

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาค้างนี้เป็นการศึกษาในหนอนไหมพันธุ์ไทยซึ่งต้องการศึกษาถึงลักษณะการเจริญของต่อมสร้างเส้นไหมในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope) และศึกษาถึงลักษณะโครงสร้างหน้าที่ของต่อมสร้างเส้นไหมในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope) พร้อมทั้งศึกษาหา paraffin technique ที่เหมาะสมกับหนอนไหม ผลที่ได้มีดังนี้

1. การศึกษาหา paraffin technique ที่เหมาะสม

จากการนำตัวหนอนไหมวัย 1 จำนวน 35 ตัวแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว ใส่ลงใน 0.9% Normal saline solution (NSS) แล้วเข้า microwave ควบคุมอุณหภูมิ 58°C-60°C จากนั้นนำใส่น้ำยา คองตัวอย่าง 7 ชนิดซึ่งได้แก่ Carnoy's solution, Methacarn's solution, Bouin's solution, Zinc formalin, Zinc alcohol, 70% alcohol, และ 10% Neutral buffered formalin (NBF) พบว่า ตัวหนอนไหมยัดตัวได้ตรง คุณลักษณะภายนอกคงเดิม เมื่อนำมาตัด cross section ด้วยเครื่อง microtome ความหนา 4 ไมโครเมตร ย้อมด้วย H&E ปรากฏว่า ชิ้นเนื้อที่ตัดได้นั้นไม่เป็นระเบียบ cuticle ที่อยู่รอบตัวหนอนแตก ลักษณะเซลล์ภายในไม่ชัดเจน จึงทดลองเปลี่ยนใส่น้ำยาคองแต่ละชนิดแทน 0.9% NSS แล้วทำดังเช่นขั้นตอนเดิมลักษณะชิ้นเนื้อที่ได้หลังการย้อมมีลักษณะเด่นชัดขึ้น cuticle ที่อยู่รอบตัวหนอนไหมปรากฏลักษณะให้เห็นตั้งแต่แตกมากถึงไม่แตกเลย ลักษณะเซลล์ภายในปรากฏรายละเอียดตั้งแต่เห็นค่อนข้างชัดถึงชัดมาก สรุปได้ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 3-6

2. การศึกษาด้วยวิธีส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (light microscope)

ในวิธีนี้ให้ทำการศึกษาทดลองในตัวหนอนไหมวัย 1 ถึงวัย 5 ศึกษาถึงลักษณะทั่วไปของต่อมสร้างเส้นไหมทั้ง 3 ส่วน โดยใช้เทคนิคการย้อมที่เหมาะสมกับตัวหนอนไหมซึ่งได้จากผล

การทดลองข้อ 1 ย้อมสีพิเศษด้วย methyl green-pyronin y เพื่อแสดงให้เห็นถึง DNA, RNA และ chromatin ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายความเปลี่ยนแปลงในแต่ละวัยได้ดังนี้

หนอนใหม่วัย 1

คอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า หนอนใหม่วัยนี้เป็นวัยที่เล็กมาก ไม่สามารถชำแหละเฉพาะ คอมสร้างเส้นไหมมาศึกษาโดยเฉพาะได้ จึงต้องนำทั้งตัวผ่านวิธีการ paraffin embedding แล้ว คัด cross section ความหนา 4 ไมโครเมตร จะพบว่าคอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าในวัยนี้มี ลักษณะเป็นท่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 12.79 ไมโครเมตร ตำแหน่งของคอมส่วนใหญ่อยู่อันข้างของระบบ ทางเดินอาหาร วางตัวในแนว 2 ข้างของลำตัวช่วงบน ชั้นของ gland cell เซลล์มี ลักษณะชั้นเดียว ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจนมีค่าความหนาของเซลล์เฉลี่ย 2.24 ไมโครเมตร จากการย้อมสีนิวเคลียสติดสีเข้มของ methyl green มีลักษณะไม่ชัดเจนอยู่เต็มพื้นที่ของไซโตพลาสซึม ภายในไซโตพลาสซึมและ lumen ของคอม พบการติดสีชมพูของ pyronin y จากตำแหน่งและ ลักษณะการติดสี ทำให้สามารถบอกได้ว่า ภายใน lumen คือ ลักษณะของโปรตีนเส้นไหม (ภาพที่ 7A)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง คอมส่วนนี้เป็นส่วนที่อยู่ต่อจากคอมส่วนหน้า อยู่บริเวณ ตอนกลางของลำตัว ลักษณะเป็นท่อมี่ขนาดใหญ่กว่าส่วนอื่น มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 32.87 ไมโครเมตร ความหนาของเซลล์เฉลี่ย 3.77 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียว นิวเคลียส ติดสีเข้มไม่สามารถบอกขอบเขตได้ชัดเจน ภายใน lumen ของคอมมีโปรตีนเส้นไหมย้อมติด สีชมพูของ pyronin y เต็มพื้นที่ของ lumen (ภาพที่ 7B)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย คอมส่วนนี้อยู่ถัดลงมาจากคอมส่วนกลาง อยู่บริเวณตอนล่าง ของลำตัวหนอนใหม่ มีลักษณะเป็นท่อมี่เช่นกัน มีขนาดใหญ่เป็นอันดับสองรองจากคอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 21.50 ไมโครเมตรแต่มีความหนาของเซลล์มากกว่า ส่วนอื่นเฉลี่ย 6.71 ไมโครเมตร อาจเป็นเพราะเซลล์มีความหนากว่าส่วนอื่นนี้เอง ทำให้สามารถ มองเห็นนิวเคลียสที่ย้อมติดสีของ methyl-green ได้อย่างชัดเจนกว่าส่วนอื่น นิวเคลียสมีลักษณะ แดกเป็นแขนง ในส่วนกลางของ lumen ของคอมยังคงมีโปรตีนเส้นไหมย้อมติดสีชมพูอยู่เต็ม พื้นที่ของ lumen เช่นเดียวกับคอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง (ภาพที่ 7C)

หนอนใหม่วัย 2

คอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า มีลักษณะเป็นท่อมี่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 28.21 ไมโครเมตร ยังคงมีลักษณะที่ยังไม่ชัดเจนมาก ยังไม่สามารถอธิบายรายละเอียดภายในเซลล์ได้ชัด

เจนเนื่องจากยังมีขนาดความหนาของเซลล์เล็ก ค่าเฉลี่ย 5.99 ไมโครเมตร แต่ยังไม่พอที่จะอธิบายได้ว่าเป็นเซลล์ชั้นเดียว ส่วนกลางของ lumen มีโปรตีนเส้นไหมข้อมดสีชมพูแต่ไม่เต็มพื้นที่ของ lumen รอยต่อระหว่าง lumen กับ gland cell มีส่วนที่เป็นแถบข้อมดสีชมพูอยู่เป็นวงโคจรรอบ lumen (ภาพที่ 8A)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง ลักษณะเป็นท่อนมีขนาดใหญ่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 53.80 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 9.53 ไมโครเมตร ภายในเซลล์เมื่อย้อมด้วย methyl-green และ pyronin y พบว่านิวเคลียสติดสีของ methyl-green มีลักษณะแตกแขนงเรียงตัวอยู่ภายในไซโตพลาสซึมซึ่งติดสีชมพูของ pyronin y ภายใน lumen มีโปรตีนเส้นไหมข้อมดสีชมพูของ pyronin y (ภาพที่ 8B)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย มีลักษณะเป็นท่อนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 41.47 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 12.54 ไมโครเมตร นิวเคลียสติดสี methyl-green มีรูปร่างแตกแขนงเรียงอยู่ในทุกส่วนของไซโตพลาสซึมที่หนา เริ่มสังเกตเห็น nucleoli ข้อมดสีชมพูของ pyronin y อยู่บริเวณส่วนกลางของนิวเคลียส (ภาพที่ 8C)

หนอนไหมวัย 3

คอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า มีลักษณะเช่นเดียวกับคอมสร้างเส้นไหมของหนอนไหมวัย 1 และ 2 แต่มีขนาดใหญ่ขึ้นโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 45.94 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 9.30 ไมโครเมตร นิวเคลียสปรากฏลักษณะแตกแขนงปรากฏชัดเจนขึ้นยังคงมีการติดสีชมพูเป็นแถบอยู่โคจรรอบบริเวณรอยต่อระหว่าง lumen กับขอบเซลล์ ภายใน lumen มีโปรตีนเส้นไหมข้อมดสีชมพู (ภาพที่ 9A)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง มีลักษณะเช่นเดียวกับคอมสร้างเส้นไหมของหนอนไหมวัย 1 และ 2 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 105.62 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 15.11 ไมโครเมตร ลักษณะของนิวเคลียสและลักษณะการติดสีทั้งนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมรวมทั้งภายใน lumen เป็นเช่นเดียวกับหนอนไหมวัย 2 (ภาพที่ 9B)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย มีลักษณะเช่นเดียวกับคอมสร้างเส้นไหมของหนอนไหมวัย 1 และ 2 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 75.67 ไมโครเมตร ขนาดเซลล์ค่อนข้างหนา ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 21.93 ไมโครเมตร ลักษณะของนิวเคลียสและลักษณะของการติดสีทั้งนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม รวมทั้งภายใน lumen มีลักษณะเช่นเดียวกับหนอนไหมวัย 2 ภายในบริเวณส่วนกลางของนิวเคลียสปรากฏให้เห็น nuclei มีลักษณะเป็นจุดติดสีชมพู มีท่อหายใจมาสัมผัสติดกับขอบค้ำนอกของเซลล์คอม (ภาพที่ 9C)

หนอนไหมวัย 4

คอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า ปรากฏขนาดที่ใหญ่ขึ้น มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอมเฉลี่ย 55.67 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 10.26 ไมโครเมตร การติดสีของนิวเคลียสและ ไซโตพลาสซึม รวมทั้งภายใน lumen เป็นเช่นเดียวกับหนอนไหมวัย 2 และ 3 ลักษณะของนิวเคลียสแตกแขนงมีหลายขนาด วางตัวอยู่ในไซโตพลาสซึมก่อนมาทางด้านขอบนอกของเซลล์ ภายในสามารถสังเกตเห็น nuclei มีลักษณะจุดติดสีชมพูได้แต่ไม่ชัดเจน สามารถสังเกตพบท่อหายใจอยู่บริเวณใกล้เคียงด้วย (ภาพที่ 10A)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอมเฉลี่ย 115.89 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 19.69 ไมโครเมตร การติดสีของนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมรวมทั้งภายใน lumen เป็นลักษณะเดียวกับหนอนไหมวัย 2 และ 3 นิวเคลียสมีลักษณะแตกแขนงกระจายอยู่โดยทั่วไปภายในไซโตพลาสซึม พบ nuclei เป็นจุดติดสีชมพูชัดเจนอยู่บริเวณส่วนกลางของนิวเคลียส (ภาพที่ 10B)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอมเฉลี่ย 77.50 ไมโครเมตร เซลล์คอมหนามาก ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 24.25 ไมโครเมตร ลักษณะการติดสีของคอมเป็นลักษณะเช่นเดียวกับหนอนไหมวัย 2 และ 3 นิวเคลียสมีลักษณะแตกแขนงกระจายอยู่ทั่วไปใน ไซโตพลาสซึม ส่วนมากตั้งอยู่ในตำแหน่งก่อนไปทางด้านนอกของ gland cell พบ nuclei เป็นจุดติดสีชมพูกระจายอยู่บริเวณส่วนกลางของนิวเคลียส และพบว่ามีท่อหายใจมาสัมผัสกับคอมสร้างเส้นไหมส่วนนี้ด้วย (ภาพที่ 10C)

หนอนไหมวัย 5

คอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า คอมสร้างเส้นไหมในวัยนี้สามารถชำแหละนำเฉพาะคอมออกจากตัวหนอนไหมได้ คอมส่วนนี้เมื่อมองด้วยตาเปล่ามีลักษณะเป็นท่อตรงวางตัวอยู่สองข้างของท่อทางเดินอาหาร อยู่บริเวณลำตัวช่วงอก มีทางติดต่อกับภายนอกเป็นรูเปิดอยู่ที่ปากของตัวหนอนไหม เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาโดยนำคอมสร้างเส้นไหมมาตัดแบบ cross section พบว่า มีขนาดโตขึ้นกว่าในวัย 4 มาก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 216.16 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 30.04 ไมโครเมตร นิวเคลียสมีลักษณะแตกแขนงชัดเจน อยู่ตำแหน่งก่อนไปทางขอบด้านนอกของเซลล์ไม่สามารถบอกรูปร่างของเซลล์ได้เนื่องจากไม่เห็น cell membrane ทางขอบด้านในของ gland cell สังเกตเห็นว่า มีลักษณะคล้าย colloid ในคอม ไชรอยด์ ส่วนต่อระหว่าง gland cell กับ lumen พบว่าเป็นขอบติดสีเข้มอยู่เป็นวงโดยรอบตาม

ขนาดของ lumen ส่วนภายใน lumen ยังคงพบโปรตีนเส้นไหมย้อมติดสีชมพูเช่นเดียวกันกับทุกวัยที่ผ่านมา (ภาพที่ 11A, 12A, 13A)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง คอมส่วนนี้เมื่อมองด้วยตาเปล่ามีขนาดใหญ่กว่าส่วนอื่นๆ วางตัวอยู่ 2 ข้างของส่วนท้องของตัวหนอนไหมมีลักษณะขดพับไปมา เมื่อตัด cross section ศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาพบว่า ลักษณะของคอมใหญ่ขึ้นเป็นอย่างมาก สามารถสังเกตเห็นผนังของคอมซึ่งแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ tunica propria อยู่นอกสุด ถัดมาคือชั้น gland cell และชั้นในสุดคือ tunica intima มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอมเฉลี่ย 1344.97 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 47.85 ไมโครเมตร ส่วนที่เป็น gland cell บางลง นิวเคลียสย้อมติดสี methyl-green มีขนาดเล็กลง การแตกแขนงไม่ชัดเจนเหมือนในวัย 4 ภายใน lumen เต็มไปด้วยโปรตีนเส้นไหมย้อมติดสีของ pyronin y เมื่อศึกษาค้นด้วยกำลังขยาย 10x และ 40x พบว่า ส่วนของ lumen ที่ติดกับ gland cell มีลักษณะคล้าย colloid ในคอมไรรอยด์เช่นเดียวกับคอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า และยังพบลักษณะของ colloid นี้ในส่วนของโปรตีนเส้นไหมวงนอกอีกด้วย (ภาพที่ 11B, 12B, 13B)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย คอมส่วนนี้เมื่อมองด้วยตาเปล่า มีลักษณะใหญ่เป็นอันดับสองรองจากคอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง มีลักษณะเป็นท่อขดงอ อยู่สองข้างของลำตัวช่วงท้องและยาวลงมาถึงลำตัวช่วงล่าง เมื่อศึกษาโดยการตัด cross section พบว่า สามารถสังเกตเห็นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 491.13 ไมโครเมตร ขนาดความหนาของเซลล์เฉลี่ย 88.18 ไมโครเมตร นิวเคลียสติดสีของ methyl-green ไม่แตกแขนงชัดเจนเหมือนในวัย 4 ขนาดของ lumen ขยายกว้างขึ้น ทำให้ขนาดของ gland cell ลดลง ไม่สามารถแยกแต่ละเซลล์ได้เนื่องจากไม่เห็นขอบเขตของ cell membrane ภายใน lumen มีโปรตีนเส้นไหมย้อมติดสี pyronin y แต่ไม่ปรากฏลักษณะคล้ายสาร colloid เหมือนในคอมส่วนหน้าและส่วนกลาง (ภาพที่ 11C, 12C, 13C)

จากข้อมูลดังที่กล่าวมานี้ สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 3 และ 4 และภาพที่ 14 และ 15

3. การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)

การศึกษาในขั้นตอนนี้ ศึกษาเฉพาะโครงสร้างเส้นไหมทั้งสามส่วนในหนอนไหมวัย 5 เฒ่นั้น โดยชำแหละนำคอมพิวเตอร์สร้างเส้นไหมมาผ่านขบวนการการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อนำมาศึกษากับ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านโดยเฉพาะ ซึ่งได้ผลการศึกษาดังนี้

คอมพิวเตอร์สร้างเส้นไหมส่วนหน้า คอมพิวเตอร์นี้มีขนาดเล็ก เมื่อถ่ายภาพด้วยขนาดกำลังขยายต่ำจะได้ลักษณะดังภาพที่ 16A เมื่อใช้กำลังขยายสูงขึ้น สามารถสังเกตเห็นผนังของคอมพิวเตอร์ในชั้น tunica propria ซึ่งเป็นชั้นนอกสุด และชั้นของ gland cell ได้ชัดเจน แต่ไม่สามารถเห็นขอบเขตของ cell membrane ภายในประกอบด้วยนิวเคลียสมีลักษณะแตกแขนง อยู่ก่อนไปทางด้านนอกของ gland cell ภายใน cytoplasm พบ mitochondria ในลักษณะที่ active และ rough endoplasmic reticulum (rER) เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ทางด้านนอกของ gland cell มี villi ยื่นออกมา ภายในประกอบด้วย microtubule และชั้นนอกสุดของ gland cell มีแผ่น membrane บางๆคลุมอยู่ นอกจากนี้สามารถสังเกตเห็นว่า มีลักษณะของสารคัดหลั่ง (secretion) เป็นกลุ่มกระจายอยู่ทั่วไป ข้อมติคัสจากมีจุดสีเข้มซึ่งบางกลุ่มเห็นเป็นเส้นสั้นๆคัสติซึมอยู่ภายในสารคัดหลั่งที่เป็นกลุ่มก้อนนั้น ถัดเข้ามาทางบริเวณส่วนกลางของ gland cell พบว่า จำนวนของ mitochondria และ rER ลดลง ขนาดของ mitochondria เล็กลง มีสารคัดหลั่งที่ภายในคัสติซึมรวมเป็นก้อนที่ใหญ่ขึ้นและขยายขนาดการรวมตัวมากขึ้นจนเต็มพื้นที่ เห็นเป็นลักษณะคัสติซึมทั้งกลุ่มซึ่งจะปรากฏลักษณะเช่นนี้บริเวณชั้นในสุดของ gland cell และในชั้นนี้จะพบ microtubule เป็นจำนวนมาก เชื่อว่าทำหน้าที่ช่วยขับสารคัดหลั่งให้ไปยัง lumen โดยผ่านทาง cytoplasmic process ที่ยื่นเข้าไปใน lumen (ในระดับกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา เป็นแถบถัดจาก gland cell อยู่โดยรอบ lumen) ซึ่งพบว่า มีสารคัดหลั่งใน cytoplasmic process นี้ด้วย ทางด้านนอกของ gland cell มี microvilli ยื่นออกมา ภายในประกอบด้วย microtubule คล้ายกับ gland cell ด้านในและชั้นนอกสุดของ gland cell พบว่า มี membrane บางๆ คลุมอยู่โดยรอบ (ภาพที่ 16-20)

คอมพิวเตอร์สร้างเส้นไหมส่วนกลาง

คอมพิวเตอร์นี้มีขนาดใหญ่ขึ้น เห็นขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน นิวเคลียสมีลักษณะแตกแขนง พบต่อหายใจกระจายอยู่ทั่วไป บางต่อมาชิดกับนิวเคลียส มี mitochondria และ rER กระจายโดยรอบ โดยเฉพาะพื้นที่ด้านนอก (basal) ของ gland cell rER มีขนาดโตและจำนวนมากกว่าในคอมพิวเตอร์สร้างเส้นไหมส่วนหน้า นอกจากนี้ยังพบ Golgi complex อยู่เป็นแห่งๆ ซึ่งประกอบด้วย Golgi

vacuoles จำนวน 3-4 vacuole ที่ภายในมีสารคืดสีเข้มเป็นจุด บางกลุ่มต่อกันเป็นเส้นสั้นๆ นอกจากนี้ยังพบลักษณะของสารคืดหลังย้อมคืดสีเข้มอยู่เป็นกลุ่มก้อนกระจายอยู่ทั่วไปตั้งแต่ด้านนอก (basal) จนถึงด้านใน (apical) ของ gland cell ซึ่งมีจำนวนมากกว่าในคอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า ทางด้านนอกสุดของ gland cell ถูกคลุมด้วย membrane บางๆ ถัดเข้ามาเป็นส่วนของ gland cell ที่เป็น villi ภายในประกอบด้วย microtubule และทางด้านในคือจาก microtubule จะพบ canaliculi ซึ่งมีสารคืดหลังย้อมคืดสีเข้มอยู่ภายใน canaliculi นี้ด้วย บริเวณส่วนกลางจนถึงส่วนในสุดของ gland cell จำนวนองค์ประกอบภายในเซลล์ลดน้อยลง โดยเฉพาะด้านในสุดติดกับ lumen จะเห็นเพียงแต่ microtubule จำนวนมาก ไม่มี cytoplasmic process เหมือนในคอมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าและเชื่อว่า microtubule นี้ทำหน้าที่ช่วยขับสารคืดหลังออกสู่ lumen (ภาพที่ 20-23)

คอมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย

คอมส่วนนี้มีลักษณะทั่วไปคล้ายกับส่วนอื่นคือ ไม่สามารถเห็นขอบเขตของเซลล์แต่ละเซลล์ นิวเคลียสแตกแขนงอยู่ก่อนไปทางด้านฐานของ gland cell บริเวณด้านนอกของ gland cell เรื่อยลงมาจะพบว่ามี mitochondria , rER ที่อยู่ในสภาพ active เป็นจำนวนมากและลดจำนวนลงเรื่อยๆ จนไม่สามารถมองเห็นได้ในบริเวณที่ใกล้ lumen และบริเวณดังกล่าวนี้พบสารคืดหลังที่อยู่เป็นกลุ่มก้อน ภายในมีลักษณะเป็นจุดย้อมคืดสีเข้ม ถัดเข้ามาด้านในของ gland cell สังเกตว่าพื้นที่นั้นเต็มไปด้วยจุดเล็กๆย้อมคืดสีเข้มลักษณะเดียวกับสารคืดหลังที่พบทางด้านนอกของ gland cell นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบอื่นของเซลล์อีกด้วยได้แก่ smooth endoplasmic reticulum(sER) , rER ที่พองเป็นกระเปาะภายในเต็มไปด้วยสารคืดหลัง ถัดไปในบริเวณด้านนอกของ gland cell จะพบ villi ขึ้นออกไปแต่ไม่ชัดเจนเท่าคอมสร้างเส้นไหมส่วนกลางและส่วนหน้า ส่วน gland cell ด้านที่ติดกับ lumen จะพบ microtubule ซึ่งเชื่อว่าเป็นตัวช่วยขับสารคืดหลังให้ออกไปสู่ lumen เช่นเดียวกับในส่วนอื่น แต่สังเกตเห็นว่าก่อนที่จะสารคืดหลังจะออกไปสู่ lumen ใต้นั้น จะต้องผ่านแผ่น membrane บางๆอีกชั้นหนึ่งก่อน ซึ่งเป็น membrane ที่มีลักษณะไม่ต่อเนื่อง สารคืดหลังที่ถูกส่งผ่านออกมาจะผ่านช่องว่างระหว่าง membrane นี้ แล้วจึงออกไปสู่ lumen ของคอม (ภาพที่ 24-30)

ตารางที่ 2 แสดงคุณภาพของน้ำยาคองตัวอย่าง

น้ำยาคองตัวอย่าง	คุณภาพของชิ้นเนื้อ
Carnoy's solution	++++
Methacarn's solution	+++
Bouin's solution	+
Zinc formalin	+
Zinc alcohol	++
70% alcohol	+
10% NBF	++

หมายเหตุ	++++	ดีมาก
	+++	ดี
	++	พอใช้
	+	ไม่ดี

ภาพที่ 3A ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการดอง
ด้วยน้ำยา Zinc formalin (กำลังขยาย x200)

ภาพที่ 3B ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 2 ผ่านการดอง
ด้วยน้ำยา Bouin's solution (กำลังขยาย x200)

Cu : Cuticle

GI : Gastrointestinal tract

Mu : Muscle



ภาพที่ 4A ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการดองด้วย
น้ำยา Methacarn's solution (กำลังขยาย x200)

ภาพที่ 4B ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการดองด้วย
น้ำยา Zinc alcohol (กำลังขยาย x200)

Cu : Cuticle

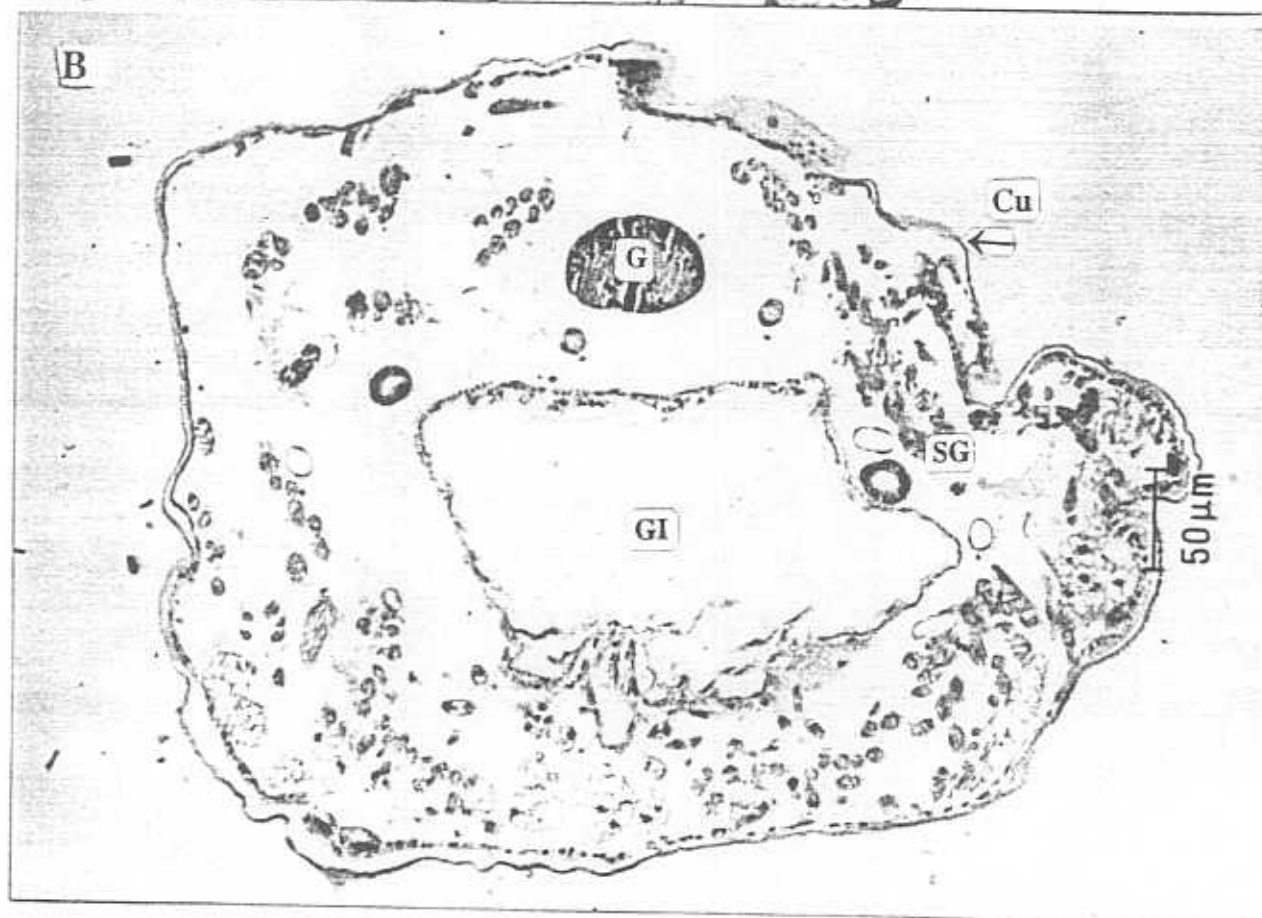
GI : Gastrointestinal tract

G : Ganglion

Eso : Esophagus

h : head

l : leg



ภาพที่ 5A ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการคง
ด้วยน้ำยา 10% NBF (กำลังขยาย x200)

ภาพที่ 5B ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการคง
ด้วยน้ำยา 70% Alcohol (กำลังขยาย x200)

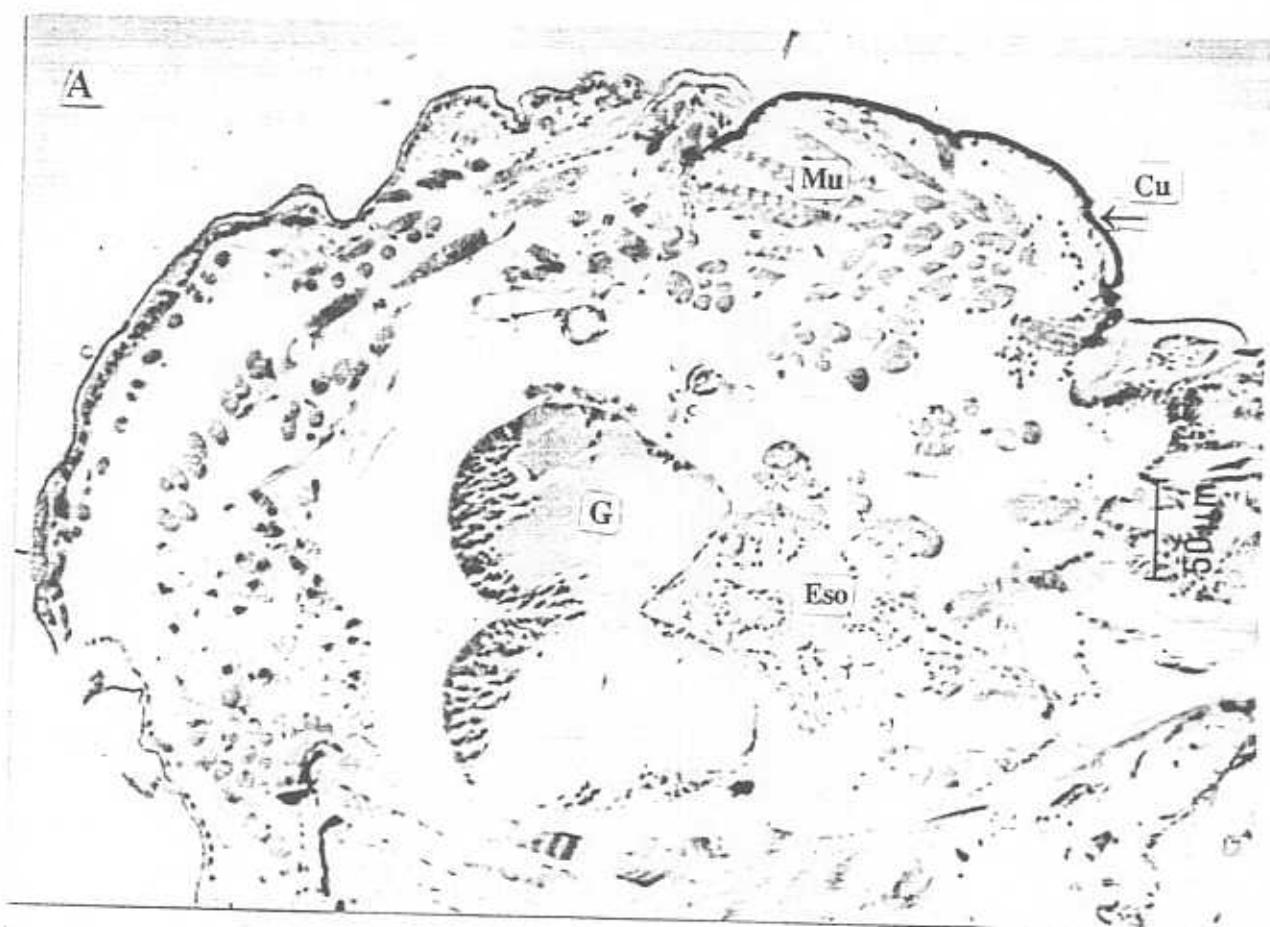
Eso : Esophagus

Cu : Cuticle

Mu : Muscle

GI : Gastrointestinal tract

G : Ganglion



ภาพที่ 6A ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการดองด้วย
น้ำยา Carnoy's solution (กำลังขยาย x200)

ภาพที่ 6B ภาพ Photomicrograph แสดง long section ของตัวหนอนไหมวัย 1 ผ่านการดองด้วย
น้ำยา Carnoy's solution (กำลังขยาย x200)

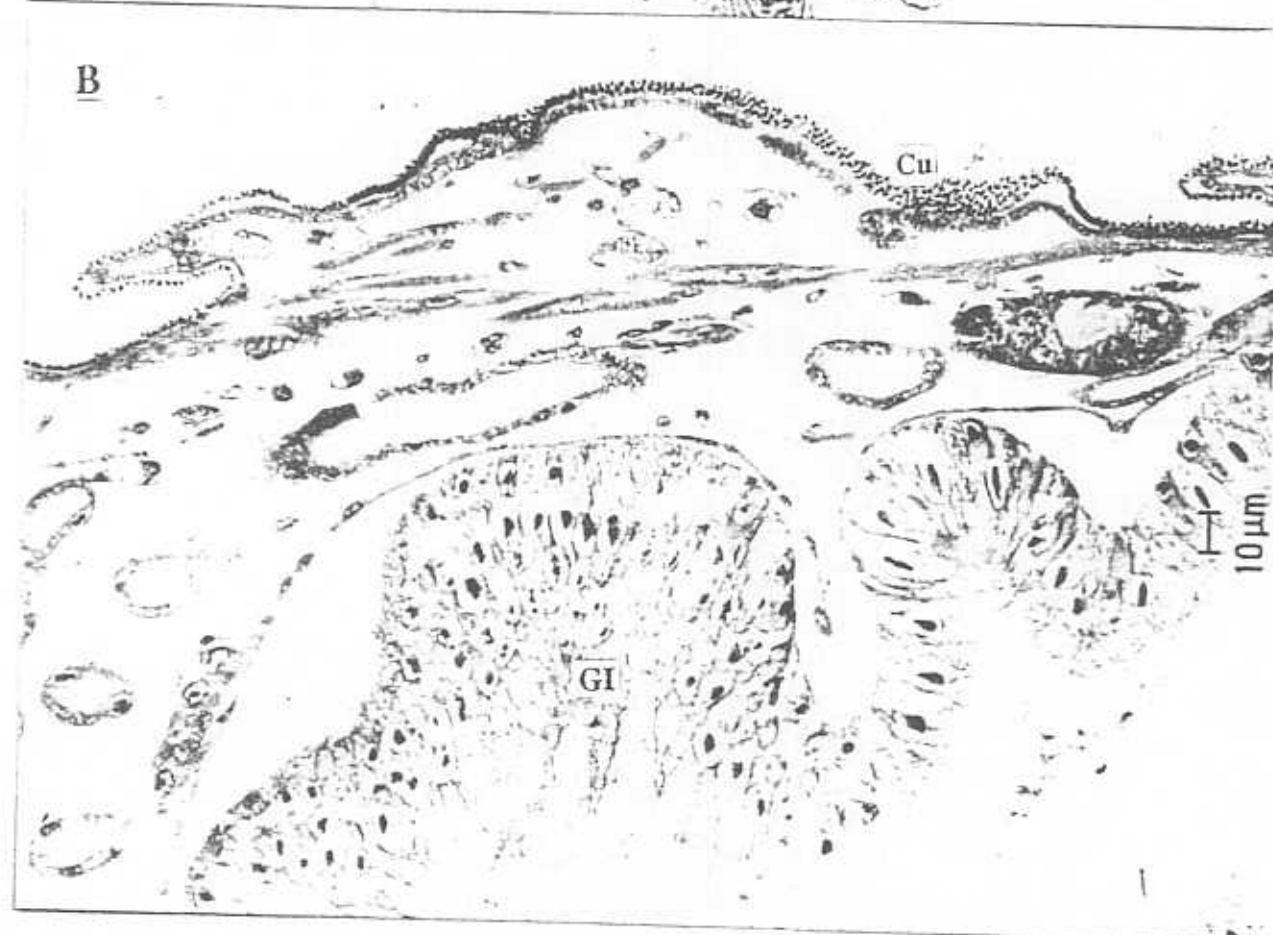
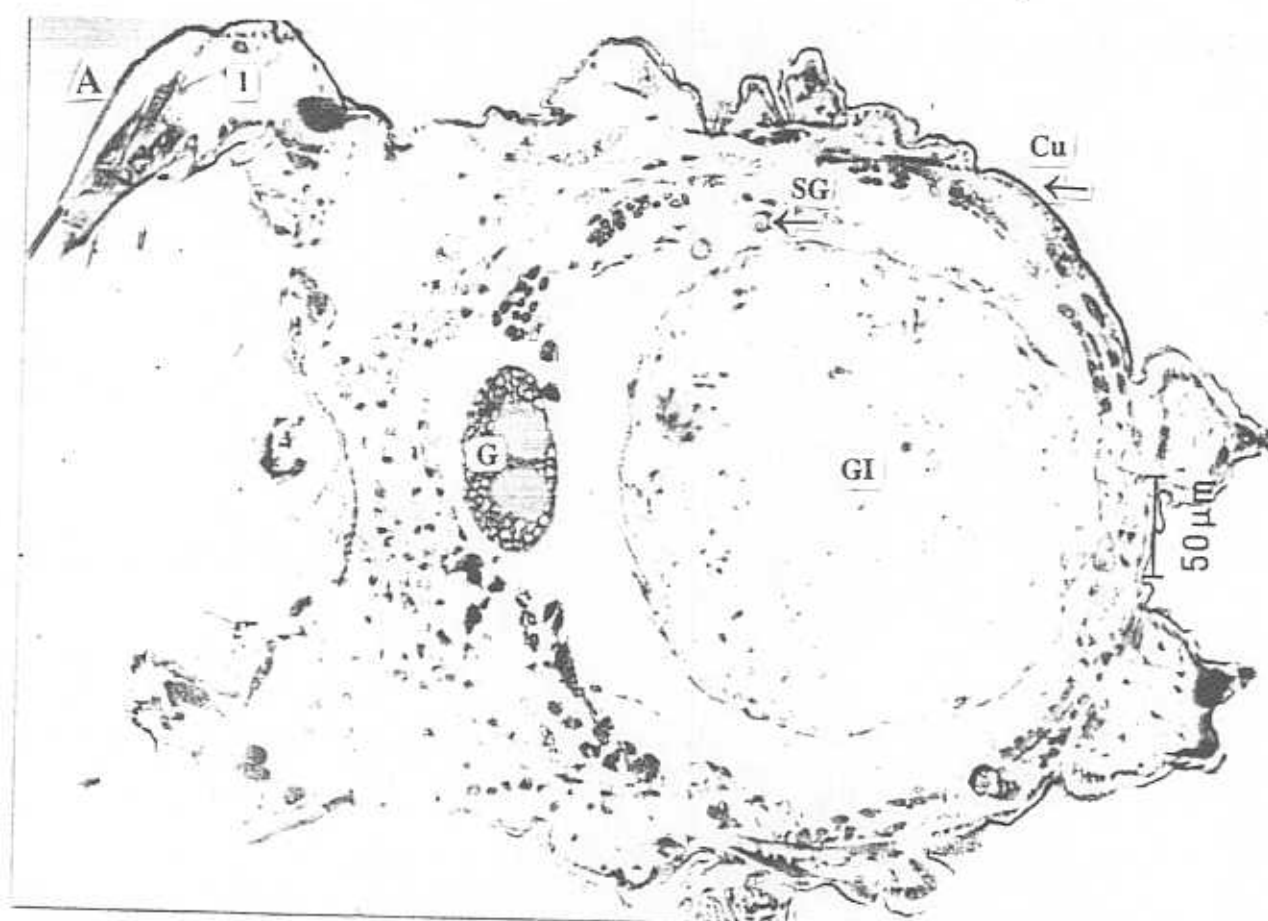
GI : Gastrointestinal tract

G : Ganglion

SG : silk Gland

I : Leg

Cu : Cuticle



ภาพที่ 7A ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 พบต่อมสร้าง
เส้นไหมส่วนหน้า (กำลังขยาย x400)

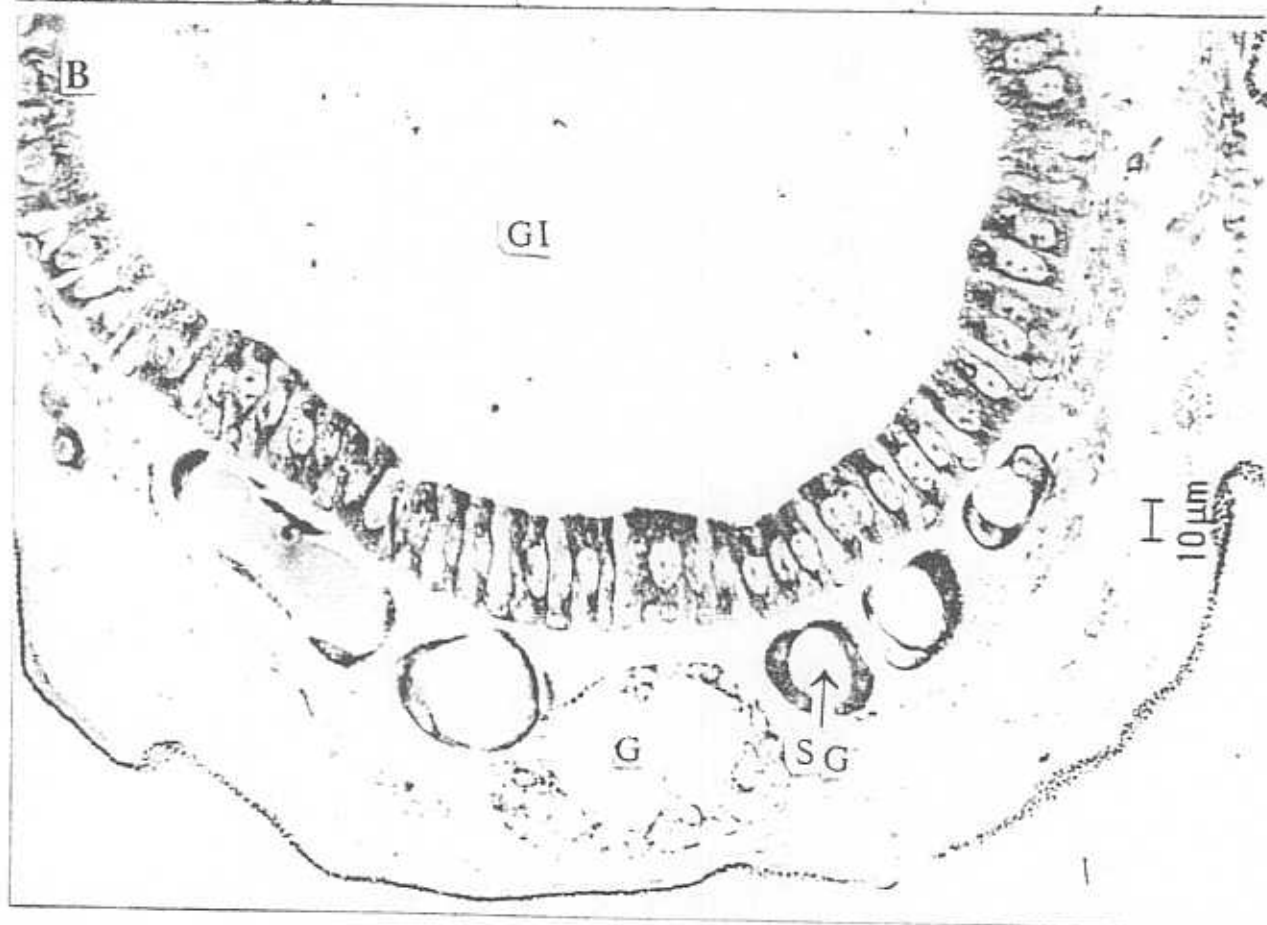
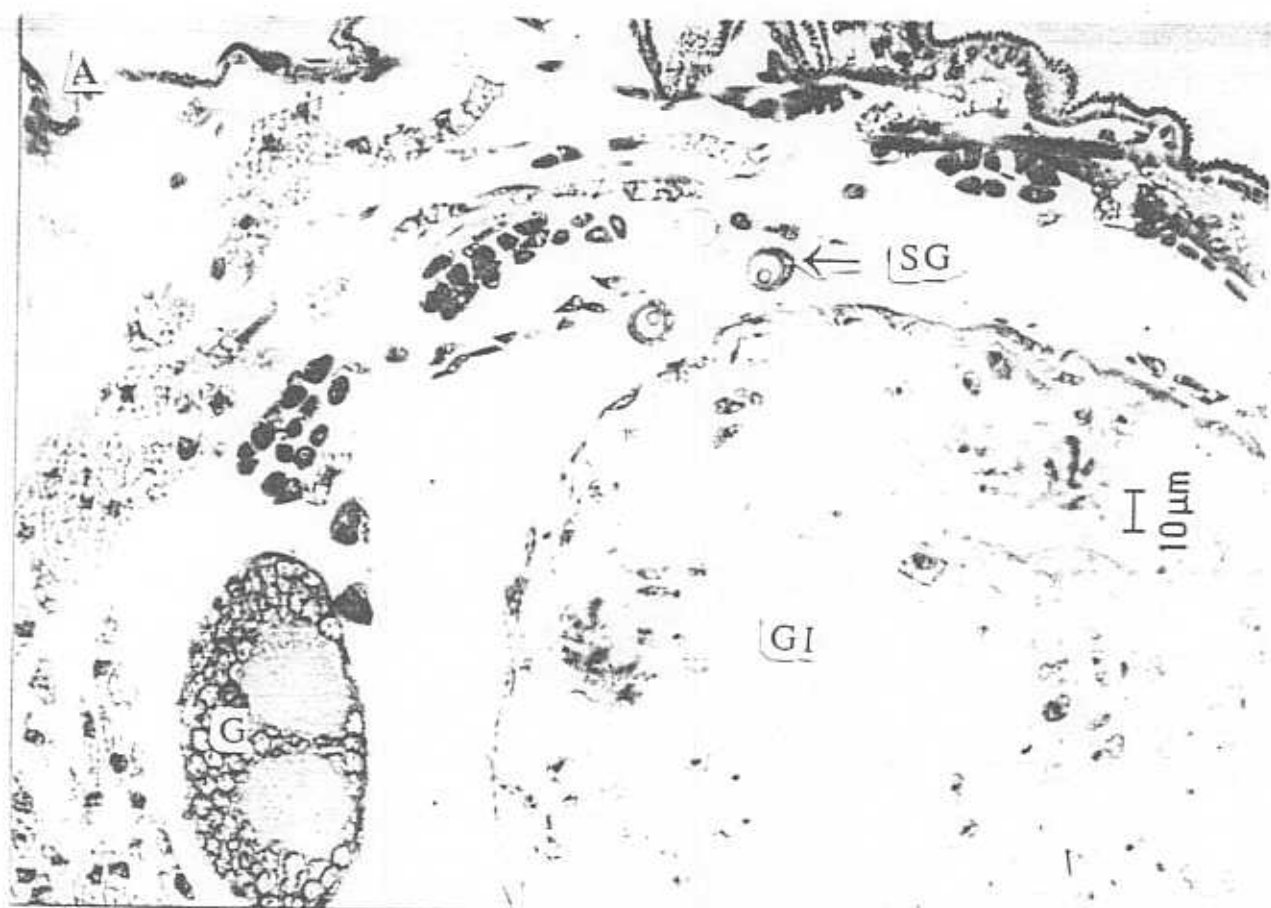
7B ภาพ Photomicrograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 พบต่อมสร้าง
เส้นไหมส่วนกลาง (กำลังขยาย x400)

7C ภาพ microphotograph แสดง cross section ของตัวหนอนไหมวัย 1 พบต่อมสร้าง
เส้นไหมส่วนท้าย กำลังขยาย 40x10

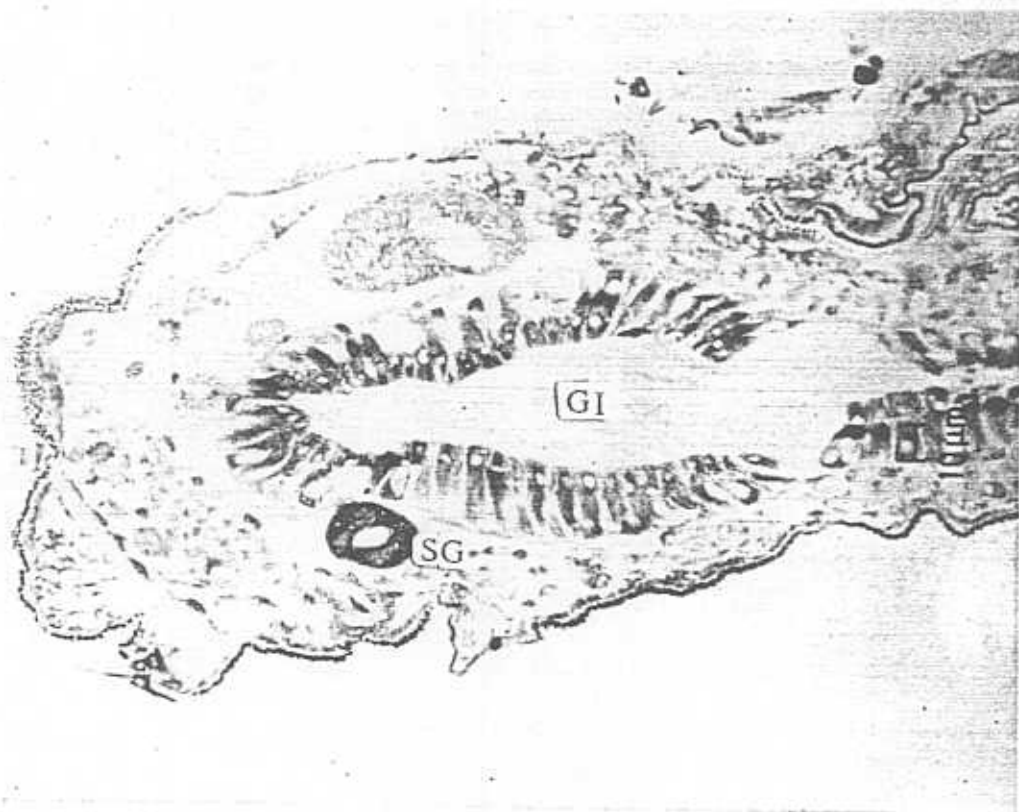
SG : Silk Gland

GI : Gastrointestinal tract

G : Ganglion



(C)



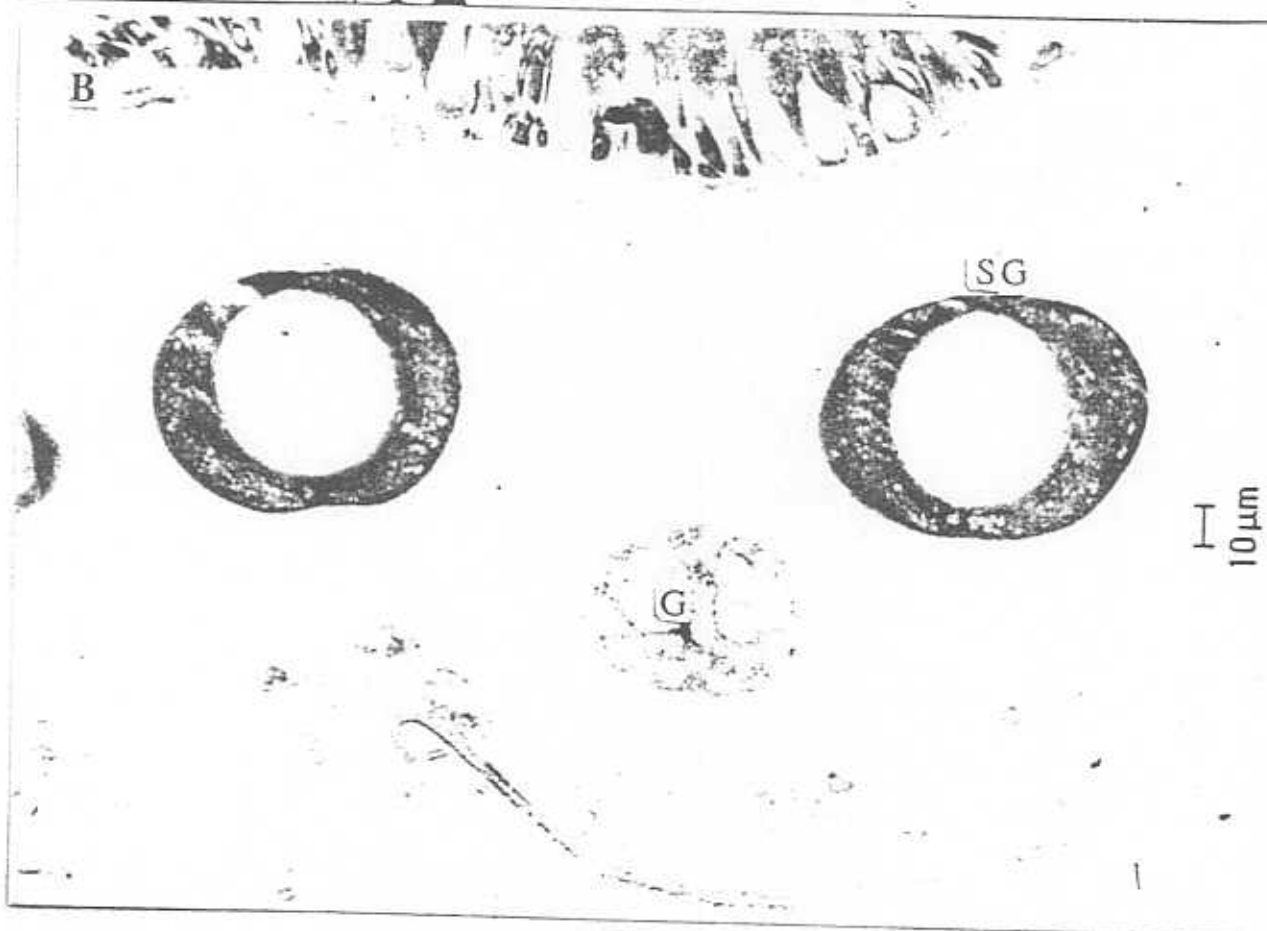
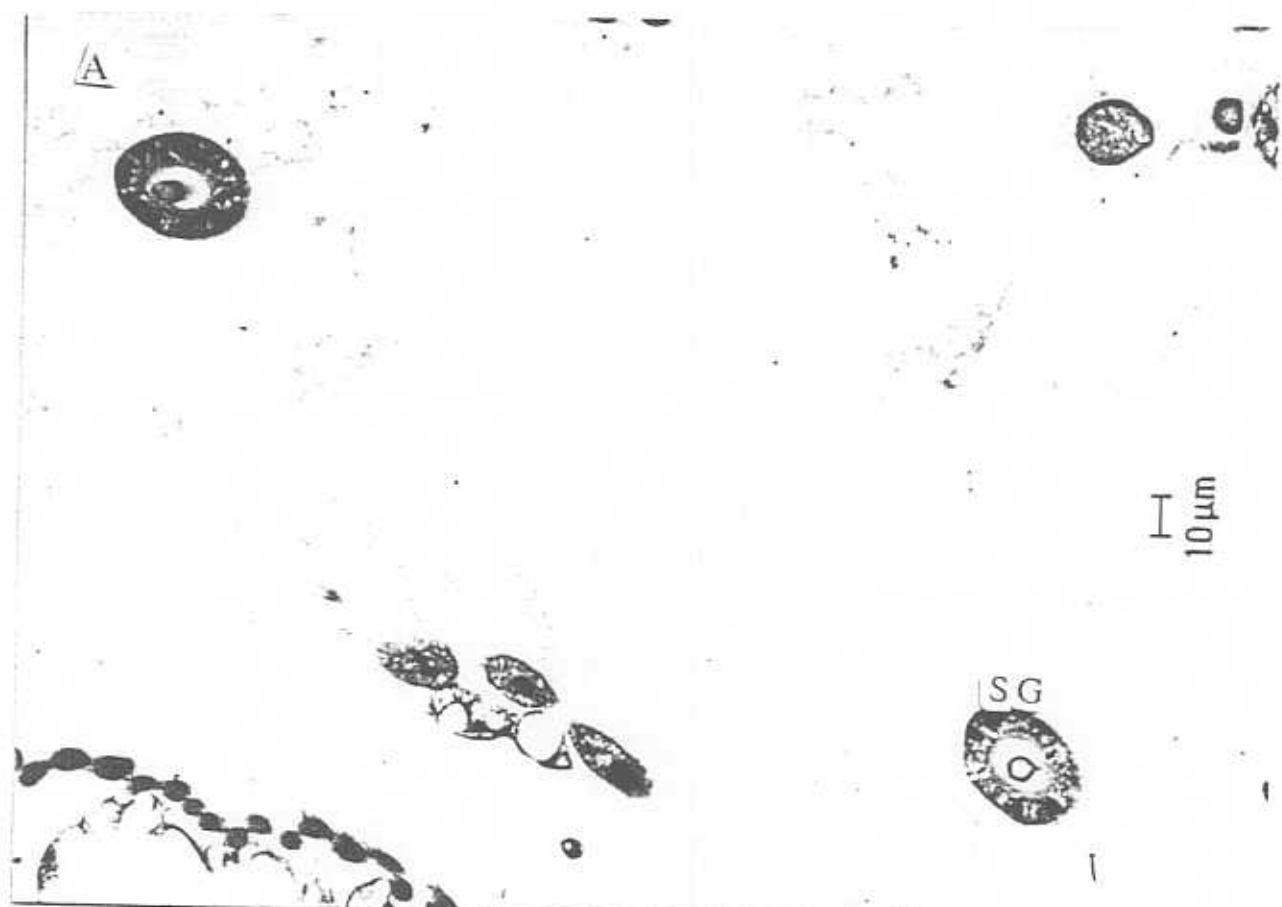
ภาพที่ 8A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของหนอนไหม
วัย 2 (กำลังขยาย x400)

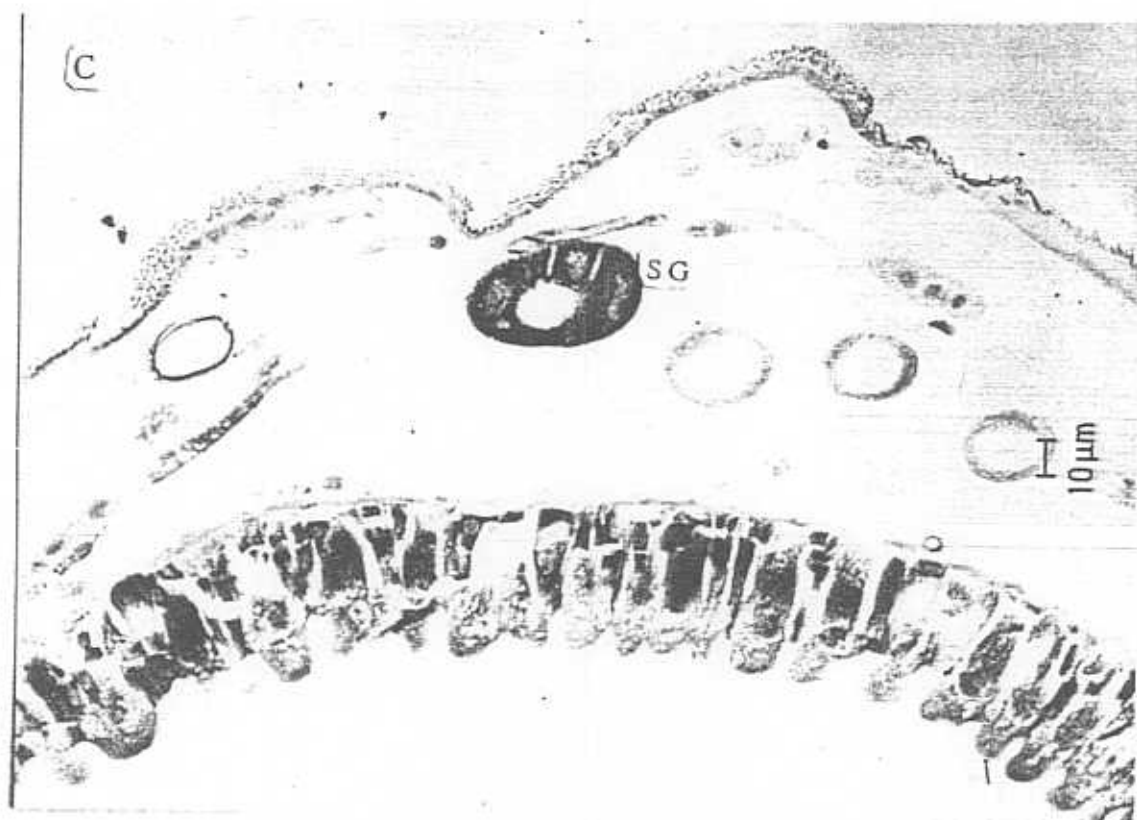
8B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของหนอนไหม
วัย 2 (กำลังขยาย x400)

8C ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของหนอนไหม
วัย 2 (กำลังขยาย x400)

SG : Silk Gland

G : Ganglion





ภาพที่ 9A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของ
หนอนไหมวัย 3 (กำลังขยาย x400)

9B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของ
หนอนไหมวัย 3 (กำลังขยาย x400)

9C ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของ
หนอนไหมวัย 3 (กำลังขยาย x400)

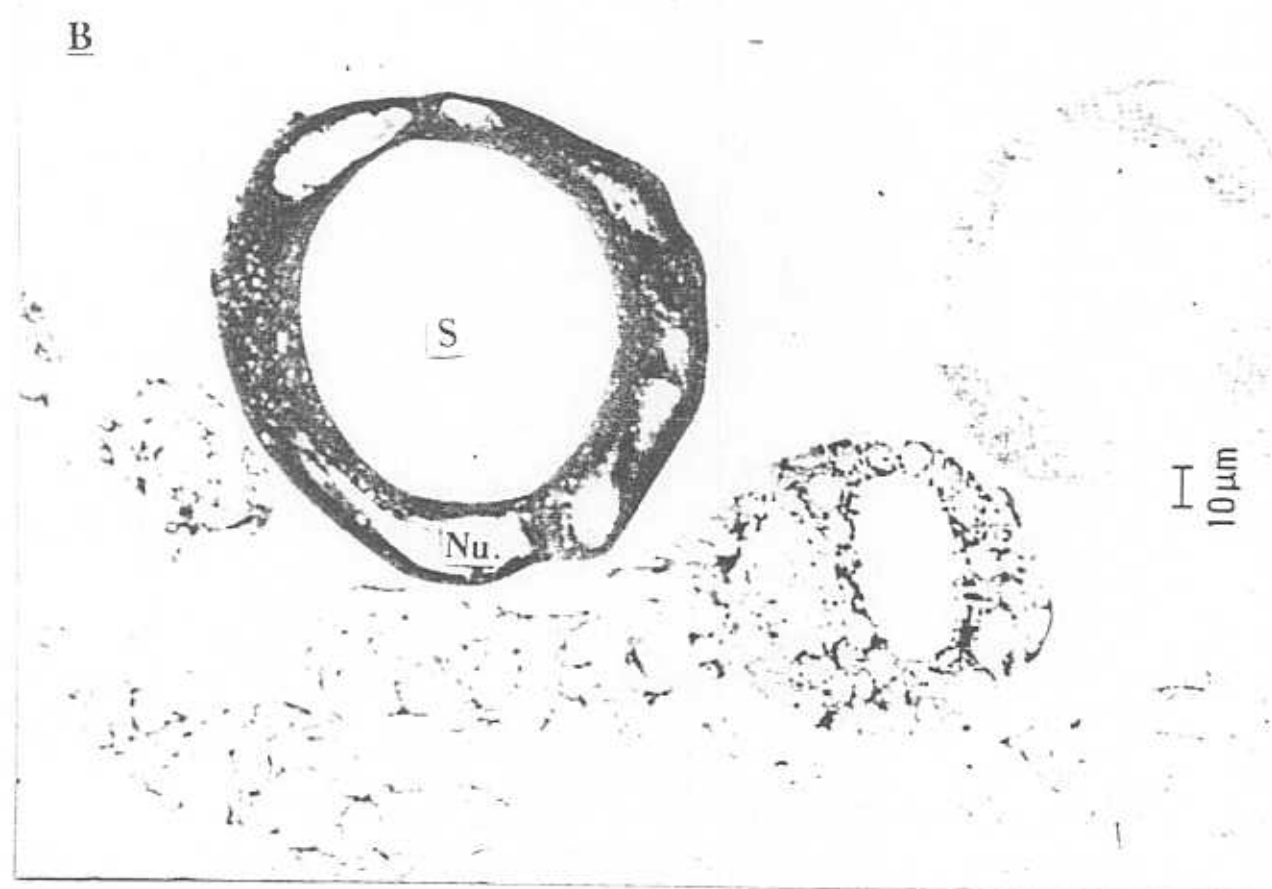
SG : Silk Gland

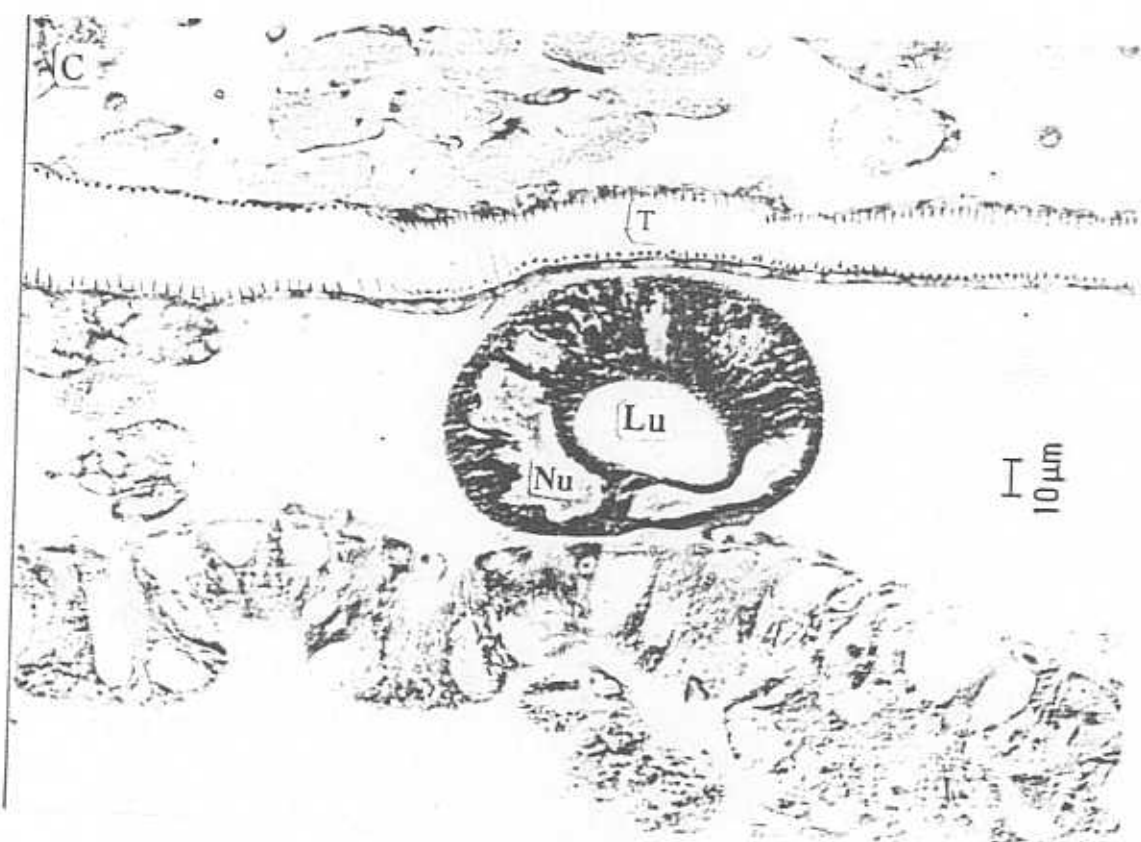
T : Tracheal tube

Nu : Nucleus

Lu : Lumen

S : Silk





ภาพที่ 10A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของ
หนอนไหมวัย 4 (กำลังขยาย x400)

10B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของ
หนอนไหมวัย 4 (กำลังขยาย x400)

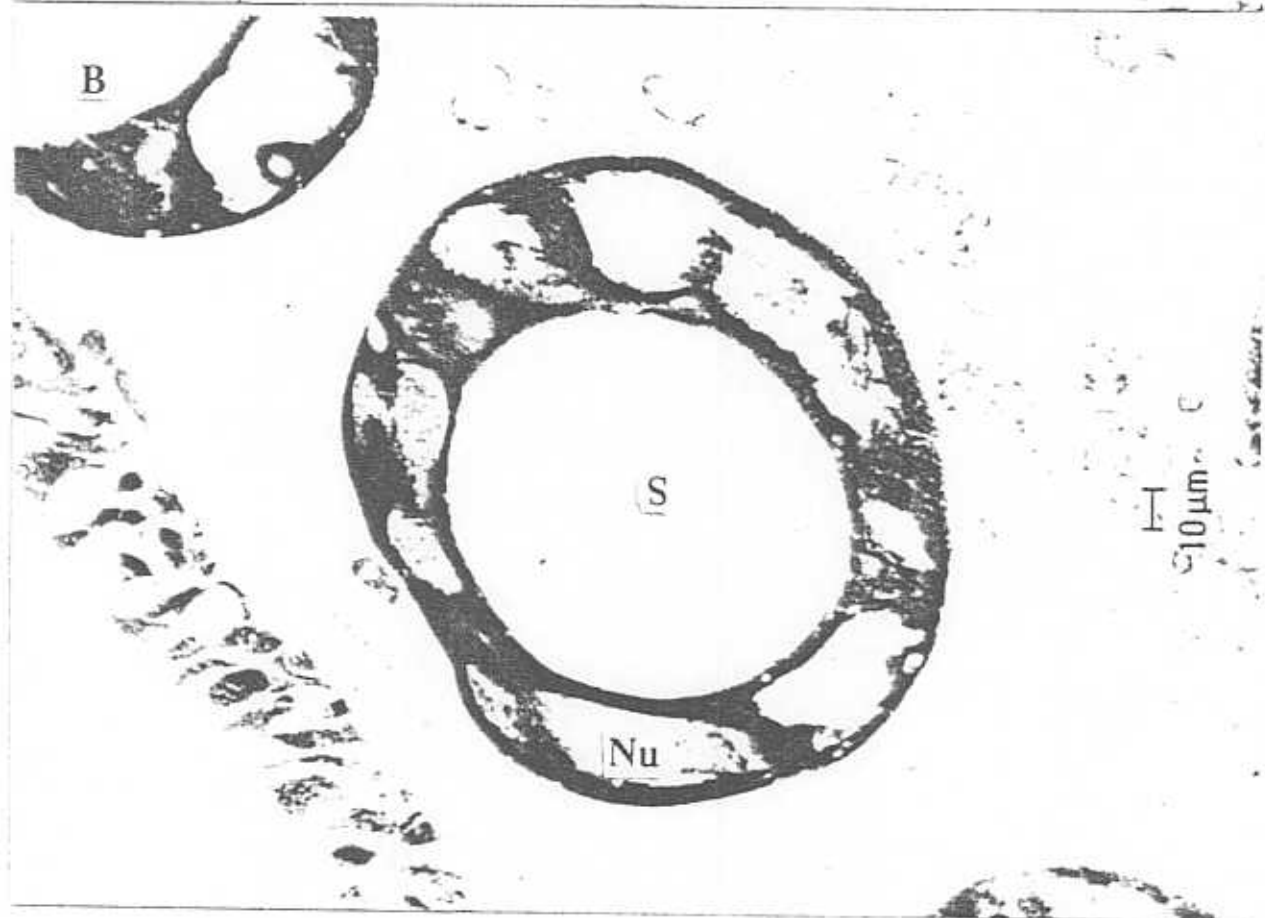
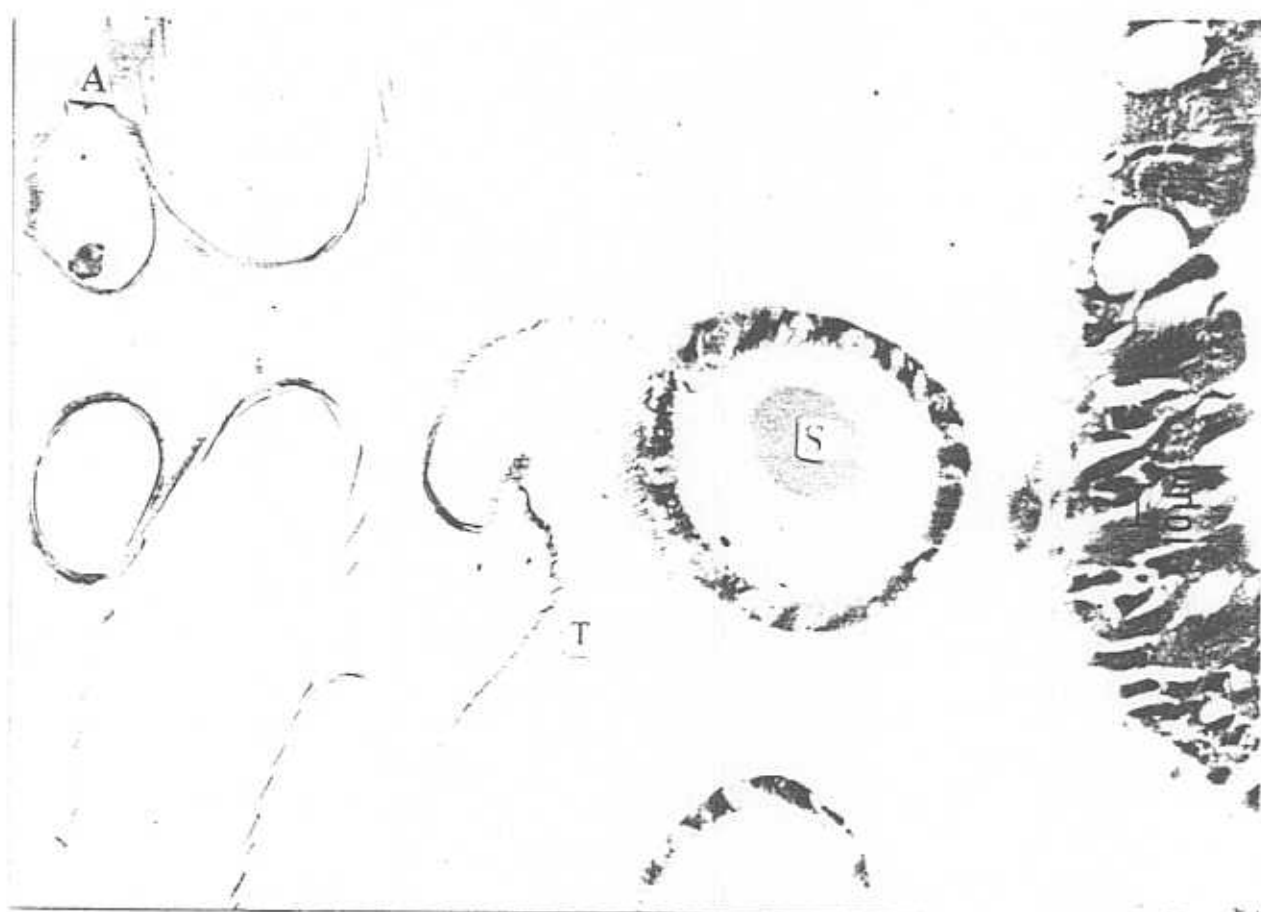
10C ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของ
หนอนไหมวัย 4 (กำลังขยาย x400)

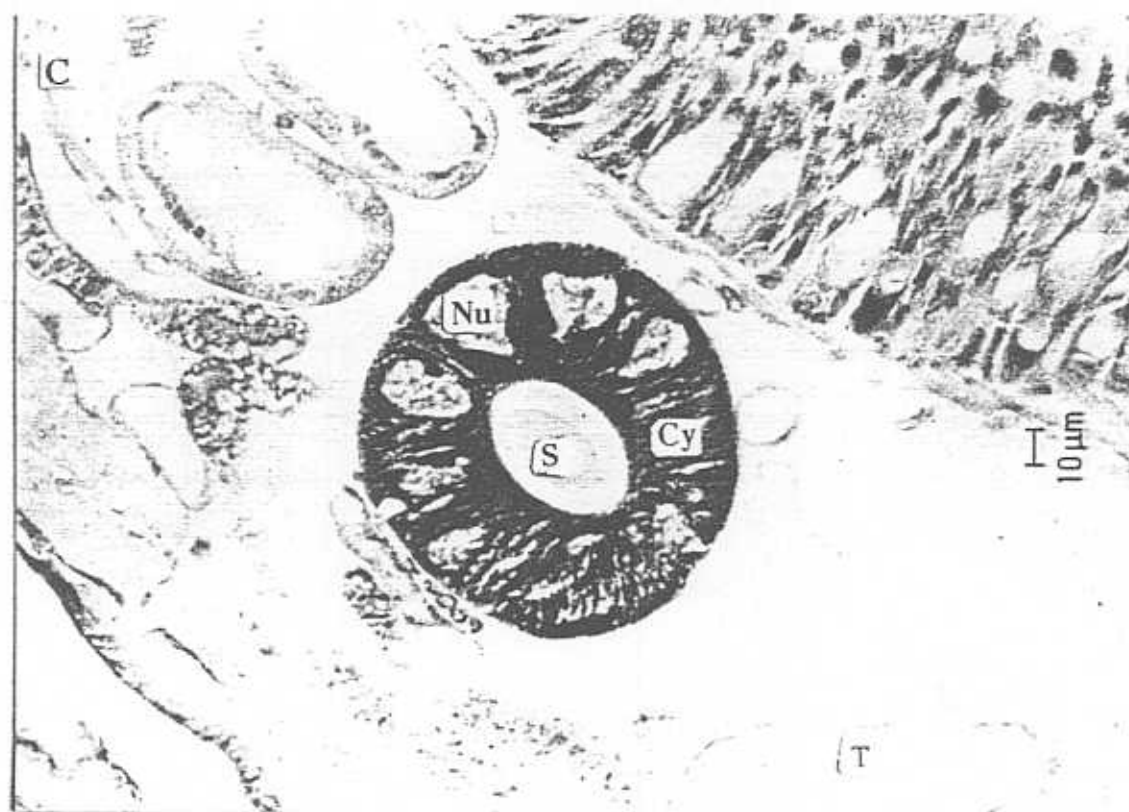
S : Silk

T : Tracheal tube

Nu : Nucleus

Cy : Cytoplasm





ภาพที่ 11A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของ
หนอนไหมวัย 5 (กำลังขยาย x200)

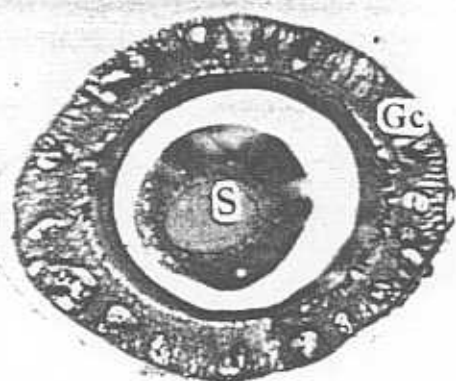
11B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของ
หนอนไหมวัย 5 (กำลังขยาย x200)

11C ภาพ light micrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของ
หนอนไหมวัย 5 (กำลังขยาย x200)

S : Silk

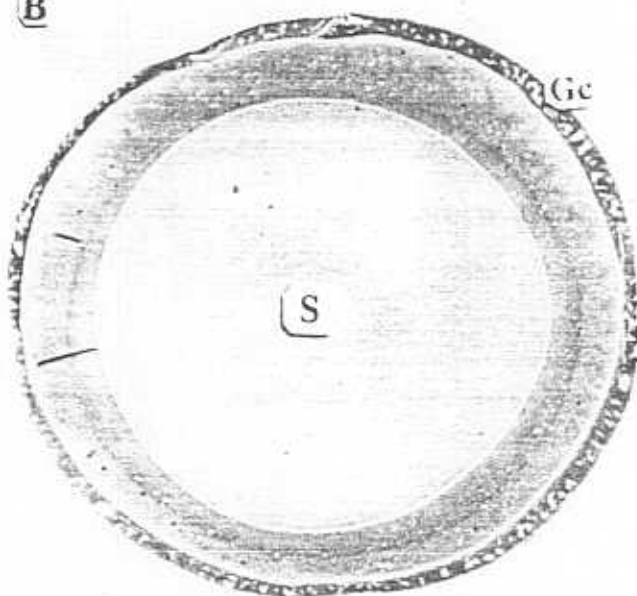
Gc : Gland cell

A

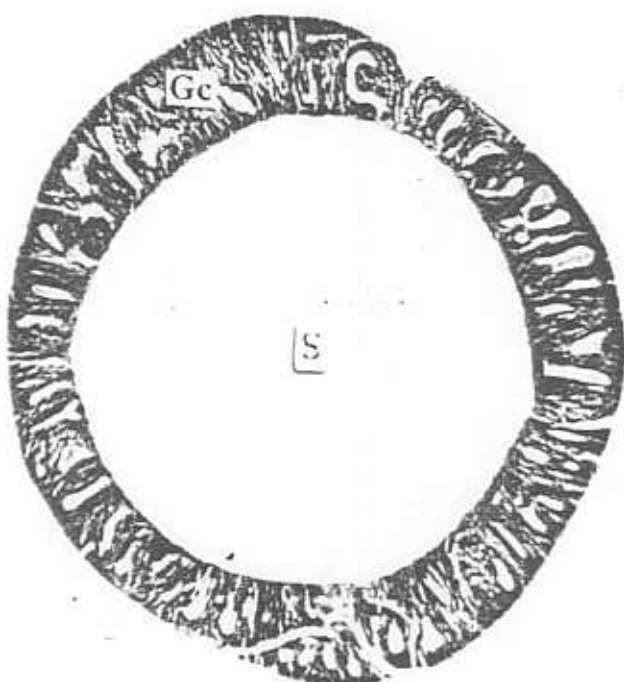


50 μ m

B



C



100 μ m

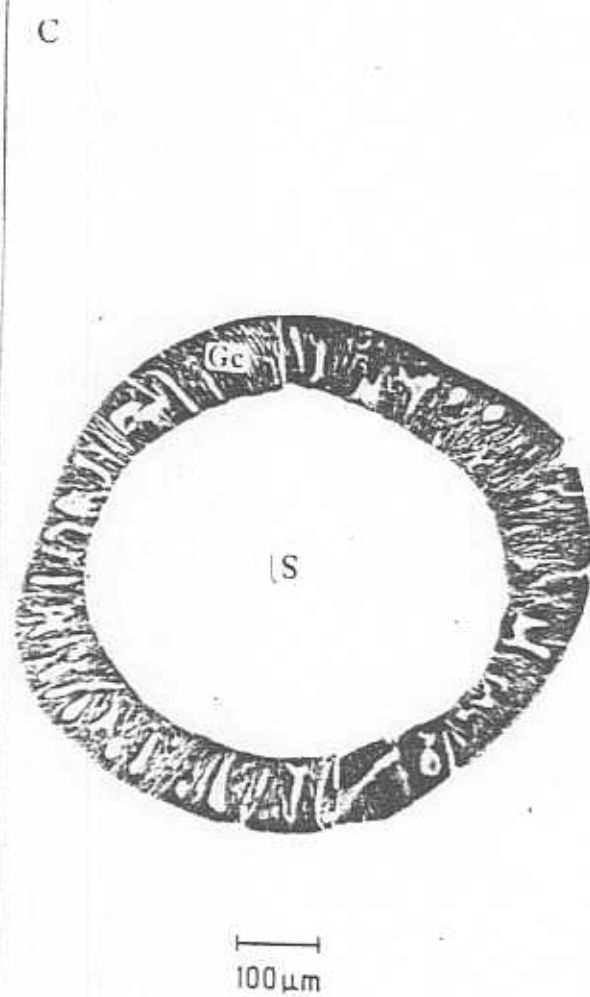
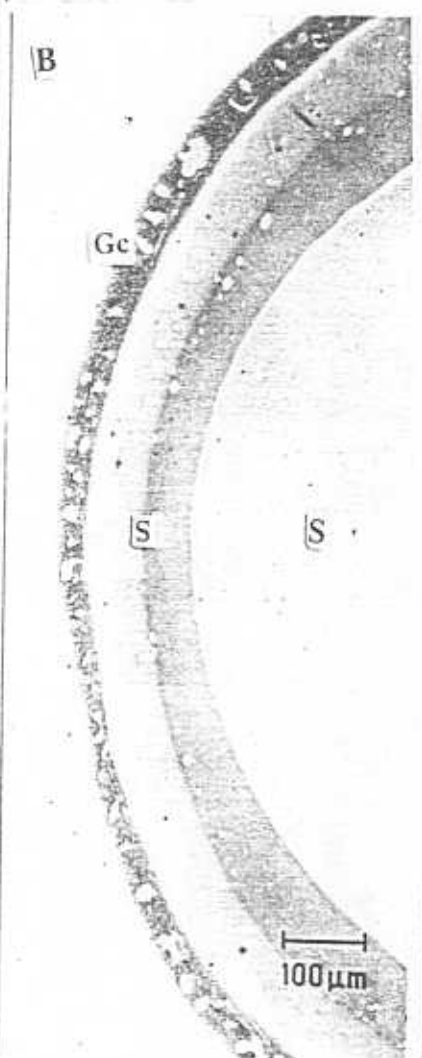
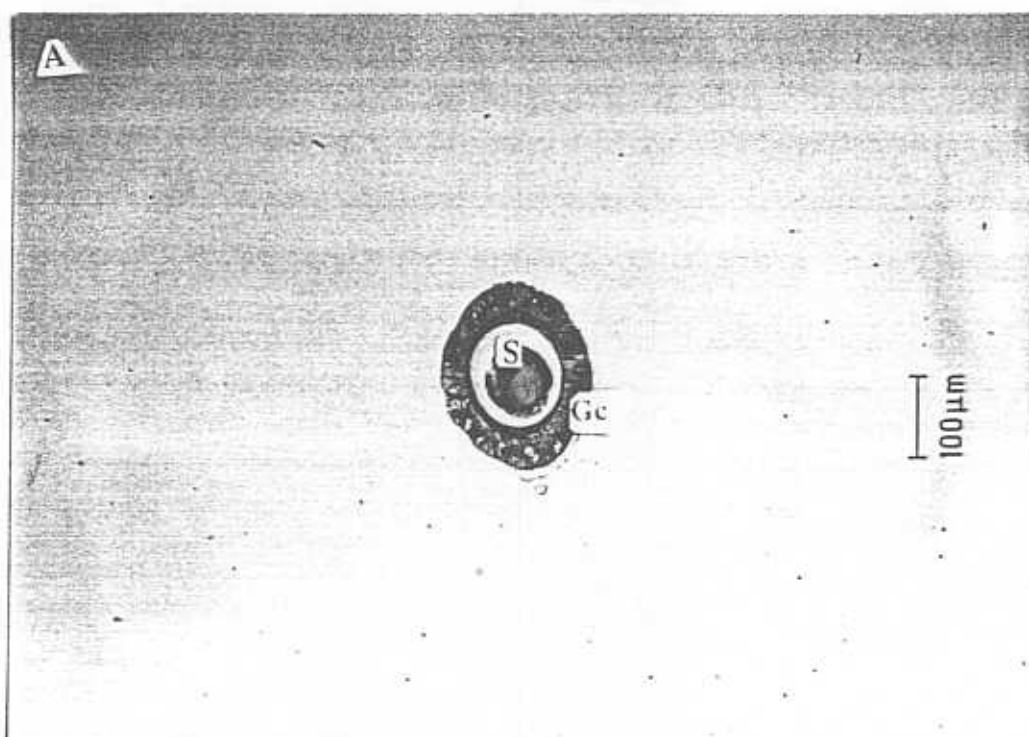
ภาพที่ 12A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x100)

12B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x100)

12C ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x100)

S : Silk

Gc : Gland cell



ภาพที่ 13A ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x400)

13B ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลางของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x400)

13C ภาพ Photomicrograph แสดงหน้าตัดของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้ายของหนอนไหม
วัย 5 (กำลังขยาย x400)

S : Silk

Tp : Tunica propria

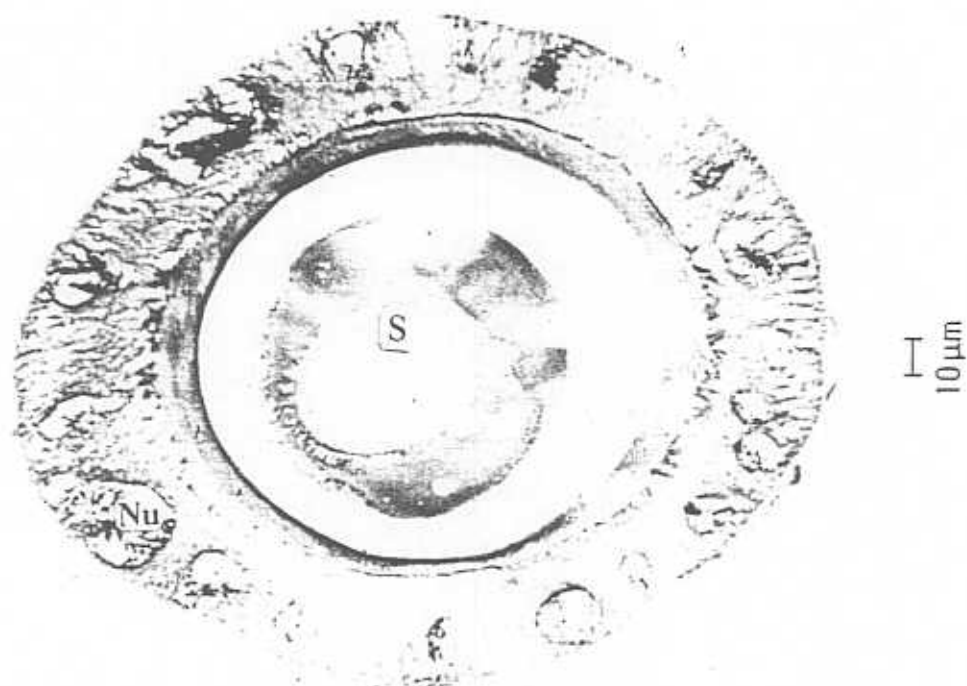
Cy : Cytoplasm

Gc : Gland cell

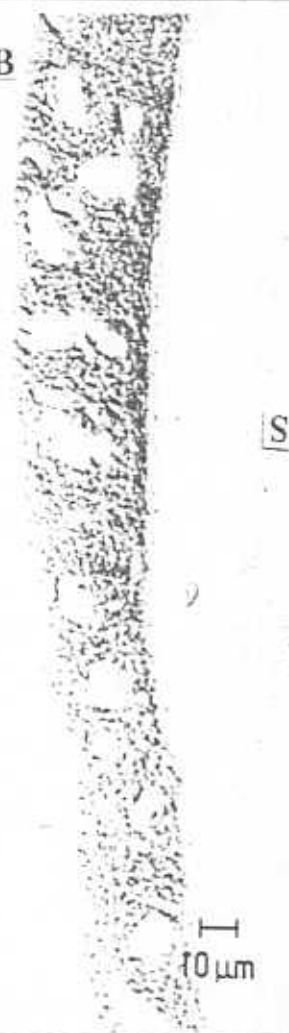
Nu : Nucleus

Ti : Tunica intima

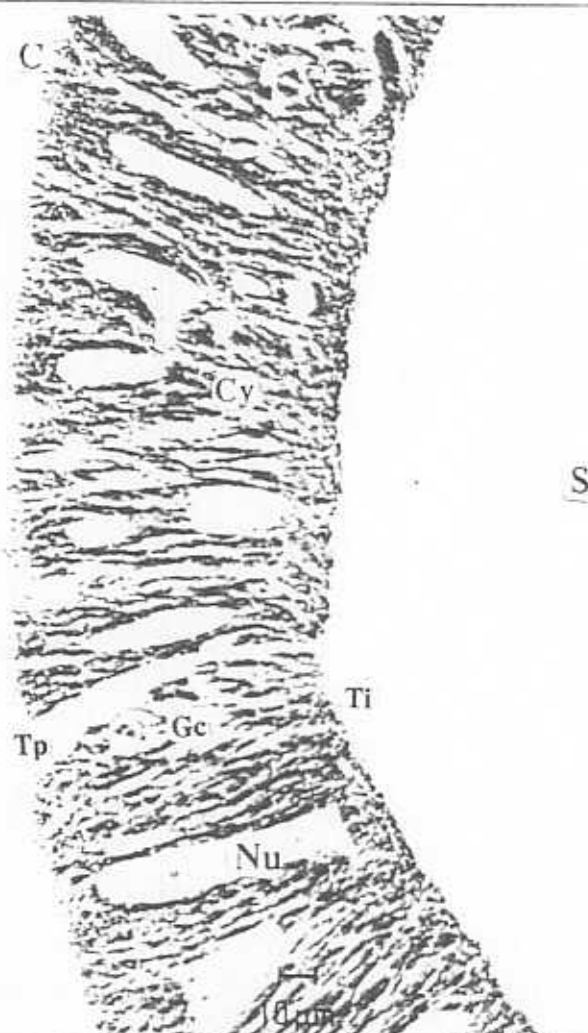
A



B



C



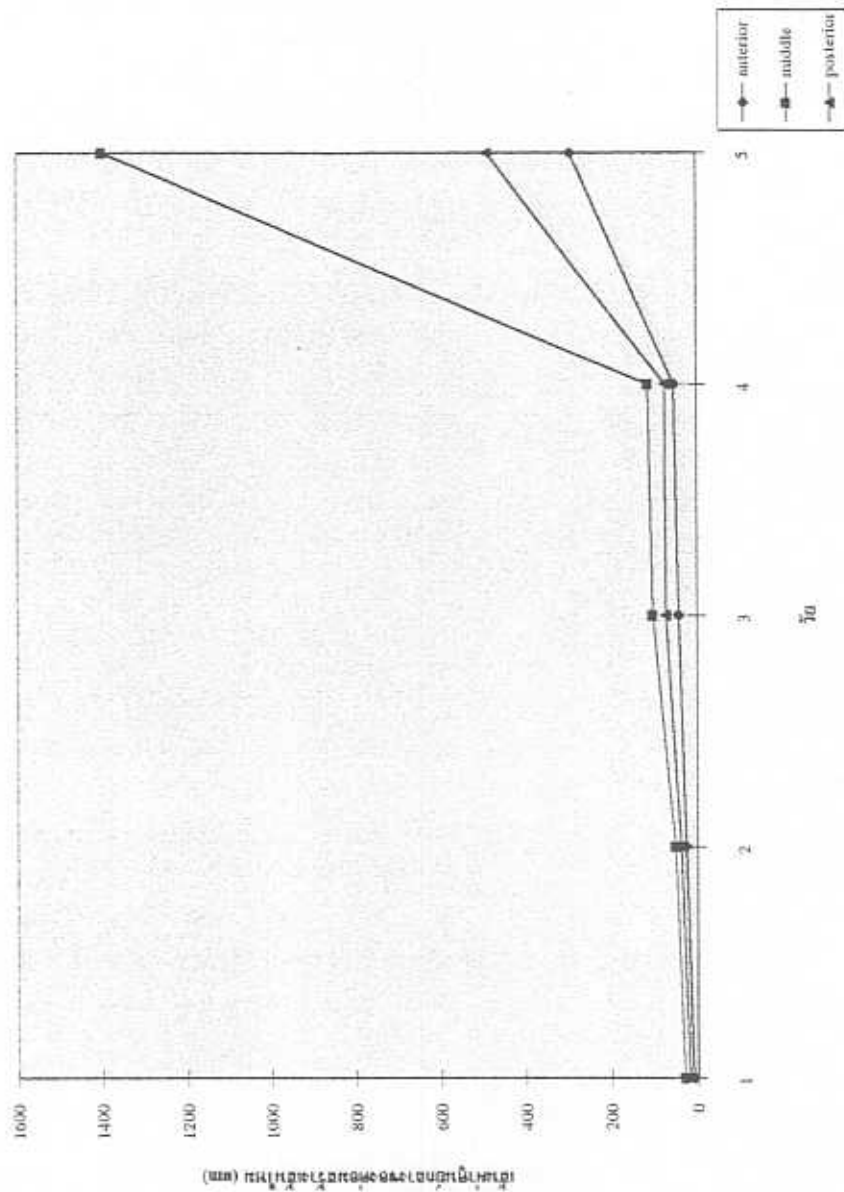
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของคอมสร้างเส้นไหม (μm) ในส่วน Anterior, Middle, และ Posterior

ส่วน/วัย	1	2	3	4	5
anterior	12.68	28.36	45.41	55.57	295.42
middle	32.84	54.28	106.07	116.73	1399.67
posterior	21.58	40.85	75.57	76.28	490.53

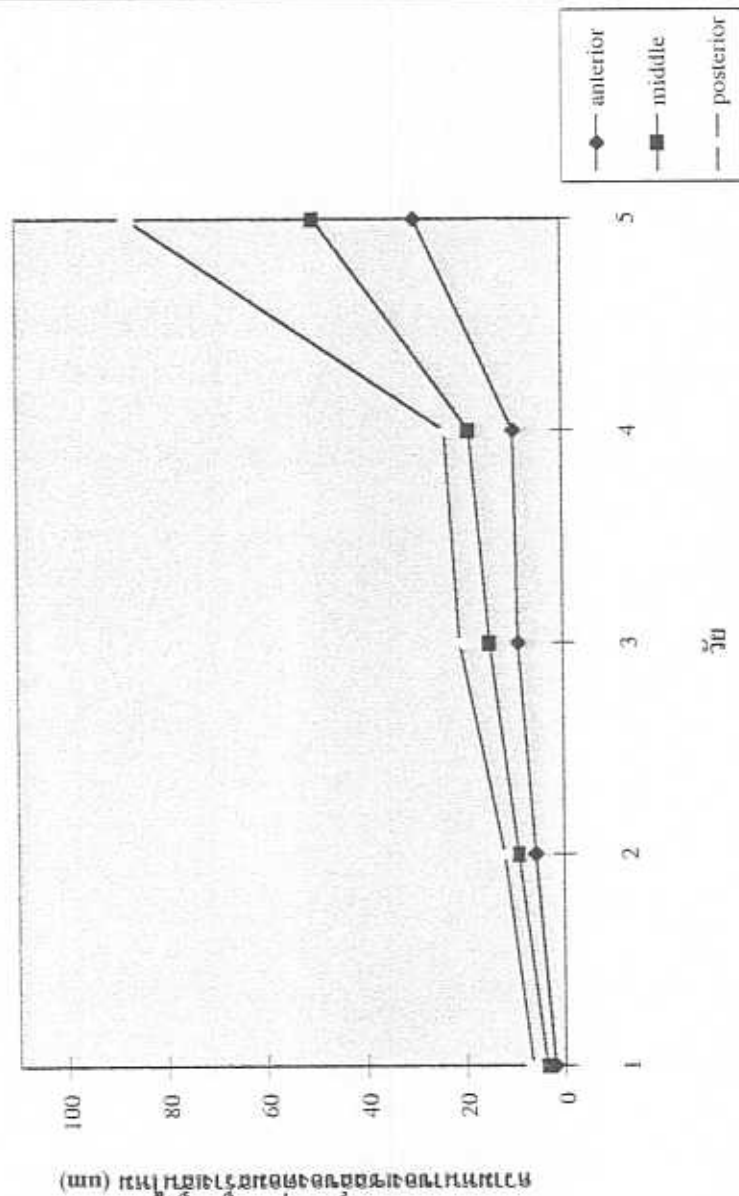
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของเซลล์ของคอมสร้างเส้นไหม(μm)ในส่วนAnterior, Middle, และ Posterior

ส่วน/วัย	1	2	3	4	5
anterior	2.25	5.96	9.28	10.12	30.05
middle	3.83	9.42	15.15	19.15	50.13
posterior	6.73	12.28	21.25	24.03	87.57

แผนภูมิแสดง ความสามารถของตัวกรอง



แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความหนาของเซลล์ของตอมต่างตาม



ภาพที่ 16A ภาพ TEM แสดงต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า bar = 8.61 ไมโครเมตร

ภาพที่ 16B ภาพ TEM แสดงบริเวณ basal cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า พบนิวเคลียส
ที่แตกแขนงและองค์ประกอบของเซลล์ bar = 3.65 ไมโครเมตร

Gc : Gland cell

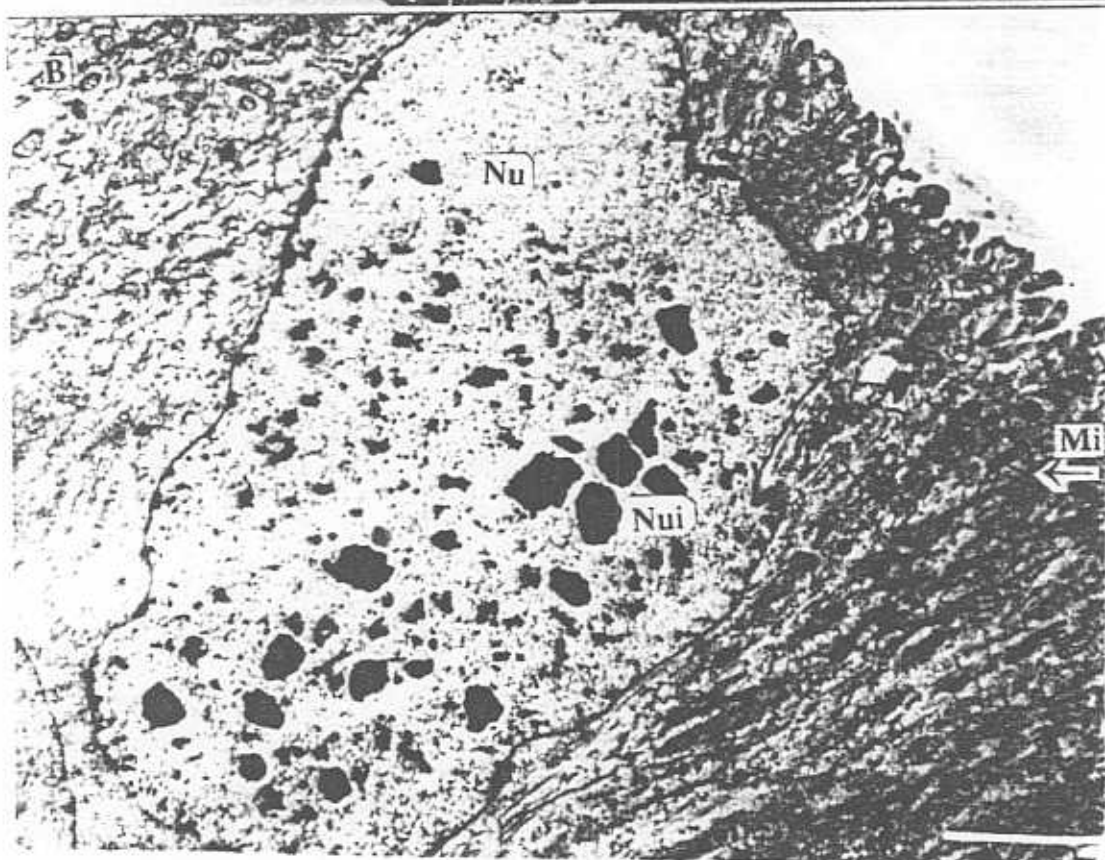
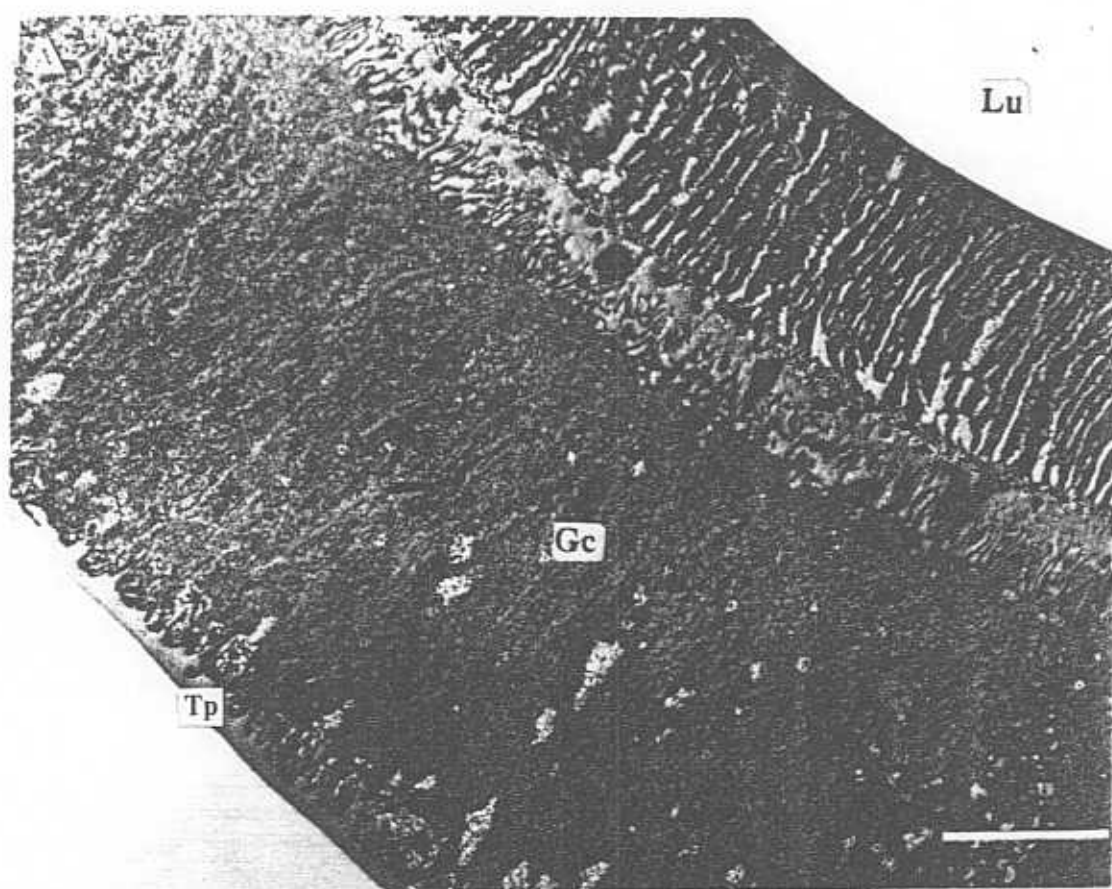
Lu : Lumen

Mi : Mitochondria

Nu : Nucleus

Nui : Nucleoli

Tp : tunica propria



ภาพที่ 17A ภาพ TEM กำลังขยายมากขึ้นแสดงบริเวณ basal cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า พบสารคัดหลั่งเป็นกลุ่มก้อนกระจายอยู่ทั่วไป bar = 2.13 ไมโครเมตร

ภาพที่ 17B ภาพ TEM แสดงด้านบนสุดของ basal cell มีลักษณะเป็น villi มี membrane บางๆ คลุมชั้นนอกสุด bar = 1.07 ไมโครเมตร

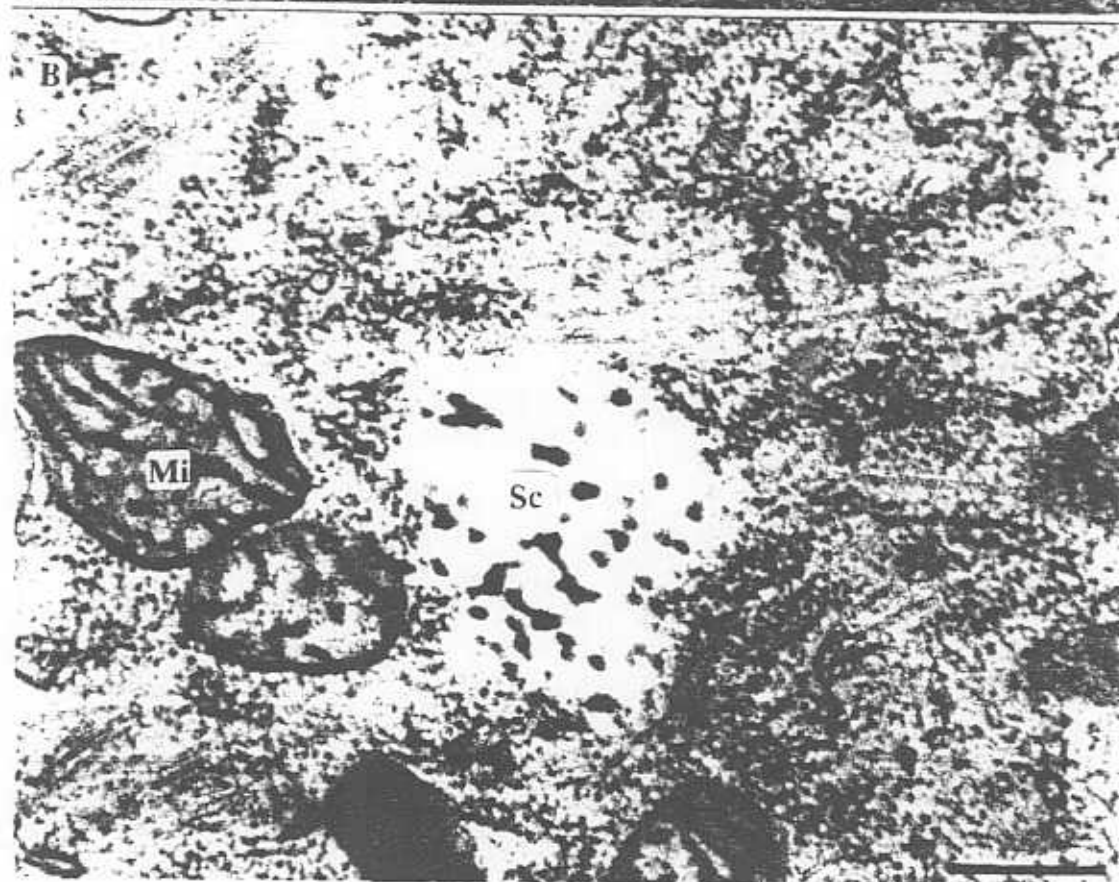
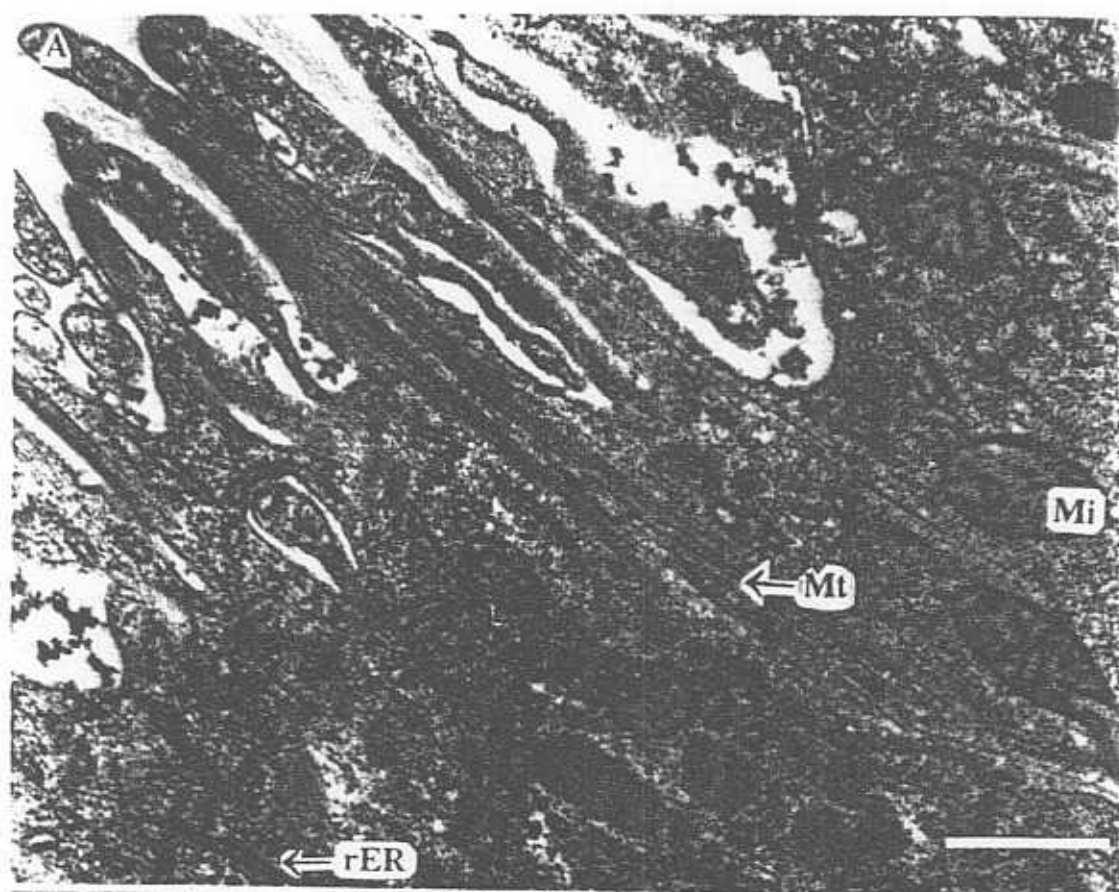
Mi : Mitochondria

Nu : Nucleus

Nui : Nucleoli

rER : rough Endoplasmic Reticulum

Sc : Secretion



ภาพที่ 18A ภาพ TEM แสดงบริเวณ villi กำลังขยายมากขึ้นของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า
ภายในมี microtubule bar = 0.75 ไมโครเมตร

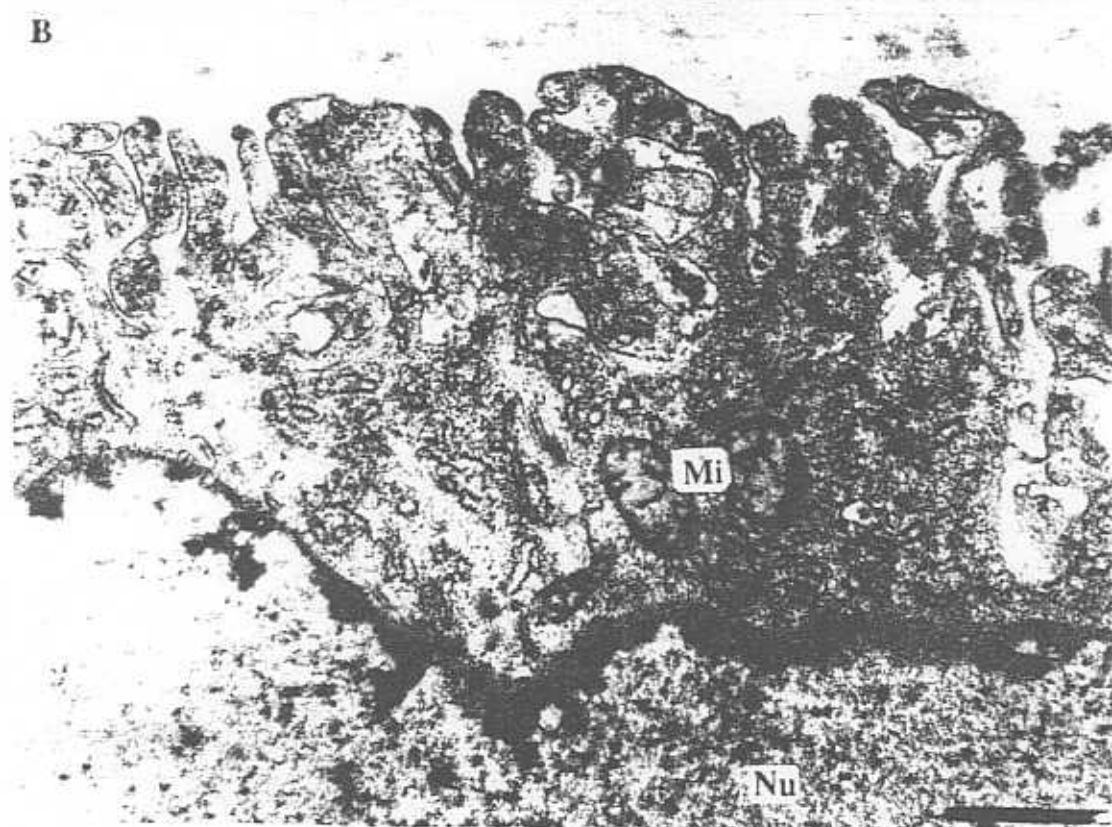
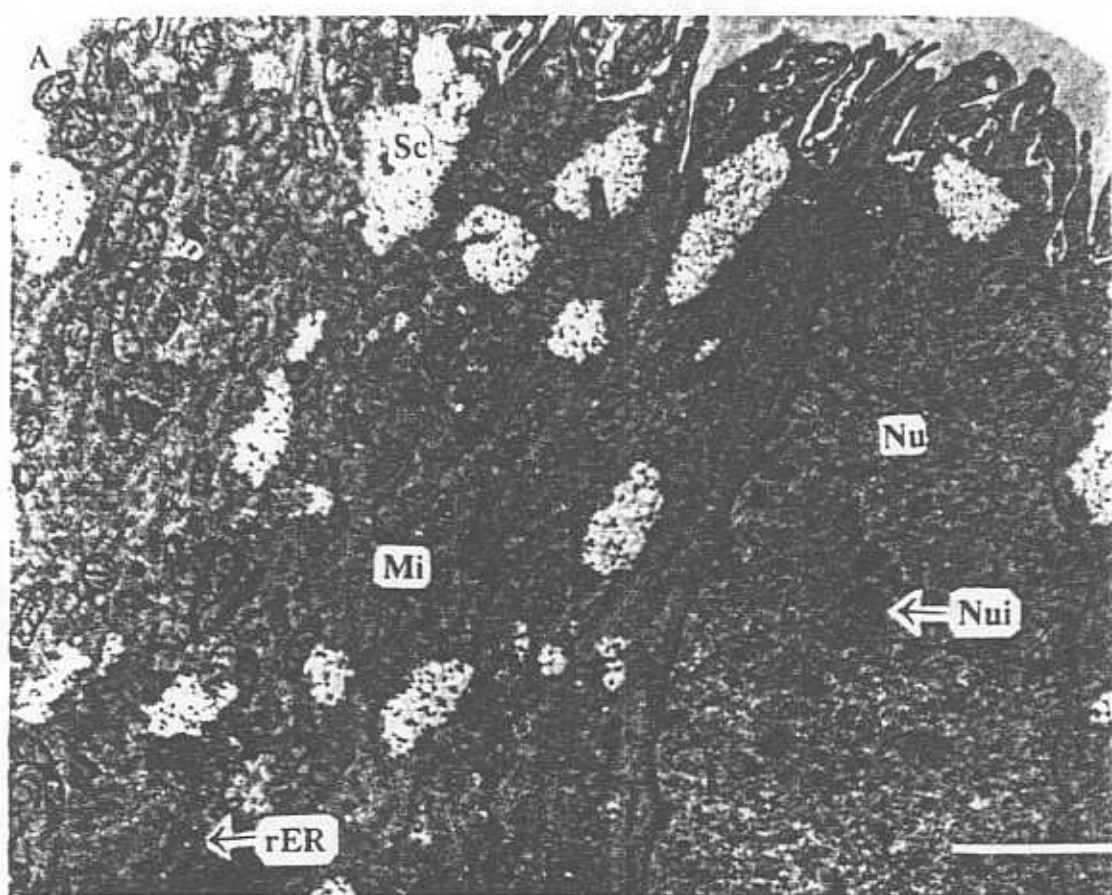
ภาพที่ 18B ภาพ TEM แสดงบริเวณภายใน gland cell พบสารคัดหลั่งอยู่เป็นกลุ่ม
bar = 0.43 ไมโครเมตร

Mi : Mitochondria

Mt : Microtubule

rER : rough Endoplasmic Reticulum

Sc : Secretion

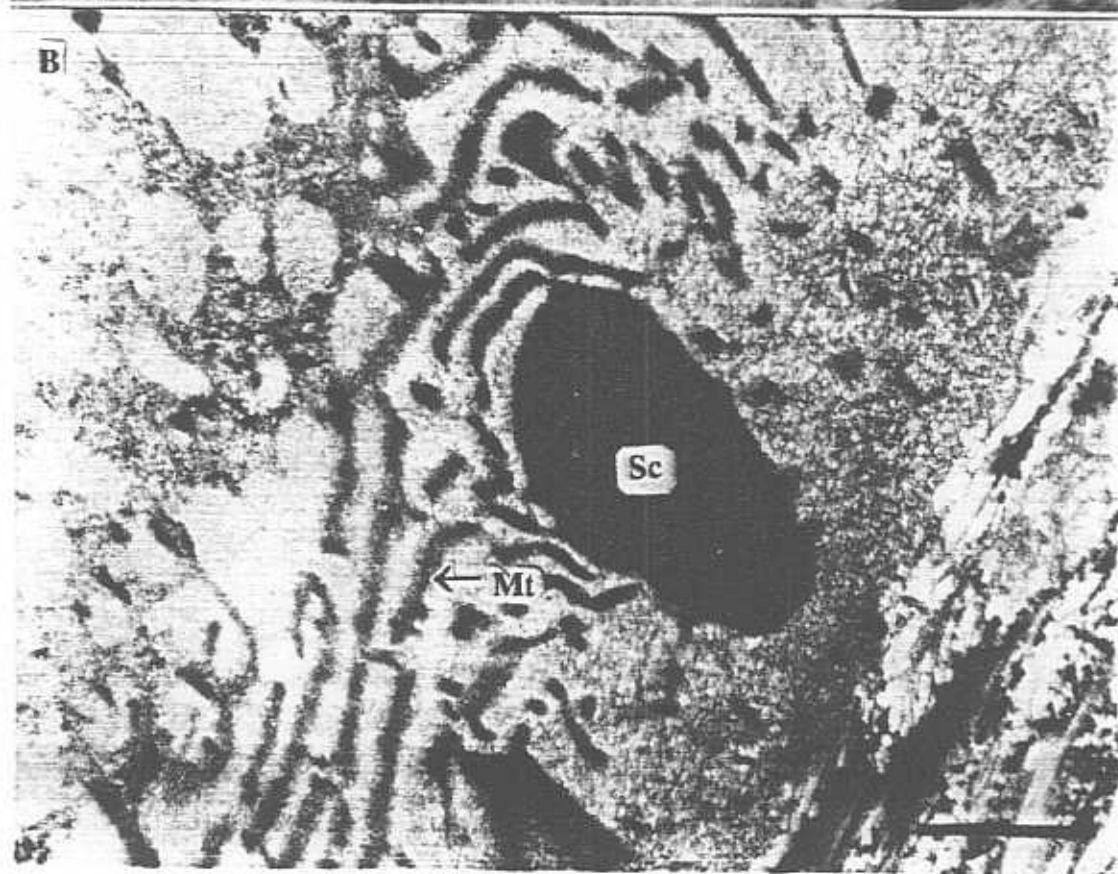


ภาพที่ 19A ภาพ TEM แสดงสารคัดหลั่งของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า
bar = 0.11 ไมโครมิเตอร์

ภาพที่ 19B ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้า พบ microtubule
เป็นจำนวนมากอยู่รอบๆสารคัดหลั่งสารคัดหลั่งบริเวณนี้มีลักษณะสีเข้มขึ้นกว่าตอน
กลางของเซลล์ต่อม bar = 1.07 ไมโครมิเตอร์

Mt : Microtubule

Sc : secretion

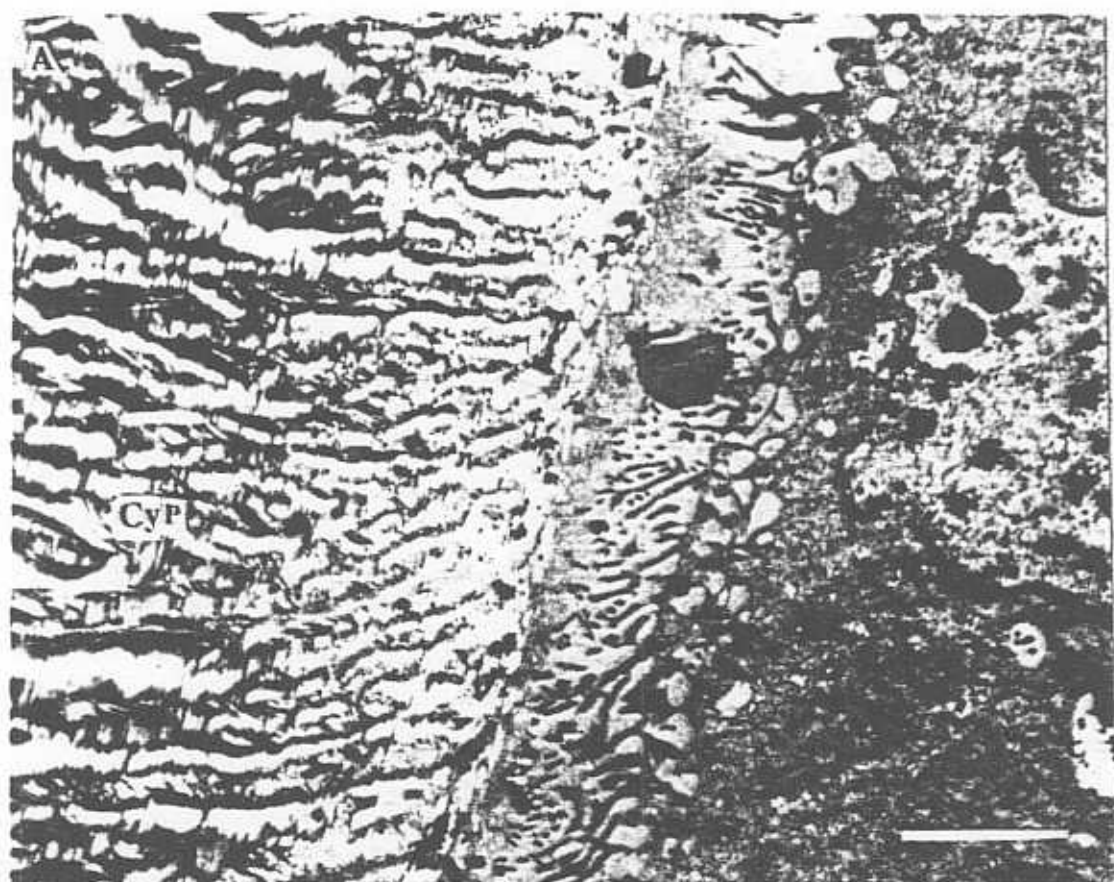


ภาพที่ 20A ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนหน้าพบ cytoplasmic process ยื่นเข้าไปใน lumen ของต่อม bar = 3.20 ไมโครเมตร

ภาพที่ 20B ภาพ TEM แสดงบริเวณรอยต่อระหว่าง gland cell กับ cytoplasmic process
bar = 1.28 ไมโครเมตร

CyP : Cytoplasmic Process

Mt : Microtubule



ภาพที่ 21A ภาพ TEM แสดงคอมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง พบ nucleus ที่แตกแขนงมี nucleoli อยู่ภายในองค์ประกอบของเซลล์ และท่อหายใจกระจายอยู่ทั่วไป บางท่ออยู่ชิดกับ nucleus bar = 1.60 ไมโครเมตร

ภาพที่ 21B ภาพ TEM แสดงบริเวณตอนกลางของ gland cell พบองค์ประกอบของเซลล์ อยู่ทั่วไป มี Golgi complex อยู่เป็นแท่งๆและพบสารคัดหลั่งกระจายโดยทั่วไป bar = 0.51 ไมโครเมตร

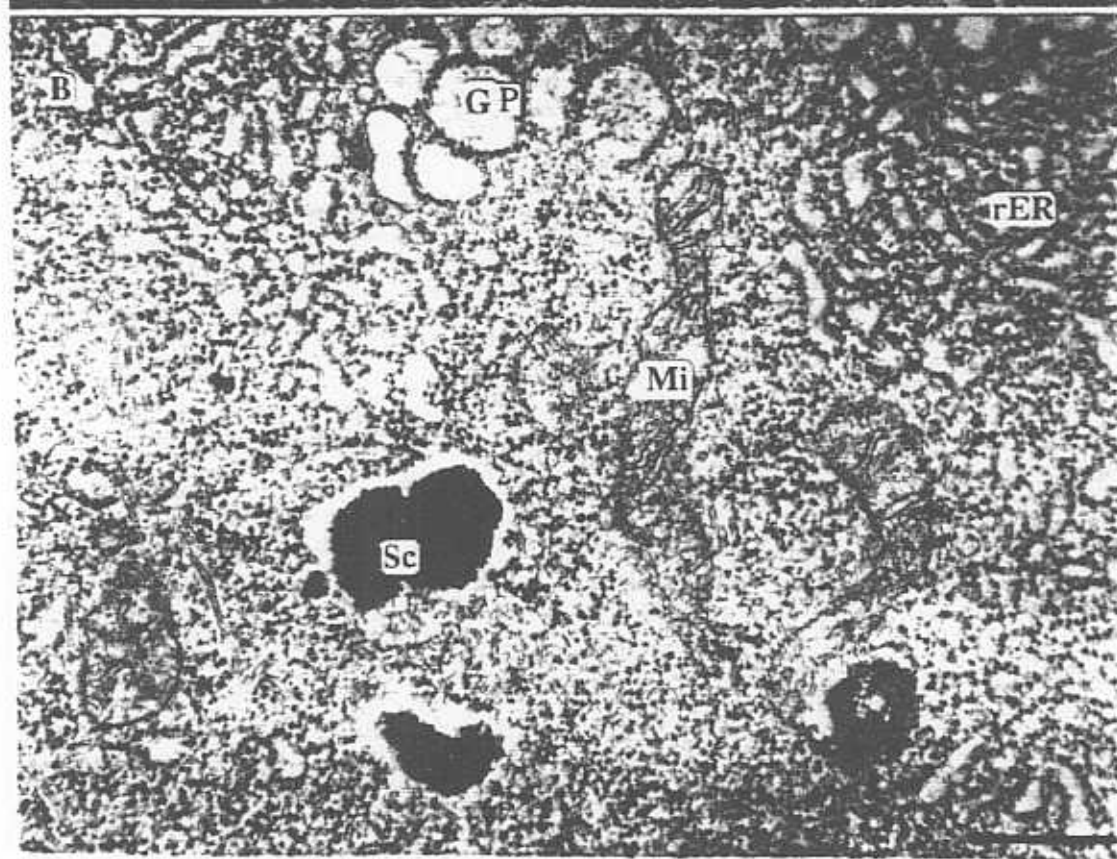
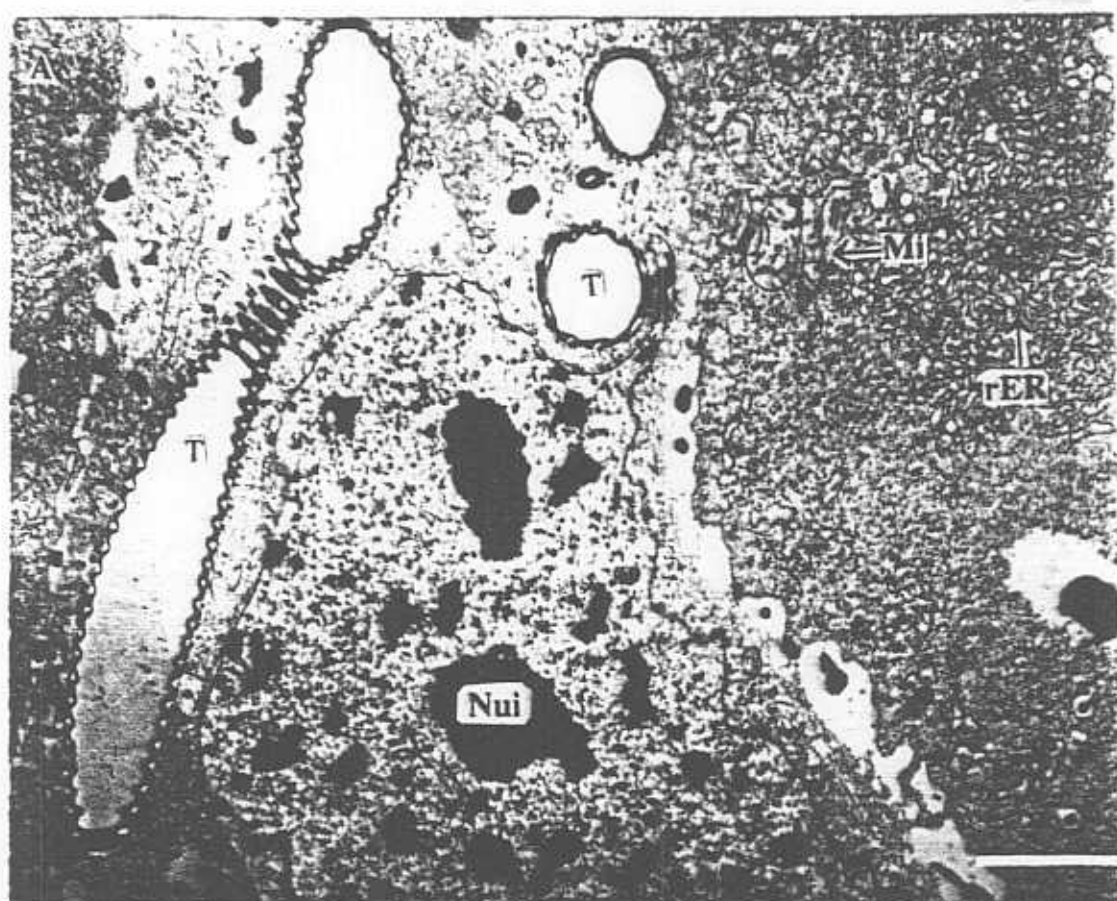
GP : Golgi Complex

Mi : Mitochondria

Nui : Nucleoli

rER : rough Endoplasmic Reticulum

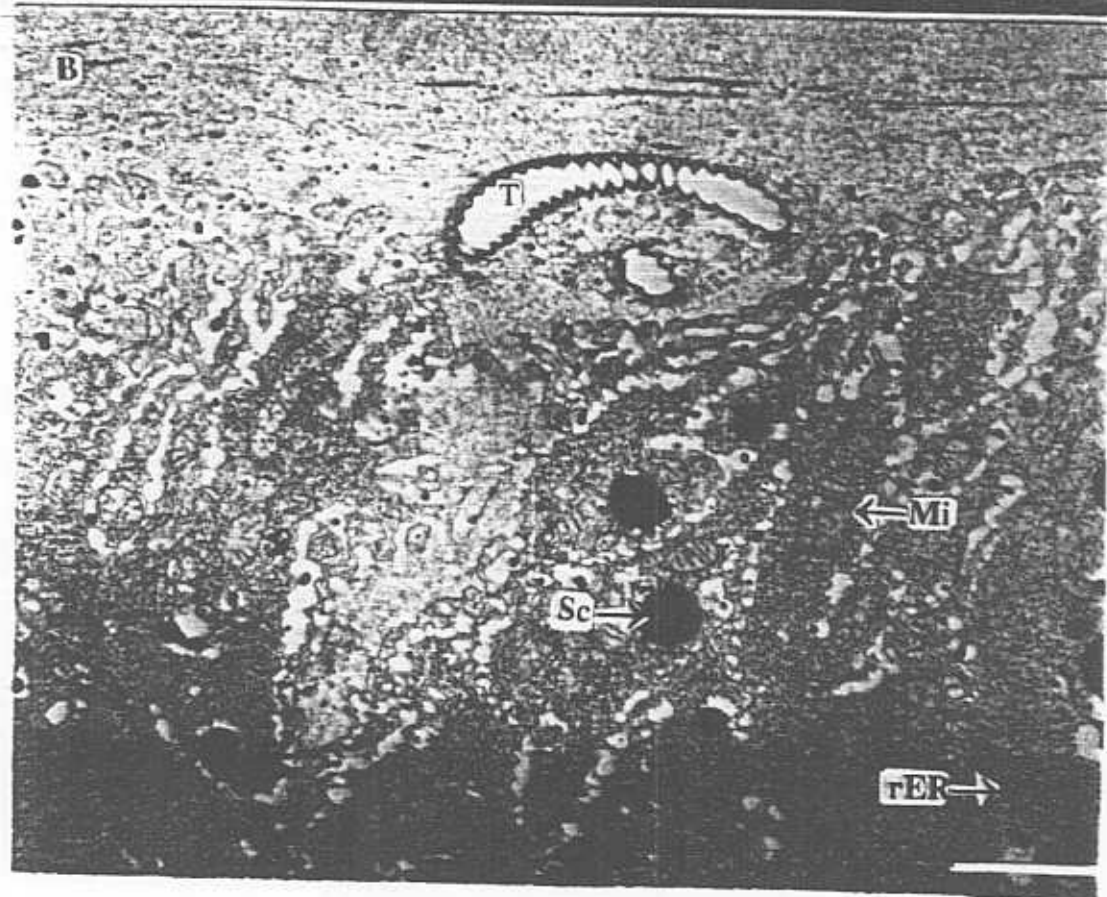
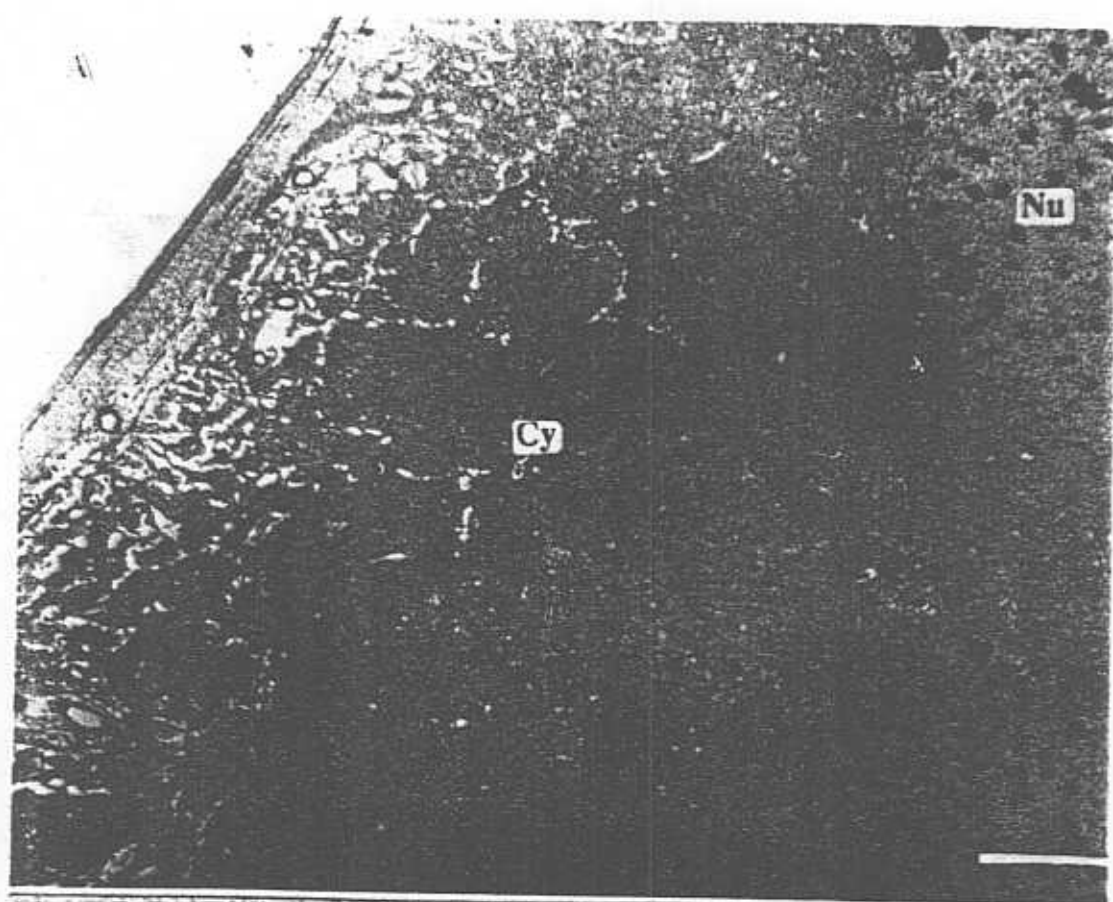
T : Tracheal tube



ภาพที่ 22A ภาพ TEM แสดงบริเวณ basal cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง พบ
ท่อหายใจและสารคัดหลั่งกระจายอยู่ทั่วไป bar = 4.26 ไมโครเมตร

ภาพที่ 22B ภาพ TEM แสดงบริเวณ basal cell กำลังขยายสูงขึ้นของต่อมสร้างเส้นไหม
ส่วนกลางพบท่อหายใจและสารคัดหลั่ง bar = 1.60 ไมโครเมตร

- Cy : Cytoplasm
- Mi : Mitochondria
- Nu : Nucleus
- rER : rough Endoplasmic Reticulum
- Sc : Secretion
- T : Tracheal tube



ภาพที่ 23A ภาพ TEM แสดงบริเวณส่วนของ gland cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง พบท่อหายใจกระจายอยู่ทั่วไป และพบสารคัดหลั่งเป็นจำนวนมาก ภายใน lumen ของต่อมสารคัดหลั่งที่มีลักษณะคล้ายสารคัดหลั่งที่อยู่ใน gland cell
bar = 4.26 ไมโครเมตร

ภาพที่ 23B ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง พบสารคัดหลั่ง และ microtubule เป็นจำนวนมาก bar = 1.07 ไมโครเมตร

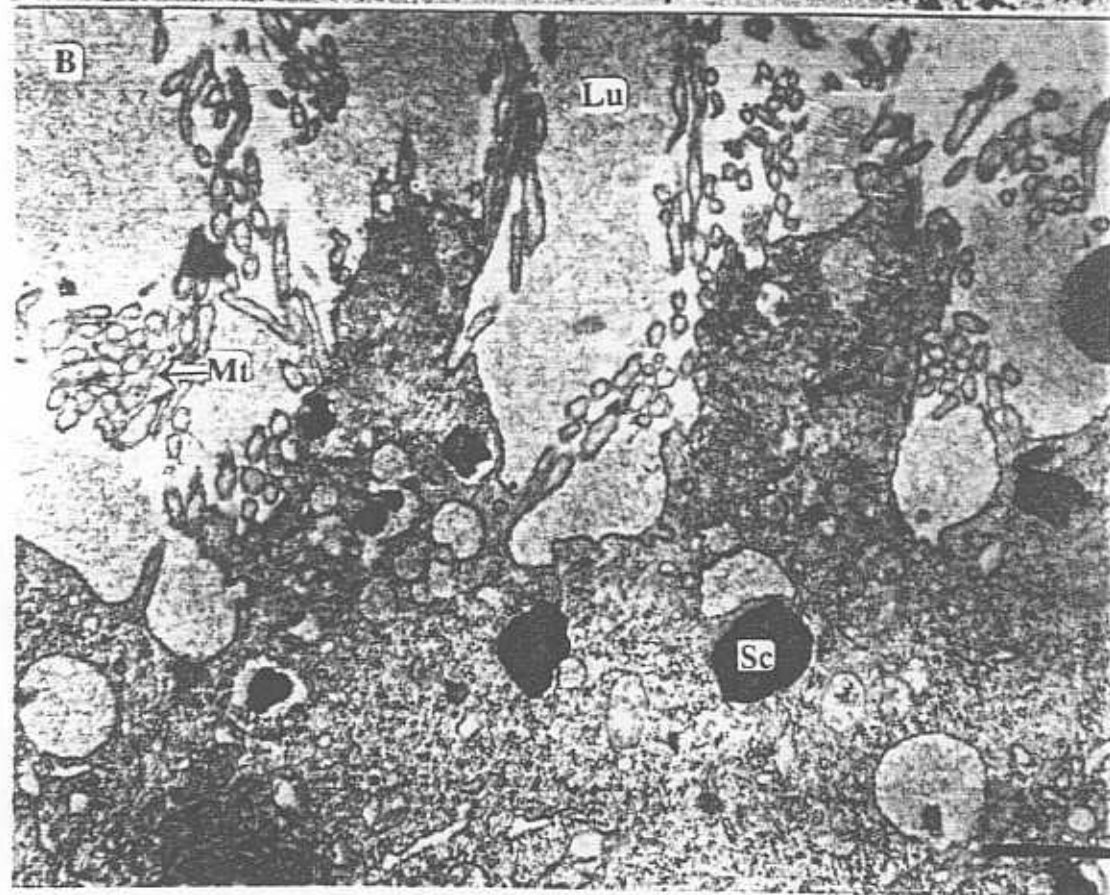
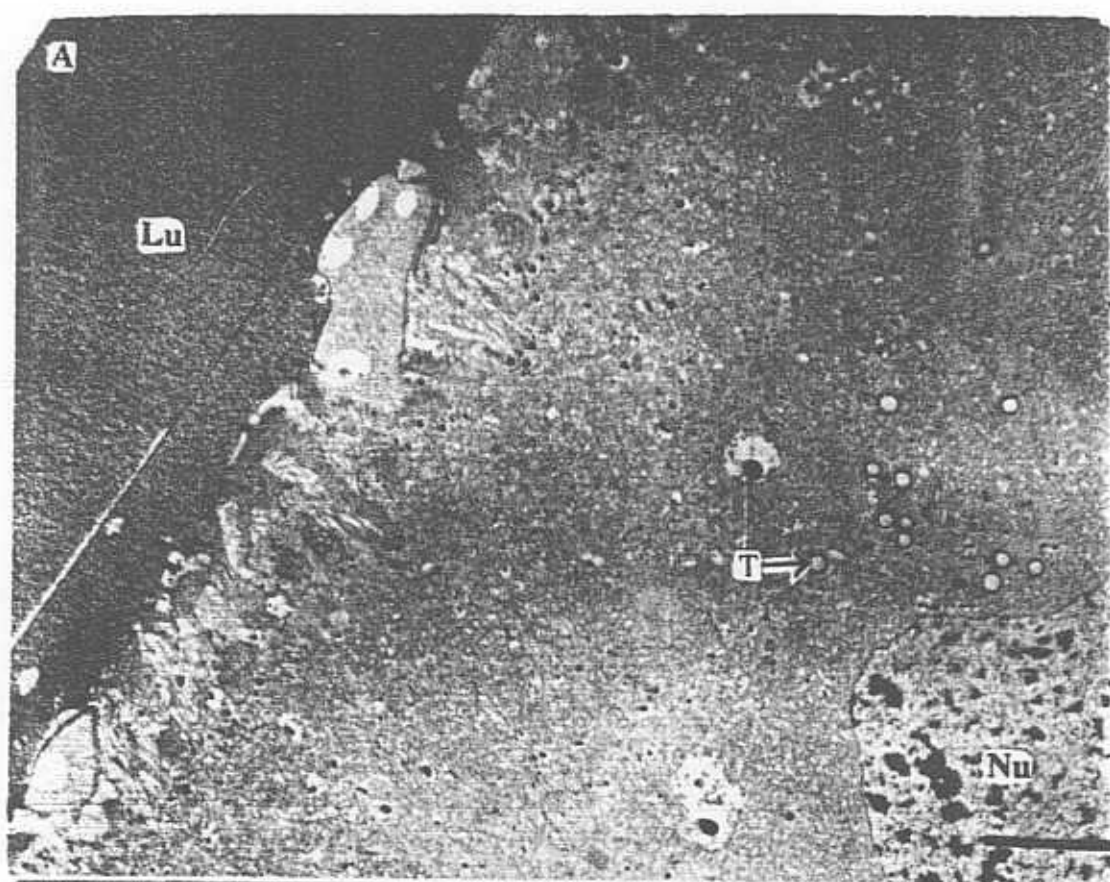
Lu : Lumen

Mt : Microtubule

Nu : Nucleus

Sc : Secretion

T : Tracheal tube



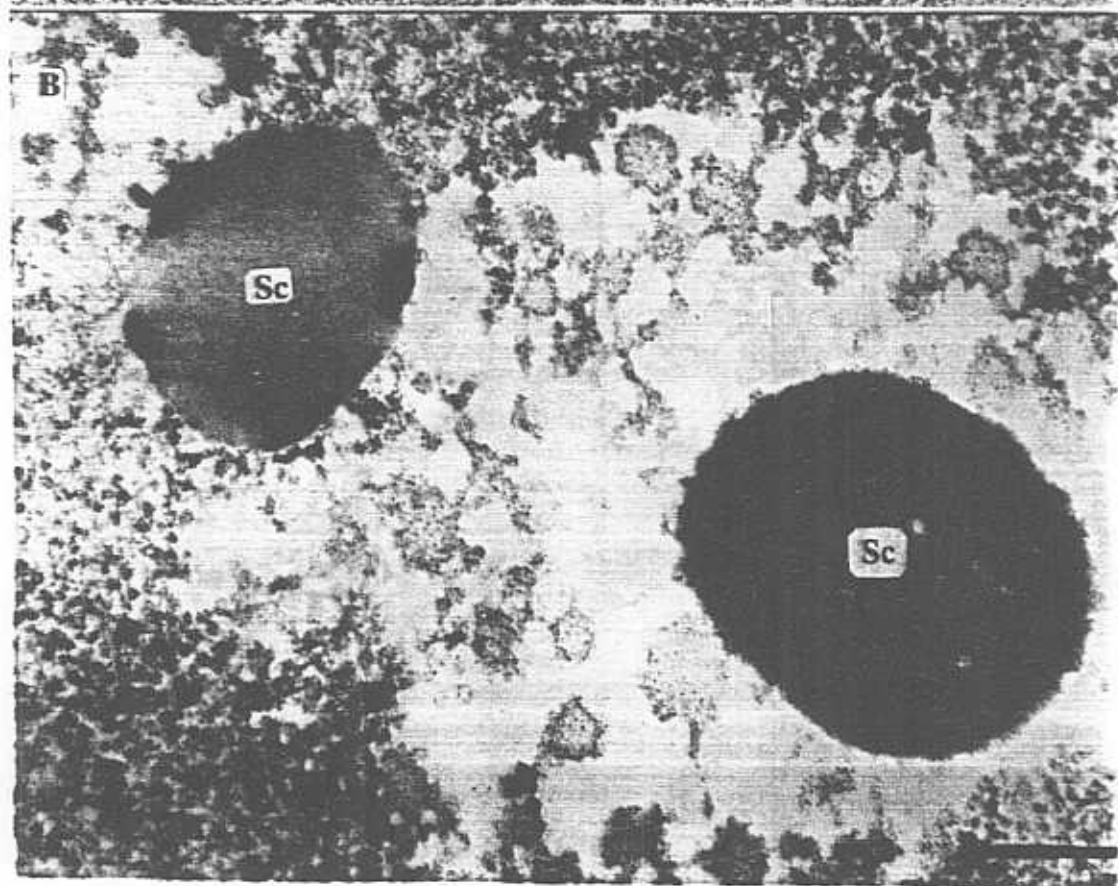
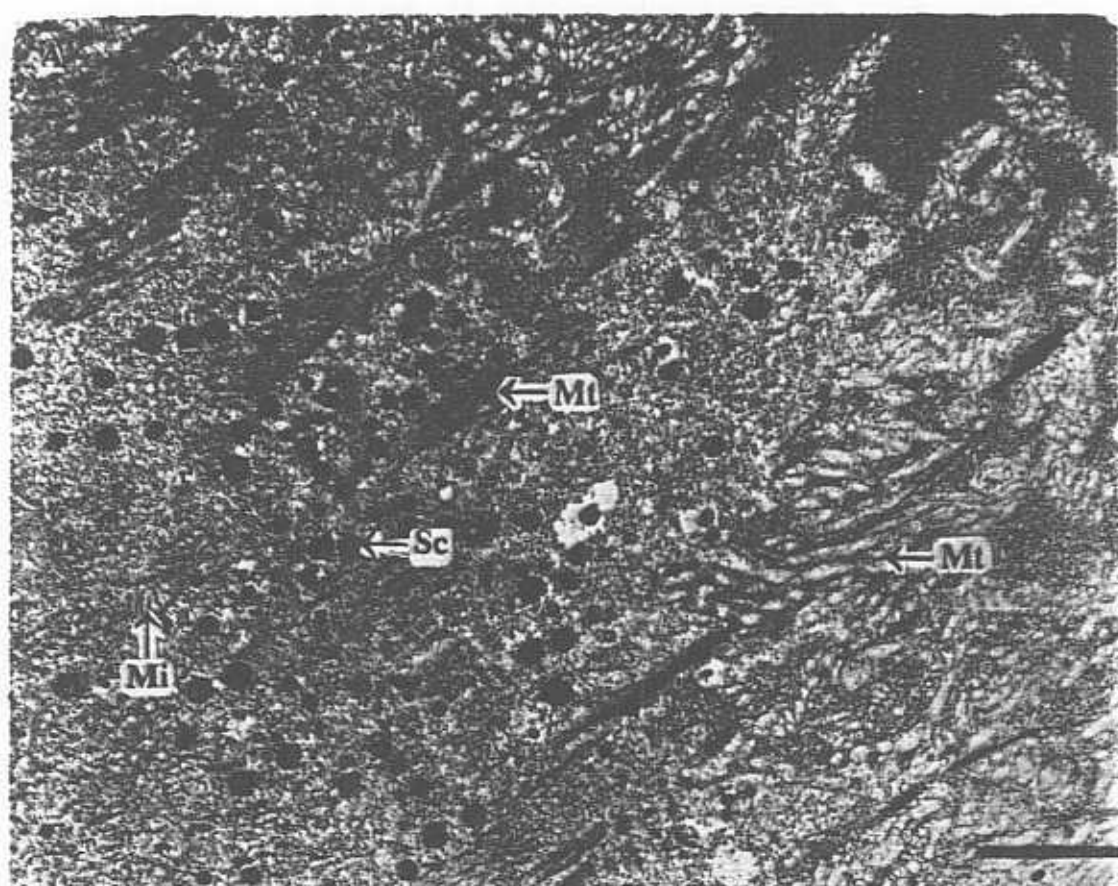
ภาพที่ 24A ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง พบสารคัดหลั่ง
และ microtubule bar = 1.60 ไมโครเมตร

ภาพที่ 24B ภาพ TEM แสดงสารคัดหลั่งของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนกลาง
bar = 0.26 ไมโครเมตร

Mi : Mitochondria

Mt : Microtubule

Sc : Secretion



ภาพที่ 25A ภาพ TEM แสดงgland cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย พบนิวเคลียสแตกแขนงมี nucleoli อยู่ภายใน bar = 1.42 ไมโครเมตร

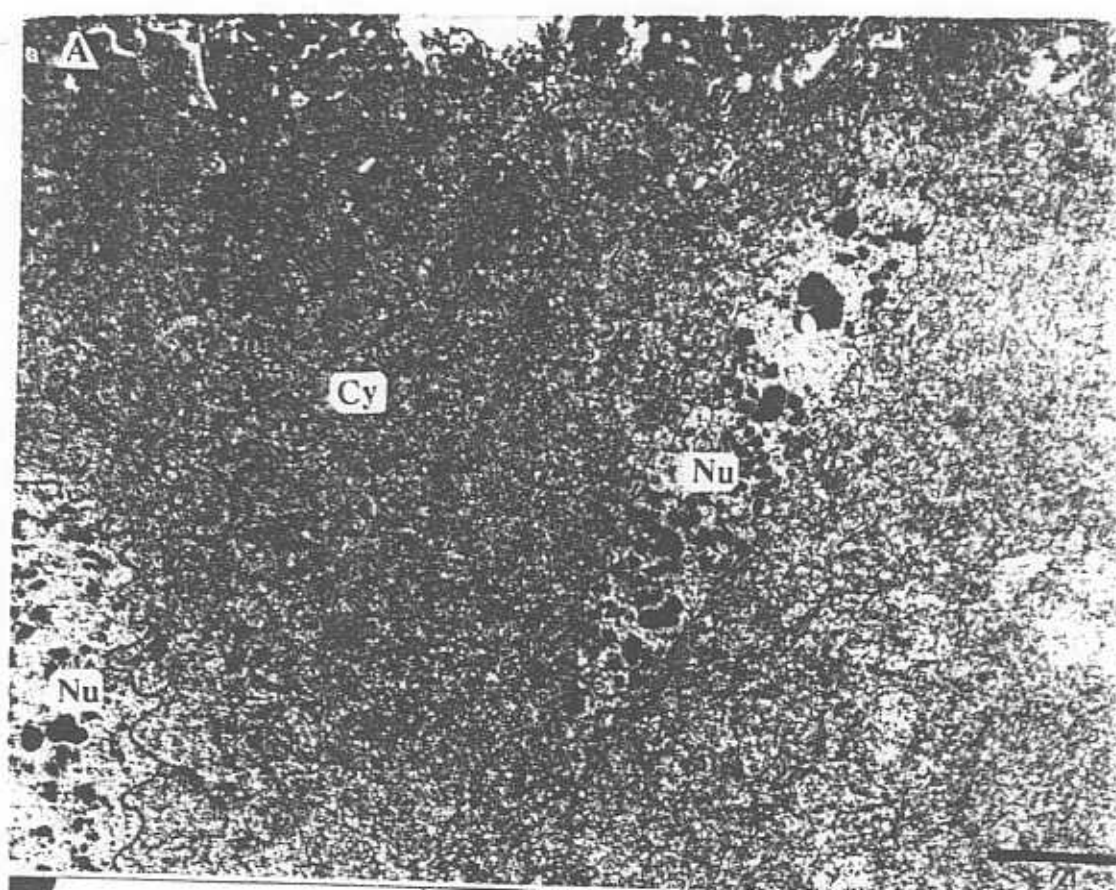
ภาพที่ 25B ภาพ TEM แสดงบริเวณ basal cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย พบนิวเคลียสและ องค์ประกอบของเซลล์ bar = 4.26 ไมโครเมตร

Cy : Cytoplasm

Mi : Mitochondria

Nu : Nucleus

rER : rough Endoplasmic Reticulum

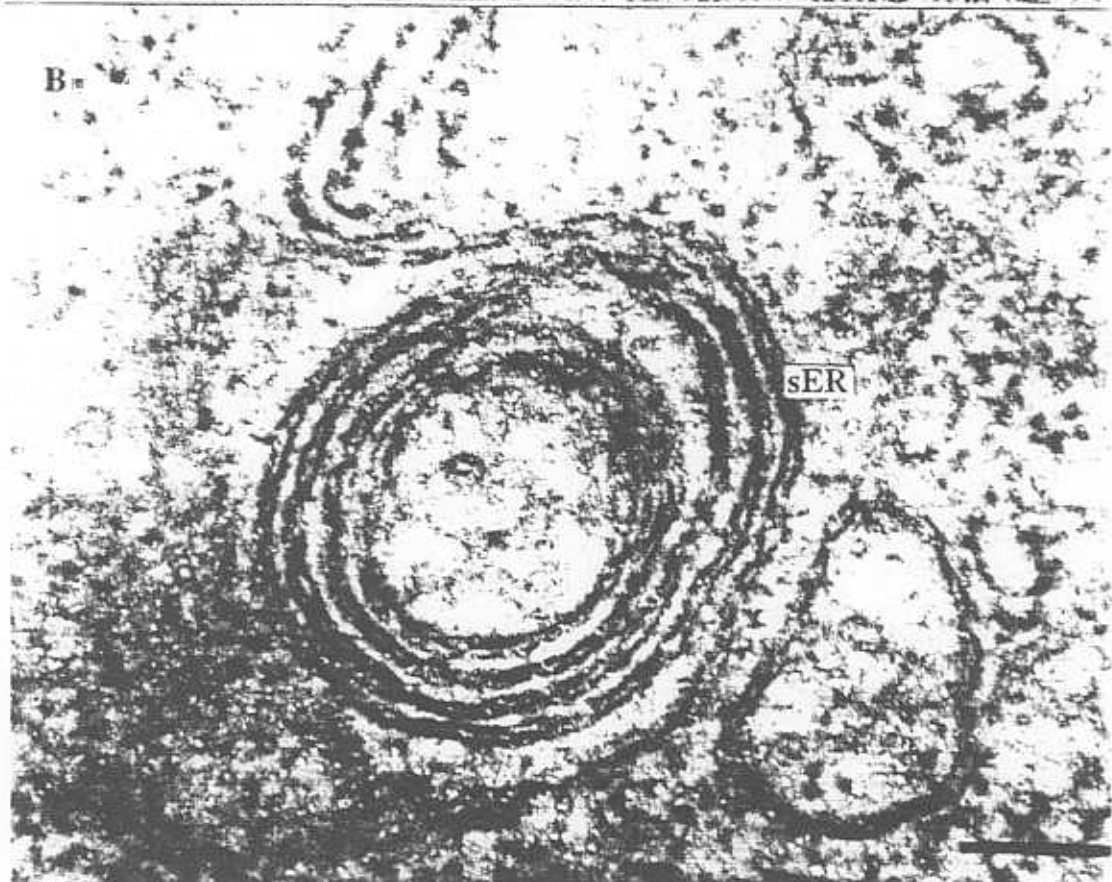
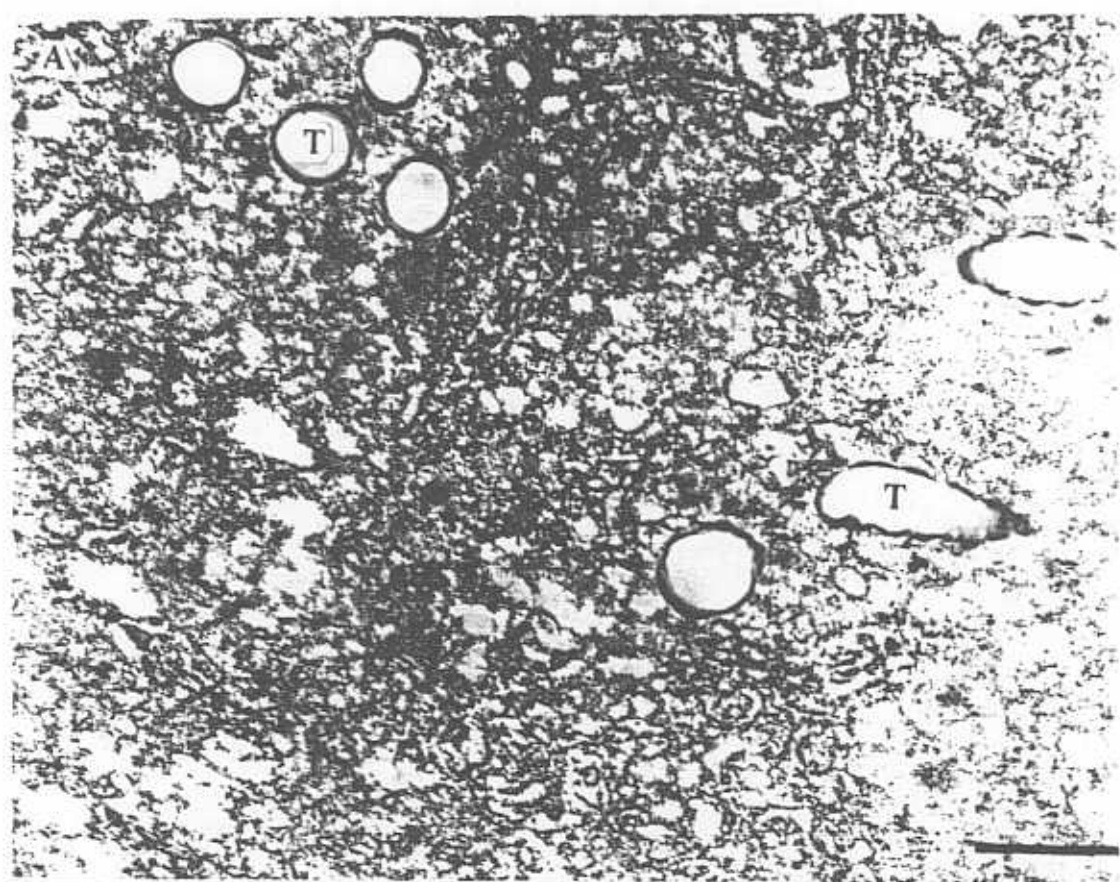


ภาพที่ 26A ภาพ TEM แสดงบริเวณ gland cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย พบท่อหายใจ
กระจายอยู่ทั่วไป bar = 1.28 ไมโครเมตร

ภาพที่ 26B ภาพ TEM แสดง smooth Endoplasmic Reticulum ภายใน gland cell ของต่อมสร้าง
เส้นไหมส่วนท้าย bar = 0.21 ไมโครเมตร

sER : smooth Endoplasmic Reticulum

T : Tracheal tube



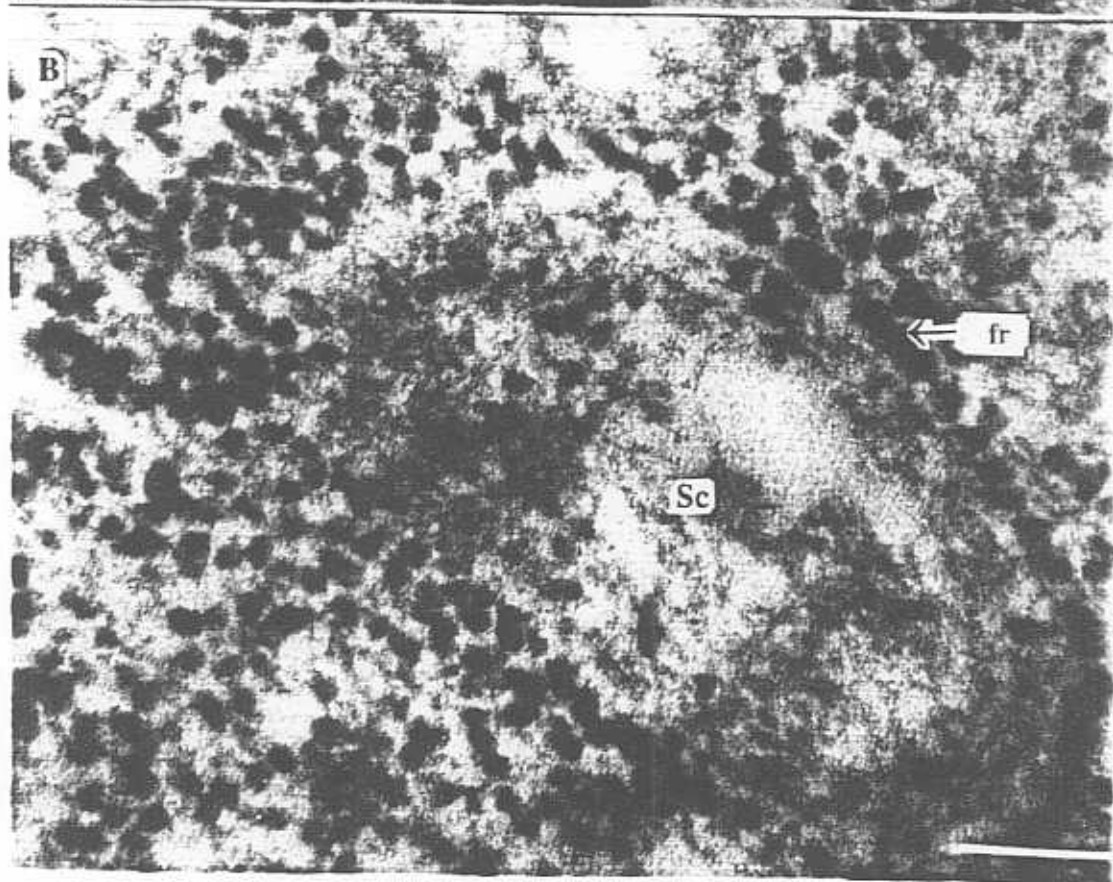
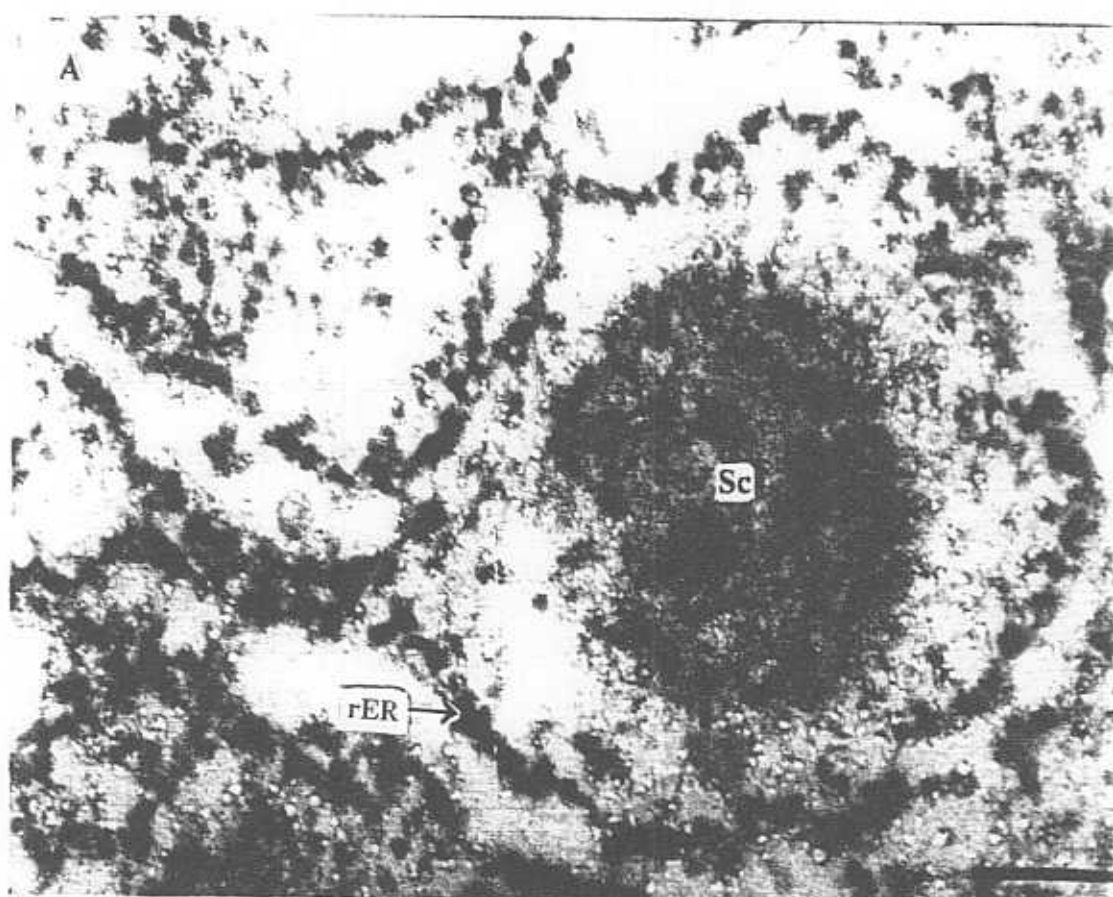
ภาพที่ 27A ภาพ TEM แสดง rough Endoplasmic Reticulum ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย
ภายในมีสารคัดหลั่ง bar = 0.21 ไมโครมิเตอร์

ภาพที่ 27B ภาพ TEM แสดง free ribosome กำลังขยายสูงขึ้น bar = 0.16 ไมโครมิเตอร์

Sc : Secretion

rER : rough Endoplasmic Reticulum

fr : free ribosome



ภาพที่ 28A ภาพ TEM แสดงบริเวณ basal cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย พบองค์ประกอบ
ของเซลล์อยู่อย่างหนาแน่นและพบสารคัดหลั่งอยู่เป็นกลุ่มก้อน
bar = 4.26 ไมโครเมตร

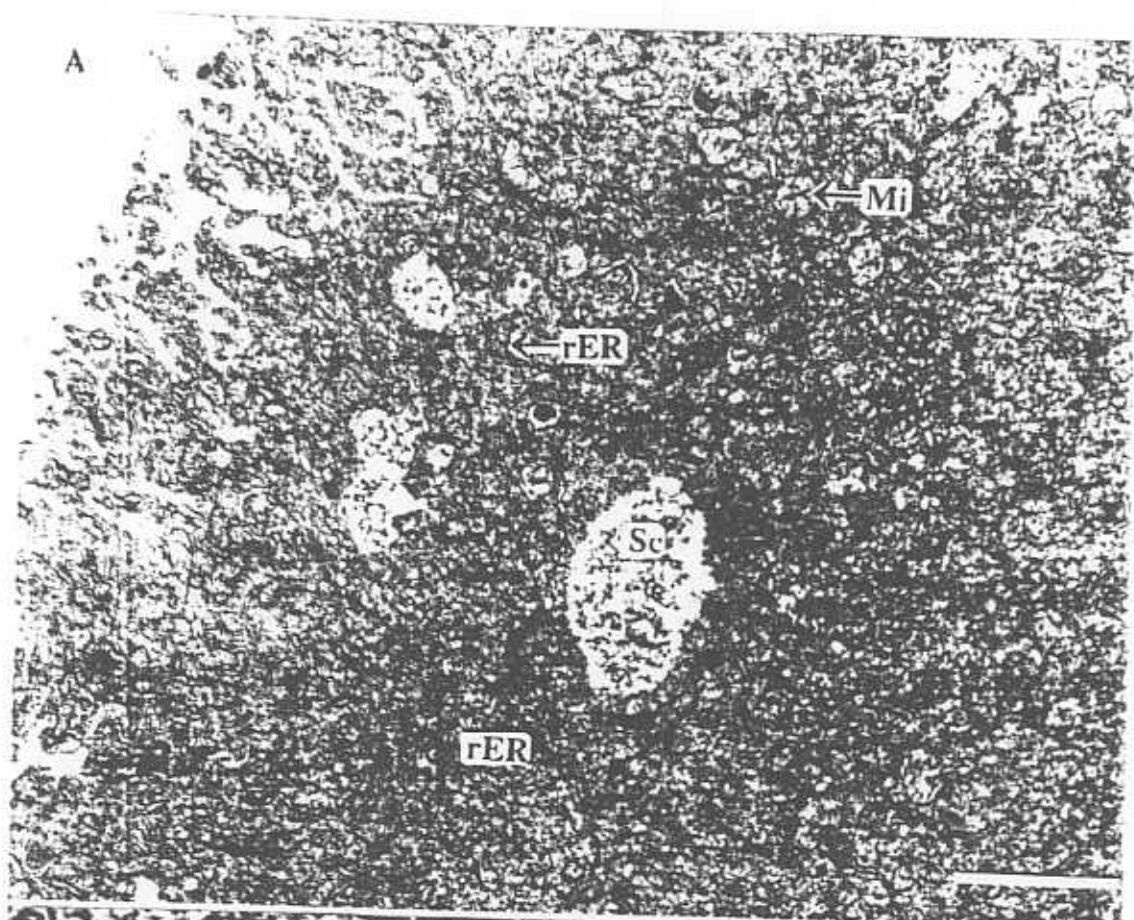
ภาพที่ 28B ภาพ TEM แสดงสารคัดหลั่งของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย
bar = 0.51 ไมโครเมตร

Mi : Mitochondria

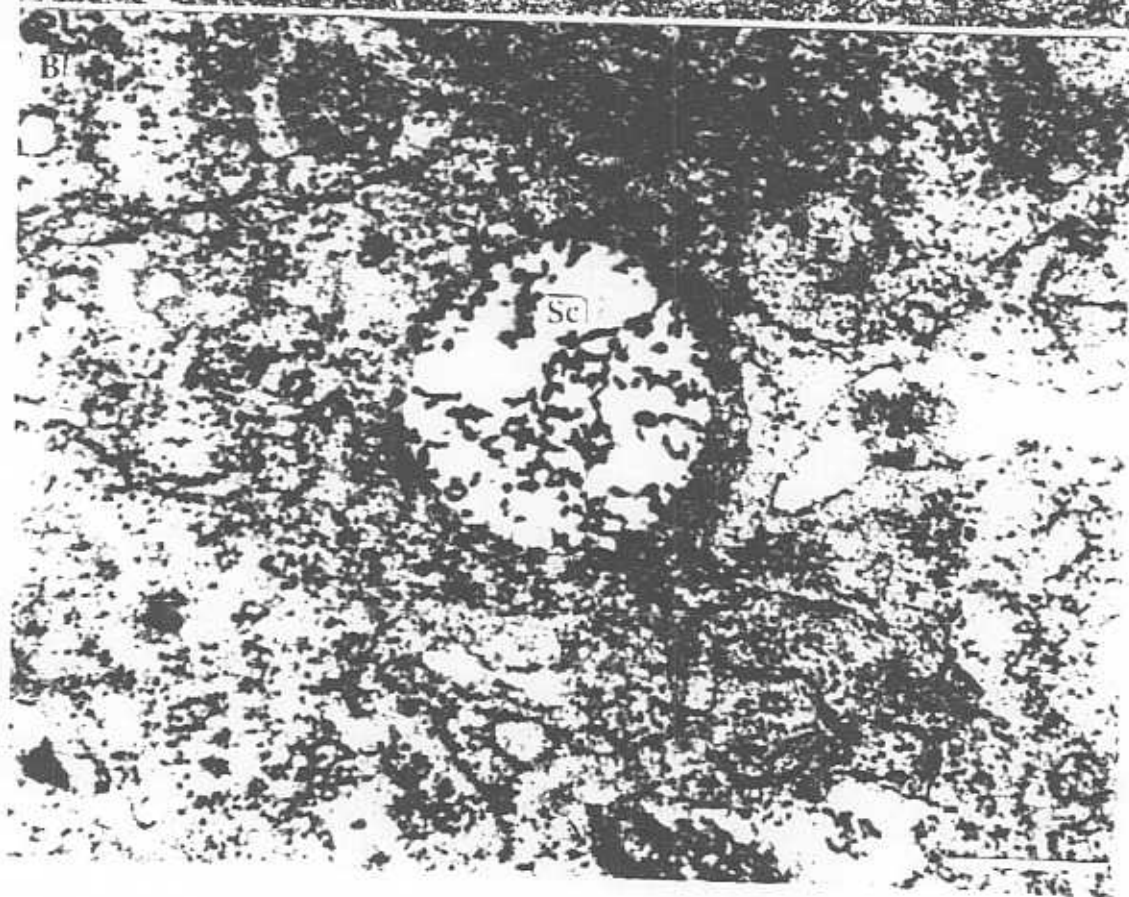
rER : rough Endoplasmic Reticulum

Sc : Secretion

A



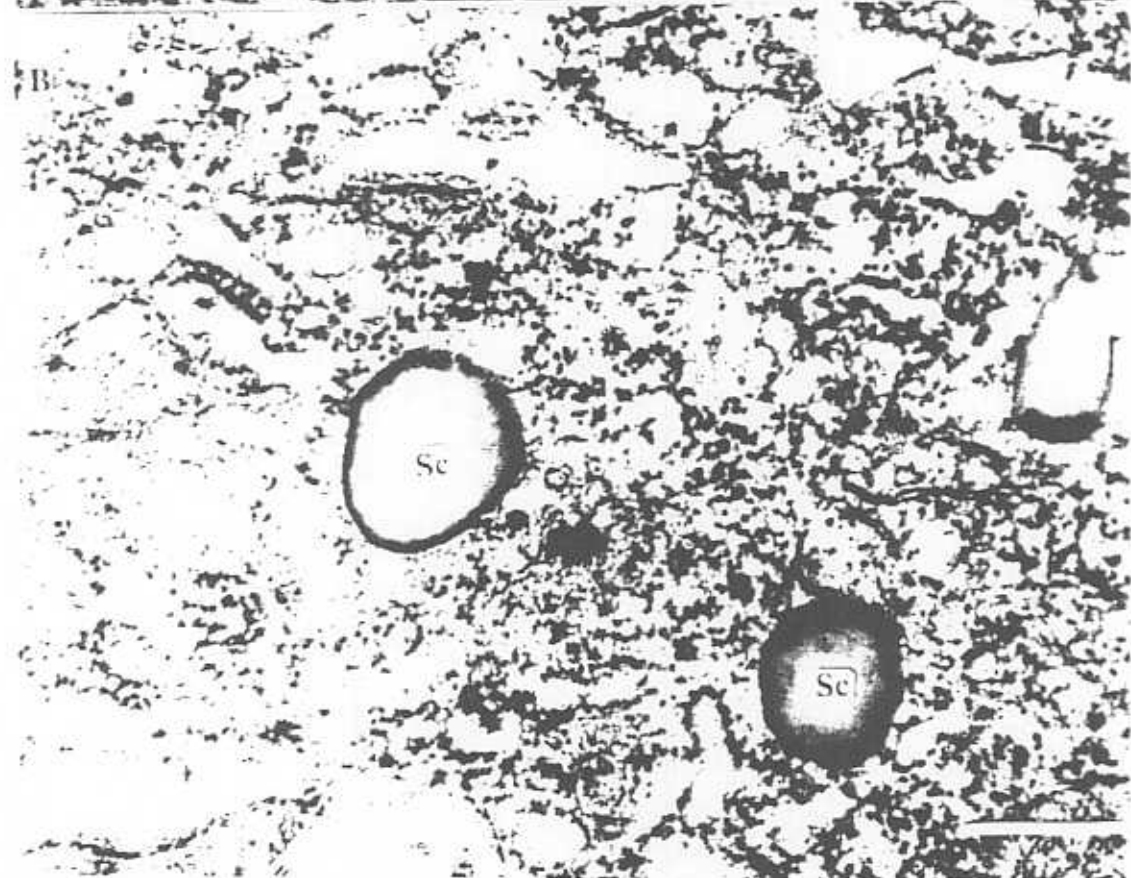
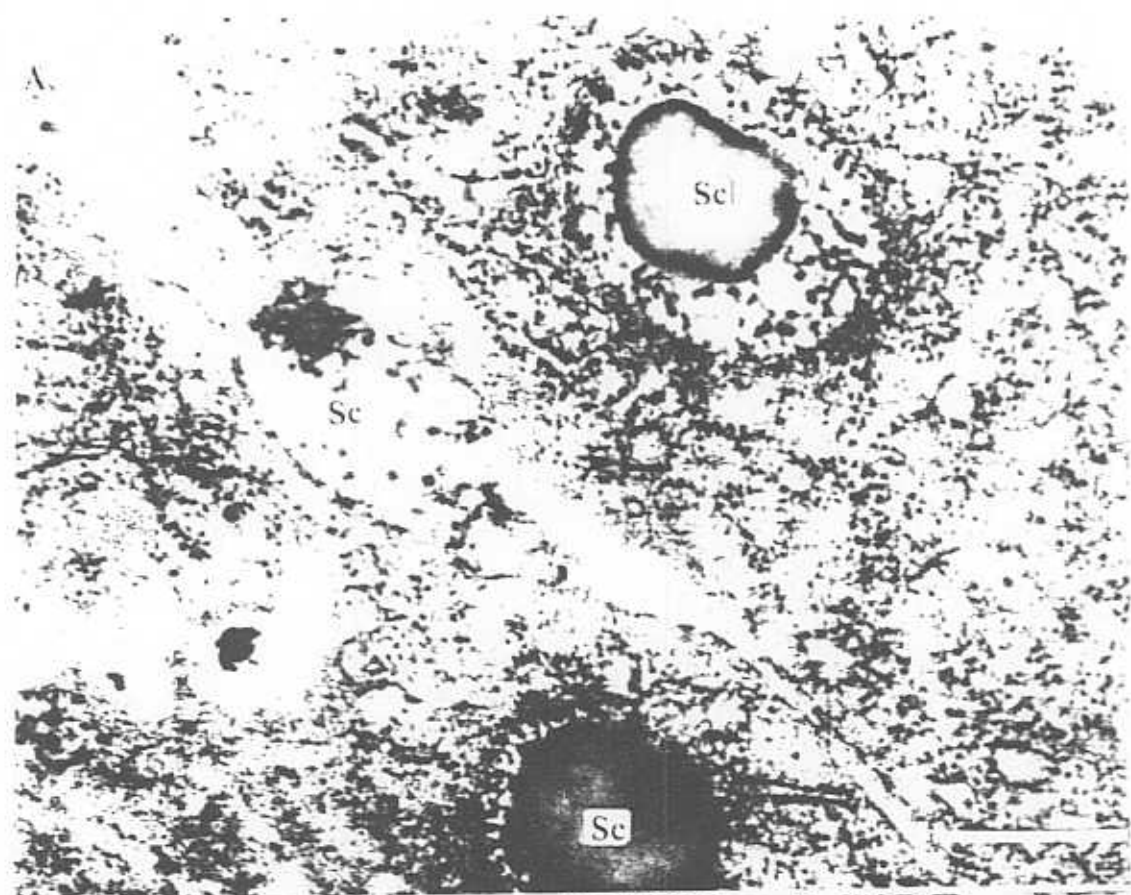
B



ภาพที่ 29A ภาพ TEM แสดงสารคัดหลั่งที่อยู่ภายในต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย
bar = 0.51 ไมโครมิเตอร์

ภาพที่ 29B ภาพ TEM แสดงสารคัดหลั่งในต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย
bar = 0.51 ไมโครมิเตอร์

Sc : Secretion



ภาพที่ 30A ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย membrane บางๆ
ที่มีความไม่ต่อเนื่อง bar = 2.13 ไมโครเมตร

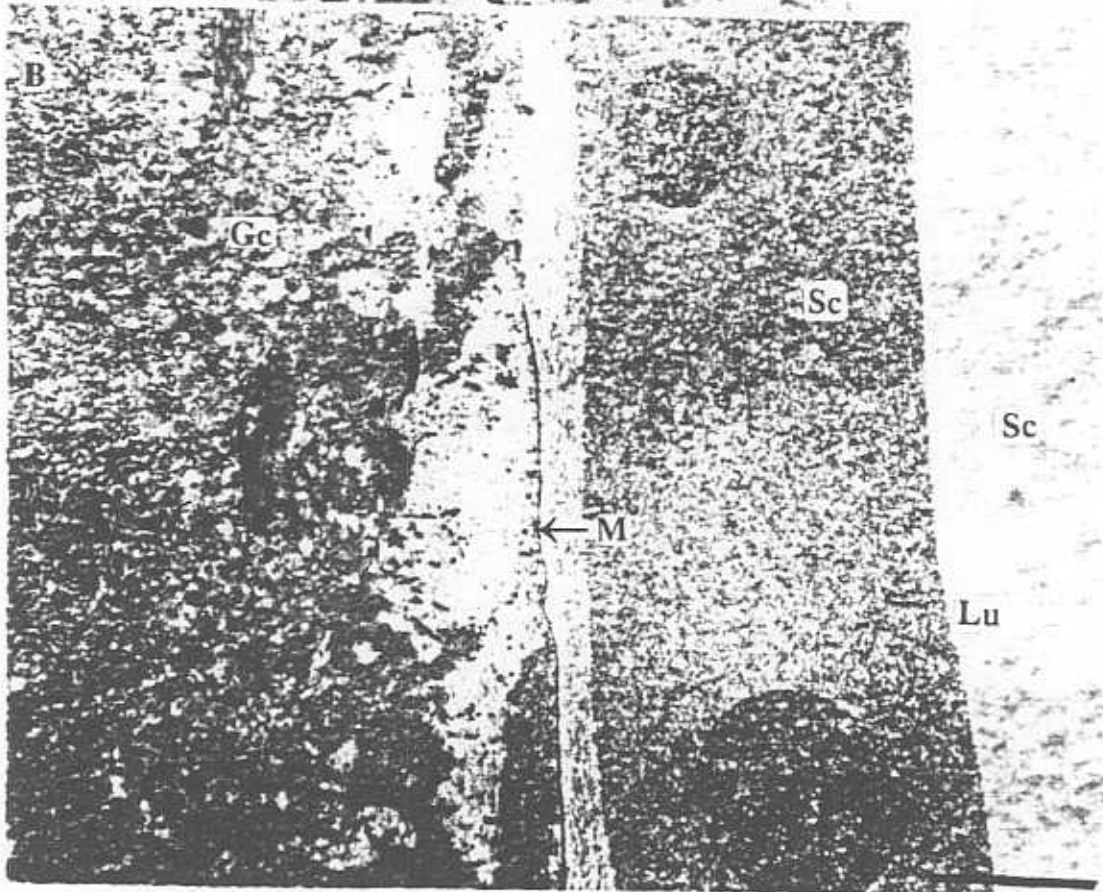
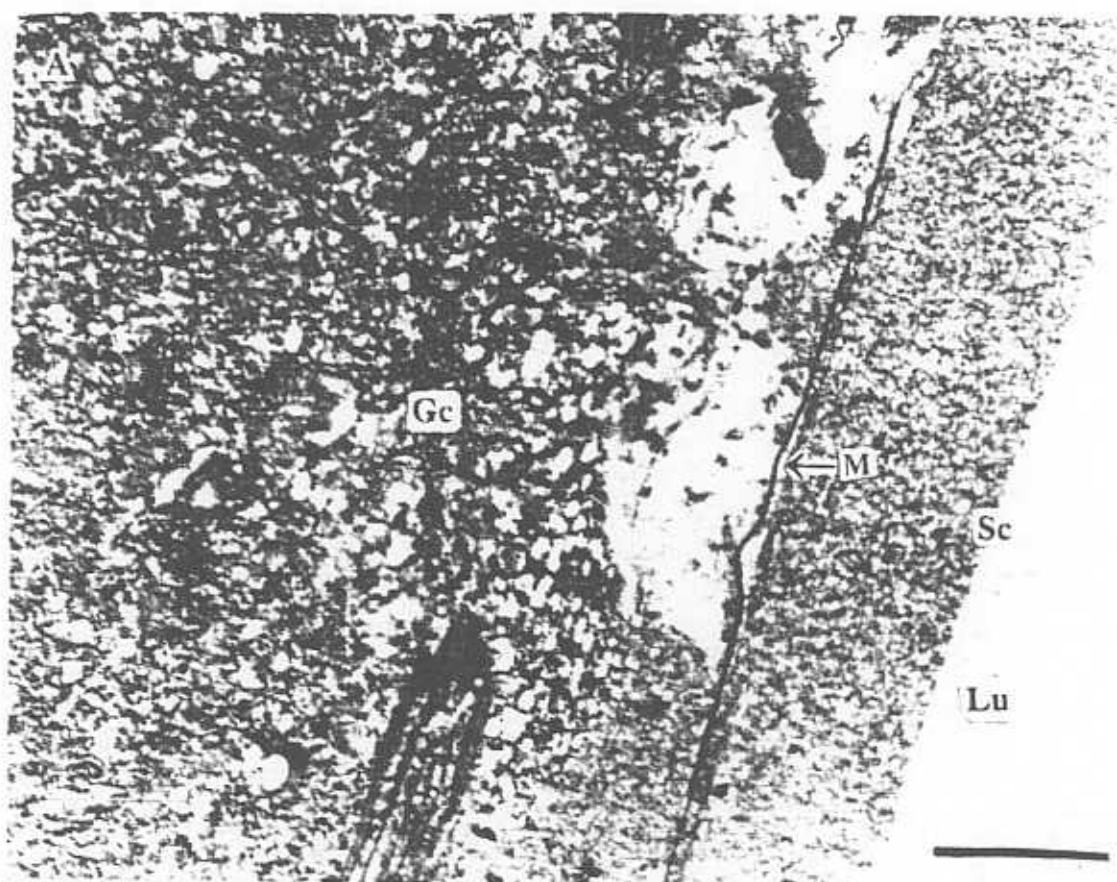
ภาพที่ 30B ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย พบสารคัดหลั่ง
อยู่ใน gland cell และ lumen bar = 3.20 ไมโครเมตร

Gc : Gland cell

Lu : Lumen

M : Membrane

Sc : Secretion



ภาพที่ 31A ภาพ TEM แสดงบริเวณ apical cell ของต่อมสร้างเส้นไหมส่วนท้าย ขยาย membrane ที่ไม่ต่อเนื่อง bar = 0.64 ไมโครเมตร

ภาพที่ 31B ภาพ TEM แสดงบริเวณรอยต่อระหว่าง gland cell กับ lumen พบว่าเต็มไปด้วยสารคัดหลั่ง bar = 0.16 ไมโครเมตร

Gc : Gland cell

Lu : Lumen

M : Membrane

Sc : Secretion

