

ชื่อโครงการวิจัย

ศึกษาโครงสร้าง สัณฐานวิทยา การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของเปลือกไขนกไทยโดยนาโนเทคโนโลยี

Study on Thai Avian Eggshell Structure, Morphology Qualitative and Quantitative Elemental Analysis using Nanotechnology

บทนำ

เปลือกไขนกที่พบตามธรรมชาตินั้นเป็นหลักฐานที่มีคุณค่าสูงทางนิเวศวิทยาที่ธรรมชาติได้มอบไว้ให้เพราะทำให้นักวิจัยได้ทราบถึงความเป็นไปของจำนวนลูกนกที่เกิดขึ้นใหม่หรือจำนวนลูกนกที่ไม่ได้ฟักตัวตลอดจนใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีววิทยา (Biological indicator) ของสภาพสิ่งแวดล้อมว่ามีความผันแปรหรือไม่อย่างไร โดยต้องศึกษาถึงองค์ประกอบของธาตุและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกไขนก เช่น ความหนา (thickness) รูปร่างโครงสร้าง (form) ขนาดทั้งหมด (whole size) องค์ประกอบธาตุ (elements) และลักษณะรูที่เปลือกไข่ (features of porous system) ว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ อย่างไร ในขณะที่เกิดความผันแปรและมีการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม เพราะองค์ประกอบของเปลือกไข่ทั้งหมด ความหนาบาง ตลอดจนสีของเปลือกไข่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาพสิ่งแวดล้อม (Environmental indicator) ณ บริเวณหรือสถานที่ที่นกอาศัยอยู่ได้เป็นอย่างดี (Nys และคณะ, 2004) ซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานทางอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ในการจำแนกชนิดของนกตามองค์ประกอบและข้อมูลของเปลือกไข่ได้ (Mikhailov, 1997; Palevol, และคณะ, 1999; Nys และคณะ, 2004) นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังได้ศึกษาถึงความหนาของเปลือกไขนก (Thickness of bird eggshell) ที่สามารถใช้เป็นข้อบ่งชี้ให้ทราบถึงอายุ (Cusack และคณะ 2003) สุขภาพและโรคที่เกิดกับแม่พันธุ์ เช่น การติดเชื้อของรังไข่และปีกมดลูก (Ridler, 2000) หลักฐานของเปลือกไข่ยังทำให้ทราบถึงโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ (Heavy metal contamination in environment) (Lundholm, 1995; Mora, 2003)

อีกหนึ่งการที่จะได้มาซึ่งเปลือกไขนกในธรรมชาตินั้นเป็นสิ่งที่ยากลำบากมาก เพราะตามธรรมชาตินกจะทำรังเพื่อวางไข่ในที่ที่ปลอดภัยที่สุดซึ่งยากต่อการค้นพบ (Peterson, 1978) วิธีที่จะเก็บไขนกเพื่อนำมาศึกษานั้นอาจได้จากการลักไขนกจากรังนกหรือการเก็บไขนกจากรังที่แมนกทิ้งรังหรือการเก็บเปลือกไขนกที่แมนกเก็บไปทิ้งให้พันธุ์หลังจากลูกนกฟักตัวแล้ว (Snodderly และ Max, 1978; Sordahl, 1994; Sandercock, 1996) ซึ่งวิธีสุดท้ายนี้จะได้เปลือกไข่ที่แตกและไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจะได้ข้อมูลที่คลาดเคลื่อนไปด้วยความยากลำบากดังกล่าวทำให้นักวิจัยและข้อมูลของเปลือกไขนกตามธรรมชาตินั้นขาดแคลนมาก

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเปลือกไขนกของไทยนั้น เท่าที่ผู้วิจัยได้สืบค้นข้อมูลนั้นยังไม่พบว่ามีผู้ใดได้ศึกษาและเก็บรวบรวมมาก่อนในประเทศไทย จึงยิ่งทำให้คณะผู้วิจัยซึ่งเป็นนักวิจัยสาขาสัตววิทยาที่มีความเชี่ยวชาญเรื่องปักษีวิทยาและด้านจุลทรรศน์อิเล็กตรอน มีความตั้งใจอย่างสูงที่จะร่วมประสานกันในการที่จะรวบรวมและเก็บข้อมูลของเปลือกไขนก โดยคณะผู้วิจัยมีความตั้งใจที่จะทำการศึกษาเปลือกไขนกที่

มีอยู่ตามธรรมชาติและรวมถึงนกเลี้ยงที่อยู่ในจังหวัดนครปฐมและบริเวณที่ใกล้เคียง ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญมากสำหรับชมรมผู้รักนกและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการอนุรักษ์นกต้องตระหนักถึง โดยงานวิจัยนี้จะศึกษาทั้งทางด้านนิเวศวิทยาและศึกษาวิเคราะห์โดยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไว้อย่างละเอียดครบถ้วน เพื่อนำข้อมูลทั้งหมดจากงานวิจัยนี้ใช้เป็นฐานข้อมูลเพื่อดำเนินการจัดทำแม่แบบ (model) เปลือกไขนกไทยต่อไป และสามารถใช้ข้อมูลทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเปลือกไขนกในการเปรียบเทียบกับการจัดอนุกรมวิธานของนกที่เคยได้จัดไว้แล้ว (ซึ่งใช้ลักษณะต่างๆ ของนกในการจัดอนุกรมวิธาน) ว่ามีความสัมพันธ์หรือสอดคล้องกันหรือไม่ อย่างไร นอกจากนี้ยังพยายามที่จะใช้ข้อมูลในการเปรียบเทียบกับเปลือกไขของสัตว์อื่นๆ ประโยชน์ด้านอื่นๆ คือข้อมูลของปริมาณและคุณภาพของธาตุต่างๆ ในเปลือกไขนี้มีประโยชน์ในการใช้เปรียบเทียบเมื่อมีการปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมหรือเมื่อสัตว์ปีกที่เป็นโรคและมีการสร้างเปลือกไขที่ผิดปกติไป (Lundholm, 1995; Mora, 2003; Miguel, 2003)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิเคราะห์โครงสร้าง (structure) และลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยา (ultra morphology) ของเปลือกไขนกอย่างละเอียด
2. เพื่อศึกษาวิเคราะห์ธาตุ (elemental analysis) ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของเปลือกไขนก ซึ่งทำให้ทราบข้อมูลว่าเปลือกไขนกมีองค์ประกอบธาตุอะไรบ้างและมีปริมาณเท่าไร ตลอดจนมีธาตุหรือโลหะหนักที่เป็นพิษปนเปื้อนหรือไม่และมีปริมาณเท่าไร
3. เพื่อจัดจำแนกและจัดทำแม่แบบ (model) ของเปลือกไขนกและศึกษาความสัมพันธ์ของเปลือกไขในทางอนุกรมวิธาน (taxonomy) พร้อมวิเคราะห์เปรียบเทียบกับอนุกรมวิธานที่มีผู้จัดไว้แล้วว่ามีความสอดคล้องหรือมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ อย่างไร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ผลงานวิจัยนี้จะตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการและการนำเสนอผลงานระดับนานาชาติได้
- ประโยชน์ต่อสังคมคือสามารถเผยแพร่ความรู้ที่ได้จากการทำวิจัยสู่เยาวชนและผู้สนใจคือการจัดอบรมหรือการจัดให้ความรู้ในงานสัปดาห์วิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยได้
- สามารถเผยแพร่ความรู้ที่ได้จากการทำวิจัยให้แก่ประชาชนทั่วไปในภาษาที่เข้าใจง่าย ตามสื่อเช่นหนังสือพิมพ์ สิ่งพิมพ์หรือนิตยสารได้
- รวบรวมข้อมูลเพื่อจัดทำพินิทภัณฑ์เปลือกไขนก เพื่อให้ความรู้แก่นักเรียน นักศึกษาและผู้สนใจทั่วไป โดยจัดไว้ที่ ห้องปฏิบัติการปักษีวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรได้

การถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย ผลสำเร็จของการวิจัยที่จะคาดว่าจะถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายฯ เป็นจำนวนนับ

หน่วยงานที่สามารถนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์คือ

- หน่วยงานทางการศึกษา เช่นภาควิชาชีววิทยาและสัตววิทยา ของมหาวิทยาลัยต่างๆ
- กรมป่าไม้และกรมทรัพยากรธรรมชาติ
- ชมรมอนุรักษ์นกต่างๆ และหน่วยงานทางการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ธรรมชาติ
- สวนสัตว์ต่างๆ

ขอบเขตการวิจัย

ทำการศึกษาเปลือกไข่นกที่พบตามธรรมชาติและนกที่เพาะเลี้ยงในกลุ่มจังหวัดภาคกลาง ภาคกลางตอนล่างและภาคอื่นๆ ที่สามารถเก็บได้ จึงนำเปลือกไข่มาศึกษาสัณฐานวิทยาภายนอกและภายในพร้อมศึกษาธาตุที่เป็นองค์ประกอบ ตลอดจนธาตุโลหะหนักที่ปนเปื้อน เพื่อจัดทำแม่แบบเปลือกไข่นก พร้อมศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเช่น ข้อมูลของนก วงชีวิตของนก รังนก อาหารที่นกกิน การวางไข่ โดยการออกสำรวจภาคสนามด้วยการเฝ้าศึกษาและการถ่ายภาพและจากการค้นคว้าจาก Literature ต่างๆ แล้วนำมารวมและศึกษาความสัมพันธ์ของเปลือกไข่ทั้งหมดในทางอนุกรมวิธาน จัดรวบรวมข้อมูลอื่นๆ ซึ่งประกอบด้วยความรู้เรื่องเปลือกไข่นกชนิดต่างๆ โครงสร้างและสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่นก ตลอดจนองค์ประกอบธาตุเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพในเปลือกไข่นกไทยชนิดต่างๆ การสร้างเปลือกไข่ การวางไข่ รูปร่างนก วงชีวิตของนก รังนก อาหารที่นกกิน และนำข้อมูลเรื่องโครงสร้างของเปลือกไข่เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานพร้อมวิเคราะห์เปรียบเทียบกับอนุกรมวิธานที่มีผู้จัดไว้แล้วว่ามีความสอดคล้องกันมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ อย่างไร

การทบทวนเอกสาร

การศึกษาเปลือกไข่สัตว์ของไทยพบเพียงแต่การศึกษาในสัตว์เลื้อยคลานเช่นตะพาบน้ำ (Narrow-headed Softshell Turtle *Chitra chitra* Nutphand) โดยศึกษาโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณในแต่ละชั้นของเปลือกไข่ด้วย Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX) และยังศึกษาถึงส่วนสัดของ powder-size ของเม็ด particles ด้วย X-ray Diffraction Analysis พบว่าเปลือกไข่ของตะพาบน้ำประกอบด้วย 3 ชั้น ด้านนอกเป็นเยื่อหุ้ม calcareous ชั้นกลางเป็นชั้น crystalline ส่วนเยื่อหุ้มชั้นในเป็นชั้น fibrous ที่สานกันเป็นตาข่าย เปลือกไข่ประกอบด้วยธาตุ oxygen, carbon, magnesium, calcium, silica, aluminium, potassium และ sodium ในส่วนประกอบ 53%, 35%, 5.55%, 5.4 %, 2.9%, 2.3%, 0.17% และ 0.74% ตามลำดับ (Kitimasak และคณะ, 2003) สำหรับการศึกษาเปลือกไข่เต่า (Olive Ridley Turtles *Lepidochelys*

olivacea) นั้นได้เปรียบเทียบกับเปลือกไข่เต่าเลี้ยงและเต่าตามธรรมชาติที่เกาะภูเก็ต พบว่าเปลือกไข่เต่าธรรมชาติและเต่าเลี้ยงมีความแตกต่างกันบ้างที่ชั้นเปลือกนอกสุด โดยในชั้นนี้เปลือกไข่เต่าธรรมชาติจะเป็น dome shape ซึ่งเปลือกไข่ของเต่าเลี้ยงมีลักษณะเป็นรูปร่างกลมและรียาวปะปนกันไป ส่วนด้านข้างของเปลือกไข่เต่าธรรมชาติพบเป็นชั้นที่สะสมแคลเซียมมีรูปร่างเป็นพัด ส่วนเปลือกไข่ของเต่าเลี้ยงพบชั้นที่สะสมแคลเซียมเป็นรูปพัดเช่นกัน แต่ด้านบนกลับเรียงตัวไม่สม่ำเสมอและชั้นในสุดเป็นชั้น fibrous

การใช้เทคนิคต่างๆ ในการศึกษาพื้นผิวของเปลือกไข่ในต่างประเทศมีผู้ศึกษา โดยใช้หลายวิธีการ ศึกษาขนาดและการจัดเรียงตัวของ Crystal สามารถใช้ optical microscopy ได้ โดยใช้ slide แต่ศึกษาได้เพียงภาพ 2 มิติ สำหรับการใช้ X-ray technique ได้ภาพเป็น 3 มิติ ซึ่งทำให้ทราบถึงสภาพพื้นผิวและทราบถึงองค์ประกอบที่อยู่ทีเปลือกไข่ด้วย นอกจากนี้ยังมีผู้ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและส่องผ่านเพื่อศึกษาโครงสร้างนี้อย่างละเอียดด้วย (Nys และคณะ, 2004)

การศึกษาของ Miguel (2003) พบปริมาณโลหะที่กระจายตัวในไข่และเปลือกไข่ของนกที่กำลังจะสูญพันธุ์คือ Southwestern Willow Flycatcher (*Empidonax trillii extimus*) จาก 4 บริเวณของรัฐออริโซนา พบธาตุ อลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง แมงกานีส ซีรีเนียมและสังกะสี ในไข่และเปลือกไข่ ซึ่งมีผลต่อการฟักตัวของไข่ในบางพื้นที่ที่ศึกษา รวมถึงการศึกษาของ Swailch และ Sansur (2006) ที่แสดงถึงผลของโลหะหนักที่กระทบต่อนกกระจอกใหญ่ พบว่ามีการสะสมโลหะหนักในอวัยวะต่างๆ รวมถึงในไข่และเปลือกไข่นกด้วย โดยวัดความเข้มข้นของ ทองแดง แคดเมียม โปรทและสังกะสีในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ของนกกระจอกตัวผู้และตัวเมียที่ยังไม่เต็มวัย (อายุ 1-4 อาทิตย์) และตัวเต็มวัย พบว่าเนื้อเยื่อและอวัยวะที่พบโลหะหนักปริมาณมากไปน้อยตามลำดับ ได้แก่ ตับ > กระเพาะ > กระดูก > ปอดและขนนก > กล้ามเนื้อ > ไข่ และสมอง > หัวใจ > เปลือกไข่ นอกจากนี้พบว่านกตัวเต็มวัยที่เก็บจากชนบท พบปริมาณของ ทองแดง โปรทและสังกะสี น้อยกว่านกในเมืองอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังพบว่าความเข้มข้นของโลหะมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับอายุของนก จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้เปลือกไข่เป็นตัวชี้วัด (indicator) ที่แสดงถึงคุณภาพของสิ่งแวดล้อมและยังสามารถใช้นกกระจอกใหญ่ในการติดตาม (Biomonitor) ความเป็นพิษของโลหะในเมืองได้

Kazuto และคณะ (2010) ทำการทดลองในเปลือกไข่ของไก่ทั้ง 3 ชนิด คือ Rhode Island Red hens, White Leghor, Araucanas ซึ่งมีสีน้ำตาล สีขาว และสีเขียว ตามลำดับ โดยนำเปลือกไข่ทำความสะอาดนำเมมเบรนออกแล้วบดหยาบผสมกับแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แล้วบ่มในที่มืดและสว่าง พบว่า เม็ดสีที่เปลือกไข่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่ให้ผลน้อยกับแบคทีเรียแกรมลบ

Chien และคณะ (2009) ศึกษาไก่พันธุ์ Gallus gallus พันธุ์สีขาว ซึ่งใช้เวลาในการกกไข่ 21 วัน ได้นำเปลือกไข่ตั้งแต่ไข่ระยะวางไข่จนถึงวันที่ฟักตัว นำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและรายงานว่เปลือกไข่เริ่มบางลงอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 11 ของการวางไข่และบางลงเรื่อยๆ

จนถึงวันฟักไข่ ซึ่งเปลือกไข่บางที่สุดที่ระยะนี้ การศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนได้ดึงแร่ธาตุและแคลเซียมในเปลือกไข่ไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตหลังจากใช้สารอาหารจากไข่แดงหมดในวันที่ 11 ของการวางไข่ ซึ่งเปลือกไข่มีส่วนสำคัญในการพัฒนาของตัวอ่อนภายในด้วยการเป็นแหล่งแคลเซียมที่ใช้สำรองจากไข่แดงนั่นเองและความสำคัญของเปลือกไข่นอกเหนือจากนี้คือเปลือกไข่ช่วยป้องกันตัวอ่อนจากสภาวะแวดล้อมภายนอก จุลินทรีย์ อันตรายทางกายภาพ ควบคุมการแลกเปลี่ยนก๊าซ ปริมาณน้ำ ของเสียต่างๆ

Mathies และ Andrews (2000) ศึกษาพื้นฐานวิทยาของเปลือกไข่ของสัตว์เลื้อยคลานคือกิ้งก่าในรัฐ Virginia, Arizona และ New Mexico ในช่วงปี ค.ศ. 1993-1997 พบว่าโครงสร้างของเปลือกไข่ประกอบด้วย 3 ชั้นคือ ชั้นนอกสุดเป็นชั้น cuticle ชั้นที่สองคือชั้น crystalline layer ซึ่งมีการเรียงตัวที่แตกต่างของ crystalline materials ทำให้ผิวเปลือกไข่กึ่งกึ่งแต่ละชนิดแตกต่างกัน ชั้นในสุดเป็นชั้น shell membrane ซึ่งเป็นชั้นที่ไม่มีความแตกต่างกันเลยในกิ้งก่าแต่ละชนิด

Solomon (1991) และ Nys และคณะ (1999) ศึกษาพบว่าเปลือกไข่นกประกอบด้วย 6 ชั้น ชั้นในเป็นชั้นที่ไม่มีแคลเซียมและด้านนอกของ shell membranes แต่ละชั้นเป็นชั้น fiber และ albumen ส่วนชั้นด้านในมีโครงสร้างเป็นรูปกรวย

Dennis และคณะ (1996) ศึกษาองค์ประกอบของสารอินทรีย์ของเปลือกไข่ไก่พันธุ์ White Leghorn Chickens (*Gallus gallus*) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและวิเคราะห์ mineral phase ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน X-ray compositional microanalysis และ Electron diffraction พบว่าเปลือกไข่ประกอบด้วยชั้น cuticle 2 ชั้น ชั้นในเป็นชั้นแร่ธาตุและชั้นนอกประกอบด้วยองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ต่างๆ ชั้นต่อมาเป็นชั้นที่มีแคลเซียมสะสมซึ่งเป็นชั้นที่มีความหนาแน่น ชั้นในสุดเป็นชั้นของ shell membrane

Lundholm (1995) ได้ทำการทดลองให้ไก่เลี้ยงกิน methyl mercury ขนาด 5 มิลลิกรัม ทุกวันเป็นเวลา 6 วัน พบว่าแม่ไก่ไม่สามารถผลิตไข่ได้อย่างสมบูรณ์เพราะเปลือกไข่นั้นบางมาก และ Mora (2003) ได้ศึกษาเปลือกไข่นกธรรมชาติในรัฐโอริโซนา ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ามีโลหะหนักตกค้างในเปลือกไข่หลายชนิด เช่น ธาตุสตรอนเตียม สารหนู แบเลียม ทองแดง และวาเนเดียม ซึ่งมีผลทำให้อัตราการฟักตัวของไข่ลดลงอย่างมาก

คำสำคัญ (Keyword) Avian Eggshells, Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX), Morphology, Secondary Electron Imaging (SEI)

เนื้อเรื่อง

วิธีการดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. การเก็บตัวอย่างและการศึกษาโครงสร้างและรูปร่างภายนอกของเปลือกไขนก

1.1 งานภาคสนามคือการออกเก็บตัวอย่างไขนก ซึ่งแบ่งเป็นนกจากธรรมชาติและนกเลี้ยง ในจังหวัดภาคกลาง ภาคกลางตอนล่างและภาคอื่นๆ ที่เก็บได้ เช่น กรุงเทพมหานคร จังหวัดราชบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดนครปฐม จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดสมุทรสงคราม ชลบุรี เป็นต้น (อย่างน้อยชนิดละ 3 ใบ: $N=3$) โดยอาจเก็บได้เป็นเปลือกไขนกหรือเก็บไขนกแล้วแต่กรณี แล้วจำแนกชนิดของเปลือกไข่ถ่ายภาพ และจดบันทึกรายละเอียดของสถานที่เก็บตัวอย่าง

1.2 นำไขนกมาทำความสะอาดเพื่อล้างคราบฝุ่นหรือสิ่งปนเปื้อนออก วัดขนาดเปลือกไข่ ชั่งน้ำหนัก จดบันทึกสีและลวดลายของเปลือกไข่

2. ศึกษาโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายในของเปลือกไข่ด้วยโดยนาโนเทคโนโลยี

2.1 ทำเปลือกไขนกให้แตกแล้วนำตัวอ่อนออก จึงลอกเยื่อที่หุ้มตัวอ่อน (Inner and outer shell membrane) ที่ยังคงติดกับเปลือกไข่ออก

2.2 ทำเปลือกไข่ให้ปราศจากความชื้น โดยเก็บเปลือกไข่ไว้ในที่ดูดความชื้นเป็นเวลานานประมาณ 48 ชั่วโมง

2.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนั้นประยุกต์ตามวิธีของ Mathies และ Andrews (2000) โดยเริ่มจากการคงสภาพเปลือกไข่ด้วย 1.5% glutaraldehyde นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างตัวอย่างออกด้วย 0.1% phosphate buffer 2 ครั้ง แล้วนำชิ้นตัวอย่างจุ่มลงในไนโตรเจนเหลว เพื่อให้ตัวอย่างแข็ง

2.4 ติดตัวอย่างบนฐานรองตัวอย่างด้วยเทปคาร์บอน แล้วฉาบตัวอย่างด้วยผงทองด้วยเครื่องฉาบทอง (Ion sputter) ให้ได้ความหนา 20 นาโนเมตร นำตัวอย่างศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วย Secondary electron imaging (SEI) ที่ 10-15 kV พร้อมบันทึกภาพ ซึ่งเป็นข้อมูลที่ครบสมบูรณ์ที่ใช้เป็นหลักฐานทางอนุกรมวิธานและข้อมูลทางนิเวศวิทยาได้เป็นอย่างดี

3. ศึกษาและวิเคราะห์ธาตุในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ประกอบในแต่ละชั้นของเปลือกไขนกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้ Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX) เป็นตัวตรวจวัด (Study the elemental component of eggshell layers by using scanning electron microscope (SEM: Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX))

3.1 เตรียมตัวอย่างและกำหนดบริเวณศึกษาเหมือนการศึกษาโครงสร้างเปลือกไข่ แล้วติดตัวอย่างบนฐานรองตัวอย่างด้วยเทปคาร์บอน

3.2 นำตัวอย่างไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยใช้ EDX หรือเรียกว่า EDS ในการวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกไข่ภายใต้ระบบสุญญากาศสูงที่กระแสไฟฟ้า 20 kV. ทำการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

4. จัดทำแม่แบบ (model) ของเปลือกไข่นกและการประมวลผล

วิเคราะห์ข้อมูล ศึกษาข้อมูลของเปลือกไข่นกตามธรรมชาติและนึกถึงว่ามีรูปร่างทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษาจากบริเวณต่างๆ วิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของเปลือกไข่ว่าแตกต่างกันอย่างไร นำข้อมูลไปคำนวณผลทางสถิติ

ผลการวิจัย

1. ศึกษาโครงสร้าง (structure) ภายนอกของไข่

เก็บตัวอย่างและการศึกษาโครงสร้างและรูปร่างของเปลือกไข่นก จากจังหวัดในเขตภาคกลาง คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา สิงห์บุรี นครปฐมและปทุมธานี รวม 32 ชนิด จำแนกได้เป็น 7 Orders คือ Order Anseriformes จำนวน 1 ชนิด คือ นกเป็ดแดง มีน้ำหนักไข่กับ 33.72 ± 0.76 กรัม Order Passeriformes จำนวน 14 ชนิด คือ นกกางเขนบ้าน นกกระจาบทอง นกกระจาบทองดำ กระจิบทองดำ นกกระจิบหน้าสีเรียบ นกกินปลีอกเหลือง นกแซงแซวหางปลา นกปรอดหัวโขน นกปรอดหัวสีเขม่า นกปรอดสวน นกแอ่นพง นกอีแพรดแถบอกดำ นกเอี้ยงสาธิตและนกเอี้ยงดำ โดยมีน้ำหนักไข่อยู่ในช่วง $0.79 \pm 0.01 - 5.72 \pm 0.11$ กรัม Order Columbiformes จำนวน 2 ชนิด คือ นกพิราบป่า และนกเขาใหญ่ โดยมีน้ำหนักไข่อยู่ในช่วง $6.90 \pm 0.79 - 14.58 \pm 0.69$ กรัม Order Cuculiformes จำนวน 1 ชนิด คือ นกอีวาบ ตักแตน มีน้ำหนักไข่เท่ากับ 1.46 ± 0.0 กรัม Order Gruiformes จำนวน 3 ชนิด คือ นกกวก นกหนูแดง และนกอีล้ำ โดยมีน้ำหนักไข่อยู่ในช่วง $19.54 \pm 0.15 - 19.79 \pm 0.77$ กรัม และ Order Turniciformes จำนวน 1 ชนิด คือ นกคุ่มอืด มีน้ำหนักไข่เท่ากับ 3.56 ± 0.23 กรัม ไข่ทั้งหมดที่ศึกษามีความยาวของไข่อยู่ในช่วง $1.29 \pm 0.26 - 5.70 \pm 2.09$ เซนติเมตร และมีความกว้างไข่อยู่ในช่วง $1.05 \pm 0.06 - 5.70 \pm 2.09$ เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

รูปทรงไข่ของนกทั้ง 32 ชนิด มีรูปร่างแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ ทรงไข่ (oval) ทรงรี (elliptical) และทรงลูกข้าง (pyriform หรือ pear-shaped) (ภาพที่ 1) โดยมีภาพของไข่นกทั้ง 32 ชนิดที่ศึกษาในภาพที่ 2-5

ก. ไข่ที่มีรูปร่างเป็นรูปไข่ (oval) เป็นรูปร่างไข่ของนกทั่วไป ซึ่งมีด้านหนึ่งมีความกลมกว่าอีกด้าน พบใน นกกางเขนบ้าน นกกระจาบทอง นกกระจิบหน้าสีเรียบ นกกระจาบทอง นกกินปลีอกเหลือง นกกวก นกปรอดหัวโขน นกปรอดหัวสีเขม่า นกปรอดสวน นกอีแพรดแถบอกดำและนกเอี้ยงดำ

ข. ไข่ที่มีรูปร่างทรงรี (elliptical) เป็นรูปร่างของไข่ที่ส่วนกลางไข่มีความกว้างมากที่สุด ส่วนปลายทั้งสองมีขนาดเท่าๆ กัน พบในนกพิราบป่าและนกยางกรอก

ค. ไข่ที่มีรูปร่างทรงลูกข้าง (pyriform หรือ pear-shaped) เป็นรูปร่างไข่ที่มีปลายด้านหนึ่งเรียวแหลมมากกว่าอีกด้านอย่างชัดเจน พบในนกกะแตแต้แว๊ดและนกตีนเทียน



ก



ข



ค

ภาพที่ 1 ไชนกที่รูปทรงเป็นรูปทรงไข่ รูปทรงรี และรูปทรงลูกข้าง (ก ข และ ค ตามลำดับ)

Order Passeriformes



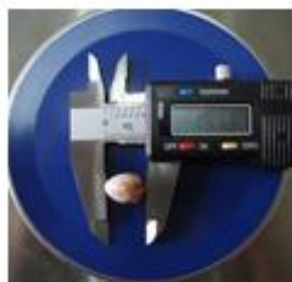
กระจาบทอง



กระจาบธรรมดา



กระจิบธรรมดา



กระจิบหญ้าสีเรียบ



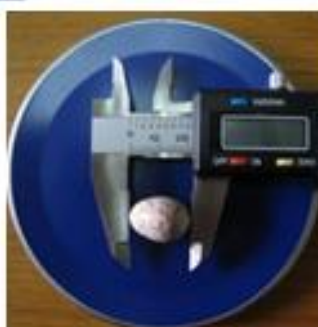
กางเขนบ้าน



กินปลือกเหลือง



นกปรอดสวน



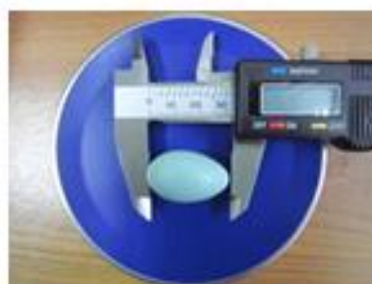
นกปรอดหัวโขน



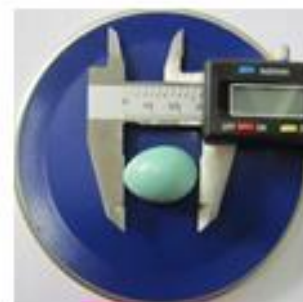
นกปรอดหัวสีเขม่า



นกอีแอพรดแถบอกดำ



นกเอี้ยงหงอน

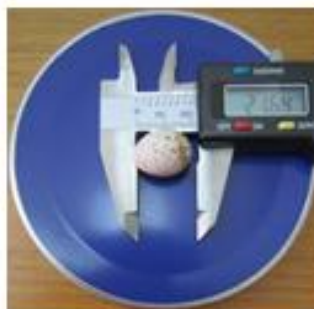


นกเอี้ยงสาริกา

ภาพที่ 2 ภาพไข่นกใน Order Passeriformis จำนวน 14 ชนิด



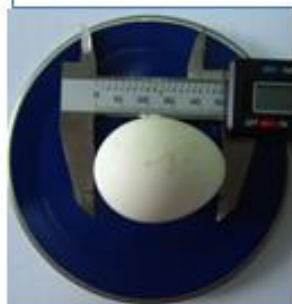
แซงแซวหางปลา



แอ่นพวง

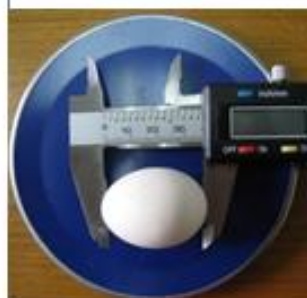
ภาพที่ 2 ภาพไข่นกใน Order Passeriformis จำนวน 14 ชนิด (ต่อ)

Order Anseriformes

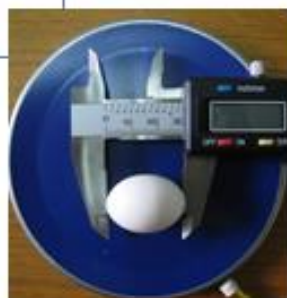


นกเป็ดแดง

Order Columbiformes



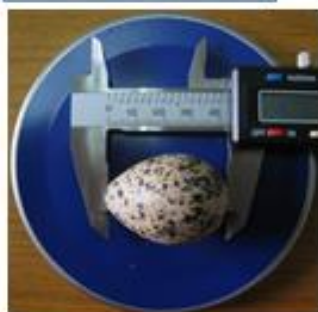
นกพิราบป่า



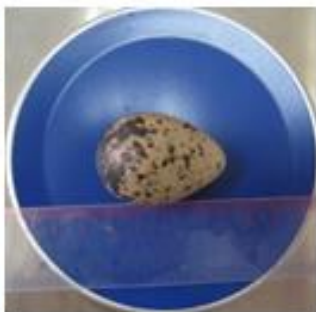
นกเขาใหญ่

ภาพที่ 3 ภาพไข่นกใน Order Anseriformes และ Columbiformes จำนวน 1 และ 2 ชนิด ตามลำดับ

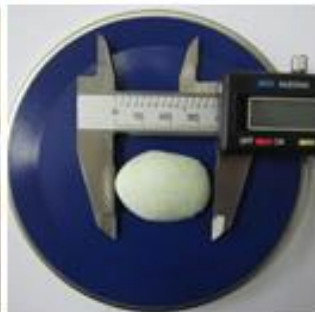
Ciconiiformes



กระแตแต้แว๊ด



ตีนเทียน



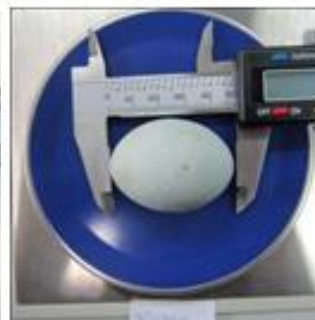
ยางกรอกพันธุ์ชวา



ยางกรอก



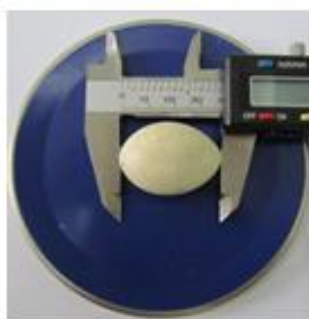
นกปากห่าง



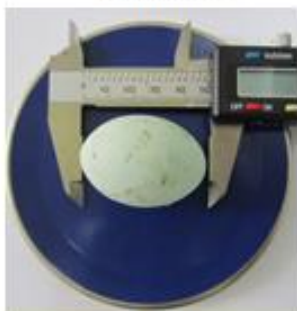
นกแซง



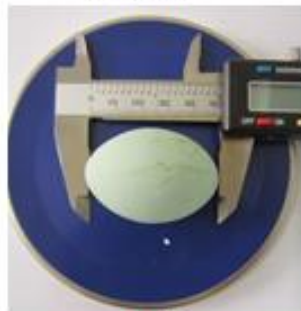
ยางไฟหัวดำ



เป็ดผีเล็ก



ยางควาย



ยางเป็ด

ภาพที่ 4 ภาพไข่นกใน Order Ciconiiformes จำนวน 10 ชนิด

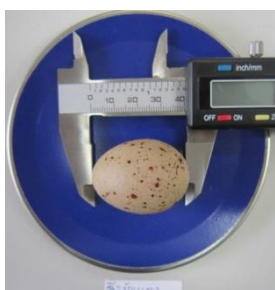


นกอีวาบตั๊กแตน

Gruiformes



นกกวัก



นกหนูแดง



นกอีล้ำ

Order Turniciformes



นกคุ้มอีด

ภาพที่ 5 ภาพไข่นกใน Order Cuculiformes, Gruiformes และ Turniciformes จำนวน 1 , 3 และ 1 ชนิด 9 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ชนิดนก แหล่งที่เก็บไข่นกและสัณฐานวิทยาภายนอกของไข่นกที่ทำวิจัย 32 ชนิด

ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มาจังหวัด	จำนวน	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	รูปทรงไข่	สี-ลวดลายของไข่
Order Passeriformes							
กระจายทอง (Asian Golden Weaver) <i>Ploceus hypoxanthus</i>	ปทุมธานี	12	1.35±0.05 (12)	1.81±0.05 (12)	1.74±0.17 (11)	oval	ผิวเรียบมัน สีขาวและมีสีเทาอ่อน บางฟองมีจุดเล็ก ๆ สีเทากระจายทั่วไป
กระจายธรรมดา (Baya Weaver) <i>Ploceus philippinus</i>	ปทุมธานี	2	1.44±1.04	2.05±1.9	2.57(1)	oval	ขาวเรียบ
กระจิบธรรมดา (Common Tailorbird) <i>Orthotomus sutorius</i>	นครปฐม	8	1.17±0.17 (8)	1.29±0.26 (8)	0.79±0.02 (6)	oval	สีขาว มีจุดสีน้ำตาลอ่อนกระจายห่าง ๆ ทางด้านบ้าน
กระจิบหญ้าสีเขียว (Plain Prinia) <i>Prinia inornata</i>	ฉะเชิงเทรา	4	1.11±0.07 (4)	1.53±0.07 (4)	0.86±0.10 (4)	oval	พื้นเปลือกสีขาว มีปื้นสีแดงอ่อน-เข้มและจุดดำมีมากทางด้านบ้าน
กวางเขนบ้าน (Oriental Magpie-Robin) <i>Copsychus saularis</i>	นครปฐม	13	1.71±0.10 (13)	2.18±0.05 (13)	3.01±0.31(13)	oval	สีเขียวอมฟ้า มีลายจุดสีน้ำตาล กระจายทั่วฟอง
กินเปลือกเหลือง (Olive-backed Sunbird) <i>Nectarinia jugularis</i>	นครปฐม	3	1.05±0.06 (3)	1.50±0.10 (3)	0.79±0.01 (1)	oval	สีขาวขุ่น มีจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาลอ่อนกระจายทั่วไป มีมากทางด้านบ้าน
ปรอดสวน (Streak-eared Bulbul) <i>Pycnonotus blanfordi</i>	นครปฐม	10	1.59±0.09 (10)	2.20±0.20 (10)	2.50±0.12 (6)	oval	สีขาวขุ่น เทาอ่อนจนถึงสีชมพูอ่อน มีจุดสีน้ำตาลหรือสีม่วง กระจายมากด้านบ้าน
ปรอดหัวโขน (Red-whiskered Bulbul) <i>Pycnonotus jocosus</i>	นครปฐม	4	1.56±0.02 (4)	2.19±0.07 (4)	2.16±0.05 (3)	oval	สีเทา มีจุดสีแดงเข้มและสีเทาเข้มกระจายปะปนกันทั่วฟอง

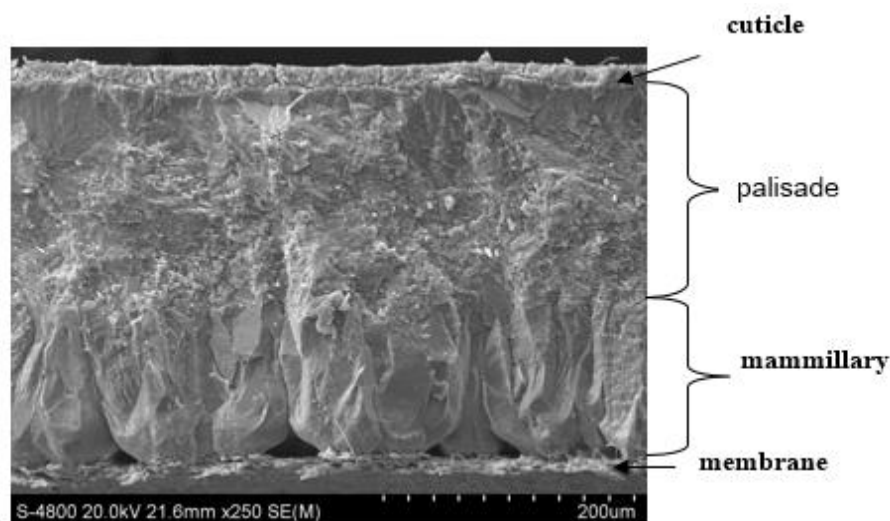
ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มาจังหวัด	จำนวน	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	รูปทรงไข่	สี-ลวดลายของไข่
ปรอดหัวสีเขม่า (Sooty-headed Bulbul) <i>Pycnonotus aurigaster</i>	นครปฐม	5	1.58±0.04 (3)	2.33±0.30 (5)	2.69±0.08 (2)	oval	สีชมพู-แดงอ่อน มีจุดสี แดงเข้มกระจายทั่วฟอง
อีแรพรดแถบอกดำ (Pied Fantail) <i>Rhipidura javanica</i>	นครปฐม และ สิงห์บุรี	3	1.28±0.08 (3)	1.76±0.05 (3)	1.55±0.06 (2)	oval	สีขาวขุ่น มีจุดสีเข้ม กระจายเป็นวงรอบฟอง บริเวณส่วนกว้างสุด
เอี้ยงดำ (Asian Pied Starling) <i>Sturnus contra</i>	สิงห์บุรี	3	2.03±0.03 (3)	2.82±0.04 (3)	5.65±0.04 (2)	oval	สีเขียวอมฟ้า มีจุดสี น้ำตาลอ่อนหลายขนาด กระจายอยู่ไม่มาก
เอี้ยงสาริกา (Common Myna) <i>Acridotheres tristis</i>	กำแพงแสน นครปฐม	3	2.01±0.34	2.69±0.17	5.72±0.11	oval	สีเขียวอมฟ้าเข้ม มีจุด เล็กๆ สีน้ำตาลบาง บริเวณ
แซงแซวหางปลา (Black Drongo) <i>Dicrurus macrocercus</i>	นครสวรรค์	3	1.71±0.36	2.19±0.06	3.13±0.36	oval	สีขาว บางฟองมีลายจุดสี น้ำตาลเข้ม
แอ่นพง (Ashy Woodswallow) <i>Artamus fuscus</i>	ตาก นครสวรรค์	3	1.67±0.25	2.23±1.18	2.81±0.17	oval	สีขาว มีจุดสีน้ำตาลและสี เทากระจาย พบมาก ทางด้านบ้าน
Order Anseriformes							
เป็ดแดง (Lesser Whistling-duck) <i>Dendrocygna javanica</i>	กำแพงแสน นครปฐม	4	3.64±0.25	4.62±0.66	33.72±0.76	oval	สีขาวขุ่นอมเหลือง มีลาย แถบสีน้ำตาลอมเหลือง บริเวณกลางฟอง
Order Columbiformes							
พิราบป่า (Rock Pigeon) <i>Columba livia</i> Gmelin, 1789	นครปฐม	3	3.13±0.06 (3)	4.03±0.05 (3)	14.58± 0.69	elliptical	สีขาวเรียบ

ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มาจังหวัด	จำนวน	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	รูปทรงไข่	สี-ลวดลายของไข่
เขาใหญ่ (Spotted Dove) <i>Streptopelia chinensis</i>	ฉะเชิงเทรา	3	2.04±0.20	2.56±0.35	6.90±0.79	elliptical	สีขาวเรียบ
Order Ciconiiformes							
กระแตแต้แว๊ด (Red-wattled Lapwing) <i>Vanellus indicus</i>	ฉะเชิงเทรา	7	3.06±0.11 (7)	4.27±0.10 (7)	20.31±1.26 (7)	pyriform	เปลือกสีเทา มีจุดเล็ก-ใหญ่สีเทาเข้มและดำกระจาย
ตีนเทียน (Black-winged stilt) <i>Himantopus himantopus</i>	ฉะเชิงเทรา	4	3.16±0.05 (4)	4.46±0.07 (4)	20.27±0.56 (4)	pyriform	สีน้ำตาลอ่อน ปลายเบ้าสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ มีมากทางด้านบ้าน
ยางกรอกพันธุ์ขาว (Javan Pond Heron) <i>Ardeola speciosa</i>	สุพรรณบุรี	3	2.94	3.82	ไม่มีข้อมูล (แตก)	elliptical	สีเขียวอมฟ้าอ่อน มีจุดคล้ายรอยเบ้าสีเล็กน้อย
นกปากห่าง (Open-billed Stork) <i>Anastomus oscitans</i>	สุพรรณบุรี	3	4.00±1.39	5.70±2.09	41.76±5.42	oval	สีขาวขุ่นออกน้ำตาล มีลายแต้มสีน้ำตาลทั่วฟอง
นกแขวก (Black-crowned Night Heron) <i>Nycticorax nycticorax</i>	สุพรรณบุรี	1	3.22	4.42	21.51	elliptical	สีฟ้าอ่อนไม่มีลวดลาย
ยางไฟหัวดำ (Yellow Bittern) <i>Ixobrychus sinensis</i>	สิงห์บุรี	3	2.34±0.05	3.16±0.09	9.09±0.30	elliptical	ขาวเรียบ
เป็ดผีเล็ก (Little Grebe) <i>Tachybaptus ruficollis</i>	สุพรรณบุรี	3	2.58±0.19	3.60±0.39	12.6±0.22	elliptical-oval	สีขาวขุ่นมีลายขีด-จุดขนาดเล็กสีน้ำตาล (ผิวด้าน)

ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มาจังหวัด	จำนวน	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)	รูปทรงไข่	สี-ลวดลายของไข่
ยางกรอก(Pond Heron) <i>Ardeola sp.</i>	สิงห์บุรี	2	2.80±0.04 (2)	3.62±0.04 (2)	14.52±0.21 (2)	elliptical	สีเขียวอมฟ้าเรียบ (ผิวด้าน)
ยางควาย (Cattle Egret) <i>Bubulcus ibis</i>	สุพรรณบุรี	3	3.27±0.12	4.49±0.36	24.61±0.4	elliptical	สีเขียวอมฟ้าอ่อน มีลายคล้ายรอยเปื้อนโคลน กระจายอยู่เล็กน้อย รอบๆ ฟอง
ยางเปี่ย (Little Egret) <i>Egretta garzetta</i>	สุพรรณบุรี	3	3.16±1.41	4.57±1.37	24.09±1.89	elliptical	สีเขียวอมฟ้าอ่อน มีลายคล้ายรอยเปื้อนโคลน กระจายอยู่เล็กน้อย รอบๆ ฟอง
Order Cuculiformes							
อีวาทักแตน(Plaintive Cuckoo) <i>Cacomantis merulinus</i>	นครปฐม	2	1.28±0.01	1.59±0.00	1.46±00(1)	oval	สีเขียวอ่อน มีลายจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาลกระจายทั่ว ฟอง มีมากทางด้านบ้าน
Order Gruiformes							
กวัค (White-breasted Waterhen) <i>Amauornis phoenicurus</i>	ฉะเชิงเทรา	7	2.87±0.03 (7)	3.99±0.12 (6)	ไม่มีข้อมูล	oval	สีขาวขุ่น มีลายจุดสีน้ำตาลอมแดงกระจาย
หนูแดง (Ruddy-breasted Crake) <i>Porzana fusca</i>	สุพรรณบุรี	3	3.02±0.55	3.99±0.42	19.79±0.77	oval	สีน้ำตาล มีจุดสีน้ำตาลแดงทั่วฟอง
อีล้ำ (Common Moorhen) <i>Gallinu chloropu</i>	สุพรรณบุรี	3	3.01±0.72	4.55±1.36	19.54±0.15	oval	สีน้ำตาลอ่อนอมแดง มีจุดขนาดต่าง ๆ สีน้ำตาลแดงเข้ม และจุดสีเทาจาง พบมากทางด้านบ้าน
Order Turniciformes							
นกคุ่มอีต(Butonquail) <i>Turnix sp.</i>	นครปฐม	2	1.82±0.62	2.10±0.13	3.56±0.23	short oval	สีขาว มีจุดสีน้ำตาลและดำขนาดเล็กมาก กระจายอยู่แน่นตั้งแต่กลางฟองจนถึงด้านบ้าน

2. ศึกษาโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายในของเปลือกไข่ (Ultrastructure)

จากการศึกษาโครงสร้างเปลือกไข่ด้วยกล้องกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าเปลือกไข่ของนกทั้ง 32 ชนิด พบว่าโครงสร้างของเปลือกไข่ประกอบด้วย 3 ชั้น ด้านนอกสุดคือชั้น cuticle คลุมอยู่ เปลือกไข่ชั้นถัดเข้าไปเป็นชั้น palisade และชั้น mammillary ตามลำดับ โดยลักษณะของชั้น palisade มีลักษณะเป็นรูพรุนที่เรียกว่า vesicular holes ซึ่งมีความแตกต่างกันในนกแต่ละชนิด ส่วนชั้น mammillary ซึ่งมีความหนาแน่นมากกว่า ซึ่งเป็นชั้นในสุดของเปลือกไข่ที่ (ภาพที่ 6) มีสารต่างๆ สะสมอยู่ พบว่าเปลือกไข่นกที่ศึกษาส่วนใหญ่ mammillary มีรูปร่างตัวยู (U) มีบางชนิดเป็นตัวยูที่ไม่ชัดเจน และบางชนิดมีลักษณะเป็นกรวยฐานกว้าง และมีลักษณะคล้ายปุ่มยื่นไปติดกับชั้นเมมเบรนด้านใน



ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างอย่างละเอียดของเปลือกไข่นก ประกอบด้วย 3 ชั้น

จากโครงสร้างเปลือกไข่ด้วยกล้องกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเปลือกไข่ของนกทั้ง 32 ชนิด มีความหนาอยู่ในช่วง 48.00 ± 9.23 - 369.33 ± 29.86 ไมโครเมตร ดังตารางที่ 2 ซึ่งสามารถจำแนกนกได้เป็น 7 Orders คือ Order Anseriformes โดยมีความหนาของเปลือกไข่ 297.11 ± 16.86 ไมโครเมตร Order Passeriformes โดยมีความหนาของเปลือกไข่ในช่วง 48.00 ± 9.23 - 145.11 ± 16.20 ไมโครเมตร Order Ciconiiformes มีความหนาเปลือกไข่ในช่วง 107.20 ± 16.50 - 369.33 ± 29.86 ไมโครเมตร Order Columbiformes โดยมีความหนาของเปลือกไข่ในช่วง 83.89 ± 8.16 - 138.76 ± 12.12 ไมโครเมตร Order Cuculiformes โดยมีความหนาของเปลือกไข่ 63.50 ± 4.46 ไมโครเมตร Order Gruiformes มีความหนาเปลือกไข่ในช่วง 100.00 ± 8.63 - 249.5 ± 8.42 ไมโครเมตร และ Order Turniciformes มีความหนาของเปลือกไข่ 88.33 ± 4.03 ไมโครเมตร ดังตารางที่ 2 พร้อมศึกษาลักษณะภายนอกของเปลือกไข่พบรูปร่างและลวดลาย ได้วัดความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเฉลี่ยของไข่นกพบว่ามีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 2 ความหนาเปลือกไข่เฉลี่ยของนก 32 ชนิด

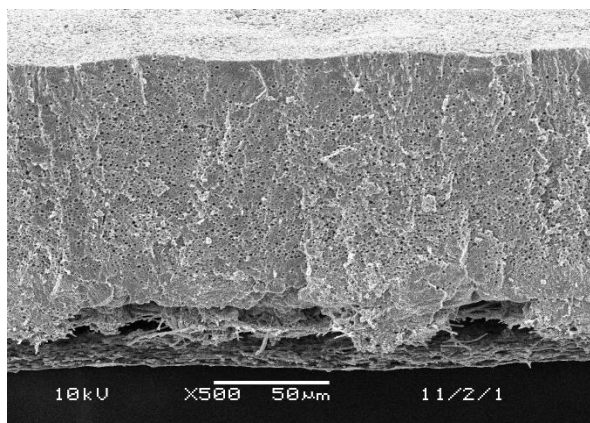
Order	ชนิดนก	N	ค่าเฉลี่ยของความหนาชั้นเปลือกไข่ (ไมโครเมตร)			
			total	cuticle	palisade	mammillary
Passeriformes	กระจาบทอง	9	145.11±16.20k	3.90±1.88bcdef	123.22±10.95mn	17.99±6.90abcde
	กระจาบ ธรรมดา	9	102.04±16.49efg	1.31±1.00abc	89.51±5.90jk	11.22±11.62abc
	กระจิบ ธรรมดา	8	67.20±10.15bc	0.56±1.05ab	48.10±5.54bcd	18.54±7.18abcdef
	กระจิบหญ้าสี เรียบ	5	82.76±9.00cd	1.10±0.20abc	62.42±4.15efgh	19.24±7.87abcdefg
	กางเขนบ้าน	9	84.14±5.17d	8.59±3.32gh	52.57±4.72bcde	22.99±3.27cdefg
	กินเปลือก เหลือง	6	48.00±9.23a	1.18±1.00abc	31.11±3.77a	15.71±9.17abcde
	ปรอดสวน	9	73.93±7.67bcd	3.33±1.52abcdef	56.40±7.72cdef	14.20±4.09abcd
	ปรอดหัวโขน	9	88.28±13.74de	2.66±1.82abcdef	59.18±6.89cdefg	26.44±12.33defg
	ปรอดหัวสี เขม่า	7	75.57±20.94bcd	2.87±0.92abcdef	60.97±5.09defg	20.44±6.98abcdefg
	อีแพรดแถบ อกดำ	5	67.78±1.59bc	1.56±1.49abc	56.44±3.46cdef	9.78±2.87ab
	เอี้ยงต่าง	9	118.44±12.37hi	3.74±0.69bcdef	99.78±6.30kl	14.92±11.09abcde
	เอี้ยงสาริกา	9	116.22±7.36ghi	3.22±1.99abcdef	81.56±7.78ij	31.44±4.30gh
	แซงแซวหาง ปลา	9	64.22±3.49b	1.33±0.50abc	41.00±6.86ab	21.78±5.52bcdefg
	แอ่นพง	9	61.33±5.85ab	1.44±0.53abc	46.89±2.52bc	14.11±4.23abcd
Anseriformes	เป็ดแดง	9	297.11±16.86p	16.33±7.28j	168.67±10.92qr	106.44±30.78k
Columbiformes	พิราบป่า	9	138.76±12.12jk	11.67±3.09hi	96.03±13.15k	31.06±6.04fgh
	เขาใหญ่	9	83.89±8.16d	3.33±2.00abcdef	55.56±4.69cdef	25.00±5.45defg
Ciconiiformes	กระแตแต้แว๊ด	8	165.31±25.83l	5.63±1.61efg	142.26±17.92op	17.43±10.45abcde
	ตีนเทียน	9	128.64±11.69ij	5.20±4.46def	115.08±12.46m	8.37±5.00a

Order	ชนิดนก	N	ค่าเฉลี่ยของความหนาชั้นเปลือกไข่ (ไมโครเมตร)			
			total	cuticle	palisade	mammillary
	ยางกรอกพันธุ์ชวา	9	149.89±27.90k	6.11±3.69fg	99.56±18.92kl	44.00±8.87i
	ปากห่าง	9	369.33±29.86q	0.00±0.00a	242.8±34.61s	125.42±20.57l
	แขวก	9	205.94±13.29m	0.00±0.00a	133.98±12.70no	71.91±13.64j
	ยางไฟหัวดำ	9	107.20±16.50fgh	3.90±1.42bcdef	74.00±3.85hi	27.71±13.56efg
	เปิดผีเล็ก	9	221.79±9.91n	3.17±1.16abcdef	177.28±12.84r	41.34±9.62hi
	ยางกรอก	6	124.35±7.03ij	4.33±1.02cdef	110.72±8.59lm	9.30±3.92ab
	ยางควาย	9	176.00±7.76l	9.33±4.72h	122.67±7.30mn	44.00±6.20i
	ยางเปี้ย	9	166.89±12.31l	4.56±3.43cdef	116.11±13.46m	46.00±8.54i
Cuculiformes	อีวาทักแตน	6	63.50±4.46b	1.67±0.52abc	42.17±4.75ab	19.83±1.47abcdefg
Gruiformes	ก๊วก	9	180.07±22.94l	9.93±4.32hi	149.36±13.61p	20.78±17.21abcdefg
	หนูแดง	9	249.5±8.42o	12.50±7.27i	161.33±11.91q	75.67±7.16j
	อีล้ำ	9	100.00±8.63ef	2.44±1.42abcde	71.78±6.24ghi	25.78±2.77defg
Turniciformes	คุ่มอีต	6	88.33±4.03de	1.83±0.75abcd	68.33±1.21fgh	18.17±2.79abcde

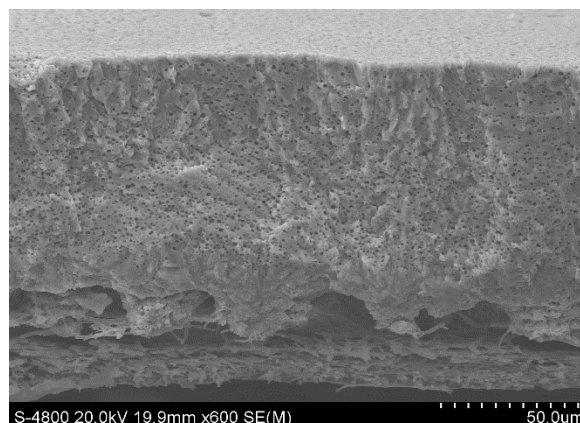
ค่าเฉลี่ยเรียงจากน้อยไปมาก *a,b,c,...,s

One-way ANOVA ด้วย Duncan test ระดับนัยสำคัญที่ 0.05

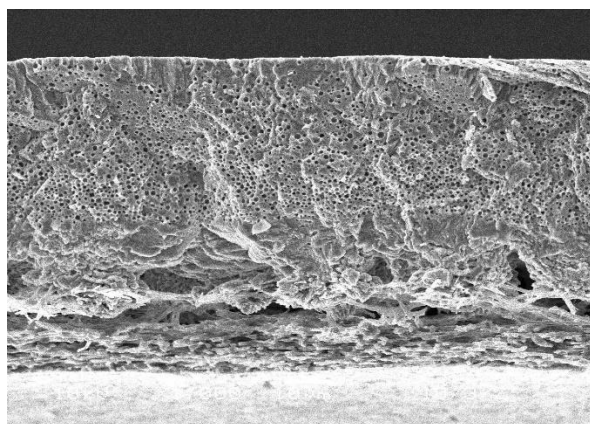
Order Passeriformes



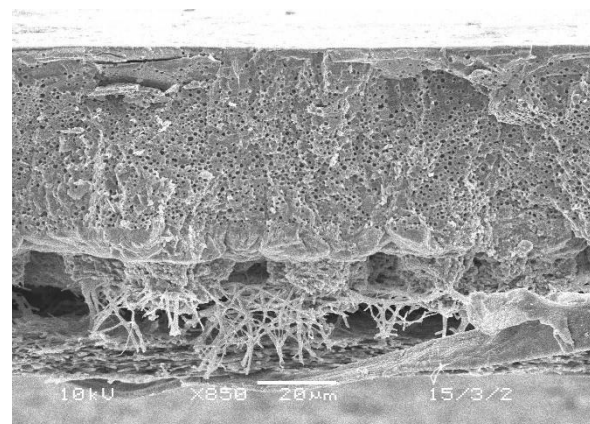
นกกระจาบทอง



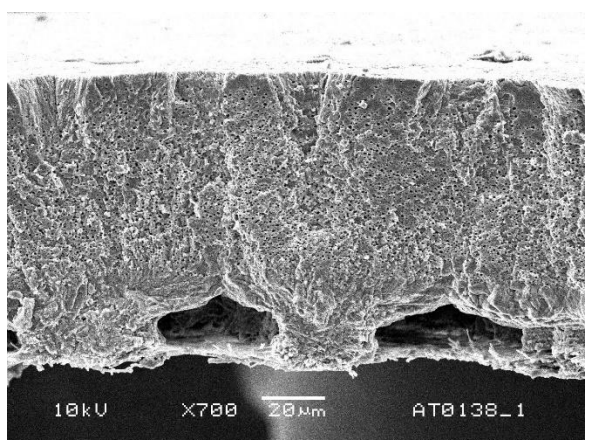
นกกระจาบทอง



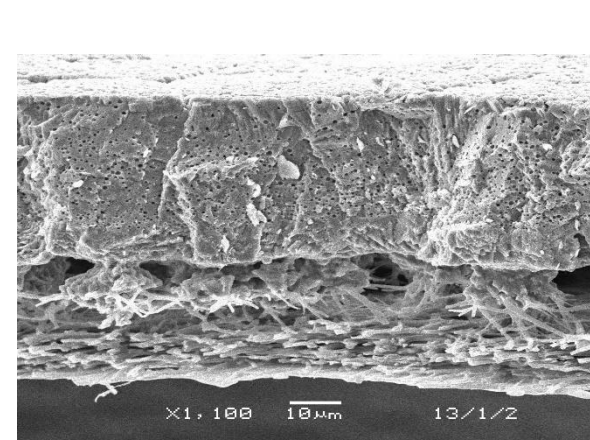
นกกระจาบทอง



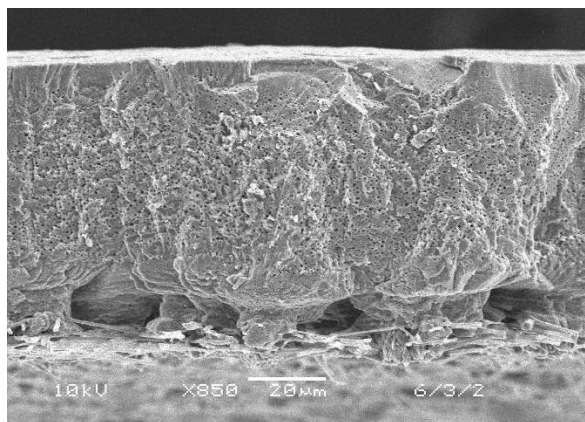
นกกระจาบทอง



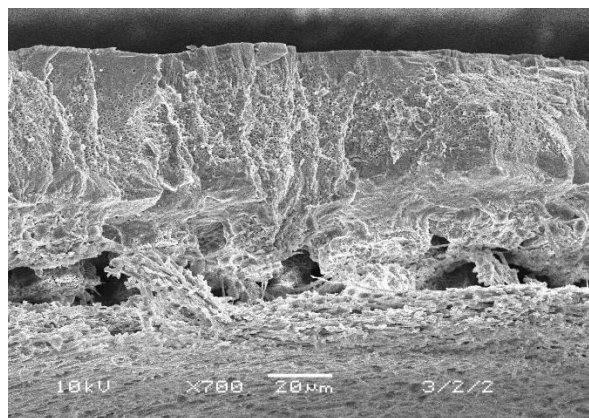
นกกระจาบทอง



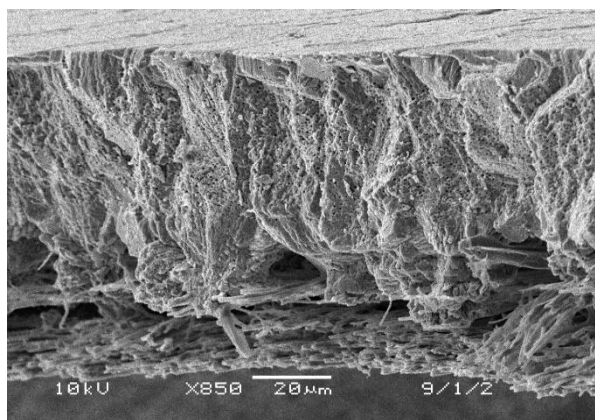
นกกระจาบทอง



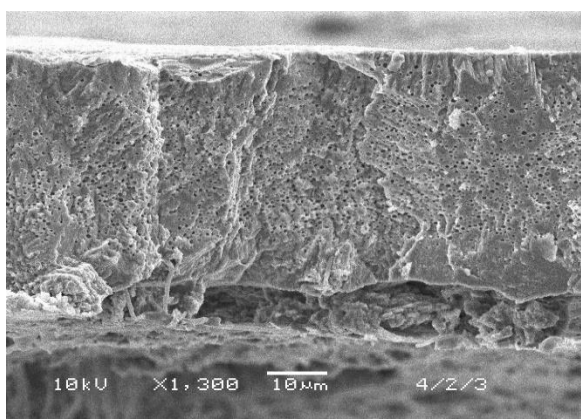
นกปรอดสวน



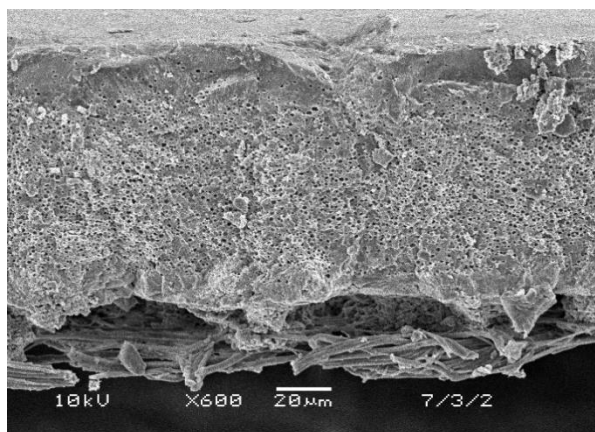
นกปรอดหัวโขน



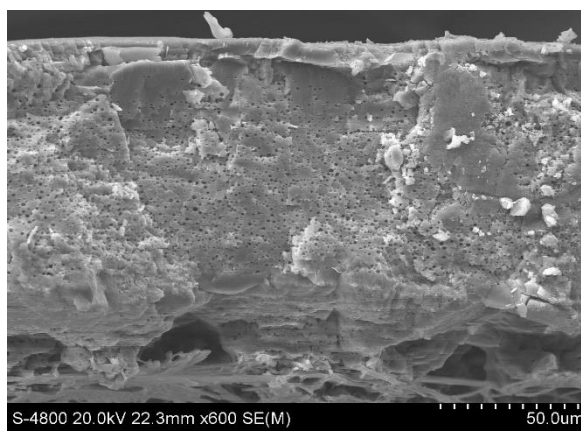
นกปรอดหัวสีเขม่า



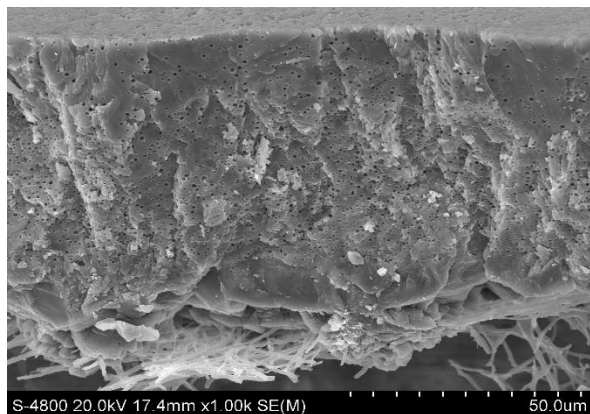
นกอีแพรดแถบอกดำ



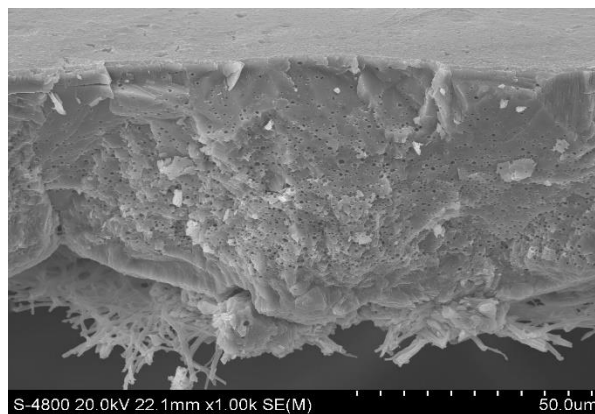
นกเอี้ยงต่าง



นกเอี้ยงสาริกา

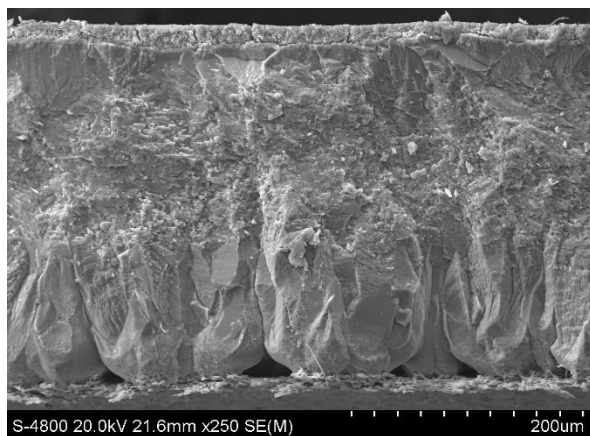


นกแซงแซวหางปลา



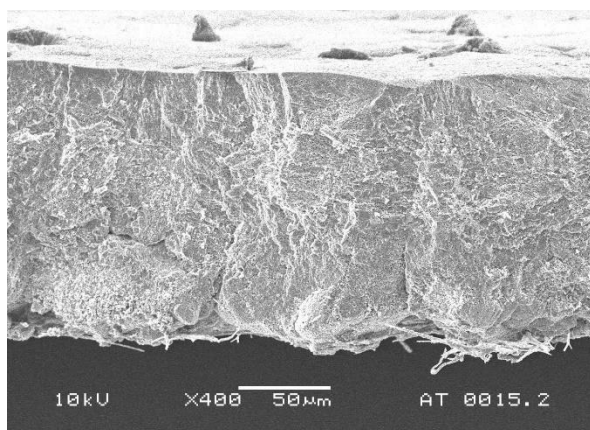
นกแอ่นพวง

Order Anseriformes

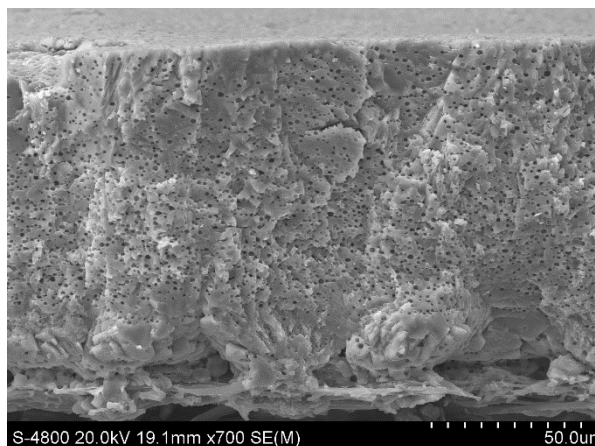


นกเป็ดแดง

Order Columbiformes

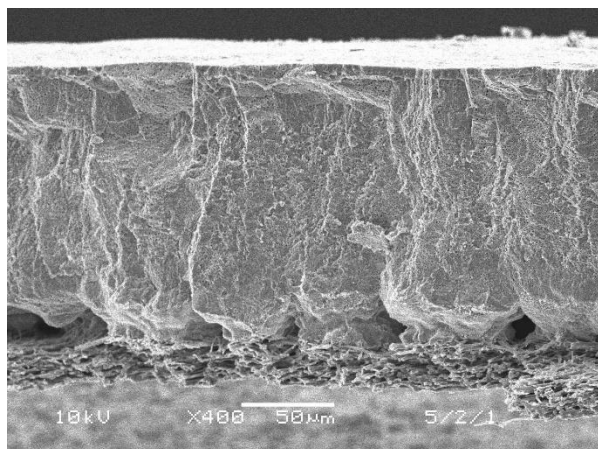


นกพิราบป่า

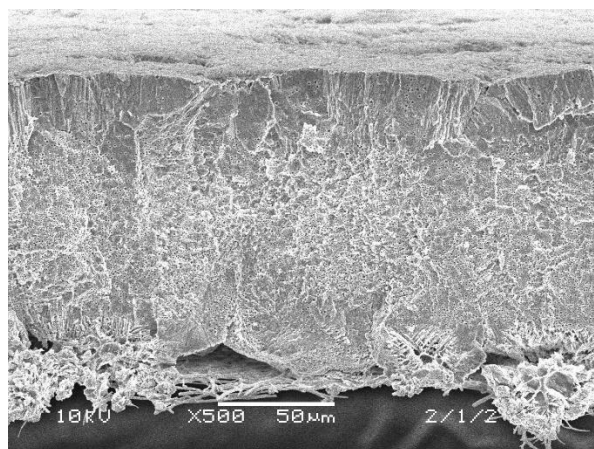


นกเขาใหญ่

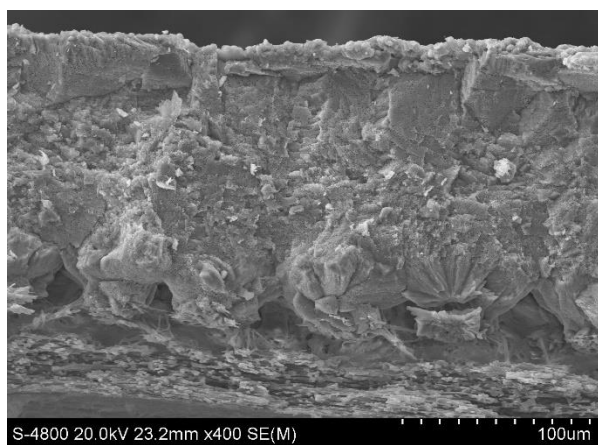
Order Ciconiiformes



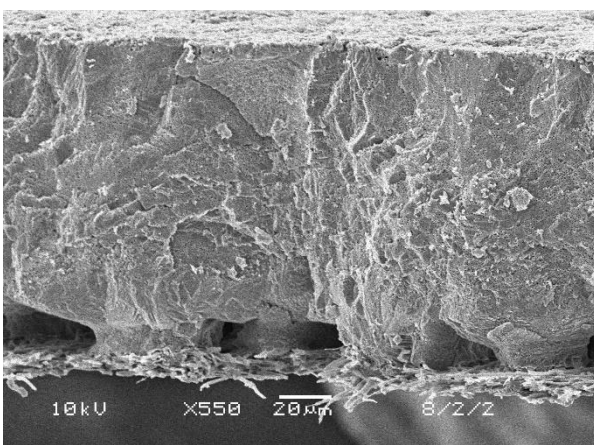
นกกระแตแต้แว๊ด



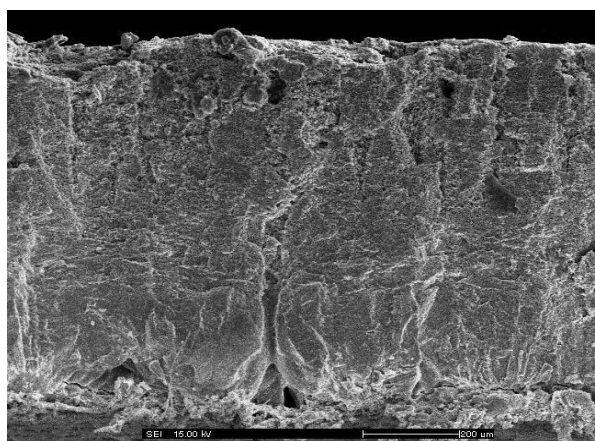
นกตีนเทียน



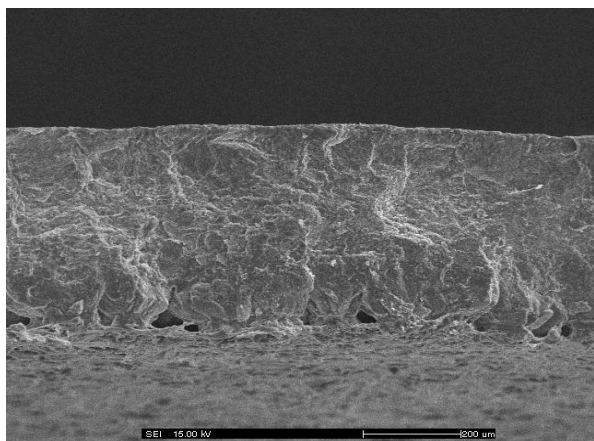
นกยางกรอกพันธุ์ขาว



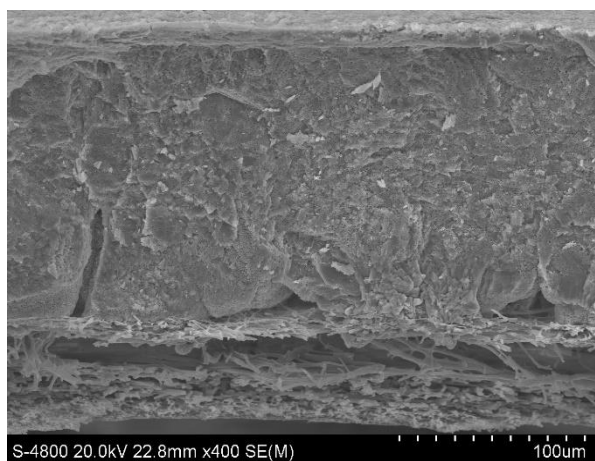
นกยางกรอก



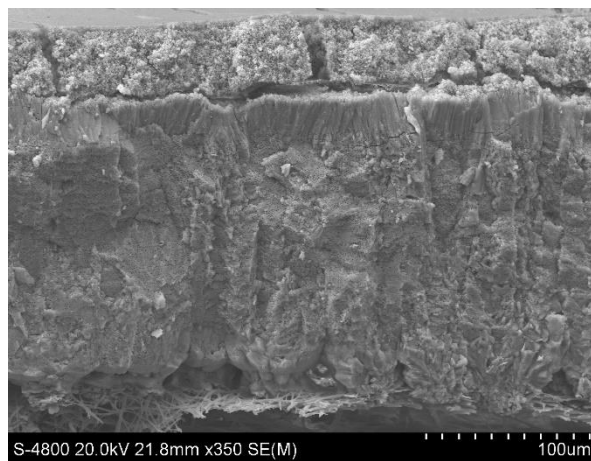
นกปากห่าง



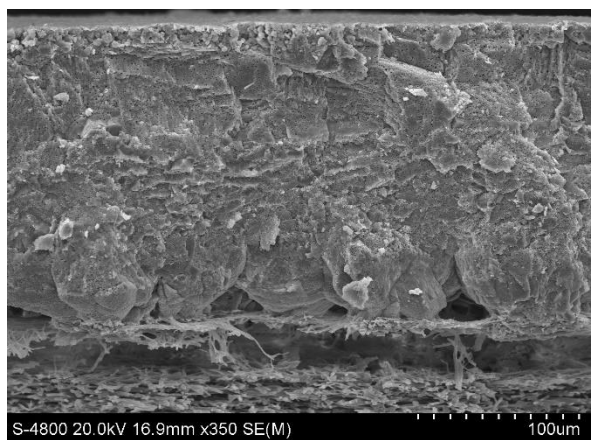
นกแขวก



นกยางเปื้อย

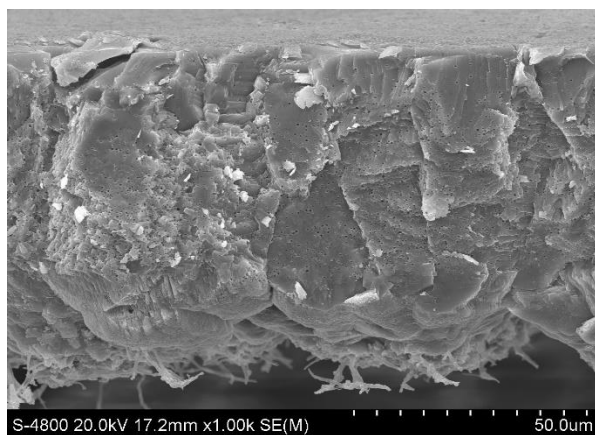


นกเปิดฝีเล็ก



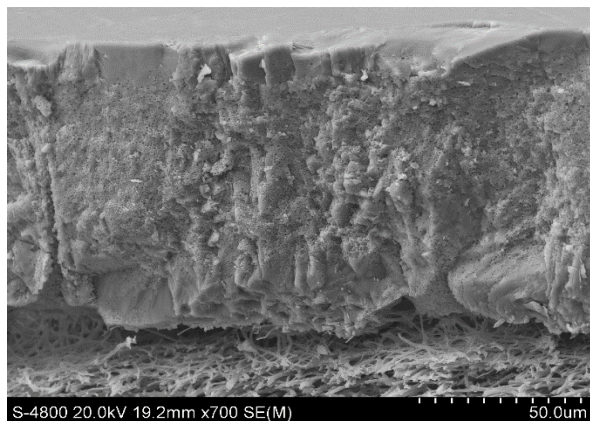
นกยางควาย

Order Cuculiformes

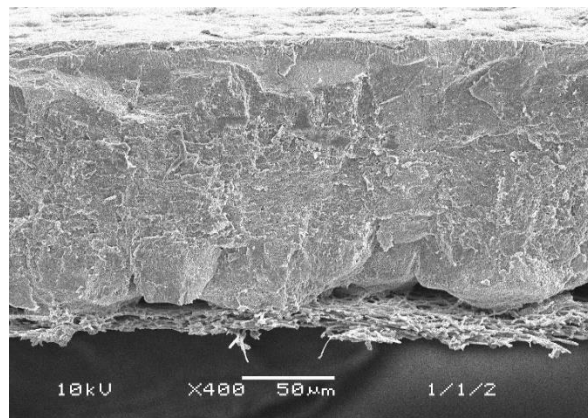


นกอีวabtักแตน

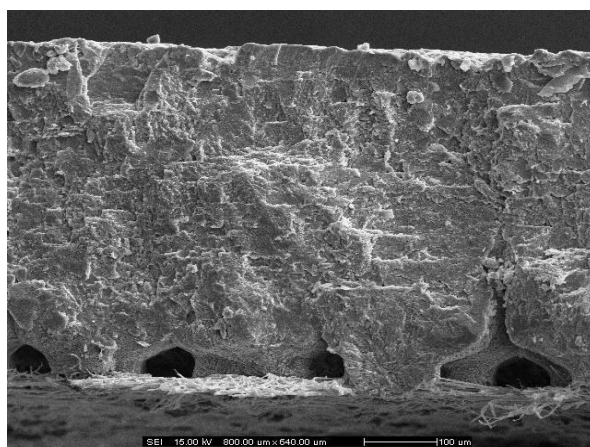
Order Gruiformes



นกอีล้ำ

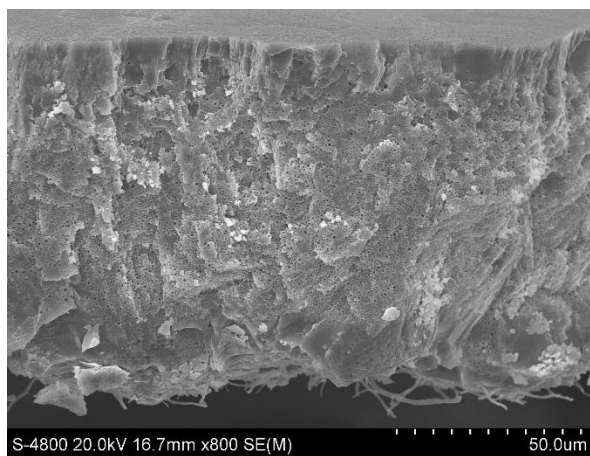


นกกวัก



นกหนูแดง

Order Turniciformes



นกคุ้มอืด

ภาพที่ 7 โครงสร้างอย่างละเอียดด้านตัดขวางของเปลือกไขนกทั้ง 32 ชนิด ที่ศึกษาด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด

เมื่อนำความหนาของชั้น palisade และ mammillary มาหาค่าสัดส่วนกับความหนารวมทั้งหมดของเปลือกไข (p/t และ m/t) พบว่าเปลือกไขของนกในแต่ละ Order มีช่วงของค่าสัดส่วนทั้งสองที่ซ้อนทับกัน ดังรายละเอียดในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าสัดส่วนความหนาชั้น palisade/ total และ mamillary/ total ของนกทั้ง 32 ชนิด

Order	ชนิดนก	p/t	m/t
Passeriformes	กระจาบทอง	0.849	0.124
	กระจาบธรรมดา	0.877	0.110
	กระจิบธรรมดา	0.716	0.276
	กระจิบหญ้าสีเขียว	0.754	0.232
	กางเขนบ้าน	0.625	0.273
	กินปลือกเหลือง	0.648	0.327
	ปรอดสวน	0.763	0.192
	ปรอดหัวโขน	0.670	0.300
	ปรอดหัวสีเขม่า	0.807	0.270
	อีแรดแถบอกดำ	0.833	0.144
	เอี้ยงดำ	0.842	0.126
	เอี้ยงสาริกา	0.702	0.271
	แซงแซวหางปลา	0.638	0.339
	แอ่นพง	0.765	0.230
Anseriformes	เป็ดแดง	0.568	0.358
Columbiformes	พิราบป่า	0.692	0.224
	เขาใหญ่	0.662	0.298
Ciconiiformes	กระแตแต้แว๊ด	0.861	0.105
	ตีนเทียน	0.895	0.065
	ยางกรอกพันธุ์ขาว	0.664	0.294
	นกปากห่าง	0.657	0.340
	นกแขวก	0.651	0.349
	ยางไฟหัวดำ	0.690	0.258
	เปิดผีเล็ก	0.799	0.186
	ยางกรอก	0.890	0.075
	ยางควาย	0.697	0.250
	ยางเปี้ย	0.696	0.276
Cuculiformes	อีวับตักแตน	0.664	0.312
Gruiformes	อีล้ำ	0.718	0.258
	ก๊วก	0.829	0.115
	นกหนูแดง	0.647	0.303
Turniciformes	นกคุ้มอีด	0.774	0.206

3. ศึกษาและวิเคราะห์ธาตุในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ประกอบในแต่ละชั้นของเปลือกไขนก

สำหรับการศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบธาตุของเปลือกไขนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ด้วยหัวตรวจวัด Back-scattered electrons (BEI) และ Energy Dispersive X-ray analysis (EDX) จากจำนวนเปลือกไขนกจำนวน 15 ชนิด จัดจำแนกเป็น 6 Orders คือ Order Anseriformes จำนวน 1 ชนิด คือนกเป็ดแดง Order Passeriformes จำนวน 10 ชนิด คือนกกางเขนบ้าน นกกระจาบทอง กระजิบธรรมดา นกกระจิบหญ้าสีเขียว นกกินปลีเหลือง นกปรอดหัวโขน นกปรอดหัวสีเขม่า นกปรอดสวน นกอีแพรดแถบอกดำ และนกเอี้ยงสาริกา Order Ciconiiformes จำนวน 3 ชนิด คือนกกระแตแต้แว๊ด นกตีนเทียน และนกยางกรอก Order Columbiformes จำนวน 1 ชนิด คือนกพิราบป่า และ Order Gruiformes จำนวน 1 ชนิด คือนกกวก

พบธาตุหลัก 10 ธาตุในเปลือกไขนกทั้ง 15 ชนิด คือ คาร์บอน ออกซิเจน โซเดียม แมกนีเซียม อะลูมิเนียม ซิลิคอน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ คลอรีนและแคลเซียม โดยพบว่ามีปริมาณคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของธาตุในเปลือกไข่ 16.67-28.33, 50.12-59.04, 0.13-0.40, 0.07-0.52, 0.06-0.75, 0.04-0.53, 0.02-0.22, 0.02-0.19, 0.04-0.14 และ 17.48-29.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) พบว่าธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักในเปลือกไข่ คือ คาร์บอน ออกซิเจน แคลเซียม มีเปลือกไข่ของนกนางแอ่นบ้าน นกกินปลีเหลืองและนกปรอดสวน 3 ชนิด ที่พบว่ามี โมลิบดีนัม 0.03-0.11 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ธาตุต่างๆ ทั้ง 10 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกไข่ของนกทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของธาตุที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกไข่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

ชนิดนก	ค่าเฉลี่ยของธาตุที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกไข่ (เปอร์เซ็นต์)										
	คาร์บอน	ออกซิเจน	โซเดียม	แมกนีเซียม	อลูมิเนียม	ซิลิคอน	ฟอสฟอรัส	ซัลเฟอร์	คลอรีน	แคลเซียม	โมลิบดีนัม
กระจาบทอง	20.09±5.63	57.34±2.95	0.15±0.07	0.09±0.06	0.08±0.09	0.07±0.04	0.12±0.08	0.15±0.06	0.04±0.04	22.04±6.41	
กระจับธรรมชาติ	18.73±3.18	54.57±4.14	0.15±0.05	0.19±0.07	0.12±0.08	0.09±0.07	0.17±0.12	0.08±0.05	0.05±0.01	26.05±5.62	
กระจับหญ้าสีเขียว	20.25±3.88	57.05±2.70	0.20±0.08	0.18±0.16	0.33±0.35	0.09±0.04	0.10±0.05	0.13±0.06	0.07±0.10	21.85±4.62	-
กระแตแต้แว๊ด	21.87±7.56	56.78±4.36	0.18±0.12	0.22±0.12	0.64±1.00	0.34±0.29	0.14±0.04	0.13±0.05	0.09±0.04	20.03±10.30	-
กาวัก	18.19±3.69	56.41±4.03	0.40±0.32	0.07±0.05	0.74±0.81	0.15±0.11	0.16±0.06	0.13±0.07	0.07±0.05	24.14±7.38	-
กางเขนบ้าน	28.33±7.49	51.84±5.80	0.16±0.18	0.52±0.66	0.57±0.92	0.53±0.93	0.08±0.10	0.10±0.10	0.08±0.08	17.76±4.16	0.03±0.12
กินเปลือกเหลือง	20.07±2.87	52.96±3.90	0.20±0.09	0.27±0.16	0.11±0.07	0.10±0.06	0.17±0.09	0.13±0.09	0.14±0.06	26.10±6.18	0.06
ตีนเทียน	21.90±3.74	59.04±3.60	0.14±0.13	0.27±0.15	0.37±0.28	0.24±0.18	0.17±0.11	0.11±0.05	0.08±0.07	17.81±4.58	-
ปรอดสวน	20.44±4.38	56.87±3.78	0.15±0.10	0.17±0.12	0.22±0.16	0.11±0.07	0.15±0.07	0.18±0.10	0.05±0.02	21.95±6.85	0.11
ปรอดหัวโขน	19.59±3.24	50.12±7.65	0.24±0.08	0.18±0.07	0.41±0.49	0.08±0.07	0.22±0.12	0.19±0.14	0.09±0.05	29.09±8.54	-
ปรอดหัวสีเขม่า	16.67±1.84	57.10±2.37	0.27±0.16	0.23±0.11	0.06±0.04	0.04±0.02	0.13±0.07	0.13±0.08	0.08±0.04	25.47±3.88	
พิราบป่า	24.73±8.54	50.89±17.00	0.13±0.36	0.19±0.59	0.50±1.23	0.14±0.60	0.03±0.08	0.02±0.10	0.08±0.20	23.31±19.72	-
ยางกรอก	20.16±5.48	53.38±4.45	0.21±0.10	0.24±0.13	0.14±0.06	0.12±0.06	0.02	0.08±0.05	0.07±0.04	25.76±9.57	-
อีแรดแดงปากดำ	17.11±2.94	52.51±7.14	0.13±0.07	0.23±0.16	0.13±0.02	0.25±0.15	0.18±0.11	0.12±0.13	0.08±0.05	29.48±9.20	-
เอียงต่าง	21.15±2.25	60.19±2.20	0.18±0.11	0.14±0.08	0.75±1.39	0.14±0.06	0.14±0.05	0.07±0.02	0.05±0.04	17.48±4.35	-

หมายเหตุ: - หมายถึงไม่พบ

วิจารณ์ และ สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

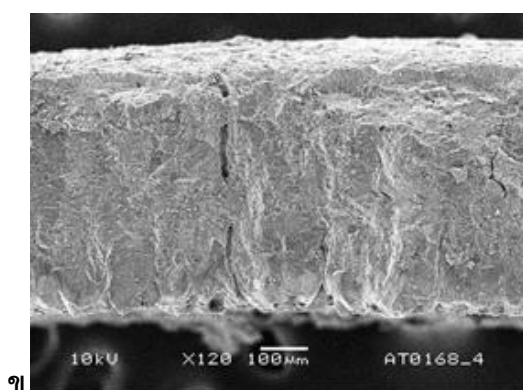
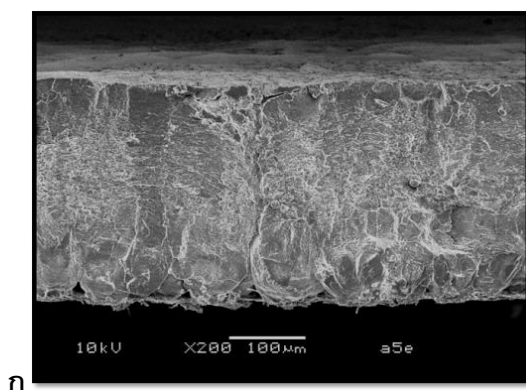
จากผลงานวิจัยพบว่าเมื่อพิจารณาเฉพาะความหนาแน่นหรือความหนาของแต่ละชั้นของเปลือกไข่ ไม่สามารถสรุปได้ว่ามีความสัมพันธ์กับการจำแนกกลุ่มตามการจัดอนุกรมวิธานแบบปัจจุบัน เนื่องจากการจำแนกกลุ่มตามการจัดอนุกรมวิธานนั้นเป็นการจัดจากข้อมูลของสารพันธุกรรม หรือ DNA โดยไม่เกี่ยวข้องกับรายละเอียดในเรื่องของเปลือกไข่ แม้แต่การจัดอนุกรมวิธานในระบบเดิมที่จำแนกกลุ่มตามลักษณะหลายๆ ด้านประกอบกัน เช่น โครงสร้างภายนอกของนก พฤติกรรม ลักษณะลูกแรกเกิด เป็นต้น ก็ไม่ได้กล่าวถึงรายละเอียดไข่และเปลือกไข่แต่อย่างใด จากตัวอย่างชนิดนกที่นำมาศึกษา พบว่าแม้จะเป็นนกใน Order เดียวกันแต่ละชนิดมีขนาดตัวที่แตกต่างกันมาก ซึ่งขนาดตัวของนกจะสัมพันธ์กับขนาดของไข่และความหนาของเปลือกไข่ด้วย (Christians, 2002) เช่น ชนิดนกใน Order Passeriformes นกกินปลีอกเหลือง ที่มีขนาดตัว 11.5 ซม. และมีน้ำหนักไข่เพียง 0.79 กรัม มีความแตกต่างจากนกเอี้ยงสาริกาที่มีขนาดตัวใหญ่ 24.5-27.0 ซม. และมีน้ำหนักไข่ 5.72 กรัม หรือใน Order Ciconiiformes ที่มีนกที่มีขนาดตัวแตกต่างกันมากเช่นกัน เช่น นกเป็ดผีเล็ก มีขนาดตัว 25-29 ซม. ในขณะที่นกปากห่าง มีขนาดตัว 68-81 ซม.) ดังจะเห็นได้จากการจัดกลุ่มตามข้อมูลความหนาของเปลือกไข่ จะเป็นกลุ่มที่มีกระจกระบายมากไม่ว่าจะเป็นการจัดด้วยข้อมูลโครงสร้างและความหนาแน่นของเปลือกไข่หรือความหนาของแต่ละชั้นเปลือกไข่สัมพันธ์กับการจัดกลุ่มตามอนุกรมวิธานหรือไม่ ดังข้อมูลการจัดกลุ่มเปลือกไข่ของนกที่ศึกษาทั้งหมด 32 ชนิด ยกตัวอย่างจากข้อมูลความหนาแน่นของเปลือกไข่ของนกใน Order Passeriformes จำนวน 14 ชนิด แบ่งเป็นกลุ่มที่แตกต่างกันได้ถึง 12 กลุ่ม (a, b, ab, bc, bcd,k) และใน Order Ciconiiformes จำนวน 11 ชนิด แบ่งเป็นกลุ่มที่แตกต่างกันได้ถึง 7 กลุ่ม (fgh, ij, k, l,q) เนื่องจากความหนาของเปลือกมีช่วงที่ซ้อนทับกันหลากหลาย นอกจากนี้ในหลายอันดับมีตัวอย่างเปลือกไข่ของนกเพียง 1-2 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ Order Cuculiformes มีเพียงนกอีวาบ ตักแตน Order Anseriformes มีเพียงนกเป็ดแดง และ Order Turniciformes ที่มีเพียงนกคุ่มอีด เท่านั้น คณะผู้วิจัยได้ลองนำข้อมูลจากความหนาของเปลือกไข่มาหาค่าสัดส่วน ความหนาชั้น palisade/ความหนาแน่น และความหนาชั้น mammillary/ความหนาแน่น เพื่อตัดเรื่องความแตกต่างของความหนาเปลือกไข่ที่ผันแปรตามขนาดตัวนก พบว่าค่าสัดส่วนของความหนาชั้น palisade/ความหนาแน่น ในทุกอันดับไม่สามารถแยกได้ชัดเจนเนื่องจากมีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงและทับซ้อนกันตั้งแต่ 0.57 ใน Order Anseriformes จนถึง 0.65-0.89 ใน Order Ciconiiformes สำหรับค่าสัดส่วนความหนาชั้น mammillary/ความหนาแน่น อาจจะแบ่งกลุ่มได้ชัดมากกว่า เช่นใน Order Passeriformes ที่มีค่าอยู่ในช่วง 0.11-0.34 ส่วน Order Columbiformes มีค่าอยู่ในช่วง 0.22-0.30 แม้ว่าจะลองวิเคราะห์สัดส่วนทั้งสองนี้โดยแยกเป็นกลุ่มของแต่ละสกุลแล้วก็ตาม เช่นกลุ่มนกปรอด (*Pycnonotus*) ที่มีอยู่ 3 ชนิด

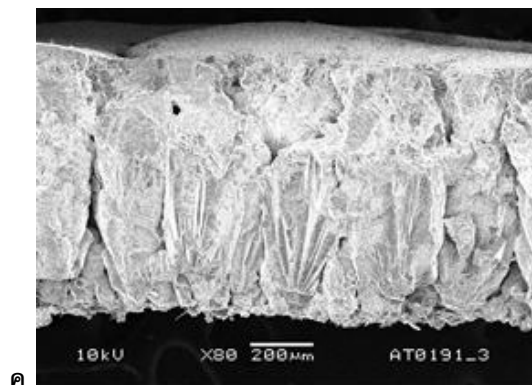
ได้แก่ นกปรอดสวน นกปรอดหัวสีเขม่า และนกปรอดหัวโขน มีค่าสัดส่วนความหนาชั้น palisade/ความหนารวม ผันแปรตั้งแต่ 0.67-0.81 และค่าสัดส่วน ความหนาชั้น mammillary/ความหนารวม ผันแปรตั้งแต่ 0.19-0.30 สำหรับตัวอย่างของนกที่อยู่ในวงศ์เดียวกันก็ยังไม่สามารถแยกกลุ่มได้ชัดเจนเช่นนกกระजิบธรรมดา และนกกระजิบหญ้าสีเรียบซึ่งอยู่ในวงศ์ Sylviidae ซึ่งมีสัดส่วนของทั้งสองค่านี้เท่ากับ 0.716, 0.754 และ 0.276, 0.232 ตามลำดับ

ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้มีข้อมูลประกอบอีกหลายๆด้านที่อาจช่วยให้สามารถจัดกลุ่มหรือเห็นความแตกต่างของรายละเอียดของเปลือกไข่ได้ชัดเจนยิ่งขึ้นเช่น ขนาดของรูพรุน (vesicular holes) ความหนาแน่นหรือจำนวนรูต่อพื้นที่ในชั้น palisade ซึ่งจะเป็นข้อมูลประกอบที่ช่วยให้เห็นภาพรวมของความพรุนของเปลือกหรือคำนวณเป็นปริมาตรของรูพรุนทั้งฟองไข่และจึงเปรียบเทียบความแตกต่างที่ได้ เช่นที่มีรายงานว่าขนาดของ vesicular hole ของนกในเขตร้อนมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่างช่วง 0.6-1.2 ไมโครเมตร ซึ่งคิดเป็นพื้นที่ได้ 0.28-1.13 ตารางไมโครเมตร (Becking, 1975) และเปลือกไข่ของไก่ฟ้ารีฟที่ศึกษาในประเทศจีนมีรูพรุนที่มีลักษณะกลมหรือรี ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.32 ± 0.08 ไมโครเมตร (Chang et al., 2007) ส่วนไก่ฟ้าคอแหวน (Ring-neck Pheasant, *Phasianus colchicus*) มีขนาดรูพรุน 0.14 ± 0.14 ไมโครเมตร และมีความหนาแน่น 65.64 26.46 รูต่อ 100 ตารางไมโครเมตร (สุพรรณฯ สุบรรณโรจน์, 2558) นอกจากนี้ลักษณะหรือรูปร่างละเอียดของรูที่ผิวเปลือก (pore) และความหนาแน่นของรูต่อหน่วยพื้นที่เปลือกไข่ โดยการวัดขนาดของรูแต่ละส่วนที่มีความยาวจากผิวเปลือกนอกจนถึงฐานของชั้น mammillary เช่น ลักษณะรูเป็นรูเดี่ยวไม่มีการแตกแขนง ขนาดกว้างของรูส่วนผิวนอก ส่วนกลางและส่วนล่างสุดที่ฐานของชั้น mammillary เช่นมีรายงานพบจำนวนรูที่ผิวของไข่ไก่ 10,000 รูต่อฟอง (Okubo et al., 1997)

สำหรับข้อมูลอื่นๆ ที่สามารถนำมาประกอบการพิจารณาได้คือ ขนาดของเยื่อหุ้มไข่ขาวด้านนอกและด้านใน (outer and inner shell membrane) ที่อยู่ถัดจากเปลือกไข่ชั้น mammillary เข้าไป ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดหรือแต่ละสกุล เช่น ไก่ฟ้ารีฟ ในประเทศจีน มีเยื่อเปลือกไข่ชั้นนอกมีความกว้าง 1.69 ± 0.48 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเยื่อเปลือกไข่ชั้นในเท่ากับ 1.18 ± 0.23 ไมโครเมตร (Chang et al., 2007) เช่นเดียวกับที่มีรายงานว่า ไก่เบตงมีเยื่อเปลือกไข่ ชั้นนอกมีขนาด 2.56 ± 0.084 ไมโครเมตร ใหญ่กว่าเยื่อชั้นใน 1.56 ± 0.40 ไมโครเมตร (พรทิวา ภูมิประหมั่น, 2555) ในขณะที่ไก่ฟ้าคอแหวนมีขนาดเส้นใยของชั้นนอกและชั้นในคือ 2.13 ± 0.51 และ 2.77 ± 0.62 ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าทั้งสองชั้นมีขนาดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สุพรรณฯ สุบรรณโรจน์, 2558)

เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างภาคตัดขวางที่ศึกษาด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าเปลือกไข่ของนกจำนวน 14 ชนิด ใน Order Passeriformes และบางชนิดใน Order อื่นๆ เช่น นกหนูแดง นกกระแตแต้แว๊ด นกยางกรอก มีโครงสร้างของชั้น mammillary เป็นคล้ายตัวยูแต่มีฐานเป็นปุ่มยื่นออกมาสัมผัสกับเยื่อหุ้มไข่ขาวที่อยู่ถัดเข้าไป เป็นที่น่าสังเกตว่าเปลือกไข่ที่เป็นลักษณะนี้ส่วนมากเป็นไข่ที่มีขนาดเล็ก โดยมีน้ำหนักช่วงประมาณ 0.79-19.79 กรัม และความหนาของเปลือกไข่ช่วง 48.00-249.5 ไมโครเมตร ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งโครงสร้างของชั้นนี้การจัดเรียงตัวเป็นรูปตัวยู (U) ก่อนข้างชัดเจน เช่น เปลือกไข่ของนกปากห่าง นกเป็ดแดงและนกฟิราปป่า ซึ่งส่วนมากเป็นไข่ที่มีขนาดใหญ่ โดยมีน้ำหนักช่วง 14.58-41.76 กรัมและความหนาของเปลือกไข่ช่วง 120-37069.33 ไมโครเมตร จากข้อมูลที่มีรายงานเกี่ยวกับโครงสร้างชั้น mammillary ของเปลือกไข่ไก่เบรส (Brasse) ซึ่งมีความหนาของเปลือกไข่ 311.11 27.51 ไมโครเมตร และ เปลือกไข่ของนก Greater Flamingo (*Phoenicopterus ruber*) ซึ่งมีไข่ขนาดใหญ่กว้าง X ยาว เท่ากับ 8.39 X 11.80 ซม. และความหนาของเปลือกไข่ 568.83 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงตัวเป็นรูปตัวยู (U) ที่ชัดเจน (ภาพด้านล่าง ก-ข) (พรวิภา เย็นใจ, 2555; อรรถกร อังสุโสภณ, 2548) ซึ่งแตกต่างจากโครงสร้างเปลือกไข่ของนกขนาดใหญ่ เช่นนก Rhea (*Rhea Americana*) ซึ่งมีไข่ขนาดใหญ่ กว้าง X ยาว 9.36 X 15.08 ซม. ชั้น mammillary ของเปลือกไข่ ด้านในของ mammillary cone มีลักษณะแผ่ออกคล้ายพัด (ภาพที่ 9) (อรรถกร อังสุโสภณ, 2548)

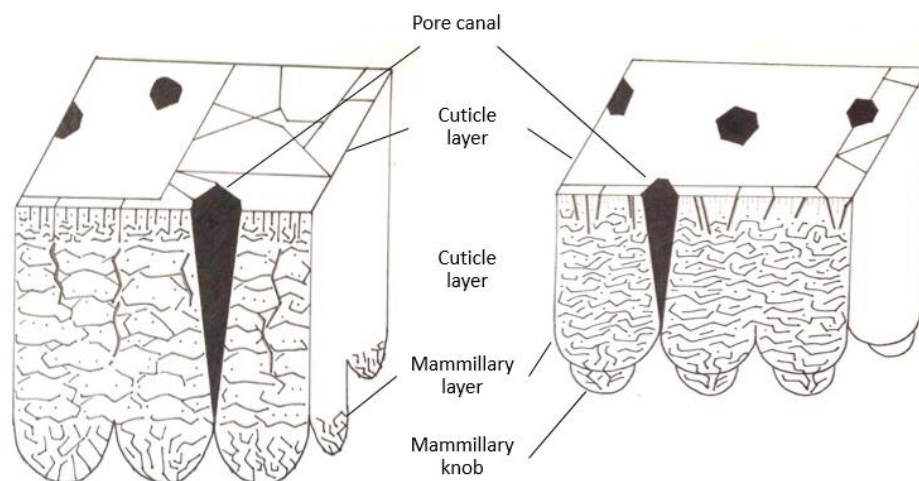




ค

ภาพที่ 8 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างภาคตัดขวางเปลือกไข่ไก่เบอร์ส (ก) และนก Greater Flamingo (ข) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ที่มา: พรวิภา เย็นใจ, 2555 และอรรถกร เอ็งสุโสภณ, 2548) (ค) เปลือกไข่ของนก Rhea จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ที่มา: อรรถกร เอ็งสุโสภณ, 2548)

โครงสร้างเปลือกไข่ที่ศึกษาในครั้งนี้ สามารถจัดโครงสร้างแม่แบบ (model) ของเปลือกไข่เป็น 2 กลุ่ม หรือ 2 รูปแบบ คือแบบที่ 1 เป็นการจัดเรียงตัวเป็นรูปตัวยู (U) ที่ชัดเจน เป็นเปลือกไข่ของนกเป็ดแดง (Order Anseriformes) และ นกปากห่าง (Order Ciconiiformes) สำหรับแบบที่ 2 โครงสร้างของชั้น mammillary เป็นคล้ายตัวยูแต่มีฐานเป็นปุ่มยื่นออกมาสัมผัสกับเยื่อหุ้มไข่ขาวที่อยู่ถัดเข้าไป ซึ่งเปลือกไข่ของนกที่ศึกษาส่วนใหญ่เป็นแบบนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมาชิกใน Order Passeriformes , Columbiformes , Gruiformes และ ส่วนใหญ่ของ Order Ciconiiformes (ภาพที่ 10)



แบบที่ 1

แบบที่ 2

ภาพที่ 9 แสดงแม่แบบ (model) โครงสร้างของเปลือกไข่แบบแบบที่ 1 เป็นการจัดเรียงตัวเป็นรูปตัวยู (U) ที่ชัดเจน และแบบที่ 2 โครงสร้างของชั้น mammillary เป็นคล้ายตัวยูแต่มีฐานเป็นปุ่มยื่นออกมาสัมผัสกับเยื่อหุ้มไข่ขาวที่อยู่ถัดเข้าไป

เพื่อให้สามารถสรุปรายละเอียดได้มากขึ้น ประการแรกคือ ต้องรอให้มีข้อมูลการศึกษาโครงสร้างเปลือกไข่ของชนิดนกในแต่ละอันดับหรือวงศ์เพิ่มเติมมากขึ้นจากเดิม รวมทั้งศึกษารายละเอียดของโครงสร้างอื่นๆประกอบดังที่กล่าวมา เช่น โครงสร้างและขนาดรู (pore) ที่ผิวเปลือก ขนาดและความหนาแน่นของรูพรุน (vesicular holes) ในชั้น palisade ขนาดเส้นใยชั้นนอกและชั้นในของเยื่อหุ้มไข่ขาว อาจรวมไปถึงการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุในแต่ละชั้นของเปลือกไข่เพิ่มเติม ซึ่งอาจมีรายละเอียดบางอย่างที่เป็นประโยชน์ในการจัดจำแนก อย่างไรก็ตามสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญมากของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ ก็คือ ตัวอย่างเปลือกไข่ของนกที่ศึกษาทั้งหมดเก็บมาจากธรรมชาติ จึงไม่สามารถกำหนดอายุไข่หลังจากแม่

นกวางแล้วได้ จึงอาจส่งผลถึงความหนาของเปลือกไข่และความหนาของเปลือกแต่ละชั้นได้ ดังนั้นถ้าสามารถควบคุมอายุของไข่ที่เก็บตัวอย่างมาศึกษาให้มีอายุเท่ากันทั้งหมดได้ จะช่วยเสริมให้สามารถสรุปข้อมูลได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากอายุไข้อย่างยิ่งมากแสดงว่าตัวอ่อนภายในไข่มีการพัฒนามากไปด้วย ซึ่งในการพัฒนาโครงร่างและอวัยวะของตัวอ่อนภายในไข่ จะทำให้ความหนาเปลือกไข่ลดลงตามลำดับ ตั้งแต่เริ่มวางไข่จนกระทั่งตัวอ่อนฟักออกจากไข่ ดังข้อมูลที่ศึกษาเหยี่ยวทั้ง 6 สายพันธุ์ (Peregrine Falcon, Shaheen Falcon, Peregrine × Red Shaheen, Saker Falcon, Gyr Falcon และ Saker × Gyr) พบว่าเปลือกไข่ของ

ไข่ที่ไม่มีเชื้อจะมีความหนามากกว่า เปลือกไข่ที่ตัวอ่อนฟักออกจากไข่แล้ว เช่นในเหยี่ยว Peregrine Falcon พบว่าความหนาของเปลือกไข่ในไข่ที่ไม่มีการพัฒนาของตัวอ่อน มีความหนากว่าไข่ที่ฟักออกเป็นตัวแล้ว (0.2840 และ 0.2704 มิลลิเมตร ตามลำดับ) (Castilla et al., 2010) และ Kreitzer (1972) ที่รายงานว่า เปลือกไข่นกกระทา Coturnix quail (*Coturnix japonica*) ที่ไม่มีการพัฒนาของตัวอ่อน (0.193 มิลลิเมตร) มีความหนามากกว่าไข่ที่ฟักแล้ว (0.179 มิลลิเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับที่มี รายงานว่านกกระทาชาสีแดง (*Alectoris rufa*) มีเปลือกไข่ระยะใกล้ฟักบางกว่าและทนแรงกดได้ น้อยกว่า ระยะที่ยังไม่ฟัก (18 นิวตัน และ 23 นิวตัน ตามลำดับ) (Castilla et al., 2007) ซึ่งเป็นการสนับสนุนที่ว่าการดูดซึมแคลเซียมจากเปลือกไข่ไปยังตัวอ่อน ที่ทำให้เปลือกไข่บางลง ทำให้เปลือกไข่บางลง โดยพบว่า ด้านปลายหรือฐานที่เป็นรูปถ้วย ของเปลือกชั้นในมีการเปลี่ยนโครงสร้างโดยยุบหรือสลายตัวไปจากเดิม (Blom and Lilja, 2004; Abdel-Salam et al., 2006, Chien et al., 2009) นอกจากนี้ อายุของแม่ไก่ก็มีความสำคัญเช่นกัน ตามรายงานการศึกษาคุณภาพของไข่ไก่ พบว่า น้ำหนักเปลือกไข่ลดลงตามอายุของแม่ไก่ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อไก่มีอายุเพิ่มขึ้นเปลือกไข่ก็จะบางลง ทำให้น้ำหนักเปลือกไข่ลดลงด้วย (Zita et al., 2012) ส่วนในนกบางชนิดพบว่านกที่มีอายุน้อยจะมีขนาดของไข่เล็ก แต่เมื่ออายุเพิ่มมากขึ้นขนาดของไข่ก็ใหญ่ขึ้นด้วย (Sydeman and Emslie, 1992; Weimerskirch, 1992)

จะเห็นได้ว่าจากข้อมูลความหนาของเปลือกไข่นกที่ศึกษายังไม่สอดคล้องกับการจัดจำแนกกลุ่มนกได้ตามอนุกรมวิธานที่มีผู้เคยจัดไว้ เนื่องจากชนิดนกในแต่ละอันดับ (Order) มีขนาดตัวที่แตกต่างกันมาก จึงทำให้ความหนาของเปลือกไข่มีช่วงที่กว้างมาก เช่น ใน Order Galliformes ที่มีความหนาของเปลือกไข่นกอยู่ในช่วง 172.50-690.10 ไมโครเมตร และ Order Ciconiiformes อยู่ในช่วง 112.56-365.40 ไมโครเมตร ดังนั้นข้อมูลที่ควรนำมาเปรียบเทียบกันอาจเป็นค่าสัดส่วนของความหนาของชั้นต่างๆ เช่น สัดส่วนของชั้น mammillary layer หรือ ชั้น palisade layer ต่อความหนาของเปลือกไข่ทั้งหมด ซึ่งอาจจะมีข้อมูลที่แสดงได้ถึงนกในกลุ่มเดียวกันจะมีค่าสัดส่วนใกล้เคียงกันและอาจเป็นข้อมูลที่สอดคล้องกับอนุกรมวิธานที่จัดด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม ตามที่ Hirsch and Quinn (1990) รายงานว่าจากการศึกษาซากโบราณพบว่าเปลือกไข่ในกลุ่ม Neognathae จะมีสัดส่วนของชั้น mammillary กับชั้นอื่นๆ อยู่ในช่วง 1/8 (0.125)-1/6 (0.166) ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจและตามที่ Mathies และ Andrews (2000) ศึกษาโครงสร้างเปลือกไข่ของกิ้งก่าและสัดส่วนของความหนาของชั้นต่างๆ พบว่าช่วยในการจำแนกชนิดของกิ้งก่าได้ อย่างไรก็ตามมีผู้ศึกษาโครงสร้างเปลือกไข่นกกระทา partridge โดยพบว่ามีความหนาที่ผิวเปลือกใกล้เคียงกัน คือ 300-500 นาโนเมตร (Zhang et al., 2005) หรืออาจต้องศึกษาข้อมูลด้านอื่นประกอบอีกหลายด้าน เช่น ความพรุนของชั้น palisade ที่อาจมีความแตกต่างกันของเปลือกไข่นกเช่นที่พบว่าเปลือกไข่ของ นกปรอดสวน นกเอี้ยงต่าง นกนางเขนบ้าน มีความพรุนของชั้น palisade มากกว่านกอีแรดแถบอกดำ นกกวัก นก

ดินเหนียว และนกพิราบป่าตามลำดับ (กัลยา ศรีพุทธชาติ, 2552) นอกจากนี้ข้อมูลของขนาดรูพรุนในชั้น palisade อาจมีความแตกต่างกัน ดังการศึกษาของ Chang และคณะ (2007) ที่รายงานว่ารูพรุนในชั้น palisade ของเปลือกไข่ Reeve's Pheasant (*Syrnaticus reevesii*) มีขนาด 0.32 ± 0.08 ไมครอน ซึ่งความแตกต่างนี้แสดงว่าความชื้นของสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลต่อโครงสร้างที่เป็นรูพรุนของเปลือกไข่ ดังรายงาน Becking (1975) ที่ได้ชี้ให้เห็นว่านกในเขตร้อนจะมีรูพรุนในชั้น palisade (Vesicular hole) ขนาดใหญ่กว่า และหนาแน่นมากกว่านกในเขตหนาว โดยมีขนาดเฉลี่ย 0.6-1.2 ไมโครเมตร นั้นแสดงว่าขนาดของรูพรุนสัมพันธ์อย่างมากกับที่อยู่ของนก นั่นก็คือขนาดของรูพรุนจะเล็กลงเมื่อเส้นรุ้ง (Latitude) เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ ยังมีรายงานของ Blom และ Lilja (2004) กล่าวถึงเปลือกไข่ของนกแต่ละชนิดว่าอาจมีความแตกต่างในอีกหลายด้าน เช่น จำนวนจุดสัมผัสของชั้น mammillary ที่ติดกับชั้นเมมเบรน รวมทั้งลักษณะของ shell membrane ที่อาจมีความแตกต่างกันของขนาดเส้นและรูปแบบการสานเป็นร่างแหของทั้ง outer และ inner shell membrane ข้อมูลเหล่านี้น่าจะช่วยเสริมให้การจำแนกชนิดหรือกลุ่มของนกได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามเปลือกไข่ของนกชนิดต่างๆ ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ส่วนใหญ่เป็นการเก็บจากธรรมชาติ จึงเป็นการยากที่จะกำหนดอายุของไข่ที่จะนำมาศึกษา ขึ้นอยู่กับว่าได้พบรังและไข่ในช่วงใด จึงได้ตัวอย่างเปลือกไข่ที่มีอายุแตกต่างกัน และตัวอย่างไข่ 3 ฟอง จึงอาจมีความผันแปรด้านโครงสร้างและความหนาของชั้นเปลือกไข่ได้ แม้แต่ศึกษาในชนิดเดียวกัน เนื่องจากการได้มาซึ่งตัวอย่างไม่สามารถควบคุมช่วงเวลาได้แน่นอน เช่นอาจพบไข่ในช่วงเพ็งวางหรือเป็นช่วงที่ไข่นั้นได้รับการฟักไข่ ลูกนกมีการพัฒนาไประยะหนึ่งแล้วและยังมีไข่บางฟองที่เก็บมาได้เนื่องจากนกทิ้งรัง ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น รังสร้างในตำแหน่งที่ไม่มั่นคง มีไข่บางฟองตกจากรัง หรือนกไปสร้างรังอยู่ในบริเวณที่มีการรบกวนมาก เช่น คน สุนัขหรือสัตว์อื่นๆ ที่อาจเป็นอันตรายกับนก ซึ่งอายุของไข่โดยเฉพาะไข่ที่มีตัวอ่อนพัฒนาอยู่ข้างใน ซึ่งส่งผลต่อความหนาบางของเปลือกไข่อย่างมาก ตามที่ Abdel-Salam และคณะ (2006) พบว่าเปลือกไข่ไก่ป่าจะมีความหนาลดลงตามลำดับ เนื่องจากตัวอ่อนนกที่อยู่ภายในไข่ดึงแร่ธาตุจากเปลือกไปใช้การพัฒนาร่างกาย เมื่อลูกนกฟักจากไข่ เปลือกไข่บางลงเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Karlsson และ Lilja (2008) ที่ได้เสนอความคิดเห็นไว้ว่านกที่มีพัฒนาการของตัวอ่อนที่แตกต่างกันหรือมีสภาพลูกแรกเกิดแตกต่างกัน (precocial และ altricial) น่าจะมีโครงสร้างของเปลือกไข่ที่แตกต่างกันด้วย

สำหรับผลการวิเคราะห์ธาตุ ในงานวิจัยนี้ พบองค์ประกอบของธาตุหลัก 11 ธาตุ ในเปลือกไข่นกทั้ง 15 ชนิด คือ C, O, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, Ca และ Mo ซึ่งใกล้เคียงกับในนกชนิดอื่นๆ ที่เคยทำวิจัยมาก่อน เช่น ปริมาณ Ca 23.22 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับ 22.14 เปอร์เซ็นต์ ในนกกระจอกบ้าน นกกระต๊อขี้หมู นกกระต๊อตะโพกขาว นกเขาขาวและนกเขาไฟ (มยุรา และกัลยา, 2548) และถ้าไม่รวมปริมาณของ C, O ธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักในเปลือกไข่ คือ Ca ปริมาณ 93.34 เปอร์เซ็นต์ ของธาตุทั้งหมด เช่นที่พบในเปลือกไข่ของนกชนิดอื่นๆ ที่มีการศึกษาในต่างประเทศ เช่น นกนางนวลหางดำ (Black-tailed Gull, *Larus crassirostris*) และนก Great Bustard (Chiba, 2004, Xiuhua et al., 1998)