

# ลักษณะโครงสร้างทางกายวิภาคและจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ เพศผู้ในปลากระเบน

## Gross and Microscopic Structures of the Male Reproductive System in the Whip-tail Stingray (*Dasyatis bleekeri*)

กรรณิกา ชัชวาลวานิช<sup>1</sup> และ ราเชนทร์ วิสุทธิแพทย์<sup>2</sup>

Kannika Chatchavalvanich and Rachain Visutthipat

### ABSTRACT

The male reproductive organs of whip-tail stingray (*Dasyatis bleekeri*) were grossly observed and found that testes were paired and embedded in the epigonal organs. Each testis was composed of many lobes which supported by connective tissue. The average length, width and thickness of testis were 7.5, 3.5 and 1.7 cm., respectively. Microscopic study showed that the unit structure of testicular lobe was spherical ampulla. In each ampulla contained the developing spermatogenic cells of the same stage. The interstitial cells were also found between the ampullae. The testicular lobes were zonately arranged, each zone consisted of ampullae, again, all at the same stage of spermatogenesis. The ampullae were originated in the ampullogenic zone and later developed into the following forms of spermatogonial ampulla, primary spermatocyte ampulla, secondary spermatocyte ampulla, spermatid ampulla, spermatozoal ampulla and finally became empty ampulla. Spermatozoa were released from testis into vas efferent, epididymis, vas deferens and seminal vesicles, respectively.

**Key words :** stingray, male reproductive organ, structure

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของปลากระเบนมาศึกษาลักษณะโครงสร้างทางกายวิภาคพบว่าอวัยวะของปลากระเบนมี 1 คู่และฝังติดกับ epigonal organ อวัยวะแต่ละอันประกอบด้วยพวงจวน

มากซึ่งยึดติดกันด้วยเนื้อเยื่อประสาน ขนาดเฉลี่ยของอวัยวะมีความยาว ความกว้างและความหนา เท่ากับ 7.5, 3.5 และ 1.7 เซนติเมตรตามลำดับ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าภายในอวัยวะแต่ละพวงประกอบด้วยรูปกลมที่เรียกว่าแอมพูลลา ในแต่ละแอมพูลลามี spermatogenic cells ที่เจริญอยู่ในระยะเดียวกัน

<sup>1</sup> ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

<sup>2</sup> สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Bangkok 10900, Thailand.

ระหว่างแอมพูลลาพบ interstitial cells ด้วย แอมพูลลาที่เจริญอยู่ในระยะเดียวกันจะรวมอยู่บริเวณเดียวกัน ทำให้แต่ละพูของอัมตะมีการจัดเรียงเป็นบริเวณต่างๆ เริ่มจาก ampullogenic zone ซึ่งเป็นบริเวณแหล่งกำเนิดของแอมพูลลา มีการเจริญตามลำดับ ดังนี้คือ spermatogonial ampulla, primary spermatocyte ampulla, secondary spermatocyte ampulla, spermatid ampulla, spermatozoal ampulla และ empty ampulla อสุจิที่ปล่อยออกจากอัมตะจะถูกลำเลียงผ่านไปตาม vas efferent, epididymis, vas deferens และ seminal vesicle ตามลำดับ

## คำนำ

ปลากระเบน Whip-tail stingray (*Dasyatis bleekeri*) เป็นปลากระดูกอ่อนชนิดหนึ่งที่พบมากบริเวณน่านน้ำไทย และน่านน้ำอื่นๆ ชาวประมงจับปลากระเบนมาจำหน่ายตามตลาดที่อยู่แถบชายฝั่งทะเล เนื่องจากเนื้อของปลากระเบนนำมาบริโภคได้ เช่นเดียวกับปลาทะเลทั่วไป และหนังของปลากระเบนยังสามารถนำไปผลิตเป็นสินค้าประเภทเครื่องหนังที่มีราคาแพงด้วย ลักษณะภายนอกของปลากระเบนชนิดนี้มีลำตัวเป็นแผ่นแบนคล้ายจานหรือวาว มีหางยาวคล้ายแส้และบริเวณโคนหางมีเงี่ยงซึ่งมีพิษจำนวน 1 อันหรือมากกว่านั้น ผิวหนังด้านหลังมีสีน้ำตาลอมเทา ส่วนด้านท้องมีสีขาวจึงทำให้พรางตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันระหว่างปลากระเบนเพศผู้กับเพศเมีย คือ เพศผู้มีอวัยวะที่ใช้ในการผสมพันธุ์แบบภายในลำตัวที่เรียกว่าเดือย หรือคลาสเปอร์ (clasper) 1 คู่อยู่บริเวณด้านในของครีบท้อง ส่วนเพศเมียไม่มีอวัยวะนี้ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลากระดูกอ่อนทั่วไปประกอบด้วยอัมตะ 1 คู่ ซึ่งมีขนาดใหญ่มาบบางครั้งอาจมีน้ำหนักถึง 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ลักษณะโครงสร้างของอัมตะในปลากระดูกอ่อนมีความแตกต่างไปจากสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่นๆ คือ หน่วยโครงสร้างของอัมตะมีลักษณะกลมเรียกแอมพูลลา (ampulla) ในขณะที่สัตว์มีกระดูกสันหลัง

อื่นๆ ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นท่อยาว (tubule) (Dodd, 1983) อัมตะของปลากระดูกอ่อนมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับ epigonal organ ซึ่งเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่สร้างเม็ดเลือดขาวพวกแกรนูโลไซต์และลิมโฟไซต์ (Fänge and Mattisson, 1981) ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะโครงสร้างของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของปลากระดูกอ่อนมีรายงานอยู่น้อยมากและเป็นการศึกษาในปลาฉลาม แต่ในปลากระเบนยังไม่มีรายงานมาก่อน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างทางกายวิภาค และจุลกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ในปลากระเบน *D. bleekeri*

## อุปกรณ์และวิธีการ

ปลากระเบนเพศผู้ที่จับได้จากบริเวณชายฝั่งทะเลอำเภอท่าพรุก และอำเภอแหลมหิน จังหวัดตราด ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ.2535 จำนวนทั้งหมด 4 ตัวมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.8 กิโลกรัม ขนาดลำตัวโดยเฉลี่ยมีความกว้างประมาณ 40 เซนติเมตร ยาว 36 เซนติเมตร และส่วนหางยาว 79 เซนติเมตร นำมาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของอัมตะและท่อนำน้ำเชื้อส่วนต่างๆ และตัดอวัยวะเหล่านี้เป็นชิ้นเล็กๆ หนาประมาณ 0.5 เซนติเมตรนำไปแช่น้ำยาคงสภาพ Bouin's fluid เป็นเวลาประมาณ 24-36 ชั่วโมงจากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิคแล้วนำชิ้นเนื้อที่ฝังในพาราฟลาสมาตัดด้วย rotary microtome หนาประมาณ 6 ไมครอน แล้วนำไปติดบนสไลด์ แบ่งสไลด์ออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อย้อมสีต่างๆ ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ย้อมด้วย Harris hematoxylin และ eosin (Sheehan and Hrapchak, 1980)
  - กลุ่มที่ 2 ย้อมด้วย Masson's trichrome (Sheehan and Hrapchak, 1980)
  - กลุ่มที่ 3 ย้อมด้วย Periodic acid Schiff's method (Troyer, 1980)
- นำสไลด์ที่ได้ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

## ผล

### ลักษณะทางกายวิภาค

อวัยวะของปลากะเบนมี 1 คู่อยู่ภายในช่องท้องและฝังติดอยู่กับ epigonal organ โดย epigonal organ หุ้มคลุมอวัยวะเอาไว้ รูปร่างของอวัยวะเป็นรูปยาวค่อนข้างแบน ด้านท้องมีลักษณะนูนส่วนด้านหลังจะเว้าเล็กน้อย อวัยวะแต่ละอันแบ่งออกเป็นพู (lobes) จำนวนมากซึ่งยึดติดกันด้วยเนื้อเยื่อประสาน (Figure 1) ขนาดเฉลี่ยของอวัยวะมีความยาวเท่ากับ 7.5 เซนติเมตร ความกว้างเท่ากับ 3.5 เซนติเมตร และความหนาเท่ากับ 1.7 เซนติเมตร สำหรับท่อน้ำเชื้อส่วนแรกที่อยู่ติดกับอวัยวะมีขนาดเล็ก เรียกว่า vas efferent ซึ่งจะต่อไปยังท่อที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและขดกันแน่น ท่อส่วนนี้คือ epididymis ส่วนท้ายของ epididymis มีการขดน้อยลงแล้วกลายเป็นท่อตรงวางขนานกับด้านข้างของกระดูกสันหลังท่อ ส่วนนี้คือ vas deferens ซึ่งมี Leydig's gland หุ้มล้อมรอบอยู่ จากลักษณะภายนอกพบว่า Leydig's gland มีลักษณะคล้ายไขมันมาก ต่อจาก vas deferens คือ seminal vesicle ท่อเริ่มมีขนาดใหญ่และทอดเข้าไปแนบติดกับไต แล้ววนขึ้นและวนลงมา มีลักษณะคล้ายรูปตามแนวนอนของตัว S ท่อจะตรงลงมาพาดชิดกับกระดูกสันหลัง และเปิดออกสู่โคลอคา (cloaca) ภายในท่อ seminal vesicle มีน้ำเชื้อสีขาวขุ่นบรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก จากการศึกษาไม่พบ sperm sac ในปลากะเบนชนิดนี้

### ลักษณะทางจุลกายวิภาค

#### อวัยวะ

อวัยวะของปลากะเบนมีเนื้อเยื่อประสานที่เรียก tunica albuginea หุ้มล้อมรอบ เนื้อเยื่อประสานนี้จะแทรกเข้าไปภายในทำให้แบ่งอวัยวะออกเป็นพูจำนวนมาก ภายในอวัยวะแต่ละพูประกอบด้วยหน่วยโครงสร้างรูปกลม ขนาดเล็กเรียกว่าแอมพูลลาจำนวนมาก ระหว่างแอมพูลลาเป็นเนื้อเยื่อประสานที่มีหลอดเลือดขนาดเล็ก

มาเลี้ยง และพบกลุ่มของ interstitial cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่มีนิวเคลียสรูปกลม หรือรี (Figure 3) ในแต่ละแอมพูลลาประกอบด้วยเซลล์สเปิร์มาโตเจนิค (spermatogenic cells) ที่เจริญอยู่ในระยะเดียวกัน และพบเซลล์เซอร์โทไล (Sertoli cells) แทรกอยู่ แอมพูลลาที่ประกอบด้วยเซลล์สเปิร์มาโตเจนิคระยะเหมือนกันจะรวมอยู่บริเวณเดียวกัน อวัยวะที่ตัดตามขวางพบว่าทุกพูมีการจัดเรียงเป็นบริเวณต่างๆ เริ่มจาก ampullogenic zone ซึ่งเป็นจุดกำเนิดของแอมพูลลาและอยู่ทางด้าน ventrolateral บริเวณที่ต่อจาก ampullogenic zone เรียงตามลำดับการเจริญได้แก่ บริเวณของ spermatogonial ampullae, primary spermatocyte ampullae และ secondary spermatocyte ampullae, spermatid ampullae, spermatozoal ampullae และ empty ampullae (Figure 2 and 4)

### ชนิดของแอมพูลลาที่พบในอวัยวะของปลากะเบนสามารถแยกได้ดังนี้

1. Ampullogenic spermatogonium หรือ primordial germ cell (Figure 4) เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของแอมพูลลาในระยะแรก ลักษณะของสเปิร์มาโตโกเนียมในระยะเริ่มแรกนี้มีรูปร่างกลมขนาดใหญ่ โดยมีขนาดประมาณ 15 ไมครอน ล้อมรอบด้วยเซลล์รูปกระสวย (fusiform cells) ซึ่งต่อมาเซลล์นี้จะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เซอร์โทไล ระยะนี้พบเซลล์ทั้งสองชนิดมีการแบ่งตัวแบบไมโทซิสในระยะต่างๆ

2. Spermatogonial ampulla ระยะที่ 1 (Figure 5) เป็นแอมพูลลาที่เกิดจากการแบ่งตัวแบบไมโทซิสของ ampullogenic spermatogonium ประกอบด้วยสเปิร์มาโตโกเนียมจัดเรียงตัวอยู่ตามขอบของแอมพูลลาประมาณ 1-2 ชั้น โดยมีเซลล์เซอร์โทไลแทรกอยู่ระหว่างสเปิร์มาโตโกเนียม ลักษณะที่แตกต่างของเซลล์ทั้งสองชนิดนี้ คือ นิวเคลียสของเซลล์เซอร์โทไลมีรูปร่างรี แต่นิวเคลียสของสเปิร์มาโตโกเนียมมีรูปร่างค่อนข้างกลม ระยะนี้ยังพบสเปิร์มาโตโกเนียมมีการ

แบ่งตัวแบบไมโอซิส ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 37.5 ไมครอน

3. Spermatogonial ampulla ระยะที่ 2 (Figure 6) แอมพูลลาระยะนี้มีเซลล์ประมาณ 3-5 ชั้น โดยชั้นในสุดที่ติด lumen เป็นชั้นของเซลล์เซอร์โทไลต์ส่วนที่เหลือเป็นชั้นของสเปิร์มาโตโกเนียม ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 100 ไมครอน

4. Spermatogonial ampulla ระยะที่ 3 (Figure 7) ลักษณะของแอมพูลลาระยะนี้พบว่าเซลล์เซอร์โทไลต์ที่อยู่บริเวณรอบๆ lumen มีการเคลื่อนย้ายเข้ามาปนกับสเปิร์มาโตโกเนียม จำนวนชั้นของเซลล์เท่ากับระยะที่ 2 หรืออาจมากกว่า ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 125 ไมครอน

5. Spermatogonial ampulla ระยะที่ 4 (Figure 8) ระยะนี้เซลล์เซอร์โทไลต์ได้เคลื่อนมาอยู่บริเวณขอบของแอมพูลลาติดกับเบสเม้นท์เมมเบรน จำนวนของสเปิร์มาโตโกเนียที่ได้จากการแบ่งตัวแบบไมโอซิสเพิ่มขึ้นมากจนเต็มแอมพูลลา ทำให้บริเวณตรงกลางของแอมพูลลา ไม่มี lumen ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 150 ไมครอน

6. Primary spermatocyte ampulla (Figure 9 and 11) เป็นแอมพูลลาที่มาจากการแบ่งตัวแบบไมโอซิสครั้งสุดท้ายของสเปิร์มาโตโกเนียม ขนาดเซลล์ของไพรมารีสเปิร์มาโตไท์ที่ใหญ่กว่าสเปิร์มาโตโกเนียม และเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดเมื่อเทียบกับระยะอื่นๆ ภายในนิวเคลียสมักเห็น nuclear chromatin เป็นสายชัดเจน ระยะนี้พบว่าเซลล์เซอร์โทไลต์อยู่บริเวณขอบของแอมพูลลาอย่างสมบูรณ์ติดกับเบสเม้นท์เมมเบรน และคงอยู่ตำแหน่งนี้ตลอดไปจนกระทั่งอสุจิปลดปล่อยออกไปจากแอมพูลลา ไม่พบ lumen บริเวณตรงกลางของแอมพูลลา ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 250 ไมครอน

7. Secondary spermatocyte ampulla (Figure 10 and 12) เป็นแอมพูลลาที่พบน้อยที่สุด เนื่องจากอยู่ไม่นานก็เปลี่ยนไปเป็น spermatid ampulla บางแอมพูลลาพบว่ามียสเปิร์มาติดปนอยู่ด้วย แอมพูลลา

ระยะนี้มาจากการแบ่งตัวแบบไมโอซิส I ของไพรมารีสเปิร์มาโตไท์ ขนาดเซลล์ของเซคันดารีสเปิร์มาโตไท์เล็กลงเป็นครึ่งหนึ่งของไพรมารีสเปิร์มาโตไท์ แอมพูลลาระยะนี้มีขนาดเท่ากับ 250 ไมครอน

8. Spermatid ampulla เป็นแอมพูลลาที่มาจากการแบ่งตัวแบบไมโอซิส II ของเซคันดารีสเปิร์มาโตไท์ นิวเคลียสของสเปิร์มาติดมีการหดตัวเล็กลงเป็นครึ่งหนึ่งของเซคันดารีสเปิร์มาโตไท์ ลักษณะของนิวเคลียสกวม และดีดีส์มีมาที่อกโซลินเข้มมาก (Figure 12) spermatid ampulla มีการเจริญและจัดเรียงตัวหลายรูปแบบซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้ดังนี้

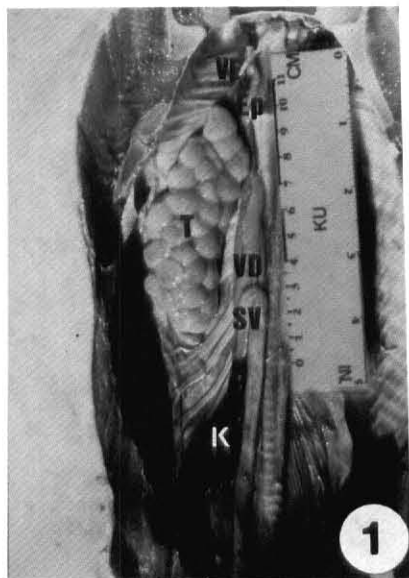
8.1 Spermatid ampulla ที่มีเซลล์กระจายเต็มแอมพูลลา ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 250 ไมครอน (Figure 13)

8.2 Spermatid ampulla ที่มีการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นแถวตามแนวรัศมีอยู่บริเวณขอบด้านนอกของแอมพูลลาทำให้เกิดช่องว่างอยู่ตรงกลางของแอมพูลลา ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 300 ไมครอน (Figure 14)

8.3 Spermatid ampulla ที่ประกอบด้วยสเปิร์มาติดที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากรูปกลมเป็นรูปคล้ายหยดน้ำ ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 275 ไมครอน (Figure 15)

8.4 Spermatid ampulla ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่างยาวมากขึ้นและส่วนกลางของเซลล์ดีดีส์อีโอซินชัด การจัดเรียงตัวของเซลล์จะหันส่วนหัวเข้าหาเซลล์เซอร์โทไลต์ (Figure 16) ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 250 ไมครอน

9. Spermatozoal ampulla เป็นแอมพูลลาที่สิ้นสุดกระบวนการ spermiogenesis แล้ว ภายในแอมพูลลาประกอบด้วยอสุจิที่มีรูปร่างยาวมากทั้งส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวดีดีส์น้ำเงินของฮีมาที่อกโซลินเข้มมาก ส่วนกลางและส่วนหางดีดีส์ชมพูของอีโอซิน ส่วนหัวของอสุจิจะฝังอยู่ในไซโทพลาซึมของเซลล์เซอร์โทไลต์ส่วนหางจะหันไปทาง lumen ของแอมพูลลา การจัดเรียงตัว

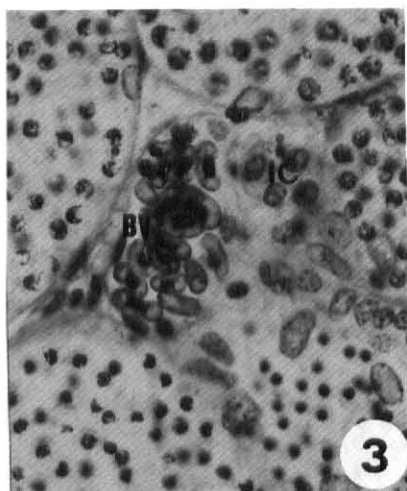


**Figure 1** Gross structure of the male reproductive system in stingray.

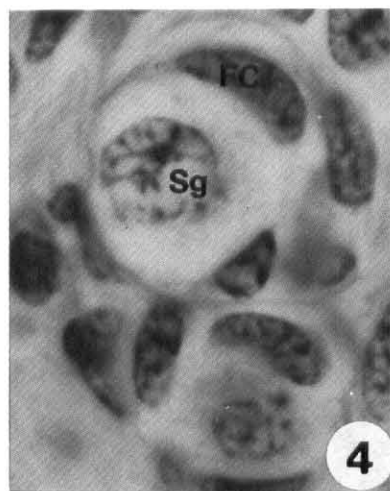
T = testis,  
VE = vas efferent,  
Ep = epididymis,  
VD = vas deferens,  
SV = seminal vesicle,  
K = kidney.



**Figure 2** Cross section of stingray testis, showing zone of spermatid ampullae (ZSd) and zone of spermatozoal ampullae (ZSp). (H & E; x 40).



**Figure 3** Cross section of stingray testis, interstitial cells (IC) and blood vessel (BV) were found between the ampullae. (H & E; x 300).



**Figure 4** Cross section of stingray testis, showing ampullogenic zone which consisted of ampullogenic spermatogonia (Sg) surrounded by fusiform cells (FC). (H & E; x 200).

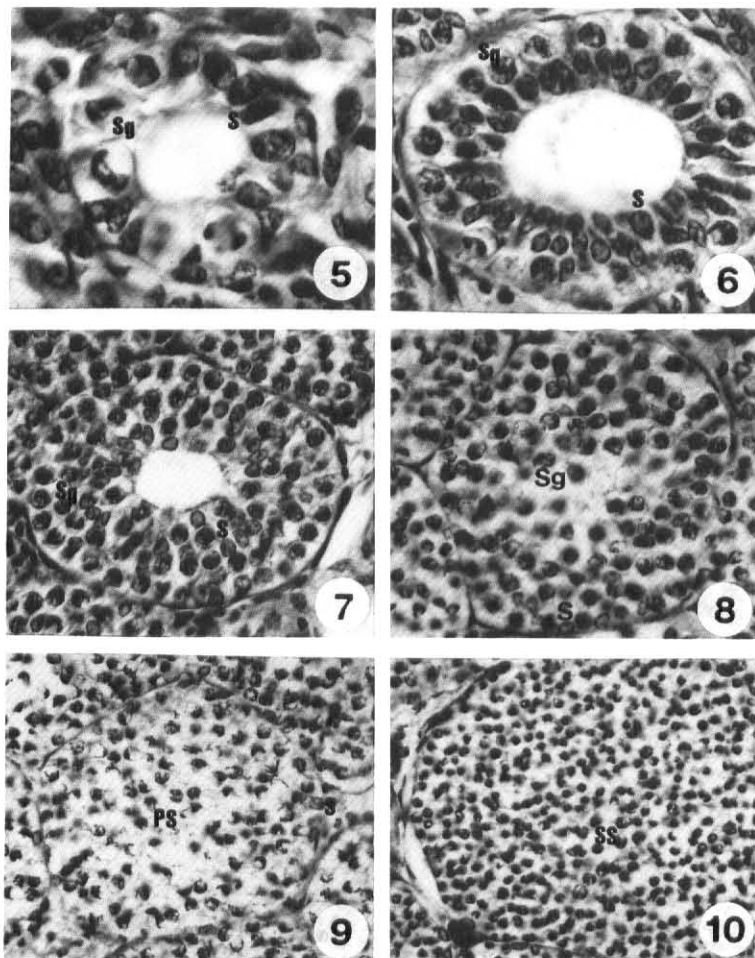
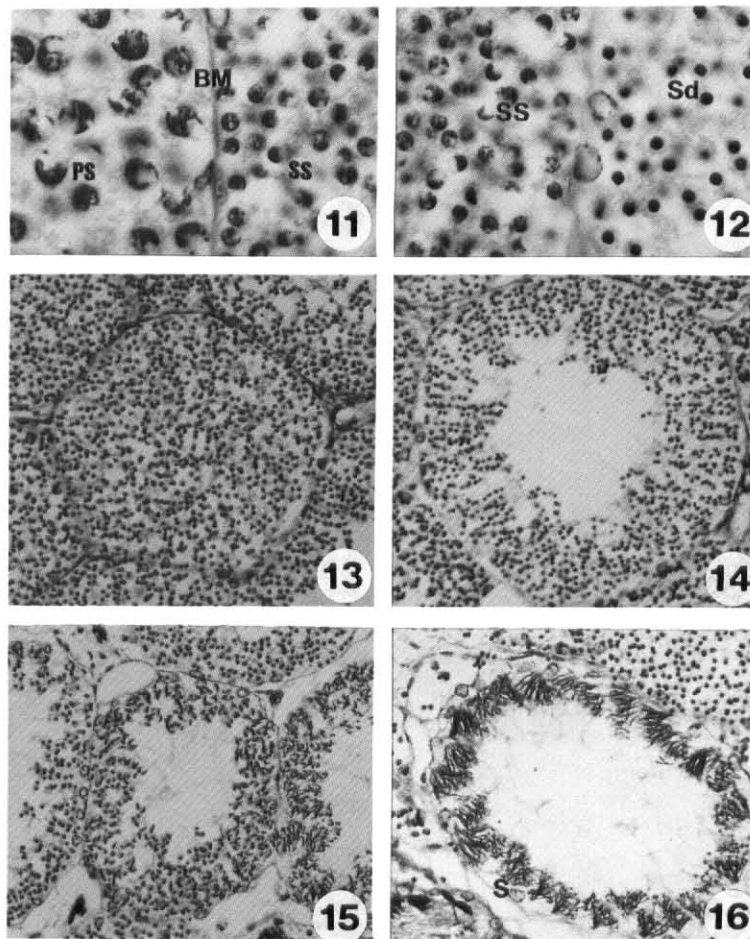


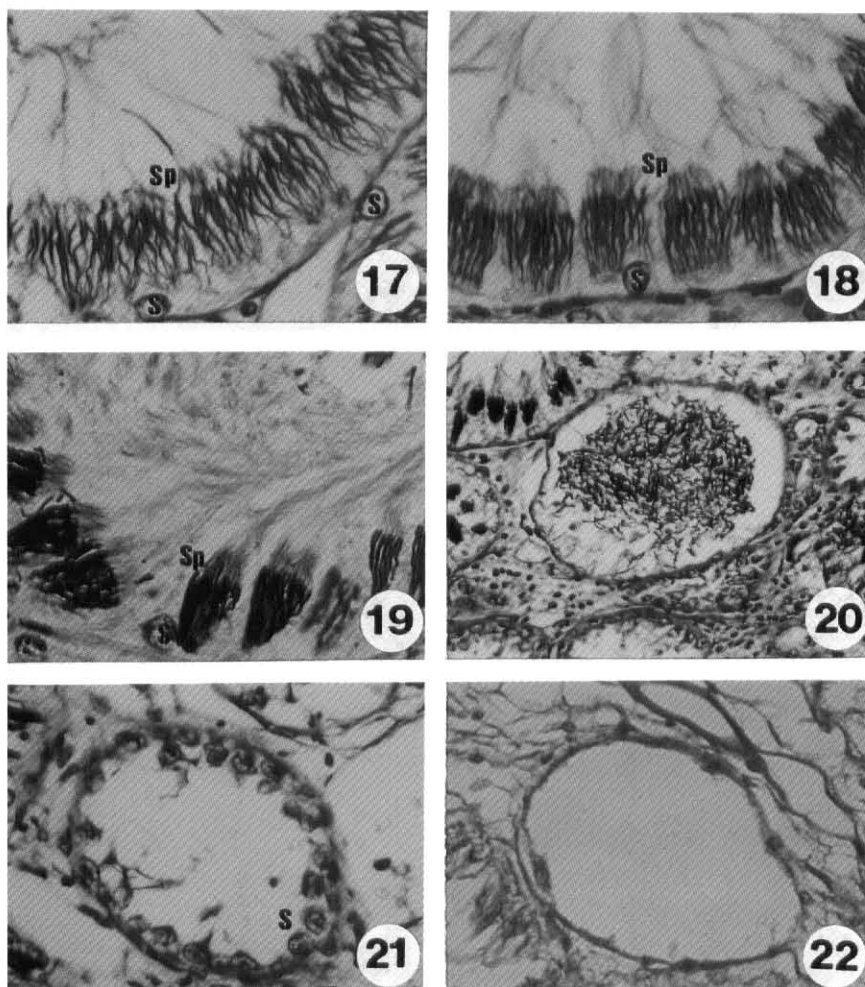
Figure 5-10 Cross section of stingray testis

- 5 Spermatogonial ampulla stage 1 was composed of 1 or 2 layers of spermatogonia (Sg) and Sertoli cells (S). (H & E; x 800).
- 6 Spermatogonial ampulla stage 2 was composed of 3-5 cell layers, Sertoli cells (S) were lined around the lumen, while spermatogonia (Sg) arranged around the periphery of the ampulla. (H & E; x 800).
- 7 Spermatogonial ampulla stage 3, Sertoli cells (S) migrated from the lining of the lumen and scattered between spermatogonia (Sg). (H & E; x 800).
- 8 Spermatogonial ampulla stage 4, Sertoli cell nuclei (S) were located at the ampulla periphery, Sg = spermatogonium. (H & E; x 800).
- 9 Primary spermatocyte ampulla contained primary spermatocytes. (PS) (H & E; x 200).
- 10 Secondary spermatocyte ampulla contained secondary spermatocytes. (SS) (H & E; x 200).



**Figure 11-16 Cross section of stingray testis.**

- 11 Primary spermatocytes (PS) and secondary spermatocytes (SS), BM = basement membrane of the ampulla. (H & E; x 800).
- 12 Secondary spermatocytes (SS) and spermatids (Sd). (H & E; x 800).
- 13 Spermatid ampulla was filled with spermatids and had no lumen. (H & E; x 125).
- 14 Spermatid ampulla consisted of radial lines of spermatids which arranged around the lumen (L) (H & E; x 125).
- 15 Spermatid ampulla consisted of spermatids which nuclei changed from round to tear drop shape. (H & E; x 125).
- 16 Spermatid ampulla contained advanced spermatids possessing elongated nuclei. The spermatid head was toward Sertoli cells (S). (H & E; x 200).



**Figure 17-22 Cross section of stingray testis.**

- 17 Spermatozoal ampulla consisted of regular arrangement of spermatozoa (Sp), S = Sertoli cell nuclei. (H & E; x 400).
- 18 Spermatozoal ampulla consisted of interval grouping arrangement of spermatozoa (Sp), S = Sertoli cell nuclei. (H & E; x 400).
- 19 Spermatozoal ampulla consisted of convergent head of spermatozoal group embedded in the cytoplasm of Sertoli cells (S) (H & E; x 400).
- 20 Spermatozoal ampulla consisted of spermatozoa released into the lumen. (H & E; x 100).
- 21 Empty ampulla with Sertoli cells (S). (H & E; x 200).
- 22 Empty ampulla without Sertoli cells. (H & E; x 250).



Figure 23 Small duct was found between spermatozoal ampulla. (H & E; x 600).

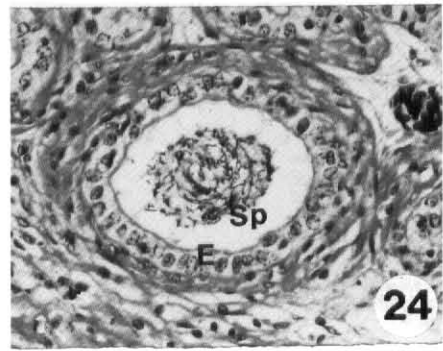


Figure 24 Vas efferent was found at the hilus of testis, E = epithelium, Sp = spermatozoa. (Trichrome; x 250).

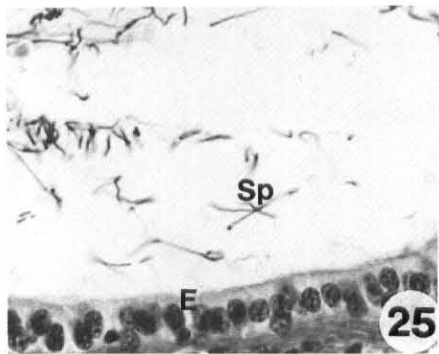


Figure 25 Cross section of the epididymis showing pseudostratified columnar epithelium with stereocilia (E), Sp = spermatozoa. (H & E; x 500).

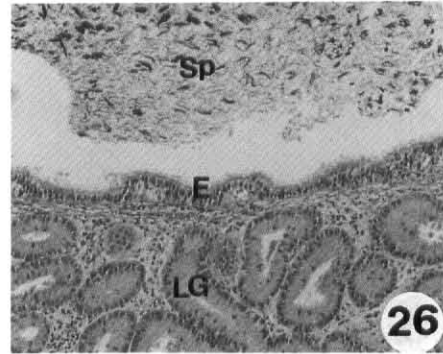


Figure 26 Cross section of the vas deferens showing Leydig gland (LG) and groups of spermatozoa (Sp) in the lumen. (H & E; x 100).

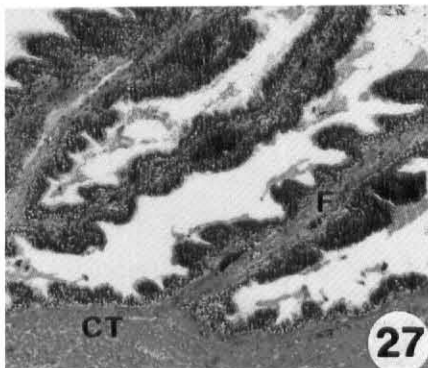


Figure 27 Cross section of the seminal vesicle showing transverse folds (F) of the inner layer, CT = connective tissue. (Trichrome; x 20).

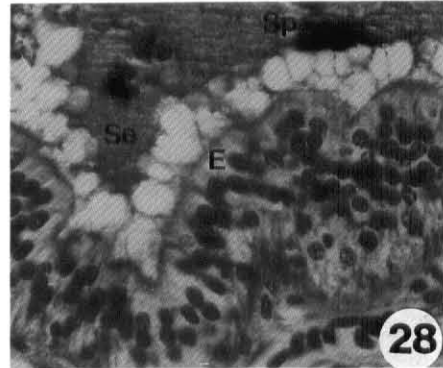


Figure 28 Cross section of the seminal vesicle showing pseudostratified columnar epithelium (E) with stereocilia, Sp = group of spermatozoa, Se = secretion. (H & E; x 800).

ของอสุจิมีหลายแบบซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้ดังนี้

9.1 Spermatozoal ampulla ที่มีการจัดเรียงตัวของอสุจิแบบกระจายสม่ำเสมอ (Figure 17) อยู่บริเวณขอบของแอมพูลลา แอมพูลลาระยะนี้มีขนาดเท่ากับ 250 ไมครอน

9.2 Spermatozoal ampulla ที่มีอสุจิรวมกลุ่มกันเป็นช่วงๆ (Figure 18) ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 237.5 ไมครอน

9.3 Spermatozoal ampulla ที่ส่วนหัวของอสุจิเบนเข้าหากันเป็นรูปสามเหลี่ยมและฝังติดกับเซลล์เซอร์โทไล (Figure 19) ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 230 ไมครอน

9.4 Spermatozoal ampulla ที่อสุจิหลุดออกจากเซลล์เซอร์โทไล และกระจายอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบภายในแอมพูลลา (Figure 20) ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้ตั้งแต่ 150-300 ไมครอน

10. Empty ampulla เป็นแอมพูลลาที่ไม่มีอสุจิอยู่เนื่องจากได้ปลดปล่อยอสุจิออกไปแล้ว ภายในแอมพูลลาในระยะแรกยังคงมีเซลล์เซอร์โทไลเหลืออยู่ (Figure 21) ขนาดของแอมพูลลาระยะนี้เท่ากับ 125 ไมครอน ต่อมาเซลล์เซอร์โทไลจึงค่อยสลายไปกลายเป็นแอมพูลลาที่ว่างเปล่า (Figure 22) ขนาดของแอมพูลลาละเอียดมากโดยมีขนาดตั้งแต่ 80-100 ไมครอน

## ท่อของระบบสืบพันธุ์เพศผู้

### 1. Vas efferent

เป็นท่อนำอสุจิที่พบอยู่บริเวณหัวของอวัยวะ ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้กับ spermatozoal ampulla ท่อส่วนนี้จะต่อจากอวัยวะไปยัง epididymis ลักษณะทางจุลกายวิภาคพบว่าผนังชั้นในสุดบุด้วย simple columnar epithelium ที่มี stereocilia ถัดมาเป็นชั้นของเนื้อเยื่อประสานที่มีคอลลาเจนไฟเบอร์เรียงตัวอยู่ล้อมรอบท่อภายใน lumen ของท่อพบอสุจิกระจายอยู่ (Figure 23) นอกจากนี้ยังพบท่อที่มีขนาดเล็กกว่าอยู่ข้างๆ vas efferent

และพบอยู่ระหว่าง spermatozoal ampullae จำนวนหลายท่อ ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเหมือนกับ vas efferent และภายในท่อพบอสุจิตัว (Figure 24)

### 2. Epididymis

ผนังชั้นในสุดของท่อส่วนต้นไม่พบ fold แต่ส่วนท้ายมี fold ขึ้นเข้าไปใน lumen เยื่อบุผิวเป็นชนิด pseudostratified columnar epithelium ที่มี stereocilia (Figure 25) ถัดจากเยื่อบุผิวเป็นเนื้อเยื่อประสานชั้นบางๆ ส่วนท้ายของ epididymis ยังพบ Leydig's gland กระจายอยู่โดยรอบ และพบตลอดไปจนถึง seminal vesicle

### 3. Vas deferens

ผนังชั้นในสุดของท่อมีลักษณะเป็น fold ขึ้นเข้าไปใน lumen และบุด้วยเยื่อบุผิวชนิด pseudostratified columnar epithelium ที่มี stereocilia ถัดจากเยื่อบุผิวเป็นเนื้อเยื่อประสานที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆ ถัดมาพบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบชั้นบางๆ เรียงตัวแบบวงกลม ชั้นนอกสุดเป็นเนื้อเยื่อประสานซึ่งอยู่ปนกับเนื้อเยื่อประสานที่อยู่รอบๆ Leydig's gland ท่อส่วนนี้พบว่ามี Leydig's gland อยู่ล้อมรอบมากที่สุด อสุจิที่อยู่ภายในท่อส่วนใหญ่มีการรวมกลุ่มกัน (Figure 26)

### 4. Seminal vesicle

ผนังด้านในสุดมี transverse fold จำนวนมาก primary fold ยังแตกแขนงออกเป็น secondary fold เยื่อบุผิวเป็นชนิด pseudostratified columnar epithelium ชนิดที่มี stereocilia (Figure 27, and 28) ถัดจากเยื่อบุผิวเป็นชั้นของเนื้อเยื่อประสานที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆ ขึ้นเข้าไปเป็นแกนของ fold ด้วย ชั้นนี้พบหลอดเลือดแทรกอยู่เป็นจำนวนมาก ถัดมาพบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบชั้นบางๆ ที่เรียงตัวแบบวงกลม และชั้นนอกสุดพบเนื้อเยื่อประสานเป็นชั้นหนามีหลอดเลือดแทรกอยู่ด้วย อสุจิที่อยู่ภายใน seminal vesicle มีการรวมกลุ่มกันมากที่สุดโดยแทบจะไม่พบอสุจิอยู่เดี่ยวๆ ในท่อนี้

## วิจารณ์

อวัยวะของปลากระเบนมี 1 คู่ และมีขนาดใหญ่มากติดกับ epigonal organ เช่นเดียวกับอวัยวะของปลาฉลามซึ่งเป็นปลาคู่อกอ่อนพวก elasmobranch เหมือนกัน แต่แตกต่างจากพวก holocephalan ซึ่งเป็นปลาคู่อกอ่อนพวกหนึ่งที่ไม่มี epigonal organ (Dodd, 1983) อวัยวะแต่ละอันแบ่งออกเป็นพูจำนวนมาก ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างจากรายงานที่พบในปลาฉลามส่วนใหญ่ ยกเว้นปลาฉลามในกลุ่ม Lamniformes ซึ่งอวัยวะแบ่งออกเป็นพูเหมือนกัน (Dodd, 1983; Pratte, 1988) ภายในแต่ละพูของอวัยวะประกอบด้วยหน่วยโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมขนาดเล็ก เรียกแอมพูลลาซึ่งเหมือนกับปลาคู่อกอ่อนทั่วไป (Dodd, 1983) แต่ Callard (1991) เรียกโครงสร้างนี้ว่าสเปออร์มาโตซิสต์ (Spermatocyst) ในสัตว์มีกระดูกสันหลังพวกสัตว์เลื้อยคลาน นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หน่วยโครงสร้างของอวัยวะมีลักษณะเป็นท่อยาวเรียกเซมินิเฟอร์สทิวบูล (seminiferous tubule) (Leake, 1975; Dodd, 1983; Callard, 1991) ในแต่ละแอมพูลลาประกอบด้วยเซลล์สเปออร์มาโตเจนิคที่มีการเจริญอยู่ในระยะเดียวกันตรงกับการรายงานที่พบในปลาฉลามชนิด *Scyliorhinus canicula* แอมพูลลาที่ประกอบด้วยเซลล์สเปออร์มาโตเจนิคที่เจริญอยู่ในระยะเดียวกันจะอยู่บริเวณเดียวกัน เรียกบริเวณนี้ว่า concentric zone ทำให้แต่ละพูของอวัยวะจัดเรียงเป็นบริเวณต่างๆ เริ่มจาก ampullogenic zone ซึ่งพบอยู่ที่บริเวณ ventrolateral ของอวัยวะ เหมือนกับการศึกษาของ Dobson (1974) และ Dobson and Dodd (1977) แอมพูลลาที่มีการเจริญและเคลื่อนออกไปจาก ampullogenic zone หรือ germinal zone (Parsons and Grier, 1992) ตามลำดับตั้งแต่สเปออร์มาโตโกเนีย โพรมาติสเปออร์มาโตไซท์ เซคันดารีสเปออร์มาโตไซท์ สเปออร์มาติด และสเปออร์มาโตซัว บริเวณที่พบ spermatozoal ampullae นั้นเป็นบริเวณที่กว้างที่สุดและอยู่ใกล้กับ epigonal organ ซึ่งตรงกับ

การรายงานของ Dodd (1983) ชนิดของแอมพูลลาและขนาดของแอมพูลลาในปลากระเบนมีความคล้ายคลึงกับที่พบในปลาฉลามโดย spermatogonial ampulla มีขนาดเล็กกว่า primary spermatocyte ampulla และ spermatid ampulla ระยะที่มีการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นแถวตามแนวรัศมีมีขนาดใหญ่ที่สุด สำหรับ secondary spermatocyte ampulla พบน้อยที่สุดเนื่องจากอยู่ไม่นานก็กลายเป็น spermatid ampulla (Dobson, 1974) บางครั้งจึงพบว่ามีการสลับเซลล์สเปออร์มาโตไซท์และสเปออร์มาติดอยู่ในแอมพูลลาเดียวกัน

จากการศึกษาที่อนำน้ำเชื้อในปลากระเบนพบท่อขนาดเล็กที่สุดอยู่ระหว่าง spermatozoal ampullae มีโครงสร้างเหมือนกัน vas efferent และภายในท่มีอสุจิอยู่ จึงเชื่อว่าอสุจิที่ปล่อยออกจาก spermatozoal ampulla น่าจะเข้าสู่ท่อเหล่านี้ก่อนซึ่งเป็นท่อส่วนแรกที่แตกต่างกันอยู่ภายในอวัยวะ และในที่สุดจะรวมกันต่อมาเป็น vas efferent ซึ่งพบที่บริเวณขั้วของอวัยวะและต่อไปยัง epididymis ซึ่งเป็นท่อที่มีลักษณะขดกันแน่นตรงกับรายงานของ Babel (1967) รอบๆ ท่อนำน้ำเชื้อตั้งแต่ส่วนท้ายของ epididymis ตลอดไปจนถึง seminal vesicle ยังพบ Leydig's gland โดยพบจำนวนมากที่สุดที่ vas deferens เช่นเดียวกับรายงานที่พบในปลาฉลามชนิด *Cetorhinus maximus* ซึ่งท่อชนิดนี้ทำหน้าที่สร้างของเหลวออกมาเพื่อให้อสุจิรวมกลุ่มกันและลอยอยู่ในของเหลวนี้ (Andrew and Hickman, 1974; Matthew, 1950) ด้วยเหตุนี้จึงพบว่าอสุจิของปลากระเบนที่อยู่ในท่อ epididymis ส่วนท้าย vas deferens และ seminal vesicle มีการรวมกลุ่มกัน ท่อนำอสุจิส่วนสุดท้าย คือ seminal vesicle เป็นท่อที่มีผนังหนาและมีอสุจิบรรจุอยู่เป็นจำนวนมากเหมือนกับปลาคู่อกอ่อนทั่วไป จากการศึกษาที่ไม่พบ sperm sac ซึ่งแตกต่างจากรายงานที่พบในปลาฉลาม (Leake, 1975)

ผลงานวิจัยนี้มีประโยชน์ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของปลาคู่อกอ่อนและสัตว์มี

กระดูกสันหลังพวกอื่นๆ ได้ สิ่งที่ต้องการศึกษาเพิ่มเติมคือ ทำการศึกษาตลอดทั้งปีและศึกษารายละเอียดของโครงสร้างในระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นรายงานครั้งแรกในปลากระเบนชนิดนี้

### คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ ศ.สุภาพ มงคล-ประสิทธิ์ และ ผศ.ทวีศักดิ์ ทรงศิริกุล ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อมูลเกี่ยวกับปลากระเบน และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พิสุทธิ มังกรกาญจน์ที่ให้คำปรึกษา

### เอกสารอ้างอิง

- Andrew, W. and C.D. Hickman, 1974 Histology of the Vertebrates. The C.V. Mosby Company, Saint Louis. 439 P.
- Babel, T.S. 1986. Reproduction, life history and ecology of the round stingray, *Urolophus halleri* cooper. Calif. Fish. Game Bull. 137 : 1-104
- Callard, G.V. 1991 Spermatogenesis. pp. 304-341 In P. Paang and M. Schreibman (eds.). Vertebrate Endocrinology : Fundamentals and Biomedical Implications, Vol. 4 Part A. Academic Press, Inc., New York.
- Dobson, S, 1974. Endocrine control of reproduction in the male *Scyliorhinus canicular*. Ph.D. Dissertation, Univ of Wales. 158 p.
- Dobson, S. and J.M. Dodd, 1977. Endocrine control of the testis in the dogfish *Scyliorhinus canicula* L. II. Histological and ultrastructural changes in the testis after partial hypophysectomy (ventral lobectomy). Gen Comp. Endocrinol. 32 : 53-71
- Dodd, J.M. 1983 Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes), pp. 3187. In W.S. Hoar, D.J. Randell and E.M. Donaldson (eds.). Fish physiology. Vol IX. Academic Press, Inc., New York
- Fange, R and A. Mattison. 1981. The lymphomyeloid (haemopoietic) system of the Atlantic nurse shark, *Ginglymostroma cirratum*. Biol. Bull. 160 : 240-249.
- Leake, L.D. 1975. Comparative Histology : The microscopic structure of animal. Academic Press, Inc., London. 735 p.
- Matthews, L.H. 1950. Reproduction in the basking shark, *Cetorhinus maximus* (Gunner). Philos. Trans. R. Soc. Lond. 234 : 247-316.
- Parsond, G.R. and H.J. Grier. 1992. Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis. J. Exp. Zool. 261 :173-184.
- Pratte, H.L. 1988. Elasmobranch gonad structure : A description and survey. Copeia. 3 : 719-729.
- Sheehan, D.C. and B.B. Hrapchak. 1980. Theory and Practice of Hestotechnology. The C.V. Mosby Co., Toronto. 481 p.
- Troyer, H. 1980. Principle and Techniques of Histochemistry. Brown and Co. Inc., Boston. 431 p.