การเกิดทางเดินอาหารเริ่มแรกในเอ็มบริโอของหอยเชอรี่

Archenteron Formation in Embryonic Stage of Freshwater Snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)

วิยะดา สีหบุตร[1] และ ประทุมพร มีแสงแก้ว[1]*

Viyada Seehabutr[1*] and Pratumporn Meesangkaew[1]

ABSTRACT

The stage of development of embryo of freshwater snail *P. canaliculata* could be divided into 5 stages. Gastrula stage was the important stage for embryonic development of snail. Archenteron formation and germ layer were occurred in this stage. For studying the process of gastrula stage, the archenteron formation during the embryonic development was morphologically revealed under light microscope. Egg masses at different embryonic stages were fixed in 10% formalin, dehydrated through a series of graded ethanol (50%, 70%, 80%, 90%, 95% and 100%) and embedded in paraffin blocks to ease thin sections. The serial sections of egg masses of different development stage, each of 6 µm thick, were stained with hematoxylin and eosin, examined under a light microscope and the section images were photographed. The obtained micrographs revealed the following observations. Snails laid eggs of complete zygote stage. The first cleavage occurred after all the eggs were laid; it divided an egg into two cells with the plane of division separated from animal pole to vegetal pole. After the third division, the embryo composed of mass of unequal cells called morula. After morula stage, the embryo developed into blastula that had no blastocoel and was stereoblastula. Gastrulation started by epiboly of micromeres.The micromeres at the animal pole region multiplied and overgrew the vegetal macromeres. At last, the micromeres covered the entire embryo, left a small slit at the vegetal pole. This small slit was the blastopore which would develop into the mouth of an adult snail. Later on, the micromeres developed into ectoderm layer whereas macromeres developed into endoderm layer. Archenteron formation started by the differentiation of endoderm cells into cells of the archenteron. The anus was found at the place where the archenteron came into contact with ectoderm. From laid egg to complete archenteron formation took altogether 18-19 hours.

Key words: morula, blastula, gastrula, archenteron, *Pomacea canaliculata*

[1*] ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

*Corresponding author: Tel. 0-2562-5555 ext. 3260, Fax.0-2562-5555 ext. 3202, E-mail address: fscibpp@hotmail.com

บทคัดย่อ

ระยะการพัฒนาตัวอ่อนของหอยเชอรี่แบ่งได้ 5 ระยะ แกสทูลาเป็นระยะสำคัญสำหรับการพัฒนาตัวอ่อน การสร้างทางเดินอาหารเริ่มแรกและเยื่อคัพภะเกิดขึ้นในระยะนี้ เพื่อศึกษาขั้นตอนของระยะแกสทูลา ได้ทำการศึกษาลักษณะ รูปร่าง ของการเกิดทางเดินอาหารเริ่มแรกในช่วงการพัฒนาตัวอ่อนของหอยเชอรี่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการนำไข่ของหอยจากระยะการเจริญของตัวอ่อนที่แตกต่างกันมาเก็บรักษาสภาพในฟอร์มาลิน 10 % ดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 50%, 70%, 80%, 90%, 95% และ 100% ตามลำดับ ฝังตัวอย่างในพาราฟินเพื่อตัดเป็นแผ่นบางโดยมีความหนา 6 ไมครอน ย้อมสีตัวอย่างด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และถ่ายภาพ จากภาพที่ได้พบว่าหอยวางไข่ในระยะไซโกต การแบ่งครั้งแรกเกิดขึ้นหลังจากที่มีการวางไข่แล้ว โดยแบ่งจากอนิมัลโพล ไปยังเวเจทัลโพล ทำให้ได้ 2 เซลล์ หลังจากการแบ่งครั้งที่ 3 จะได้กลุ่มของเซลล์ที่มีขนาดไม่เท่ากันเรียกระยะมอรูลา จากระยะมอรูลาตัวอ่อนเจริญไปเป็นระยะบลาสทูลาที่ไม่มีช่องว่างภายในเรียกว่าสเตรีโอบลาสทูลา การเกิดระยะแกสทูลาเริ่มต้นจากวิธีที่เรียกว่าอีพิโบลี โดยมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ขนาดเล็กจำนวนมากทางบริเวณอนิมัลโพลและเคลื่อนที่เข้าล้อมเซลล์ขนาดใหญ่ ในที่สุดเซลล์ขนาดเล็กคลุมทั้งตัว เหลือช่องเล็กๆทางเวเจทัลโพล ไว้ 1 ช่อง ช่องเล็กนี้คือบลาสโทพอร์ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นปากในหอยตัวเต็มวัย ต่อจากนั้นเซลล์ขนาดเล็กพัฒนาไปเป็นชั้นเอ็กโทเดิร์มขณะที่เซลล์ขนาดใหญ่พัฒนาไปเป็นชั้นเอนโดเดิร์ม การเกิดทางเดินอาหารเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เอนโดเดิร์มไปเป็นเซลล์ของทางเดินอาหาร เมื่อทางเดินอาหารไปสัมผัสกับผนังของลำตัวหรือเอ็กโทเดิร์ม บริเวณนั้นจะพัฒนาไปเป็นช่องทวาร จากไข่ที่เริ่มวางจนพัฒนาจนได้ทางเดินอาหารเริ่มแรกที่สมบูรณ์ใช้เวลา 18-19 ชม.

คำสำคัญ: มอรูลา บลาสทูลา แกสทรูลา ทางเดินอาหารเริ่มแรก หอยเชอรี่

คำนำ

Kume และ Dan (1968) พบว่าเนื่องจากหอยอยู่ในไฟลัมมอลลัสกา(Mollusca) ซึ่งเป็นกลุ่มสัตว์ที่มีการแยกหรือแบ่งเซลล์ (cleavage) ของไข่แบบเป็นเกลียว (spiral cleavage) เช่นเดียวกับสัตว์ในกลุ่มแม่เพรียงทะเล (polychaete) Gilbert (1991) รายงานว่าไข่ของหอยส่วนใหญ่มีไข่แดงน้อย (isolecithal eggs) ที่มีการแบ่งเซลล์ไข่ทั้งใบ (holoblastic cleavage) และเรียงตัวกันเป็นเกลียว (spiral) หอยในแต่ละชั้น (class) จะมีกระบวนการพัฒนาที่แตกต่างกัน หลังจากไข่ถูกผสมจะเริ่มแบ่งเซลล์ แบบแผนของการแบ่ง (cleavage pattern) ขึ้นอยู่กับปริมาณไข่แดงในเซลล์ ไข่หลังจากแบ่งเซลล์ครั้งที่ 2 ได้บลาสโทเมียร์ 4 เซลล์ เรียกบลาสโทเมียร์ A , B, C, และ D ในหอยหลายกลุ่มพบบลาสโทเมียร์มีขนาดแตกต่างกัน ในแบ่งเซลล์ครั้งที่ 3 เป็นการแบ่งในแนวขวางได้เซลล์ไม่เท่ากัน 8 เซลล์ เซลล์บนมีขนาดเล็กเรียกไมโครเมียร์ เซลล์ล่างมีขนาดใหญ่เรียกมาโครเมียร์ โดยไมโครเมียร์ตั้งอยู่ด้านบนมาโครเมียร์ (Desrosiers *et.al.*,1996) ถ้ามองทางด้านข้าง ไมโครเมียร์อยู่เหนือและอยู่ด้านซ้ายของมาโครเมียร์ ดังนั้นขอบเขตระหว่าง 2 ชั้นเป็นลักษณะเหมือนฟันเลื่อย (saw-like หรือ jagged line) ตรงตำแหน่งรอยต่อระหว่างมาโครเมียร์แต่ละเซลล์ ตามลักษณะการแบ่งแบบเป็นเกลียว การแบ่งในครั้งต่อไปมาโครเมียร์ 4 เซลล์ ให้มาโครเมียร์ 4 เซลล์กับไมโครเมียร์ 4เซลล์ ในแบบเป็นเกลียว ส่วนไมโครเมียร์ 4 เซลล์ แบ่งได้ไมโครเมียร์ 8 เซลล์ จนได้เอ็มบริโอที่มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียก มอรูลา การพัฒนาเอ็มบริโอในระยะ บลาสทูลา ถ้ามาโครเมียร์มีไข่แดงมากมันอาจเบียดช่องว่างบลาสโทซีลจนหายไปทำให้ได้บลาสทูลาที่ไม่มีช่องว่างเรียกบลาสทูลาชนิดนี้ว่า สเตรีโอบลาสทูลา (Kume and Dan, 1968; Gilbert, 1991).

การเกิดระยะแกสทรูลา (Gastrulation) เป็นการพัฒนาของเอ็มบริโอต่อจากระยะบลาสทูลา เพื่อให้ได้ระยะ แกสทรูลา ที่มีทางเดินอาหารเริ่มแรกเกิดขึ้น ระยะแกสทรูลา สามารถเริ่มต้นได้ในวิธีต่างๆ ดังนี้ (Kume และ Dan, 1968)

1.แบบเกิดการม้วนตัวเข้าของเซลล์ด้านนอก (Invagination) พบในหอยน้ำจืดฝาเดียวพวก *Paludina vivipara* (Dauert,1929) เป็นกลุ่มมีไข่แดงน้อยได้ บลาสทูลาชนิดซีโลบลาสทูลา (coeloblastula) โดยกลุ่มเซลล์ทางด้านเวเจทัลโพล (vegetal pole) โค้งพับเข้าข้างใน ส่วนที่พับเข้าไปจะไปเป็นชั้น เอนโดเดิร์ม (endoderm) ช่องที่เกิดจากการม้วนตัวเข้าของเซลล์เรียกอาร์เชนเทอรอน (archenteron) ช่องนี้ถูกล้อมรอบด้วยชั้นเอนโดเดิร์ม ปากเปิดของช่องเรียกบลาสโทพอร์ (blastopore) ดังนั้นบลาสโทพอร์เกิดในระยะแกสทรูลา ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเช่นมอลลัส (mollusks) อาจเกิดปากที่ บลาสโทพอร์ โดยหมุนไปทางด้านหน้า (anterior) จัดอยู่ในกลุ่มที่ปากเกิดก่อน (protostomia) ถ้าบลาสโทพอร์เปลี่ยนแปลงไปเป็นช่องทวาร (anus) จัดอยู่ในกลุ่มปากเกิดทีหลัง (deuterostomia) หรือ 2. แบบเกิดการเคลื่อนที่คลุมเรียกว่า อีพิโบลี่ (epiboly) เช่นพบในหอยทะเลฝาเดียวพวก *Crepidula* ไข่แบ่งเซลล์ได้ขนาดที่ไม่เท่ากัน เซลล์ขนาดใหญ่มีไข่แดงอยู่ทางเวเจทัลโพล เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า มาโครเมียร์ ส่วนเซลล์ที่มีขนาดเล็กอยู่ทางอนิมัลโพล (animal pole) เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า ไมโครเมียร์ โดยกลุ่มไมโครเมียร์แบ่งเซลล์เร็ว (Conklin, 1897; Sarker *et. al.,* 2007) เคลื่อนที่ลงคลุมกลุ่มมาโครเมียร์ ทำให้ได้บลาสทูลา ที่เรียกว่าสเตรีโอบลาสทูลา แต่จะคลุมมาโครเมียร์ไม่หมด จะเหลือช่องเล็กๆที่เรียกว่าบลาสโทพอร์ทางเวเจทัลโพล (Conklin, 1897)

จากผลงานวิจัยดังกล่าวแสดงให้ทราบถึงความซับซ้อนของการเกิดระยะแกสทรูลา ซึ่งมีความแตกต่างกันในหอยแต่ละชนิด เพราะนอกจากจะได้ทางเดินอาหารแล้วยังได้เยื่อคัพภะ (germ layer) 3 ชั้นที่จะพัฒนาไปเป็นอวัยวะอื่นต่อไป ในประเทศไทยพบการวางไข่ของหอยเชอรี่ตลอดทั้งปี และใช้เวลา 7-10 วันในการฟักเป็นตัว ดังนั้นจึงใช้ไข่หอยเชอรี่ศึกษาและติดตามการพัฒนาของตัวอ่อนเพื่อเป็นแบบอย่างและแนวทางในการศึกษาในสัตว์อื่นต่อไป ประการสำคัญการศึกษาวิจัยด้วยตนเองทำให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการเกิดระยะแกสทรูลา มากกว่าการศึกษาจากแผ่นภาพของงานวิจัยอื่น

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

เก็บตัวอย่างหอยเชอรี่ที่มีขนาดน้ำหนัก 30–40 กรัม ตามแหล่งน้ำธรรมชาติของเขตบางเขน กรุงเทพฯ นำมาเลี้ยงไว้ในถังน้ำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม.ภายใต้อุณหภูมิ 29-30 °C โดยให้ผักสดเป็นอาหารทุกวัน

การเตรียมตัวอย่าง

ทำการเก็บไข่ตัวอย่างจำนวน 20 ฟองจากกองไข่หอยที่พึ่งวางจากตัวแม่หอยให้นับเป็นชั่วโมงที่ 0 ต่อมาทำการเก็บไข่ทุกชั่วโมงเป็นเวลา 24ชั่วโมงหลังจากนั้นเก็บตัวอย่างไข่วันละครั้งทำการรักษาสภาพไข่ที่เก็บในฟอร์มาลิน 10% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำมาเก็บในแอลกอฮอล์ 70% ทั้งนี้ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ (เพื่อป้องกันความเสียหายของไข่ที่เกิดจากสารเคมี การแกะเปลือกไข่ การนับชั่วโมงที่ผิดพลาดและอื่นๆ) โดยเริ่มต้นจากไข่แรกวางที่มีขนาดใกล้เคียงกัน

การศึกษาทางมิญชวิทยา

ทำการขจัดเปลือกไข่ออกภายใต้กล้องสเตรีโอชนิดซูม (stereo zoom microscope) ก่อนทำให้เนื้อไข่แห้งโดยการดึงน้ำออกด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ ที่มีความเข้มข้น 50%, 70%, 80%, 90%, 95% และ 100% ตามลำดับ ฝังเนื้อไข่ที่แห้งแล้วในพาราฟินเพื่อตัดเป็นแผ่นบางด้วยเครื่องไมโครโตม (microtome: Leica RM 2145, Germany) ย้อมแผ่นบางๆ ของเนื้อเยื่อซึ่งมีความหนา 6 ไมโครเมตรด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน ตรวจ

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus, Japan)

ผลและวิจารณ์

ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วหรือไซโกต พบได้จากกองไข่ที่แรกวาง ไซโกตถูกล้อมรอบด้วยเยื่อที่เรียกว่า เยื่อปฏิสนธิ(fertilization membrane) (Figure 1A) เนื่องจากนิวเคลียสของไข่ในสัตว์ส่วนใหญ่ไม่ได้อยู่ตรงกลางเซลล์ไข่ และตำแหน่งของมันสามารถใช้บ่งชี้ขั้วของไข่ได้ ส่วนที่อยู่ใกล้กับนิวเคลียสมากที่สุดจะเป็น อนิมัลโพลดังนั้นด้านตรงข้ามจะเป็น เวเจทัลโพล (Figure 1B) การแบ่งเซลล์ครั้งแรกได้ 2 เซลล์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันโดยแบ่งในแนวไมโครเมียร์ - เวเจทัลโพล (animal-vegetal pole) (Figure 1C) การแบ่งครั้งที่ 2 ได้ 4 เซลล์ (Figure 1D) การแบ่งครั้งที่ 3 เป็นการแบ่งเซลล์ในแนวระนาบ(horizontal plane)จาก 4 เซลล์แบ่งได้ 8 เซลล์ที่มีขนาดต่างกัน เซลล์ใหญ่ 4 เซลล์ที่ทำหน้าที่เป็นฐานของเอ็มบริโอหรือเป็นชั้นที่ 1 เรียกว่า มาโครเมียร์ ส่วนเซลล์เล็ก 4 เซลล์ที่อยู่บนมาโครเมียร์หรือเป็นชั้นที่ 2 ของเอ็มบริโอ เรียกไมโครเมียร์ (Figure 1E) จาก Figure 1E สามารถสังเกตได้ว่า ไมโครเมียร์ ตั้งอยู่ในลักษณะเยื้องกับมาโครเมียร์ที่อยู่ด้านล่างซึ่งเป็นลักษณะแบบเกลียวที่พบได้ในการแบ่งเซลล์ของไข่หอยน้ำจืดฝาเดียว *Lymnaea acuminate* (Sarker *et. al*., 2007) และในหอยทะเลฝาเดียว *Ilyanassa obsolete* (Browder,1980; Render, 1997) ซึ่ง Browder (1980) ได้รายงานว่าลักษณะ แบบเกลียวจะปรากฏเห็นชัดในระยะ 8 เซลล์ การแบ่งครั้งต่อๆไปทำให้ได้กลุ่มของเซลล์ แต่ละเซลล์เรียก บลาสโทเมียร์ เกาะกันเป็นกลุ่มเรียกเอ็มบริโอระยะนี้ว่า มอรูลา เป็นภาษาลาตินที่หมายถึงมูลเบอร์รี่ (mulberry)ที่คนไทยเรียกว่าผลหม่อนเป็นระยะก่อนเข้าสู่ระยะบลาสทูลา ระยะมอรูลานี้ใช้เวลาประมาณ 10-11 ชั่วโมงหลังการวางไข่ (Table 1) เท่ากับเวลาในการเจริญเข้าสู่ระยะมอรูลาในหอยทากฝาเดียว *Limicolaria flammea* (Egonmwan,2007) ต่อมาพบการจัดเรียงตัวของเซลล์โดยกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่เรียกว่าไมโครเมียร์ อยู่ด้านบนของเอ็มบริโอ ขณะที่กลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่กว่าที่เรียกว่ามาโครเมียร์อยู่ด้านล่าง (Figure 1F) เรียกระยะนี้ว่าบลาสทูลา ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 14-15 ชั่วโมงหลังการวางไข่ (Table 1) และเนื่องจากไม่พบช่องว่างบลาสโทซีลในบลาสทูลาจึงเรียกบลาสทูลาลักษณะนี้ว่าสเตรีโอบลาสทูลา ซึ่งพบได้ในหอยทะเลฝาเดียวกลุ่ม *Crepidula fornicata* (Conklin, 1897.) จากนี้จะเข้าสู่ระยะ แกสทรูลา ระยะนี้เริ่มจากไมโครเมียร์ที่มีจำนวนมากทางอนิมัลโพล จะเคลื่อนที่ลงมาห้อมล้อมมาโครเมียร์ที่อยู่ด้านล่าง (Figure 2A) ลักษณะการเคลื่อนที่ของเซลล์แบบนี้เรียกว่าอีพิโบลี่ แต่จะเหลือช่องเปิดเล็กๆ ที่เรียกว่าบลาสโทพอร์ (Figure 2B) เช่นเดียวกับที่พบในหอย *Crepidula fornicata* (Conklin, 1897) กลุ่มมาโครเมียร์ที่อยู่ภายในมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Figure 2C-D) ต่อไปจะพัฒนาไปเป็นชั้นเอนโดเดิร์ม ซึ่งจะเจริญไปเป็นผนังของทางเดินอาหารเริ่มแรก (Figure 2E-F) ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 18-19 ชั่วโมงหลังการวางไข่ (Table 1) ส่วนไมโครเมียร์จะพัฒนาไปเป็นชั้นเอ็กโทเดิร์ม ซึ่งจะเจริญไปเป็นเยื่อบุผิว (Figure 2E-F) เช่นเดียวกับที่พบในหอยทะเลฝาเดียว *Crepidula fornicata* (Conklin, 1897) จาก Figure 3A-B-C พบว่าขณะที่ทางเดินอาหารกำลังพัฒนาเอ็มบริโอมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปด้วย ส่วนช่องเปิดที่เรียกว่าบลาสโทพอร์ (Figure 2B) จะพัฒนาไปเป็นปาก เพราะหอยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม ที่มีปากเกิดก่อนช่องทวาร (protostomia) (Kume and Dan, 1968) เช่นเดียวกับที่พบในหอยทะเลฝาเดียว *Patella vulgata* (Smith,1935) หอยน้ำจืดฝาเดียว *Lymnaea stagnalis* (Raven,1945) ต่อมาทางเดินอาหารเริ่มแรกจะเหยียดยาวไปจรดผนังด้านหนึ่งของลำตัวซึ่งจะมีช่องทวารหนัก (anus) เกิดขึ้นในบริเวณดังกล่าว (Figure 3D) ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถอาศัยหลักฐานลักษณะการพัฒนาของเอ็มบริโอของหอยทะเลฝาเดียว *Littorina obtusana* ซึ่งอยู่ใน ซับคลาส โพรโซบรานเชีย (subclass Prosobranchia) ออร์เดอร์ มีโซแกสโทรโพดา (order Mesogastropoda) เช่นเดียวกับหอยเชอรี่

พบว่าระยะแกสทรูลาเกิดอีพิโบลี่โดยไมโครเมียร์ทำให้มาโครเมียร์ พัฒนาไปเป็นเอนโดเดิร์มของทางเดินอาหารเริ่มแรก ขณะที่บลาสโทพอร์พัฒนาไปเป็นปาก (Kume and Dan, 1968) หลังจากนี้ตัวอ่อนของหอยเชอรี่จะพัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ (trochophore stage) ต่อไปตามหลักการพัฒนาการของหอย (Kume and Dan, 1968) ซึ่งสังเกตได้จาก Figure 3C-D เป็นระยะที่มีลักษณะคล้ายโทรโคฟอร์ ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 3 วันหลังการวางไข่ ใกล้เคียงกับของหอยน้ำจืดฝาเดียว *Lymnaea acuminate* ที่ใช้เวลา 2-3 วันในการเจริญเป็นโทรโคฟอร์ (Sarker *et al,* 2007)

Table 1 The relationship between time and stages of embryo development of *Pomacea canaliculata*

Time (after egg deposition)	Embryonic stage
10-11 hours	morula
14-15 hours	blastula
18-19 hours	gastrula
3-4 days	trochophore

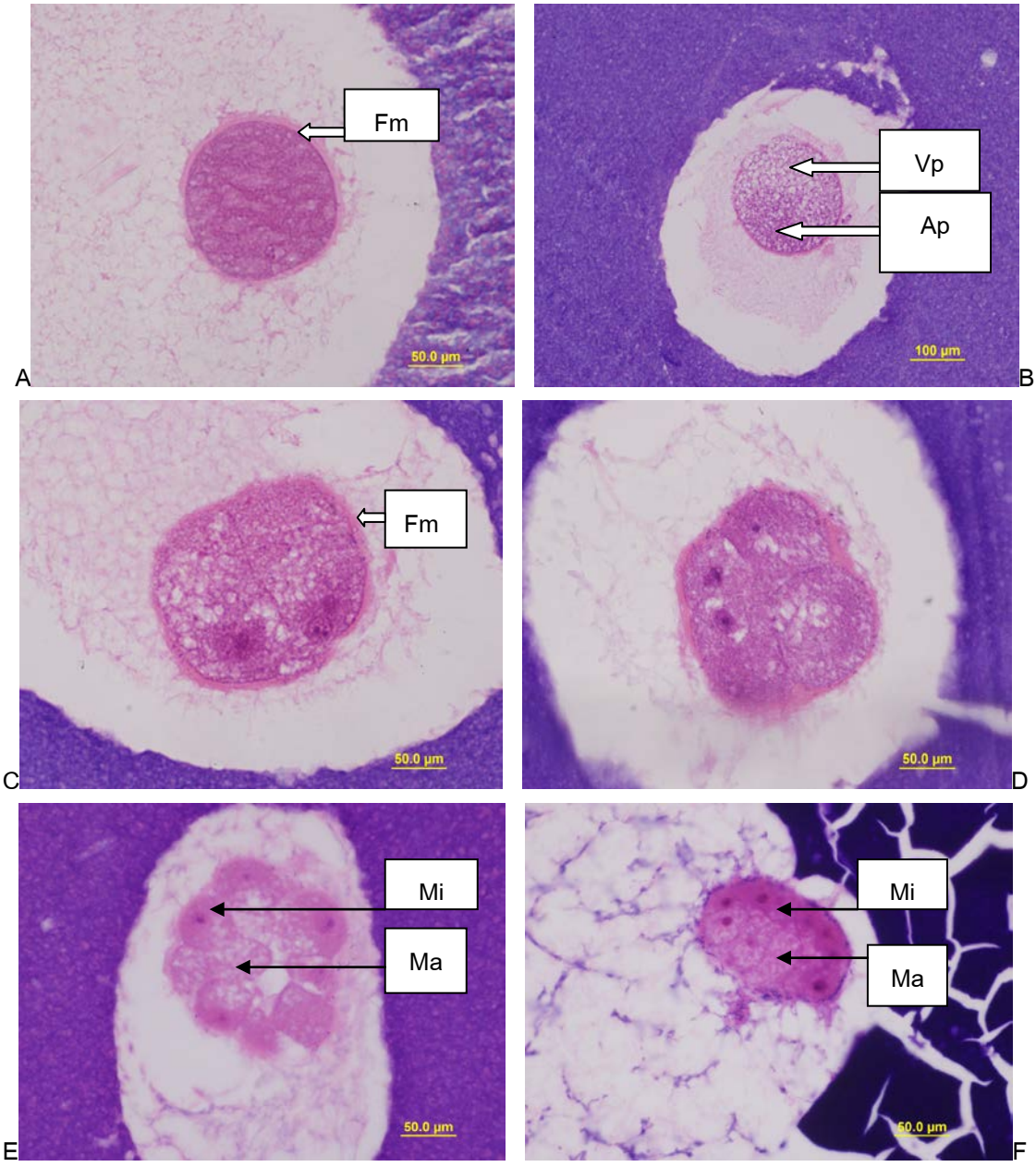

Figure 1 Micrographs showing embryonic development

(A) Zygote showing the fertilization membrane (Fm)

(B) Zygote showing animal pole (Ap) and vegetal pole (Vp).

(C) Two cell embryo in fertilization membrane (Fm)

(D) Four cell embryo

(E) and (F) Embryo at blastula stage (Mi, micromere; Ma, macromere.)

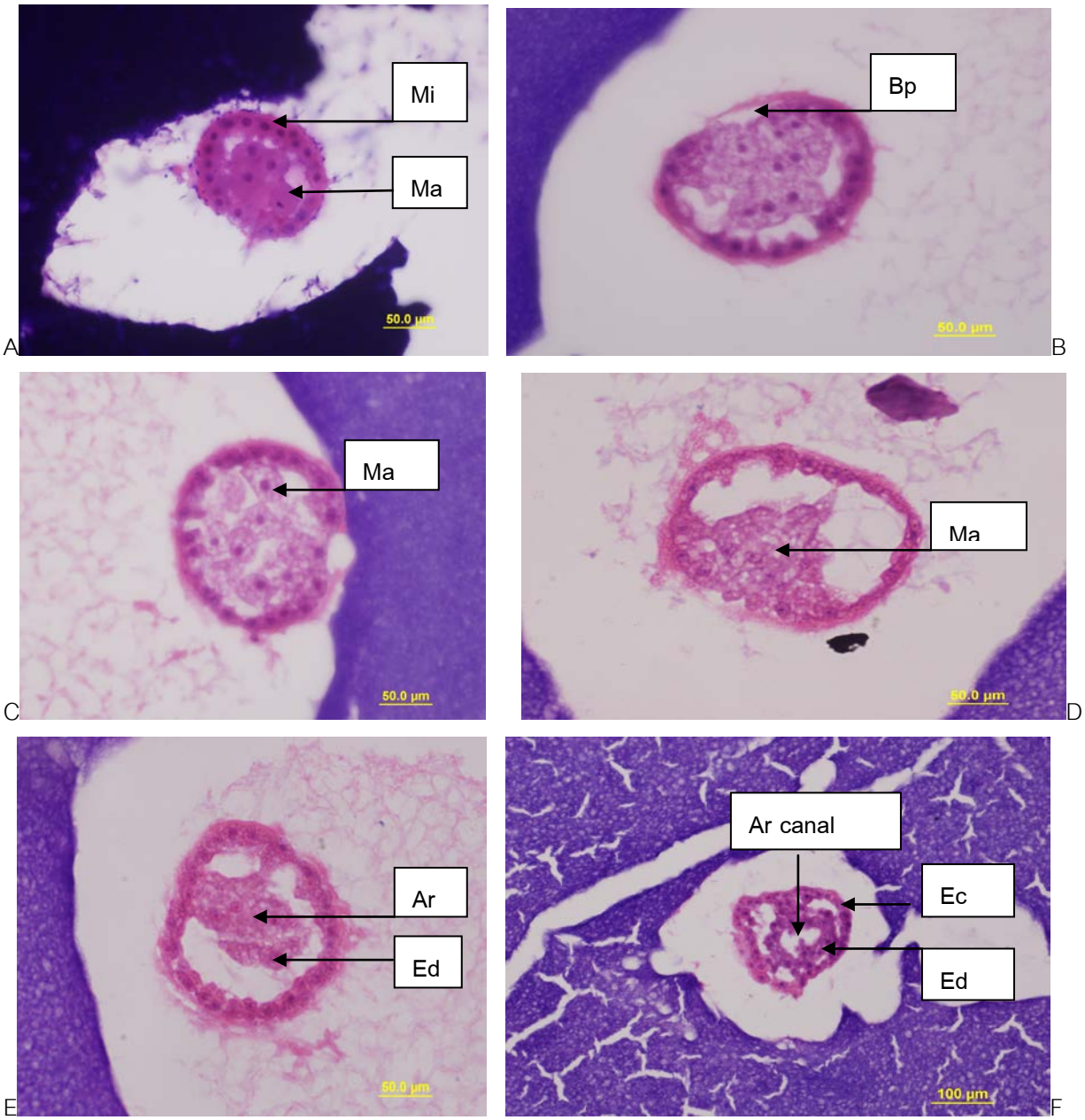

Figure 2 Micrographs showing embryonic development

(A) Early gastrula stage (Mi, micromere; Ma, macromere).

(B) Blastopore(Bp) in the gastrula stage.

(C) The change in shape of the macromeres (Ma) in the gastrula stage.

(D) The change in shape of the macromeres (Ma) in the gastrula stage.

(E) Archenteron (Ar) and endoderm (Ed) in the gastrula stage.

(F) The archenteron canal (Ar canal), ectoderm (Ec) and endoderm (Ed) of the gastrula.

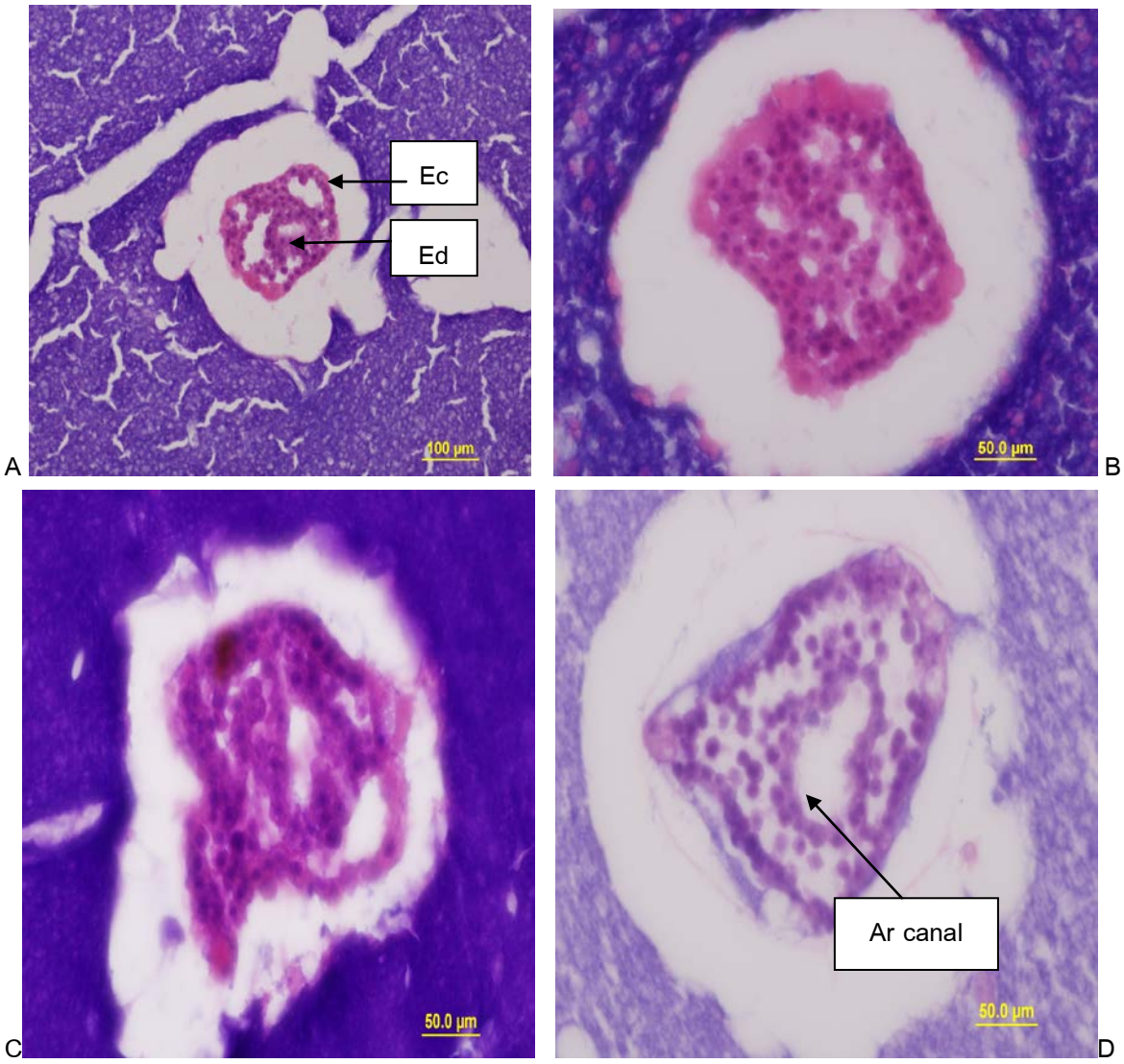

Figure 3 Micrographs showing embryonic development

(A) Embryo at the gastrula stage (Ec, ectoderm; Ed, endoderm).

(B) Change in shape of embryo after gastrula stage.

(C) Trochophore-like larva.

(D) Archenteron canal (Ar canal) in the trochophore like-larva

เอกสารอ้างอิง

Browder, L.W. 1980. Deevelopmental Biology. Saunders college, Philadelphia. 602 pp.

Conklin, E. G. 1897. The embryology of *Crepidula*. A contribution to the cell lineage and early development of some marine gasteropods. J. Morphol. 13: 1-226.

Desrosier, R.R., J.Desilets and F.Dube. 1996. Early developmental events following fertilization in the giant scallop *Placopecten magellanicus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 53: 1382-1392.

Egonmwan, R. I. 2007. Light and electron microscopy study of late embryonic development in the land snail *Limicolaria flammea* (Muller)

(Pulmonata, Achatinidae). Rev. Bras. Zool. 24 (2):1-6.

Gilbert, S.F. 1991. Development biology. 3th edition Sunderland (MA) : Sinauer Associates. 89 pp.

Kume, M. and K. Dan. 1968. Invertebrate embryology. Nolit, Belgrade, 605 pp.

Sarker,M. M., B. Nesa and M. Sarwar Jahan. 2007. Embryonic development ecology of freshwater snail *Lymnaea acuminate* (Lymnaeidae: Gastropoda). Pak.J.Biol.Sci.10:23-31.

Raven,C.P. 1945. The development of the egg of *Lymnaea stagnalis* L. from oviposition untill first cleavage. Arch. Neel. Zool. 7: 91.

Render, J. 1997. Cell fate maps in the *Ilyanassa obsoleta* embryo beyond the third division. Dev. Biol.189: 301–310.

Smith, F.G.W. 1935. The development of *Patella vulgata*. Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. Biol. Sci. 520 (225): 95-125.

Received 31 August 2012

Accepted 29 May 2013