

การพัฒนาของตัวอ่อนโรติเฟอร์กลุ่มยัตเกาะ

ชนิด *Limnias novemceras* Meksuwan, Jaturapruek & Maiphae, 2018

Embryonic Development of the Sessile Rotifer

Limnias novemceras Meksuwan, Jaturapruek & Maiphae, 2018ภูริพงศ์ เมฆสุวรรณ^{1*}, อภิสรา สมเขาใหญ่²Phuripong Meksuwan^{1*}, Aphitsara Somkhaoyai²

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้ศึกษาระยะเวลาและการเปลี่ยนแปลงสัณฐานภายนอกของตัวอ่อนภายในไข่ของโรติเฟอร์กลุ่มยัตเกาะชนิด *Limnias novemceras* Meksuwan, Jaturapruek & Maiphae, 2018 ซึ่งเป็นโรติเฟอร์ชนิดใหม่ที่พบในประเทศไทย เก็บตัวอย่างโรติเฟอร์เพศเมียที่เกาะอาศัยบนรากของต้นจอกแหน (*Pistia stratiotes* L.) ในบ่อซีเมนต์ อาคาร 6 มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ทำการถ่ายภาพไข่พาร์ธีโนเจนซิสที่นำออกมาจากท่อของ ตัวแม่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงประเภทเลนส์ประกอบที่กำลังขยาย 400 เท่า จากนั้นถ่ายภาพทุกๆ ชั่วโมง (ชั่วโมงที่ 1, 2, 3 เป็นต้น) จนกว่าไข่จะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนที่ว่ายน้ำได้ ผลการศึกษาพบว่าตัวอ่อนในระยะแรกมีเนื้อเยื่อค่อนข้างทึบแสงและค่อยๆ โปร่งใสขึ้นเมื่อตัวอ่อนมีอายุมากขึ้น เนื้อเยื่อร่างกายเริ่มจางกลุ่มมากขึ้นเมื่อตัวอ่อนมีอายุเพิ่มขึ้น หลังจากชั่วโมงที่ 15 เริ่มสังเกตเห็นแนวเส้นที่แบ่งส่วนหัวออกจากส่วนบนของร่างกายและโทรฟีเริ่มปรากฏขึ้น เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 19 ร่างกายแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ลำตัว และเท้า ส่วนหัวเริ่มเห็นการขยับของซีเลียของโครโมนาและตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวเป็นระยะๆ เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 20 ตัวอ่อนพยายามฟักออกจากไข่ที่ละน้อยทางด้านบนของเปลือกไข่จนหลุดออกจากไข่และตัวอ่อนว่ายน้ำทันทีที่ออกจากเปลือกไข่

คำสำคัญ: โครโมนา, โทรฟี, ชนิดใหม่, ไข่พาร์ธีโนเจนซิส

Abstract

This research aims to study developmental periods and morphological differentiation of embryos while in the protective tube of the sessile rotifer *Limnias novemceras* Meksuwan, Jaturapruek & Maiphae, 2018, a recently described species in Thailand. Females of the rotifer were collected from roots of Water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) growing in a cement pipe of building 6 of Phuket Rajabhat University. Newly laid parthenogenetic eggs were sorted out from the tubes protecting the rotifers and photographed under light compound microscope at 400 times magnification. After deposition by the mother, the eggs were photographed every hour (hour 1, 2, 3, etc.) until the swimming larvae hatched. Results showed that, at

¹อาจารย์ สังกัดหลักสูตรวิทยาศาสตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

²นักศึกษาชั้นปีที่ 4 หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

*Corresponding author, E-mail: phuripong.m@pkru.ac.th

an early stage, embryos contained relatively dark tissue but became lighter during development. Body tissues continuously aggregated according to embryo age. After hour 15, a line separating the foot and the upper part of the body was present, and the trophi became visible. At hour 19, three parts of the body including head, trunk and foot, were developed. In the head, cilia of corona stirred periodically. During hour 20, embryos tried to hatch from the top of the egg shell, and the juvenile swam immediately after hatching.

Keyword: Corona, Trophi, New species, Parthenogenetic egg

บทนำ

โรติเฟอร์ (rotifer) หรือหนอนจักร เป็นชื่อเรียกสัตว์ในไฟลัมโรติเฟอร่า (Phylum Rotifera) ซึ่งเป็นสัตว์น้ำขนาดเล็ก มักดำรงชีวิตลอยเป็นแพลงก์ตอนอยู่ในแหล่งน้ำจืด แต่หลายชนิดอาศัยอยู่ในน้ำกร่อยและในทะเล หลายชนิดดำรงชีวิตแบบยึดเกาะอยู่บนพืชน้ำ บางชนิดอยู่ระหว่างเม็ดทรายใกล้ๆ แหล่งน้ำ หรือบางชนิดอยู่บนบกที่มีความชื้นสูง เช่น บนต้นไม้โสโครก เป็นต้น โรติเฟอร์มีความสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยเป็นผู้เชื่อมโยงสายใยอาหารระหว่างผู้ผลิตคือแพลงก์ตอนพืชและผู้บริโภคที่กินโรติเฟอร์เป็นอาหาร เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ขนาดใหญ่ ลูกปลา เป็นต้น นอกจากนี้ยังถือเป็นผู้หมุนเวียนสารอาหารที่สำคัญของระบบนิเวศด้วย (Wallace และ Snell, 2010)

โรติเฟอร์ชนิด *Limnias novemceras* เป็นโรติเฟอร์ชนิดใหม่ (new species) ที่ค้นพบครั้งแรกในประเทศไทยโดย Meksuwan และคณะ (2018) โรติเฟอร์ชนิดนี้จัดเป็นโรติเฟอร์กลุ่มยึดเกาะ (sessile rotifer) อาศัยอยู่เฉพาะในแหล่งน้ำจืด โดยเกาะอาศัยอยู่บนส่วนต่างๆ ที่อยู่ใต้น้ำของพืชน้ำ Meksuwan และคณะ (2018) พบโรติเฟอร์ชนิดนี้ครั้งแรกในลำธารสายหนึ่งของ อ.อ่าวลึก จ.กระบี่ โดยได้บรรยายลักษณะสัณฐานภายนอกที่สำคัญและได้จัดทำรูปวิธาน (key) สำหรับใช้จำแนกโรติเฟอร์ชนิดใหม่นี้และชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน อย่างไรก็ตาม Meksuwan และคณะ (2018) ไม่ได้ทำการศึกษาชีววิทยาด้านอื่นๆ เช่น รูปแบบการเจริญเติบโต การผลิตไข่ การเจริญของตัวอ่อน เป็นต้น ซึ่งจะช่วยให้เรามีความรู้ด้านชีววิทยาของโรติเฟอร์ที่พบครั้งแรกในประเทศไทยชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น

ข้อมูลการวิจัยด้านการเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนในโรติเฟอร์กลุ่มยึดเกาะมีค่อนข้างน้อย เช่น การศึกษาของ Kutikova (1995) ศึกษาการพัฒนาของตัวอ่อนของโรติเฟอร์จำนวน 6 ชนิด โดยได้สังเกตการว่ายน้ำและการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนจนถึงโตเต็มวัย อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Kutikova (1995) เน้นการเจริญของตัวอ่อนหลังจากฟักออกจากไข่แล้ว แต่ยังมีข้อมูลน้อยมากเกี่ยวกับระยะเวลาและการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนภายในไข่ก่อนฟักออกมาเป็นตัว นอกจากนี้ Kutikova (1995) ใช้การสังเกตโดยตรงจากกล้องจุลทรรศน์โดยวาดภาพประกอบ แต่ไม่มีการถ่ายภาพตัวอย่างจริงซึ่งอาจทำให้ข้อมูลที่ได้มีความคลาดเคลื่อน ดังนั้นการศึกษากการเจริญของไข่และตัวอ่อนของโรติเฟอร์กลุ่มยึดเกาะโดยใช้ภาพถ่ายจริงจึงมีความน่าสนใจเพื่อให้ได้ข้อมูลการเจริญที่ละเอียดและถูกต้องแม่นยำ

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาการเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่ของโรติเฟอร์พวกยึดเกาะชนิด *Limnias novemceras* ซึ่งใช้เทคนิคการถ่ายภาพขณะตัวอ่อนกำลังเจริญเติบโตอยู่ภายในไข่ ข้อมูลนี้จะช่วยเพิ่มความรู้ความเข้าใจทางด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ของโรติเฟอร์ของไทยชนิดนี้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาระยะเวลาในการพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่ของโรติเฟอร์ชนิด *Limnias novemceras*
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในไข่ของโรติเฟอร์ชนิด *Limnias novemceras*

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

ปัจจุบันทั่วโลกพบโรติเฟอร์กลุ่มยัตเกาะทั้งสิ้น 112 ชนิด ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบ 63 ชนิด คิดเป็นประมาณ 56 เปอร์เซ็นต์ของชนิดที่พบทั่วโลก โดยประเทศไทยมีความหลากหลายชนิดของโรติเฟอร์กลุ่มนี้สูงที่สุด คือ 58 ชนิด รองลงมาคือ กัมพูชา และสิงคโปร์ พบเท่ากันคือ 20 ชนิด และอีกหลายประเทศยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน (Karunakaran และ Johnson, 1978; Sudzuki, 1991; Segers, 2007; Segers และคณะ, 2010; Meksuwan และคณะ, 2011, 2013, 2018) Meksuwan และคณะ (2018) ค้นพบโรติเฟอร์กลุ่มยัตเกาะชนิดใหม่ของโลกจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Limnias novemceras* และ *Limnias lenis* ซึ่งยิ่งแสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีความหลากหลายของสัตว์กลุ่มนี้สูงมากและคาดว่าจะยังมีชนิดพันธุ์ที่ยังไม่ถูกค้นพบอีกหลายชนิดซึ่งจะเป็นโอกาสให้นักวิจัยรุ่นใหม่ได้ศึกษาต่อยอดองค์ความรู้ให้เพิ่มมากขึ้นในอนาคต

Kutikova (1995) ศึกษาการพัฒนาของตัวอ่อนของโรติเฟอร์กลุ่มยัตเกาะจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Collotheca ornata*, *Floscularia decora*, *Lacinularia flosculosa*, *Limnias ceratophylli*, *Ptygura crystallina* และ *Stephanoceros fimbriatus* โดยสังเกตการณ์ว่ายน้ำและการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนแต่ละระยะจนถึงโตเต็มวัย วิธีการสังเกตการพัฒนาของตัวอ่อน เริ่มจากการเก็บพืชน้ำจืดจากแหล่งน้ำแล้วพักไว้ในอุณหภูมิ 20-23 องศาเซลเซียส นำตัวเมียตัวเต็มวัยมาปิดด้วยกระจกปิดสไลด์โดยให้มีดินน้ำมันชิ้นเล็กๆ รองอยู่ตรงมุมก่อนที่จะปิด สังเกตการพัฒนาของตัวอ่อนในช่วงเช้า กลางวัน และตอนเย็น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Kutikova (1995) รายงานว่า ขนาดของไข่และตัวอ่อนมีความสัมพันธ์กับขนาดของตัวแม่ อย่างไรก็ตามขนาดของตัวอ่อนสร้างขึ้นในช่วงแรกมีความใกล้เคียงกันมากในทุกชนิดที่ศึกษา คือ มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 45-55 ไมโครเมตร และความสูงอยู่ในช่วง 70-88 ไมโครเมตร นอกจากนี้พบว่าไข่มักจะฟักหลังจากที่ตัวแม่ปล่อยไข่ออกมานานกว่า 24 ชั่วโมง แต่ในชนิด *S. fimbriatus* ไข่จะฟักภายใน 12 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม Kutikova (1995) ไม่ได้แสดงภาพถ่ายจริงของโรติเฟอร์ที่ศึกษาซึ่งหากมีการวิจัยที่แสดงภาพถ่ายของตัวอ่อนโรติเฟอร์ชนิดต่างๆ จะทำได้ข้อมูลที่ละเอียดและถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่เก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างโรติเฟอร์ชนิด *Limnias novemceras* ที่เกาะอาศัยอยู่บนรากของต้นจอกแหน (*Pistia stratiotes* L.) ในบ่อซีเมนต์ หลังอาคาร 6 มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต เลขที่ 21 หมู่ที่ 6 ตำบลรัษฎา อำเภอเมืองภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต

การเตรียมตัวอย่างไข่โรติเฟอร์

กรอน้ำจากบ่อซีเมนต์ผ่านถุงเก็บแผลงก์ตอนที่มีขนาดตาข่าย 60 ไมโครเมตร ลงในโหลพลาสติกขนาดความจุ 10 ลิตร เก็บตัวอย่างต้นจอกแหนใส่ในโหลพลาสติกนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ ใช้ปากคีบตัดรากจอกแหนให้มีขนาดประมาณ 5-10 เซนติเมตร ใส่ลงในจานแก้วที่มีน้ำจากบ่อซีเมนต์ นำจานแก้วไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ประเภทสเตอริโอ (stereo microscope) จนพบโรติเฟอร์ชนิดที่ต้องการและต้องมีไข่อยู่ในท่ออาศัยของตัวแม่ จากนั้นใช้ปากคีบปลายแหลม (fine

forceps) ตัดรากทั้งสองด้านโดยมีโรติเฟอร์อยู่ตรงกลาง นำชิ้นส่วนรากที่ตัดใส่ในหยดน้ำที่อยู่บนแผ่นสไลด์แก้ว วางสไลด์แก้วใต้จุลทรรศน์ประเภทยอดรีโอแล้วใช้เข็มขนาดเล็กเขี่ยไข่ออกจากท่ออาศัยของตัวแม่ นำไข่ที่ได้มาใส่ในหยดน้ำที่อยู่บนแผ่นสไลด์อีกแผ่น ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่รองด้วยดินน้ำมันทั้ง 4 มุมเพื่อไม่ให้ไขโดนแผ่นสไลด์กดทับ นำตัวอย่างไข่ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ประเภทยอดรีโอประกอบ (compound microscope) ที่เชื่อมต่ออุปกรณ์ถ่ายภาพและคอมพิวเตอร์ การวิจัยครั้งนี้ใช้ไข่จำนวน 3 ใบในการศึกษาการพัฒนาของตัวอ่อน ในอุณหภูมิ 25 – 27 องศาเซลเซียส

การศึกษาการเจริญเติบโตของไซโรติเฟอร์

ทำการถ่ายภาพไซโรติเฟอร์ที่นำออกมาจากตัวแม่ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยบันทึกเป็นชั่วโมงที่ศูนย์ จากนั้นถ่ายภาพทุกๆ ชั่วโมง (ชั่วโมงที่ 1, 2, 3 เป็นต้น) จนกว่าไข่จะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนที่ว่ายน้ำได้ ในแต่ละชั่วโมงทำการถ่ายภาพนิ่งและภาพเคลื่อนไหวมากกว่าหนึ่งระนาบ (layer) เพื่อให้เห็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในไข่

การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกการเปลี่ยนแปลงลักษณะของตัวอ่อนภายในไข่ในแต่ละชั่วโมง วาดภาพและบรรยายลักษณะที่ปรากฏ โดยเฉพาะในชั่วโมงที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะอย่างชัดเจน เช่น ปริมาตรของตัวอ่อนภายในไข่ ความทึบแสงของเนื้อเยื่อร่างกายของตัวอ่อน การแบ่งส่วนของร่างกาย การปรากฏของตารับแสง โทรพี และโครนา เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

ลักษณะภายนอกของโรติเฟอร์กลุ่มยี่ดเกาะชนิด *Limnias novemceras*

โครนา (corona): มี 2 พู กว้างประมาณ 2 เท่าของลำตัว แต่ละข้างมีลักษณะคล้ายครึ่งวงกลม แอ่งทางด้านท้อง (ventral sinus) ที่อยู่ระหว่างพูของโครนาเล็กประมาณ 1 ใน 3 ของความสูงของโครนา ช่องว่างทางด้านหลัง (dorsal gap) กว้างประมาณ 1 เท่าของลำตัว (ภาพ 1ก)

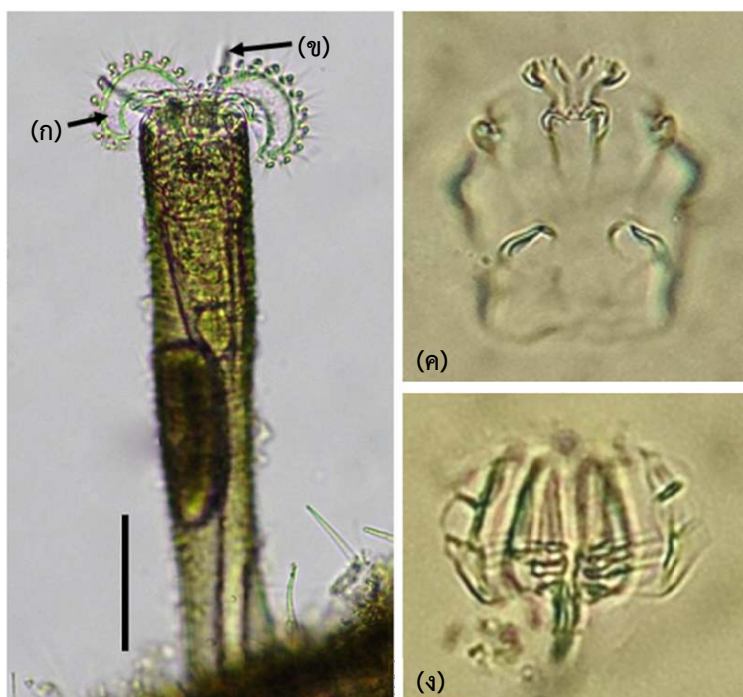
หนวดรับสัมผัสทางด้านท้อง (ventral antennae): มี 2 เส้น ยาวพันขอบด้านบนของโครนาขณะแผ่เต็มที่ (ภาพ 7ข)

แผ่นแข็งทางด้านหลัง (dorsal plate): บนแผ่นมีส่วนยื่น 9 อัน ลักษณะคล้ายเขาสัตว์ ขอบด้านบนมี 2 เขาลักษณะสั้นและกว้าง ถัดลงมามี 3 เขาลักษณะยาวและแคบกว่าเขาคู่บน และเขากลางค่อนข้างใหญ่ปลายแยกเป็นสองกิ่ง แฉกล่างมี 4 เขาลักษณะกว้างแต่แบน คู่หนึ่งอยู่ในตำแหน่งที่สูงและออกด้านข้างมากกว่าอีกคู่หนึ่ง (ภาพ 7ค)

ลำตัว: บริเวณส่วนบน (ใกล้โครนา) กว้าง และค่อยๆ เรียวจนถึงส่วนต้นของเท้า

โทรพี (trophi): เป็นแบบ malleoramate ข้างขวาสมมาตรกัน ฟันทางด้านโคนมีซี่ใหญ่ข้างละ 3 ซี่ ส่วนด้านถัดไปทางด้านปลายมีฟันซี่เล็กหลายซี่ (ภาพ 7ง)

ลักษณะท่อ: คล้ายวงแหวนเรียงต่อกัน ค่อนข้างใส ปล้องแรกทางด้านโคนกว้างและใสกว่าปล้องทางด้านบน เช่นเดียวกับชนิดอื่นๆ ในสกุลนี้



ภาพ 1 ลักษณะภายนอกของตัวเต็มวัยของโรติเฟอร์ชนิด *Limnias novemceras* (ก) โคโรนา (corona) (ข) หนวดรับสัมผัสด้านท้อง (ventral antennae) (ค) แผ่นแข็งทางด้านหลัง (dorsal plate) (ง) โทรฟี (trophi) เส้นบอกขนาด (scale bar) = 100 ไมโครเมตร

การพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่

ชั่วโมงที่ 0: ไข่ในชั่วโมงที่ 0 หมายถึง ไข่ที่ออกมาจากท่ออาศัยของตัวแม่แล้วทำการถ่ายภาพทันที โดยลักษณะที่สังเกตเห็นคือ ร่างกายของตัวอ่อนกระจายเก็บเต็มพื้นที่ภายในเปลือกไข่ มีพื้นที่ว่างน้อย เนื้อเยื่อภายในค่อนข้างทึบแสง ไม่มีการจับกลุ่มหรือเป็นรอยเส้นภายในตัวอ่อน องค์กรประกอบภายในมีการเคลื่อนไหวเล็กน้อย (ภาพ 2ก และ 3ก)

ชั่วโมงที่ 4: เริ่มเห็นพื้นที่ว่างระหว่างตัวอ่อนกับเปลือกไข่มากขึ้น เนื้อเยื่อเริ่มสว่างโดยเฉพาะบริเวณขอบนอก เริ่มสังเกตเห็นการจับกลุ่มหรือเป็นเส้นภายในตัวอ่อน องค์กรประกอบภายในตัวอ่อนมีการขยับเล็กน้อย (ภาพ 2ข และ 3ข)

ชั่วโมงที่ 8: เนื้อเยื่อของตัวอ่อนจับกลุ่มชัดเจนในบางบริเวณ เกิดช่องว่างระหว่างตัวอ่อนกับเปลือกไข่หลายตำแหน่ง เนื้อเยื่อบางส่วนใสหรือสว่างกว่าส่วนอื่นๆ แต่ยังไม่สามารถบอกได้ว่าแต่ละบริเวณเป็นอวัยวะใดของตัวอ่อน ตัวอ่อนเริ่มมีการขยับตัวเป็นระยะๆ (ภาพ 2ค และ 3ค)

ชั่วโมงที่ 12: เนื้อเยื่อของตัวอ่อนจับกลุ่มในหลายบริเวณทั่วร่างกาย มีพื้นที่โปร่งแสงใสกระจายอยู่มาก สามารถสังเกตเห็นอวัยวะส่วนที่เป็นเท้าของตัวอ่อนแต่ยังไม่ชัดเจนนัก ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวบริเวณส่วนหัวและส่วนท้ายอย่างเห็นได้ชัด (ภาพ 2ง และ 3ง)

ชั่วโมงที่ 15: สามารถสังเกตเห็นอวัยวะส่วนที่เป็นเท้าและอวัยวะภายในบริเวณข้างลำตัวได้ชัดเจนขึ้น โทรฟีปรากฏขึ้นแต่ยังเห็นรูปร่างไม่ชัดเจน ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (ภาพ 2จ และ 3จ)

ชั่วโมงที่ 17: เกิดแนวเส้นที่แบ่งส่วนเท้าออกจากส่วนบนของร่างกายอย่างชัดเจน เริ่มเห็นรอยคอดใต้ตำแหน่งของโทรฟีที่จะพัฒนาไปเป็นส่วนหัว เริ่มสังเกตเห็นอวัยวะภายในมากขึ้นโดยเฉพาะส่วนล่างของร่างกาย ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวเป็นระยะๆ (ภาพ 2ฉ และ 3ฉ)

ชั่วโมงที่ 19: รอยคอดบริเวณใต้โทรฟี่ปรากฏขึ้นอย่างชัดเจน ร่างกายแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ลำตัว และเท้า ส่วนหัวเริ่มเห็นการขยับของซีเลียของโคโรนาและเห็นบริเวณคอลลาร์ (collar) ได้ชัด ซึ่งเป็นบริเวณที่ โคโรนาจะยื่นออกมา หลังจากตัวอ่อนฟักออกจากไข่ สังเกตเห็นซีฟิฟของโทรฟี่ได้ชัดเจนมากขึ้น ส่วนเท้ามีลักษณะเป็นปล้องย่อย 2 ปล้อง ตัวอ่อนหมุนตัวอย่างรวดเร็วกลับไปกลับมาภายในเปลือกไข่ (ภาพ 2ข และ 3ข)

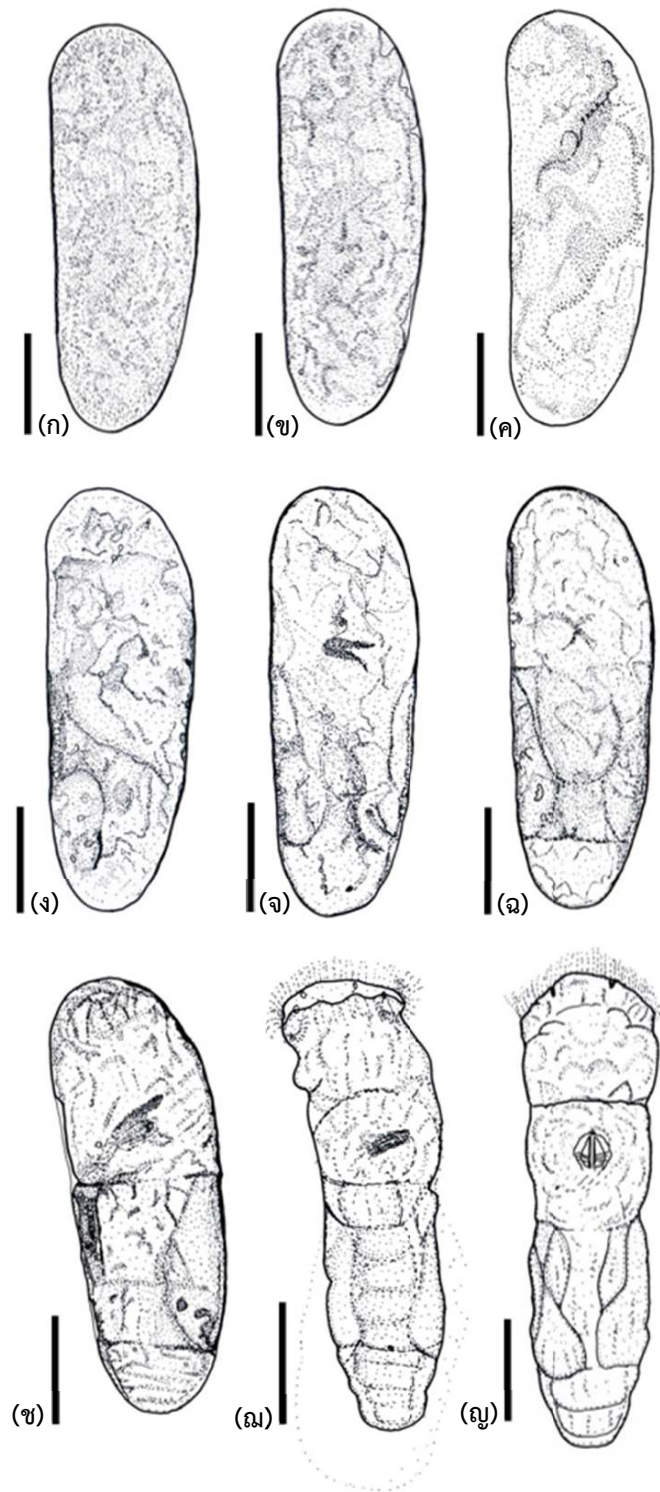
ชั่วโมงที่ 20: ร่างกายแบ่งเป็นส่วนๆ และเห็นอวัยวะภายในชัดเจน ซีเลียบนโคโรนาขยับต่อเนื่อง โทรฟี่ขยับเป็นระยะตามการเลื่อนไหวของลำตัว ตัวอ่อนในชั่วโมงนี้จะเริ่มพยายามฟักออกจากไข่ ตัวอ่อนขยับและยืดตัว ค่อยๆ ออกจากไข่ที่ละน้อยทางด้านบนของไข่ (บริเวณส่วนหัวของตัวอ่อน) จนหลุดออกจากไข่และสามารถมองเห็นเปลือกไข่ที่หลุดออก ตัวอ่อนว่ายน้ำทันทีที่ออกจากไข่โดยใช้โคโรนา (ภาพ 2ฉ และ 3ฉ)

พฤติกรรมของตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ

พฤติกรรมของตัวอ่อนหลังฟักออกจากไข่ ตัวอ่อนจะมีลักษณะลำตัวยืดยาว จะว่ายน้ำทันทีโดยใช้ซีเลียและว่ายน้ำอย่างรวดเร็ว (ภาพ 2ญ และ 3ญ) แต่จะหยุดเป็นระยะและใช้ส่วนโคโรนาสัมผัสรอบๆ บริเวณที่หยุดพัก ขณะเดียวกันโทรฟี่มีการขยับตลอดเวลา บางครั้งตัวอ่อนจะหมุนไปรอบๆ และในตอนท้ายจะยึดเกาะกับแผ่นสไลด์



ภาพ 2 ภาพถ่ายของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนาในช่วงเวลาต่างๆ (ก) ชั่วโมงที่ 0 (ข) ชั่วโมงที่ 4 (ค) ชั่วโมงที่ 8 (ง) ชั่วโมงที่ 12 (จ) ชั่วโมงที่ 15 (ฉ) ชั่วโมงที่ 17 (ช) ชั่วโมงที่ 19 (ฌ) ชั่วโมงที่ 20 (ญ) ตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ
เส้นบอกขนาด (scale bar) = 25 ไมโครเมตร



ภาพ 3 ภาพลายเส้นของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนาในช่วงเวลาต่างๆ (ก) ชั่วโมงที่ 0 (ข) ชั่วโมงที่ 4 (ค) ชั่วโมงที่ 8 (ง) ชั่วโมงที่ 12 (จ) ชั่วโมงที่ 15 (ฉ) ชั่วโมงที่ 17 (ช) ชั่วโมงที่ 19 (ฌ) ชั่วโมงที่ 20 (ญ) ตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ
เส้นบอกขนาด (scale bar) = 25 ไมโครเมตร

อภิปรายผลการวิจัย

ปัจจุบันการศึกษาการเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนของโรติเฟอร์กลุ่มยิดเกาะมีค่อนข้างน้อย Fontaneto และคณะ (2003) ศึกษาการเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ชนิด *Floscularia ringens* ซึ่งรายงานเพียงว่าโครงสร้างภายในของไข่ในช่วงแรกจะสังเกตได้ยาก ส่วนช่วงท้ายของการเจริญก่อนที่ไข่จะฟักออกมาจะสังเกตเห็นจุดตา (eyespot) โทรพี และผลึกสีที่บิที่คาดว่า เป็นอาหารสะสมให้กับตัวอ่อน นอกจากนี้ Kutikova (1995) กล่าวว่าไข่ที่เพิ่งปล่อยออกมาจะมีสีเข้มและจะค่อยๆ สว่างขึ้นเมื่อตัวอ่อนเจริญเติบโตมากขึ้น และในช่วงท้ายก่อนตัวอ่อนฟักออกมาจะเห็นจุดตา โครนา และแมสแทกซ์ (mastax) สำหรับ การศึกษารั้วนี้ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตัวอ่อนที่ค่อนข้างละเอียดกว่าการศึกษาก่อนหน้า โดยเฉพาะการบันทึก ช่วงเวลาที่พบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในที่ชัดเจน เช่น การเกิดแนวเส้นของเนื้อเยื่อที่แบ่งส่วนหัว ลำตัว และเท้า ช่วงเวลาที่เห็นโทรพีและโครนาเป็นครั้งแรก เป็นต้น

การศึกษารั้วนี้สังเกตเห็นว่า ตัวอ่อนมีการขยายและหมุนตัวเป็นระยะภายในไข่ พฤติกรรมนี้อาจมีประโยชน์ในแง่ที่ทำให้ตัวอ่อนได้รับออกซิเจนอย่างทั่วถึง นอกจากนี้การขยายตัวอาจช่วยให้กล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ของร่างกายมีความพร้อมก่อนที่ตัวอ่อนจะฟักออกจากไข่และว่ายน้ำในทันที นอกจากการขยายตัว ซีเลียบนโครนามีการขับเป็นระยะเช่นเดียวกันซึ่งอาจ เกี่ยวข้องกับการเตรียมพร้อมในการว่ายน้ำหลังจากฟักออกจากไข่เนื่องจากตัวอ่อนจะใช้การโบกพัดของซีเลียบนโครนาในการว่ายน้ำ

การวิจัยครั้งนี้สังเกตเห็นว่า เนื้อเยื่อของตัวอ่อนภายในไข่จะมีลักษณะทึบแสงมากที่สุดในช่วงแรกและ ค่อยๆ ใสและ สว่างขึ้นเมื่อตัวอ่อนเจริญเติบโตมากขึ้น โดยลักษณะนี้อาจเกิดขึ้นจากการสะสมของสารต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น โปรตีน เอนไซม์ เป็นต้น ที่มากในช่วงต้นเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของอวัยวะในตัวอ่อนจึงทำให้เห็นเนื้อเยื่อเป็นสี เข้ม และสารเหล่านี้อาจจะค่อยๆ ลดลงในช่วงท้ายของการเจริญเติบโต ทำให้เห็นเนื้อเยื่อมีลักษณะใสขึ้น

ข้อเสนอแนะและการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การศึกษารั้วต่อไปควรศึกษาการพัฒนาของไข่โรติเฟอร์ชนิดอื่นโดยเฉพาะในสกุลเดียวกับที่ใช้ในการศึกษารั้วนี้คือ สกุล *Limnias* เพื่อเปรียบเทียบว่ามีความแตกต่างในเรื่องการพัฒนาของตัวอ่อนระหว่างชนิดพันธุ์ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการจัดจำแนกชนิดต่อไป

2. ผู้วิจัยแนะนำให้ใช้สไลด์หลุมในการทดลองเพื่อความเหมาะสมในหลายด้าน เช่น ปริมาณน้ำที่ใช้เลี้ยงไข่โรติเฟอร์ จะมากกว่าการใช้สไลด์แผ่นเรียบทำให้ไม่ต้องเติมน้ำอยู่บ่อยครั้ง และตัวอย่างไข่จะไม่เสี่ยงต่อการโดนแผ่นสไลด์กดทับ

3. ควรมีการใช้เทคนิคที่ทำให้ถ่ายภาพไข่แต่ละช่วงโมเมนต์ได้ละเอียดมากกว่านี้ เช่น การถ่ายภาพแบบ confocal laser scanning microscopy (CLSM) ซึ่งทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ที่มีคุณภาพสูง

4. การนำไข่ออกมาจากท่ออาศัยของตัวแม่ต้องใช้เทคนิคของแต่ละบุคคลที่เกิดจากการทำอยู่ซ้ำๆ และใช้สมาธิสูง เทคนิคการใช้เข็มผ่าตัดที่ต้องมีความแม่นยำเพื่อไม่ให้โดนตัวแม่และไข่เพื่อไม่ให้เกิดความเสียหาย นอกจากนี้การดูตัวอย่างไข่ ไปยังสไลด์ที่ใช้ในการศึกษาการพัฒนาของตัวอ่อนต้องใช้ความระมัดระวังเพื่อไม่ให้ไข่หายไประหว่างย้ายตัวอย่าง



เอกสารอ้างอิง

- Fontaneto, D., Melone, G. & Wallace, R. L. (2003). Morphology of *Floscularia ringens* (Rotifera, Monogononta) from egg to adult. **Invertebrate Biology**: 122(3), 231-240.
- Karunakaran, L. & Johnson, A. (1978). A contribution to the rotifer fauna of Singapore and Malaysia. **Malayan Nature Journal**: 32, 173–208.
- Kutikova, L. A. (1995). Larval metamorphosis in sessile rotifers. **Hydrobiologia**: 313/314, 133-138.
- Meksuwan, P., Pholpunthin, P., & Segers, H. (2011). Diversity of sessile rotifers (Gnesiotrocha, Monogononta, Rotifera) in Thale Noi Lake, Thailand. **Zootaxa**: 2997, 1-18.
- Meksuwan, P., Pholpunthin, P., & Segers, H. (2013). The Collothecidae (Rotifera, Collothecacea) of Thailand, with the description of a new species and an illustrated key to the Southeast Asian fauna. **ZooKeys**: 315, 1-16.
- Meksuwan, P., Jaturapruet, R. & Maiphae, S. (2018). Two new species of genus *Limnias* (Rotifera, Gnesiotrocha) from Thailand, with a key to congeners. **Zookeys**: 787, 1-15.
- Segers, H. (2007). Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. **Zootaxa**: 1564, 1-104.
- Segers, H., Meksuwan, P. & Sanoamuang, L. (2010). New records of sessile rotifers (Phylum Rotifera: Flosculariacea, Collothecacea) from Southeast Asia. **Belgian Journal of Zoology**: 140(2), 235–240.
- Sudzuki, M. (1991). The Rotifera from Singapore and Taiwan. **Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology**: 43, 1–34.