595.30415
อ 334 ก

การศึกษาโครงสร้างโดยละเอียดของเซลล์ที่สร้างฮอร์โมน ในก้านตากุ้้งกุลาดำ (Penaeus monodon ,Fabricius)

Ultrastructural study of neurosecretory cells in the optic ganglion of the eyestalk of the Giant tiger prawn (Penaeus monodon , Fabricius)

- 5 ก.ย. 2540

อรพิน เกิดประเสริฐ
วีระชัย สิงหนิยม

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
พ.ศ. 2539

68002

บทนำ

การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีขั้นตอนใหญ่ๆ 2 ขั้นตอน คือการเพาะฟักลูกกุ้งจนลูกกุ้งมีขนาดพอสมควร (ขนาดความยาวลำตัวประมาณ 1 นิ้ว) จึงนำเอาไปเลี้ยงในนากุ้ง จนกระทั่งมีขนาดโต พอส่งออกขายได้ การเพาะฟักลูกกุ้งในปัจจุบัน จะต้องนำแม่พันธุ์ที่จับได้จากแหล่งธรรมชาติมาทำการบีบตา (Eyestalk ablation) เพื่อเร่งให้รังไข่มีการพัฒนาจนไข่แก่ (ระยะที่ 4) และวางไข่ออกมาผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ของพ่อพันธุ์ที่นำมาเลี้ยงในบ่อเดียวกัน (ประจวบ,2530) เพื่อยับยั้งการสร้าง Gonade inhibiting hormone (GIH) และ Sprawning inhibiting hormone (SIH) ที่สร้างจากเซลล์ในปมประสาท (Optic ganglion) ของก้านตากุ้ง แต่การบีบตามีข้อบกพร่องอยู่หลายประการ คือ ได้ผลประมาณ 50% เท่านั้นและปริมาณไข่แก่ (Mature oocytes) ที่แม่พันธุ์วางออกมาหลังบีบตาแล้วมีปริมาณลดลง เมื่อเทียบกับแม่พันธุ์ที่มีไข่แก่โดยธรรมชาติ (Primavera,1983) จึงทำให้อัตราการผลิตติดค่อนข้างต่ำและไม่แน่นอน จึงทำให้การเพาะฟักลูกกุ้งมีผลผลิตต่ำลงไปด้วย นอกจากนี้การบีบตา ยังทำให้แม่พันธุ์บาดเจ็บและตาบอด เกิดการกระทบกระเทือนต่อสภาวะทางสรีรวิทยาของแม่พันธุ์ ทำให้แม่พันธุ์บางส่วนตายก่อนที่จะมีการพัฒนาของรังไข่เต็มที่ และเหตุผลที่สำคัญ คือการบีบตานั้นทำได้เพียงครั้งเดียว และแม่พันธุ์ถูกกระตุ้น ได้อย่างมีประสิทธิภาพเพียง 1–2 ครั้ง เท่านั้นเอง หลังจากนั้นแม่พันธ์จะถูกขายเป็นอาหารต่อไป ด้วยเหตุนี้ผู้เพาะฟักลูกกุ้งจำเป็นต้องนำแม่พันธุ์ที่จับได้จากแหล่งธรรมชาติมาทำการบีบตาตลอดเวลา ทำให้ปริมาณแม่พันธุ์ในแหล่งธรรมชาติ มีจำนวนน้อยลงทุกปีและถ้าเหตุการณ์ยังดำเนินการต่อไปเช่นนี้ อาจทำให้เกิดวิกฤตและถึงขั้นทำให้ กุ้งกุลาดำในแหล่งธรรมชาติหมดไปได้

การเพาะฟักลูกกุ้ง โดยวิธีการนำเอาแม่พันธุ์จากแหล่งธรรมชาติมาบีบตานั้น ให้ผลผลิตต่ำจึงทำให้ต้นทุนการผลิตลูกกุ้งค่อนข้างสูงตามไปด้วย ในปัจจุบันประเทศไทยจึงมีความลำบากในการแข่งขันด้านราคากุ้งส่งออกไปขายต่างประเทศกับประเทศเพื่อนบ้าน เช่น จีน อินโดนีเซีย ซึ่งมีค่าแรงต่ำกว่าประเทศไทย และมลภาวะของน้ำทะเลยังมีน้อยกว่าของประเทศไทย ทางแก้ในปัจจุบันของประเทศไทย คือทำอย่างไรจึงจะลดต้นทุนการผลิตลูกกุ้งให้ต่ำลง เนื่องจากต้นทุนในการเลี้ยงค่อนข้างสูง และส่วนใหญ่มีโอกาศลดได้ยาก เนื่องจาก

สภาวะค่าครองชีพที่สูงและมลภาวะของน้ำทะเลที่เลี้ยงกุ้ง สิ่งเดียวที่จะพอลดต้นทุนในการผลิตกุ้งกุลาดำได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ การเพิ่มผลผลิตในการเพาะฟักลูกกุ้งให้ได้ลูกกุ้งที่สมบูรณ์แข็งแรง

ดังนั้นการแก้ปัญหาดังกล่าว ต้องอาศัยข้อมูล เกี่ยวกับเซลล์ประสาทที่สร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells) ที่สร้างฮอร์โมนขึ้นมาเพื่อยับยั้งพัฒนาการของรังไข่ ซึ่งพบเซลล์เหล่านี้ในปมประสาทในก้านตา (Optic ganglion) เซลล์เหล่านี้จะหลั่งฮอร์โมนออกมาตลอดเวลา และปล่อยออกไปใน Sinus glands เข้าสู่กระแสเลือด ไปมีผลยับยั้งการเจริญของรังไข่ตลอดเวลายกเว้นเวลาที่กุ้งจะสืบพันธุ์เท่านั้น ระบบดังกล่าวเหมือนกับ Hypothalamus–Hypophyseal parthway สัตว์ชั้นสูง (Brown,F.A.1994,1996) และระบบ Pars intercerebralis corpora cardiaca system ในแมลง (Scharrer,1952) ในสัตว์ชั้นสูงเองก็ยังไม่พบฮอร์โมน ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของรังไข่ที่มีประสิทธิภาพเหมือนในกุ้งกุลาดำ เมื่อเรามีข้อมูลเกี่ยวกับฮอร์โมนนี้และเข้าใจกลไกในการทำงานของมันแล้ว ทำให้สามารถหาวิธีในการยับยั้งการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนดังกล่าว เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นให้รังไข่เจริญและพัฒนาจนไข่สุกและวางไข่ และผสมพันธุ์เพื่อผลิตลูกกุ้งได้อย่างประหยัดและมีคุณภาพ

วรรณคดีที่เกี่ยวข้อง

กุ้งกุลาดำจัดอยู่ใน Phylum Atropoda , Class Crustacea และ Family Panaeidae กุ้งชนิดนี้จะผสมพันธุ์กันในทะเลที่ระดับความลึกประมาณ 30–50 เมตร โดยกุ้งตัวผู้จะสอด Petasma เข้าไปใน Thelycum ของกุ้งตัวเมีย ที่อยู่บริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 4 จากนั้นจะทำการปล่อยถุงเก็บน้ำเชื้อ (Sperm sac) เข้าไปเก็บในบริเวณ Thelycum ของตัวเมีย พฤติกรรมการผสมพันธุ์จะเกิดขึ้นทันทีหลังจากกุ้งตัวเมียลอกคราบใหม่ๆ (Primavera, 1980) เมื่อกุ้งตัวเมียมีการพัฒนาการของรังไข่จนถึงระยะสุดท้าย (ระยะที่ 4) และพร้อมที่จะวางไข่ ไข่จะถูกปล่อยออกมาบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 เพื่อผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ที่ปล่อยออกมาจากถุงเก็บน้ำเชื้อที่อยู่ใน Thelycum ทำให้เกิดมีการปฏิสนธิขึ้น (Platon,1987)

จากการศึกษาสัตว์จำพวก Crustacean หลายชนิดสรุปว่า สัตว์เหล่านี้มีเซลล์ประสาทที่เปลี่ยนแปลงมาสร้างฮอร์โมนชนิดต่างๆเซลล์เหล่านี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า เซลล์ประสาทสร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells) เซลล์เหล่านี้จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มสร้างฮอร์โมนหลายชนิด เพื่อควบคุมการทำงานของระบบต่างๆในร่างกาย (Kleinholz,1966) เช่น

1. Somatic pigmentation
2. Retinal pigment migration
3. Cardial regulation
4. Chromatophorotropins
5. Hyperglycemic hormone
6. Molt inhibiting hormone
7. Gonade inhibiting hormone

Neurosecretory cells เท่าที่พบมีอยู่ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่อยู่ในเนื้อเยื่อชั้น Medulla terminalis ของปมประสาทก้านตา และที่บริเวณ Pericardial organ (Carlisle , Knoles,1953 และ Gabe,1966.) โดยกลุ่มเซลล์ที่พบในปมประสาทก้านตามีชื่อเรียกว่า X – organ ฮอร์โมนที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ จะส่งออกไปตามเส้นประสาทและปล่อยเข้าสู่

กระแสเลือดทางปลายประสาท ในบริเวณที่เรียกว่า Sinus gland (Pottter,1956) ซึ่งอยู่แอ่งเลือด (Blood sinus) ในส่วนของก้านตา ใกล้กับผิวบริเวณรอยต่อของชั้น Medulla interna และ Medulla externa ของปมประสาทก้านตา (Panouse,1946) จากหลักฐานที่พบว่า Neurosecretory cells กลุ่ม X– organ นั้นมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบต่างๆในร่างกาย ดังนั้นเมื่อทำการตัดก้านตา (Eyestalk ablation) หรือฉีดสารที่ได้จากการบดเนื้อเยื่อก้านตา (Eyestalk extract) เข้าไปในร่างกายจะไปมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบต่างๆในร่างกายอย่างเห็นได้ชัด (Atwood และ Sanderman ,1982) จากหลักฐานที่มีอยู่ในปัจจุบันพบว่า Neurosecretory cells ของ X – organ จะสร้างฮอร์โมนออกมา 4 ชนิด และ Factors อื่นๆอีก 17 ชนิด (Atwood and Sanderman ,1982) ตัวที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธ์ คือ ฮอร์โมนยับยั่งการลอกคราบ (Molt–inhibiting hormone = MIH) และฮอร์โมนยับยั่งการพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ (Gonade–inhibiting factor = GIF) ส่วนข้อมูลที่แน่นอนเกี่ยวกับกลุ่มเซลล์เฉพาะกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งใน X – organ สร้างฮอร์โมน หรือ Factor ชนิดใด หรือกลุ่มเซลล์ใน X – organs ทั้งหมดสร้างฮอร์โมน และ Factor ชนิดนั้นยังไม่มี

ถึงแม้ว่าการศึกษาส่วนใหญ่จะทำในปู แต่ระบบต่างๆ ในก้านตาของกุ้งกุลาดำก็น่าที่จะเหมือนกัน หลักฐานที่สนับสนุนอันนี้ก็คือเมื่อทำการบีบหรือตัดตา(Eyestalk ablation) ข้างใดข้างหนึ่งของกุ้งทะเลหลายชนิด ได้แก่ Penaeus semisulcatus, De Haan (Browdy and Samocha,1985) , Penaeus kerathruus(Lamure,1979) รวมทั้งในกุ้งกุลาดำ เข้าใจว่าการบีบตาจะไปทำลายเซลล์ที่สร้างฮอร์โมนยับยั้งการสร้างไข่ (Ovarian – inhibiting factor) ที่บริเวณปมประสาทของก้านตา จึงทำให้ปริมาณของฮอร์โมนชนิดนั้นลดลงในกระแสเลือด มีผลทำให้เสียสมดุลย์กับฮอร์โมนที่กระตุ้นการสร้างรังไข่ (Gonade – stimulation factor) ที่สร้างจาก Y– organ ในกระแสเลือด ทำให้ฮอร์โมนที่กระตุ้นการสร้างรังไข่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาการของรังไข่จนได้ไข่แก่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังพบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับการบีบตาจะมีอัตราการลอกคราบเร็วขึ้น ซึ่งก็ด้วยเหตุผลในทำนองเดียวกัน คือการบีบตา จะไปลดปริมาณของฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบในกระแสเลือดให้ต่ำลงในขณะเดียวกันก็ส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนกระตุ้นการลอกคราบ (สร้างจาก Y –

organ) (Soyez and Kleinholy ,1977; Soyez etal,1977, Mattson and Spaziani ,1985)

ได้มีการศึกษาลักษณะและรูปร่างของ Neurosecretory cells ในปมประสาทก้านตาของ Crustacean โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบแสงส่องผ่าน (Trans mission eleectron microscope,TEM) (Fingerman , Aoto ,1959 และ Hamori ,H,1966a ,1966b ,1966c,1966d) จากข้อมูลเท่าที่มีอยู่ในปัจจุบันยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษาโครงสร้างโดยละเอียดของ Neurosecretory cells ในปมปราะสาทในก้านตากุ้งกุลาดำโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบแสงส่องผ่าน ว่ามีโครงสร้างและองค์ประกอบภายในของเซลล์ , ฮอร์โมนที่สร้าง ว่ามีความคล้ายคลึงและแตกต่างจาก Crustacean ชนิดอื่นๆอย่างไร และการควบคุมการสร้างและการหลั่งฮอร์โมนของ Neurosecretory cells ในปมประสาทก้านตา น่าจะเป็นอย่างไร ข้อมูลเหล่านี้เป็นสิ่งสำคัญ ในการเนี่ยวนำให้เกิดการพัฒนาการของรังไข่ได้โดยไม่ต้องทำการบีบตา เนื่องจากวิธีนี้ได้ผลไม่ดี และมีข้อเสียหลายประการดังที่กล่าวมาแล้ว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างโดยละเอียดของเซลล์ที่สามารถสร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells) ในปมประสาท (Optic ganglion)ในก้านตากุ้งกุลาดำโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission electron microscope)

2. เพื่อศึกษาลักษณะความแตกต่างของเซลล์ที่สร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells) แต่ละชนิดในปมประสาทก้านตา

3. ศึกษาลักษณะของ Secretory granules ที่คาดว่าเป็นถุงเก็บฮอร์โมนภายในเซลล์สร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells)

วิธีการทดลอง

การเก็บตัวอย่าง

นำพ่อและแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำมาจากอ่าวไทย ที่ท่าเทียบเรืออ่างศิลา อำเภอบางแสน จังหวัดชลบุรี ใส่ในภาชนะที่มีอากาศเพียงพอ นำมายังห้องทดลองที่ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มศว ประสานมิตร

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

ก. อุปกรณ์ที่มีในภาควิชากายวิภาคศาสตร์

1. กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission electron microscope)
2. กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (Light microscope)
3. Ultramicrotome
4. ตู้อบ , ตู้ดูดควัน และแท่นอุ่นร้อน
5. เครื่องมือผ่าตัดขนาดเล็ก (Microdissection)
6. เครื่องชั่งน้ำหนัก

ข. อุปกรณ์ที่จัดซื้อ

1. หัวฟู สายอ็อกซิเจน ท่ออากาศ และถังพลาสติก ที่ใช้ลำเลียงกุ้งกุลาดำ
2. กระดาษกรอง
3. Glass slides และ Cover slides
4. Beem capsules
5. แผ่นตะแกรงทองแดง (Copper gride)

6. ฟิล์มถ่ายภาพขาว-ดำ สำหรับถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน
7. กระดาษอัดรูปขาว-ดำ

ค. สารเคมี

1. Absolute ethanol
2. 50% Glutaldehyde
3. Paraformaldehyde
4. S - collidine
5. Distilled water
6. Sorensen phosphate buffer
7. Veronal acetate buffer
8. Propylene oxide
9. Toluidine blue
10. Osmium tetraoxide
11. Uranyl acetate
12. Lead citrate
13. Vinyl cyclohexene dioxide (ERL 4206)
14. Dow Epoxy Resin (DER 736)
15. NSA
16. DMAE

ขั้นตอนการเตรียมน้ำยารักษาสภาพ

มีส่วนผสมดังนี้

(1) Paraformaldehyde 1.6 กรัม ในน้ำกลั่น 12.4 ซีซี อุ่นให้ร้อน 40 องศาเซลเซียส และหยด 1 N NaOH 2-3 หยด คนให้ละลายให้หมด

(2) 0.2 M Sorensen phosphate buffer pH 7.3 จำนวน 40 ซีซี

(3) 0.2 M S-Collidine buffer pH 7.3

(4) 50% Glutaraldehyde 2.688 ซีซี

(5) น้ำกลั่น 34.91 ซีซี

ขั้นตอนการเตรียม buffer

1. S -Collidine buffer (0.2 M) pH 7.4-7.5

Stock solution :	Pure S-Collidine	2.67 ml
	Distilled water	50 ml
	1 N HCl ปรับ pH	
	เติมน้ำกลั่นจนครบ	100 ml

2. Veronal -Acetate -HCl buffer

Stock solution (0.28 M) :

- Sodium veronal		2.89 กรัม
- Sodium acetate (anhydrous)		1.15 กรัม
- Distilled water	ผสมให้ได้	100 ซีซี

Stock 01 N HCl :

- Conc. HCl (36%)	8.6 ซีซี
- Distilled water	1,000 ซีซี

นำ Stock buffer solution 2 ส่วน ผสม Stock 0.1 HCl 2 ส่วน และน้ำกลั่น 1 ส่วน ต้องเตรียมแล้วใช้ทันที เพราะจะเกิดตะกอนได้ ส่วน pH ของ Buffer สามารถปรับได้โดยปริมาณของ 0.1 N HCl

3. Sorensen's phosphate buffer (0.2M)

Solution A : Monobasic sodium phosphate 27.8 กรัม
Distilled water 1,000 ซีซี

Solution B : Dibasic sodium phosphate 53.65 กรัม
Distilled water 1,000 ซีซี

ใช้ Solution A และ Solution B ผสมกันในอัตราส่วน 23 : 77 ซีซี ได้ pH 7.3 เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนครบ 200 ซีซี

ขั้นตอนการเตรียมสารพลาสติก

ส่วนผสมที่ใช้ คือ Spurr (1969) ประกอบด้วย

ERL 4206	10 กรัม
DER 736	6 กรัม
NSA	26 กรัม

ทำการชั่งสารพลาสติกทั้งหมดในบีกเกอร์ จากนั้นคนให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กคนสารเคมี (Magnetic stirer) จากนั้นเติมสารเร่งปฏิกริยา DMAE 1 กรัมค่อยๆคนให้เข้ากัน

ขั้นตอนการทำการทดลอง

1. นำกุ้งมาทำให้สลบด้วยความเย็น จากนั้นตัดก้านตากุ้งนำมาจุ่มลงใน 0.14 M Veronal acetate buffer pH 7.4 ล้างเนื้อเยื่อหลายครั้ง แล้วเลาะเอาส่วนต่างๆของก้านตาออกให้เหลือแต่ Optic ganglion และ Optic nerve จากนั้นตัด Optic ganglion ให้เป็นก้อนลูกบาศก์ขนาด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

2. จุ่มเนื้อเยื่อลงในน้ำยารักษาสภาพ (Chungsamarnyart,1981) ที่ประกอบด้วย 1.6 % Paraformaldehyde ผสม 1.68 % Glutaraldehyde ใน 0.2 M Phosphate และ S – Collidine buffer (Modified Karnovesky's fixative)ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง

3. นำเนื้อเยื่อมาล้างหลายๆครั้ง ด้วย 0.14 M Veronal acetate buffer pH 7.4 ที่ 4 องศาเซลเซียส 3 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที

4. Postfixation ด้วย 1% Osmium tetraoxide ใน Veronal acetate buffer pH 7.4 ที่ 4 องศาเซลเซียส ในห้องมืดนาน 2 ชั่วโมง

5. Thirtiary fixation ด้วย 0.5 % Aqueous uranyl acetate pH 3.9 ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในห้องมืด

6. นำเนื้อเยื่อมาล้างด้วย น้ำกลั่น ที่ 4 องศาเซลเซียส 3 ครั้งๆละ 15 นาที

7. ทำการกำจัดน้ำ (Dehydration) ในเนื้อเยื่อด้วย Graded series ของ Ethanol โดยเริ่มตั้งแต่ 50% , 70% , 80% , 90% Ethanol ที่ 4 องศาเซลเซียส 2 ครั้งๆละ 10 นาที ตามด้วย 95 % และ Absolute ethanol ที่อุณหภูมิห้อง 2 ครั้งๆละ 10 นาที

8. Propylene oxide 2 ครั้งๆละ 20 นาที

9. แทนที่ตัวกำจัดน้ำด้วยพลาสติก (Infiltration) โดยใช้อัตราส่วนของ Propylene oxide ต่อสารพลาสติกดังนี้

Propylene oxide : สารพลาสติก = 2:1 ใช้เวลา 1–2 ชั่วโมง

Propylene oxide : สารพลาสติก = 1:2 ใช้เวลา 1 คืน

10. เปิดขวดที่ใส่ชิ้นเนื้อในตู้ดูดควัน เพื่อให้ Propylene oxide ระเหย ใช้เวลา 4–6 ชั่วโมง

11. ฝังชิ้นเนื้อและสารพลาสติก ใน Beem capsules จากนั้นอบไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

12. นำ Plastic blocks ที่เตรียมเสร็จแล้ว นำมาตัดแต่งส่วนของพลาสติกที่ไม่ต้องการออก ให้หน้าตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู กว้างยาวไม่เกิน 2 มิลลิเมตร

13. ใช้เครื่อง Ultramicrotome ตัด Plastic block ดังนี้

(1) การตัดครั้งแรกให้หนาไม่เกิน 1 ไมโครเมตร เพื่อทำ Thick section นำ Section ที่ได้วางบน Glass slide ที่หยดน้ำกลั่นไว้ จากนั้นนำ Glass slide ไปอุ่นที่ Hot plate อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พอแห้งแล้วย้อมด้วย สี Toluidine blue ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (Light microscope) เพื่อเลือกบริเวณที่ต้องการ เมื่อพบบริเวณที่ต้องการแล้ว นำ Plastic block แท่งเดิมมาตัดส่วนที่ไม่ต้องการทิ้งไป ให้ได้หน้าตัดกว้างยาวไม่เกิน 0.5 มิลลิเมตร

(2) การตัดครั้งที่สองให้ Section หนาไม่เกิน 60–70 นาโนเมตร ได้เป็น Thin section เก็บ Section ด้วย ตาข่ายทองแดง (Copper grid)

14. ย้อม Section ที่ได้ด้วย 5 % Uranyl acetate และ Lead citrate นำมาศึกษาด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission electron microscope)ศึกษาลักษณะโครงสร้างโดยละเอียดภายในของเซลล์ที่สร้างฮอร์โมน

15. บันทึกภาพ และ ล้างอัดขยายภาพขาว – ดำ

ผลการทดลอง

จากการศึกษาอย่างละเอียดของก้านตากุ้งกุลาดำ พบว่าปมประสาทในก้านตากุ้งกุลาดำ แบ่งออกได้เป็น 4 ส่วน คือ Lamina ganglionaris , Medulla externa , Medulla interna และ Medulla terminalis ใน Lamina ganglionaris เป็นชั้นที่อยู่นอกสุด ไม่พบ Neurosecretory cells เริ่มพบ Neurosecretory cells รอบปมประสาทก้านตาในส่วนที่เหลือแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วย Neurosecretory cells รวมกันเป็นกลุ่มก้อนอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 1) และมีขนาดของกลุ่มแตกต่างกัน กลุ่มเซลล์ดังกล่าวประกอบด้วย

1. Medulla externa layer เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของปมประสาทในก้านตา มี Neurosecretory cell จัดเรียงตัวเป็นกลุ่มแยกจากกันโดยอิสระแยกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1.1 กลุ่มที่ 1 (ME–1) เป็นกลุ่มที่มีขนาดใหญ่ที่สุดกว้าง 364$\pm$18.6 ไมครอน ยาว 373$\pm$14.18 ไมครอน รูปร่างค่อนข้างกลม ติดกับเนื้อเยื่อชั้น Medulla externa บริเวณผิวด้านบนค่อนไปทางด้านใน (Dorsomedial surface) ส่วนล่างของกลุ่ม จะติดอยู่กับ ด้านในของชั้น Medulla interna

Neurosecretory cells ในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเซลล์ หลายขนาด คือ เซลล์ขนาดใหญ่ ปะปนกับเซลล์ที่มีขนาดเล็ก (รูปที่ 2A) ซึ่งมีโครงสร้างโดยละเอียดภายในเซลล์ที่คล้ายคลึงกัน ประกอบด้วย นิวเคลียสใส (Vesicular nucleus) เห็นนิวคลีโอลัสชัดเจนประมาณ 1–2 อัน มี Rough endoplasmic reticulum ขนาดใหญ่อยู่เป็นจำนวนมาก ปะปนด้วย Polyribosomes , Lysosome และ Mitochondria แกรนูล (รูปที่ 2B) เป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบลำแสงอิเลคตรอน (Electron densed–membrane limited granules) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 735–1,765 อังสตรอม (A^{o}) นอกจากนี้ยังพบ Multivesicular body (รูปที่ 2C) และ Multilamellar structure (รูปที่ 2D) เล็กน้อย ปะปนอยู่ในเซลล์

1.2 กลุ่มที่ 2 (ME-2) มีรูปร่างเป็นแท่งยาวๆกว้าง 195±10 ไมครอน ยาว 290±12 ไมครอน ขนาบอยู่ทางด้านในของเนื้อเยื่อชั้น Medulla externa ส่วนปลายของเซลล์กลุ่มนี้จะเกาะอยู่กับด้านในของเนื้อเยื่อชั้น Medulla interna

Neurosecretory cells ในกลุ่มประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ชนิดแรกเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (รูปที่ 3A,B) มีนิวเคลียสชนิดโปร่ง (Vesicular nucleus) เห็นนิวคลีโอลัส 1-2 อัน ออร์กาเนลล์ภายในเซลล์อื่นๆจะคล้ายกับเซลล์ในกลุ่มที่ 1 (ME-1) แตกต่างกันตรงรูปร่างของ Rough endoplasmic reticulum ชนิดร่างแหที่ขยายใหญ่ (Dilated reticular-typed RER)ที่สานต่อกันเป็นร่างแหครอบคลุมตลอดทั้งเซลล์ เป็นจำนวนมากและมีแกรนูล (รูปที่ 3B)แบบมีเยื่อหุ้มและทึบลำแสงอิเลคตรอน (Electron dense-membrane limited granules) มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 833-1,740 อังสตรอม (A^{O}) ชนิดที่สองเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกัน โครงสร้างโดยละเอียดภายในเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (รูปที่ 3 C) ประกอบด้วยออร์กาเนลล์จำนวนน้อย พบ Golgi complex จำนวนเล็กน้อย อยู่ร่วมกับถุงใสๆ (Clear vesicles) ขนาดต่างๆกัน (รูปที่ 3D) มี Multivesicular body และ Multilamellar structure มาก (รูปที่ 3E) ส่วน Mitochondria และ Lysosome พบน้อย แกรนูล (รูปที่ 3E) พบน้อยเป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบลำแสงอิเลคตรอน (Electron dense-membrane limited granules) มีขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 667-800 อังสตรอม (A^{O}) (รูปที่ 3F) ส่วนเซลล์ที่มีขนาดปานกลางและขนาดเล็ก (รูปที่ 3G) จะมีโครงสร้างภายในคล้ายกับเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ แต่จะมี Golgi complex ขนาดเล็ก (รูปที่ 3G) มีถุงใสๆ (Clear vesicles) เป็นจำนวนมาก และไม่พบแกรนูล

1.3 กลุ่มที่ 3 (ME-3) เป็นกลุ่มที่มีรูปร่าง เป็นแผ่นแบนกว้าง 175±21 ไมครอน ยาว 390±20 ไมครอน ปกคลุมผิวด้านบน (Dorsal surface) ของส่วนยื่นด้านบนของเนื้อเยื่อชั้น Medulla externa

Neurosecretory cells ในกลุ่มนี้มีทั้งเซลล์ขนาดเล็ก และ ขนาดใหญ่ (รูปที่ 4A) โครงสร้างโดยละเอียดภายในเซลล์ทั้งสองขนาดจะคล้ายกันคือมีนิวเคลียสชนิดโปร่ง

(Vesicular nucleus) มีโครงสร้างโดยละเอียดภายในเซลล์แตกต่างจากเซลล์กลุ่มอื่น คือ ภายในซัยโตพลาสมมีช่องว่างขนาดเล็กใหญ่แทรกอยู่เป็นจำนวนมาก ออร์กาเนลล์น้อย ที่พบส่วนใหญ่ คือ Rough endoplasmic reticulum ชนิดถุงใส (Vesicular–typed RER) (รูปที่ 4A), Golgi complex และ Mitochondria เล็กน้อย (รูปที่ 4B) เซลล์ทั้งสองชนิดมีแกรนูล (รูปที่ 4B)แบบมีเยื่อหุ้มและทึบลำแสงอิเลคตรอน (Electron dense–membrane limited granules) ขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 800–1,200 อังสตรอม (A^{O})

2. Medulla interna layer เป็นชั้นเนื้อเยื่อส่วนกลางของปมประสาทในก้านตา มี Neurosecretory cells 1 กลุ่มรูปทรงกลมขนานเล็กกว้าง 80$\pm$0.01 ไมครอน ยาว 150$\pm$0.2 ไมครอนเกาะติดอยู่กับผิวด้านบนของส่วนบนของเนื้อเยื่อชั้น Medulla terminalis บางบริเวณอยู่ติดกับด้านข้างของส่วนยื่นด้านบนของเนื้อเยื่อชั้น Medulla interna

Neurosecretory cells (MI–1) ในกลุ่มประกอบด้วยเซลล์ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกมีขนาดใหญ่ อยู่ปนกับเซลล์ขนาดเล็กเซลล์ทั้งสองกลุ่มมีโครงสร้างโดยละเอียด ภายในเซลล์แตกต่างกัน เซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (รูปที่ 5A,B) มีนิวเคลียสโปร่ง (Vesicular nucleus) ภายในซัยโตพลาสมพบ Rough endoplasmic reticulum ชนิดถุงใส (Vesicular–typed RER) มี Polyribosome มาก ,Golgi complex เล็กน้อยมีถุงใสๆ (Clear vesicles)เกาะติด อยู่ปลายข้างหนึ่ง (รูปที่ 5B) พบ Mitochondria ประปรายมีแกรนูลน้อยเป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense–cored secretory granules)(รูปที่ 5B)เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 570–860 อังสตรอม ส่วนเซลล์ขนาดเล็ก (รูปที่ 5C) มีนิวเคลียสโปร่ง (Vesicular nucleus) ภายในซัยโตพลาสมมี Polyribosome จำนวนมาก และ RER แบบถุงใส , Golgi complex เจริญดีอยู่ใกล้ชิดกับถุงใส (Clear vesicles) และแกรนูล , Mitochondria พบน้อย , แกรนูลที่พบ (รูปที่ 5D) เป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense core secretory granules) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 570–720 อังสตรอม เซลล์ในกลุ่มที่สอง (รูปที่ 5E) เป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็กนิวเคลียสโปร่ง ออร์กาเนลล์ภายในมีจำนวนน้อย พบ Polyribosome และ RER แบบถุงใส ไม่พบแกรนูลภายในเซลล์

3. Medulla terminalis layer เนื้อเยื่อชั้นล่างสุดของปมประสาทในก้านตาต่อเนื่องกับเส้นประสาทตา (Optic nerve) มี Neurosecretory cells เกาะอยู่ 2 กลุ่ม ดังนี้

3.1 กลุ่มที่ 1 (MT-1) เป็นกลุ่มที่มีขนาดใหญ่รองลงมาจากกลุ่มเซลล์ใน ME-1 เซลล์จะรวมกันเป็นแผ่นแบนเกาะติดอยู่กับ ผิวด้านในของเนื้อเยื่อชั้น Medulla terminalis และแผ่ยื่นขึ้นไปทางด้านบนและคลุมผิวด้านบนค่อนไปทางด้านนอก กลุ่มเซลล์ดังกล่าวมีขนาดกว้าง 480$\pm$0.53 ไมครอน ยาว 480$\pm$0.53 ไมครอน

Neurosecretory cells แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (รูปที่ 6A) มีนิวเคลียสโปร่ง (Vesicular nucleus) RER มีลักษณะเป็นถุงแบนขยายใหญ่ซ้อนกันจำนวนมาก (Dilated cisternae RER) (รูปที่ 6B) นอกจากนี้ยังพบ Mitochondria และ Polyribosome เป็นจำนวนมาก แกรนูล (รูปที่ 6B,C) มีขนาดใหญ่ เป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense-cored secretory granules) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2,000-2,570 อังสตรอม กลุ่มที่สองเป็นเซลล์ขนาดเล็ก (รูปที่ 6D) นิวเคลียสโปร่ง (Vesicular nucleus) มี ออร์กาเนลล์ภายในเซลล์น้อย ส่วนมากเป็น Polyribosome ส่วน Golgi complex พบน้อย มี RER ชนิดถุงใส และมี Mitochondria ประปราย แกรนูลพบน้อยมีขนาดเล็ก (รูปที่ 6E,F) เป็นแบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense core secretory granules) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 720-860 อังสตรอม อยู่ชิดกับ Golgi complex (รูปที่ 6E) นอกจากนี้ยังพบ Multilamellar structure และ Multivesicular body (รูปที่ 6 F)

3.2 กลุ่มที่ 2 (MT-2) เป็นกลุ่มเซลล์ที่รวมกันเป็นแผ่นบางๆขนาดกว้าง 125$\pm$0.28 ไมครอน ยาว 335$\pm$0.51 ไมครอน คลุมผิวด้านล่างค่อนไปทางด้านข้างของเนื้อเยื่อชั้น Medulla terminalis

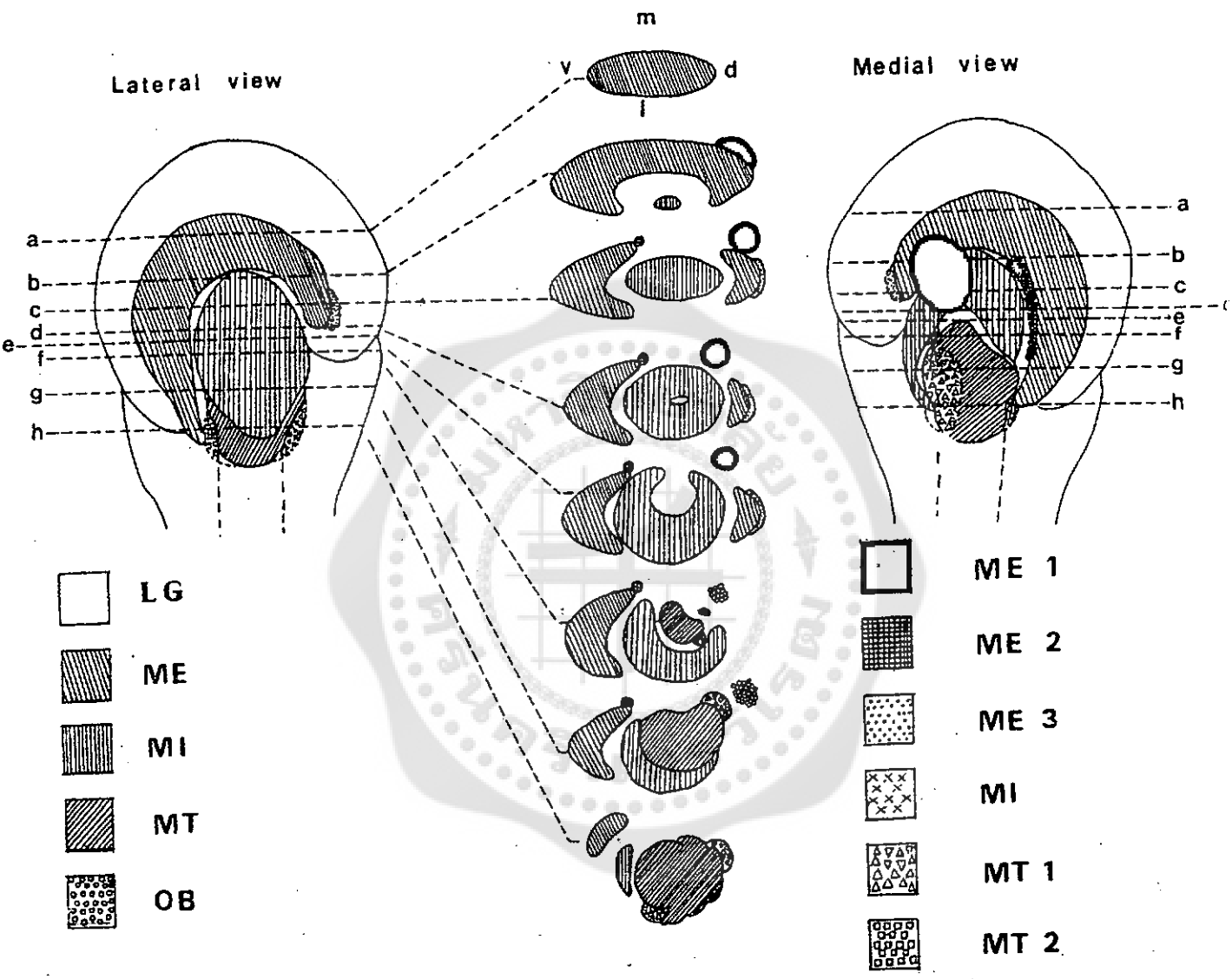
Neurosecretory cell ในกลุ่มแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรก (รูปที่ 7 A) เซลล์มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสโปร่ง (Vesicular type) ออร์กาเนลล์ในซัยโตพลาสม มี RER มีรูปร่างเป็นถุง (Vesicular -typed RER) กระจายอยู่ทั่วเซลล์ มี

Polyribosome จำนวนมาก Mitochondria เล็กน้อย Golgi apparatus พบน้อยไม่ค่อยเจริญ มี Multivesicular bodies จำนวนมาก (รูปที่7B) แกรนูลที่พบมีขนาดเล็ก (รูปที่ 7 C) แบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense–cored secretory granules) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 570–860 อังสตรอม กลุ่มที่สอง ประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดกลาง และขนาดเล็ก (รูปที่ 7 D) มีโครงสร้างภายในคล้ายกับเซลล์กลุ่มแรก แกรนูลที่พบมีขนาดเล็ก (รูปที่ 7 E) แบบมีเยื่อหุ้มและทึบแสงอิเลคตรอน (Electron dense–cored secretory granules) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 570–720 อังสตรอม และมักพบ Multivesicular structure จำนวนมาก (รูปที่ 7 F)

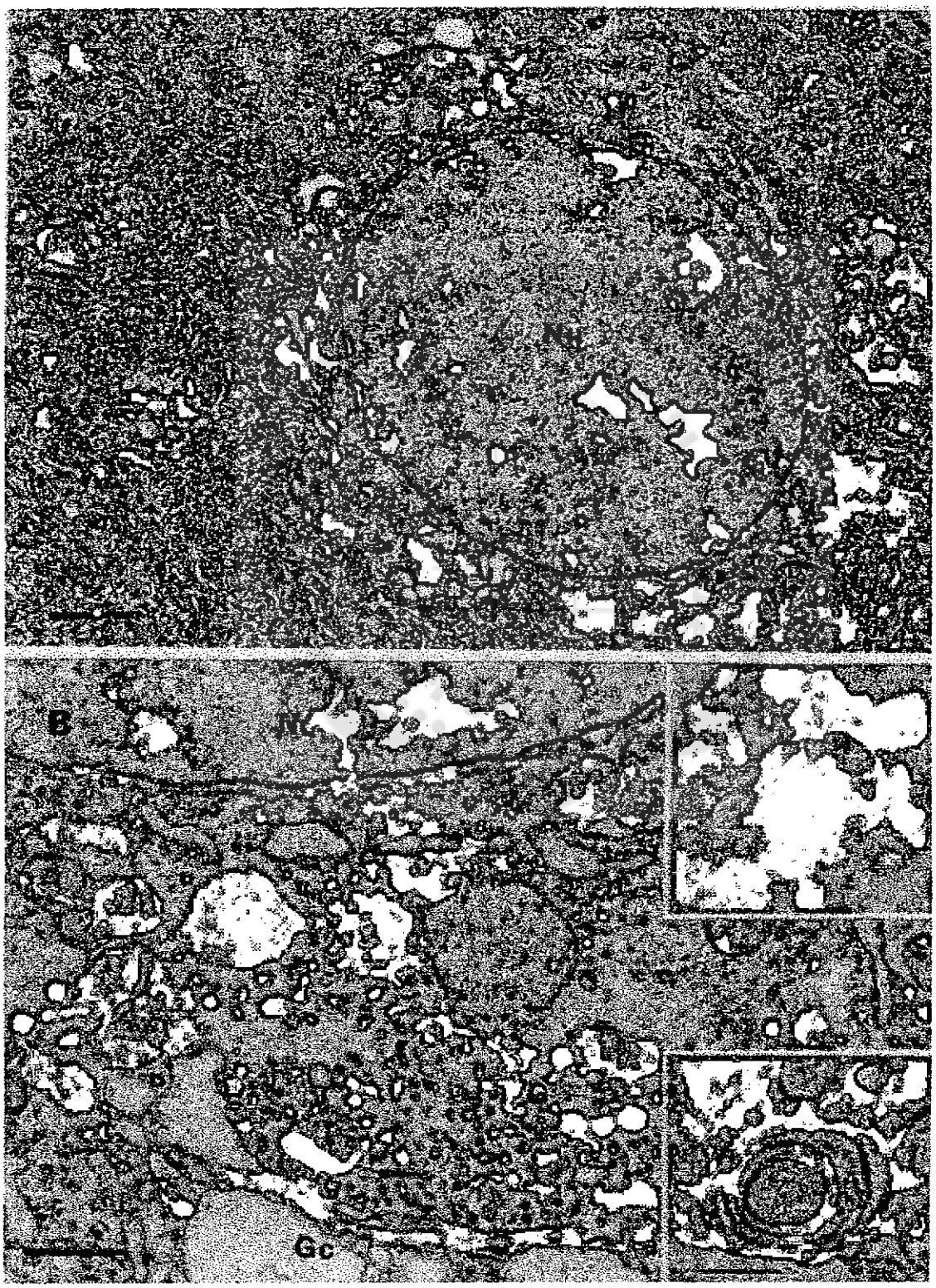
ในส่วนของ Sinus gland ซึ่งมีส่วนปลายของเส้นประสาท (Axon terminal) จาก Neurosecretory cells พบว่า ภายในมีกลุ่มของแกรนูลที่แตกต่างกันทั้ง รูปร่าง , ขนาด ความทึบแสงอิเลคตรอน (รูปที่ 8)

สารบัญคำย่อ

G	=	Granule
Gc	=	Golgi complex
L	=	Lysosome
LG	=	Lamina ganglionaris
ME	=	Medulla externa
MI	=	Medulla interna
MT	=	Medulla terminalis
ME-1	=	Medulla externa neurosecretory cells กลุ่มที่ 1
ME-2	=	Medulla externa neurosecretory cells กลุ่มที 2
ME-3	=	Medulla externa neurosecretory cells กลุ่มที่ 3
MI-1	=	Medulla interna neurosecretory cells กลุ่มที่ 1
MT-1	=	Medulla terminalis neurosecretory cells กลุ่มที่ 1
MT-2	=	Medulla terminalis neurosecretory cells กลุ่มที่ 2
MV	=	Multivesicular body
ML	=	Multilamellar structure
Nu	=	Nucleus
P	=	Polyribosome
RER	=	Rough endoplasmic reticulum
V	=	Clear vesicles



รูปที่ 1 ภาพปมประสาทของก้านตากุ้งกุลาดำ (Penaues monodon , Fabricius) แสดงการจัดตัวของชั้นเนื้อเยื่อในปมประสาท ในส่วนด้านข้าง. (Lateral veiw) ด้านใน (Medial view) ด้านล่าง (Ventral view)และ ด้านบน (Dorsal view) (ดัดแปลงจาก :Bellon–Humbert ,ch.,1981)

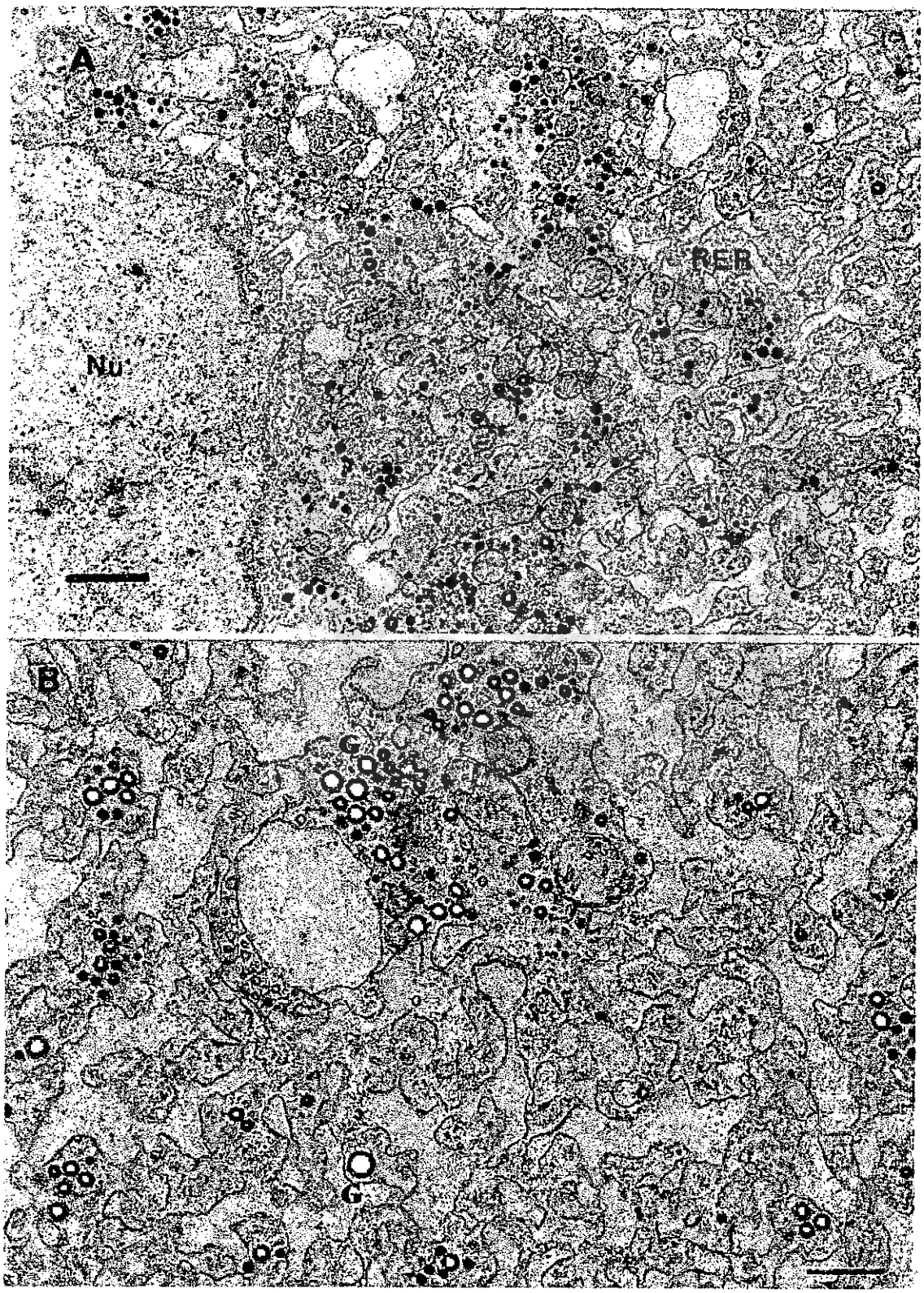

B
Gc

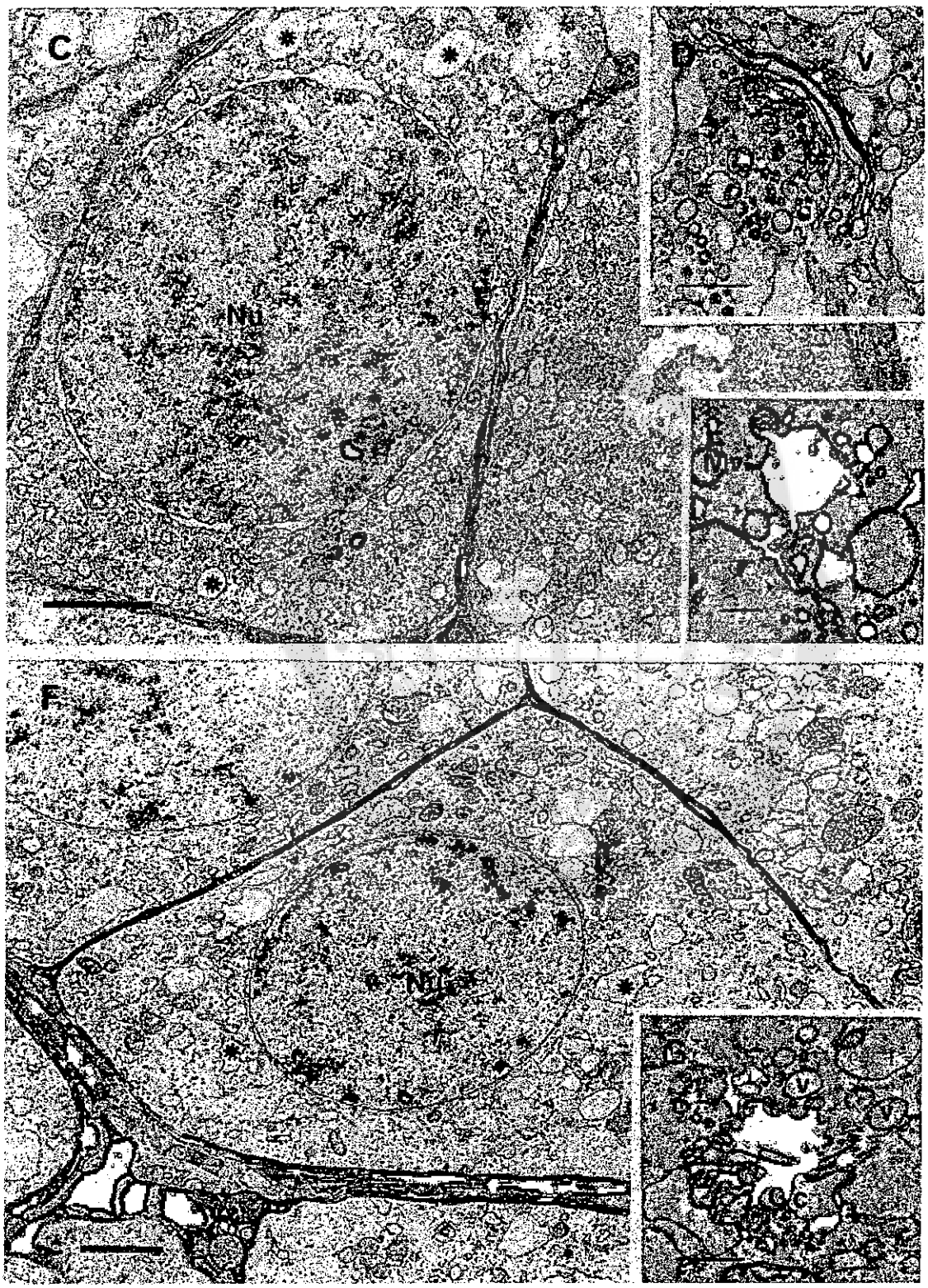
รูปที่ 2 (A) แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ของเซลล์มีขนาดใหญ่กลุ่ม ME-1 , – = 2 ไมโครเมตร กำลังขยาย 6,500

(B) – = 500 ไมโครเมตร , กำลังขยาย 34,000

(C) Multivesicular bodies, – = 500 ไมโครเมตร , กำลังขยาย 75,000

(D) Multilamellar structure, – = 500 ไมโครเมตร , กำลังขยาย 26,000


A
RER
Nu
B
G
G


C
Nu
D
V
M
F
Nu
E
V
V
Gc

รูปที่ 3 (A) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ชนิดแรกใน ME-2 (A) , – = 1 ไมโครมิเตอร์ กำลังขยาย 13,500

(B) – = 500 นาโนเมตร กำลังขยาย 24,000

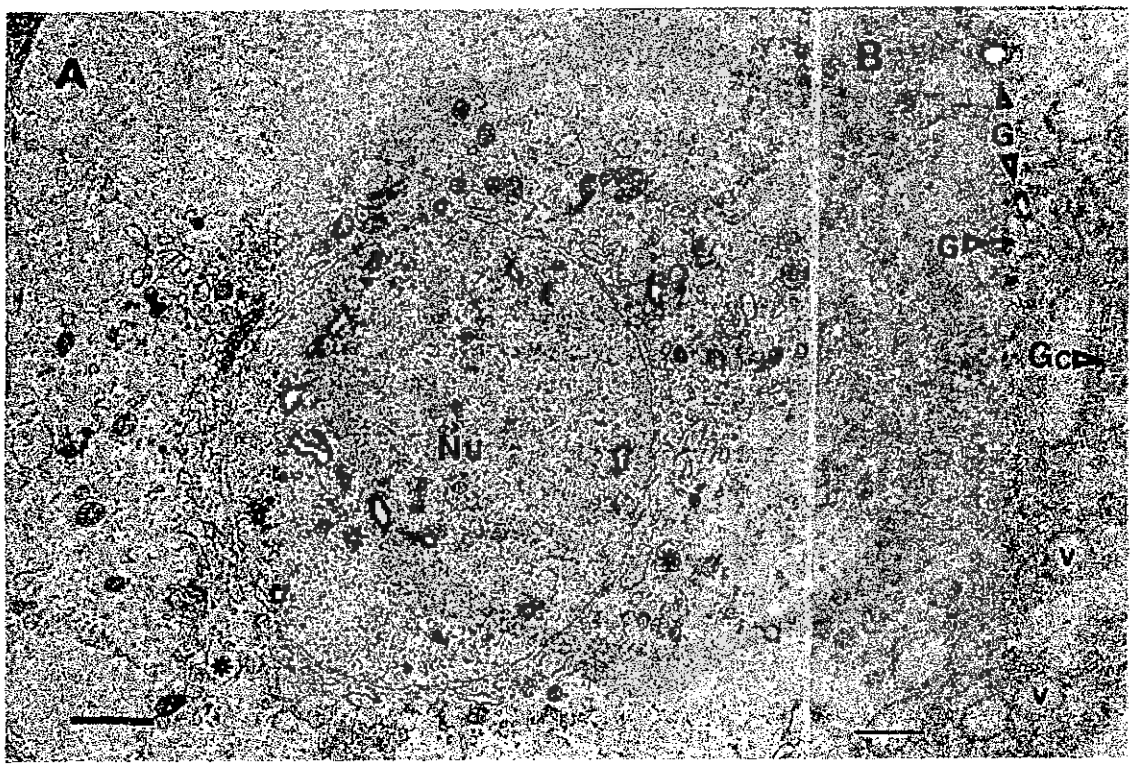
(C) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ชนิดที่สองใน ME-2 , – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 9,000

(D) – = 500 นาโนเมตร กำลังขยาย 24,000

(E) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 33,333

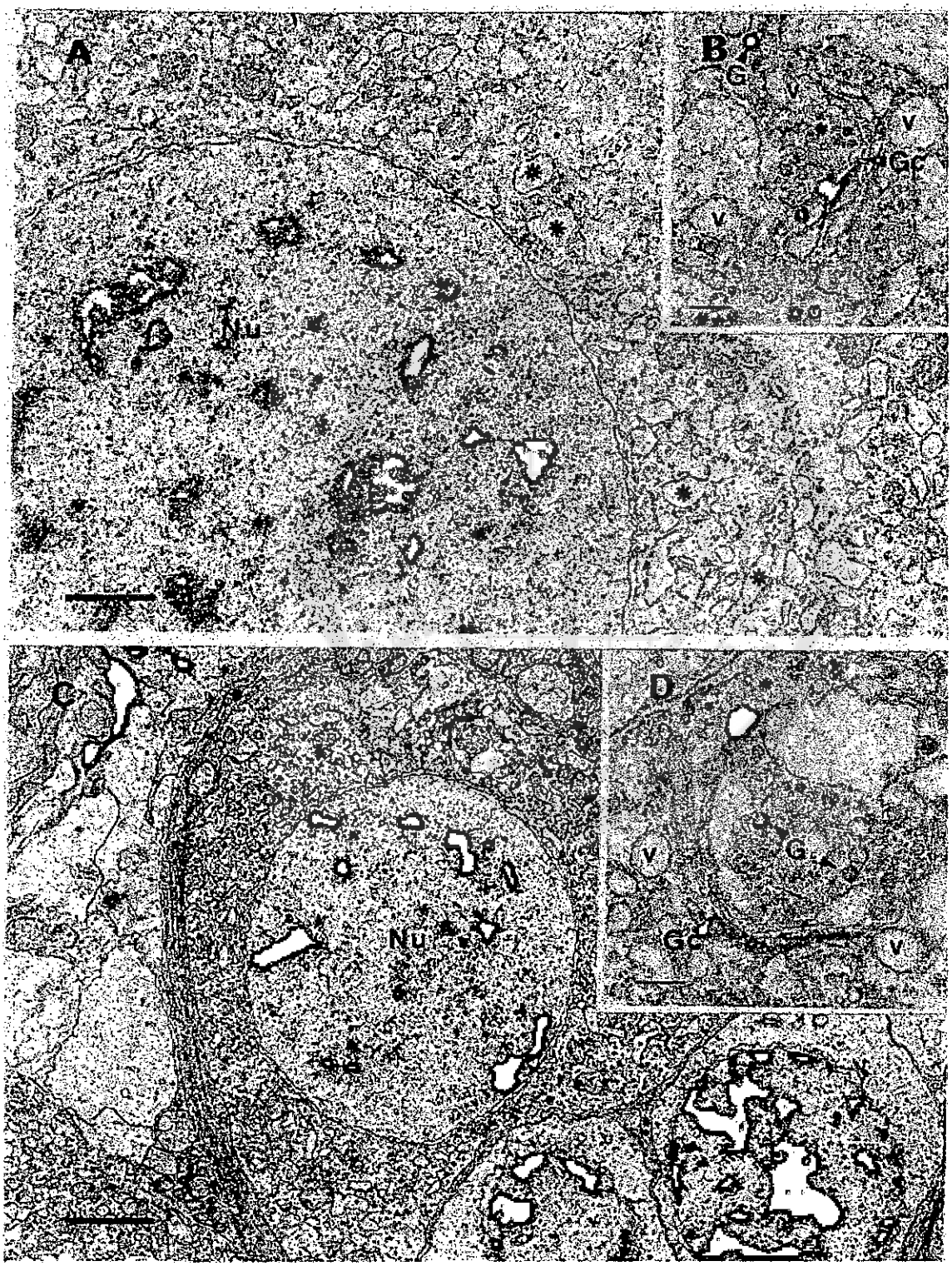
(F) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ขนาดกลางในกลุ่มที่ 2 ใน ME-2 , – =2 ไมครอน กำลังขยาย 7,000

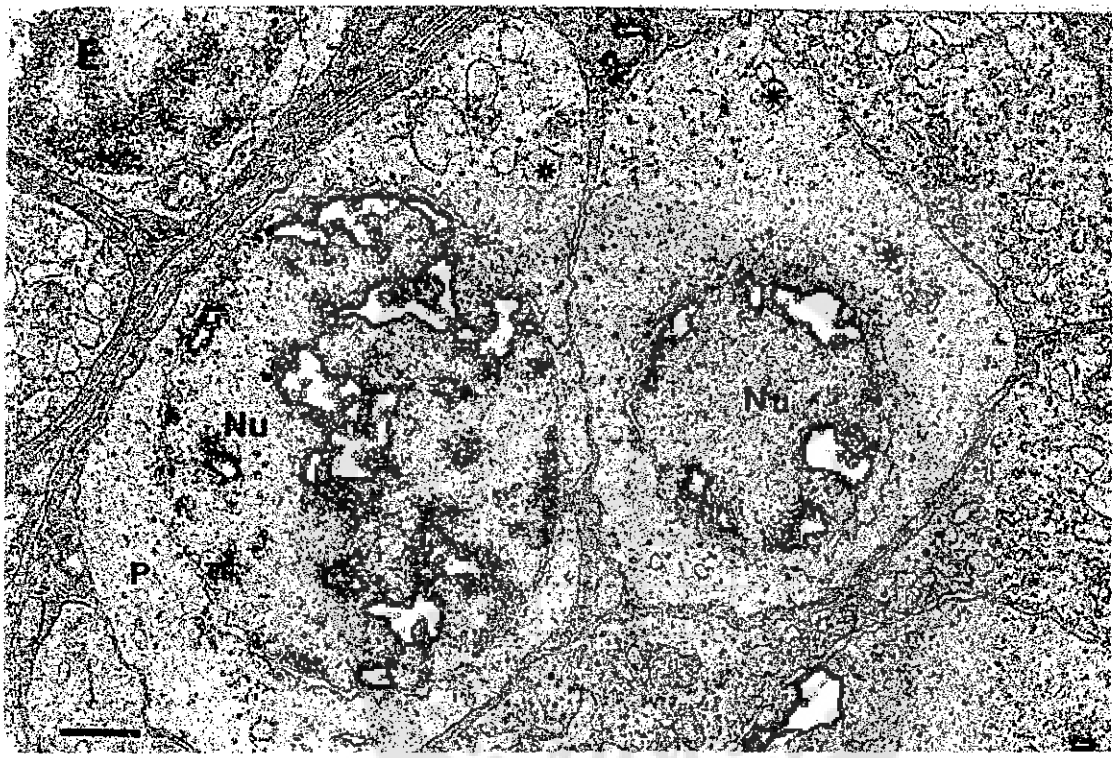
(G) – = 500 นาโนเมตร กำลังขยาย 22,000



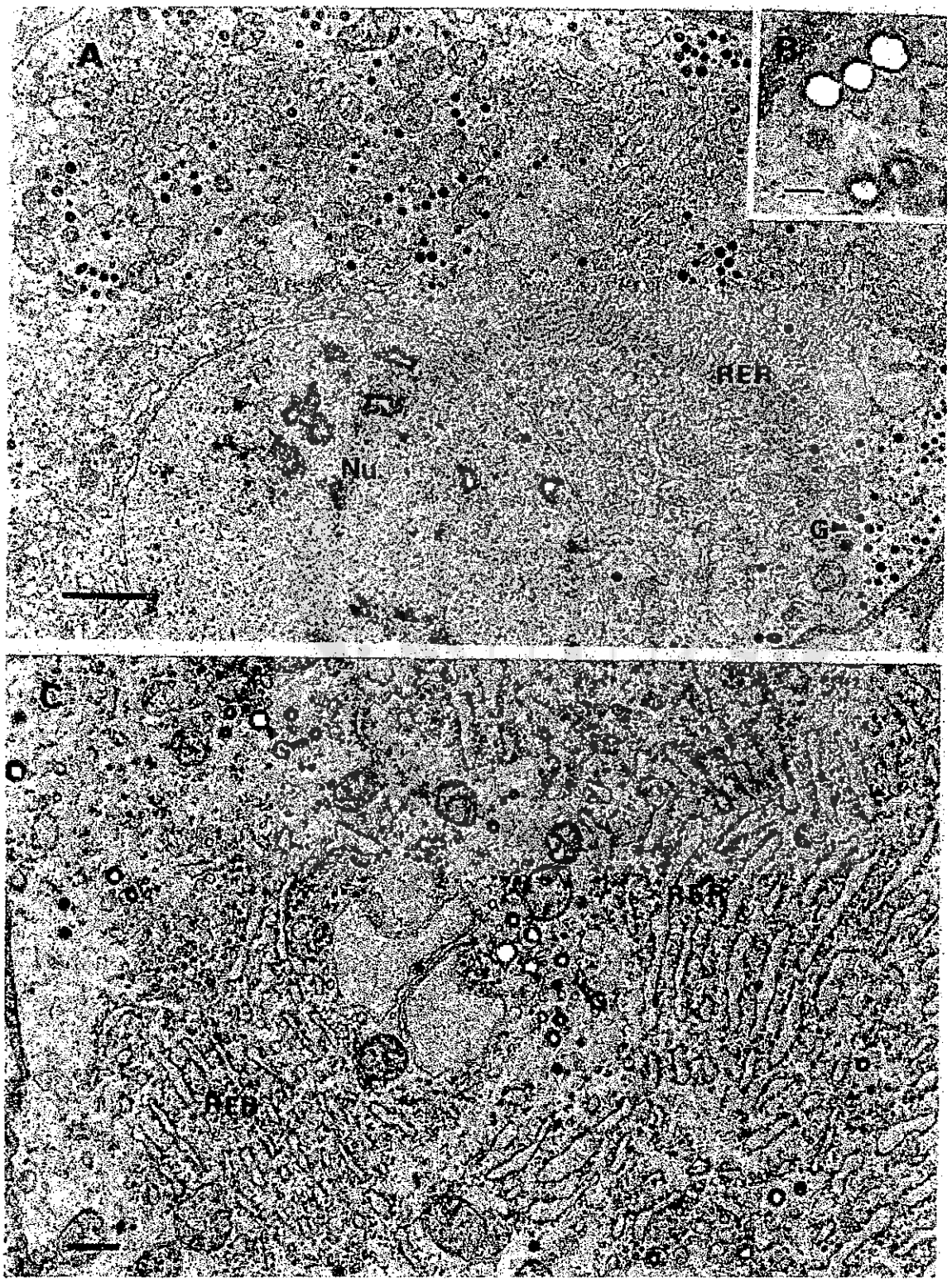
รูปที่ 4 (A) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ใน ME–3 , – =2 ไมครอน กำลังขยาย 5'500

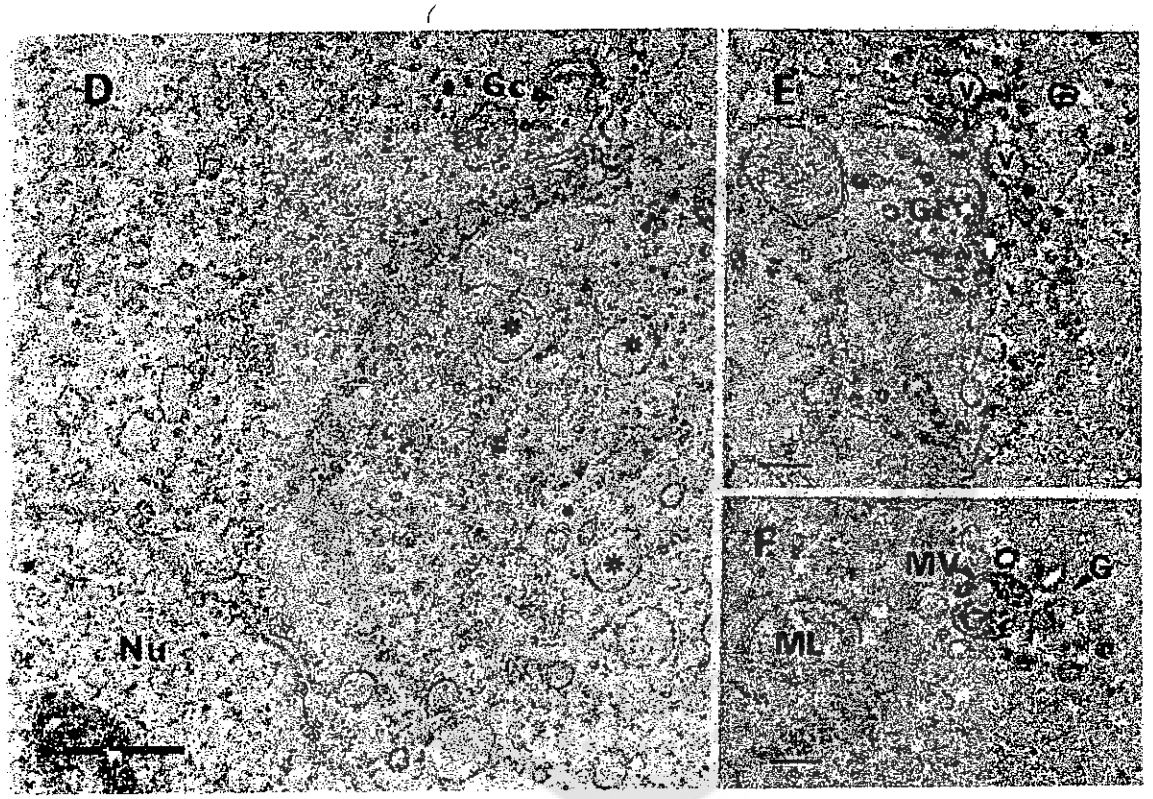
(B) – =200 นาโนมิเตอร์ กำลังขยาย 42,218


A
Nu
B
G
V
v
GC
C
Nu
D
v
G
GC
v



รูปที่ 5 (A)ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ขนาดใหญ่กลุ่มแรกใน MI–1 , – = 1 ไมครอน กำลังขยาย 14,000
(B),(D) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 31,111
(C)ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ขนาดเล็กในกลุ่มแรก ใน MI–1 , – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 6,462
(E)ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells กลุ่มที่สองใน MI–1 , – = 1 ไมครอน กำลังขยาย 11,000


A
B
RER
Nu
G
C
RER
RER



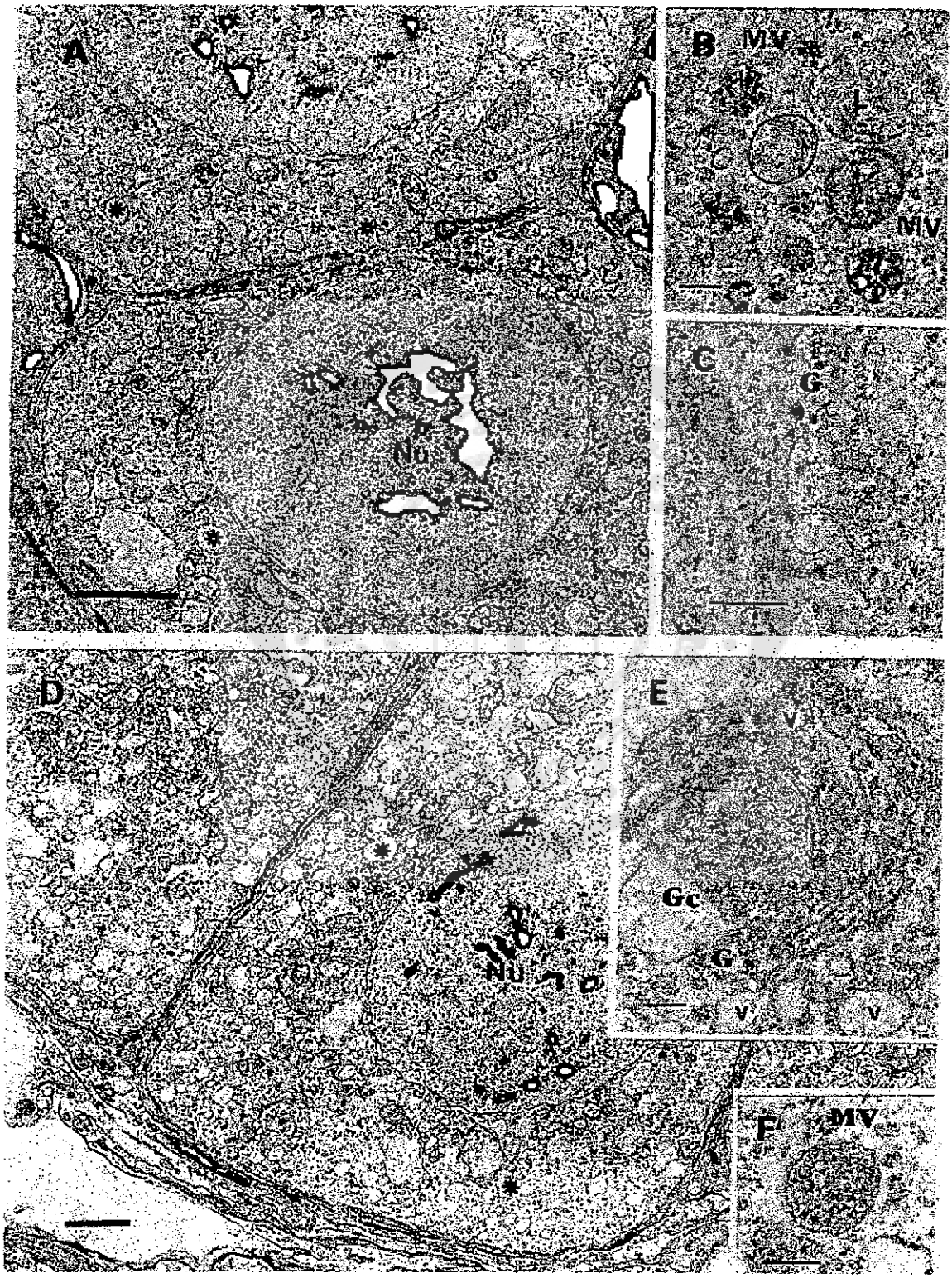
รูปที่ 6 (A)ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ขนาดใหญ่กลุ่มแรกใน MT–1 , – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 7,000

(B) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 42,353

(C) – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 7,999

(D) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells ขนาดเล็กใน MT–1 , – = 1 ไมครอน กำลังขยาย 19,000

(E),(F) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 35,000


A
Nu
B
MV
L
MV
C
G
V
D
Nu
E
V
Gc
G
V
V
F
MV

รูปที่ 7 (A)ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells กลุ่มแรก ใน MT–2 , – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 8,000

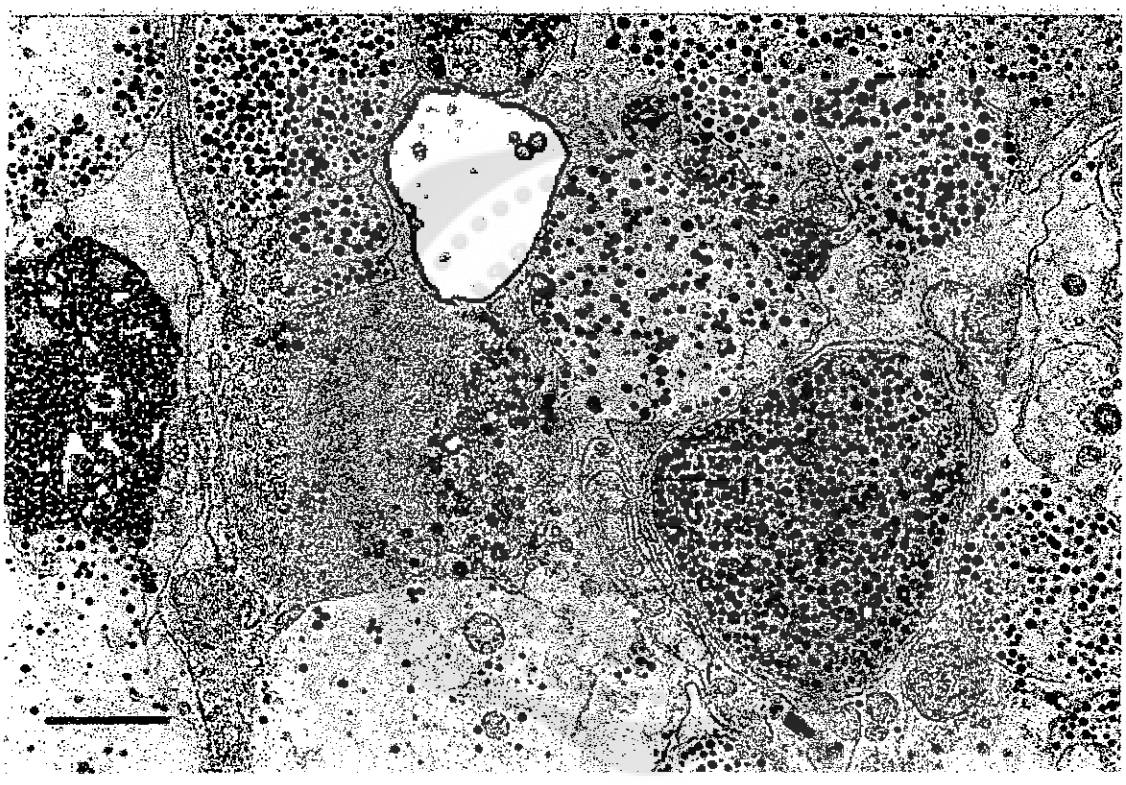
(B) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 31,111

(C) – = 500 นาโนเมตร กำลังขยาย 26,000

(D) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของ Neurosecretory cells กลุ่มที่ 2 ใน MT–2 , – = 2 ไมครอน กำลังขยาย 4,900

(E) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 31,111

(F) – = 200 นาโนเมตร กำลังขยาย 50,000



รูปที่ 8 แสดงปลายประสาทบริเวณ Sinus gland ภายในปลายประสาทแต่ละเส้นมีแกรนูล บรรจุอยู่ ,– = 2 ไมครอน , กำลังขยาย = 8,000

สรุปและวิจารย์ผล

จากการศึกษาปมประสาท (Optic ganglion) ในก้านตาของกุ้งกุลาดำพบว่าสามารถแบ่งได้ 4 ส่วน เหมือนสัตว์ในกลุ่ม Crustacean ทั่วไป คือ Lamella ganglionaris , Medulla externa , Medulla interna และ Medulla terminalis

เมื่อศึกษาแต่ละกลุ่มของเซลล์ที่สร้างฮอร์โมน (Neurosecretory cells) ในปมประสาทก้านตาของกุ้งกุลาดำ พบว่าเซลล์มีการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มจะเกาะติดกับเนื้อเยื่อของปมประสาทก้านตา ลักษณะเช่นนี้ไม่เคยมีผู้ใดอธิบายมาก่อน ในสัตว์กลุ่ม Crustacea ชนิดอื่นๆ โดยในรายงานที่ศึกษาโดย Hisano ปี 1974 และ 1976 ได้ทำการศึกษาในกุ้งน้ำจืด Palaemon paucidens พบ Neurosecretory cells อยู่กระจัดกระจายในบริเวณที่เรียกว่า X – organ บนปมประสาทก้านตาส่วน Medulla terminalis การศึกษาในระยะหลัง โดย Preciado ในปี 1994 พบ Neurosecretory cells อีกกลุ่มหนึ่งมีจำนวนไม่มากในบริเวณ Medulla externa

เมื่อศึกษาโครงสร้างภายในของ Neurosecretory cells ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบแสงส่องผ่าน (Transmission electron microscope) แต่ละกลุ่มมีการทำงานไม่พร้อมกัน ทั้งนี้ดูได้จากจำนวนของออร์กาเนลล์ ขนาด และปริมาณของแกลนูล ที่พบในเซลล์

ออร์กาเนลล์ภายใน Neurosecretory cells แสดงลักษณะของเซลล์ที่สร้างสารประเภทโปรตีน เนื่องจากมี ปริมาณของ Rough endoplasmic reticulum เป็นจำนวนมาก

แกรนูลที่พบใน Neurosecretory cells สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. Neurosecretory granule ขนาดใหญ่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ตั้งแต่ 700–2500 อังสตรอม พบในเซลล์ขนาดใหญ่กลุ่มแรกของ ME–1 , ME–2 , ME–3 และ

MT-1 และพบในปลายประสาท (Axon terminal) บางอันของ Sinus glang

2. Neurosecretory granule ขนาดเล็กมีเส้นผ่าศูนย์กลาง ตั้งแต่ 570-860 อังสตรอม พบในเซลล์ขนาดใหญ่กลุ่มที่สองของ ME-2 , ME-3 , MI-1 และในเซลล์กลุ่มที่สองของ MT-1,2 และพบในปลายประสาท (Axon terminal) บางอันของ Sinus gland

3. ถุงใสๆ (Clear vesicles) ที่พบในบางเซลล์ เข้าใจว่าเป็น Synaptic vesicles

Multivesicular body ที่พบในบางเซลล์เข้าใจว่าเป็น Autophagosome ที่เก็บกิน แกลนูลไว้ภายใน เป็นการย่อยสลายภายในเซลล์ (Autophagy) เคยมีการพบลักษณะดังกล่าวในเซลล์ของ Anterior pituitary gland (Smith,Farquhar,1966) ส่วน Multilamella structure เข้าใจว่าเป็นระยะต่อมาหลังจากที่ Lysosome เก็บกินแกรนูลเข้าไปไว้ในเซลล์แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง พบลักษณะเดียวกันนี้ใน Prothoracic gland ของแมลงสาบ (Scharrer ,1964b,1966)

ใน Sinus gland พบแกรนูลที่มีลักษณะและรูปร่างแตกต่างจากที่เห็น Neuro secretory cells ในปมประสาทของก้านตาเข้าใจว่า แกรนูลเหล่านี้อาจมาจากเซลล์กลุ่มอื่นที่ไม่ได้อยู่ในปมประสาทก้านตา

จากรายละเอียดที่พบ สามารถอธิบายได้ว่า Neurosecretory cells ในปมประสาทก้านตาจะสร้าง Neurohormone หลายชนิด โดยแต่ละกลุ่ม น่าจะสร้างฮอร์โมนที่แตกต่างกัน และจากข้อมูลดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่า ระบบ Neurohormone ในการควบคุมกลไกต่างๆของระบบในกุ้งกุลาดำน่าจะซับซ้อนกว่ากุ้งชนิดอื่นๆ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายพงศ์เทพ ชมชูชาติ ที่ได้ริเริ่มงานเกี่ยวกับกุ้งกุลาดำ และขอขอบคุณ ร.ศ. ด.ร. ณรงค์ จึงสมานญาติ ที่ได้ให้คำแนะนำ เกี่ยวกับสารเคมีที่มาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ และ ร.ศ. ประจวบ หลำอุบล ที่ได้ให้คำปรึษา เกี่ยวกับงานวิจัยในครั้งนี้

งานวิจัยในครั้งนี้จะไม่สามารถทำขึ้นมาได้ถ้า ไม่ได้รับเงินอุดหนุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2537 ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ และนักวิทยาศาสตร์ ของภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร ที่ได้อำนวนความสะดวกในการใช้เครื่องมือ รวมทั้งพนักงานขับรถของสำนักงานเลขานุการ คณะแพทยศาสตร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกแก่ คณะผู้จัดทำในการไปเก็บตัวอย่างกุ่งกุลาดำที่ จังหวัดชลบุรี

เอกสารอ้างอิง

1. ณรงค์ จึงสมานญาติ (2532) .หลักการและเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน. : 15–16

2. Atwood , H . L . and Sanderman , D . D . (1982) . The Biology of Crustaceae Vol 3 ,Academic Press , New York , pp 206–277

3. Browdy , C.L. and Samocha (1985), T.M. The effect of eyestalk ablation on sprawning molting and mating of Penaeus semisulcatus De Haan . Aquaculture 49 : 19–27.

4.Bellon–Hum.,VanHerp,F.,Strolenberg,G.E.C.M.,and (1981) .Histological and Physiological aspects of the medulla externa X organ ,a neurosecretory cell group in tjhe eyestalk of Palaemon serratus pennant (Crustacea,Decapod,Natantia)Biol.Bull.:160,11–30

5.Fingerman,M. and T.Aoto (1959).The neurosecretory system of the dwarf crafish,Cambarellus shafeldti ,as reveral by electon and light microscope .Trans .Amer.Microscop.Soc, 78:305–317

6.Jungsamarnyart , N . , Fugjioka , T . (1981). Correative light–Fluorescence and Electron microscopic studies of catecholamine–storing cells in the adrenal medulla of domestic fowl. Cell Tiss. Res . 217 , 471–477 .

7.Hamori,J.G.A. Horridge (1966a).The Lobster optic lamina I General organization .J.Cell .Sci. 1:249–256

8.Hamori,J.G.A. Horridge (1966c).The Lobster optic lamina III .Degeneration of retinula cell ending .J.Cell .Sci. 1:271–274

9.Hamori,J.G.A. Horridge (1966d).The Lobster optic lamina IV.Glia cells J.Cell .Sci. 1:271–274

10.Hisano,S.,(1974)The eyestalk neurosecretory cell types in the

eyestalk of the Freshwater prawn Palaemon paucidens I A light micrescopical study.J.Fac.Sci. HokkaidoUni.SerVI.Zoo 19,503-514

11. Hisano,S. (1976) : Neurosecretory cell types in the eyestalk of the Freshwater prawn Palaemon paucidens .An Electron Microscope study.Cell Tiss Res.166,511-520

12.Lumubol,P. (1987) , Natantia , Faculty of Fisheries ,Kasetsart University,Bangkok.232 p (in Thai)

13.Lumare , F.(1979) . Reproduction of Penaeus Kerathurus using eyestalk ablation. Aquaculture 18 : 203-214

14. Makinouchi , S. and Primavera , J.H. (1987) . Maturation and spawing of Penaeus indicus using different ablation methods. Aquaculture 62:73-81.

15. Mattson., M.P. and Spaziani , E. (1985). Characterization of molt inhibiting hormone (MIH) action on crustacean Y-organ segment and dispersed cell in culture and bioassy for MIH activity. The Journal of Experimental zoology 236:93-101.

16.Platon , R .(1978). Operation and economics of a seale hatchery for the larval rearing of Supo (Penaeus monodon).Aquaculture Department Iloilo ,Philipines :33pp

17. Potter , D.D. (1956). Observations on the neurosecretory system of Portunid crabs.pH.D. Thesis .Harvard University ,MAssachusets.

18. Primavera , J.H. (1980). Broodstock of Supo (Penaeus monodon) and other penaeid prawns.SEAFDEC,Aquaculture extension manual No.7:24p.

19. Preciado,M.Tsutsumi,V.(1994) : Ultrastructural features of Neurosecretory cells in teh Medulla externa of the Crayfish eyestalk ,General and Comparative Enocrin. 95,432-442.

20. Soyez , D. and Kleinholz , L.H. (1977) . Molt inhibiting factor from the crustacean eyestalk. General and Comparative endocrinology .31:233-242.

21.Spurr , A . R . (1969).A low viscosity epoxy resin embedd ing medium for electron microscopey . J . Ultrastruct . Rse . , 26,31.

22. Shivers,R.R.(1967) :Fine structure of Crayfish optic ganglion . The University of Kansas Sci Bull. 667-733.

23. Smith,R.E,,M.G. Frguhar (1966) Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary . J.Cell.Bio.31:319-347

24. Schareiner,B.(1966) Histochemistry of the A cell neurosecretory material in the milkweed bug ,Oncopeltus fasciatus Dallas (Heteroptera:Lygacidae)with a discussion of the neurosecretory material / (carrier substance problem .Gen.Comp.Endo.6:388-400.

25. Schareiner,B.(1964b)The find structure of Blattarian prothoracic glands .Zeitchrift fur Zellforsch.64.301-326