j 4491

จุลกายวิภาคและมิญชเคมีของระบบสืบพันธุ์ผีเสื้อหนอนคูนธรรมดา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758)

Histology and Histochemistry of *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) Reproductive System

ปิยนุช ทองจีน, แสงเดือน กลิ่นรอด และพิสิษฐ์ พูลประเสริฐ

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

วธิพร เย็นฉ่ำ

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ชีวภาพ ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี 12120

ศิลปชัย เสนารัตน์*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

นราธิป จันทร์สวัสดิ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

Piyanuch Tongjeen, Sengduen Kinrot and Pisit Poolprasert

Program of Biology, Faculty of Science and Technology,

Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

Watiporn Yenchum

Bio Analysis Laboratory, Department of Chemical Metrology and Biometry,

National Institute of Metrology, Pathum Thani 12120

Sinlapachai Senarat*

Department of Marine science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

Naratip Chantarasawat

Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

บทคัดย่อ

ศึกษาโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ผีเสื้อหนอนคูนธรรมดา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) ผลการศึกษาพบว่าอัณฑะของผีเสื้อหนอนคูนเพศผู้ถูกห่อหุ้มด้วย peritoneal membrane ภายในพบหลอดสร้างอสุจิ (sperm tube) จำนวนมาก แต่ละหลอดสามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ germarium และ vitellarium

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** Senarat.S@hotmail.com

โดยที่ vitellarium ประกอบด้วย 3 โซนย่อย ได้แก่ zone of growth, zone of maturation และ zone of transformation ตามลำดับ แต่ละโซนย่อยประกอบด้วยระยะเซลล์สืบพันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยที่ระยะ spermatogonia, spermatocyte และ spermatids มีการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์อยู่ภายในถุงสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (spermatocyst) ยกเว้นระยะ spermatozoa นอกจากนี้ยังพบท่อนำอสุจิ (vas efferens) ท่อนำอสุจิรวม (vas deferens) ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) และต่อมเกื้อกูลเพศ (accessory gland) ที่มีโครงสร้างทางด้านจุลกายวิภาคแตกต่างกัน ส่วนรังไข่ของผีเสื้อเพศเมียจัดเป็นแบบ meroistic ovariole คือมีส่วนของเซลล์พี่เลี้ยง (nurse cells) ภายในรังไข่พบระยะ previtellogenic และ vitellogenic ตามลำดับ นอกจากนี้โครงสร้างของท่อนำไข่ด้านข้าง (lateral oviduct) ท่อนำไข่รวม (common oviduct) และต่อมเกื้อกูลเพศ (accessory gland) โดยเฉพาะถุงเบอร์ซาคอพูลาทริกซ์ (bursa copulatrix) สามารถพบได้ในการศึกษาครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้ทำให้ทราบถึงระบบสืบพันธุ์ของผีเสื้อชนิดนี้ ซึ่งจัดเป็นรายงานวิจัยฉบับแรกของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้ไม่เพียงแต่เป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านการศึกษาเนื้อเยื่อแต่ยังเป็นใช้เพื่อศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตต่อไปได้

คำสำคัญ : เนื้อเยื่อวิทยา; ระบบสืบพันธุ์; ผีเสื้อหนอนคูนธรรมดา

Abstract

Basic histological structure of reproductive system of the pierid butterfly *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) was investigated. For the longitudinal section, the results revealed the testis was surrounded by peritoneal membrane. The parenchyma of each testis was composed of sperm tubes, which were separated into two parts i.e., germarium and vitellarium. Vitellarium can be classified into three distinct zones including growth, transformation and maturation zones. Based on differences structural feature of male's germ cells, spermatogenic stages were included spermatogonia, spermatocytes and spermatids which were synchronously developed, commonly called spermatocyst, except spermatozoa. Vas efferens, vas deferens, seminal vesicle and accessory gland were presented in this study. For the type of ovariole, it is considered as a meroistic ovariole that existed nurse cells. This type was only found in the previtellogenic and vitellogenic stages. Besides, the common and lateral oviducts, common oviduct, accessory gland and bursa copulatrix were also observed. Herein, the results from this precursory histology are speculated as the first report for Thailand in this time. This study will be raised not only the basal knowledge of histological aspect but also will be useful or applied for further research.

Keywords: histology; reproductive system; *Catopsilia pomona*

1. บทนำ

การศึกษาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) ของแมลง เป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มผลผลิตและการ

สงวนรักษาพันธุ์เพื่ออนุรักษ์ในฐานะแมลงทางเศรษฐกิจ หรือการควบคุมป้องกันกำจัดแมลงในฐานะเป็นศัตรูทางการเกษตร จึงมีการนำเอาเทคโนโลยีหรือนวัตกรรมต่าง ๆ ที่ทันสมัย ไม่ว่าจะเป็นการฉีดฮอร์โมนเพื่อการกระตุ้นการตกไข่ การผสมเทียม และการใช้สารเคมีหรือสารสกัดชีวภาพต่าง ๆ ซึ่งวิธีการต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนแล้วแต่ต้องพึ่งพาอาศัยข้อมูลความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับชีววิทยาพื้นฐานโดยเฉพาะระบบสืบพันธุ์ควบคู่กันไปอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ นอกจากจะเป็นความรู้พื้นฐานที่นำไปสู่การศึกษาด้านกีฏวิทยาที่ถูกต้องและชัดเจนแล้ว ยังนำไปสู่การวิจัยประยุกต์ด้านแมลงศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย

ผีเสื้อหนอนคูนธรรมดา *Catopsilia pomona* (Fabricius, 1758) อยู่ในวงศ์ Pieridae ของอันดับ Lepidotera จัดเป็นผีเสื้อที่สำคัญมากชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทยในฐานะแมลงศัตรูพืช เนื่องจากในช่วงพัฒนาของตัวหนอนของการเจริญเติบโต มักกัดกินใบและดอกจนก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิดโดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว (วงศ์ Fabaceae) โดยเฉพาะราชพฤกษ์หรือคูน (*Cassia fistula*) ขี้เหล็ก (*Senna siamea*) ขี้เหล็กเลือด (*Cassia timoriensis*) และชุมเห็ดเทศ (*Senna alata*) [1-3] ทำให้มีการศึกษาค้นคว้าและวิจัยในแง่มุมต่าง ๆ ทั้งอนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาไม่น้อยกว่าผีเสื้อชนิดอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อทบทวนเอกสารที่เกี่ยวกับเนื้อเยื่อวิทยาระบบสืบพันธุ์ของผีเสื้อหนอนคูนธรรมดาแล้วไม่มีรายงาน ดังนั้นจึงต้องทำการวิจัยอย่างเร่งด่วน การศึกษาครั้งนี้จึงทำการวิเคราะห์เพื่อตอบคำถามและทราบถึงโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ในระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ โดยใช้เทคนิคด้านจุลกายวิภาค

2. อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

สุ่มเก็บตัวอย่างผีเสื้อหนอนคูนธรรมดา *Catopsilia pomona* ที่เป็นตัวเต็มวัย (ขนาดความยาวตัวทั้งหมด 6-8 เซนติเมตร) ในพื้นที่เกษตรกรรมจังหวัดพิษณุโลก ลำปาง และเชียงใหม่ ในช่วงเดือนตุลาคม 2555 ถึง มีนาคม 2556 ทำการสลบตัวอย่างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70 % แล้วนำมาเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อใน Davidson's fixative (ประมาณ 36-48 ชั่วโมง) หลังจากนั้นนำมาผ่านกระบวนตามวิธีมาตรฐานด้านจุลกายวิภาค paraffin sections ที่ความหนาประมาณ 6-7 ไมโครเมตร นำไปย้อมสี hematoxylin & eosin (H&E) และ periodic-acid Schiff (PAS) [4,5] ตรวจสอบโครงสร้างจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope, LM) ถ่ายภาพและวิเคราะห์ผล

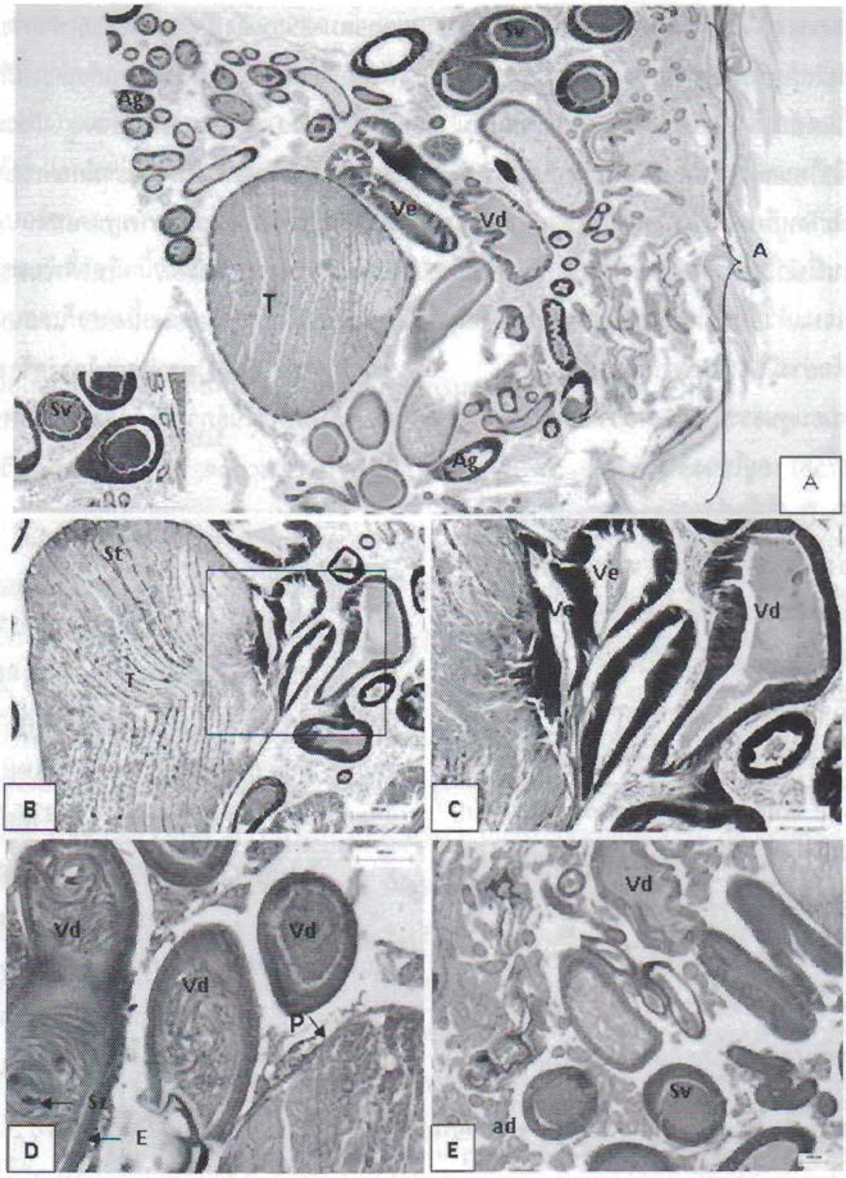
3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

จากการทบทวนเอกสารพบว่าการศึกษาทางจุลกายวิภาคของแมลงในกลุ่มผีเสื้อมีน้อยมาก ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงเปรียบเสมือนการสร้างองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย โดยสามารถแสดงโครงสร้างของระบบต่าง ๆ ได้ดังต่อไปนี้

3.1 จุลกายวิภาคระบบสืบพันธุ์เพศผู้

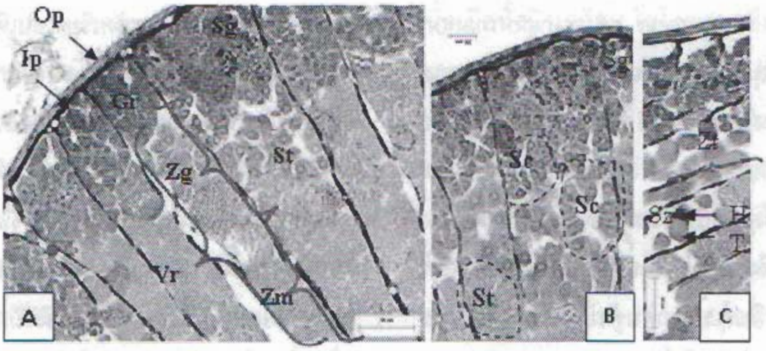
3.1.1 อัณฑะ (testes) รอบนอกของอัณฑะถูกหุ้มด้วยถุงห่อหุ้มอัณฑะหรือ peritoneal membrane (รูปที่1) ที่สามารถแยกออกได้เป็น 2 ชั้นย่อย คือ (1) ถุงห่อหุ้มอัณฑะชั้นนอก (outer peritoneal membrane) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และไฟโบบลาส (fibroblast) และ (2) ถุงห่อหุ้มอัณฑะชั้นใน (inner peritoneal membrane) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีกลุ่มของเม็ดสีน้ำตาลแทรกตัวอยู่ บริเวณชั้นนี้จะยื่นเข้าไปสู่ศูนย์กลางของอัณฑะจนกลายเป็นหลอดสร้างอสุจิ (sperm tubes) จำนวนมาก บริเวณ

ปลายของแต่ละหลอดจะเปิดรวมกันจนกลายเป็นท่อนำอสุจิ (vas efferens) และเชื่อมต่อกันกลายเป็นท่อนำอสุจิรวม (vas deferens) เมื่อย้อมแบบพิเศษพบว่าถุงห่อหุ้มอัณฑะ มีปฏิกิริยาต่อ PAS (ติดสีชมพูเข้ม) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าชั้นนี้มีองค์ประกอบเป็นสารกลุ่มไกลโคโปรตีน



รูปที่ 1 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ : (A-E) ภาพตัดตามยาว แสดงรายละเอียดของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ซึ่งประกอบด้วยอัณฑะ (T = testis) ท่อนำอสุจิ (Ve = vas efferens) ท่อนำอสุจิรวม (Vd = vas deferens) ต่อมเกื้อกูลเพศ (Ag = accessory gland) และต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle = Sv) (A-C = H&E, D-E = PAS) (A = abdomen, Sz = spermatozoa, E = epithelium, P = peritoneal membrane, ad = adipose tissue, Sv = seminal vesicle, St = Sperm tube)

3.1.2 หลอดสร้างอสุจิ (sperm tubes) เป็นบริเวณที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (spermatogenesis) จากการศึกษาครั้งนี้ ในแต่ละหลอดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 โซน แต่ละโซนมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ระยะโครงสร้างอัณฑะและระยะเซลล์สืบพันธุ์ : (A-C) ภาพตัดตามยาวของอัณฑะ (testis) ผีเสื้อหนอนคูนเพศผู้ถูกหุ้มด้วยถุงห่อหุ้มอัณฑะชั้นนอก (outer peritoneal membrane, Op) และถุงห่อหุ้มอัณฑะชั้นใน (inner peritoneal membrane, Ip) ภายในอัณฑะประกอบด้วยหลอดสร้างอสุจิ (sperm tube) ซึ่งสังเกตเห็นระยะต่าง ๆ ของเซลล์สืบพันธุ์ (H&E) (Vr = vitellarium, Gr = germarium, Zg = zone of growth, Zm = zone of maturation, Zt = zone of transformation, Sg = spermatogonia, Sc = spermatocytes, St = spermatid, Sz = spermatozoa, H = head, T = tail)

(1) germariumโซนนี้ประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์ในระยะ spermatogonia (ขนาดประมาณ 4 ไมโครเมตร) แนบชิดอยู่กับถุงห่อหุ้มอัณฑะ เซลล์มีลักษณะกลมและขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์สืบพันธุ์ระยะอื่น ๆ ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสติดสีชมพูไม่สม่ำเสมอภายในบรรจุนิวคลีโอลัส 1 อัน เซลล์ในระยะนี้รวมอยู่กันเป็นกลุ่มภายใน spermatocyst โดยแต่ละ spermatocyst จะมีการเจริญไปพร้อมกัน (synchronous development) และเมื่อย้อมแบบพิเศษพบว่าเซลล์ในระยะนี้ มีปฏิกิริยาต่อ PAS (ติดสีชมพูเข้ม) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าเซลล์ในระยะนี้อาจมีการสังเคราะห์สารในกลุ่มไกลโคโปรตีนขึ้นมาภายในเซลล์

(2) vitellarium ประกอบด้วย 3 โซนย่อย คือ

(2.1) zone of growth เป็นโซนที่ต่อมาจาก germarium พบระยะ spermatocyte ที่เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสจาก spermatogonia ทำให้มีขนาดเท่ากัน (ขนาดประมาณ 4 ไมโครเมตร) หรือใหญ่กว่าระยะ spermatogonia (ขนาดประมาณ 6 ไมโครเมตร) ซึ่งลักษณะที่เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นยังไม่มีข้อมูลใด ๆ ที่สามารถอธิบายได้ ดังนั้นประเด็นดังกล่าวจะต้องมีการศึกษาในระดับโครงสร้างละเอียดต่อไปในอนาคต ลักษณะเด่นของเซลล์ชนิดนี้ ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินจาง ขณะที่นิวเคลียสติดสีชมพู ภายในบรรจุ นิวคลีโอลัสหลายอันมักเรียงอยู่รอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส

(2.2) zone of maturation เป็นโซนที่ถัดมาจาก zone of growth พบระยะ spermatids เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเล็ก เนื่องจาก

การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยมาก นิวเคลียสขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ติดสีน้ำเงินเข้มในระยะนี้ยังคงอยู่รวมกันใน spermatocyst

(2.3) zone of transformation เป็นโซนที่อยู่ท้ายสุดที่ติดอยู่กับท่อนำอสุจิ พบระยะ spermatozoon หรือ mature sperm เซลล์สืบพันธุ์ระยะนี้ไม่ได้รวมกันอยู่ภายใน spermatocyst แต่กระจายและรวมกลุ่มอยู่ภายใน lumen spermatozoon แต่ละเซลล์จึงมีการเปลี่ยนรูปร่างที่แตกต่างจากเซลล์สืบพันธุ์ระยะอื่นๆ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนหัวติดสีม่วงเข้ม ซึ่งเป็นส่วนที่มีนิวเคลียส และส่วนหางติดสีชมพูเข้ม

3.1.3 ท่อระบบสืบพันธุ์และอวัยวะที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ (testicular ducts and accessory organ)

(1) ท่อนำอสุจิ (vas efferens) เป็นท่อที่เชื่อมอยู่กับหลอดสร้างอสุจิมีขนาด ประมาณ 100 ไมโครเมตร ทำหน้าที่รองรับอสุจิที่มีการพัฒนาเจริญเติบโตเต็มที่ โครงสร้างเยื่อบุผิวเป็นแบบชั้นเดียว (simple epithelium) นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน และถูกห่อหุ้มด้วยชั้นกล้ามเนื้อบาง ๆ

(2) ท่อนำอสุจิรวม (vas deferens) ส่วนนี้เชื่อมต่อจากท่อนำอสุจิ มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น (150-200 ไมโครเมตร) โครงสร้างของท่อนี้ พบว่าเมื่อย้อม H&E เซลล์บุผิวของท่อติดสีน้ำเงินเข้ม (basophilic cells) จนแยกแยะระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมได้ค่อนข้างยาก แต่เมื่อย้อมพิเศษ PAS พบว่าการจัดเรียงของเซลล์บุผิวจัดเป็นแบบเซลล์ชั้นเดียวทรงสูง (high simple columnar epithelium) นิวเคลียสอยู่บริเวณฐานเซลล์ นอกจากนี้ภายในท่อยังแสดงปฏิกิริยากับ PAS อีกด้วย กล่าวคือของเหลวที่บรรจุอยู่ภายใน lumen อาจเป็นสารกลุ่มไกลโคโปรตีนที่มีหน้าที่หล่อเลี้ยงเซลล์สืบพันธุ์ รอบนอกท่อถูกห่อหุ้มด้วยกล้ามเนื้อ เชื่อว่าโครงสร้างดังกล่าวทำหน้าที่เกี่ยวกับการบีบไล่เพื่อลำเลียงเซลล์สืบพันธุ์

(3) ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) โครงสร้างการจัดเรียงเช่นเดียวกับท่อนำอสุจิ แต่นิวเคลียสเป็นรูปยาวรี และอยู่ค่อนมาทางด้านฐานของเซลล์ ขนาดของท่อประมาณ 200 ไมโครเมตร ภายในท่อบรรจุสารกลุ่มไกลโคโปรตีน เมื่อพิจารณาจากการย้อมด้วย eosin ที่ติดสีแดง สอดคล้องกับการย้อมพิเศษ PAS ที่มีปฏิกิริยาทั้งเซลล์และของเหลว ทำให้ทราบและยืนยันได้ว่าเซลล์บุผิวมีการสร้างสารพวกไกลโคโปรตีน และส่งออกไปยัง lumen หน้าที่ของท่อนี้มีรายงานไว้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับเซลล์สืบพันธุ์ในแง่สร้างสารหล่อเลี้ยงหรือให้อาหารก่อนที่อสุจิจะเคลื่อนย้ายไปยังผีเสื้อเพศเมีย [6]

(4) ต่อมเกื้อกูลเพศ (accessory gland) ท่อนี้มีการจัดเรียงเซลล์บุผิวเช่นเดียวกับท่อนำอสุจิ และท่อนำอสุจิรวม ภายใน lumen ประกอบด้วยเม็ดสีชมพูเข้ม อวัยวะนี้ทำหน้าที่ผลิตสารที่จำเป็นให้กับตัวอสุจิ [7]

3.2 จุลกายวิภาคระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

3.2.1 รังไข่ (ovaries) ภายในรังไข่แต่ละข้างประกอบด้วยโอวาริโอล (ovarioles) จำนวน 4 ท่อ แต่ละท่อยังถูกห่อหุ้มด้วยถุงหุ้มโอวาริโอล (peritoneal membrane) มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นบาง ๆ ก่อนเชื่อมและเปิดรวมกันจนกลายเป็นท่อนำไข่ด้านข้าง (lateral oviduct) ต่อจากนั้นแต่ละข้างก็จะเชื่อมกันกลายเป็นท่อนำไข่รวม (common oviduct) และออกสู่ช่องคลอด (vagina) ของระบบสืบพันธุ์ ตามลำดับ

3.2.2 โอวาริโอล (ovariole) มีหน้าที่ในการสร้างเซลล์ไข่ (oogenesis) เมื่อพิจารณาถึงการเจริญและพัฒนาของรังไข่ พบว่ารังไข่ของผีเสื้อหนอน

คูนจัดเป็นแบบ meroistic ovariole คือมีส่วนของเซลล์พี่เลี้ยง (nurse cells) ทำหน้าที่สร้างอาหารให้กับเซลล์ไข่ [8] จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่าแต่ละโอวาริโอลของแมลงเพศเมียแบ่งเป็น 3 โซนหลัก คือ terminal filament, germarium และ vitellarium [9] แต่ในการศึกษาครั้งนี้ผีเสื้อหนอนคูนธรรมดาพบเพียง 2 โซน อาจเนื่องจากระนาบของการตัดชิ้นเนื้อ โดยแต่ละโซนสามารถแสดงรายละเอียดได้ดังต่อไปนี้

(1) germarium ผนังด้านในบรรจุด้วยกลุ่มเซลล์สืบพันธุ์เรียกว่า oogonia ที่มีการแบ่งตัวแบบไมโตซิส (mitosis) ลักษณะเด่นของเซลล์ในระยะนี้ คือ มีขนาดเล็กมาก มักแทรกอยู่ภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเนื้อเยื่อไขมัน ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูจาง นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน มีขนาดใหญ่อยู่ตรงกลางเซลล์ ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นเซลล์พรีฟอลลิคูลา (prefollicular cell) ที่มีลักษณะรูปร่างเซลล์และนิวเคลียสแบนบาง (simple squamous epithelium)

(2) vitellarium ผนังด้านในบรรจุด้วยเซลล์ไข่ที่เกิดจากการแบ่งแบบไมโอซิส (meiosis) ได้ 4 เซลล์ ประกอบด้วยเซลล์ไข่ 1 เซลล์ และเซลล์โพลาร์ (polar bodies) 3 เซลล์ โดยที่เซลล์โพลาร์เหล่านี้จะกลายไปเป็นเซลล์พี่เลี้ยง [8] ส่วนเซลล์ไข่ถูกล้อมรอบด้วยเซลล์ฟอลลิเคิล (follicle cells) ชั้นเดียว พบว่าเมื่อ oogonia พัฒนาไปเป็นระยะ previtellogenic (รูปที่ 3) ชั้นของเซลล์ฟอลลิเคิลกลายเป็นแบบรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (simple cuboidal epithelium) และเมื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะ vitellogenicโครงสร้างเป็นเซลล์ชั้นเดียวเหมือนกับระยะ previtellogenic แต่เป็นเซลล์รูปทรงสูง (simple columnar epithelium) ซึ่งจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของเซลล์ชนิดนี้สามารถอธิบายได้ว่า การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ฟอลลิเคิลสอดคล้องกับระดับฮอร์โมนในช่วงนั้น ๆ เป็นไปตามระยะพัฒนาการของไข่ ดังนั้นเซลล์ชนิดนี้จึงมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างฮอร์โมนควบคุมพัฒนาการไข่ (ovarian development) ของผีเสื้อ [10] เซลล์ไข่ที่ถูกบรรจุภายในโซน vitellarium สามารถแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ โดยพิจารณาจากโครงสร้างเนื้อเยื่อทั้งนิวเคลียส ไซโตพลาสซึม ขนาดของเซลล์และการติดสี มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

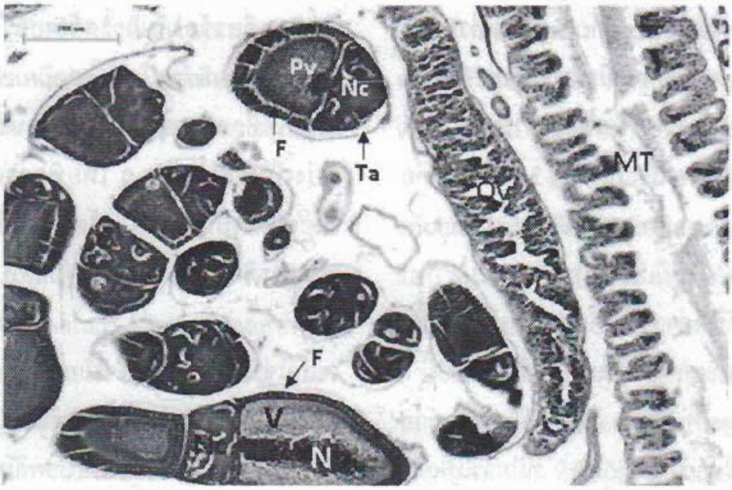
(2.1) ระยะ previtellogenic เซลล์ไข่มีขนาดใหญ่กว่าระยะ oogonia (ขนาด 100-150 ไมโครเมตร) ไซโตพลาสซึมติดสีชมพู นิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้ม ภายในไม่พบนิวคลีโอลัส ในระยะนี้พบเซลล์ฟอลลิเคิลเป็นรูปลูกบาศก์อย่างชัดเจน (simple cuboidal epithelium) มีขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตร

(2.2) ระยะ vitellogenic เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าระยะก่อนหน้านี้ (ขนาดประมาณ 170-200 ไมโครเมตร) เนื่องจากมีการสะสมไข่แดงภายในไซโตพลาสซึมที่เรียกว่า โยล์คแกรนูล (yolk granule) ทำให้เริ่มเห็นเซลล์เป็นสีชมพูมากขึ้น (acidophilic cell) นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ พบบริเวณกึ่งกลางเซลล์ และไม่พบเยื่อหุ้มนิวเคลียส (germinal vesicle breakdown) ระยะนี้เห็นเซลล์ฟอลลิเคิล (follicular cell) มีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้นประมาณ 10 ไมโครเมตร สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน

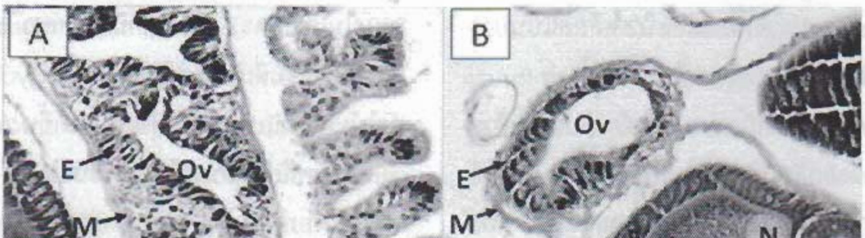
(2.3) ระยะ mature ไม่พบในการศึกษาครั้งนี้

3.3 ท่อสืบพันธุ์และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ (ovarian ducts and accessory organ)

3.3.1 ท่อสืบพันธุ์ ประกอบด้วยท่อนำไข่ด้านข้าง (lateral oviduct) เมื่อพิจารณาจาก (รูปที่ 4) ภาพตัดตามยาว (longitudinal section) และภาพตัดขวาง (circular section) พบว่าท่อนี้เชื่อมต่อมาจากปลายของรังไข่ โดยลักษณะเซลล์บุผิวของท่อนี้

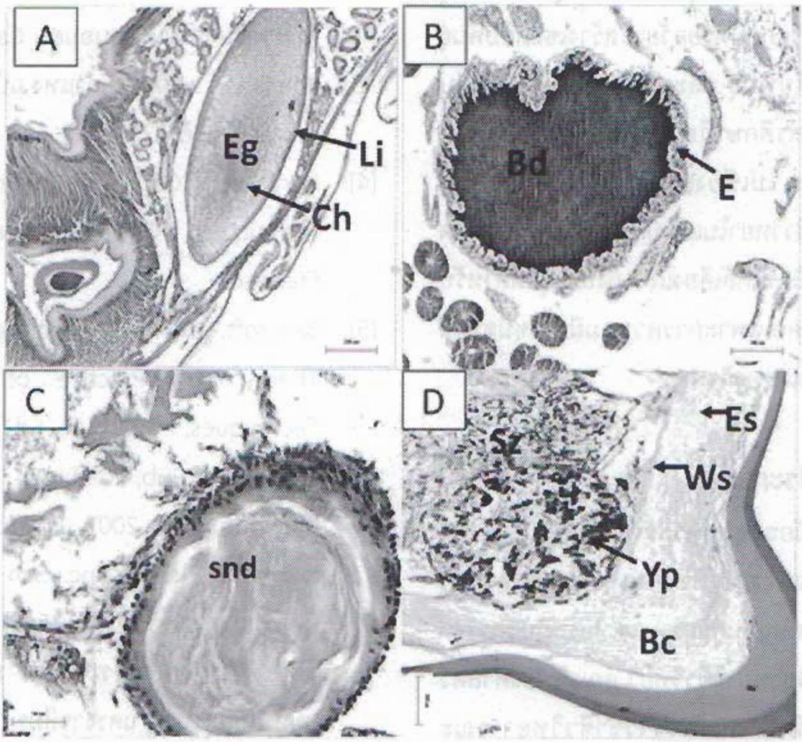


รูปที่ 3 ระบบสืบพันธุ์ของผีเสื้อหนอนคูนเพศเมีย : ภาพตัดตามยาวแสดงรายละเอียดของเซลล์ไข่ (ovary) ระยะต่าง ๆ ที่ถูกห่อหุ้มด้วยถุงห่อหุ้มโอวาริโอล (tunica albuginea, Ta) และระยะต่าง ๆ ของเซลล์สืบพันธุ์ (H&E) (Pv = previtellogenic, V = vitellogenic,Y = yolk granule , MT = midgut, Ov = oviduct, Nc = nurse cell, F = follicular cell, N = nucleus)



รูปที่ 4 ท่อระบบสืบพันธุ์ : (A) ภาพตัดตามยาวของท่อนำไข่ด้านข้าง, (B) ภาพตัดตามขวางของท่อนำไข่ด้านข้าง, (C) ภาพตัดตามขวางของช่องคลอด, (D) ภาพตัดตามยาวของท่อนำไข่รวม (H&E) (Ov = oviduct, Lov = lateral oviduct, E = epithelium, M = muscular tissue, (Bc = bursa copulatrix, Pv = pvevitellogenic , Nc= nurse cell, N = nucleus, F = follicular cell, Cov = common oviduct)

มีรูปร่างเซลล์ทรงสูง ชั้นเดียว (simple columnar epithelium) ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นกล้ามเนื้อบาง ๆ หน้าที่ของท่อนี้นอกจากจะรองรับเซลล์ไข่ อีกทั้งมีรายงานว่าท่อนี้สามารถสร้างสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของการสร้างสารห่อหุ้มเซลล์ไข่ [11] ต่อจากนั้นท่อนำไข่แต่ละข้างจะเปิดและเชื่อมกันเป็นท่อนำไข่รวม (common oviduct หรือ median oviduct) ซึ่งมีลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลล์บุผิวเหมือนกับท่อนำไข่ แต่ชั้นกล้ามเนื้อจะหนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยแบ่งออกได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นในเป็นกล้ามเนื้อแนวตามขวาง (circular muscular layer) และชั้นนอกเป็นกล้ามเนื้อแนวตามยาว (longitudinal muscular layer) นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ยังพบไข่ที่ได้รับการผสมแล้วค้างอยู่ในท่อนำไข่รวม พบว่าโครงสร้างของไข่นั้นมีรูปร่างรีและถูกห่อหุ้มด้วย chorion (รูปที่ 5) ภายในบรรจุตัวอ่อนแมลงและในขณะที่ไข่เคลื่อนผ่านเซลล์บุผิวของท่อนำไข่รวมจะเปลี่ยนเป็นเซลล์บุผิวแบนบางชั้นเดียว (simple squamous epithelium) ต่อจากนั้นจะเปิดออกสู่ช่องคลอด (genital chamber หรือ vagina) ที่มีโครงสร้างเช่นเดียวกับท่อก่อนหน้านี้ แต่มีชั้นกล้ามเนื้อหนาเป็นพิเศษดังนั้นหน้าที่ของช่องคลอด คือ เป็นทางออกของไข่เท่านั้น



รูปที่ 5 ภาพตัดตามยาวของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ : (A) ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วมีลักษณะโครงสร้างถูกห่อหุ้มด้วย chorion (Ch), (B) ภาพตัดตามขวางของท่อเปิดของถุง, (C) ภาพตัดตามขวางของท่อเซมินัล, (D) ภาพตัดตามยาวของถุงเบอร์ซาคอพูลาทริกซ์ (H&E) (Eg = egg, Li = developing first larval instar, Bd = ostium of bursa, Es = elastic tissue, Sz = spermatozoa, Yp = soft plug, Ws = wall of spermatophore, E = epithelium, snd = seminal duct, Bc = Bursa copulatrix)

นอกจากนี้มีต่อมเกื้อกูลเพศ (accessory gland) 1 คู่ ลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาค ประกอบด้วยชั้นเยื่อบุผิว (epithelium) และห่อหุ้มด้วยชั้นกล้ามเนื้อบาง ๆ จากรายงานก่อนหน้านี้พบว่า ท่อชนิดนี้มีการจัดเรียงตัวแบบ compound acinar มีหน้าที่สร้างสารเหลวหล่อเลี้ยงที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์เพศเมียโดยเฉพาะ การสร้างเปลือกไข่ (chorion) และสร้างสารเหนียวสำหรับยึดไข่ให้ติดกับวัตถุ [11]

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้แสดงถึงโครงสร้างพื้นฐานจุลกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ผีเสื้อหนอนคูน ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ที่ประกอบด้วยอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และท่อสืบพันธุ์ ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาถือว่าเป็นรายงานฉบับแรกของประเทศไทย ไม่เพียงสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานงานด้านชีววิทยาในแง่มุมต่าง ๆ ของผีเสื้อชนิดนี้ รวมทั้งผีเสื้อชนิดที่ใกล้เคียงแล้ว ยังประยุกต์สำหรับงานวิจัยขั้นสูง โดยเฉพาะการควบคุมผีเสื้อชนิดนี้ในฐานะศัตรูของพืชเศรษฐกิจ

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.องุ่น ลิ่ววานิช และคุณแสงอรุณ วงสุข ที่ให้คำแนะนำและความรู้เกี่ยวกับผีเสื้อชนิดหนอนคูนธรรมดา ห้องปฏิบัติการจุลกายวิภาค ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ช่วยสนับสนุนวัสดุและอุปกรณ์

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Fabricius, J.C., 1775, Systema entomologiae, sistens insectorum classes, ordines, genera, species adiectis synonymis, locis, descriptionibus, observationibus, Flensburgi et Lipsiae [= Flensburg and Leipzig], Korte, 832 p.

[2] Ek-Amnuay, P., 2006, Butterflies of Thailand, Baan Lae Suan-Amarin Printing and Publishing Co., Bangkok.

[3] สุทัศน์ สุบินประเสริฐ, 2552, อิทธิพลของสภาพภูมิอากาศและสีของดอกต้นหางนกยูงไทย *Caesalpinia polcherrima* (Leguminosae) ต่อการบินของผีเสื้อหนอนคูน Catopsilia spp. (Pieridae), ว.วิจัยรามคำแหง ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 12: 58-56.

[4] Humason, G.L., 1997, Animal tissue techniques, 4th Ed., Freeman, San Francisco.

[5] Bancroft, J.D. and Gamble, M., 2002, Theory and Practice of Histological Techniques, 5th Ed., Churchill Livingstone Pub, Edinburgh.

[6] Klowden, M.J., 2007, Physiology System in Insects, Elsevier, Inc., San Diego.

[7] จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์, 2546, แมลง, สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

[8] ภาควิชากีฏวิทยา, 2538, บทปฏิบัติการกีฏวิทยาเบื้องต้น, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

[9] Jurgen, B., 2006, Ovariole structure supports sistergroup relationship of neuropterida and coleopteran, Arthropod Syst. Phylogeny 64: 115-126.

[10] Grier, H.J., 2012, Development of the follicle complex and oocyte staging in red drum, *Sciaenops ocelltus* Linnaeus, 1776 (Perciformes, Sciaenidae), Florida 273: 801-29.

[11] Gerber, G.H., Chltrc, N.S. and Rempel, J.G., 1971, The Anatomy Histology and Physiology of the reproductive systems of *Lytta nuttalli* Say (Coleoptera: Meloidae): The internal genitalia, Can. J. Zool 49: 523-533.

[12] ไพฑูรย์ สุขศรีงาม, 2527, รูปร่างและสรีรวิทยาเบื้องต้นของแมลง. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, มหาสารคาม.