



**SPERMATOGENESIS AND CHROMATIN CONDENSATION IN
THE MALE GERM CELLS OF THE GIANT AFRICAN SNAIL,
ACHATINA FULICA BOWDICH**

VIRIYA PANKAO

อธิบํัณฑนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-665-038-6

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
V 8180
2000

46497

4036396SCAN/M : MAJOR : ANATOMY; M.Sc. (ANATOMY)

KEYWORDS : ACHATINA FULICA/ GONADAL
HISTOLOGY / SPERMATOGENESIS

VIRIYA PANKAO: SPERMATOGENESIS AND CHROMATIN
CONDENSATION IN THE MALE GERM CELLS OF THE GIANT AFRICAN
SNAIL, ACHATINA FULICA BOWDICH. THESIS ADVISORS: CHAITIP
WANICHANON, Ph.D., PRASERT SOBHON, Ph.D., PRAPEE SRETARUGSA, Ph.D.,
MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D. 127 p. ISBN 974-665-038-6

The aim of this thesis was to study the ovotestis histology, ultrastructure and pattern of chromatin organization in male germ cells during spermatogenic processes in *A. fulica* by light and transmission electron microscopy. The ovotestis was composed of numerous small tubules which were separated from the surrounding connective tissue by the basement membrane. Each tubule contained various stages of developing male and female germ cells, Sertoli cells, and follicular cells. Based on their size, shape and chromatin condensation pattern, the male germ cells could be classified into a spermatogonium (Sg), six stages of primary spermatocytes, *i.e.*, leptotene (LSc), zygotene (ZSc), pachytene (PSc), diplotene (DSc), diakinesis (DiSc) and metaphase (MSc) spermatocytes, secondary spermatocyte (SSc), ten stages of spermatids (St₁₋₁₀), and two stages of spermatozoon (Sz₁₋₂). Sg was a spherical-shaped cell; its nucleus contains mostly euchromatin and few small blocks of widely scattered heterochromatin. The heterochromatin blocks became larger and more numerous in LSc and ZSc, which was due to the winding of 30-nm fibers around a single-dense line that was the axis of chromatin condensation. The euchromatin contained individual 30-nm as well as 10-nm chromatin fibers. ZSc also had synaptonemal complex, the tripartite structure. The heterochromatin blocks were enlarged to form a few pieces of chromosomes in DSc and DiSc. The two halves of chromosomes in DiSc were segregated, then moved to be aligned along the equatorial region in MSc. SSc was a round cell, derived from the division of MSc, whose nucleus contained large clumps of heterochromatin along the nuclear envelope and in the central area. St₁₋₄ had round-shaped nuclei which became progressively smaller and denser. During transition of SSc to St₁ the dense chromosomes were reorganized into evenly distributed 30 and 10 nm fibers. Thereafter, 30-nm chromatin fibers started to be condensed into heterochromatin blocks again in St₂ and St₃. In St₄ the 30-nm fibers became homogeneously condensed throughout the nucleus. St₅ nucleus was gradually compressed on cephalo-caudal direction to become cup-shape and was indented further to assume an arrow or boomerang shape in St₆, while 30-nm fibers were decreased in size to about 20 nm, and were straightened to form 14-16 nm fibers in St₇. Then, the nucleus became a pear shape in St₈. In St₉ and St₁₀ the nucleus started to elongate to form a tapered anterior end, and the chromatin was completely condensed. The straight chromatin fibers were packed into bundles about 120 nm in width which coalesced into dense crystal lattice-liked structure in the spermatozoa. The spermatozoon had a falciform-shape head that contains completely condensed chromatin in the crystal lattice conformation with dense individual 10-nm lines separated by the intervals of 3-4 nm. It was covered anteriorly by a small acrosome. The neck region was composed of centriolar complex surrounded by a rhomboid shape crystalline substance. The mid-piece consisted of axonemal-fibrous complex surrounded by the helical mitochondrial sheath. The end-piece consisted of only axonemal complex surrounded by the plasma membrane.

4036396 SCAN / M : สาขาวิชา : กายวิภาคศาสตร์ ; วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)

วิชา พันธุ์ขาว : กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และลักษณะการขดตัวของโครมาตินในหอยทากยักษ์ *ACHATINA FULICA* BOWDICH (SPERMATOGENESIS AND CHROMATIN CONDENSATION IN THE MALE GERM CELLS OF THE GIANT AFRICAN SNAIL, *ACHATINA FULICA* BOWDICH) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ชัยทิพย์ วนิชานนท์, Ph.D., ประเสริฐ ไสภน, Ph.D., ประพีร์ เศรษฐรักษ์, Ph.D., มาลีญา เครือคาชู, Ph.D. 127 หน้า. ISBN 974-665-038-6

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อในอวัยวะสืบพันธุ์ และศึกษาลักษณะการจัดระดับการเรียงตัวของโครมาตินในเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยทากยักษ์ *Achatina fulica* โดยการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าภายในอวัยวะสืบพันธุ์มีท่อขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งถูกแยกจากบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ล้อมรอบโดย basement membrane แต่ละท่อ (tubules) บรรจุเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย, Sertoli cell และ follicular cell ขึ้นตอนของกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้สามารถแยกตามขนาด, รูปร่างของเซลล์และตามลักษณะการจัดลำดับการขดตัวของโครมาตินได้ 20 ชั้น เซลล์ Sg เป็นเซลล์ที่มีลักษณะกลม ในนิวเคลียสประกอบด้วย euchromatin เป็นส่วนใหญ่ และมีเกาะกลุ่มของก้อน heterochromatin ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วทั้งนิวเคลียส ก้อน heterochromatin นี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีจำนวนมากขึ้นในระยะ LSc และ ZSc ซึ่งเนื่องมาจากมีการพันตัวของโครมาตินขนาด 30 nm รอบแกนการขดตัวของโครมาติน (Axis of chromatin condensation) ซึ่งจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นในระยะ ZSc ซึ่งพบ synaptonemal complex ที่ปรากฏเป็นแผ่น 3 แถบเรียงกันอีกด้วย ก้อน heterochromatin รอบแกนจะขดแน่นเป็นท่อนขนาดใหญ่ต่อเนื่องกันและกลายเป็นท่อนยาว ส่วนของโครโมโซมที่พบในชั้น DiSc จะขยายใหญ่ขึ้นและท่อนโครโมโซมนี้จะถูกแยกจากกันเพื่อเคลื่อนไปอยู่ที่แกนกลางในชั้น MSc. เซลล์ในระยะต่อมาคือ SSc เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลม นิวเคลียสมีก้อน heterochromatin ขนาดใหญ่ วางตัวเกาะกลุ่มตามขอบของ nuclear envelope และในบริเวณส่วนกลางนิวเคลียส ตั้งแต่ระยะ St₁ เซลล์มีนิวเคลียสรูปร่างกลม ซึ่งพบว่ามีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ จากช่วง SSc ไป St₁ พบว่าโครมาตินที่เคยพันกันแน่นจะมีการจัดเรียงตัวใหม่จนประกอบด้วย euchromatin เกือบทั้งหมด และเริ่มมีการเกาะกลุ่มกันเป็น ก้อน heterochromatin อีกครั้งในชั้น St₂ และ St₃ จนทำให้มีความหนาแน่นมากและกระจายอยู่เกือบสม่ำเสมอทั่วทั้งนิวเคลียส ในชั้น St₄ เส้นโครมาตินขนาด 30 nm อยู่กันแน่นทั่วทั้งนิวเคลียส ซึ่งนิวเคลียสมีขนาดเล็กลง ในชั้น St₅ นิวเคลียสจะเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลมเป็นรูปถั่ว และจะบวมเข้าไปตรงกลางมากขึ้นจนกลายเป็นรูปลูกศรหรือบวมแฉงในชั้น St₆ ซึ่งในชั้นนี้โครมาตินขนาด 30 nm มีขนาดเล็กลงเป็น 20 nm และยัดตัวออกเป็นขนาด 14-16 nm ในชั้น St₇ ปีกทั้งสองของนิวเคลียสโค้งเข้าหากันจนกลายเป็นรูปเกือบม้า หรือรูปไต ในชั้น St₈ และ St₉ นิวเคลียสจะเริ่มยืดยาวเรียวยาวขึ้นทางด้านหน้าและโครมาตินขดตัวกันแน่นเต็มที่ เส้นโครมาตินที่ยืดออกเป็นเส้นตรงจะอยู่รวมกันเป็นมัดขนาด ~120 nm ซึ่งจะประสานรวมกันเป็นแท่งโครมาติน มีลักษณะคล้ายผลึก (crystal lattice-liked structure) เส้นทึบแต่ละเส้นในก้อนผลึกมีขนาด 10 nm ซึ่งแยกจากกันโดยช่องขนาด 3-4 nm ส่วนหัวของนิวเคลียสของ S₂ ประกอบด้วย acrosome ขนาดเล็ก ส่วน neck ประกอบด้วย centriolar complex ล้อมรอบโดย crystalline substance รูปร่างคล้ายตีเหล็กคางหมู ส่วน mid-piece ประกอบด้วย axonemal-fibrous sheath complex ล้อมรอบโดยแผ่นของไมโทคอนเดรีย ซึ่งพันอยู่รอบ ส่วน end-piece มีเพียง axonemal complex ซึ่งถูกล้อมรอบโดย plasma membrane