท็อกไซลิน



ภาพที่ 10 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศผู้ที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์

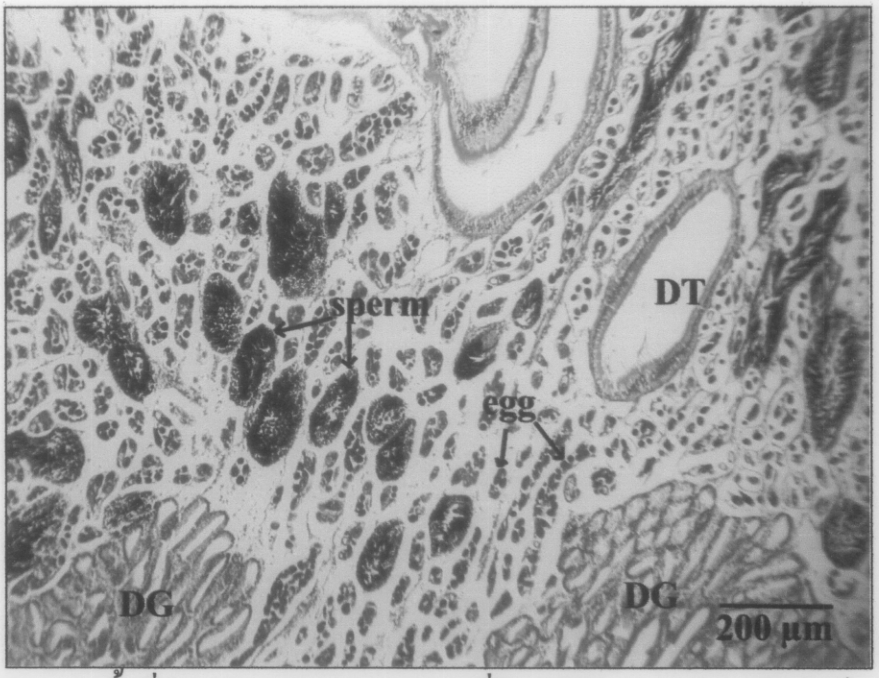
DG = ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) DT = ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract)

G = อวัยวะสืบพันธุ์ (gonad)

ภาพที่ 11 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศเมียที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์

DG = ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) G = อวัยวะสืบพันธุ์ (gonad)

DT = ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract)



ภาพที่ 12 ลักษณะเนื้อเยื่อของหอยกระปุกเพศกะเทยที่มีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์

DG = ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland)

DT = ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract)

G = อวัยวะสืบพันธุ์ (gonad)

4.5 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์

4.5.1 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) ครั้งนี้พบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์ สามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะตามขนาด รูปร่างและลักษณะการติดสีของนิวเคลียสและไซโทพลาซึม ดังนี้

สเปอร์มาโทโกเนีย (spermatogonia) (ภาพที่ 13) พบเซลล์รูปร่างกลมขนาดเล็กอยู่บริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิล มีขนาดประมาณ 3.07 ± 0.93 x 3.77 ± 0.77 ไมครอน (n=30) พบไซโทพลาซึมใสติดสีชมพูจางของอีโอซิน (eosin) พบโครมาทินติดสีน้ำเงินจางของฮีมาท็อกไซลิน (hematoxylin) อยู่แบบกระจายภายในนิวเคลียส

สเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte) (ภาพที่ 13) พบเซลล์รูปร่างกลมอยู่ถัดจากสเปอร์มาโทโกเนีย มีขนาดเล็กประมาณ 1.933 ± 0.93 x 2.37 ± 0.63 ไมครอน (n=30) พบไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้มขึ้น โครมาทินติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นและอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นภายในนิวเคลียส

สเปอร์มาทิด (spermatid) (ภาพที่ 13) พบเซลล์มีขนาดเล็กประมาณ 1.23 ± 0.77 x 3.2 ± 0.8ไมครอน (n=30) ภายในนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นและติดสีน้ำเงินเข้มจัด ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้ม เซลล์อยู่ถัดจากสเปอร์มาโทไซต์เข้ามาในฟอลลิเคิล

สเปอร์มาโทซัว (spermatozoa) (ภาพที่ 13) พบเซลล์มีขนาดเล็กประมาณ 1.13 ± 0.87 x 4.23 ± 0.77ไมครอน (n=30) ประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวเป็นบริเวณนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้ม มีหางเส้นเล็กๆติดสีชมพู เมื่ออยู่รวมกันมากๆจะเห็นเป็นแถบสีชมพู พบอยู่ถัดมาจากสเปอร์มาทิดเข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลโดยหันหางเข้าหาศูนย์กลางฟอลลิเคิล

4.5.2 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์หอยกระปุกพบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่สังเกตจากกล้องจุลทรรศน์ สามารถแบ่งออกเป็น 6 ระยะ โดยแบ่งเป็นโอโอโกเนีย 1 ระยะ และระยะโอโอไซต์ 5 ระยะ ตามขนาด รูปร่าง และการติดสี hematoxylin และ eosin ของบริเวณไซโตพลาสซึม โครมาทินในนิวเคลียส และนิวคลีโอลัส ดังนี้

โอโอโกเนีย (oogonia) (ภาพที่ 14) ลักษณะของเซลล์เป็นรูปยาวรี มีขนาดเล็กประมาณ 25.50 ± 9.50 x 55.17 ± 9.83ไมครอน (n=30) อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล ภายในพบนิวเคลียสรูปไข่มี ซึ่งมีขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม ของฮีมาท็อกไซลิน ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจาง

โอโอไซต์ระยะแรก (primary young oocyte) (ภาพที่ 15) ลักษณะเซลล์เป็นรูปสามเหลี่ยมมีขนาดประมาณ 69 ± 9.00 x 84.17 ± 9.17 ไมครอน (n=30) เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าโอโอโกเนีย อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในพบยูโคมาทินกระจายอยู่ทั่วไปเต็มนิวเคลียสซึ่งติดสีน้ำเงินจาง พบเฮทเทอโรโคมาทินบริเวณรอบนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม และพบไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มจะเอียงไปด้านใดด้านหนึ่ง

โอโอไซต์ระยะสอง (secondary young oocyte) (ภาพที่ 16) เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นประมาณ 64 ± 11.00 x 92.17 ± 7.83 ไมครอน (n=30) เซลล์มีลักษณะเกือบเป็นทรงกลม และบางเซลล์เริ่มมีก้านยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินอยู่กระจายกันอย่างหนาแน่น นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นของฮีมาท็อกไซลินกระจายอยู่เต็มในไซโตพลาสซึม

โอโอไซต์ระยะสาม (previtellogenic oocyte) (ภาพที่ 17) ลักษณะเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นเริ่มมีการเปลี่ยนรูปร่างไปตามแนวยาวมีลักษณะคล้ายผลลูกแพร์ โดยมีการยึดติดอยู่กับผนังฟอลลิเคิล มีขนาดประมาณ 69.83 ± 10.17 x 112.67 ±12.33ไมครอน (n=30) มีนิวเคลียสกลม ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินกระจายอยู่เต็มนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม ในไซโทพลาซึมพบติดสีน้ำเงิน ส่วนบริเวณก้านที่ยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน แสดงให้เห็นว่าเริ่มมีการสะสมสารอาหารตรงบริเวณก้านที่ติดกับผนังฟอลลิเคิล

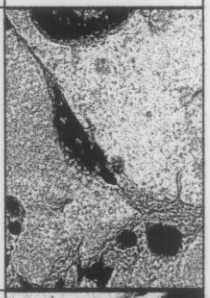
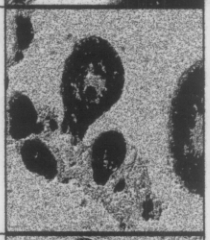
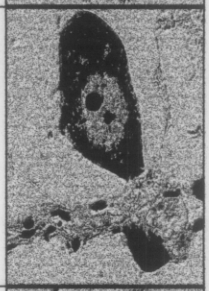
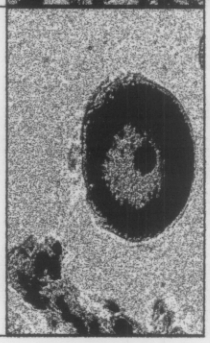
โอโอไซต์ระยะสี่ (vitellogenic oocyte) (ภาพที่ 18) ลักษณะเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก มีลักษณะคล้ายหยดน้ำมากขึ้น โดยยังมีก้านแคบและยาวยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล เซลล์มีขนาดใหญ่ประมาณ 77.83 ± 7.83 x 152.17±7.83 ไมครอน (n=30) พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มบริเวณรอบๆติดสีม่วงแดง ในไซโทพลาซึมมีการสะสมสารอาหารมากขึ้น โดยบริเวณไซโทพลาซึมจะพบแกรนูลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน กระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์

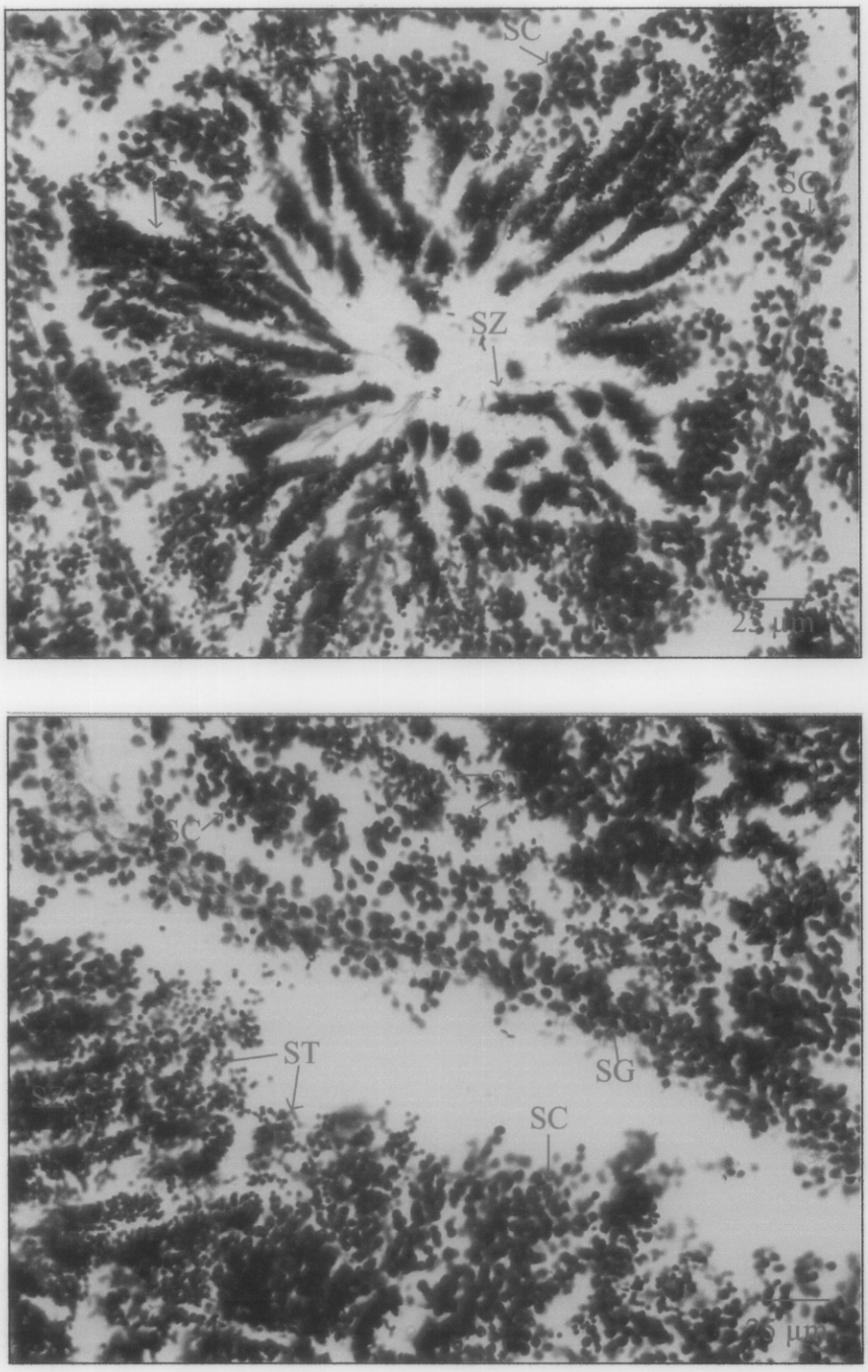
โอโอไซต์ระยะห้า (matuer oocyte) (ภาพที่ 19) เซลล์มีรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม มีขนาดใหญ่ประมาณ 78.33 ± 8.33 x 90.17 ±10.17ไมครอน (n=30) พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มรอบๆติดสีม่วงแดง ระยะนี้เซลล์เริ่มมีการเคลื่อนที่เข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลมากขึ้น และพบว่าภายในไซโทพลาซึมมีการสะสมของสารอาหารมากขึ้นแล้วจะเห็นว่าตรงบริเวณไซโทพลาซึม จะเต็มไปด้วยแกรนูลติดสีชมพูแดง

ตารางที่5 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้ในระยะต่างๆ

ระยะ	ขนาด(μ)	ลักษณะเซลล์	ไซโทพลาซึม
สเปอร์มาโทโกเนีย (spermatogonia)	3.07 ± 0.93 x 3.77 ± 0.77	เซลล์รูปร่างกลมขนาดเล็กอยู่บริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิล เป็นเซลล์ระยะต้น	ไซโทพลาซึมใสติดสีชมพูจางของอีโอซิน พบโครมาทินติดสีน้ำเงินจางของฮีมาท็อกไซลิน อยู่แบบกระจายภายในนิวเคลียส
สเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte)	1.933 ± 0.93 x 2.37 ± 0.63	เซลล์รูปร่างกลมอยู่ถัดจากสเปอร์มาโตโกเนีย เซลล์มีขนาดเล็ก	ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้มขึ้น โครมาทินติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นและอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นภายในนิวเคลียส
สเปอร์มาทิด (spermatid)	1.23 ± 0.77 x 3.2 ± 0.80	เซลล์มีขนาดเล็ก อยู่ถัดจากสเปอร์มาโทไซต์เข้ามาในฟอลลิเคิล	ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้ม
สเปอร์มาโทซัว (spermatozoa)	1.13 ± 0.87 x 4.23 ± 0.77	เซลล์มีขนาดเล็กประกอบ ด้วย ส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวเป็นบริเวณนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้ม มีหางเส้นเล็กๆติดสีชมพู เมื่ออยู่รวมกันมากๆจะเห็นเป็นแถบสีชมพู พบอยู่ถัดมาจาก สเปอร์มาทิดเข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลโดยหันหางเข้าหาศูนย์กลางฟอลลิเคิล	ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้ม

ตารางที่6 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียในระยะต่างๆ

ระยะ	ขนาด(μ)	นิวเคลียส	ไซโทพลาซึม	ลักษณะเซลล์
โอโอโกเนีย (oogonia)	25.50 ± 9.50 x 55.17 ± 9.83	พบนิวเคลียสรูปไข่ ซึ่งมีขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มของฮีมาท็อกไซลิน	ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจาง	
โอโอไซต์ระยะ1 (primary young oocyte)	69 ± 9.00 x 84.17 ± 9.17	นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในพบยูโคมาทิน กระจายอยู่ทั่วไป เต็มนิวเคลียสซึ่งติดสีน้ำเงินจาง พบเฮทเทอโรโคมาทินบริเวณรอบนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม	ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม	
โอโอไซต์ระยะ2 (secondary young oocyte)	64 ± 11.00 x 92.17 ± 7.83	นิวเคลียสกลม ภายในพบยูโครมาทินอยู่กระจายกันอย่างหนาแน่น ติดสีน้ำเงินเข้ม	ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้น	
โอโอไซต์ระยะ 3 (previtellogenic oocyte)	69.83 ± 10.17 x 112.67 ±12.33	นิวเคลียสกลม ภายในพบยูโครมาทินกระจายอยู่เต็ม นิวคลีโอลัส ติดสีน้ำเงินเข้ม	ไซโทพลาซึมพบติดสีน้ำเงินบริเวณก้านที่ยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลติดสีชมพูแดง	
โอโอไซต์ระยะ 4 (vitellogenic oocyte)	77.83 ± 7.83 x 152.17±7.83	นิวเคลียสกลมใหญ่ นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มบริเวณรอบๆติดสีม่วงแดง พบเฮทโรโครมาทิน	ไซโทพลาซึมจะพบแกรนูลติดสีชมพูแดง	
โอโอไซต์ระยะ 5 (matuer oocyte)	78.33 ± 8.33 x 90.17 ±10.17	นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม พบเฮทโรโครมาทินบริเวณผนังนิวเคลียส	มีการสะสมของสารอาหารมากขึ้น แกรนูลติดสีชมพูแดง	



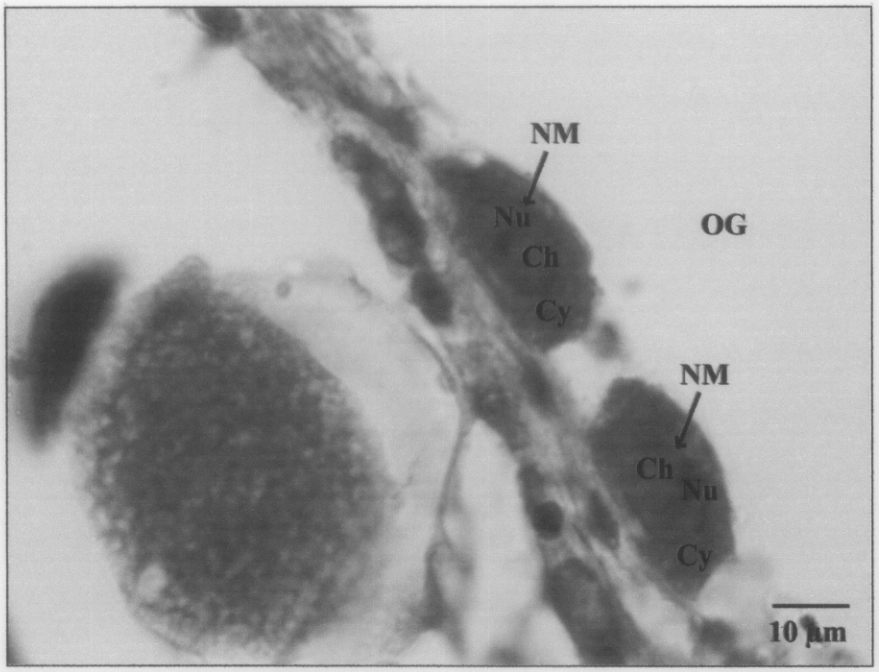
ภาพที่ 13 เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระยะต่างๆ

SG = สเปอร์มาโทโกเนีย (spermatogonia)

SC = สเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte)

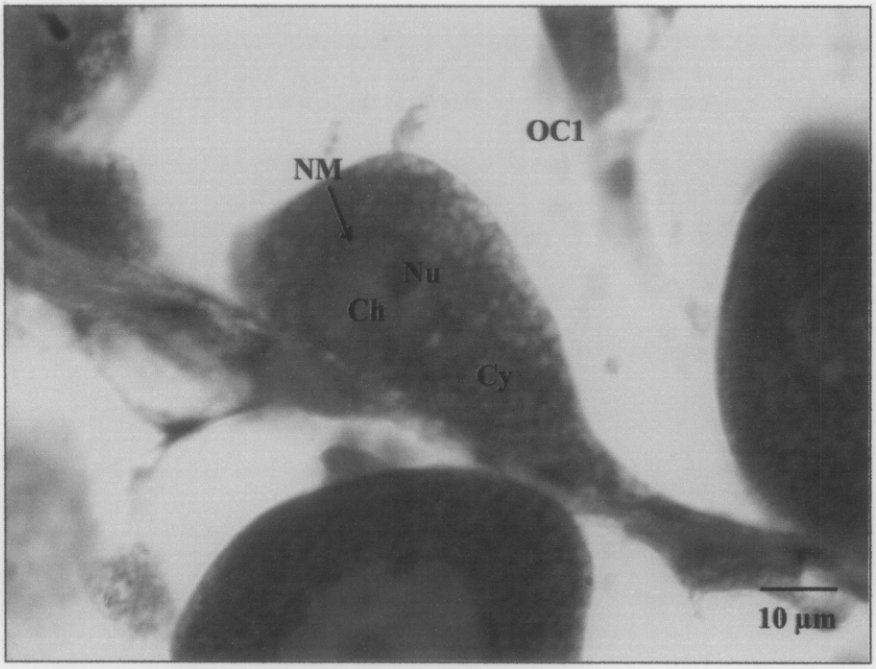
ST = สเปอร์มาทิด (spermatid)

SZ = สเปอร์มาโทซัว (spermatozoa)



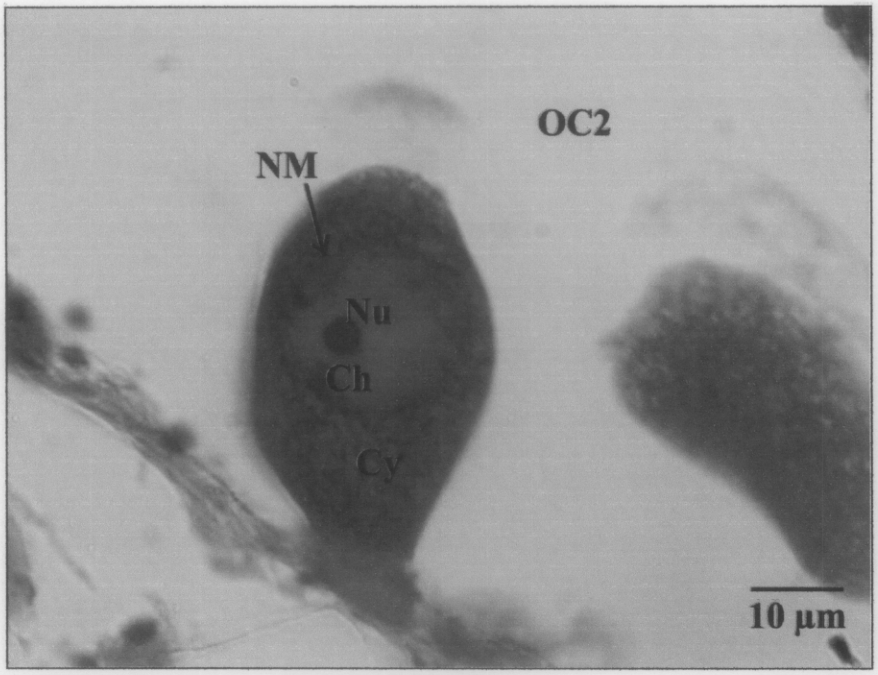
ภาพที่ 14 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอโกเนีย

OG = โอโอโกเนีย (oogonia) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมาทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



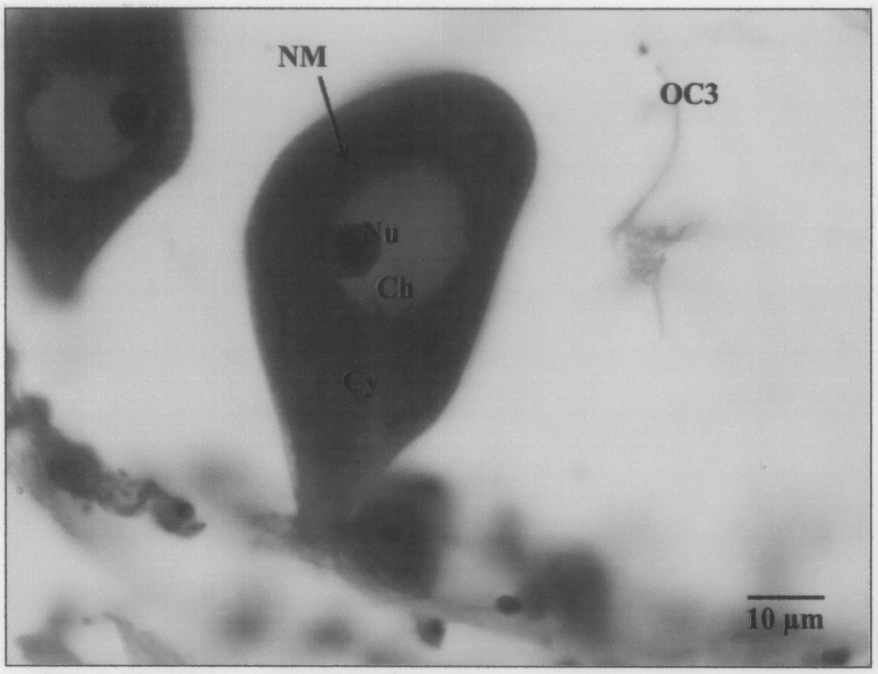
ภาพที่ 15 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะแรก

OC1 = โอโอไซต์ (primary young oocyte) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมาทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



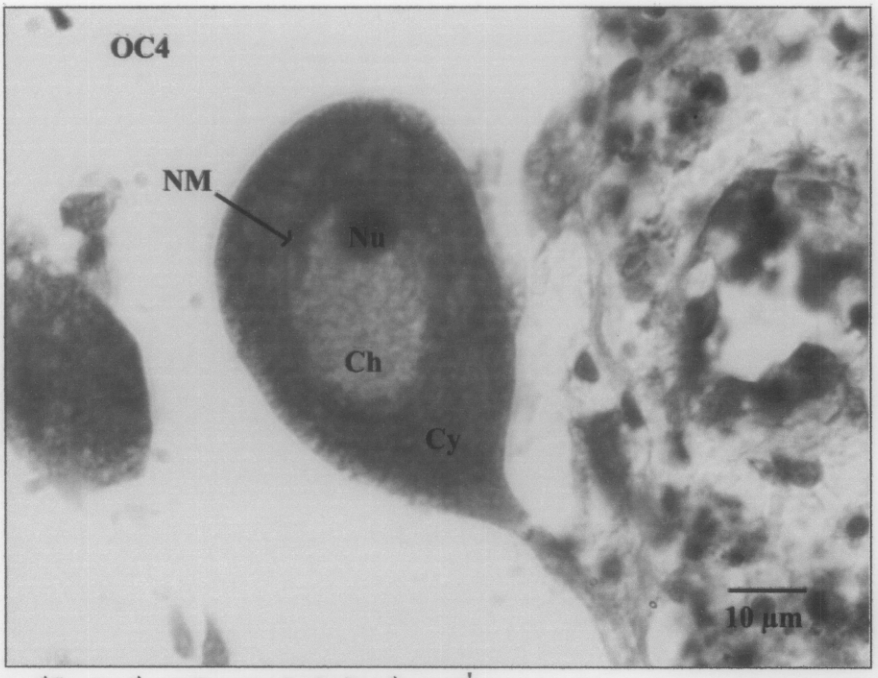
ภาพที่ 16 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสอง

OC2 = โอโอไซต์ (secondary young oocyte) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมา ทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



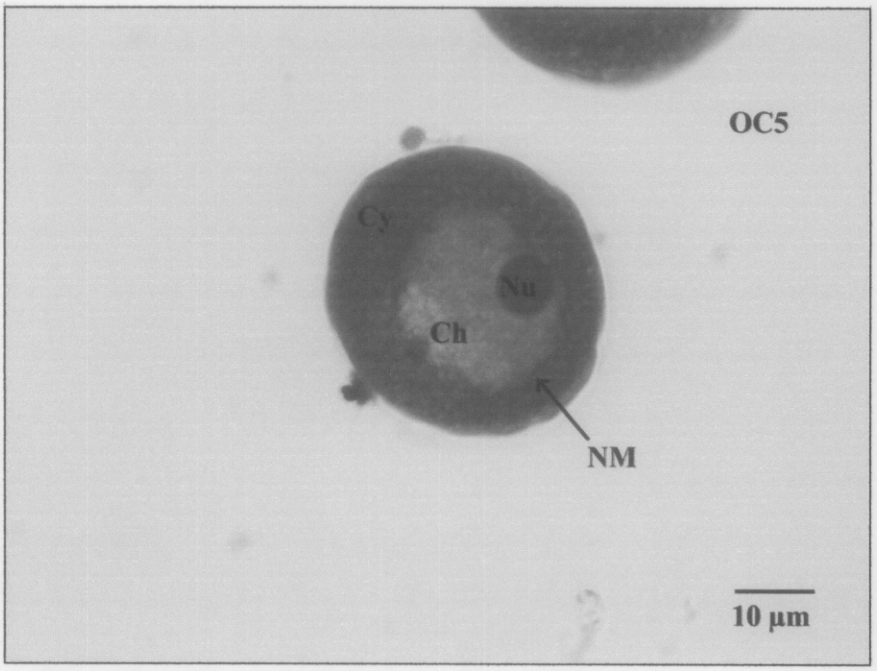
ภาพที่ 17 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสาม

OC3 = โอโอไซต์ (previtellogenic oocyte) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมาทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane



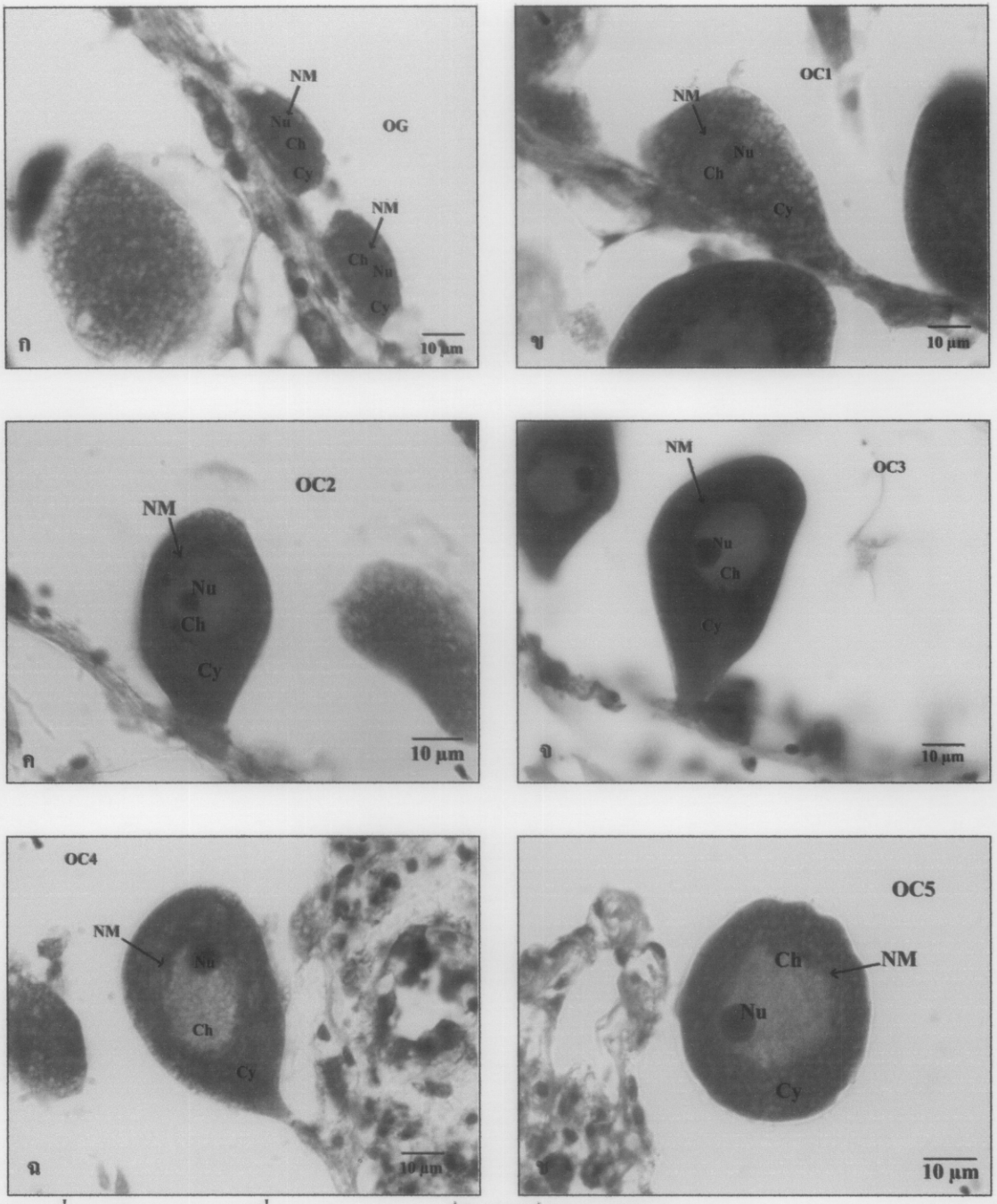
ภาพที่ 18 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสี่

OC4 = โอโอไซต์ (vitellogenic oocyte) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมาทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



ภาพที่ 19 เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะห้า

OC5 = โอโอไซต์ (mature oocyte) Cy = ไซโทพลาซึม (cytoplasm) Ch = โครมาทิน (chromatin) Nu = นิวคลีโอลัส (nucleolus) NM = เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



ภาพที่ 20 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียในระยะต่างๆ

ก = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอโกเนีย

ข = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะแรก

ค = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสอง

จ = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสาม

ฉ = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะสี่

ช = เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียระยะโอโอไซต์ระยะห้า

4.6 พัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก พบว่าหอยกระปุกมีการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์แบ่งออกเป็น 6 ระยะ ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ดังนี้

4.6.1 ขั้นตอนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยกระปุกเพศผู้

แบ่งออกได้เป็น 6 ระยะต่างๆดังต่อไปนี้

ระยะที่ 1 ระยะก่อนพัฒนาการ (Prefollicular development) (ภาพที่ 22 ก) เป็นระยะเริ่มต้น ภายในอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกพบเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันตรงบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์บางๆมีการสร้างเส้นใยโดยมีการจัดเรียงตัวของเส้นใยให้มีเป็นถุงฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์จะติดสีชมพูของอีโอซิน ในระยะนี้จะพบกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆติดสีม่วงแดงซึ่งเซลล์เหล่านี้เป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ฟอลลิเคิลที่พบยังมีขนาดเล็ก ระยะนี้ในเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะเหมือนกันมากจนไม่สามารถแยกเพศได้

ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development) (ภาพที่ 22 ข) ฟอลลิเคิลเริ่มขยายใหญ่และหนาขึ้นภายในถุงฟอลลิเคิลเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยบริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิลเริ่มพบว่ามีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ระยะสเปอร์มาโทโกเนีย และระยะสเปอร์มาโทไซต์ โดยที่ระยะสเปอร์มาโทโกเนีย จะพบเซลล์มีขนาดเล็กติดสีชมพู ระยะสเปอร์มาโทไซต์พบติดสีชมพูเข้มขึ้น ภายในฟอลลิเคิลพบกลุ่มเซลล์สเปอร์มาทิดติดสีน้ำเงินเข้ม ซึ่งระยะนี้สามารถแยกเพศได้อย่างชัดเจน

ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage) (ภาพที่ 22 ค) ผนังของฟอลลิเคิลขยายขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลน้อยลง แต่ละฟอลลิเคิลพบเซลล์หลายระยะ เช่น ระยะสเปอร์มาโทโกเนียที่ผนังฟอลลิเคิล ระยะสเปอร์มาโทไซต์ ระยะสเปอร์มาทิด และบางฟอลลิเคิลเริ่มพบสเปอร์มาโทซัวซึ่งส่วนหัวติดสีน้ำเงิน และส่วนหางติดสีชมพูแต่ปริมาณที่พบมีจำนวนเล็กน้อย

ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage) (ภาพที่ 22 จ) พบว่าฟอลลิเคิลขยายใหญ่เต็มที่ทำให้ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลหายไป ภายในฟอลลิเคิลจะพบเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ทุกระยะ แต่โดยส่วนใหญ่จะพบเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปอร์มาโทซัวมากที่สุดทุกฟอลลิเคิล ซึ่งส่วนหัวติดสีน้ำเงิน และส่วนหางติดสีชมพู หันส่วนหางเข้าหากันตรงบริเวณศูนย์กลางฟอลลิเคิลเพื่อพร้อมที่จะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partially spawned stage) (ภาพที่ 22 ฉ) ฟอลลิเคิลไม่สมบูรณ์เหมือนในระยะที่ 4 ผนังฟอลลิเคิลเริ่มแตก พบสเปอร์มาโทซัวถูกปล่อยออกไปจากฟอลลิเคิลบางส่วนโดยจะเห็นว่าเซลล์สืบพันธุ์ที่เหลืออยู่ภายในฟอลลิเคิลมีลักษณะเป็นหย่อม บางฟอลลิเคิลลูเมนมีขนาดกว้างขึ้น

ระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage) (ภาพที่ 22 ช) พบว่าสเปอร์มาโทซัวถูกปล่อยออกไปจนเกือบหมดฟอลลิเคิลหรืออาจเหลืออยู่บ้างบางส่วน ฟอลลิเคิลที่ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกไปหมดแล้วก็จะเริ่มเหี่ยวลง

4.6.2 ขั้นตอนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยกระปุกเพศเมีย

แบ่งออกได้เป็น 6 ระยะต่างๆดังต่อไปนี้

ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development) (ภาพที่ 21 ก) เป็นระยะเริ่มต้นของเซลล์ ซึ่งในระยะนี้พบว่าเนื้อเยื่อเกี่ยวพันติดสีชมพูแดงของอีโอซิน และมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์บางๆสร้างเป็นฟอลลิเคิล มีกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆติดสีน้ำเงินเข้มรอบบริเวณที่เป็นผนังฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลที่พบยังมีขนาดเล็ก ระยะนี้ในเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะเหมือนกันมากจนไม่สามารถแยกเพศได้

ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development) (ภาพที่ 21 ข) ฟอลลิเคิลเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น และหนาขึ้นภายในถุงฟอลลิเคิลเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยบริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิลเริ่มพบว่ามีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ระยะโอโอโกเนีย ซึ่งมีขนาดเล็กจะติดสีน้ำเงินจาง ระยะโอโอไซต์ 1 และระยะโอโอไซต์ 2 ซึ่งระยะโอโอไซต์ทั้งสองนี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ

ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage) (ภาพที่ 21 ค) ผนังของฟอลลิเคิลขยายขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลน้อยลง ภายในฟอลลิเคิลพบว่ามีเซลล์สืบพันธุ์ขยายขนาดใหญ่ขึ้นและเพิ่มจำนวนมากขึ้น โอโอไซต์มีการพัฒนาเป็นระยะต่างๆอย่างต่อเนื่อง มีลักษณะเป็นก้านที่ยึดติดอยู่กับผนังฟอลลิเคิล โดยพบโอโอไซต์ระยะ 3 และโอโอไซต์ระยะ 4 มากที่สุด บางฟอลลิเคิลอาจพบโอโอไซต์ระยะ 5

ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage) (ภาพที่ 21 จ) พบว่าฟอลลิเคิลขยายใหญ่เต็มที่ทำให้ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลหายไป ภายในฟอลลิเคิลจะพบเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียทุกระยะ แต่ระยะที่พบมากสุดคือ ระยะโอโอไซต์ 5 ซึ่งเป็นโอโอไซต์ที่สมบูรณ์ (mature oocyte) มีรูปร่างแบบกลม หรือหลายเหลี่ยมอยู่ตรงกลางฟอลลิเคิลอย่างหนาแน่น ส่วนโอโอไซต์ที่ยังไม่สมบูรณ์จะยังคงอยู่ติดกับผนังของฟอลลิเคิล และมีการพัฒนาต่อไปอย่างต่อเนื่อง

ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage) (ภาพที่ 21 ฉ) ฟอลลิเคิลไม่สมบูรณ์เหมือนในระยะที่ 4 ผนังฟอลลิเคิลเริ่มแตกออก พบว่าโอโอไซต์ระยะ 5 ถูกปล่อยออกไปจากฟอลลิเคิลบางส่วน ทำให้ภายในฟอลลิเคิลไม่อัดแน่นมากเท่ากับระยะที่เซลล์สืบพันธุ์สุก และบางฟอลลิเคิลก็ยังคงพบโอโอไซต์ระยะ 5 หลงเหลืออยู่

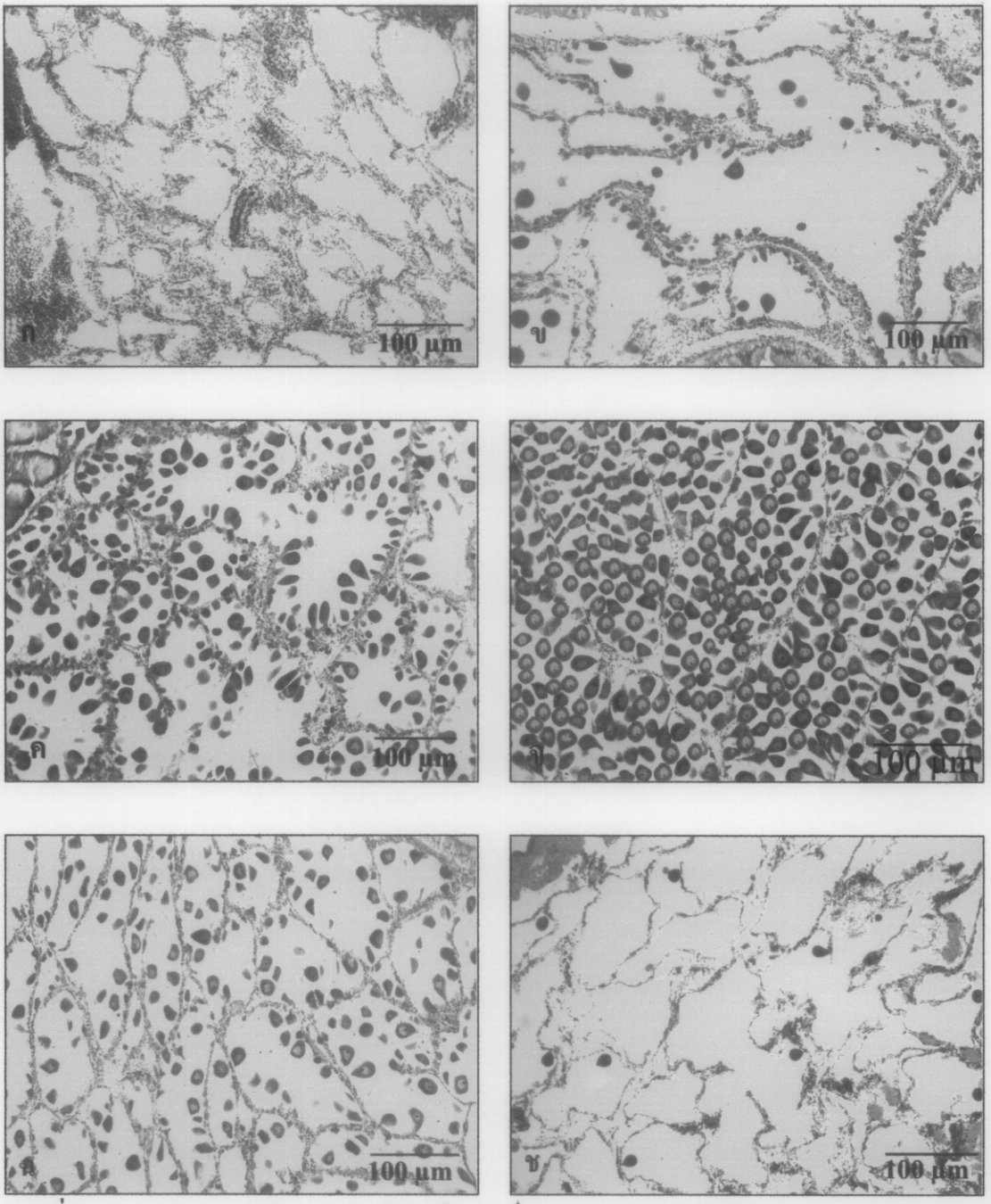
ระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage) (ภาพที่ 21 ช) พบว่าผนังฟอลลิเคิลแตกบางและเริ่มว่างเปล่า เนื่องจากไข่ถูกปล่อยออกจากฟอลลิเคิลไปหมดหรืออาจยังคงหลงเหลืออยู่บ้าง ภายในลูเมนเกิดช่องว่างมากกว่าระยะเริ่มวางบางส่วน ฟอลลิเคิลจะเหี่ยวลง เนื้อเยื่อเกี่ยวพันถูกสร้างมาแทนที่ และพร้อมที่จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่อีกครั้ง

ตารางที่ 7 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศเมีย

ระยะ	เพศเมีย
ระยะที่ 1 ระยะก่อนพัฒนา (Prefollicular development)	พบว่าเนื้อเยื่อเกี่ยวพันติดสีชมพูแดงของอีโอซิน และมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์บางๆสร้างเป็นฟอลลิเคิล มีกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆติดสีน้ำเงินเข้มติดอยู่รอบบริเวณผนังฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลที่พบยังมีขนาดเล็ก
ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)	ฟอลลิเคิลเริ่มมีขนาดใหญ่ และหนาขึ้น บริเวณรอบๆ ผนังฟอลลิเคิลเริ่มพบว่ามีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ระยะโอโอโกเนีย ระยะโอโอไซต์ 1 และระยะ โอโอไซต์ 2
ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนา (Developing stage)	ผนังของฟอลลิเคิลขยายขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลน้อยลง ภายในฟอลลิเคิลพบว่ามีเซลล์สืบพันธุ์ ระยะโอโอโกเนีย ระยะโอโอไซต์ 1 ระยะโอโอไซต์ 2 โอโอไซต์ระยะ3 และโอโอไซต์ระยะ 4 มากที่สุด
ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)	ฟอลลิเคิลขยายใหญ่เต็มที่ทำให้ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลหายไป ภายในฟอลลิเคิลจะพบเซลล์สืบเพันธุ์เพศเมียทุกระยะ แต่ระยะที่พบมากสุดคือ ระยะโอโอไซต์ 5
ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางบางส่วน (Partiallym spawed stage)	ฟอลลิเคิลไม่สมบูรณ์เหมือนในระยะที่ 4 ผนังฟอลลิเคิลเริ่มแตกออก พบว่าโอโอไซต์ระยะ 5 ถูกปล่อยออกไป
ระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)	พบว่าผนังฟอลลิเคิลแตกบางและเริ่มว่างเปล่า เนื่องจากไข่ถูกปล่อยออกจากฟอลลิเคิลไปหมด ฟอลลิเคิลจะเหี่ยวลง

ตารางที่ 8 ระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศผู้

ระยะ	เพศผู้
ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development)	พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันตรงบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์บางๆมีการสร้างเส้นใยให้เป็นถุงฟอลลิเคิล พบกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆติดสีม่วงแดงที่บริเวณฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลที่พบยังมีขนาดเล็ก
ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)	ฟอลลิเคิลเริ่มขยายใหญ่และหนาขึ้น ภายในถุงฟอลลิเคิลเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยบริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิลเริ่มพบว่ามีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็นระยะสเปอร์มาโทโกเนีย และระยะสเปอร์มาโตไซต์
ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage)	ผนังของฟอลลิเคิลขยายขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลน้อยลง แต่ละฟอลลิเคิลพบเซลล์หลายระยะ เช่น ระยะสเปอร์มาโทโกเนีย ระยะสเปอร์มาโทไซต์ ระยะสเปอร์มาทิด บางฟอลลิเคิลเริ่มพบสเปอร์มาโทซัว
ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)	พบว่าฟอลลิเคิลขยายใหญ่เต็มที่ทำให้ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลหายไป ภายในฟอลลิเคิลจะพบเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ทุกระยะ โดยส่วนใหญ่พบเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปอร์มาโทซัวมากที่สุด
ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางบางส่วน (Partiallym spawed stage)	ฟอลลิเคิลไม่สมบูรณ์เหมือนในระยะที่ 4 ผนังฟอลลิเคิลเริ่มแตก พบสเปอร์มาโทซัวถูกปล่อยออกไปจากฟอลลิเคิลบางส่วน
ระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)	พบว่าสเปอร์มาโทซัวถูกปล่อยออกไปจากจนหมดฟอลลิเคิล หรืออาจเหลืออยู่บางส่วน ฟอลลิเคิลจะเริ่มเหี่ยวลง



ภาพที่ 21 แสดงระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศเมีย

ก = ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development)

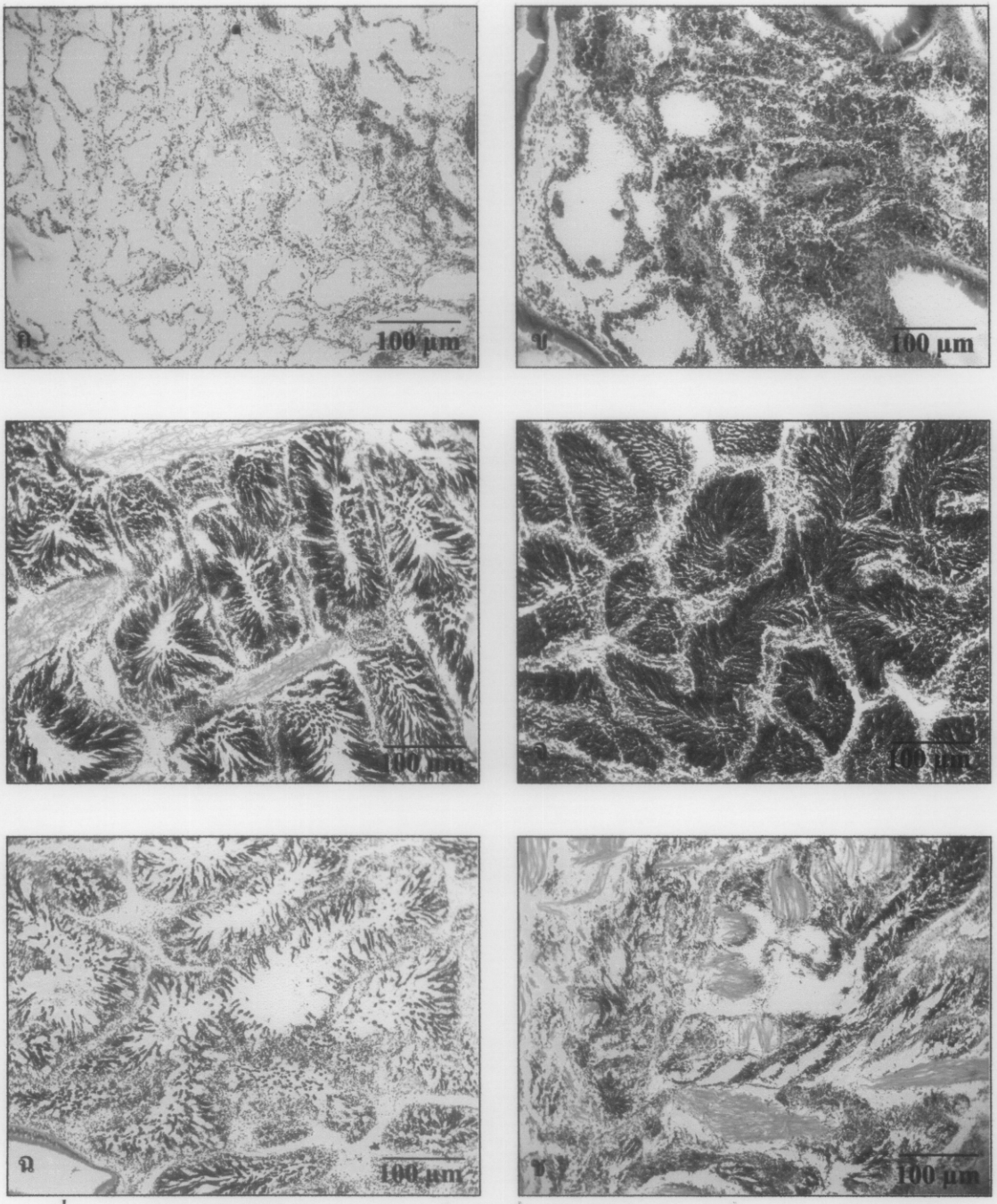
ข = ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)

ค = ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage)

ง = ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)

จ = ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage)

ช = ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)



ภาพที่ 22 แสดงระยะการพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกเพศผู้

ก = ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development)

ข = ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)

ค = ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage)

จ = ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)

ฉ = ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage)

ช = ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)

4.7 ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยกระปุก

จากการศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยกระปุก ตั้งแต่เดือน กันยายน 2549 ถึง เดือนสิงหาคม 2550 รวม 360 ตัว พบว่า พบระยะที่1คือ ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development) พบมากที่สุดในช่วงเดือนสิงหาคม ร้อยละ 20 ในระยะนี้สามารถพบได้จนถึงเดือนกันยายนแต่จะเริ่มพบน้อยลง ในระยะที่2 คือ ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development) จะเริ่มพบตั้งแต่เดือนสิงหาคมจนถึงเดือนตุลาคม และพบระยะนี้มากสุดในเดือนสิงหาคมถึงร้อยละ 50 โดยระยะนี้ตัวผู้จะพบสเปอร์มาโทโกเนีย และสเปอร์มาโทไซต์ และตัวเมียจะพบ โอโอโกเนีย โอโอไซต์ระยะ 1 และโอโอไซต์ระยะ 2 มากที่สุด ในระยะที่3 คือ ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage) ในระยะนี้จะเริ่มพบตั้งแต่เดือนกันยายนจนถึงเดือนมีนาคมและมีการพบอีกทีในเดือนสิงหาคม แต่มีการพบมากที่สุดในช่วงเดือนกันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน ร้อยละ 60, 57และ 67 ตามลำดับ หลังจากนั้นก็จะเริ่มพบน้อยลง ในเพศผู้จะพบ สเปอร์มาโทโกเนีย สเปอร์มาโทไซต์ สเปอร์มาทิด และบางฟอลลิเคิลเริ่มพบสเปอร์มาโทซัว ในเพศเมียจะพบระยะโอโอโกเนีย โอโอไซต์ระยะ 1 ระยะโอโอไซต์ระยะ 2 โอโอไซต์ระยะ3 และโอโอไซต์ระยะ 4 มากที่สุด ในระยะที่4 คือ ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage) ในระยะนี้จะเริ่มพบตั้งแต่เดือนกันยายนจนถึงเดือนมิถุนายน และพบระยะนี้มากสุดในเดือนธันวาคม มกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน ร้อยละ 63, 66, 60, 60 และ 73 ตามลำดับ ในระยะนี้ทั้งเพศผู้และเพศเมียจะพบ สเปอร์มาโทซัวและโอโอไซต์ระยะ 5 มากที่สุด ในระยะที่5 คือ ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage) จะเริ่มพบตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนกรกฎาคม และพบระยะนี้มากสุดในเดือนพฤษภาคม ถึงร้อยละ 63 ในระยะที่6 คือ ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage) ในระยะนี้จะพบในคือนกรกฎาคม ถึงร้อยละ 60 ในระยะนี้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย พบว่าสเปอร์มาโทซัวและโอโอไซต์ระยะ 5 ถูกปล่อยออกไปจากจนหมดฟอลลิเคิล หลังจากนั้นฟอลลิเคิลจะเริ่มเหี่ยวลง

ตารางที่ 9 ระยะพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก

เดือน	ความยาวเฉลี่ย(ซม.) $\bar{X}\pm SD$ (n=30)	น้ำหนักเนื้อ (กรัม)	การพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุก (เปอร์เซ็นต์)					
			ระยะที่1	ระยะที่2	ระยะที่3	ระยะที่4	ระยะที่5	ระยะที่6
ก.ย. 49	3.20 ± 0.79	1.67± 0.65	13	7	60	20	0	0
ต.ค. 49	3.60 ± 0.50	1.85 ± 0.65	0	20	57	23	0	0
พ.ย. 49	3.68 ± 0.62	1.79 ± 0.58	0	0	67	27	6	0
ธ.ค. 49	3.35 ± 0.45	1.80 ± 0.66	0	0	27	63	10	0
ม.ค. 50	3.47 ± 0.47	1.85 ± 0.61	0	0	17	66	17	0
ก.พ. 50	3.26 ± 0.44	1.81 ± 1.32	0	0	20	60	20	0
มี.ค. 50	3.43 ± 0.67	1.90 ± 0.58	0	0	23	60	17	0
เม.ย. 50	3.45 ± 0.55	2.24 ± 1.06	0	0	0	73	27	0
พ.ค. 50	3.24 ± 0.36	1.55 ± 0.67	0	0	17	20	63	0
มิ.ย. 50	3.37 ± 0.63	1.57 ± 1.15	0	0	17	50	33	0
ก.ค. 50	3.35 ± 0.35	1.88 ± 0.48	0	0	0	0	40	60
ส.ค. 50	3.41 ± 0.31	1.68 ± 0.47	20	50	30	0	0	0

หมายเหตุ

ระยะที่1 = ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development)

ระยะที่2 = ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)

ระยะที่3 = ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage)

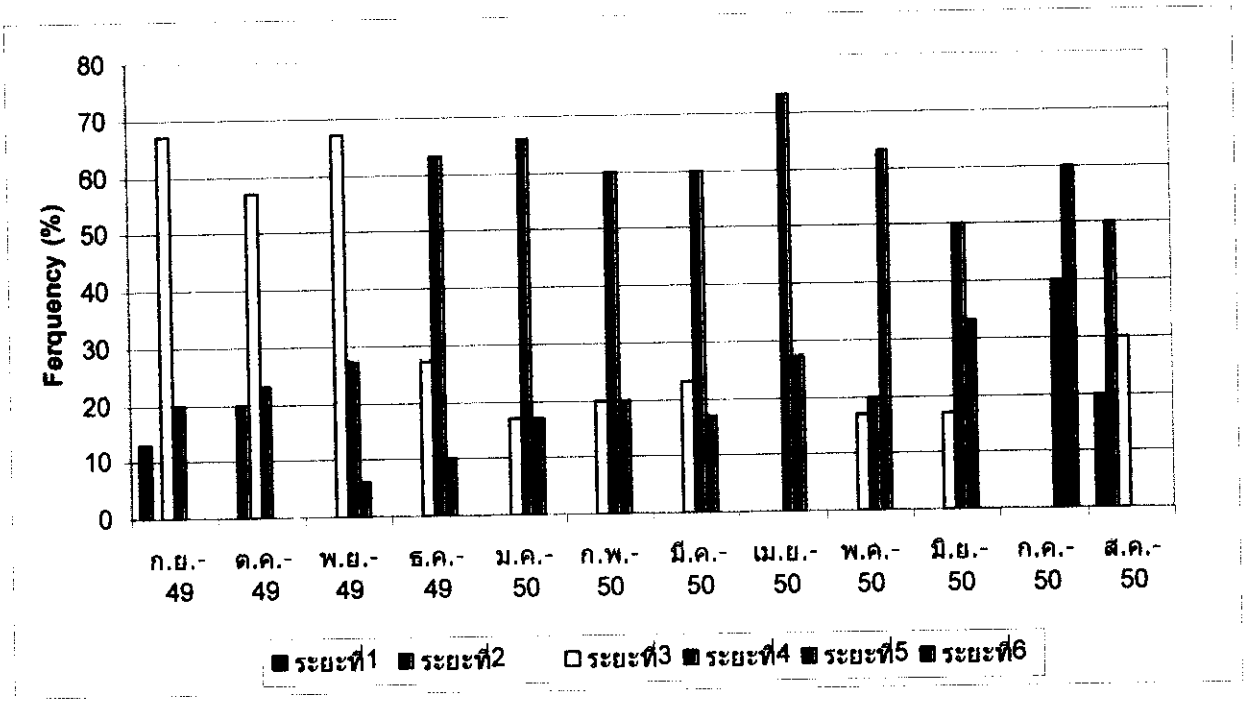
ระยะที่4 = ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)

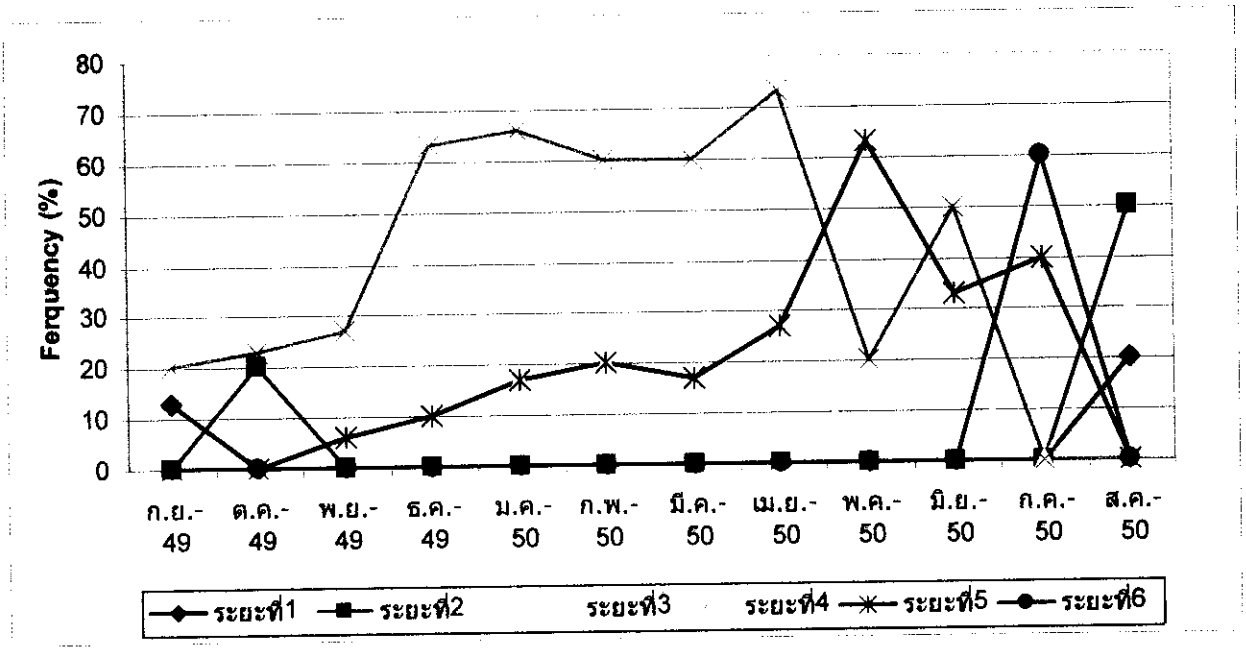
ระยะที่5 = ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage)

ระยะที่6 = ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)

ตารางที่ 10 ค่าความเค็ม อุณหภูมิ และpH ในอ่าวคุ้งกระเบน

เดือน	ความเค็ม	อุณหภูมิ	pH
ก.ย. 49	30	29	8.1
ต.ค. 49	31	30	8.1
พ.ย. 49	33	31	8.0
ธ.ค. 49	33	29	7.9
ม.ค. 50	35	28	8.1
ก.พ. 50	35	28	8.0
มี.ค. 50	36	30	8.2
เม.ย. 50	36	28	8.1
พ.ค. 50	32	29	8.2
มิ.ย. 50	26	31	8.1
ก.ค. 50	39	30	8.0
ส.ค. 50	34	31	8.2





ภาพที่ 23 แสดงระยะต่างๆของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยกระปุกแต่ละเดือนโดย

ระยะที่1 = ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development)

ระยะที่2 = ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development)

ระยะที่3 = ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage)

ระยะที่4 = ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage)

ระยะที่5 = ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage)

ระยะที่6 = ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage)

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของวงจรสืบพันธุ์หอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) จากตัวอย่างหอยกระปุกที่เก็บรวบรวมจาก บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน เป็นเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนกันยายน 2549 ถึง เดือนสิงหาคม 2550 รวม 360 ตัว พบว่าหอยกระปุกไม่สามารถแยกเพศได้จากการดูลักษณะภายนอก เช่น สีเปลือก ขนาด และลักษณะภายใน เช่น สีของเนื้อเยื่อบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ในตอนที่ยังไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องจากไม่มีเกณฑ์ในการแยกแยะและมีสีที่ไม่แตกต่างกัน แต่หลังจากการศึกษาโดยผ่านขั้นตอนพาราฟินเทคนิค ตัดเนื้อเยื่อหนาขนาด 6 ไมโครเมตร ย้อมสี hematoxylin และ eosin แล้ววิเคราะห์ผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าจากหอยกระปุกทั้งหมด 360 ตัว แยกเป็นเพศผู้ 181 ตัว (50 เปอร์เซ็นต์) เพศเมีย 177 ตัว (49 เปอร์เซ็นต์) กะเทย 2 ตัว (1 เปอร์เซ็นต์)

การศึกษาเกี่ยวกับการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกระปุกทางเนื้อเยื่อวิทยา โดยการย้อมสี hematoxylin และ eosin โดยแบ่งตามความแตกต่างกันของขนาด รูปร่าง การติดสีในไซโตพลาสซึม และลักษณะของโครมาทิน พบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบ่งได้เป็น 4 ระยะ และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียแบ่งเป็น 6 ระยะ

เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้ (1) สเปอร์มาโทโกเนีย (spermatogonia) ระยะนี้จะพบเซลล์รูปร่างกลมขนาดเล็กอยู่บริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิล พบไซโทพลาซึมใสติดสีชมพูจางของอีโอซิน (eosin) พบโครมาทินติดสีน้ำเงินจางของฮีมาท็อกไซลิน (hematoxylin) อยู่แบบกระจายภายในนิวเคลียส (2) สเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte) ระยะนี้พบว่าเซลล์มีรูปร่างกลมอยู่ถัดจากสเปอร์มาโทโกเนีย พบไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้มขึ้น โครมาทินติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นและอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นภายในนิวเคลียส (3) สเปอร์มาทิด (spermatid) พบเซลล์มีขนาดเล็กภายในนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นและติดสีน้ำเงินเข้มจัด ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้ม เซลล์อยู่ถัดจากสเปอร์มาโทไซต์เข้ามาในฟอลลิเคิล (4) สเปอร์มาโทซัว (spermatozoa) พบเซลล์มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวเป็นบริเวณนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้ม มีหางเส้นเล็กๆติดสีชมพู เมื่ออยู่รวมกันมากๆจะเห็นเป็นแถบสีชมพู พบอยู่ถัดมาจากสเปอร์มาทิดเข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลโดยหันหางเข้าหาศูนย์กลางฟอลลิเคิล

เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียแบ่งเป็น 6 ระยะ ดังนี้ (1) โอโอโกเนีย (oogonia) ลักษณะของเซลล์เป็นรูปยาวรี อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล ภายในพบนิวเคลียสรูปไข่ ซึ่งมีขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มของฮีมาท็อกไซลิน ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจาง (2) โอโอไซต์ระยะแรก (primary young oocyte) ลักษณะเซลล์เป็นรูปสามเหลี่ยม เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าโอโอโกเนีย อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในพบยูโครมาทินกระจายอยู่ทั่วไปเต็มนิวเคลียสซึ่งติดสีน้ำเงินจางพบเฮทเทอโรโครมาทินบริเวณรอบนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม และพบไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มจะเอียงไปด้านใดด้านหนึ่ง (3) โอโอไซต์ระยะสอง (secondary young oocyte) เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น เซลล์มีลักษณะเกือบเป็นทรงกลม และบางเซลล์เริ่มมีก้านยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินอยู่กระจายกันอย่างหนาแน่น นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นของฮีมาท็อกไซลินกระจายอยู่เต็มในไซโทพลาซึม (4) โอโอไซต์ระยะสาม (previtellogenic oocyte) ลักษณะเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น เริ่มมีการเปลี่ยนรูปร่างไปตามแนวยาวมีลักษณะคล้ายผลลูกแพร์ โดยมีการยึดติดอยู่กับผนังฟอลลิเคิล มีนิวเคลียสกลม ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินกระจายอยู่เต็มนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม ในไซโทพลาซึมพบติดสีน้ำเงิน ส่วนบริเวณก้านที่ยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน แสดงให้เห็นว่าเริ่มมีการสะสมสารอาหารตรงบริเวณก้านที่ติดกับผนังฟอลลิเคิล (5) โอโอไซต์ระยะสี่ (vitellogenic oocyte) ลักษณะเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก มีลักษณะคล้ายหยดน้ำมากขึ้น โดยยังมีก้านแคบและยาวยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มบริเวณรอบๆติดสีม่วงแดง ในไซโทพลาซึมมีการสะสมสารอาหารมากขึ้น โดยบริเวณไซโทพลาซึมจะพบแกรนูลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน กระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์ (6) โอโอไซต์ระยะห้า (matuer oocyte) เซลล์มีรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม มีขนาดใหญ่ พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มรอบๆติดสีม่วงแดง ระยะนี้เซลล์เริ่มมีการเคลื่อนที่เข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลมากขึ้น และพบว่าภายในไซโทพลาซึมมีการสะสมของสารอาหารมากขึ้นแล้วจะเห็นว่าตรงบริเวณไซโทพลาซึมจะเต็มไปด้วยแกรนูลติดสีชมพูแดง

การพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยกระปุกทั้งเพศผู้และเพศเมีย สามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆได้ 6 ระยะ คือ (1) ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development) เป็นระยะเริ่มต้นของเซลล์ ซึ่งในระยะนี้พบว่าเนื้อเยื่อเกี่ยวพันติดสีชมพูแดงของอีโอซิน และมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์บางๆสร้างเป็นฟอลลิเคิล มีกลุ่มเซลล์เป็นจุดเล็กๆติดสีน้ำเงินเข้มรอบบริเวณที่เป็นผนังฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลที่พบยังมีขนาดเล็ก ระยะนี้ในเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะเหมือนกันมากจนไม่สามารถแยกเพศได้ (2) ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development) ฟอลลิเคิลเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น

และหนาขึ้นภายในถุงฟอลลิเคิลเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยบริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิลเริ่มพบว่ามีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ในเพศเมีย ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ระยะโอโอโกเนียซึ่งมีขนาดเล็กจะติดสีน้ำเงินจาง ระยะโอโอไซต์ 1 และระยะโอโอไซต์ 2 ซึ่งระยะโอโอไซต์ทั้งสองนี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ ในเพศผู้ ระยะที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ระยะสเปอร์มาโทโกเนีย และระยะสเปอร์มาโทไซต์ (3) ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage) ผนังของฟอลลิเคิลขยายขนาดใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลน้อยลง ภายในฟอลลิเคิลพบว่ามีเซลล์สืบพันธุ์ขยายขนาดใหญ่ขึ้นและเพิ่มจำนวนมากขึ้น ในเพศเมียพบ โอโอโกเนีย โอโอไซต์ระยะ1, 2, 3และโอโอไซต์ระยะ 4 มากที่สุด ในเพศผู้พบ ระยะสเปอร์มาโทโกเนียที่ผนังฟอลลิเคิล ระยะสเปอร์มาโทไซต์ ระยะสเปอร์มาทิด และบางฟอลลิเคิลเริ่มพบสเปอร์มาโทซัว (4) ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage) พบว่าฟอลลิเคิลขยายใหญ่เต็มที่ทำให้ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างฟอลลิเคิลหายไป ในเพศเมียพบ โอโอไซต์ระยะ 5 ซึ่งเป็นโอโอไซต์ที่สมบูรณ์ (mature oocyte) มีรูปร่างแบบกลม หรือหลายเหลี่ยมอยู่ตรงกลางฟอลลิเคิลอย่างหนาแน่น ในเพศผู้ พบเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปอร์มาโทซัวมากที่สุดทุกฟอลลิเคิลซึ่งส่วนหัวติดสีน้ำเงิน และส่วนหางติดสีชมพู หันส่วนหางเข้าหากันตรงบริเวณศูนย์กลางฟอลลิเคิล (5) ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage) ฟอลลิเคิลไม่สมบูรณ์เหมือนในระยะที่ 4 ผนังฟอลลิเคิลเริ่มแตกออก ในเพศเมียพบว่าโอโอไซต์ระยะ 5 ถูกปล่อยออกไปจากฟอลลิเคิลบางส่วน ทำให้ภายในฟอลลิเคิลไม่อัดแน่นมากเท่ากับระยะที่เซลล์สืบพันธุ์สุก และบางฟอลลิเคิลก็ยังคงพบโอโอไซต์ระยะ 5 หลงเหลืออยู่ในเพศผู้พบสเปอร์มาโทซัวถูกปล่อยออกไปจากฟอลลิเคิลบางส่วนโดยจะเห็นว่าเซลล์สืบพันธุ์ที่เหลืออยู่ภายในฟอลลิเคิลมีลักษณะเป็นหย่อม บางฟอลลิเคิลลูเมนมีขนาดกว้างขึ้น และ (6) ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage) ทั้งเพศผู้และเพศเมียพบว่าสเปอร์มาโทซัวและโอโอไซต์ระยะ5 ถูกปล่อยออกไปจากจนหมดฟอลลิเคิลหรืออาจเหลืออยู่บ้างบางส่วน ฟอลลิเคิลที่ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกไปหมดแล้วก็จะเริ่มเหี่ยวลง

5.2 อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะโดยทั่วไปของหอยกระปุกที่นำมาศึกษาในครั้งนี้พบว่า หอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) เป็นหอยสองฝาขนาดปานกลางรูปร่างภายนอกกลมพอง เปลือกหนา รูปทรงเป็นสามเหลี่ยมหรือรูปไข่ส่วนท้ายตัวโค้งและตัดตรงลงสู่ด้านล่างของตัว เปลือกด้านนอกเห็นเป็นสันที่มีลักษณะเป็นตุ่มเรียงตัวในแนวตั้ง หรือแยกออกเป็นสองทางในบางสัน สีเปลือกเป็นสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล บางครั้งเปลือกอาจมีสีเขียวเนื่องจากมีตะไคร่มาเกาะที่บริเวณเปลือก ด้านในเปลือกมีสีขาวเป็นมันวาว หรืออาจมีแต้มสีม่วงอยู่ด้านใต้อัมโบซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วราริน วงษ์พานิช และราตรี สุขสุวรรณ์ (มปป) และกิตติสุดา วรเชษฐ์ (2544) ขนาดที่นำมาศึกษามีความยาวเปลือกระหว่าง 3.20 ± 0.79 - 3.68 ± 0.62 เซนติเมตร โดยมีความยาวเฉลี่ย 3.40 ± 0.20 เซนติเมตร ความกว้างของเปลือกอยู่ระหว่าง 2.76 ± 0.26 - 3.19 ± 0.52 เซนติเมตร โดยมีความกว้างเฉลี่ย 2.95 ± 0.36เซนติเมตร และน้ำหนักเนื้อเฉลี่ย 1.79 ± 0.45 กรัม (n=360) ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงและสอดคล้องกับรายงานของกิตติสุดา วรเชษฐ์ (2544) ที่ศึกษาความหลากหลายของหอยสองฝาในอ่าวคุ้งกระเบนแล้วพบว่าหอยกระปุกมีความกว้างเปลือกตั้งแต่ 1.3 - 2.7 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.75 เซนติเมตร มีความยาวตั้งแต่ 1.5 - 2.7 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.1 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 4.7 กรัม

เมื่อดูลักษณะภายใน พบว่าลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยกระปุกทั้งเพศผู้และเพศเมียมีความใกล้เคียงกันมากเมื่อแกะเปลือกพบว่าหอยกระปุกมีเนื้อสีขาวครีม ทั้งเพศผู้และเพศเมีย เมื่อดูจากลักษณะภายในนั้นไม่สามารถแยกเพศของหอยกระปุกได้เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พวงผกา บำรุงราษฎร์ (2549) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยเสียบแล้วพบว่าหอยเสียบไม่สามารถแยกเพศได้จากการดูลักษณะภายนอกและภายในและวิราวรรณ มีแจ้ง (2543) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์หอยหมู บริเวณบ้านบางโปรง พบว่าหอยหมูไม่สามารถแยกเพศได้จากการดูลักษณะภายในและภายนอกเนื่องจากมีลักษณะเหมือนกันทุกประการ แต่ในรายของ สุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) และชุตินันท์ ศรีสัมพันธ์ (2544) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครงพบว่า หอยแครงสามารถแยกเพศได้จากลักษณะภายนอก และสามารถแยกเพศได้ดูจากลักษณะภายในโดยที่อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียจะมีสีส้มเข้มและสีส้มจางอยู่ที่รังไข่ ในเพศผู้จะเห็นสีขาวครีมอยู่ล้อมรอบทางเดินอาหาร

การศึกษาลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกระปุก ซึ่งจากการศึกษาสามารถแบ่งพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกระปุกได้ 6 ระยะ ได้แก่ ระยะก่อนการพัฒนา (Prefollicular development) ระยะเริ่มพัฒนาการ (Initial development) ระยะกำลังพัฒนาการ (Developing stage) ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (Mature stage) ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน (Partiallym spawed stage) และระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent stage) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของศิริวรรณ แววสวัสดิ์ (2549) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด พวงผกา บำรุงราษฎร์ (2549) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยเสียบ คเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์ (2540)ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ จากบริเวณหาดบางแสน จ.ชลบุรี วิราวรรณ มีแจ้ง (2543) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยหมู บริเวณบ้านบางโปรง จ.ชลบุรี อัมพร อุดมศักดิ์สกุล (2543) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์หอยถ่าน บริเวณบ้านบางโปรง จ.ชลบุรี และHesselmam, Barber and Blake (1989)ได้ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ในหอย hard clams, *Mercenaria* spp. นอกจากนี้รายงานบางเล่มแบ่งการพัฒนาการของเซลล์อวัยวะสืบพันธุ์หอยเป็น 5 ระยะ เช่น สุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครง ชุตินันท์ ศรีสัมพันธุ์ (2544) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยแครงบริเวณเมืองใหม่ จ.ชลบุรี สุนันทร์ ทวยเจริญ, วัฒนา ภู่เจริญ และปรานอม เบ็จมาลย์ (2526) ศึกษาการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครงเต็มวัยและสภาพแวดล้อมที่ จ.สมุทรสงคราม และเพชรบุรี Eversole and Michener (1980) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของ *M.mercenaria* Heffernan and Walker (1989) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของ *Geukensia demissa* (Dillwyn, 1817) ซึ่งพบว่าหอยมีการพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียแบ่งออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะเริ่มพัฒนา การ ระยะกำลังพัฒนาการ ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์บางส่วน และระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ บางรายงานของ Baron. J (1992) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอย *Atactodea striata* (Gmelin), *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) และ *Anadara scapha* ใน New Caledonia Breber (1980) ได้ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของ *Venerupis decussate* ได้แบ่งการพัฒนา การเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะยังไม่มีการพัฒนา ระยะกำลังพัฒนา ระยะ เซลล์สืบพันธุ์สุก และระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ แต่ไม่ว่าจะเป็น 4, 5 หรือ 6 ระยะโดยทั่วไปหอยสองฝาทั้งเพศผู้และเพศเมียจะมีวิธีการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ที่คล้ายกัน คือ

ในเพศเมียระยะแรกจะเกิดขึ้นที่บริเวณผนังฟอลลิเคิลโดยจากการแบ่งตัวแบบไมโทซิสของเซลล์สืบพันธุ์ ตามผนังฟอลลิเคิลให้โอโอโกเนีย ซึ่งจะแบ่งไมโอซิสให้โอโอไซต์ซึ่งในระยะนี้เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะเข้าสู่ระยะก่อนให้การกำเนิดไข่แดง ซึ่งจะมีการเพิ่มปริมาณนิวเคลียสและไซโทพลาซึม อย่างช้าๆและเมื่อถึงระยะที่มีการให้กำเนิดไข่แดง และพบว่าเริ่มมีการสะสมอาหารได้แก่ ไข่แดง ไขมัน และไกลโครเจน เมื่อโอโอไซต์อยู่ในระยะที่สมบูรณ์แล้วจะเคลื่อนที่จากผนังฟอลลิเคิลเข้าสู่ส่วนกลางของช่องว่างฟอลลิเคิล แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีบางส่วนที่ยังยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลโดยก้านบางๆ เมื่อได้ขนาดก็จะหลุดออกจากก้านเข้าสู่ลูเมนพร้อมที่จะถูกขับออกสู่ภายนอก การแบ่งเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นเรื่อยๆจนได้ไข่ที่จะวางและผสมพันธุ์

ในเพศผู้ขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เริ่มต้นจาก primary germ cell มีการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิส ของเซลล์สืบพันธุ์ระยะแรก ที่อยู่รอบผนังรอบฟอลลิเคิล จากนั้นพัฒนาเป็น spermatogonia จากนั้น spematogonia พัฒนาไปเป็น primary spermatocyte และ secondary spermatocyte ตามลำดับ ซึ่งระยะนี้มีการแบ่งเซลล์เร็วมาก ได้ spermatid และพัฒนาเป็น spermatozoa ซึ่งเกิดในช่องว่างภายในของฟอลลิเคิล เมื่อจำนวนของ spermatozoa เพิ่มมากขึ้น จำนวนเซลล์ในระยะต้นๆจะลดลง ในระยะmature ภายในfollicle เต็มไปด้วยspermatozoa พบว่าลักษณะของspermatozoa ในหอยสองฝาที่ต่างสปีชีส์กันจะไม่แตกต่างกันนัก ขบวนการสร้างสเปิร์มเมื่อพัฒนาถึงระยะสุดท้าย gonad จะเข้าสู่ระยะ resting เพื่อเตรียมตัวสร้างเสปิร์มใหม่ หอยที่วางไข่และปล่อยเชื้อตัวผู้หมดแล้ว ลักษณะถุงฟอลลิเคิลจะเหี่ยวลง หลังจากจะมีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันขึ้นมาแทนในถุง และระหว่างถุงซึ่งอวัยวะสืบพันธุ์จะเข้าสู่ระยะเตรียมพร้อมฟอลลิเคิลใหม่และพร้อมที่จะสร้างใหม่อีกครั้ง ซึ่งหอยแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาของการพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ที่แตกต่างกันไป (Giese and John, 1979)

โดยการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ออกเป็น 4 ระยะ คือ สเปอร์มาโทโกเนีย สเปอร์มาโทไซต์ สเปอร์มาทิด สเปอร์มาโทซัว โดยดูจากขนาด รูปร่าง การติดสีของ hematoxylin และ eosin และตำแหน่งเซลล์ในฟอลลิเคิล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวรรณภา กสิฤกษ์ (2543) ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *M.meretrix* ศิริวรรณ แววสวัสดิ์ (2549) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด สุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครง Suwanjarat (1999) อ้างในสุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) ที่ศึกษาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหอยแครง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าสเปอร์มาโทโกเนีย พบเซลล์รูปร่างกลมขนาด

เล็กอยู่บริเวณรอบๆผนังฟอลลิเคิล พบไซโทพลาซึมใสติดสีชมพูจางของอีโอซินพบ โครมาทินติดสีน้ำเงินจางของฮีมาท็อกไซลินอยู่แบบกระจายภายในนิวเคลียส สเปอร์มาโทไซต์ พบเซลล์รูปร่างกลมอยู่ถัดจากสเปอร์มาโทโกเนีย พบไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้มขึ้น โครมาทินติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นและอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นภายในนิวเคลียส สเปอร์มาทิด พบเซลล์มีขนาดเล็กกว่าสเปอร์มาโทไซต์ ภายในนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นและติดสีน้ำเงินเข้มจัด ไซโทพลาซึมติดสีชมพูม่วงเข้ม เซลล์อยู่ถัดจากสเปอร์มาโทไซต์เข้ามาในฟอลลิเคิล และสเปอร์มาโทซัว พบเซลล์มีขนาดเล็กที่สุด ประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวเป็นบริเวณนิวเคลียสพบโครมาทินอยู่รวมกันอย่างหนาแน่นติดสีน้ำเงินเข้ม มีหางเส้นเล็กๆติดสีชมพู เมื่ออยู่รวมกันมากๆจะเห็นเป็นแถบสีชมพู พบอยู่ถัดมาจากสเปอร์มาทิดเข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลโดยหันหางเข้าหาศูนย์กลางฟอลลิเคิล จากการพิจารณาการแบ่งระยะต่างๆในเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ค่อนข้างที่จะทำได้ยากเพราะเซลล์มีขนาดเล็กมากประกอบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาในการศึกษาจึงไม่สามารถบอกถึงรายละเอียดที่ชัดเจนได้ ซึ่งหากเราต้องศึกษาให้เห็นความแตกต่างของแต่ระยะมากกว่านี้จะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนในการศึกษาเพราะจะทำให้เห็นรายละเอียดมากกว่านี้

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียออกเป็น 6 ระยะ โดยแบ่งเป็นโอโอโกเนีย 1 ระยะและโอโอไซต์ 5 ระยะ ตามขนาด รูปร่าง การติดสีของ hematoxylin และ eosin และตำแหน่งเซลล์ในฟอลลิเคิลซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวรรณภา กสิฤกษ์ (2543) ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *M.meretrix* ศิริวรรณ แววสวัสดิ์ (2549) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด คเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์ (2540) ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับจากบริเวณหาดบางแสน จ.ชลบุรี สุทธิลักษณ์ แข่งขัน (2549) ที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครง Eversole (1989), Dohmen (1983) และ Raven (1966) ซึ่งได้กล่าวถึงกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยสองฝาแล้วพบว่าโอโอโกเนีย เซลล์เป็นรูปยาวรีมีขนาดเล็ก อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล ภายในพบนิวเคลียสรูปไข่ ซึ่งมีขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์ ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินจาง โอโอไซต์แรกเซลล์เป็นรูปสามเหลี่ยม เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าโอโอโกเนีย อยู่ตรงบริเวณผนังฟอลลิเคิล นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ ภายในพบยูโครมาทินกระจายอยู่ทั่วไปเต็มนิวเคลียสซึ่งติดสีน้ำเงินจาง โอโอไซต์ระยะสอง เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น เซลล์มีลักษณะเกือบเป็นทรงกลม และบางเซลล์เริ่มมีก้านยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินอยู่กระจายกันอย่างหนาแน่น

นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นของฮีมาท็อกไซลิน กระจายอยู่เต็มในไซโทพลาซึม โอโอไซต์ระยะสาม เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น เริ่มมีการเปลี่ยนรูปร่างไปตามแนวยาว มีลักษณะคล้ายผลลูกแพร์ โดยมีการยึดติดอยู่กับผนังฟอลลิเคิล มีนิวเคลียสกลม ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาทินกระจายอยู่เต็มนิวเคลียส นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้ม ในไซโทพลาซึมพบติดสีน้ำเงินส่วนบริเวณก้านที่ยึดติดกับผนังฟอลลิเคิลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน แสดงให้เห็นว่าเริ่มมีการสะสมสารอาหารตรงบริเวณก้านที่ติดกับผนังฟอลลิเคิล ส่วนโอโอไซต์ระยะสี่ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก มีลักษณะคล้ายหยดน้ำมากขึ้น โดยยังมีก้านแคบและยาวยึดติดกับผนังฟอลลิเคิล พบนิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มบริเวณรอบๆติดสีม่วงแดง ในไซโทพลาซึมมีการสะสมสารอาหารมากขึ้น โดยบริเวณไซโทพลาซึมจะพบแกรนูลติดสีชมพูแดงของอีโอซิน กระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์ และโอโอไซต์ระยะห้า เซลล์มีรูปร่างกลมหรือหลาย เหลี่ยม นิวคลีโอลัสติดสีน้ำเงินเข้มรอบๆติดสีม่วงแดง ระยะนี้เซลล์เริ่มมีการเคลื่อนที่เข้าสู่ศูนย์กลางของฟอลลิเคิลมากขึ้น และพบว่าภายในไซโทพลาซึมมีการสะสมของสารอาหารมากขึ้นแล้วจะเห็นว่าตรงบริเวณไซโทพลาซึมจะเต็มไปด้วยแกรนูลติดสีชมพูแดง

ส่วนฤดูกาลวางเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกระปุกพบว่ามีการผสมพันธุ์วางไข่ตลอดทั้งปี แต่จะมีปริมาณน้อยแตกต่างกันไปในแต่ละเดือน โดยเริ่มพบระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ตั้งแต่เดือนกันยายนจนถึงเดือนมิถุนายน และพบระยะนี้มากสุดในเดือนธันวาคม มกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน ร้อยละ 63, 66, 60, 60 และ 73 ตามลำดับ และมีการวางไข่ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2549 จนถึงเดือนกรกฎาคม 2550 และพบระยะนี้มากสุดในเดือนพฤษภาคม ถึงร้อยละ 63 มิถุนายน ร้อยละ33 กรกฎาคม ร้อยละ40 ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับ Buron. J (1992) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอย, *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798), *Atactodea striata* (Gmelin) และ *Anadara scapha* ใน New Caledonia แล้วพบว่าหอย *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) เซลล์สืบพันธุ์สุกในช่วงเดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนเมษายน และวางเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงเดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนมิถุนายน

นอกจากข้างต้นแล้วยังมีการศึกษาของ สุนันท์ และคณะ (2532) ที่ศึกษาการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกะพง *Aarcuatula arcuatula* ที่บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดชลบุรี แล้วพบว่าหอยกะพงมีช่วงวางเซลล์สืบพันธุ์ 2 ช่วงคือช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคมกับช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม สุนันท์และประนอม (2534) ได้ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยตลับ *M.meretrix* บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด แล้วพบว่าหอยตลับมีช่วงการวางเซลล์สืบพันธุ์ 2 ช่วงคือ ช่วงเดือนกรกฎาคม กับ ช่วงเดือนมกราคม รัชฎา (2537) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตะโกรม *Crassostrea belcheri* ในอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าหอยตะโกรม มีช่วงวาง

เซลล์สืบพันธุ์ 2 ช่วงคือ ช่วงเดือนกุมภาพันธ์จนถึงมิถุนายน และช่วงระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน ศิริวรรณ แววสวัสดิ์ (2549)ได้ศึกษาวงจรการสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix casta* (Gmelin, 1791) บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด ดเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์ (2540) ที่ศึกษาพัฒนาการของเซลล์เพศและวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ จากบริเวณหาดบางแสน จ.ชลบุรี พบว่าหอยตลับมีช่วงเวลาการวางเซลล์สืบพันธุ์ออกเป็น 2 ช่วงได้แก่ช่วงเดือนพฤษภาคมและเดือนกันยายน

จากการศึกษาฤดูกาลวางไข่ของหอยกระปุกพบว่าช่วงเวลาการวางไข่จะเกิดขึ้นตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2549 จนถึงเดือนกรกฎาคม 2550 และพบระยะนี้มากสุดในเดือนพฤษภาคม ถึงร้อยละ 63 มิถุนายน ร้อยละ 33 กรกฎาคม ร้อยละ 40 ซึ่งอาจจะเป็นผลเนื่องมาจากฤดูกาล จะเห็นได้ว่าเดือนพฤษภาคมเป็นช่วงฤดูร้อน ซึ่งสอดคล้องกันรายงานของ Baron. J (1992) ที่ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอย, *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798), *Atactodea striata* (Gmelin) และ *Anadara scapha* ใน New Caledonia แล้วพบว่าหอย *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) วางเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุดในช่วงฤดูร้อน โดยในฤดูร้อนจะมีผลต่อคุณภาพน้ำทะเลทั้งอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเล โดยช่วงฤดูร้อนนั้นจะทำให้อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลสูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งทั้ง 2 ปัจจัยน่าจะเป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะกระตุ้นการวางไข่ของหอยกระปุกได้ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hadfield et al., n.d. พบว่าหอย *A.trapezia* ในประเทศออสเตรเลีย บริเวณเมืองซิดนีย์ มีการวางไข่ในช่วงฤดูร้อน เพราะเกิดจากการที่อุณหภูมิของน้ำทะเลสูงขึ้นและค่าของความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นการวางไข่ของหอย *A.trapezia*

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะมีการศึกษาเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน เพื่อให้เห็นถึงรายละเอียดที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

2. ควรจะมีการศึกษาโดยการนำหอยกระปุก *Gafrarium tumidum* (Roding, 1798) มาเลี้ยงในห้องวิจัย โดยทำการทดสอบปัจจัยต่างๆที่จะน่าจะมีผลต่อการสืบพันธุ์

3. ควรมีการศึกษาทางด้านอื่นๆเพิ่มเติม เช่น เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท หรือชีววิทยาทางด้านอื่นของหอยกระปุกนี้เพื่อเป็นพื้นฐานที่สำคัญกับผู้ที่สนใจในด้านการเพาะเลี้ยงต่อไป

บรรณานุกรม

กิตติสุดา วรเชษฐ์. (2544). *ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของหอยในอ่าวคุ้งกระเบน ณ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ: กรณีศึกษาหอยสองฝาในป่าชายเลน*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาชีววิทยาวิทยาศาสตร์ประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, สถาบันราชภัฏจันทรเกษม.

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. (2544). *การเพาะเลี้ยงหอย* (*Mollusk Aquaculture*). ภาควิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

คเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์. (2540). *การศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยสองฝาบางชนิดจากบริเวณหาดบางแสนและอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี*. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

จารุนันท์ ประทุมยศ, สุขใจ รัตนยุวกร และสันติ เอี่ยนเหล็ง. (2539). *องค์ประกอบในกระเพาะอาหารและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยนางรมบริเวณอ่าวศิลา จังหวัดชลบุรี*. เอกสารงานวิจัยเลขที่74 . สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

จิโรจน์ พีระเกียรติขจร และวัฒนา วัฒนกุล. (2543). *การศึกษาฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยตะเภาบริเวณ อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง*. รายงานการวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

ชุดินันท์ ศรีสัมพันธ์. (2544). *วงจรสืบพันธุ์ของหอยแครง* (*Anadara granosa*) *จากบริเวณเมืองใหม่จังหวัดชลบุรี*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

ถาวร ธรรมเศวต, วิรัช ภัทรภิญโญ, จินตนา นักระนาด และคมน์ ศิลปาจารย์. (2530). *ชีววิทยาของหอยแครงศึกษาจากแหล่งปล่อยพ่อแม่พันธุ์และแปลงทดลองเลี้ยงที่อ่าวสวี บ้านทุ่งคา อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 43. กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง.

นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร. (2542). *สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง*. ภาควิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์. (2547). *สัตววิทยา*. พิมพ์ครั้งที่4. มหาวิทยาลัยเกษตรสาสตร์, กรุงเทพฯ.

พวงผกา บำรุงราษฎร์. (2549). *ลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยเสียบ (Donax faba)*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาวาริชสาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

รัชฎา ขาวหนูนา. (2537). *วงจรสืบพันธุ์ของหอยตะโกรม Crassostrea belcheri* (Sowerby) *ในอ่าวบ้านคอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี*. เอกสารวิชาการเลขที่ 16. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสุราษฎร์ธานี, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, กรมประมง.

วราริน วงษ์พานิช และราตรี สุขสุวรรณ์. (มปป). *หอย : พันธุ์สัตว์*. โครงการแผนที่ภูมิทัศน์ภาคใต้ : ฐานเศรษฐกิจและทุนวัฒนธรรม.

วรรณภา กสิฤกษ์. (2543). *พัฒนาการของเซลล์เพศและวงการสืบพันธุ์ของหอยตลับ Meretrix meretrix* (Linanaeus, 1758) *จากบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

วัฒนา อยู่สุข. (2537). *การศึกษาชนิดของหอยสองฝาบริเวณ จังหวัดชลบุ รี- สุราษฎร์ธานี*. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วันทนา อยู่สุข. (2528). *หอยทะเล*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิราวรรณ มีแจ้ง. (2543). *วงจรสืบพันธุ์ของหอยหมู (Anomalocardia squamosa) บริเวณบ้านบางโปรง จ.ชลบุรี*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ศิริวรรณ แววสวัสดิ์. (2549). *วงจรการสืบพันธุ์ของหอยตลับ Meretrix casta* (Gmelin, 1791) *บริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จ.ตราด*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล, คณะเทคโนโลยีทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (2538). *ป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน*. วีโอไฟล์ จำกัด, จันทบุรี.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (2541). *หนึ่งทศวรรษงานวิชาการโครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ*. ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ, จันทบุรี.

สมนึก ใช้เทียมวงศ์. (2521). *งานอนุกรมวิธานสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังจำพวกหอย*. กองประมงทะเล, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุขใจ รัตนยุวกร ศิริวรรณ แววสวัสดิ์ บัญชา นิลเกิด และคเชนทร เฉลิมวัตน์. (2550). *ชีววิทยาบางประการและฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว Meretrix casta* (Gmelin, 1791)*บริเวณชายฝั่งทะเลแหลมกลัด จังหวัดตราด*. วารสารบัณฑิตศึกษาราชภัฏอุดรธานี, 1(1) : 15-21.

สุชาติ อุปถัมภ์, มาลียา เครือตาชู, เยาวลักษณ์ จิตรามวงศ์ และศิริวรรณ จันทเตมีย์. (2538). *สังขวิทยา*. กรุงเทพฯ : ศักดิ์โสภาการพิมพ์.

สุทธิลักษณ์ แข่งขัน. (2549). *ลักษณะโครงสร้างและพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครง (Anadara granosa)*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุนันท์ ทวยเจริญ. (2530). *ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยลายที่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14. ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุนันท์ ทวยเจริญ และประนอม พรมผาย. (2534). *สภาวะแวดล้อมบางประการที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหอยตลับ*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง.

สุนันทร์ ทวยเจริญ, วัฒนา ภู่เจริญ และปรานอม เบ็จมาลย์. (2526). *ศึกษาการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครงเต็มวัยและสภาพแวดล้อมที่ จังหวัดสมุทรสงครามและเพชรบุรี*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 26. ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุนันท์ ทวยเจริญ, วัฒนา ภู่เจริญ และปรานอม พรมผาย. (2532). *ฤดูกาลเปลี่ยนแปลงของอวัยวะเพศของหอยกะพงที่จังหวัดชลบุรี*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 20. กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุนันท์ ทวยเจริญ และเอกลักษณ์ แซ่โล้ว. (2529). *การเจริญของเซลล์อวัยวะเพศในหอยแมลงภู่ ที่อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี และที่หมู่บ้านแสมขาว จังหวัดเชิงเทรา*. กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อัมพร อุดมศักดิ์สกุล. (2543). *วงจรสืบพันธุ์ของหอยถ่าน (Hiatula diphos) บริเวณบ้านบางโปรง ต. อ่างศิลา จ. ชลบุรี*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

Baron, J. (1992). Reproductive Cycle of the bivalve Mollusca *Atactodea striata* (Gmelin), *Gafrarium tumidum* and *Anadara scapha* in New Caledonia. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 43, 393-402.

Breber, P. (1980). Annual Gonadal Cycle in The Carpet Shell Clams *Venerupis decussatea* in Venice . *Research Article*, 3, 20-29.

Bunjamine Dharma. (1992). *Siputdan Kerang Indinesia shell.* Sarana Graha jakata, Indonesia. 180 p.

Dohmen, M.R. (1983). *Gametogenesis in TheMollusca Vol.3. Development.* Utrecht : Acadamic Press, Inc.

Eversole, A.G. (1989). Gametogenesis and spawning in north America clam population: Implication for culture in clam mariculture in north America. *Elsevier science publisher*, 75 - 103.

Eversole, A.G., Michener, W.K. (1980). *Reprodutive Cycle of Mercenaria mercenaria in a south Carolina Estuary.* Proc. Of the National Shellfishheries Association. 70 : 22-30 .

Giese, A.C., and Pearse, J.S. (1979). *Reproduction of Marine Invertebrate Volum 5.* New York : Academic Press.

Gil, G. and thome, J.W. (2004). *descricao do ciclo reprodutive de Donax hanleyanus (Bivalvia : Donacidae) no sul do Brasil.* Iheringia, Ser. Zoool., porto Alegre, 94 (3), 271-276.

Goggin, C.L. (1994). Gonadal development of the hairy mussel Trichomya hursuta (Mollusca:Bivalvia) from Lake Macquarie, New south Wales, *Mollusca Research*.15:21-28.

Hadfield, A.J. and Anderson, D.T., n.d. *Reproductive cycles of the bivalve mollusks Anadara trapezia (deshayes), Venerupis crenata Lamarck and Anomia descripta Iredale in the Sydney region.*

Hefferman , P.B. andWallker, R.L. (1989). Gametogenic Cycles of Three Marine Bivalves in Wassaw Sound, Georgia lll *Geukensia Demissa* (Dillwyn, 1817). *J. of Shellfish Research.* 8 : 327-334.

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

Jasim, A.K., and Brand, A.R. 1989. Observation on the Reproduction of *Modiolus modiolus* in isle of man water *.J.mar.biol.Ass.U.K* .69 : 373 -3 85.

Kim, Y., K. A., Ashton-Alcox, andPowell, E. N. (2006). *Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs: Update*. NOAA Technical Memerandum NOS NCCOS27, Maryland, 76 pp.

Kotpal, R.L. (1979). *Mollusca*. Meerut : Rastogi Publication.

Lagoon. (1980). *"Proc.Nat" shellf.* Assoc. 70(3) : 35.

Luna, L.G. (1960). *Manual of Histologic staining Methods of the Arned Forces Institute of Pathology*. New York : McGraw-Hill Book.

Metzner, J.A., Herrmann, M., laudien, J. and Penchaszadeh, P.E. (2006). Reproductivecycle of the Argentinean Surf clam *Donax hanleyanus* (Bivalvia : Donacidae). *Journal of Shellfish Research*, 13, 35-38.

Pechenik, J.A. (1996*). biology of invertebrate*, 3 th, Wm.C. Brown Publishers.

Raven, C.P. (1966). *Morphogenesis : The Analysis of Mollusca development*. New york : Pergamon Press.

Suwanjarat, J. (1999). *Ultrastructure of the spermatogenesis of the cokle Anadara granosa . (Bivalvia : Arcidae)*. Department of Biology, faculty of Science, prince of Songkla University.

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. น้ำยาคงสภาพ Neutral Buffered Formalin (pH 7)

Formalin, 37-40%	100	มิลลิลิตร
Distilled water	900	มิลลิลิตร
Sodium phosphate dibasic (anhydrous)	6.50	กรัม
Sodium phosphate monobasic	4.00	กรัม

2. สีย้อม Harris Hematoxylin (Luna, 1960)

Hematoxylin crystal	5.00	กรัม
Absolute alcohol	50	มิลลิลิตร
Ammonium alum	100	กรัม
Mecuric oxide	2.50	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ต้มน้ำให้เดือดแล้วเติม Ammonium alum คนให้ละลาย ละลายผง Hematoxylin ลงใน Absolute alcohol แล้วเติมลงในสารละลายที่กำลังเดือด คนให้เข้ากัน หลังจากนั้นยกบีกเกอร์ลงจากเตา แช่ในภาชนะที่มีน้ำหล่อเย็น เติม Mecuric oxide ลงไปช้าๆ ทีละน้อย คนให้สารละลายเข้ากันจนได้สีน้ำเงินเข้ม เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล (เติม glacial acetic acid 2-4 มิลลิลิตร/100 มิลลิลิตรของสารละลายก่อนใช้)

3. สีย้อม Eosin-phloxine Solution (Luna, 1960)

Stock eosin

Eosin Y	1.00	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

Stock phloxine

Phloxine B	1.00	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

Working solution

Stock eosin	100	มิลลิลิตร
Stock phloxine	10	มิลลิลิตร
5 % alcohol	780	มิลลิลิตร

glacial acetic acid	4	มิลลิลิตร

เติม glacial acetic acid 0.5 มิลลิลิตร ของ Working solution ก่อนใช้

4. Acid alcohol 1 %

Alcohol 70 %	1,000	มิลลิลิตร
Hydrochloric acid	10	มิลลิลิตร

5. Ammonium water 0.2 %

Ammonium hydroxide, 28 %	2.3	มิลลิลิตร
Tap water	1,000	มิลลิลิตร

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นายโสภณ	ชื่อสกุล สุขสวัสดิ์
วัน เดือน ปีเกิด	13 มิถุนายน 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดระยอง
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	53/4 ม. 5 ซ.เทศบาล ต.สำนักท้อน อ.บ้านฉาง จ.ระยอง 21130
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2540	ประถมศึกษาโรงเรียนอุดมวิทยานุกูล อ.บ้านฉาง จ.ระยอง
พ.ศ.2543	มัธยมศึกษาตอนต้นโรงเรียนบ้านฉางกาญจนกุลวิทยา อ.บ้านฉาง จ.ระยอง
พ.ศ.2546	มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนบ้านฉางกาญจนกุลวิทยา อ.บ้านฉาง จ.ระยอง
พ.ศ.2550	วิทยาศาสตรบัณฑิต คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา