

จุลกายวิภาค และจุลกายวิภาคเคมีบางระบบของตัวงน้ำมัน
***Epicauta waterhousei* (Haag-Rutenberg, 1880) เพศเมีย ส่วนท้าย**
Identification of some organ by histology and histochemistry of female
blister beetles, *Epicauta waterhousei* (Haag-Rutenberg, 1880): the abdominal part

กาญจนา ลังกางค์¹, ศิลปชัย เสนารัตน์², นราธิป จันทรสวัสดิ์³, ปิยากร บุญยัง⁴ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ^{1*}

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

³ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

⁴ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

*E-mail: g4761008@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาโครงสร้างพื้นฐานจุลกายวิภาคของตัวงน้ำมัน โดยในตัวแมลงทำให้เข้าใจถึงชีววิทยาพื้นฐาน ซึ่งตัวงน้ำมัน *Epicauta waterhousei* ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อน ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อศึกษาโครงสร้างจุลกายวิภาคและจุลกายวิภาคเคมีของตัวงน้ำมัน โดยใช้เทคนิคทางด้านจุลกายวิภาค ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่า ระบบหุ้มประกอบด้วย 3 ชั้นคือ ชั้นผิวนอก (epicuticle) ชั้นนอก (exocuticle) และชั้นใน (endocuticle) ที่ปกคลุมภายนอกทั้งหมด ระบบขับถ่ายประกอบด้วยท่อมัลปิเกียน (malpighian tubules) ที่เซลล์บุผิวจัดเรียงแบบรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) และมีท่อหายใจประกอบด้วยรูหายใจ (spiracle tubules) และท่อลม (trachea) เซลล์บุผิวทั้งสองอวัยวะจัดเรียงแบบแบนบาง ชั้นเดียว (simple squamous epithelium) พบหลักได้บริเวณใกล้ผนังลำตัว ระบบประสาทสามารถพบได้แค่ 3 ปม แต่ละปมจะประกอบด้วย 2 ชั้นคือ ชั้นนอก (cortex) และชั้นใน (medullar) โดยชั้นนอกสามารถจำแนกเซลล์ที่พบได้ 3 เซลล์คือ เซลล์นิวโรเซครีทอรี (neurosecretory cells) เซลล์ประสาทค้ำจุน (neuroglia) และเซลล์ประสาท (neuron) สำหรับระบบสืบพันธุ์ รังไข่ถูกจัดเป็นแบบมีเซลล์ที่เลี้ยง (merostic ovariole) ส่วนโครงสร้างรังไข่ ระยะเซลล์สืบพันธุ์ และท่อสืบพันธุ์ สามารถพบได้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

คำสำคัญ : จุลกายวิภาค, จุลกายวิภาคเคมี, ตัวงน้ำมัน, พิษณุโลก

Abstract

Basic histology of organ system is an essential for fundamental insect biology. The histology report regarding the organ system of *Epicauta waterhousei* is not available. Therefore, the aim of this study was to examine the structure of some organs in *E. waterhousei* using histological analysis. Under the light microscopy, the histological characteristics revealed that the integument system was covered by three layers; epicuticle, exocuticle and endocuticle. The urinary system had the malpighian tubules as simple cuboidal epithelium and tracheal with embedding in adipose tissue. The respiratory system was composed of spiracles and trachea as

simple squamous epithelium and mainly found near the integument. The nervous system had three ganglia that found in this study. Each ganglion was consisted of two layers; outer cortex and inner medullar. The cell types of cortex were classified into three types based on size and histological characterization; neurosecretory cells, neuroglia and neuron. For reproductive system, the ovary was classified as a meroistic ovariole type. Ovarian structure, oogenic stages and ovarian ducts were also presented.

Keywords : Histology, Histochemistry, *Epicauta waterhousei*, Phitsanulok

1. บทนำ

ด้วงน้ำมันดำแถบขาว *Epicauta waterhousei* (Haag-Rutenberg, 1880) มีชื่อสามัญว่า White-banded blister beetle จัดเป็นแมลงปีกแข็งในอันดับ Coleoptera วงศ์ Meloidae พบการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศไทยที่สามารถพบได้ทั่วทุกภาค [1] ลักษณะสำคัญทางด้านสัณฐานวิทยาที่ชัดเจน ได้แก่ ส่วนหัวสีส้มแดง ปีกคู่หน้าสีดำมีขีดสีเหลืองตามยาวขอบปีกข้างละขีด เพศเมียมีขนาดใหญ่มากกว่าเพศผู้ ในปัจจุบันแมลงชนิดนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งมักกัดกินใบและดอกจนก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิดโดยเฉพาะพืชในตระกูลถั่ว [2] [3] [4] นอกจากนี้ยังสามารถปล่อยสารพิษที่มีชื่อว่า แคนธาริดิน (cantharidin) ซึ่งหากสัมผัสกับผิวหนังของมนุษย์ทำให้เป็นผื่น พุพอง ปวดแสบปวดร้อนบริเวณผิวหนังและหากรับประทานอาจทำให้เสียชีวิตได้ [2] [5]

รายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าด้วงน้ำมันในสกุลนี้มักศึกษาโดยเน้นด้านนิเวศวิทยา พฤติกรรมและกายวิภาคภายนอกเป็นหลัก [2] [6] ในขณะที่การศึกษาระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ก็พอมีรายงานอยู่บ้าง แต่ส่วนใหญ่เป็นเอกสารในต่างประเทศ อาทิ [7] Everly (1936) ทำการศึกษาจุลกายวิภาคของระบบทางเดินอาหารในด้วงน้ำมัน *E. canerea* ทางตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐโอไฮโอ ประเทศสหรัฐอเมริกา เช่นเดียวกับ [8] Mattingly (1938) ศึกษาสัณฐานวิทยาและจุลกายวิภาคของระบบทางเดินอาหารของด้วงน้ำมัน ชนิด *E. pennsylvanica* นอกจากนี้ [9] Gerber et al. (1971) ยังได้ทำการศึกษาคอร์สร้างทางกายวิภาค จุลกายวิภาค และสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียของด้วงน้ำมันชนิด *Lytta nuttalli* อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทบทวนเอกสารเกี่ยวกับคอร์สร้างด้วงน้ำมัน *E. waterhousei* ในประเทศไทยกลับไม่มีรายงานจวบจนปัจจุบัน

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการพัฒนาและวิจัยด้านจุลกายวิภาคของด้วงน้ำมันชนิดที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคด้านจุลกายวิภาค (histological analysis) วัตถุประสงค์ของการศึกษารังนี้เพื่อศึกษาและตอบคำถามจุลกายวิภาคพื้นฐานของด้วงน้ำมันชนิด *E. waterhousei* บริเวณส่วนท้าย ซึ่งเป็นพื้นที่ส่วนใหญ่ของแมลง ข้อมูลที่ได้ไม่เพียงช่วยให้เข้าใจและทราบถึงโครงสร้างระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ของด้วงชนิดนี้ แต่ยังนำไปสู่การสร้างความรู้ที่ถือว่าเป็นรายงานอ้างอิงทางวิชาการฉบับแรกของประเทศไทย นอกจากนี้คาดว่าจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับเปรียบเทียบกับด้วงน้ำมันชนิดใกล้เคียง และเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้องทางสาขาอื่น อาทิ แมลงทางการแพทย์ การแพทย์ และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการตามลำดับ

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

สุ่มเก็บตัวอย่างด้วงน้ำมันดำแถบขาว *Epicauta waterhousei* (Haag-Rutenberg, 1880) ที่เป็นตัวเต็มวัยในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก (ขนาดความยาวตัวทั้งหมด 6-8 เซนติเมตร) เน้นในพื้นที่เกษตรกรรม ช่วงเดือนตุลาคม 2555 ถึง มีนาคม 2556 ทำการสลบด้วงด้วย 70% แอลกอฮอล์ แล้วนำมาเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อใน Davidson's fixative ประมาณ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตัดส่วนท้ายออกมา แล้วนำมาผ่านกระบวนการ dehydration ด้วย 70% ethanol, 90% ethanol, 95% ethanol และ n-butanol ตามลำดับ แล้วนำไปผ่านกระบวนการ infiltration ลงใน paraffin wax โดยใช้ xylene เป็นตัวกลาง ตามวิธีมาตรฐานของ [10] Humason, 1979 และ [11] Bancroft และ Gamble, 2002 นำ paraffin block ของเนื้อเยื่อไปตัด section ด้วยเครื่อง rotary microtome ที่ความหนาประมาณ 5-7 ไมโครเมตร แล้วนำ section ที่ได้ติดบนสไลด์ทั้งหมด แล้วนำไปย้อมสี hematoxylin & eosin

(H&E) และ periodic-acid Schiff (PAS) ตามวิธีมาตรฐาน [10] [11] ตรวจสอบโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) ถ่ายภาพและวิเคราะห์ผล

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการย้อมสีเนื้อเยื่อบริเวณส่วนท้ายของตัวงูน้ำมัน มีองค์ประกอบของระบบเนื้อเยื่อและอวัยวะที่หลากหลาย ด้วย hematoxylin & eosin (H&E) และ periodic-acid Schiff (PAS) แต่อย่างไรก็ตามจากการทบทวนเอกสาร พบว่าการศึกษาด้านจุลกายวิภาคในแมลงกลุ่มตัวงูน้ำมัน ดังนั้นรายงานครั้งนี้จึงเปรียบเสมือนการสร้างองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญเป็นอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย จากการศึกษาครั้งนี้สามารถแสดงโครงสร้างของระบบต่างๆ ดังนี้

3.1 หนังลำตัว (integument) และเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (muscular tissue)

โครงสร้างหนังลำตัวประกอบด้วยชั้นผิวหนังนอก (epicuticle) ที่ปกคลุมโครงสร้างภายนอกตัว มีลักษณะเป็นแผ่นสีดำ เป็นชั้นนอกที่บางมีขี้ผึ้งเคลือบ ชั้นนอก (exocuticle) (ภาพที่ 1A) และมักมีเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) แทรกและยึดให้แนบติดอยู่กับลำตัว และชั้นใน (endocuticle) ซึ่งชั้นนอกและชั้นในรวมเรียกว่า procuticle เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers) และรวมกันก็จะกลายเป็นกล้ามเนื้อกลุ่มใหญ่ (muscle bundle) เมื่อตัดกล้ามเนื้อตามยาว (longitudinal sections) กล้ามเนื้อลายจะสังเกตเห็น myofilament ที่เรียงอย่างเป็นระเบียบและปรากฏเป็นแถบๆ โดยแถบที่เป็นสีเข้ม คือ A-band ซึ่งเป็นส่วนของ myosin filament และแถบสีจางคือ I-band เป็นส่วนของ actin filament [12] ทำให้เห็นเป็นลาย (striated) เมื่อตัดกล้ามเนื้อตามขวาง (cross sections) จะเห็นเส้นใยกล้ามเนื้ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่ ส่วนของนิวเคลียสเห็นเป็นรูปกลมอยู่บริเวณริม (ภาพที่ 1B-1D) สอดคล้องกับการรายงานของการศึกษาด้านจุลกายวิภาคกล้ามเนื้อของแมลงทั่วไป อาทิเช่น กลุ่ม แมลงป่นใบ [12] นอกจากนี้ยังพบกล้ามเนื้ออีกชนิดหนึ่งคือ กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) ซึ่งค่อนข้างแยกจากกล้ามเนื้อลายได้ยาก มักแทรกอยู่บริเวณผนังของอวัยวะภายในที่เป็นระบบท่อ เช่น บริเวณผนังทางเดินอาหาร ที่ประกอบด้วย เซลล์รูป

กระสวยยาวๆ มาเรียงต่อเป็นแถบของเส้นใยกล้ามเนื้อ มีนิวเคลียสรูปยาวติดสีน้ำเงิน

3.2 ระบบขับถ่าย (urinary system) และเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue)

อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบขับถ่ายคือท่อมัลพิเกียน (mulphigian tubules) ที่ถูกศึกษาและมีรายงานไว้มากมายทั้งในระดับมหกายวิภาค จุลกายวิภาคและสรีรวิทยาของแมลงหลายกลุ่ม [13] [14] [15] [16] โดยโครงสร้างมหกายวิภาคพบเชื่อมต่ออยู่ระหว่างทางเดินอาหารส่วนกลางและท้าย เช่นเดียวกับรายงานของ Lacombe, (1971) [12] และเมื่อศึกษาด้านจุลกายวิภาค ท่อนี้ประกอบด้วยเซลล์บุผิวรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) วางอยู่บน peritoneal membrane ในขณะที่การทบทวนเอกสารโดยติดตามศึกษาโครงสร้างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (transmission electron microscope, TEM) พบว่าภายในเซลล์บุผิวประกอบด้วยไมโทคอนเดรียจำนวนมาก และหน้าที่ของระบบนี้เกี่ยวข้องกับการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย [12] (ภาพที่ 2A-2C)

นอกจากนี้ยังพบเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) จัดเป็นชนิด multilocular adipose tissue ที่แทรกอยู่ระหว่าง mulphigian tubules ประกอบด้วยเซลล์ไขมัน (adipose cells) ที่รวมกลุ่มกัน แต่ละเซลล์ติดสีน้ำเงินเข้ม (basophilic cells) รูปร่างไม่แน่นอน (irregular shape) นิวเคลียสอยู่ทางด้านใดด้านหนึ่ง ภายในไซโตพลาสซึมสังเกตเห็นว่าถูกบรรจุด้วยเม็ดไขมันจำนวนมาก (ภาพที่ 2A-2C)

3.3 ระบบหายใจ (respiratory system)

อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบนี้ ได้แก่ spiracle tubules ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปและมีก้นหนาแน่นอยู่บริเวณใกล้ผนังลำตัว เมื่อศึกษาด้านจุลกายวิภาคพบว่า ท่อนี้บุด้วยเซลล์บุผิวรูปแบนบาง ชั้นเดียว (simple squamous epithelium) วางอยู่บน peritoneal membrane (ภาพที่ 2A,2C) โครงสร้างเซลล์ที่เป็นลักษณะแบนบาง สามารถอธิบายในแง่ทางสรีรวิทยาได้ว่า ทำให้แลกเปลี่ยนแก๊สได้เร็วขึ้นสอดคล้องกับการศึกษาในแมลงหลายชนิด ดังเช่นกลุ่มแมลงป่นใบสกุล *Embia* เช่น *Embolyntha batesi* [17] [18] [19] นอกจากนี้ยังพบท่อลม (trachea) จัดเป็นระบบแบบสมบูรณ (holopneustic system) คล้ายกับแมลงทั่วไป

[12] แต่ละท่อนประกอบด้วยเซลล์รูปวงแหวนแบบชั้นเดียว แบบราบ มีลักษณะพิเศษคือ ภายนอกท่อนห่อหุ้มด้วย spiral filament ทำให้เห็นเป็นลายอย่างชัดเจน โครงสร้างนี้เรียกชื่อเฉพาะว่า taenidia (ภาพที่ 2B,2D)

3.4 ระบบประสาท (nervous system)

ระบบประสาทส่วนกลางของตัวน้ำม้นมีลักษณะเป็นปมประสาทส่วนกลาง (ganglia) ทำหน้าที่เหมือนสมองในการควบคุมและสั่งงาน ปมประสาทประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์ประสาทที่มีขนาดแตกต่างกันไป จากรายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่าปมประสาทจะปรากฏตั้งแต่บริเวณส่วนหัวและกระจายขนานไปกับลำตัว [20] ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเพียง 3 ปม คือ ปมประสาทส่วนท้อง (abdominal ganglia) คู่ที่ 1, 2 และ 3 จากการย้อมสีเนื้อเยื่อปมประสาทเหล่านี้ พบว่าแต่ละปมประสาทมีโครงสร้างพื้นฐานไม่แตกต่างกัน ที่ถูกเชื่อมด้วยเส้นประสาท (nerve tract) กล่าวคือ ปมประสาทชั้นใน (inner medulla) ประกอบด้วยเส้นในประสาท (nerve fibers) และไม่มีตัวเซลล์ประสาท ติดสีชมพูจาง และปมประสาทชั้นนอก (outer cortex) ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นกล้ามเนื้อเกี่ยวพัน โดยที่เซลล์ในชั้นนี้สามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิด คือ (1) เซลล์นิวโรซีคทีทอรี (neurosecretory cells, NS cells) เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่สุด นิวเคลียสรูปร่างกลม ติดสีชมพูจาง ภายในบรรจุนิวคลีโอลัสหนึ่งอันไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้มที่บรรจุ secretory granules อย่างชัดเจน เมื่อย้อมพิเศษด้วย PAS พบว่า ภายในบรรจุด้วยเซคทีทอรีแกรนูล (secretory granules) ติดสีชมพูเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 3) โดยเซคทีทอรีแกรนูลที่พบนั้นอาจบรรจุฮอร์โมนที่เซลล์นั้นสร้างขึ้น ดังรายงานสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง รวมถึงกลุ่มหอยฝาเดียว [21] เมื่อพิจารณาจากการศึกษาโครงสร้างละเอียด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (Transmission electron microscopy) ดังเช่น หอย *Lymnaea stagnalis* [21] และหอย *Helisoma duryi* [22] นอกจากนี้ยังมีการติดตามสาร APGWamide ด้วยกรรมวิธีอิมมูโนเคมี (immunocytochemistry) ในปมประสาทของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง อาทิ ในกลุ่มหอยที่ใกล้เคียงกันในแง่วิวัฒนาการ พบว่า ปมประสาทมีปฏิกิริยาอิมมูโนต่อ APGWamide โดยหน้าที่ของสารชนิดนี้จัดเป็นสารประกอบกลุ่ม neuropeptide ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญของระบบสืบพันธุ์และพฤติกรรมกรรมการหาคู่ผสมพันธุ์ [23] [24]

[25] (2) เซลล์นิวโรเกลีย (neuroglia, NG cells) เป็นเซลล์ขนาดเล็กกว่า NS cells นิวเคลียสกลม (oval shape) ติดสีชมพูจาง ภายในบรรจุนิวคลีโอลัสขนาดเล็กหลายอัน ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อน และ (3) เซลล์นิวรอน (neuron cells, NR cell) เป็นเซลล์ขนาดเล็กที่สุด ประกอบด้วยนิวเคลียสกลม ล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมสีน้ำเงินจาง ปมประสาทของตัวน้ำม้นที่พบนั้นมีขนาดของปมประสาทและเซลล์ที่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีโครงสร้างพื้นฐานที่เหมือนกัน โดยแต่ละปมมีรายละเอียด (ภาพที่ 4A-4F) ดังนี้

ปมประสาทปมที่ 1 มีขนาดประมาณ 300 μm มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับปมอีก 2 ปม อยู่เหนือทางเดินอาหารส่วนท้าย ชั้นนอกพบเซลล์นิวโรซีคทีทอรี แต่มีน้อยมาก (ภาพที่ 4A-4B)

ปมประสาทปมที่ 2 มีขนาดประมาณ 350 μm ชั้นนอกพบเซลล์นิวโรซีคทีทอรีเป็นกระจายตัวอยู่ไม่มากนัก (ภาพที่ 4C-4D)

ปมประสาทปมที่ 3 มีขนาดประมาณ 500 μm เป็นปมประสาทที่อยู่ทางตอนท้ายสุด ที่ถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ภายในประกอบด้วยส่วนชั้นนอกมีเซลล์นิวโรซีคทีทอรีเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปมอื่นๆ (ภาพที่ 4E)

3.5 ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system)

ลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อรังไข่

ตัวน้ำม้นเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ 2 ข้าง แต่ละข้างจะถูกยึดกับช่องท้องโดยเยื่อมีเซนเทอรี (mesentery) เซลล์ไข่แต่ละระยะต่างๆ ถูกบรรจุภายใน ovariole บริเวณส่วนปลายของ ovariole จะเปิดรวมกันกลายเป็นท่อนำไข่ (oviduct) ก่อนเปิดออกสู่ช่องคลอด (vagina) เช่นเดียวกับการรายงานของ Gerber et al. (1971) ที่ได้ศึกษาในตัวน้ำม้นตัวเต็มวัยชนิด *Lyta nuttalli* [9]

โอวาริโอล (ovarioles) พบว่าบริเวณผนังของโอวาริโอลถูกห่อหุ้มด้วย peritoneal membrane ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อาจมีกล้ามเนื้อเรียบเป็นจำนวนมากแทรกอยู่ด้วย ซึ่งการเจริญและพัฒนาของรังไข่ของตัวน้ำม้นเป็นแบบ perioistic ovariole ที่ไม่มีเซลล์พี่เลี้ยง (nurse cells) แต่ละโอวาริโอลจะบรรจุด้วย oogonia และ oocytes ระยะต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้สามารถจัดแบ่งระยะการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไข่ (oogenesis) ได้เป็น 5 ระยะ โดยพิจารณาจากองค์ประกอบของเซลล์ (cell content) ขนาด (size) และการติดสี (staining properties)

แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ สามารถพบเพียงแต่ 2 ระยะ คือ

1. vitellogenic oocyte (600 μm) เป็น acidophilic cell ในช่วงต้นของระยะนี้เซลล์ไข่พบนิวเคลียสขนาดเล็ก มีรูปร่างไม่แน่นอนอยู่ชิดด้านใดด้านหนึ่ง โดยมีการสะสมเม็ดไข่แดง (yolk granules) มากขึ้น โดยปรากฏในไซโตพลาสซึมแล้วค่อยๆ กระจายจนเต็มไซโตพลาสซึม ในระยะนี้จะสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของ follicular cells กลายเป็น high simple columnar epithelium (3-5 μm) และเมื่อเข้าสู่ระยะปลายจะสังเกตการรวมตัวของ yolk granules เป็นแผ่นดิสซึมพหู ส่วน follicular cells จะกลายเป็น low simple columnar epithelium ก่อนเข้าสู่ final maturation (ภาพที่ 5A)

2. Mature stage เซลล์ไข่ระยะนี้ (ประมาณ 650-700 μm)อัดแน่นไปด้วยไข่แดงอยู่เต็มเซลล์ไข่ ไม่พบนิวเคลียส สำหรับ follicular cell ยังคงจะเป็น simple columnar epithelium ซึ่งจะล้อมรอบเป็นชั้น บางๆ ซึ่งการพบระยะนี้ แสดงให้เห็นและพิสูจน์ได้ว่า ตัวน้ำมูกที่สุ่มเก็บมาในเป็นตัวเต็มวัย (ภาพที่ 5B, 5C)

ท่อน้ำนม (ovarian duct)

โครงสร้างของท่อน้ำนมในระบบสืบพันธุ์ของตัวน้ำมูก มีรายละเอียด ดังนี้ แต่ละท่อน้ำนม (lateral oviduct) ของตัวน้ำมูก จากภาพตัดตามยาว มีเซลล์บุผิวรูปร่างเซลล์สูงชั้นเดียว (simple columnar epithelium) (ภาพที่ 5E) โดยเซลล์บุผิวมีการสร้างสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการสร้างสารห่อหุ้มเซลล์ไข่ [9] และมีชั้นกล้ามเนื้อหนาห่อหุ้มที่สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชั้นคือ ชั้นในเป็นกล้ามเนื้อแนวขวาง (circular muscular layer) และชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อแนวตามยาว (logintudinal muscular layer) ต่อจากนั้นท่อน้ำนมแต่ละข้างจะเปิดและเชื่อมกันกลายเป็นท่อน้ำนมรวม (common oviduct หรือ median oviduct) ซึ่งมีลักษณะการจัดเรียงตัวโครงสร้างเหมือนกับท่อน้ำนม เพียงแต่ชั้นเยื่อบุผิวหนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 5F) โดยที่โครงสร้างของท่อน้ำนมและท่อน้ำนมรวมสอดคล้องกับการศึกษาในตัวน้ำมูกตัวเต็มวัยชนิด *L. nuttalli* [9]

3.6 อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ (accessory organ)

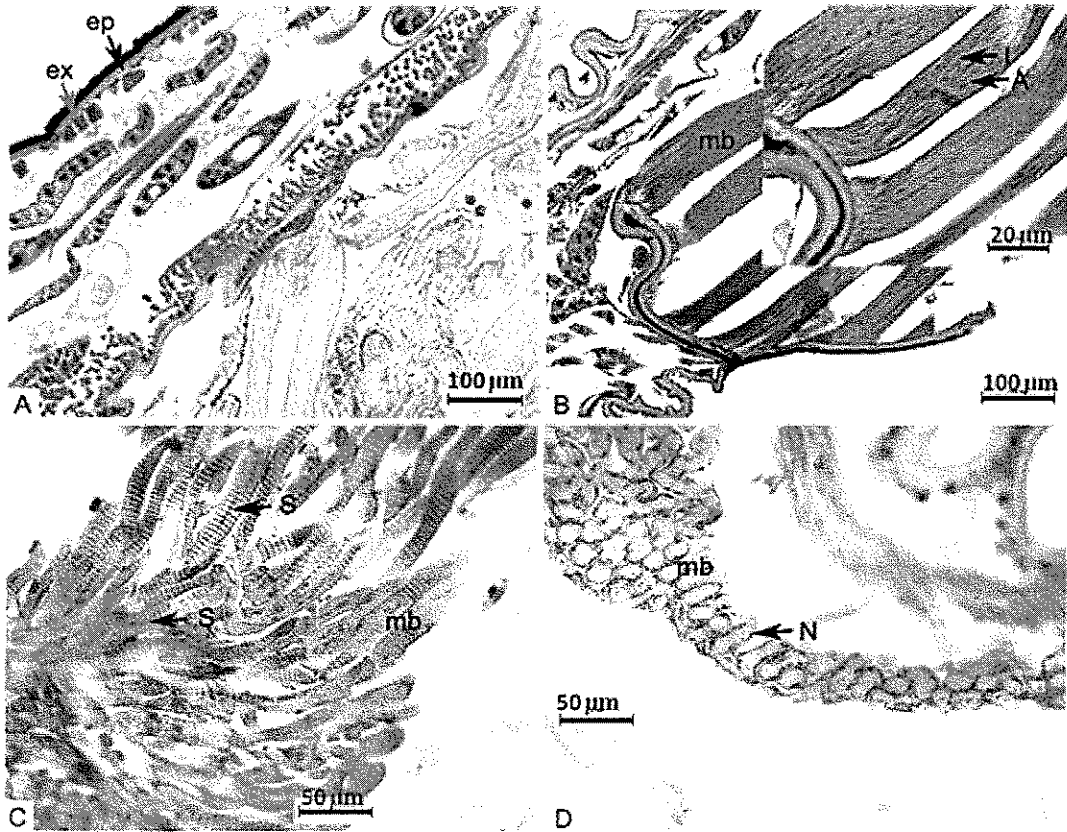
Accessory gland เมื่อศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาค พบว่า ภายในท่อน้ำนมด้วยชั้นบุผิวบางๆ ที่ห่อหุ้มด้วย secretory cells (ภาพที่ 5E) เช่นเดียวกับ Gerber et al. (1971) [9] หน้าที่ของอวัยวะนี้สร้างสารเหลวหล่อเลี้ยงระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และสร้างเปลือกไข่ (chorion) ซึ่งมีโปรตีนสูงอยู่รอบๆไข่ มักอยู่ใกล้กับทางเดินอาหารส่วนท้าย

4. สรุปและเสนอแนะ

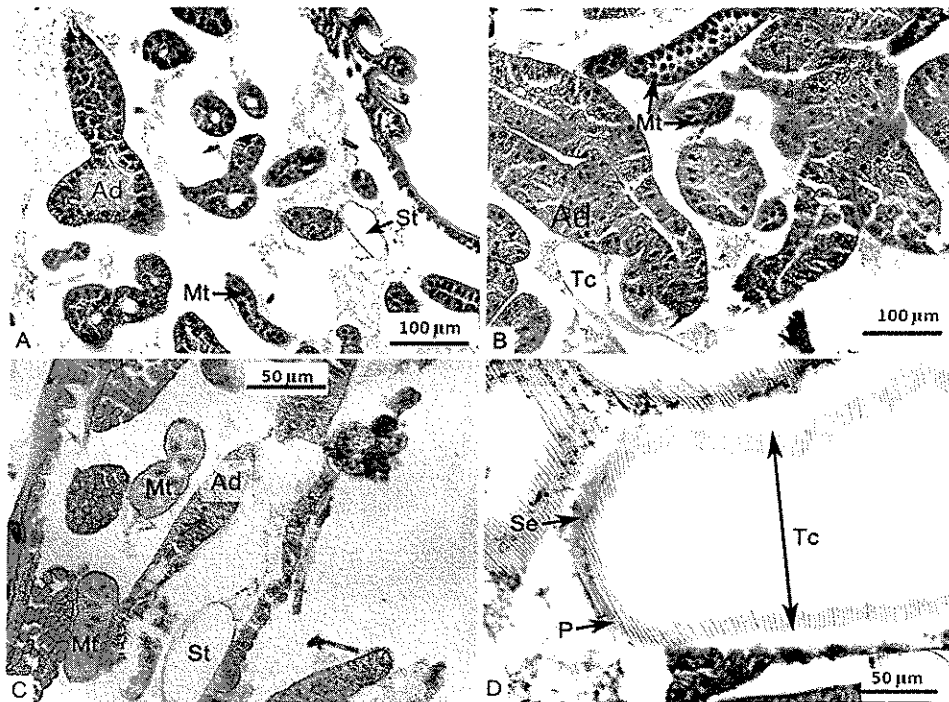
จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงถึงระบบต่างๆ ที่สามารถพบได้ในส่วนท้ายของตัวน้ำมูก แต่อย่างไรก็ตามพบว่า บางระบบไม่ปรากฏองค์ประกอบและโครงสร้างครบทั้งหมด เช่น ระบบประสาท และระบบสืบพันธุ์ เพราะการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงแค่รายงานขั้นพื้นฐานที่สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปสู่การศึกษาเชิงลึก ดังนั้นการศึกษาโครงสร้างละเอียด (ultrastructure) อิมมูโนเคมี (immunocytochemistry) ของระบบต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโครงสร้างของต่อมที่สร้างสารพิษแคนทาริดิน ซึ่งต้องทำการศึกษาในอนาคตต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

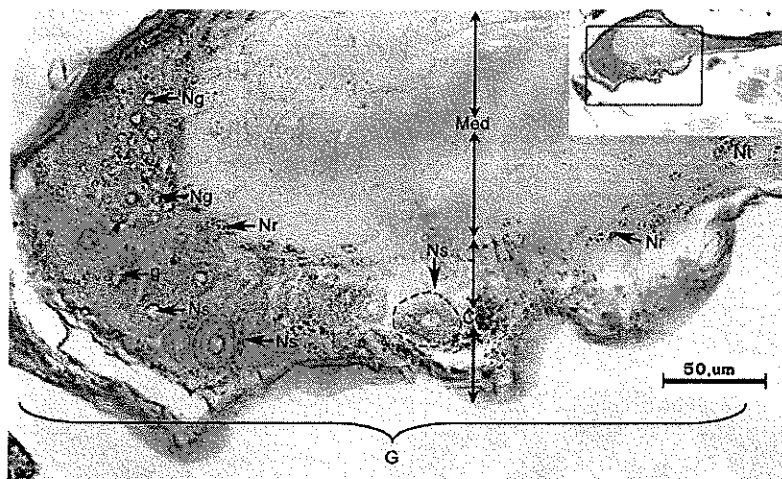
คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร. อุ่น ลีวานิช และ คุณแสงอรุณ วงสุข ที่สนับสนุน แนะนำและให้ความรู้ที่มีคุณค่าเกี่ยวกับตัวน้ำมูกชนิดนี้ ห้องปฏิบัติการจุลกายวิภาค ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ช่วยอนุเคราะห์อุปกรณ์สำหรับการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่าง และนางสาวเอสรา มงคลชัยชนะ สำหรับการเตรียมรูปภาพต้นฉบับ



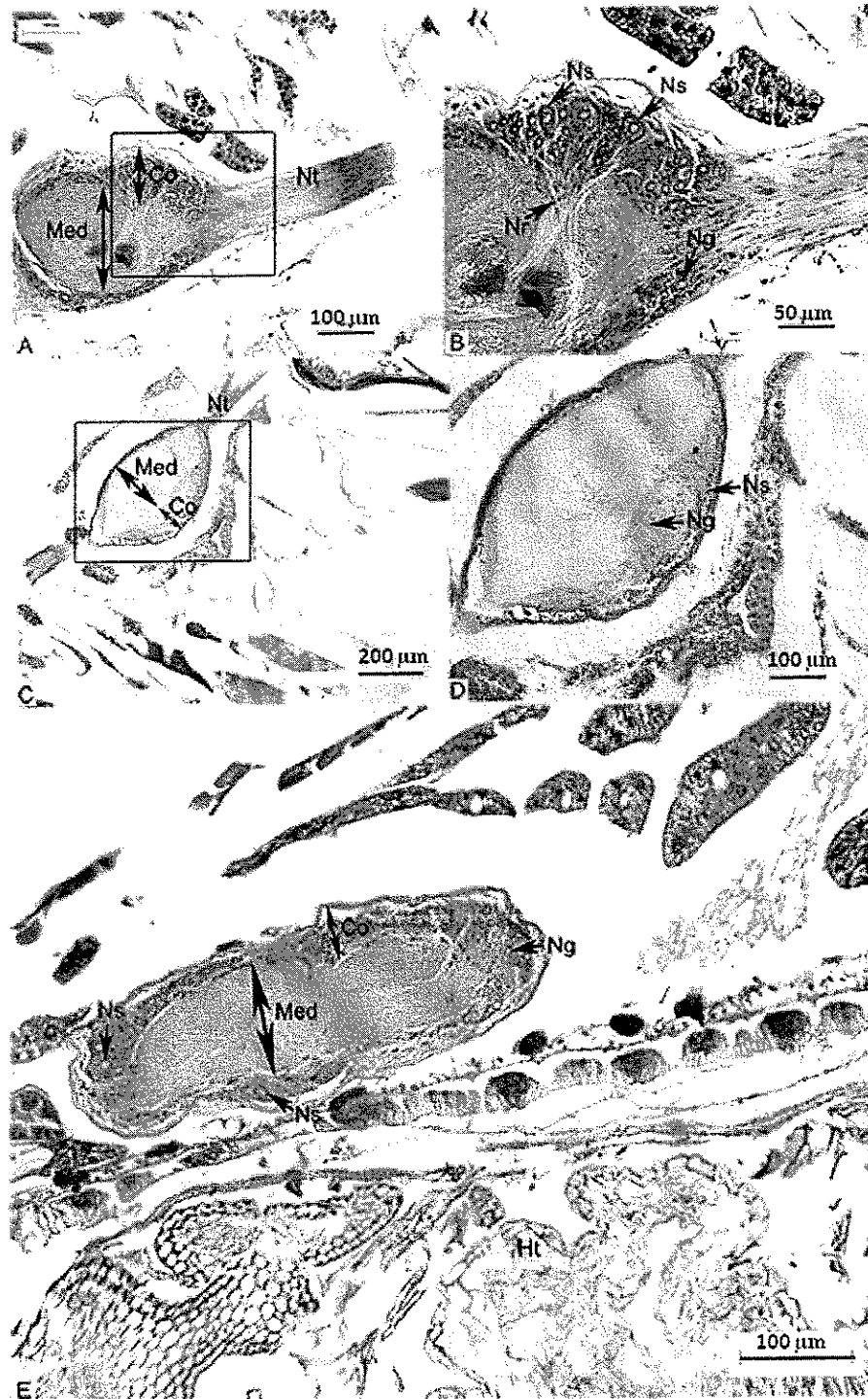
ภาพที่ 1 แสดงผนังลำตัวและเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ; (A) ภาพตัดตามยาวผนังลำตัวบริเวณลำตัว epicuticle (ep) และ exocuticle (ex) ฝัาหนังแท้ (H&E); (B-C) ภาพตัดตามยาว บริเวณลำตัวจะเห็นเส้นใยกล้ามเนื้อมีนิวเคลียสรูปรียาวอยู่ที่ขอบ และเห็นแถบที่บของ A-band (A) และแถบไอของ I-band (I) (D) ภาพตัดยาวขวางของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลายมีนิวเคลียสรูปรียาวอยู่ที่ขอบของมัดกล้ามเนื้อ (B = H&E, C-D = PAS) (mb = muscle bundles, N = nucleus, S = striated)



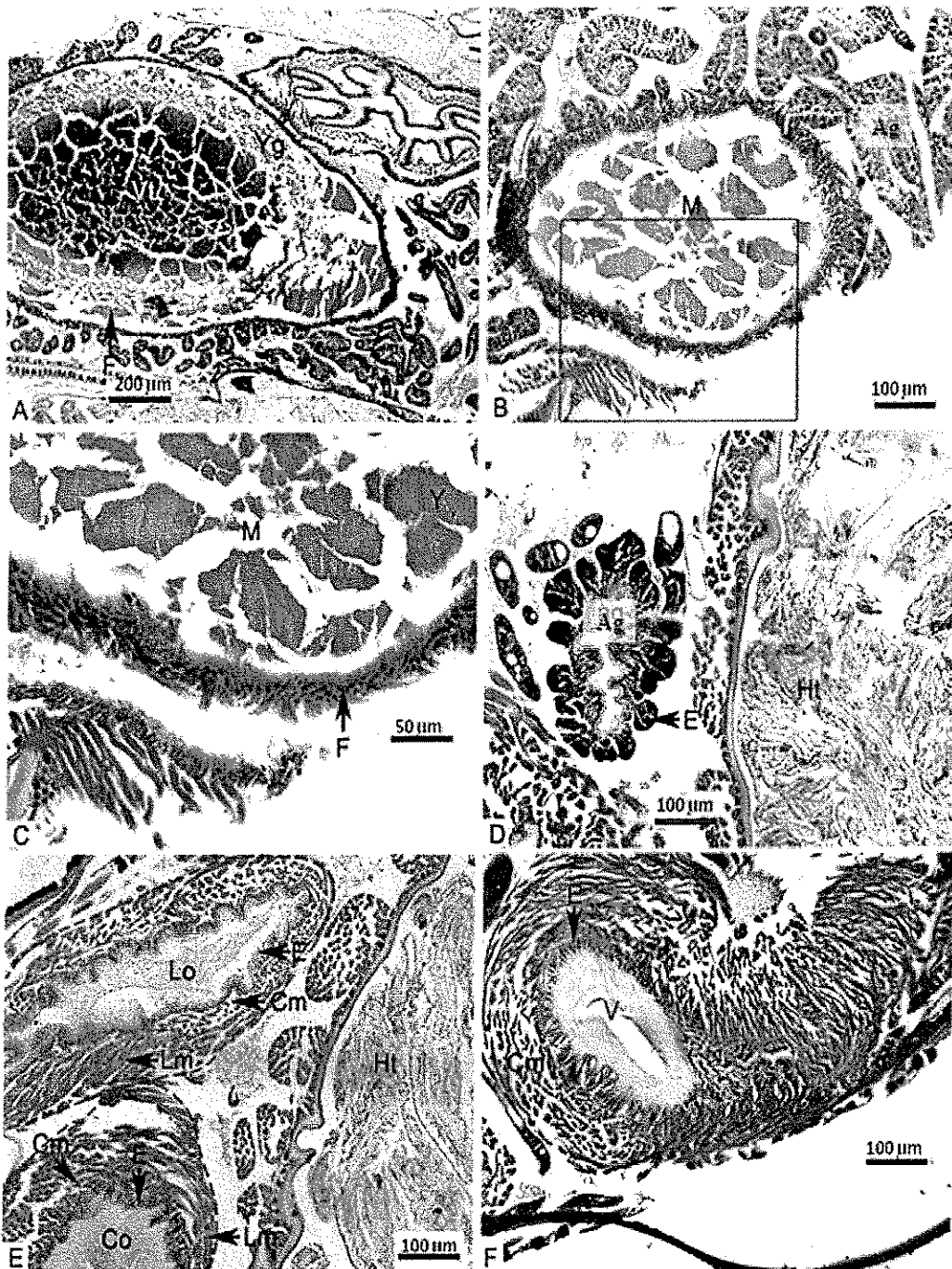
ภาพที่ 2 แสดงระบบขับถ่ายและระบบหายใจ; (A-C) ภาพตัดตามยาวบริเวณ mulphigian tubules แสดงชั้นเซลล์บุผิวเรียงชั้นเดียว รูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ และมีเนื้อเยื่อไขมันแทรกตัวอยู่; (A-C-D) ภาพตัดตามยาวบริเวณ spiracle tubules แสดงชั้นเซลล์บุผิวเรียงชั้นเดียว รูปร่างแบนบาง (A-B-D = H&E, C = PAS) (Ad = adipose tissue, St = spiracle tubules, Mt = mulphigian tubules, Se = simple squamous epithelium, p = peritoneal membrane, Tc = trachea)



ภาพที่ 3 แสดงภาพตัดตามยาวของสมอง แสดงรายละเอียดของสมอง คือ 1. สมองส่วนใน (Med = inner medulla) (เส้นในสมอง และนิวโรเกลีย) และ 2. สมองส่วนนอก (Co = outer cortex) (PAS) (Ns = neurosecretory cells, Nr = neuron, Ng = neuroglia, G = Ganglia, g = granules, Nt = nerve tract)



ภาพที่ 4 แสดงระบบประสาทบริเวณส่วนท้าย; (A) ภาพตัดตามยาวและ (B) ภาพขยายปมประสาทปมที่ 1; (C) ภาพตัดตามยาวและ (D) ภาพขยายปมประสาทปมที่ 2; (E) ภาพตัดตามยาวปมประสาทปมที่ 3 (A-B-E = H&E, C-D = PAS) (ปมประสาทส่วนใน (Med = inner medulla), นิวโรเกลีย (Ng = neuroglia), ปมประสาทส่วนนอก (Co = outer cortex), Ns = neurosecretory cells, Nr = neuron, Nt = nerve tract), ทางเดินอาหารส่วนท้าย (Ht = hindgut)).



ภาพที่ 5 แสดงระบบสืบพันธุ์เพศเมีย ; (A-F) ภาพตัดตามยาวระบบสืบพันธุ์ที่ประกอบระยะของเซลล์ไข่ คือ ระยะ vitellogenic (V), ระยะ mature (M) ท่อรังไข่ ประกอบด้วย ท่อนำไข่ (Lo) ท่อนำไข่รวม (Co) และ ช่องคลอด (V) (F = follicular cells, Y = yolk plate, Yg = yolk granules, Ag = accessory gland, E = epithelium, Cm = circular muscular layer, Lm = longitudinal muscular layer) (A-F = H&E)

6. บรรณานุกรม

- [1] Ek-amnuay P. 2008. **Beetles of Thailand (2nd)**. Bangkok, Amarin Printing and Publishing Public Co., Ltd.
- [2] วิชัย รัตนพรเจริญ และ ชิตามา เกตวิลห์. 2522. **Cantharidin**. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 17 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน. รวมเรื่องย่อ. กรุงเทพฯ. หน้า 89.
- [3] อรุณ โสติดิกุล และกนก อุไรสกุล. 2527. ศึกษาระดับความเสียหายของถั่วเหลืองเนื่องจากการทำลายของด้วงห้ำมัน. รายงานประจำปี. สถาบันวิจัยและฝึกอบรม. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา. ลำปาง. 111-114.
- [4] Waterhousei, D. F. 1993. *The Major Arthropod pests and weeds of agriculture in Southeast Asia* : Distribution, Importance and Origin. ACIAR, Canberra. 144 pp.
- [5] กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2552. **ชีววิทยาและการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข**. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หนังสือตีพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.
- [6] Senlander, R. B. and J. M. Mathieu. 1969. **Ecology, behavior and adult anatomy of the albida group of the gnus *Epicauta* (Coleoptera: Meloidae)**. III. Biol. Monogr. 41. Univ. Ill. Press, Urbana.
- [7] Everly, R. T. *Ohio Journal of Science*. 1936, 36, 204-216.
- [8] Mattingly, Herman E. *Ohio J. Sci.* 1938 38, 251-263.
- [9] Gerber, G.H.; Church, N S., Rempel, J. G. *Can. J. Zool.* 1971, 49, 523-533.
- [10] Humason, G. L. *Animal Tissue Techniques*; San Francisco : Freeman.1979; Vol 4.
- [11] Bancroft, J. D.; Gamble, M. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone: London. 2002.
- [12] Lacome, D. 1971. *Mem. Inst. Oswaldo*, 1971, 69, 331-390
- [13] Marchal, P. *Mem. Soc. Zool. Fr.* 1890, 3, 257-258.
- [14] Marchal, P. *Bull. Soc. Entom. France*, 1896, 257-258.
- [15] Palm, N.B. 1946. *Ark. Zool*, 1946, 3, 195-272.
- [16] Wigglesworth, VB. *J. Exp. Biol.* 1931, 428-442.
- [17] Lacome, D. *Int. Oswaldo Cruz*, 1958, 56, 655-684
- [18] Grassi, B. *Bull. mes. Accad. Gioenia Sci. Nat Catania*, 1889, 9, 6-8.
- [19] Mukerji, S. *Biol. Bull.*, 1927, 4, 99-108.
- [20] Adams, C.L. and R.B. Selander. *Bulletin of the AMNH*. 162, 1979, 141-266.
- [21] Bonga, S.E.W., Z. Zellforch, 1970, 108, 190-224.
- [22] Khan, H. R.; Saleuddin, A. S. M. *Cell Tissue Res.* 1992, 268, 131-139.
- [23] Oberdorster, E.; McClellan-Green, P. *Peptide*, 2000, 21, 1323-1330.
- [24] Oberdorster, E.; Romano, J.; McClellan-Green, P. *Integ. Com. Biol.*, 2005, 45, 28-32.
- [25] Morgan, P.; Jing, J.; Vilim, F. S.; Weiss, K. R. J. *Neurophysio.*, 2002, 87, 49-61.
- [25] Morgan, P. T.; Jing, J.; Vilim, F. S.; Weiss, K. R. *J. Neurophysio*, 2000, 87, 49-61.