

ศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบธาตุของเปลือกไขนก 32 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) โดยใช้หัวตรวจวัด Secondary Electron Imaging (SEI), Back-scattered electrons (BEI) และ Energy Dispersive X-ray analysis (EDX) เปลือกไขนกมีน้ำหนักระหว่าง 0.79 ± 0.02 – 41.76 ± 5.42 กรัม จำแนกได้ 7 Orders คือ Order Anseriformes จำนวน 1 ชนิด คือนกเป็ดแดง โดยมีความหนาของเปลือกไข 297.11 ± 16.86 ไมโครเมตร Order Passeriformes จำนวน 14 ชนิด คือนกกางเขนบ้าน นกกระจาบทอง นกกระจาบทรรณดา กระजิบธรรมดา นกกระजิบ หนูสรีเรียบ นกกินปลือกเหลือง นกแซงแซวหางปลา นกปรอดหัวโขน นกปรอดหัวสีเขม่า นกปรอดสวน นกแอ่นพง นกอีแพรดแถบอกดำ นกเอี้ยงสาธิตาและนกเอี้ยงต่าง โดยมีความหนาของเปลือกไขในช่วง 48.00 ± 9.23 – 145.11 ± 16.20 ไมโครเมตร Order Ciconiiformes จำนวน 10 ชนิด คือนกกระแตแต้แว๊ด นกตีนเทียน นกยางกรอก นกยางกรอกพันธุ์ขาว นกยางควาย นกยางเปี้ย นกยางไฟหัวดำ นกเขวาก นกปากห่างและนกเป็ดผี โดยมีความหนาของเปลือกไขในช่วง 107.20 ± 16.50 – 369.33 ± 29.86 ไมโครเมตร Order Columbiformes จำนวน 2 ชนิด คือนกพิราบป่าและนกเขาใหญ่ โดยมีความหนาของเปลือกไขในช่วง 83.89 ± 8.16 – 138.76 ± 12.12 ไมโครเมตร Order Cuculiformes จำนวน 1 ชนิด คือนกอีวาวตักแตนโดยมีความหนาของเปลือกไข 63.50 ± 4.46 ไมโครเมตร Order Gruiformes จำนวน 3 ชนิด คือนกกวัก นกหนูแดงและนกอีล้ำ โดยมีความหนาเปลือกไขในช่วง 100.00 ± 8.63 – 249.5 ± 8.42 ไมโครเมตร และ Order Turniciformes จำนวน 1 ชนิด คือนกคุ่มอีด โดยมีความหนาของเปลือกไข 88.33 ± 4.03 ไมโครเมตร พบว่าโครงสร้างของเปลือกไขนกทุกชนิดมี 3 ชั้น คือ cuticle, palisade และ mammillary โดยมีชั้น palisade เป็นชั้นที่มีความหนามากที่สุด รองลงมาเป็นชั้น mammillary และชั้น cuticle ตามลำดับ สำหรับชั้น palisade มีลักษณะเป็นรูพรุนของ vesicular holes และชั้น mammillary ซึ่งมีโครงสร้างที่มีความหนาแน่นมากกว่า จัดเรียงตัวเป็นรูปกรวยฐานกว้างหรือรูปตัวยูเรียงต่อกัน โดยมีฐานตัวยูติดกับชั้นเมมเบรน (shell membrane) หรือเรียกเยื่อหุ้มไขขาวที่อยู่ด้านใน งานวิจัยนี้สามารถแบ่งกลุ่มนกตามลักษณะโครงสร้างของเปลือกไขชั้น mammillary ได้ 2 รูปแบบ (model) คือกลุ่มนกที่มี

ไข่ฟองเล็กและฟองใหญ่ โดยไข่ฟองเล็กมีน้ำหนักระหว่าง 0.79-19.79 กรัม และมีความหนาของเปลือกไข่อยู่ในช่วง 67.20-249.50 ไมโครเมตร โดยมีการจัดเรียงตัวแบบมีปุ่มที่ฐานของชั้นยื่นไปติดกับเยื่อหุ้มไข่ขาว สำหรับไข่ฟองใหญ่ที่มีน้ำหนักในช่วงน้ำหนักที่มากกว่า 19.79 กรัม โดยมีความหนาของเปลือกไข่อยู่ในช่วงมากกว่า 249.50-369.33 ไมโครเมตร ซึ่งพบว่าชั้น mammillary มีการจัดเรียงตัวเป็นรูปตัวยูที่ชัดเจน

ผลการวิเคราะห์ธาตุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วยหัวตรวจวัด energy dispersive X-ray microanalysis detector (EDX) ในนก 15 ชนิด พบว่า 11 ชนิดธาตุในเปลือกไข่คือ oxygen (O), calcium (Ca), carbon (C), aluminum (Al), silicon (Si), magnesium (Mg), sodium (Na), phosphorus (P), sulfur (S), chlorine (Cl) and molybdenum (Mo) เป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้ 50.12-59.04%, 17.48-29.48%, 16.67-28.33%, 0.06-0.75%, 0.04-0.53%, 0.07-0.52%, 0.13-0.40%, 0.02-0.22%, 0.02-0.19%, 0.04-0.14% และ 0.03-0.11% ตามลำดับ โดยธาตุ 3 ชนิด ที่เป็นส่วนประกอบที่มากที่สุดคือแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักสำคัญในการเจริญพัฒนาของตัวอ่อน เช่น กัลเล่ เนื้อ กระดุกและสมอง ในขณะที่ Mg, Na และ P พบในเปลือกไข่ทุกชนิด ซึ่งเป็น major inorganic ของเปลือกไข่ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความแข็งแรงของเปลือกไข่และพบโลหะหนักปนเปื้อนคือ Mo ในเปลือกไข่นก 3 ชนิด การค้นพบครั้งนี้เป็นข้อมูลที่มีค่าสำหรับงานวิจัยที่จะใช้เป็นความรู้ที่สนับสนุนความรู้และข้อมูลทางชีววิทยาของเปลือกไข่นกต่อไป

Abstract

The ultrastructure of avian eggshell was studied by scanning electron microscope with secondary Electron Imaging (SEI), backscattered electrons (BEI) and energy dispersive X-ray analysis (EDX) detectors. The results showed ultrastructure of eggshell sample from 32 species, 7 orders, which egg weight ranging between 0.79 ± 0.02 - 41.76 ± 5.42 g. The eggshell thickness of order Anseriformes (Lesser Whistling-duck, *Dendrocygna javanica*) was 297.11 ± 16.86 μm . The eggshell thickness of order Passeriformes (14 species) Oriental Magpie-Robin (*Copsychus saularis*), Asian Golden Weaver (*Ploceus hypoxanthus*), Baya Weaver (*Ploceus philippinus*), Common Tailorbird (*Orthotomus sutorius*), Plain Prinia (*Prinia inornata*), Olive-backed Sunbird (*Nectarinia jugularis*), Black Drongo (*Dicrurus macrocercus*), Red-whiskered Bulbul (*Pycnonotus jocosus*), Sooty-headed Bulbul (*Pycnonotus aurigaster*), Streak-eared Bulbul (*Pycnonotus blanfordi*), Ashy Woodswallow (*Artamus fuscus*), Pied Fantail (*Rhipidura javanica*), Common Myna (*Acridotheres tristis*) and Asian Pied Starling (*Sturnus contra*) were ranging between 48.00 ± 9.23 - 145.11 ± 16.20 μm . The eggshell thickness of order Ciconiiformes (10 species) Red-wattled Lapwing (*Vanellus indicus*), Black-winged stilt (*Himantopus himantopus*), Pond Heron (*Ardeola* sp.), Javan Pond Heron (*Ardeola speciosa*), Cattle Egret (*Bubulcus ibis*), Little Egret (*Egretta garzetta*), Yellow Bittern (*Ixobrychus sinensis*),

Black-Crowned Night Heron (*Nycticorax nycticorax*), Open-billed Stork (*Anastomus oscitans*), Little Grebe (*Tachybaptus ruficollis*) were ranging between 107.20 ± 16.50 - 369.33 ± 29.86 μm . The eggshell thickness of order Columbiformes (2 species) Rock Pigeon (*Columba livia*) and Spotted Dove (*Streptopelia chinensis*) were ranging between 100.00 ± 8.63 - 369.33 ± 29.86 μm . The eggshell thickness of Cuculiformes: Plaintive Cuckoo (*Cacomantis merulinus*) and Order Turniciformes: Buttonquail (*Turnix* sp.) was 63.50 ± 4.46 μm and 88.33 ± 4.03 μm . While, eggshell thickness of Order Gruiformes (3 species) White-bellied Waterhen (*Amaurornis phoenicurus*), Common Moorhen (*Gallinula chloropus*) and Ruddy-breasted Crake (*Porzana fusca*) were ranging between 100.00 ± 8.63 - 249.5 ± 8.42 μm . The eggshell ultrastructure of all species exhibited 3 layers: cuticle, palisade and mammillary. All eggshells showed palisade layer as the most thickness layer following by mammillary layer and cuticle layer. The palisade layer had a difference porosity of vesicular holes. The tiny portion of the shell unit, which is developed below the organic core between fibers of shell membrane. Meanwhile, the mammillary layer was more compact which broad base cone shape (U and V shaped) connected with shell membrane. This study showed 2 models of eggshell structure (classification from mammillary structure in small and large eggshells). Small eggshells have weight between 0.79-19.79 g and eggshell thickness ranging between 67.20-249.50 μm . The terminal of mammillary layer has mammillary knob connect with shell membrane. For large eggshell has weight more than 19.79 g and eggshell thickness ranging between 249.50-369.33 μm with U shape of mammillary layer.

Elemental analysis by energy dispersive x-ray microanalysis detector (EDX) showed 11 apparent elements in the eggshells including oxygen (O), calcium (Ca), carbon (C), aluminum (Al), silicon (Si), magnesium (Mg), sodium (Na), phosphorus (P), sulfur (S), chlorine (Cl) and molybdenum (Mo) at the percentage of 50.12-59.04%, 17.48-29.48%, 16.67-28.33%, 0.06-0.75%, 0.04-0.53%, 0.07-0.52%, 0.13-0.40%, 0.02-0.22%, 0.02-0.19%, 0.04-0.14% and 0.03-0.11%, respectively. It was found that the 3 highest elemental compositions (Ca, C and O), which essential for avian embryonic development e.g. the muscle, skeleton and brain, mainly presented as composited structure of calcium carbonate (CaCO_3). Meanwhile, Mg, Na and P found in all avian eggshell species were major inorganic constituents of the eggshells which directly related to an increase of the shell hardness. Finally, the heavy metal Mo has been observed in 3 eggshell species. This observation provides valuable information for further works to support knowledge on avian eggshell biology.