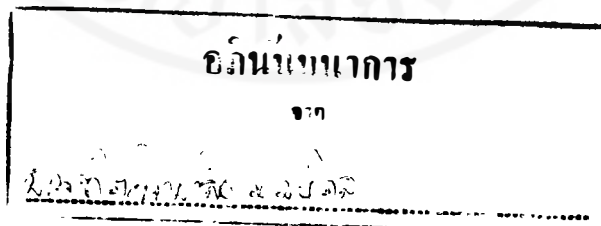


9 SEP 1992

STUDY ON THE STRUCTURE AND FUNCTION
OF NEUROENDOCRINE ORGANS IN GIANT
AFRICAN SNAIL, *ACHATINA FULICA*

VIYADA SEEHABUTR

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(ANATOMY)



IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1992

Copyright by Mahidol University

19580

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของนิวโทรเอนโดคริน ออร์แกน ในหอยทากยักษ์
ผู้วิจัย	วิระดา สิทธิบุตร
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เกษตรศาสตร)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	จิตติพันธ์ ชาวเดช มาลีสา เครือตราชู ประเสริฐ ไส้กน ประพีร์ เศรษฐรักษ์ สุชาติ อุปลัมภ์
วันที่สำเร็จการศึกษา	๑๒ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๓๕

บทคัดย่อ

หอยทากยักษ์ เป็นหอยบกที่อาศัยอยู่ตามพื้นดินที่ชื้นแฉะทั่วๆไป มีลำตัวที่อ่อนนุ่ม และ ห่อหุ้มด้วยเปลือกที่แข็งและหนา ภายในร่างกายของหอยจะประกอบด้วยอวัยวะต่างๆ ที่แบ่ง แยกกันอย่างชัดเจน เช่นอวัยวะในระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น ระบบประสาทของ หอยทากยักษ์ประกอบด้วยปมประสาท 13 อัน ได้แก่ ปมประสาทบิวคัล 1 คู่ ปมประสาท เซรีบรัล 1 คู่ ปมประสาทพลูรัล 1 คู่ ปมประสาทพาโรเอทิล 1 คู่ ปมประสาทพีดีล 1 คู่ ปมประสาทเทนแทคิวลาร์ 1 คู่ และปมประสาทวิสเซอร์รัล ปมประสาททั้งหมดเชื่อมติด กันด้วยเส้นประสาท นอกจากนี้ปมประสาทแต่ละอันยังส่งเส้นประสาทออกไปควบคุมการทำงานของ อวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายด้วย

ภายในปมประสาทประกอบด้วยเซลล์ประสาทที่มีรูปร่างกลมมากมาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้สี่ขนาดคือ เซลล์ที่มีขนาดใหญ่มาก (> 100 ไมครอน) เซลล์ขนาดใหญ่ (40-99 ไมครอน) เซลล์ขนาดกลาง (20-39 ไมครอน) และเซลล์ขนาดเล็ก (< 20 ไมครอน) จากการศึกษาโครงสร้างของเซลล์ประสาทเหล่านี้ พบว่าภายในเซลล์ประกอบด้วยนิวเคลียสที่มีรูปร่างกลม และภายในไซโตพลาสซึมประกอบด้วยไมโทคอนเดรีย โกลจิคอมเพลกซ์ ไมโครทิวบูล หอยน้ำมัน ไลโซโซม และแกรนูลที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 800-1400 อังสตรอม เป็นต้น

จากการย้อมเซลล์ประสาทของหอยทากยักษ์ด้วยสีโครเมียม-ฮีมาทอกซิลิน ฟลอกซิน และพารัลดีไฮด์-ฟิวซิน พบว่าภายในส่วนโพรเซ็ปรับรึมของปมประสาทเซ็ปรับรึม จะมีเซลล์ประสาทที่มีขนาด 20-30 ไมครอน คิดสีน้ำเงินของโครเมียม-ฮีมาทอกซิลิน และสีม่วงของพารัลดีไฮด์-ฟิวซิน เซลล์ประสาทลักษณะนี้ยังปรากฏในแทนเทเคลคู้หน้าของหอยทากยักษ์ด้วย และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12-25 ไมครอน จากการศึกษาโครงสร้างละเอียดของเซลล์ชนิดนี้ทั้งในปมประสาทเซ็ปรับรึมและแทนเทเคลคู้หน้า พบว่าเซลล์เหล่านี้จะมีลักษณะโครงสร้างของเซลล์คล้ายกัน คือ ภายในเซลล์จะเต็มไปด้วยเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดไม่เรียบที่มีขนาดใหญ่กว่าของเซลล์ประสาทธรรมดา ส่วนแกรนูลในเซลล์ของปมประสาทเซ็ปรับรึมจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1,600 อังสตรอม ในขณะที่แกรนูลในเซลล์ของแทนเทเคลคู้หน้าของหอยจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4,000 อังสตรอม เซลล์ประสาทที่มีลักษณะพิเศษเหล่านี้ เรียกว่าเซลล์นิวโรเซครีทอรี

จากการศึกษาการเจริญของปมประสาท ตั้งแต่ระยะที่หอยทากยักษ์เพิ่งฟักตัวออกจากไข่จนถึงระยะที่หอยสามารถสืบพันธุ์ได้ พบว่าปมประสาทต่างๆมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อหอยมีอายุมากขึ้น ขณะเดียวกันจำนวนของเซลล์ประสาทก็เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยเฉพาะเซลล์ประสาทขนาดใหญ่ ซึ่งจะมีจำนวนมากในหอยที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์ ส่วนเซลล์นิวโรเซครีทอรีในโพรเซ็ปรับรึมของปมประสาทเซ็ปรับรึมปรากฏเมื่อหอยมีอายุสองเดือนขึ้นไป ในขณะที่เซลล์นิวโรเซครีทอรีใน

แทนที่เคลือบหน้าของหอยจะปรากฏตั้งแต่หอยเพิ่งฟักตัวออกจากไข่ เช่นเดียวกับเซลล์ประสาท จำนวนของเซลล์นิวโรเซครีทอรีจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อหอยมีอายุมากขึ้น

นอกจากจำนวนของเซลล์นิวโรเซครีทอรีจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อหอยมีอายุมากขึ้นแล้ว จำนวนของเซลล์เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลอีกด้วย นั่นคือในฤดูฝนซึ่งหอยมีการขยายพันธุ์ และการเจริญเติบโต จำนวนของเซลล์นิวโรเซครีทอรีที่พบในปมประสาทเซรีบรัลจะมากกว่าปกติ และเซลล์ก็จะมีขนาดใหญ่กว่าปกติด้วย ส่วนในฤดูแล้งและฤดูหนาว เซลล์นิวโรเซครีทอรีนี้จะมีจำนวนน้อยลง เป็นที่น่าสังเกตว่าจำนวนของเซลล์นิวโรเซครีทอรีในปมประสาทเซรีบรัลจะผันผวนกับจำนวนของเซลล์นิวโรเซครีทอรีในแทนที่เคลือบหน้า

จากการนำสารสกัดจากปมประสาทเซรีบรัล และจากแทนที่เคลือบหน้าของหอยฉีดเข้าไปในหอยที่มีอายุประมาณสี่เดือน พบว่าการเจริญเติบโตของหอยดำเนินไปตามปกติ ส่วนจำนวนของไข่มีมากขึ้นในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยที่ได้รับสารสกัดจากปมประสาทเซรีบรัล ในขณะที่เซลล์สืบพันธุ์ของหอยที่ได้รับสารสกัดจากแทนที่เคลือบหน้าจะมีจำนวนสเปิร์มมากในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์

จากการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของเซลล์นิวโรเซครีทอรีกลุ่มนี้ รวมทั้งการศึกษาหน้าที่ของเซลล์สามารถสรุปได้ว่า เซลล์นิวโรเซครีทอรีที่อยู่ในปมประสาทเซรีบรัลทำหน้าที่เกี่ยวกับการกระตุ้นการเจริญของไข่ ส่วนเซลล์นิวโรเซครีทอรีที่อยู่ในแทนที่เคลือบหน้าทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญของสเปิร์ม

Thesis Title Study on the Structure and Function
of Neuroendocrine Organs in Giant
African Snail, *Achatina Fulica*

Name Viyada Seehabutr

Degree Doctor of Philosophy (Anatomy)

Thesis Supervisory Committee

Jittipan Chavadej, Ph.D.
Maleeya Kruatrachue, Ph.D.
Prasert Sobhon, Ph.D.
Prapee Sretarugsa, Ph.D.
Suchart Upatham, Ph.D.

Date of Graduation 12 June B.E. 2535 (1992)

ABSTRACT

The land snail *Achatina fulica* is a hermaphroditic snail belonging to the Subclass Pulmonata, Order Stylommatophora. The nervous system of *A. fulica* is composed of 13 ganglia: 1 pair of buccal ganglia, 1 pair of cerebral ganglia, 1 pair of pleural ganglia, 1 pair of parietal ganglia, 1 pair of pedal ganglia, 1 pair of tentacular ganglia and a single visceral ganglion. The

ganglia are connected with one another via a connection. All ganglia give rise to many nerve branches which supply various organs of the body.

The histological structure of all ganglia is rather similar. The ganglia are surrounded by two layers of connective tissue; the outer layer is thicker and loosely arranged than the inner layer. Within the ganglia, there are five sizes of nerve cells or ganglionic cells, i.e., the globuli cells (5-7 μm), the small cells (< 20 μm), the medium cells (20-39 μm), the large cells (40-99 μm) and the giant cells (> 100 μm). In the cerebral ganglia and tentacular ganglia, there are masses of very small cells or globuli cells which have the diameter in the range of 5-7 μm .

The ganglionic cells arrange themselves around the mass of nerve axons or neuropil. In general, nuclei of the ganglionic cells are round but nuclei of the giant cells have irregular shape. The numbers of giant cells in each ganglion vary; there are 16, 14, 8, 6, 4 and 4 giant cells in the pedal, parietal, cerebral, visceral, pleural and buccal ganglia of adult snail, respectively.

The ultrastructures of the ordinary neurons are rather similar. They contain mitochondria, rough endoplasmic reticulum, ribosomes, lysosomes, lipid droplets, microtubules, Golgi apparatus and electron-dense elementary granules (800-1400⁰A) in the cytoplasm.

From observation, the appearance of neurosecretory cells in the nervous system of *A. fulica* is found in the cerebral ganglia and optic tentacles. These neurosecretory cells give positive reaction with chrome-haematoxylin phloxine and paraldehyde-fuchsin. Their cytoplasm stains blue-black and deep purple while their nuclei stain black and red with chrome-haematoxylin phloxine and paraldehyde-fuchsin, respectively.

In the cerebral ganglia, there are about 104 to 110 neurosecretory cells (23-30 μm) in each ganglion. These cells arrange themselves into 2-3 layers attached to the periphery of the procererebrum of the cerebral ganglion. In the posterior of optic tentacles, the neurosecretory cells or collar cells (12-25 μm) arrange themselves in groups around the finger-like processes of tentacular ganglion. There are about 2168 cells per mm^2 in the optic tentacles of mature snails.

Under transmission electron microscopy, the neurosecretory cell in the cerebral ganglia contains round and slightly heterochromatic nucleus and many organelles in the cytoplasm, such as many extended rough endoplasmic reticulum, Golgi apparatus, mitochondria, microtubules, ribosomes, lysosomes, lipid droplets and abundant electron-dense elementary granules with a mean diameter of 1,600 \AA . The ultrastructure of the collar cell in the optic tentacles is similar to that of neurosecretory cells in the cerebral

ganglia. However, the electron-dense elementary granules in the collar cells have a mean diameter of $4,000^0\text{A}$.

The nervous system of *A. fulica* has already been well organized occurred in the newly-hatched snails. During development, all the ganglia and the number of nerve cells in the ganglia increase with increasing age of snails. In addition, the number and size of large cells and giant cells are also increased. In parallel with development of the nervous system, neurosecretory cells in the cerebral ganglia first appear in two-month-old snails (9 cells per ganglion) and are abundant (108-110 cells per ganglion) in mature snails. The collar cells in the optic tentacles of *A. fulica* have already occurred in newly-hatched snails. Similar to the other cells, the collar cells increase in size and number with increasing age of snails.

The study on seasonal variation of neurosecretory cells in the nervous system of *A. fulica* indicated that the numbers of neurosecretory cells in cerebral ganglia are high in April, May and August, with the highest number in May. The numbers of neurosecretory cells in cerebral ganglia are rather low in January, February and December. Moreover, the neurosecretory cells in cerebral ganglia appear to have a large diameter in May.

The numbers of collar cells in the optic tentacles of *A. fulica* are rather constant throughout the year except during

November. Moreover, it can be observed that the size of collar cells remain the same throughout the year.

The effects of neurosecretory cells on development of germ cells in the ovotestis and on body growth of *A. fulica* were studied. The injection of snails with cerebral ganglion homogenate and with optic tentacle homogenate revealed that both substances have no effect on body growth of *A. fulica*. However, the cerebral ganglion homogenate appears to increase the oocyte production while the optic tentacle homogenate seems to increase the production of spermatozoa in the ovotestis of snails.