

จุลกายวิภาคที่แตกต่างของระบบท่อหุ้มร่างกายบริเวณส่วนนอกของผีเสื้อหนอนคูน

ธรรมา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758)

Differential Histology of the Integument System in the Thoracic Region of *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758)

ศิลปชัย เสนารัตน์¹, เจษฎ์ เกษตรระทัด¹, พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ², วชิร เยนนำ³ และ วรณีย์ จิรอังกูรสกุล⁴

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

³ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ชีวภาพ ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี 12120

⁴ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400

*Email: Senarat.S@hotmail.com

บทคัดย่อ

จุลกายวิภาคของระบบต่างๆ ของผีเสื้อหนอนคูนธรรมา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) มีการศึกษาไว้หลายระบบ แต่ยังไม่ครอบคลุมถึงระบบท่อหุ้มร่างกาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาความแตกต่างของโครงสร้างจุลกายวิภาคพื้นฐาน โดยแบ่งเป็น 2 บริเวณคือ ระบบท่อหุ้มร่างกายแบบเส้นขนมีลักษณะเรียงเป็นเส้นเดียวและกระจุกบริเวณส่วนนอก ด้วยเทคนิคทางด้านจุลกายวิภาค ผลการศึกษาพบว่า สองบริเวณนี้มีการกระจายสลับกันตลอดแนวลำตัว ด้านข้างของส่วนนอก ในรายละเอียดพบว่าระบบท่อหุ้มร่างกายแบบเส้นขนที่มีลักษณะเรียงเป็นเส้นเดียว มีโครงสร้าง 2 ชั้นหลักคือ ชั้นคิวติเคิล (cuticle layer) และหนังกำพร้า (epidermal layer) โดยชั้นคิวติเคิลสามารถแบ่งย่อยได้อีกเป็น 3 ชั้นพิจารณาจากตำแหน่งและการติดสี กล่าวคือ ชั้นผิวนอก (epicuticle) ชั้นกลาง (exocuticle) และชั้นล่าง (endocuticle) โดยที่ชั้นล่างของคิวติเคิลแนบติดกับชั้นหนังกำพร้า ต่างจากระบบท่อหุ้มร่างกายแบบเส้นขนเรียงเป็นกระจุก ไม่พบชั้นผิวนอกของคิวติเคิล แต่พบชั้นโปรคิวติเคิล (procuticle) ซึ่งไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นชั้นกลางและชั้นล่าง ส่วนชั้นหนังกำพร้าของระบบท่อหุ้มชนิดนี้สามารถพบและแยกเซลล์ได้ถึง 4 ชนิด ได้แก่ เซลล์เอพิโตเจนมีส tomogen cell sensory cell และ trichogen cell ตามลำดับ

คำสำคัญ : จุลกายวิภาค หนอนคูนธรรมา ระบบท่อหุ้มร่างกาย ผีเสื้อ

Abstract

Basic histological studies of *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) have been performed of various systems but none have been of the integument system. This study selected and investigated different histology of the integument system in the thoracic region separated into two localizations based on basic microanatomy and the amount of hair (i) single hair and (ii) several hairs. The results revealed that the arrangement of the integument system alternated along the thoracic region. The integument system with the arrangement with single hair mainly consisted of two layers, cuticle and epidermal. The cuticle layer was divided into three layers according to localization and staining, epicuticle, exocuticle, and endocuticle. The endocuticle layer was on the epidermal layer along the body. The integument system with the arrangement with several hairs was histologically different as there was no epicuticle, only procuticle, due to the difficult separation of exocuticle and endocuticle. The epidermal layer in this type was distinctly separated into epidermal, tomogen, sensory, and trichogen cells.

Keywords: Histology: *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758): Integument system of the butterfly

บทนำ

ความหลากหลายทางชาติพันธุ์ของแมลงและความสำคัญในการช่วยรักษาสมดุลในระบบนิเวศ ทำให้แมลงได้รับความสนใจและมีงานวิจัยในแง่มุมต่างๆ อย่างต่อเนื่องตลอดหลายสิบปีที่ผ่านมา ทั้งด้านนิเวศวิทยา พฤติกรรม และกายวิภาค ท่ามกลางศาสตร์เหล่านี้ การศึกษาในระดับเนื้อเยื่อและเซลล์พบว่ามีไม่มาก โดยเฉพาะในประเทศไทย ตรงกันข้ามกับต่างประเทศที่มีงานวิจัยในกลุ่มแมลงต่างๆ อย่างแพร่หลาย อาทิ การวิเคราะห์โครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบทางเดินอาหารในตั๊กแตน *Epicauda cinerea* (Fabricius) ที่อาศัยอยู่ในบริเวณทางตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐโอไฮโอ ประเทศสหรัฐอเมริกา [1] Moreira et al. [2] ศึกษาสัณฐานวิทยาและจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของต่อ 3 ชนิด ได้แก่ *Trypoxylon lactitarse* (Sausure), *T. rogenhofrei* (Kohl) และ *T. aurifrons* (Shuckard) นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษากการเสื่อมของโครงสร้างอวัยวะ (testes degeneration) ของมดงานชนิด *Gnamptogenys bicolor* [3]

สำหรับผีเสื้อหนอนกระทู้น้ำ *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) (Pieridae: Lepidoptera) ซึ่งจัดเป็นผีเสื้อในกลุ่มแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะต่อพืชในตระกูลถั่ว (วงศ์ Fabaceae) [4], [5], [6] ถึงแม้ว่ามีรายงานการศึกษาจุลกายวิภาคของระบบต่างๆ ไว้หลายฉบับ ทั้งระบบสืบพันธุ์ [7] ทางเดินอาหารส่วนกลางและส่วนท้าย (Pool-presert et al., in progress) โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ในระบบประสาท [8] แต่มีได้ครอบคลุมระบบท่อในร่างกาย งานวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาดูเนื่องโดยการวิเคราะห์ความแตกต่างด้านจุลกายวิภาคของระบบท่อในร่างกาย บริเวณส่วนนอก ซึ่งใช้จำนวนเส้นขนเป็นหลักเกณฑ์แบ่งออกเป็น 2 บริเวณคือ เส้นขนที่มีลักษณะเป็นเส้นเดี่ยวและกระจุก ด้วยเทคนิคทางด้านจุลกายวิภาค (histological analysis) ข้อมูลที่ได้นอกจากจะทำให้เข้าใจในโครงสร้างของระบบท่อในร่างกายอย่างชัดเจน แต่ยังช่วยเพิ่มข้อมูลในระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ของผีเสื้อชนิดนี้ในประเทศไทยอีกด้วย

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้น้ำ *C. pomona* ตัวเต็มวัยจำนวน 30 ตัว ในเขตพื้นที่ธรรมชาติบริเวณจังหวัดเชียงใหม่ (ครอบคลุมอำเภอฝางและจอมทอง) และจังหวัดพิษณุโลก (ครอบคลุมอำเภอเมือง และวังทอง) ขนาดความยาววัดตั้งแต่หัวถึงส่วนท้ายของลำตัวอยู่ระหว่าง 5-7

เซนติเมตร ตัวอย่างเก็บระหว่างเดือนตุลาคมถึงธันวาคม 2555 สลบผีเสื้อทั้งหมดด้วยการแช่ในแข็ง (rapidly cooling shock) และเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อใน Davidson's fixative ประมาณ 36-48 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง ผ่านกระบวนการมาตรฐาน paraffin method หลังจากนั้นนำ paraffin block มาตัดแผ่นบาง (sections) ด้วยความหนาประมาณ 6-8 ไมโครเมตร และย้อมสี hematoxylin และ eosin (H&E) ตามวิธีมาตรฐาน [9][10] ท้ายสไลด์นำเอาสไลด์ทั้งหมดมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope, LM) วิเคราะห์ผลและถ่ายภาพ ตามลำดับ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิเคราะห์โครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบท่อในร่างกาย บริเวณส่วนหัวและส่วนท้ายของผีเสื้อหนอนกระทู้น้ำ โดยใช้เทคนิคทางจุลกายวิภาคและย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย H&E สามารถจำแนกรายละเอียดและองค์ประกอบของเนื้อเยื่อได้อย่างชัดเจน เป็นที่ทราบกันดีว่าระบบนี้ในแมลงทั่วไป ประกอบด้วยชั้นต่างๆ ของคิวติเคิลที่มีการจัดเรียงอย่างเป็นระบบ หน้าที่หลักของระบบนี้คือ การควบคุมการสูญเสียน้ำ (water loss) [11] สำหรับในผีเสื้อหนอนกระทู้น้ำ โครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบท่อในร่างกายบริเวณส่วนนอก สามารถแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะพิจารณาจากจำนวนเส้นขนเป็นหลักกล่าวคือ ระบบท่อในร่างกายแบบเส้นขนที่มีลักษณะเป็นเส้นเดี่ยวและแบบเส้นขนเป็นกระจุก ซึ่งในบริเวณส่วนนอกนี้ไม่พบบริเวณใดที่ไม่มีขนปกคลุม โดยผลการศึกษาทั้งหมดมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

โครงสร้างจุลกายวิภาคของเส้นขนที่มีลักษณะเส้นเดี่ยว เส้นขนในบริเวณนี้มีความกว้างและความยาวประมาณ 2-4 ไมโครเมตร และ 400 ไมโครเมตร แต่ละเส้นพบว่าบริเวณส่วนต้นมีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายเส้นด้ายที่ต่ออยู่กับเส้นขนที่มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเป็นแผ่นคล้ายใบไม้ บริเวณฐานของเส้นขนมีองค์ประกอบและโครงสร้างหลักทั้งหมดจำนวน 2 ชั้น คือ ชั้นคิวติเคิล (cuticular layer) และชั้นหนังกำพร้า (epidermis layer) ชั้นคิวติเคิลยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชั้นย่อยคือ ชั้นผิวนอก (epicuticle) เป็นชั้นที่อยู่นอกสุดที่ปกคลุมโครงสร้างภายนอกของส่วนนอก มีลักษณะเป็นแผ่นสีดำ (ภาพที่ 1A) และเป็นชั้นที่หนาที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นอื่นๆ โดยที่แผ่นสีดำเหล่านี้เกิดจากการสร้างองค์ประกอบที่มีลักษณะอ่อนจากภายในออกมาถึงบริเวณภายนอกและต่อจากนั้นค่อยๆ แข็งตัวหรือที่เรียกกระบวนการว่า tanning process แล้วจับกับพวก

คาร์โบไฮเดรตหลักคือ ไคติน (chitin) ชั้นถัดมาคือ ชั้นโปรคิวติเคิล (procuticle) ที่สามารถแบ่งย่อยออกได้อีก 2 ชั้น คือ ชั้นกลางของคิวติเคิล (exocuticle) เป็นชั้นที่รองรับชั้นผิวคิวติเคิล ที่ติดสีแดงของ eosin อย่างเห็นได้ชัดเจน และท้ายสุด คือ ชั้นล่างคิวติเคิล (endocuticle) เป็นชั้นบางที่สุดและแนบติดอยู่กับชั้นหนังกำพร้า โดยชั้นหนังกำพร้านี้ประกอบด้วยเซลล์เอพิเดอมาล (epidermal cells) เป็นหลักและจำนวนมาก ทั้งนี้ผู้วิจัยก็คาดว่ายังมีเซลล์ชนิดอื่นๆ เป็นองค์ประกอบด้วย แต่ในระดับจุลทรรศน์แบบใช้แสงเป็นการยากที่จะแยกแยะได้อย่างชัดเจน เพียงแต่สังเกตเห็นได้ว่าเซลล์เอพิเดอมาล มีนิวเคลียสมีรูปร่างกลมหรือรี ติดสีน้ำเงินเข้มอย่างชัดเจน ถูกวางอยู่บนชั้นเบสเมมเบรน (basement membrane) โดยระบบท่อหุ้มร่างกายชนิดนี้ถูกรองรับด้วยชั้นกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) ที่ขนานไปกับลำตัวของผีเสื้อหอนอนอุณหภูมิต่ำ

สำหรับโครงสร้างจุลกายวิภาคที่มีลักษณะเส้นขนเป็นกระจุก มีโครงสร้างที่แตกต่างจากลักษณะเส้นเดี่ยวอย่างชัดเจน กล่าวคือ มีความกว้างและความยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร และ 700 ไมโครเมตร แต่ละเส้นมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย บริเวณฐานของเส้นขนไม่พบชั้นผิวคิวติเคิล แต่พบชั้นโปรคิวติเคิลที่ไม่สามารถแยกแยะได้เป็นชั้นกลางและล่างคิวติเคิล โดยชั้นโปรคิวติเคิลวางอยู่เหนือชั้นหนังกำพร้า ในรายละเอียดพบว่าชั้นหนังกำพร้าในผีเสื้อหอนอนอุณหภูมิต่ำสามารถแยกแยะองค์ประกอบของชนิดเซลล์ถึง 4 ชนิด โดยพิจารณาจากตำแหน่ง รูปร่างและขนาด ได้แก่ เซลล์เอพิเดอมาล tomogen cell sensory cell และ trichogen cell ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่า เซลล์เอพิเดอมาลมีลักษณะเช่นเดียวกันโครงสร้างจุลกายวิภาคที่มีลักษณะเส้นเดี่ยว trichogen cell เซลล์ชนิดนี้อยู่แนบชิดกับเส้นขน มีนิวเคลียสยาว (elongated nucleus) ติดสีน้ำเงินเข้ม ล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมติดสีชมพูอย่างชัดเจน tomogen cell มักพบบริเวณใกล้กับเส้นขน (sucket) นิวเคลียสติดสีน้ำเงินรูปร่างกลม และถูกล้อมด้วยไซโตพลาสซึมติดสีชมพูจาง และในการศึกษาค้างนี้บางบริเวณของเส้นขนยังสามารถพบเซลล์ที่มีขนาดเล็กมากแทรกตัวอยู่ เซลล์ชนิดนี้คือ sensory cell หรือเซลล์นิวรอน (neuron cell) ซึ่งมีนิวเคลียสเล็กและกลม แต่ไม่สามารถแยกขอบเขตเซลล์ได้อย่างชัดเจน ดังที่ทราบกันดีว่า เซลล์นี้มีหน้าที่โดยตรงสำหรับส่งกระแสประสาทผ่าน cytoplasmic process (แอกซอนและเดนไดร) ไปยังระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) ดังนั้นจากการศึกษาค้างนี้ช่วยยืนยันว่าเส้นขน (sensory setae) เหล่านี้ในผีเสื้อชนิดนี้มี

เซลล์นิวรอนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการรับความรู้สึก (sensory organ) [11].

สรุปและเสนอแนะ

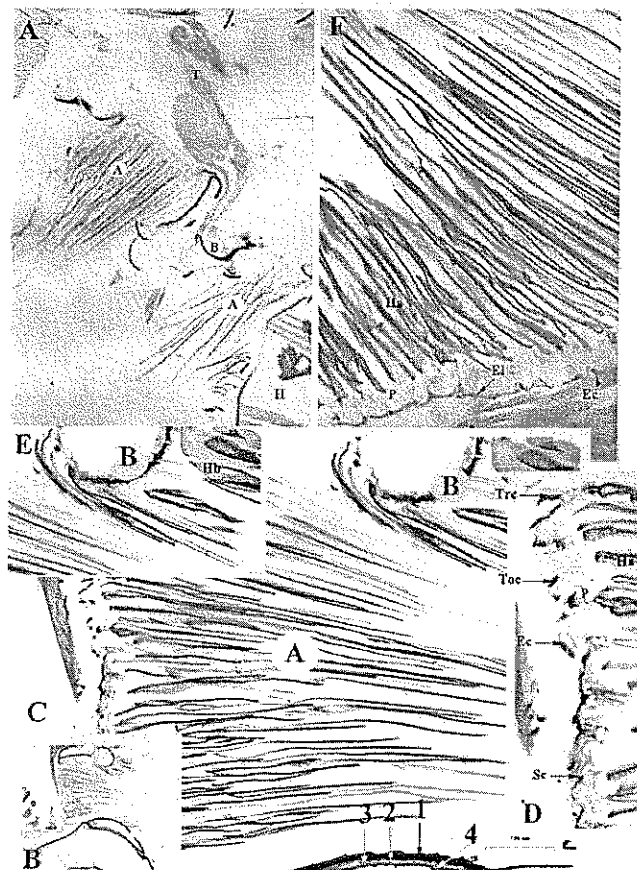
จากการศึกษาค้างนี้ แสดงถึงความแตกต่างของจุลกายวิภาคของระบบท่อหุ้มร่างกายที่สามารถพบได้ในส่วนของอกของผีเสื้อหอนอนอุณหภูมิต่ำ ถึงแม้ว่าตามความแตกต่างของโครงสร้างดังกล่าวหรือแม้กระทั่งหน้าที่ของเส้นขนของทั้งสองบริเวณก็ยังไม่มีงานวิจัยใดๆ ที่อธิบายความแตกต่างในเชิงหน้าที่ได้ชัดเจน แต่ผลจากการศึกษาค้างนี้จัดเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ทำให้เข้าใจถึงชีววิทยาของผีเสื้อชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น และยังสามารถนำเอาข้อมูลไปสู่การศึกษาเชิงลึกต่อไปในอนาคต โดยเฉพาะการศึกษาโครงสร้างละเอียด (ultra-structure) ของเซลล์ในบริเวณระบบท่อหุ้มร่างกายแบบเส้นขนมีลักษณะเรียงเป็นเส้นเดี่ยวและกระจุก

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร. อุ่น ลีวานิช และคุณแสงอรุณ วังสุข ที่สนับสนุน แนะนำและให้ความรู้ที่มีคุณค่าเกี่ยวกับผีเสื้อชนิดนี้ หน่วยวิจัยสัตว์น้ำ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่อนุเคราะห์อุปกรณ์สำหรับการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างโครงสร้างจุลกายวิภาคที่มีลักษณะเส้นขนเส้นเดียวและเป็นกระจุก

ชั้น	โครงสร้างจุลกายวิภาค	
	ขนเส้นเดียว	ขนเป็นกระจุก
ลักษณะของเส้นขน	เรียงกันเป็นเส้นเดียว	รวมกันเป็นกระจุก
ความกว้างและความยาวเส้นขน	2 - 4 ไมโครเมตร และ 400 ไมโครเมตร	2 ไมโครเมตร และ 700 ไมโครเมตร
รูปร่างของเส้นขน	เป็นแผ่นคล้ายเส้นด้ายบริเวณส่วนต้นและต่อกับเส้นขนที่มีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายขนนก	คล้ายเส้นด้าย
ชั้นคิวติเคิล	พบชั้นคิวติเคิลทั้ง 3 ชั้นคือ ชั้นผิว กลางและล่างคิวติเคิล	ไม่พบชั้นผิวคิวติเคิล แต่พบชั้นโปรคิวติเคิล
องค์ประกอบของเซลล์	เซลล์เอพิเดอร์มิส	เซลล์เอพิเดอร์มิส tomogen cell, sensory cell และ trichogen cell



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบห่อหุ้มร่างกาย (A-F) ภาพตัดตามยาวของระบบห่อหุ้มร่างกายที่แตกต่างของระบบห่อหุ้มร่างกายแบบเส้นขนมีลักษณะเรียงเป็นและกระจุก (บริเวณ A) และเส้นเดียว (บริเวณ B) (1 = epicuticle, 2 = exocuticle, 3 = endocuticle, 4 = epidermal layer (EI), Ec = epidermal cell, H = head, Ha = several hairs, Hb = single hair, P = procuticle, Sc = sensory cell, T = thorax, Toc = tomogen cell, Trc = trichogen cell)

เอกสารอ้างอิง

- [1] Mattingly, H.E. 1938. "The Morphology of the Alimentary Tract of the Blister Beetle, *Epicauta pennsylvania*, Deg. (Coleoptera: Meloidae)". *The Ohio Journal of Science*. 38: 251-263.
- [2] Moreira, P.A., Araujo, V.A., Zama, A. and Lino-neto, J. 2008. "Morphology of male reproductive system in three species of *Trypoxylon* (*Trypargilum*) Richards (Hymenoptera: Crabronidae)". *Systematics, Morphology and Physiology*. 37: 429-435.
- [3] Allard, D., Ito, F., Aikawa, Y., Gotoh, A., and Billen, J. 2011. "Histology of structures used in territorial combat by Borneo's exploding ants". *Acta Zoologica*. 92: 372-376.
- [4] Fabricius. J.C. 1775. "Systema entomologiae, sistens insectorum classes, ordines, genera, species *adiectis synonymis, locis, descriptionibus, observationibus*". *Flensburgi, Lipsiae, (Kort)*. 1-832.
- [5] Ek-Amnuay P. 2006. *Butterflies of Thailand* (2nded). Bangkok: Baan Lae Suan.
- [6] สุทัศน์ สุบินประเสริฐ. 2552. "อิทธิพลของสภาพภูมิอากาศและสีของดอกต้นหางนกยูงไทย *Caesalpinia polcherrima* (Leguminosae) ต่อการบินของผีเสื้อหนอนกุน *Catopsilia* spp. (Pieridae)". *วารสารวิจัยรามคำแหง*. 12: 58-56.
- [7] ปิยนุช ทองจิ้น, แสงเดือน กลิ่นรอด, พิชัย พูลประเสริฐ, วชิพร เย็นฉ่ำ, ศิลป์ชัย เสนารัตน์ และนราธิป จันทร์สวัสดิ์. 2557. "จุลกายวิภาคและมีนุษเคมีของระบบสืบพันธุ์ผีเสื้อหนอนกุนธรมดา". *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*. 22: 23- 33.
- [8] ศุภลักษณ์ สุ่มแซม, ศิลป์ชัย เสนารัตน์ และ พิชัย พูลประเสริฐ. 2557. "โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ในระบบประสาทของผีเสื้อหนอนกุนธรมดา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758)". *บทคัดย่อ งานประชุมวิชาการอนุกรมวิธานและชีวสัทศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 4* หน้า 220-221.
- [9] Humason, G.L. 1979. *Animal Tissue Techniques* (4th ed.). San Francisco : Freeman.661 pp.
- [10] Bancroft, J.D. and Gamble, M. 2002. *Theory and Practice of Histological Techniques* (5th ed.). Churchill Livingstone: London. 800 pp.
- [11] Gullan, P.J.; Cranston, P. S. 2004. *The insects: an outline of entomology* (3rd ed.). Blackwell Publishing: Ltd,Victoria.