



COMPARATIVE TESTICULAR STRUCTURE AND SPERMATOGENESIS BETWEEN THE HYBRID CATFISH (BIG-OU) AND THEIR PARENTAL SPECIES, CLARIAS MACROCEPHALUS AND CLARIAS GARIEPINUS

RONNARONG PALASOON

N

คณบดีมหาวิทยาลัย
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

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

2002

ISBN 974-04-1694-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

11
page
0001
12

4236742 SCAN/M : MAJOR : ANATOMY ; M.Sc. (ANATOMY)
 KEY WORDS : SPERMATOGENESIS, *C. GARIEPINUS*, *C. MACROCEPHALUS*, HYBRID CATFISH

RONNARONG PALASOON : COMPARATIVE TESTICULAR STRUCTURE AND SPERMATOGENESIS BETWEEN THE HYBRID CATFISH (BIG-OU) AND THEIR PARENTAL SPECIES, CLARIAS MACROCEPHALUS AND CLARIAS GARIEPINUS THESIS ADVISORS : JITTIPAN CHAVADEJ, Ph.D., PRASERT SOBHON, Ph.D., PRAPEE SRETARUGSA, Ph.D. 87 p. ISBN 974-04-1694-3

The spermatogenesis of *Clarias gariepinus* (Pla duk-tes), *C. macrocephalus* (Pla duk-oui) and the hybrid catfish (Pla duk bigoui) crossing between female *C. macrocephalus* and male *C. gariepinus* were examined. The testes obtained from mature male catfishes during the breeding season were fixed in Bouin's fixative and / or 4% glutaraldehyde in 0.05% Millonig's buffer, pH 7.4 at 4° C and further processed for paraffin and semithin section and viewed under a light microscope.

The testes of parental species of the catfish showed normal histological structure, composed of anastomosed seminiferous tubules, whereas that of the hybrid testis was similar to those of its parents, but with the least anastomosing arrangement.

In the parental species, the germ cells in the spermatogenic process can be classified into 12 stages, based on the nuclear size and the pattern of chromatin condensation. Type A and B spermatogonia are the earliest and largest cells, whose nuclei contain euchromatin with prominent nucleoli. Type A and B spermatogonia present in the parent and are also formed in the hybrid testis.

Primary spermatocytes of the parental catfish are divided into 5 stages. During the development of leptotene and zygotene spermatocytes, the nuclear chromatin condensation appears in the form of a rather homogeneous chromatin whereas, highly condensed small blocks among larger heterochromatin blocks or cords are present in pachytene and diplotene stages, which become intertwined in a bouquet pattern. Diakinesis and metaphase spermatocytes consist of long and large heterochromatic blocks aligned along the equatorial region.

Although most of the various stages of primary spermatocytes of the hybrid are similar to those of parental species, the presence of some abnormal diplotene, diakinesis and metaphase spermatocytes can be observed. The nucleus in diplotene stages contained clump and dense chromatin attached to the nuclear envelope, instead of freely dispersed heterochromatin. In addition, the alignment of chromosome at equatorial region in metaphase spermatocyte is rarely found in the hybrid species.

In the spermatid development, three stages can be classified in the parental species. The spermatids (St₁-St₃) exhibit increasing condensation of heterochromatin. The nuclei are round, deeply stained and reduced in size. The presence of spermatid up to stage two could be seen in only 10% of the hybrid testis. The last stage is the fully mature spermatozoa which are present only in the parental catfish, except the hybrid. Moreover, some degenerated spermatocytes appearing as apoptotic-like cells are present in all sections of the hybrid testis.

The present study reveals the normal process of spermatogenesis, which occurred in the parental species, *C. macrocephalus* and *C. gariepinus*. The investigations of the hybrid testis suggest that the hybrid appears sterile, and in most cases germ cells could differentiate up to spermatocyte stages.

42376748 SCAN/M : สาขาวิชา: กายวิภาคศาสตร์; วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)

รณรงค์ พลະศุณย์ : การเปรียบเทียบโครงสร้างของอวัยวะและขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ระหว่างปลาอุกอุกผสม (บึกอุย) และสายพันธุ์แม่ (ปลาอุกอุย) กับสายพันธุ์พ่อ (ปลาอุกเทศ) (COMPARATIVE TESTICULAR STRUCTURE AND SPERMATOGENESIS BETWEEN THE HYBRID CATFISH (BIG-OUI) AND THEIR PARENTAL SPECIES, *CLARIAS MACROCEPHALUS* AND *CLARIAS GARIEPINUS*). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : จิตติพันธุ์ ชวเดช, Ph.D., ประเสริฐ โสภณ, Ph.D., ประไพร์ เศรษฐวิทย์, Ph.D. 87 หน้า . ISBN 974-04-1694-3

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของปลาอุกเทศ (*Clarias gariepinus*) ปลาอุกอุย (*C. macrocephalus*) และปลาอุกบึกอุย ซึ่งเป็นปลาอุกผสมระหว่างปลาอุกอุยเพศเมีย และปลาอุกเทศเพศผู้ได้ถูกตรวจสอบ โดยนำอวัยวะซึ่งอยู่ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ของปลาทั้งสามชนิดมาตรึงเนื้อเยื่อด้วยน้ำยา Bouin และหรือ 4% glutaraldehyde จากนั้นนำมาผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อใช้ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

การศึกษาในงานวิจัยนี้พบว่าลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะในสายพันธุ์พ่อและแม่ประกอบด้วยท่อสร้างอสุจิที่วางตัวประสานกันไปมาเป็นจำนวนมาก ในขณะที่อวัยวะของสายพันธุ์อุกผสม แม้จะมีลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะคล้ายกันแต่ลักษณะการวางตัวประสานกันจะมีน้อยกว่ามาก

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในสายพันธุ์พ่อและแม่ แบ่งออกได้เป็น 12 ระยะ โดยพิจารณาจากขนาดของนิวเคลียส และรูปแบบการขดตัวของเส้นใยโครมาติน เซลล์ spermatogonia ชนิด A และ B พบในอวัยวะของสายพันธุ์ทั้งพ่อและแม่ และอวัยวะของสายพันธุ์อุกผสม เซลล์ดังกล่าวจัดเป็นเซลล์ที่ปรากฏในระยะแรกสุดและมีขนาดใหญ่ที่สุด นิวเคลียสประกอบด้วยเส้นใย euchromatin และนิวเคลียโอลัสที่เด่นชัด

เซลล์ในระยะ Primary spermatocyte ของสายพันธุ์พ่อและแม่ สามารถแบ่งได้เป็น 5 ระยะ การพัฒนารูปแบบของเส้นใยโครมาตินของเซลล์ในระยะ leptotene เข้าสู่ระยะ zygotene spermatocyte จะเห็นเส้นใยโครมาตินมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและเปลี่ยนไปเป็นเส้นใยโครมาตินที่ขดตัวเป็นก้อนหนาขนาดใหญ่ในระยะ pachytene และ diplotene โดยกลายเป็นเส้นใยโครมาตินที่จับตัวเป็นลักษณะ bouquet pattern ในระยะ diakinesis และ metaphase spermatocyte พบก้อน heterochromatin ที่ยาวและใหญ่จัดวางตัวตามแนว equatorial region

แม้ว่าเซลล์ในระยะ primary spermatocytes ของสายพันธุ์อุกผสมจะคล้ายกับในสายพันธุ์พ่อและแม่ แต่ลักษณะความผิดปกติของเซลล์ในระยะ diplotene, diakinesis และ metaphase spermatocyte จะปรากฏให้เห็น นิวเคลียสในระยะ diplotene ประกอบไปด้วย เส้นใยโครมาตินที่ขดตัวเป็นก้อนหนาตามขอบของเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ การจัดเรียงตัวของโครโมโซมที่บริเวณ equatorial region ในระยะ metaphase spermatocyte ซึ่งพบได้ในสายพันธุ์พ่อและแม่ จะไม่ค่อยปรากฏในสายพันธุ์อุกผสม

เซลล์ในระยะ spermatid ของสายพันธุ์พ่อและแม่ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ โดยจะมีการขดตัวของก้อน heterochromatin มากขึ้น นิวเคลียสมีลักษณะกลม ขนาดเล็กลง และล้อมติดติเข้ม เพียง 10% ของสายพันธุ์อุกผสมที่เซลล์ spermatid พัฒนาได้ถึงขั้นที่สองเท่านั้น ในขณะที่ mature spermatozoa ซึ่งเป็นเซลล์ขั้นสุดท้ายของกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะพบได้เฉพาะในสายพันธุ์พ่อและแม่แต่ไม่พบในสายพันธุ์อุกผสม นอกจากนี้ยังปรากฏลักษณะ spermatocyte ที่มีการเสื่อมสลายซึ่งบ่งถึงการเป็น apoptotic like cell ในทุกชั้นเนื้อเยื่อของสายพันธุ์อุกผสม

การศึกษาของงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นถึงกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบปกติของสายพันธุ์พ่อและแม่ *C. gariepinus* และ *C. macrocephalus* ที่ปกติและสามารถชี้แนะว่าสายพันธุ์อุกผสมเป็นหมัน