

จุลกายวิภาค และจุลกายวิภาคเคมีบางระบบของตัวงน้ำมัน
***Epicauta waterhousei* (Haag-Rutenberg, 1880) เพศเมีย ส่วนท้าย**
Identification of Abdominal Organs of Female Blister Beetles, *Epicauta waterhousei*
by Histology and Histo-chemistry

กาญจนา ลังกางค์¹, ศิลปชัย เสนารัตน์², นราธิป จันทรสวัสดิ์³, ปิยากร บุญยัง⁴ และพิสิษฐ์ 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

การศึกษาโครงสร้างพื้นฐานจุลกายวิภาคอวัยวะต่างๆ ภายในตัวแมลงทำให้เข้าใจถึงชีววิทยาพื้นฐาน ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาตัวงน้ำมัน *Epicauta waterhousei* มาก่อน ดังนั้นในการศึกษารังนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครงสร้างจุลกายวิภาคและจุลกายวิภาคเคมีของตัวงน้ำมัน โดยใช้เทคนิคทางด้านจุลกายวิภาค ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่า ระบบห่อหุ้มประกอบด้วย 3 ชั้นคือ ชั้นผิวนอก (epicuticle) ชั้นนอก (exocuticle) และชั้นใน (endocuticle) ที่ปกคลุมภายนอกทั้งหมด ระบบขับถ่ายประกอบด้วยท่อมัลพิกิเยน (malpighian tubules) ที่เซลล์บุผิวจัดเรียงแบบรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) และมีกบรจอยูภายในเนื้อเยื่อไขมัน ระบบหายใจประกอบด้วยรูหายใจ (spiracle tubules) และท่อลม (trachea) เซลล์บุผิวทั้งสองอวัยวะจัดเรียงแบบแบนบาง ชั้นเดียว (simple squamous epithelium) พบหลักไต่บริเวณใกล้ผนังลำตัว ระบบประสาทสามารถพบได้แค่ 3 ปม แต่ละปมจะประกอบด้วย 2 ชั้นคือ ชั้นนอก (cortex) และชั้นใน (medullar) โดยชั้นนอกสามารถจำแนกเซลล์ที่พบได้ 3 เซลล์คือ เซลล์นิวโรเซครีทอรี (neurosecretory cells) เซลล์ประสาทค้ำจุน (neuroglia) และเซลล์ประสาท (neuron) สำหรับระบบสืบพันธุ์ รังไข่ถูกจัดเป็นแบบมีเซลล์ฟี่เลี้ยง (meroistic ovariole) ส่วนโครงสร้างรังไข่ ระยะเซลล์สืบพันธุ์ และท่อสืบพันธุ์ สามารถพบได้ในการศึกษารังนี้

คำสำคัญ: จุลกายวิภาค จุลกายวิภาคเคมี ตัวงน้ำมัน พิษณุโลก

Abstract

Basic histology of organ systems is essential for fundamental insect biology but a histology report regarding the organ system of *Epicauta waterhousei* is not presently available. The aim of this study was to examine the structure of some of the organs of *E. waterhousei* using histological analysis. Under light microscopy, the histological characteristics revealed that the integument system was covered by three layers, epicuticle, exocuticle, and endocuticle. The urinary system had malpighian tubules as simple cuboidal epithelium and tracheal embedded in adipose tissue. The respiratory system was composed of spiracles and trachea as simple squamous epithelium and was mainly found near the integument. This study found that the nervous system had three ganglia. Each ganglion consisted of two layers, an outer cortex and an inner medullar. The cell types of cortex were classified into three types based on size and histological characterization, neuro-secretory cells, neuroglia, and neuron. Study of the reproductive system resulted in the ovary being classified as a meroistic ovariole type. Ovarian structure, oogenic stages, and ovarian ducts were also present.

Keywords: Histology: Histo-chemistry: *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 เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ในปัจจุบันแมลงชนิดนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งมักกัดกินใบและดอกจนก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยเฉพาะพืชในตระกูลถั่ว [2], [3], [4] นอกจากนี้ยังสามารถปล่อยสารพิษที่มีชื่อว่า แคนทาริดิน (cantharidin) ซึ่งหากสัมผัสกับผิวหนังของมนุษย์ทำให้เป็นผื่น พุพอง ปวดแสบปวดร้อนบริเวณผิวหนังและหากรับประทานอาจทำให้เสียชีวิตได้ [2], [5]

รายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าด้วงน้ำมันในสกุลนี้มักศึกษาโดยเน้นด้านนิเวศวิทยา พฤติกรรมและกายวิภาคภายนอกเป็นหลัก [2], [6] ในขณะที่การศึกษาระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ก็พอมีรายงานอยู่บ้าง แต่ส่วนใหญ่เป็นเอกสารในต่างประเทศ อาทิ Everly [7] ทำการศึกษาจุลกายวิภาคของระบบทางเดินอาหารในด้วงน้ำมัน *E. canerea* ทางตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐโอไฮโอ ประเทศสหรัฐอเมริกา เช่นเดียวกับ Mattingly [8] ศึกษาสัณฐานวิทยาและจุลกายวิภาคของระบบทางเดินอาหารของด้วงน้ำมัน ชนิด *E. pennsylvanica* นอกจากนี้ Gerber et al. [9] ยังได้ทำการศึกษาโครงสร้างทางกายวิภาค จุลกายวิภาค และสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียของด้วงน้ำมันชนิด *Lytta nuttalli* อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทบทวนเอกสารเกี่ยวกับโครงสร้างด้วงน้ำมัน *E. waterhousei* ในประเทศไทยกลับไม่มีรายงานฉบับปัจจุบัน

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการพัฒนาและวิจัยด้านจุลกายวิภาคของด้วงน้ำมันชนิดที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคด้านจุลกายวิภาค (histological analysis) วัตถุประสงค์ของการศึกษารังนี้เพื่อศึกษาและตอบคำถามจุลกายวิภาคพื้นฐานของด้วงน้ำมันชนิด *E. waterhousei* บริเวณส่วนท้าย ซึ่งเป็นพื้นที่ส่วนใหญ่ของแมลง ข้อมูลที่ได้ไม่เพียงช่วยให้เข้าใจและทราบถึงโครงสร้างระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ของด้วงชนิดนี้ แต่ยังสามารถนำไปสู่การสร้างความรู้ที่ถือว่าเป็นรายงานอ้างอิงทางวิชาการฉบับแรกของประเทศไทย นอกจากนี้คาดว่าจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับ

เปรียบเทียบกับด้วงน้ำมันชนิดใกล้เคียง และเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้อง อาทิ แมลงทางการแพทย์ และการแพทย์ และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

สุมเก็บตัวอย่างด้วงน้ำมันดำแถบขาว *Epiauta 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 Humason. [10] และ Bancroft และ Gamble. [11] นำ paraffin block ของเนื้อเยื่อไปตัด section ด้วยเครื่อง rotary microtome ที่ความหนาประมาณ 5-7 ไมโครเมตร แล้วนำ section ที่ได้อัดบนสไลด์ทั้งหมด แล้วนำไปย้อมสี hematoxylin & eosin (H&E) และ periodic-acid Schiff (PAS) ตามวิธีมาตรฐาน [10], [11] ตรวจสอบโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง (LM) ถ่ายภาพและวิเคราะห์ผล

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการย้อมสีเนื้อเยื่อบริเวณส่วนท้ายของด้วงน้ำมัน มืองค์ประกอบของระบบเนื้อเยื่อและอวัยวะที่หลากหลาย ด้วย hematoxylin & eosin (H&E) และ periodic-acid Schiff (PAS) แต่อย่างไรก็ตามจากการทบทวนเอกสารพบว่า การศึกษาทางจุลกายวิภาคน้อยมากในแมลงกลุ่มด้วงน้ำมัน ดังนั้นรายงานครั้งนี้จึงเปรียบเสมือนการสร้างองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญเป็นอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย จากการศึกษาครั้งนี้สามารถแสดงโครงสร้างของระบบต่างๆ ดังนี้

3.1 ผนังลำตัว (integument) และเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (muscular tissue)

โครงสร้างผนังลำตัวประกอบด้วยชั้นผิวนอก (epicuticle) ที่ปกคลุมโครงสร้างภายนอกตัว มีลักษณะเป็นแผ่นสีดำ เป็นชั้นนอกที่บางมีขี้ผึ้งเคลือบ ชั้นนอก (exocu-

title) (ภาพที่ 1A) และมักมีเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) แทรกและยึดให้แนบติดอยู่กับลำตัว และชั้นใน (endocuticle) ซึ่งชั้นนอกและชั้นในรวมเรียกว่า procuticle เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers) และรวมกันก็จะกลายเป็นกล้ามเนื้อกลุ่มใหญ่ (muscle bundle) เมื่อตัดกล้ามเนื้อตามยาว (longitudinal sections) กล้ามเนื้อลายจะสังเกตเห็น myofibril 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) สอดคล้องกับการรายงานของการศึกษาจุลกายวิภาคกล้ามเนื้อของแมลงทั่วไป อาทิเช่น กลุ่ม แมลงป่นใบ [12] นอกจากนี้ยังพบกล้ามเนื้ออีกชนิดหนึ่งคือ กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) ซึ่งค่อนข้างแยกจากกล้ามเนื้อลายได้ยาก มักแทรกอยู่บริเวณผนังของอวัยวะภายในที่เป็นระบบท่อ เช่น บริเวณผนังทางเดินอาหาร ที่ประกอบด้วย เซลล์รูปกระสวยยาวๆ มาเรียงต่อเป็นแถบของเส้นใยกล้ามเนื้อ มีนิวเคลียสรูปยาว ติดสีน้ำเงิน

3.2 ระบบขับถ่าย (urinary system) และเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue)

อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบขับถ่ายคือท่อมัลพิเกียน (mulphigian tubules) ที่ถูกศึกษาและมีรายงานไว้มากมาย ทั้งในระดับมหากายวิภาค จุลกายวิภาคและสรีรวิทยาของแมลงหลายกลุ่ม [13], [14], [15], [16] โดยโครงสร้างมหากายวิภาคพบเชื่อมต่อยู่ระหว่างทางเดินอาหารส่วนกลางและท้าย เช่นเดียวกับรายงานของ Lacome, [12] และเมื่อศึกษาด้านจุลกายวิภาค ท่อนี้ประกอบด้วยเซลล์บุผิวรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) วางอยู่บน peritoneal membrane ในขณะที่การทบทวนเอกสารโดยติดตามศึกษาโครงสร้างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (transmission electron microscope, TEM) พบว่าภายในเซลล์บุผิวประกอบด้วยไมโทคอนเดรียจำนวนมาก และหน้าที่ของระบบนี้ เกี่ยวข้องกับการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย [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 ภายในไซโตพลาสซึมสังเกตเห็นได้ว่าถูกบรรจุด้วยเม็ดไขมันจำนวนมาก (ภาพที่ 2A-2C)

3.3 ระบบหายใจ (respiratory system)

อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบนี้ ได้แก่ spiracle tubules ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปและมักหนาแน่นอยู่บริเวณใกล้ผนังลำตัว เมื่อศึกษาด้านจุลกายวิภาคพบว่า ท่อนี้บุด้วยเซลล์บุผิวรูปแบนบาง ชั้นเดียว (simple squamous epithelium) วางอยู่บน peritoneal membrane (ภาพที่ 2A, 2C) โครงสร้างเซลล์ที่เป็นลักษณะแบนบาง สามารถอธิบายในแง่ทางสรีรวิทยาได้ว่า ทำให้แลกเปลี่ยนแก๊สได้เร็วขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาในแมลงหลายชนิด ดังเช่น กลุ่มแมลงป่นใบสกุล *Embia* เช่น *Embolyntha batesi* [17] [18] [19] นอกจากนี้ยังพบท่อลม (trachea) จัดเป็นระบบแบบสมบูรณ์ (holopneustic system) คล้ายกับแมลงทั่วไป [12] แต่ละท่อลมประกอบด้วยเซลล์บุผิวแบบชั้นเดียว แบนราบ มีลักษณะพิเศษคือ ภายนอกท่อถูกห่อหุ้มด้วย spiral filament ทำให้เห็นเป็นลายอย่างชัดเจน โครงสร้างนี้เรียกชื่อเฉพาะว่า taenidia (ภาพที่ 2B, 2D)

3.4 ระบบประสาท (nervous system)

ระบบประสาทส่วนกลางของตัวง้ำมีลักษณะเป็นปมประสาทส่วนกลาง (ganglia) ทำหน้าที่เหมือนสมองในการควบคุมและสั่งงาน ปมประสาทประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์ประสาทที่มีขนาดแตกต่างกันไป จากรายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่า ปมประสาทจะปรากฏตั้งแต่บริเวณส่วนหัวและกระจายขนานไปกับลำตัว [20] ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเพียง 3 ปม คือ ปมประสาทส่วนท้อง (abdominal ganglia) คู่ที่ 1, 2 และ 3 จากการย้อมสีเนื้อเยื่อปมประสาทเหล่านี้พบว่า แต่ละปมประสาทมีโครงสร้างพื้นฐานไม่แตกต่างกัน ที่ถูกเชื่อมด้วยเส้นประสาท (nerve tract) กล่าวคือ ปมประสาทชั้นใน (inner medulla) ประกอบด้วยเส้นประสาท (nerve fibers) และไม่มีตัวเซลล์ประสาท ติดสีชมพูจาง และปมประสาทชั้นนอก (outer cortex) ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นกล้ามเนื้อเกี่ยวพัน โดยที่เซลล์ในชั้นนี้สามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิด คือ (1) เซลล์นิวโรซีครีทอรี (neurosecretory cells, NS cells) เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่สุด นิวเคลียสรูปร่างกลม ติดสีชมพูจาง ภายในบรรจุนิวคลีโอลัสหนึ่งอัน ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้มที่บรรจุ secretory granules อย่างชัดเจน เมื่อย้อมพิเศษด้วย PAS พบว่า ภายในบรรจุด้วย

เซกรีทอรีแกรนูล (secretory granules) ติดสีชมพูเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 3) โดยเซกรีทอรีแกรนูลที่พบนั้นอาจบรรจุฮอร์โมนที่เซลล์นั้นสร้างขึ้น ดังรายงานสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง รวมถึงกลุ่มหอยฝาเดียว [21] เมื่อพิจารณาจากการศึกษาโครงสร้างละเอียด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (Transmission electron microscopy) ดังเช่น หอย *Lymnaea stagnalis* [21] และ หอย *Helisoma duryi* [22] นอกจากนี้ยังมีการติดตามสาร APG-Wamide ด้วยกรรมวิธีอิมมูโนเคมี (immunocytochemistry) ในปมประสาทของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง อาทิ ในกลุ่มหอยที่ใกล้เคียงกันในแง่วิวัฒนาการ พบว่า ปมประสาทมีปฏิกิริยาอิมมูโนต่อ APG-Wamide โดยหน้าที่ของสารชนิดนี้จัดเป็นสารประกอบกลุ่ม neuropeptide ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญของระบบสืบพันธุ์และพฤติกรรมการหาคู่ผสมพันธุ์ [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 ประกอบด้วยนิวเคลียสกลมล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมสีน้ำเงินจาง ปมประสาทของตัวง้วนน้ำม้นที่พบนั้นมีขนาดของปมประสาทและเซลล์ที่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีโครงสร้างพื้นฐานที่เหมือนกัน โดยแต่ละปมมีรายละเอียด (ภาพที่ 4A-4F) ดังนี้

ปมประสาทปมที่ 1 มีขนาดประมาณ 300 μm มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับปมอีก 2 ปม อยู่เหนือทางเดินอาหารส่วนท้าย ชันนอกพบเซลล์นิวโรซีทรีทอรีแต่มีน้อยมาก (ภาพที่ 4A-4B) ปมประสาทปมที่ 2 มีขนาดประมาณ 350 μm ชันนอกพบเซลล์นิวโรซีทรีทอรีเป็นกระจายตัวอยู่ไม่มากนัก (ภาพที่ 4C-4D) ปมประสาทปมที่ 3 มีขนาดประมาณ 500 μm เป็นปมประสาทที่อยู่ทางตอนท้ายสุด ที่ถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ภายในประกอบด้วยส่วนชันนอกมีเซลล์นิวโรซีทรีทอรีเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปมอื่นๆ (ภาพที่ 4E)

3.5 ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system)

ลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อรังไข่

ตัวง้วนน้ำม้นเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ 2 ข้าง แต่ละข้างจะถูกยึดกับช่องท้องโดยเยื่อเมเซนทารี (mesentery) เซลล์ไข่แต่ละระยะต่างๆ ถูกบรรจุภายใน ovariole บริเวณส่วนปลายของ ovariole จะเปิดรวมกันกลายเป็นท่อนำไข่ (oviduct) ก่อนเปิดออกสู่ช่องคลอด (vagina) เช่นเดียวกับ

การรายงานของ Gerber et al. [9] ที่ได้ศึกษาในตัวง้วนน้ำม้นตัวเต็มวัยชนิด *Lyta nuttalli*

โอวาริโอล (ovarioles) พบว่า บริเวณผนังของโอวาริโอลถูกห่อหุ้มด้วย peritoneal membrane ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อาจมีกล้ามเนื้อเรียบเป็นจำนวนมากแทรกอยู่ด้วย ซึ่งการเจริญและพัฒนาของรังไข่ของตัวง้วนน้ำม้นเป็นแบบ perioistic ovariole ที่ไม่มีเซลล์พี่เลี้ยง (nurse cells) แต่ละโอวาริโอลจะบรรจุด้วย oogonia และ oocytes ระยะต่างๆ ในการศึกษาค้างนี้สามารถจัดแบ่งระยะการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไข่ (oogenesis) ได้เป็น 5 ระยะ โดยพิจารณาจากองค์ประกอบของเซลล์ (cell content) ขนาด (size) และการติดสี (staining properties) แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาค้างนี้ สามารถพบเพียงแค่ 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 เป็นแผ่นติดสีชมพู ส่วน follicular cells จะกลายเป็น low simple columnar epithelium ก่อนเข้าสู่ final maturation (ภาพที่ 5A)

2. Mature stage เซลล์ไข่ระยะนี้ (ประมาณ 650-700 μm)อัดแน่นไปด้วยไข่แดงอยู่เต็มเซลล์ไข่ ไม่พบนิวเคลียสสำหรับ follicular cell ยังคงจะเป็น simple columnar epithelium ซึ่งจะล้อมรอบเป็นชั้น บางๆ ซึ่งการพบระยะนี้แสดงให้เห็นและพิสูจน์ได้ว่า ตัวง้วนน้ำม้นที่สุ่มเก็บมาในเป็นตัวเต็มวัย (ภาพที่ 5B, 5C)

ท่อนำไข่ (ovarian duct)

โครงสร้างของท่อนำไข่ในระบบสืบพันธุ์ของตัวง้วนน้ำม้น มีรายละเอียด ดังนี้ แต่ละท่อนำไข่ (lateral oviduct) ของตัวง้วนน้ำม้น จากภาพตัดตามยาว มีเซลล์บุผิวรูปร่างเซลล์สูง ชั้นเดียว (simple columnar epithelium) (ภาพที่ 5E) โดยเซลล์บุผิวมีการสร้างสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการสร้างสารห่อหุ้มเซลล์ไข่ [9] และมีชั้นกล้ามเนื้อหนาห่อหุ้มที่สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชั้นคือ ชั้นในเป็นกล้ามเนื้อแนวตามขวาง (circular muscular layer) และชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อแนวตามยาว (login-

tudinal muscular layer) ต่อจากนั้นท่อไข่แต่ละข้างจะเปิดและเชื่อมกันกลายเป็นท่อไข่รวม (common oviduct หรือ median oviduct) ซึ่งมีลักษณะการจัดเรียงตัวโครงสร้างเหมือนกับท่อไข่ เพียงแต่ชั้นเยื่อผิวหนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 5F) โดยที่โครงสร้างของท่อไข่และท่อไข่รวมสอดคล้องกับการศึกษาในด้วงน้ำมันตัวเต็มวัยชนิด *L. nuttalli* [9]

3.6 อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ (accessory organ)

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

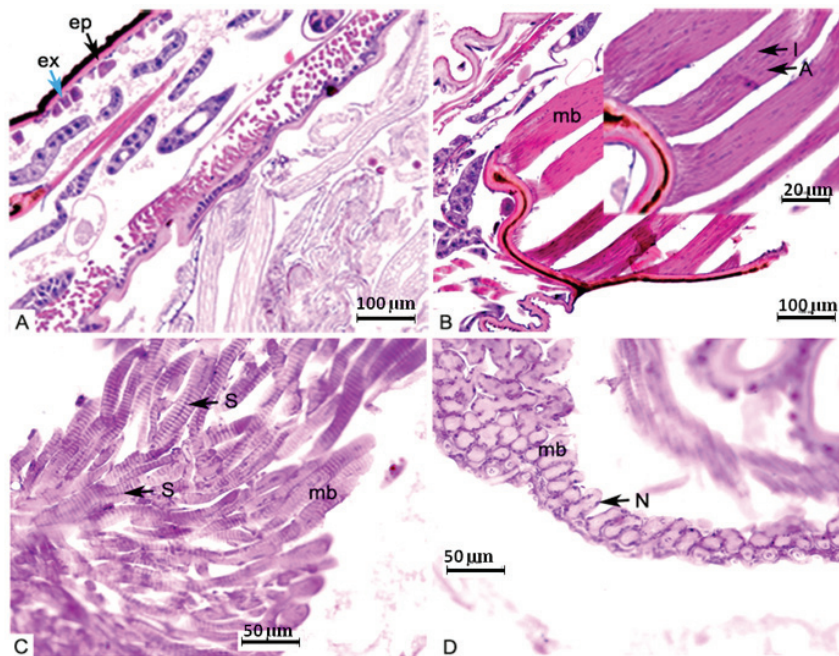
4. สรุปและเสนอแนะ

จากการศึกษาดังนี้ แสดงถึงระบบต่างๆ ที่สามารถพบได้ในส่วนท้ายของด้วงน้ำมัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าบาง

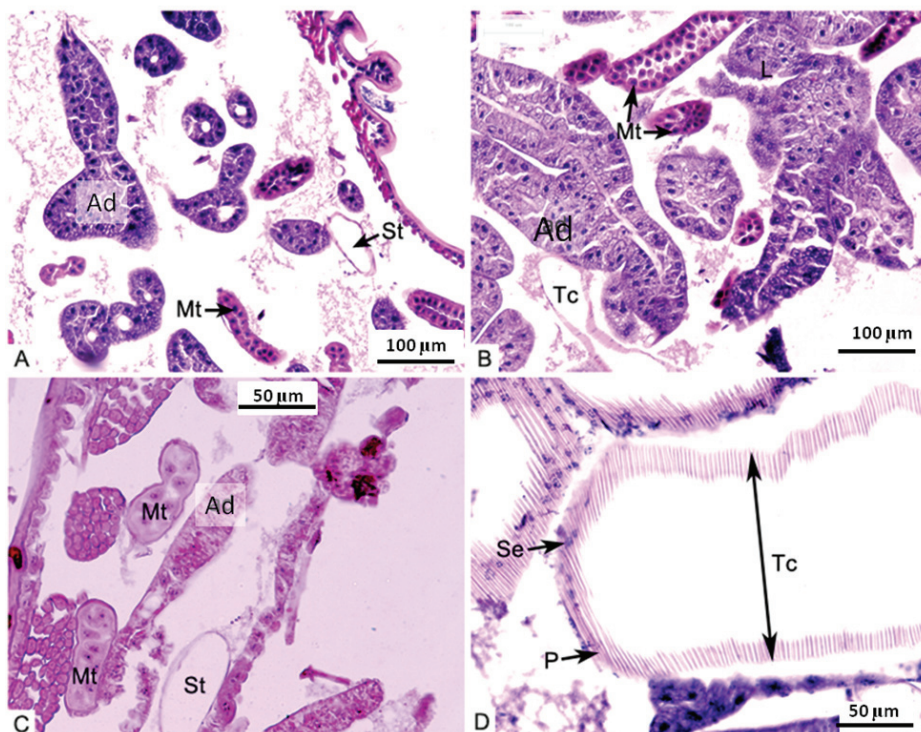
ระบบไม่ปรากฏองค์ประกอบและโครงสร้างครบทั้งหมด เช่น ระบบประสาท และระบบสืบพันธุ์ เพราะการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงแค่วางงานขั้นพื้นฐานที่สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปสู่การศึกษาเชิงลึก ดังนั้นการศึกษาโครงสร้างละเอียด (ultrastructure) อิมมูโนเคมี (immunocytochemistry) ของระบบต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโครงสร้างของต่อมที่สร้างสารพิษแคนทาริดิน ซึ่งต้องทำการศึกษาในอนาคตต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

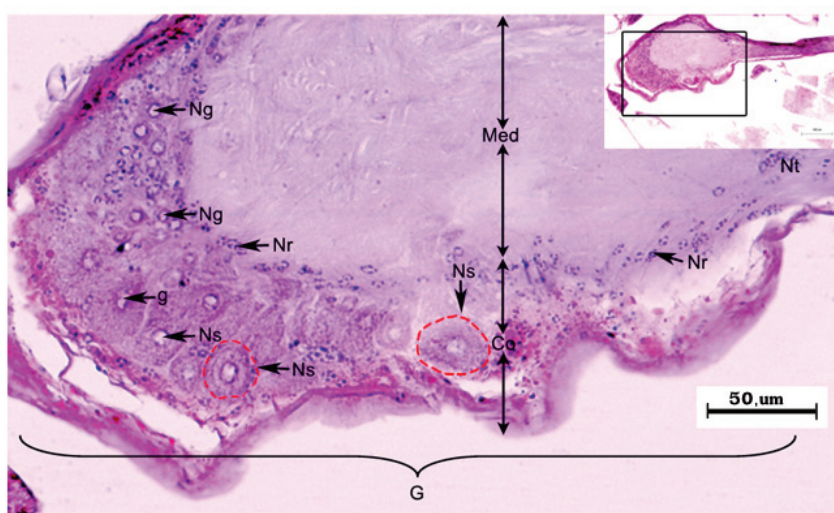
คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร. อุ่น ลีวานิช และคุณแสงอรุณ วังสุข ที่สนับสนุน แนะนำและให้ความรู้ที่มีคุณค่าเกี่ยวกับด้วงน้ำมันชนิดนี้ ห้องปฏิบัติการจุลกายวิภาค ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ช่วยอนุเคราะห์อุปกรณ์สำหรับการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่าง และนางสาวเอสรามงคลชัยชนะ สำหรับการเตรียมรูปภาพต้นฉบับ



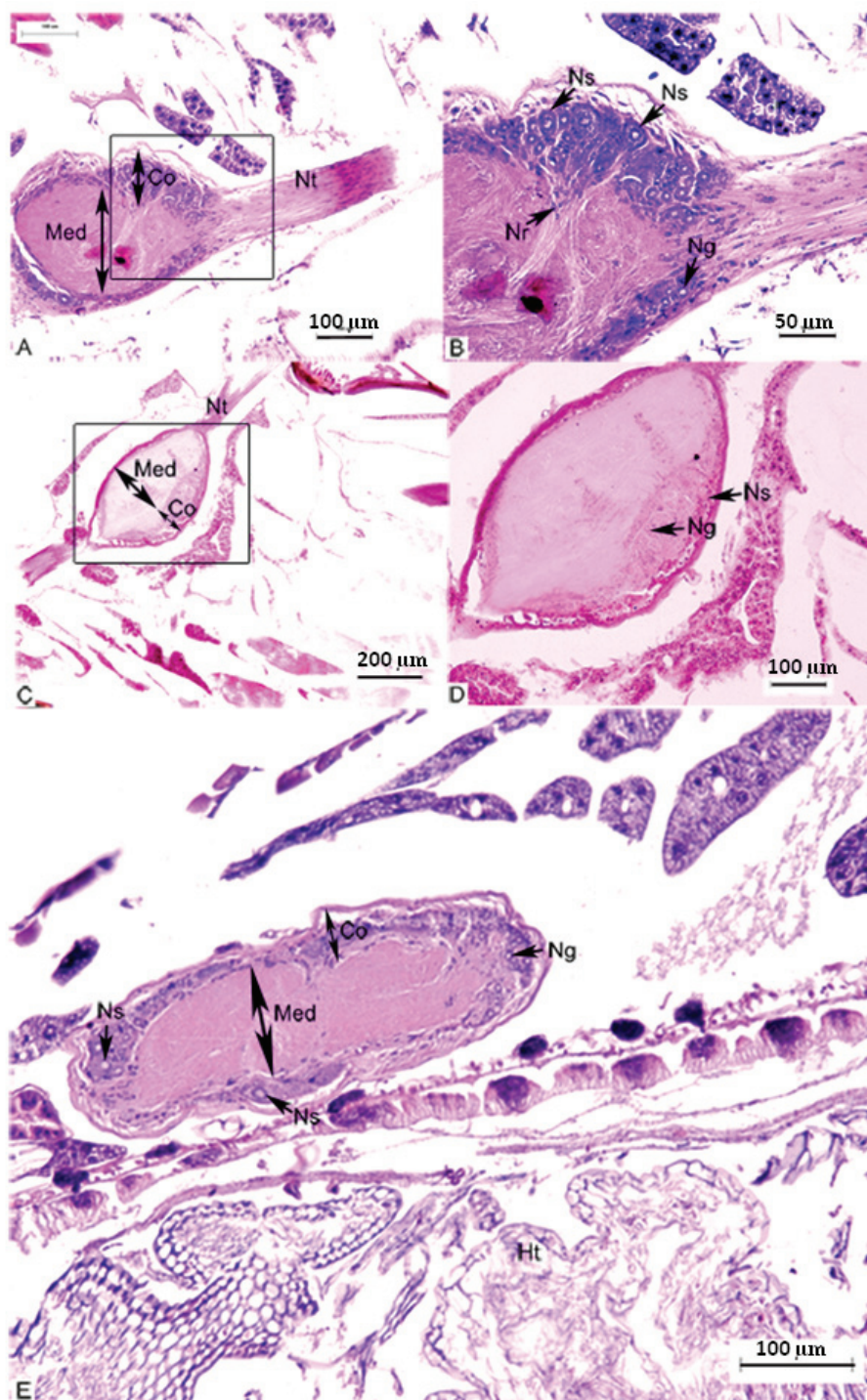
ภาพที่ 1 แสดงผนังลำตัวและเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ; (A) ภาพตัดตามยาวผนังลำตัวบริเวณลำตัว epicuticle (ep) และ exocuticle (ex) ผิวหนัง (H&E); (B-C) ภาพตัดตามยาว บริเวณลำตัวจะเห็นเส้นใยกล้ามเนื้อมีนิวเคลียสอยู่บริเวณขอบ และเห็นแถบที่บของ A-band (A) และแถบไอของ I-band (I) (D) ภาพตัดตามยาวของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลายมีนิวเคลียสอยู่บริเวณขอบของมัดกล้ามเนื้อ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



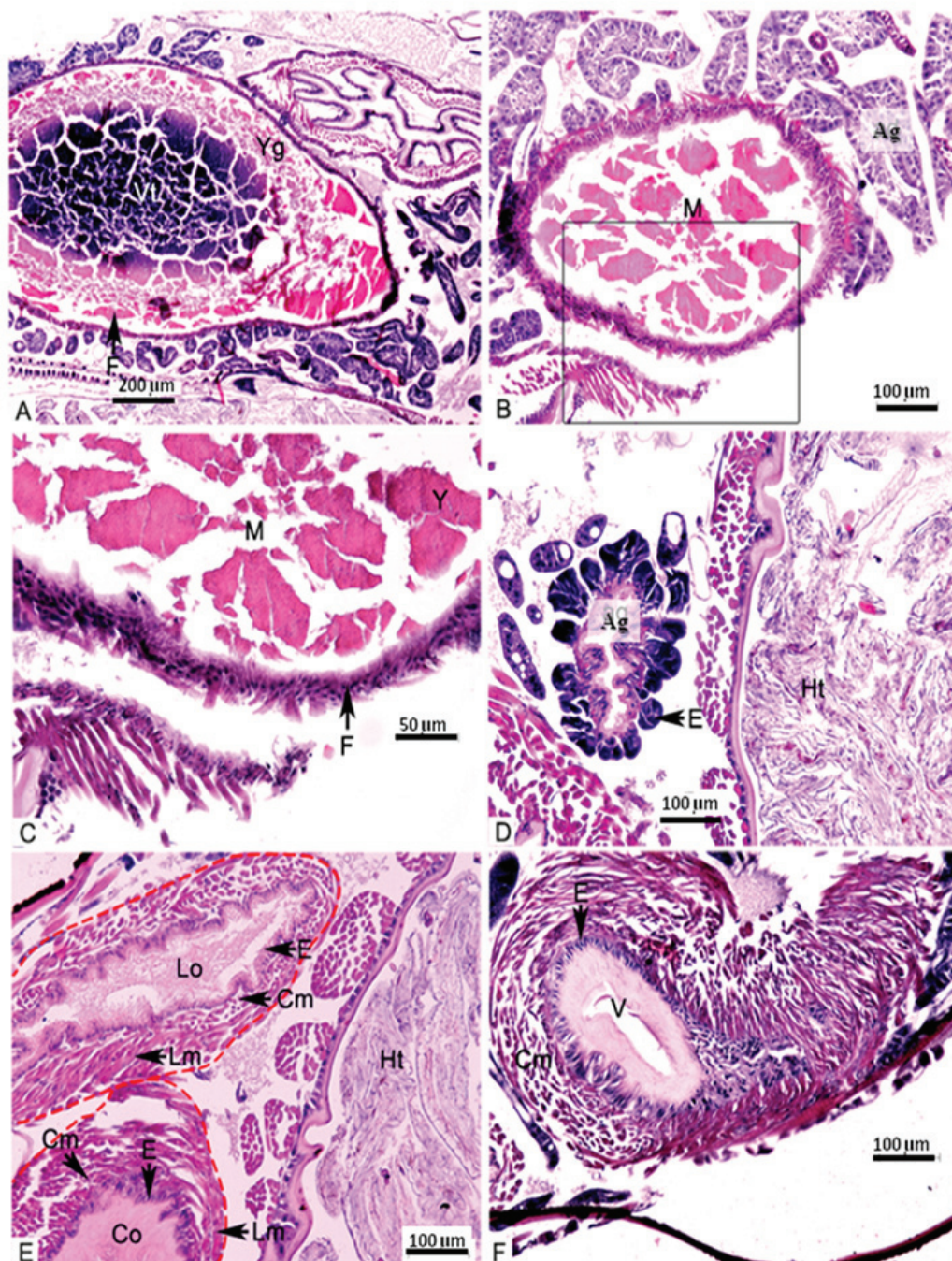
ภาพที่ 2 แสดงระบบขับถ่ายและระบบหายใจ; (A-C) ภาพตัดตามยาวบริเวณ mulphigian tubules แสดงชั้นเซลล์บุผิวเรียงชั้นเดียว รูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ และมีเนื้อเยื่อไขมันแทรกตัวอยู่; (A-C-D) ภาพตัดตามยาวบริเวณ spiracle tubules แสดงชั้นเซลล์บุผิวเรียงชั้นเดียว รูปร่างแบนบาง (A-B-D = H&E, C = PAS) (Ad = adipose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



ภาพที่ 3 แสดงภาพตัดตามยาวของปมประสาท แสดงรายละเอียดของปมประสาท คือ 1. ปมประสาทส่วนใน (Med = inner medulla) (เส้นในประสาท และนิวโรเกลีย) และ 2. ปมประสาทส่วนนอก (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 vitellogenetic (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.
- [2] วิชัย รัตนพรเจริญ และชิตาภา เกตวัลท์. 2522. **Cantharidin**. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 17 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน. รวมเรื่องย่อ. กรุงเทพฯ. หน้า 89.
- [3] อรุณ โสติกกุล และกนก อุไรสกุล, 2527. **ศึกษาระดับความเสียหายของถั่วเหลืองเนื่องจากการทำลายของด้วงน้ำมัน**. รายงานประจำปี. สถาบันวิจัยและฝึกอบรม. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา. ลำปาง. หน้า 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**. สถาบัน วิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข 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)**. Ill. Biol. Monogr. 41. Univ. Ill. Press, Urbana.
- [7] Everly, R.T. 1936. Notes on the Carabidae of Ohio. I, *Tetragonderus fasciatus* Hald., *Bembidium laevigatum* Say, and *Geopinus incrassatus* (Dej.) in Ohio (Coleoptera-Carabidae). Ohio J. Sci. 36, 204-216.
- [8] Mattingly, H.E. 1938. The Morphology of the Alimentary Tract of the Blister Beetle, *Epicauta pennsylvania*, Deg. (Coleoptera: Meloidae). Ohio J. Sci. 38: 251-263.
- [9] Gerber, G.H., Church, N.S. and Rempel, J.G. 1971. The structure, formation, histochemistry, fate and functions of the spermatophore of *Lytta nuttalli* Say (Coleoptera, Meloidae). Can. J. Zool. 49: 1,596-1,610.
- [10] Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Techniques (4th ed.)**. San Francisco: Freeman, USA. 661 pp.
- [11] Bancroft, J.D. and Gamble, M. 2001. **Theory and Practice of Histological Techniques (5th ed.)**. Churchill Livingstone: London. 800 pp.
- [12] Lacome, D. 1971. Anatomy and histology of *Embolyntha batesi* MacLachlan, 1877 (Embiidina). **Instituto Oswaldo Cruz** 6: 331-391.
- [13] Marchal, P. 1890. Sur la vessie des Brachyures. **Mem. Soc. Zool. Fr.** 3: 31-87.
- [14] Marchal, P. 1896. Remarques sur la fonction et l'origine des tubes de Malpighi. **Bull. Soc. Entom. Fr.** 257-258.
- [15] Palm, N.B. 1946. Studies in the peristalsis of the Malpighian tubes in insects. **Ark. Zool.** 3: 195-272.
- [16] Wigglesworth, VB. 1931. The physiology of excretion in a blood-sucking insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). II. Anatomy and histology of the excretory system. **J. Exp. Biol.** 428-442.
- [17] Lacombe, D. 1958. Contribuição ao estudo dos Embiídeos IV. Polimorfismo da sexual região cefálica de *Embolyntha batesi* Mac Lachlan, 1877 (Embiidina, Embiidae). **Mem. do Int. Oswaldo Cruz.** 56: 655-681.
- [18] Grassi, B. 1889. Inrorno al gen. Embia. **Bull mes. Accad. Gioenia Sci. Nat Catania.** 9: 6-8.
- [19] Mukerji, S. 1927. On the morphology and bionomics of *Embia minor*, sp. nov. with special reference to its spinning organ. A contribution to our knowledge of the indian Embioptera. **Rec. Indian Mus.** 29: 253-282.
- [20] Adams, C.L. and Selander, R.B. 1979. The biology of blister beetles of the vittata group of the genus *Epicauta* (Coleoptera, Meloidae). **Bulletin of the AMNH.** 162: 141-266.
- [21] Wendelaar Bonga, S.E. 1970. Ultrastructure and histochemistry of neurosecretory cells and neurohaemal areas in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (L). **Z. Zellforsch.** 108: 190-224.

- [22] Khan, H.R. and Saleuddin, A.S.M. 1992. Neurosecretion of the mediodorsal cells of the central nervous system of the snail *Helisoma duryi*. **Cell Tissue Res.** 268: 131–139.
- [23] Oberdorster, E. and McClellan-Green, P. 2000. The neuropeptide APGWamide induces imposex in the mud snail *Ilyanassa obsoleta*. **Peptide.** 21: 1,323-1,330.
- [24] Oberdorster, E., Romano, J. and McClellan-Green, P. 2005. The neuropeptide APGWamide as a Penis Morphogenic Factor (PMF) in gastropod mollusks. **Integ. Com. Biol.** 45: 28-32.
- [25] Morgan, P.T., Jing, J., Vilim, F.S. and Weiss, K.R. 2000. Interneuronal and peptidergic control of motor pattern switching in Aplysia. **J. Neurophysiol.** 87(1): 49-61.