บทที่ 2

สำรวจเอกสาร

หอยกาบน้ำจืด เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในไฟลัมมอลลัสกา (Phylum Mollusca) อยู่ในชั้นหอยสองฝา (Class Pelecypoda) ลักษณะที่สำคัญของหอยกาบน้ำจืดในวงศ์ Amblemidae คือ เปลือกมีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ขนาดของเปลือกเท่ากันทั้งสองข้างและปิดได้สนิท เปลือกด้านในมีสีมุก มีกล้ามเนื้อยึดเปลือก 2 แห่ง มีเอ็นยึดเปลือกอยู่ด้านนอก บานพับของเปลือกมีรูปร่างแตกต่างกัน อาจมีหรือไม่มีฟัน (pseudocardinal) มีแผ่นเหงือกซึ่งในฤดูสืบพันธุ์จะทำหน้าที่เป็นถุงเลี้ยงตัวอ่อน (marsupium) หอยกาบน้ำจืดมีวิธีกินอาหารโดยการใช้เหงือกที่มีซีเลียกรองอาหารจากน้ำ (ciliary filter - feeding) พบอาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำจืดทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Brandt, 1974)

ในสภาพธรรมชาติหอยกาบน้ำจืดมีวงชีวิตที่มีความสัมพันธ์กับปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ กล่าวคือ ในระยะตัวอ่อนที่เรียกว่าโกลคิเดียม (glochidium) จะเข้าเป็นปรสิต โดยเกาะตามอวัยวะต่างๆ เช่น เหงือก ครีบ หาง ของปลาหรือสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ จากนั้นจะพัฒนาจนมีลักษณะที่เหมือนพ่อแม่จึงหลุดจากโฮสท์ แล้วจะดำรงชีวิตเป็นอิสระและเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป การมีวงชีวิตในระยะตัวอ่อนที่เฉพาะตัวเช่นนี้ นับว่าหอยกาบน้ำจืดมีพฤติกรรมการปรับตัวในการอยู่รอดได้เป็นอย่างดี ซึ่งเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้หอยกาบน้ำจืดมีการกระจายพันธุ์อยู่ทั่วโลก

ในทางอุตสาหกรรมได้มีการนำเปลือกหอยกาบน้ำจืดมาทำเป็นนิวเคลียสในการเพาะเลี้ยงหอยมุกทะเล (Pennak, 1978) และการนำชั้นมุกมาประกอบเครื่องประดับและเฟอร์นิเจอร์ต่างๆ หลากหลายรูปแบบ รวมทั้งยังมีการทำอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืดอย่างแพร่หลาย ได้แก่ ในประเทศญี่ปุ่น อินเดีย จีน ออสเตรเลีย รัสเซีย และเยอรมัน สำหรับในประเทศไทยได้เริ่มมีการทดลองเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืดที่จังหวัดกาญจนบุรี (อรภา นาคจินดา และคณะ, 2532; สมศักดิ์ ปัญหา, 2535 และ Panha and Kosavititkul, 1997) โดยที่ไข่มุกน้ำจืดมีสีสันสวยงามแวววาวและมีความคงทน นอกจากนี้หอยกาบน้ำจืดยังมีความสำคัญในการจัดการด้านสิ่งแวดล้อมด้วย โดยหอยกาบน้ำจืดมีคุณสมบัติเหมาะสมในการเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาพของแหล่งน้ำ (biological indicator) ในแหล่งน้ำจืดได้ดี (Hameed *et al.*, 1993) ซึ่งจะเห็นได้ว่าหอยกาบน้ำจืดมีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างยิ่ง

การจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธานของหอยกาบน้ำจืดในประเทศไทย

การศึกษาอนุกรมวิธานของหอยกาบน้ำจืดในประเทศไทยจนถึงปัจจุบัน พบว่ายังมีอยู่น้อยมาก ที่สำคัญได้แก่งานของ Brandt (1974) ซึ่งได้รายงานการจำแนกหอยกาบน้ำจืด โดยวิธีการเปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคของเปลือกและตัวเต็มวัย ไว้ใน Superfamily Unionacea โดยมีทั้งหมด 2 วงศ์ ได้แก่วงศ์ Margaritiferidae Henderson, 1929 ซึ่งพบเป็นฟอสซิลชนิดเดียวคือ *Margaritanopsis laosensis* (Lea, 1969) และวงศ์ Amblemidae Rafinesque, 1820 ซึ่งเป็นวงศ์ที่ตั้งขึ้นใหม่ โดยแต่เดิมหอยในวงศ์ Amblemidae นี้ ได้ถูกจัดไว้ในวงศ์ Unionidae แต่ Brandt ได้จำแนกใหม่ด้วยลักษณะที่แตกต่างกันชัดเจน คือ หอยในวงศ์ Unionidae นั้น ในระยะตัวอ่อนที่เรียกว่า โกลคิเดียม จะมีเปลือกเป็นรูปทรงสามเหลี่ยม (triangula) ในขณะที่หอยในวงศ์ Amblemidae ระยะโกลคิเดียม จะมีเปลือกเป็นรูปไข่ (semioval)

Brandt (1974) ได้จัดลำดับและแบ่งสกุลต่างๆ ของหอยกาบน้ำจืดในวงศ์ Amblemidae ที่พบในประเทศไทย ไว้ดังนี้

Class Pelecypoda
- Subclass Schizodontida
  - Order Unionoida
    - Superfamily Unionacea
      - Family Amblemidae
        - Subfamily Pseudodontinae
          - Genera *Pilsbryoconcha*
            - Species *Pilsbryoconcha lemeslei*
            - *Pilsbryoconcha exilis*
              - Subspecies *Pilsbryoconcha exilis linguaeformis*
              - *Pilsbryoconcha exilis exilis*
              - *Pilsbryoconcha exilis compressa*
          - Genera *Pseudodon*
            - Species *Pseudodon mouhoti*
            - *Pseudodon inoscularis*

Subspecies *Pseudodon inoscularis inoscularis*

Pseudodon inoscularis callifer

Pseudodon inoscularis harmandi

Pseudodon inoscularis cumingi

Species *Pseudodon cambodjensis*

Subspecies *Pseudodon cambodjensis cambodjensis*

Pseudodon cambodjensis tenerrimus

Species *Pseudodon vondembuschianus*

Subspecies *Pseudodon vondembuschianus ellipticus*

Pseudodon vondembuschianus chaperi

Pseudodon vondembuschianus tumidus

Subfamily Hyriopsinae

Genera *Hyriopsis*

Subgenera *Hyriopsis (Hyriopsis)*

Species *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus*

Hyriopsis (Hyriopsis) delaportei

Subgenera *Hyriopsis (Limnoscapha)*

Species *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

Hyriopsis (Limnoscapha) myersiana

Genera *Chamberlainia*

Species *Chamberlainia hainesiana*

Genera *Cristaria*

Species *Cristaria plicata*

Subfamily Parreysiinae

Genera *Parreysia*

Species *Parreysia burmana*

Genera *Unionetta*

Species *Unionetta fabagina*

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Genera *Scabies*

Species *Scabies crispata*

Scabies phaselus

Scabies nucleus

Genera *Harmandia*

Species *Harmandia munensis*

Genera *Indonaia*

Species *Indonaia substriata*

Indonaia pilata

Indonaia humilis

Subfamily Rectidentinae

Genera *Ensidens*

Species *Ensidens ingallsianus*

Subspecies *Ensidens ingallsianus ingallisianus*

Ensidens ingallsianus dugasti

Genera *Uniandra*

Species *Uniandra contradens*

Subspecies *Uniandra contradens ascia*

Uniandra contradens rusticoides

Uniandra contradens tumidula

Uniandra contradens rustica

Uniandra contradens crossei

Uniandra contradens fischeriana

Species *Uniandra subcircularis*

Genera *Physunio*

Species *Physunio superbus*

Physunio eximius

Physunio inornatus

Physunio micropterus

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Physunio cambodiensis

Physunio modelli

Genera *Trapezoideus*

Species *Trapezoideus exolescens*

Subspecies *Trapezoideus exolescens exolescens*

Trapezoideus exolescens pallegoixi

Trapezoideus exolescens comptus

Subfamily Modellnaiinae

Genera Modellnaia

Species *Modellnaia siamensis*

จากรายงานดังกล่าวจะเห็นว่า พบหอยกาบน้ำจืดในประเทศไทยถึง 15 สกุล 21 สปีชีส์ 23 สปีชีส์ย่อย ซึ่งได้มีการจัดจำแนกหอยในระดับสกุล (genus) และสปีชีส์ (species) ออกเป็นสกุลย่อย (subgenus) และสปีชีส์ย่อย (subspecies) เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในหอยสกุล *Pseudodon*, *Hyriopsis* และ *Uniandra* อย่างไรก็ตาม หอยในวงศ์ Amblemidae หลายสกุลและหลายสปีชีส์ยังไม่สามารถจำแนกได้อย่างชัดเจน

การศึกษาหอยกาบน้ำจืดที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะใช้วิธีพิจารณาจากรูปร่างลักษณะสีสัน และโครงสร้างภายนอกของเปลือกตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้มานานกว่า 150 ปีแล้ว (Heard, 1973) เป็นสำคัญ ต่อมาได้มีการใช้วิธีอื่นๆ มาช่วยในการวิเคราะห์ เช่น วิธีศึกษากายวิภาคของเหงือก วิธี immunoelectrophoresis วิธีเปรียบเทียบโครงสร้างของกระเพาะอาหาร เป็นต้น (Nakamura, 1985; อัมพร อึ้งปกรณ์แก้ว, 2535) นอกจากนี้ อัมพร อึ้งปกรณ์แก้ว (2535) ยังได้จำแนกหอยกาบน้ำจืดบางสกุลโดยใช้สัณฐานวิทยาของโกลคิเดียม ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่าโครงสร้างละเอียดของโกลคิเดียมสามารถใช้ร่วมในการตัดสินด้านอนุกรมวิธานของหอยกาบน้ำจืดได้

ปัจจุบันพบว่าปริมาณหอยกาบน้ำจืดหลายชนิดในประเทศไทยลดน้อยลงเป็นอย่างมาก (Panha, 1990) เนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น การนำมาใช้ประโยชน์อย่างขาดการควบคุม การจับปลาที่เป็นโฮสท์ของหอยน้ำจืดอย่างมหาศาล และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดมลพิษของแหล่งน้ำ (Bauer, 1988 และ Panha, 1992) จนเป็นที่น่าสังเกตว่า ในขณะนี้หอยกาบน้ำจืดชนิด *Chamberlainia hainesiana* ซึ่งเป็นหอยกาบน้ำจืดชนิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและสามารถให้ไข่มุกที่มี

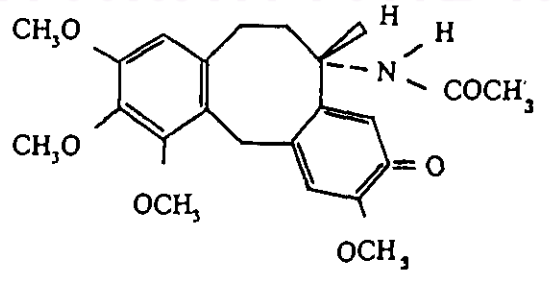
คุณภาพ ได้ถูกจัดให้เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีคุณค่าและกำลังจะสูญพันธุ์ (endangered species) (สมศักดิ์ ปัญหา, 2536)

<u>การศึกษาคาริโอไทป์</u> (karyotype)

คาริโอไทป์เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด โดยศึกษาจำนวน ขนาด และชนิดโครโมโซม ตลอดถึงการจัดหมวดหมู่ของโครโมโซม การศึกษาด้านโครโมโซม เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยให้งานด้านอนุกรมวิธานสมบูรณ์ยิ่งขึ้น เนื่องจากลักษณะดังกล่าวเป็นข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น การกินอาหาร แหล่งที่อยู่อาศัย เป็นต้น จะมีอิทธิพลต่อคาริโอไทป์น้อยมาก นอกจากนี้คาริโอไทป์ยังเป็นลักษณะที่บ่งชี้เฉพาะและคงที่สำหรับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดอีกด้วย (Nakamura, 1985)

จากเหตุผลดังกล่าว การศึกษาคาริโอไทป์ของหอยกาบน้ำจืดน่าจะนำมาใช้ประกอบการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตได้ และข้อมูลที่ได้ยังให้ความกระจ่างชัดเกี่ยวกับระดับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในระดับที่ใกล้ชิดกันหรือห่างกัน และความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันแต่มีแหล่งที่อยู่อาศัยตามสภาพภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันได้ (White, 1973)

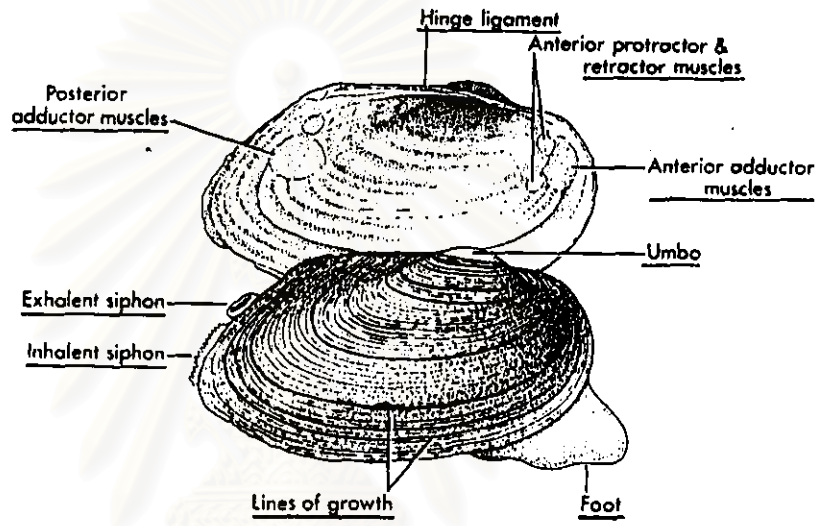
ในการศึกษาคาริโอไทป์จำเป็นต้องใช้สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของสปินเดิล ไฟเบอร์ (spindle fiber) และทำลาย cytoskeleton ได้แก่ ไมโครฟิลาเมนต์ (microfilament) และไมโครทิวบูล (microtubule) ทำให้เซลล์ของหอยหยุดการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส (metaphase) ซึ่งสารที่ใช้กันมีหลายชนิด ได้แก่ โคลซิมิด (colcimide) โคลชิซิน (colchicine) เป็นต้น โดยสารที่เลือกใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ โคลชิซิน ซึ่งเป็นสารประเภท alkaloid ที่สกัดจากพืชตระกูล Allium โดยโคลชิซินจะไปทำให้ตำแหน่งบริเวณปลายท่อของไมโครทิวบูลเปลี่ยนไป ทำให้ไมโครทิวบูลไม่สามารถต่อกันเป็นสายใยสปินเดิลได้



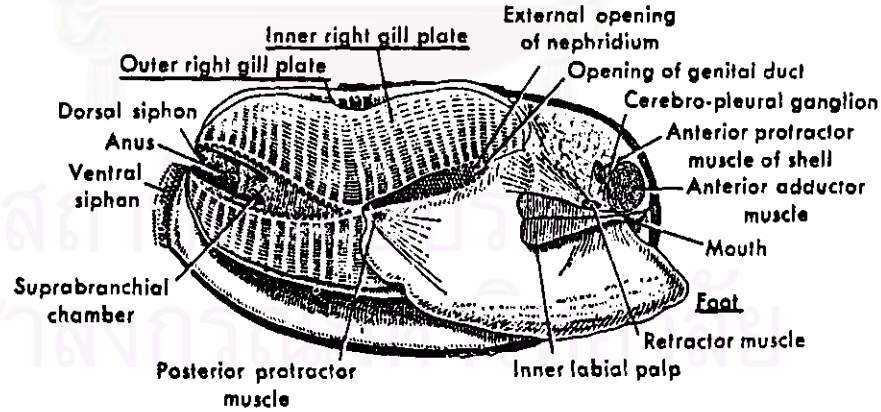
สูตรโครงสร้างของ colchicine

เนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซมของหอยได้ดี ได้แก่ เนื้อเยื่อเหงือก เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย สำหรับการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เนื้อเยื่อเหงือกของหอยมาศึกษา เนื่องจากสามารถเก็บเซลล์ได้ตลอดช่วงเวลา และเซลล์เหงือกมีอัตราการแบ่งตัวสูง จึงพบเซลล์ในระยะเมตาเฟสเป็นจำนวนมากเช่นกัน

ก.



ข.



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหอยสองฝา

ก. ลักษณะของเปลือกด้านใน ข. ลักษณะโครงสร้างภายใน

ที่มา : Hegner and Engemann (1968)

การศึกษาคาริโอไทป์ในหอยสองฝายังมีอยู่ค่อนข้างน้อย และส่วนใหญ่เป็นการศึกษาคาริโอไทป์ของหอยสองฝาในทะเล เกี่ยวกับเรื่องนี้ Nakamura (1985) ได้ทำการรวบรวมจากรายงานที่เกี่ยวข้อง มีจำนวนหอยถึง 19 วงศ์ 111 ชนิด ซึ่งพบว่า ส่วนใหญ่มีจำนวนดิพลอยด์ (2n) อยู่ระหว่าง 14-48 และยังคงมีการศึกษาและรายงานเพิ่มเติมอยู่เสมอ

ในส่วนการศึกษาคาริโอไทป์ในหอยสองฝาน้ำจืดยังมีอยู่น้อย ซึ่งข้อมูลทางคาริโอไทป์ที่รายงานกันมาก คือ จำนวน ชนิด ลักษณะ และจำนวนแขนโครโมโซม โดยในที่นี้ Nakamura (1985) ได้รวบรวมและรายงานไว้ในอันดับ Unionoida จำนวน 22 species ดังตารางที่ 1

จากการศึกษาคาริโอไทป์ของหอยสองฝา พบว่า ในวงศ์หอยนางรม Ostreidae ซึ่งเป็นหอยสองฝาน้ำเค็ม และอันดับ Unionoida ได้แก่วงศ์ Magaritiferidae และวงศ์ Unionidae ซึ่งเป็นหอยสองฝาน้ำจืด มีจำนวนโครโมโซมคงที่ โดยมีจำนวนโครโมโซม (2n) = 38 เท่ากันในทุกสปีชีส์ของแต่ละวงศ์ (Nakamura, 1985)

ในประเทศไทยงานด้านการศึกษาโครโมโซมของสัตว์ในไฟลัมมอลลัสกายังมีน้อยมาก ในระยะที่ผ่านมาได้แก่งานของกลุ่มวิจัยหอยทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในงานของกตัญญู รักมิตร (2535) ศึกษาถึงโครโมโซมของหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis ovina* ผลการศึกษาพบโครโมโซม 16 คู่ เป็นชนิด metacentric 8 คู่ ชนิด submetacentric 6 คู่ ชนิด acrocentric 1 คู่ และชนิด telocentric 1 คู่ และงานของ วิชุวรรณ ตั้งพงศ์ปราชญ์ (2536) ทำการศึกษาโครโมโซมของหอยนางรม 3 สปีชีส์ ผลการศึกษาพบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 10 คู่ เป็นชนิด metacentric 4 คู่ และชนิด submetacentric 6 คู่ สำหรับโครโมโซมของหอยกาบน้ำจืดในประเทศไทยยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษามาก่อน

จุดประสงค์ในการศึกษาคาริโอไทป์ของหอยกาบน้ำจืดในวงศ์ Amblemidae ครั้งนี้ มุ่งที่จะศึกษาเปรียบเทียบจำนวน ชนิด ลักษณะโครโมโซม และรูปแบบคาริโอไทป์ของหอยกาบน้ำจืดในแต่ละสปีชีส์ เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานทาง cytotaxonomy ของหอย

ตารางที่ 1 การศึกษาคาริโอไทป์ของหอยสองฝาน้ำจืด อันดับ Unionoida

ชนิดของหอย	จำนวนโครโมโซม		คาริโอไทป์	แหล่งที่พบ	เอกสารอ้างอิง
	2n	n			
Subclass Palaeoheterodonta	Order Unionoida				
[UNIONACEA]					
Margaritiferidae					
Margaritifera margaritifera	s38		[3]	Wilamette Riv., Oreg., USA	Jenkinson (1976)
Margaritifera laevis	m38	m19	[3] Type; 19SM FN=76	Hiroshima Pref., JAPAN	Nadamitsu & Kanai (1975)
Unionidae					
Alasmidonta arcula	s38		[3]	Ohoopee Riv., Ga., USA	Jenkinson (1976)
Alasmidonta marginata	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Anodonta anatina	s38		[2] Type ; 10M, 3M/SM, 6SM FN=76 CL ; 1.6-5.6	Diemen Lake, NATHERLANDS	Van Griethuysen *et al* . 1969
Anodonta grandis	s38		[3]	Buffalo Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Anodontoides ferussacianus	s38		[3]	Buffalo Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Elliptio complanata [= *Unio complanata*]		(s16)	[1]	USA	Lillie (1901)
Gonidea angulata	s38		[3]	Wilamette Riv., Oreg., USA	Jenkinson (1976)
Inversidens Japonensis	m38		[3] Type ; 6M, 13SM FN=76	Iwakuni, Yamguchi, JAPAN	Nadamitsu & Kanai (1978)
Lampsilis radiata luteola	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Lasmigona costata	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของหอย	จำนวนโครโมโซม		คาริโอไทป์	แหล่งที่พบ	เอกสารอ้างอิง
	2n	n			
Potamilus alatus	s38		[3]	Buck Cr., Ken., USA	Jenkinson (1976)
Pseudodon obovalis omiensis	m38		[3] Type ; 9M, 10SM FN=76	Miyoshi, Hiroshima, JAPAN	Nadamitsu & Kanai (1978)
Ptychobranchus fasciolaris	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Quadrula quadrula	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Toxolasma lividus gran s	s38		[3]	Buck Cr., Ken., USA	Jenkinson (1976)
Tritigonia verrucosa	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Unio elongatulus		m19	[2]	Brenta Riv., ITALY	Vitturi *et al.* (1982)
Unio pictorum	s38		[2] Type ; 8M, 1M/SM, 10SM FN=76 CL ; 1.9-5.8	Diemen Lake, NATHERLANDS	Van Griethuysen *et al.* (1969)
Villosa iris	s38		[3]	Big Darby Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)
Villosa lienosa	s38		[3]	Buffalo Cr., Ohio, USA	Jenkinson (1976)

m = male, f = female, s = somatic cell

0 = unknown, 1 = section, 2 = squash, 3 = air (including flame) - dry.

M = metacentric , SM = submetacentric, ST = subtelocentric , T = telocentric

FN = fundamental number ซึ่งคำนวณจากโครโมโซม M and SM = 4, ST and T = 2 , ลักษณะอื่นๆ = 2

CL = length (um) ของ mitotic metaphase chromosomes

[ ] = synonym used by the original investigator, ( ) = revised or questionable counts

ที่มา : Nakamura (1985)