

THE EFFECTS OF GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE, AND IT'S HOMOLOGS ON ANDROGENIC GLAND AND TESTICULAR DEVELOPMENT, TESTICULAR LIPID PROFILE, AND MALE SEX MARKER IN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

TANAPAN SIANGCHAM 5237282 SCAN/D

Ph.D. (ANATOMY AND STRUCTURAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: PRASERT SOBHON, Ph.D., PETER J. HANNA, Ph.D., CHAITIP WANICHANON, Ph.D., YOTSAWAN TINIKUL, Ph.D., CHAROONROJ CHOTWIWATTHANAKUN, Ph.D.

ABSTRACT

In this study, we focus on the role of eye-brain/thoracic ganglia-androgenic gland-testis axis in controlling male reproduction and sexual differentiation of *M. rosenbergii*, which is mediated by neurotransmitters (serotonin, 5-HT and dopamine, DA), neurohormones (gonadotropin-releasing hormones), and androgenic gland hormone (IAG). Stimulatory effects by 5-HT and 1-GnRH-III were shown through significant increases in AG size, proliferation of AG cells, and insulin-like androgenic gland hormone (*MrIAG*) production ($P < 0.05$). In contrast, inhibitory effects by DA and Crz were shown through significant decreases in AG size, proliferation of AG cells, and *MrIAG* production ($P < 0.05$). Thus, we propose that 5-HT and certain GnRHs can be now used to stimulate reproduction in male *M. rosenbergii*, as they induce increases in AG and IAG production. Male prawns grow faster, reaching a larger size and having more flesh than female. Therefore, we used IAG as a marker for selecting male larvae which flip to become postlarva (PL) earlier than females. The percentage of male PL in earlier flipping days was more than in the later flipping days. This was confirmed by the estimation of males based on the presence of male gonopores in 4-month old prawns, which were cultured PL taken from consecutive flipping days, with decreasing percentage of males from PL1 at 81.5%, PL2 at 76.1%, and PL3 at 64.6 %. Hence, *MrIAG* could be used as a male marker for selecting preferentially male PL in early flipping days for monoculture. Lipids, especially phosphatidylcholines (PCs), PUFA, and HUFA are essential for spermatogenesis and male fertility. In this study, we showed the composition and distribution of PCs and total fatty acids (FAs) in three groups of seminiferous tubules (STs) classified by cellular associations [i.e., A (STs with mostly early germ cells), B (STs with mostly spermatids), and C (STs with spermatozoa)], in three male morphotypes, including small male (SM), orange claw male (OC), and blue claw male (BC). PCs are present in all ST stages, but reaching a maximum in STs of group B. Imaging mass spectrometry showed remarkably high signals corresponding to PC (16:0/18:1), PC (18:0/18:2), PC (18:2/20:5), and PC (16:0/22:6) in STs of groups A and B. Analysis by GC-MS indicated that the major FAs present in the testes were composed of 14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 16:1, 18:1, 18:2, 20:1, 20:2, 20:4, 20:5, and 22:6. The testes of OC contained the largest amounts of these FAs while the testes of BC contained the least amounts of these FAs. This knowledge will be useful in formulating diets containing appropriate amounts of fatty acids, PUFA, and HUFA for prawn broodstocks in order to improve the testes development and male fecundity.

KEY WORDS: *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*/ NEUROTRANSMITTER/ GnRH/ IAG/ MOMOSEX CULTUR/ LIPID/ MASS SPECTROMETRY

การศึกษาผลกระทบของฮอร์โมนในกลุ่ม gonadotropin-releasing hormone และฮอร์โมนกลุ่มใกล้เคียง ต่อมแอนโดรเจนิก และการพัฒนาของต่อมอัณฑะ องค์ประกอบของไขมันในต่อมอัณฑะ และการยับยั้งซึ่งเพศผู้ในกึ่งก้ามกราม

THE EFFECTS OF GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE, AND ITS HOMOLOGS ON ANDROGENIC GLAND AND TESTICULAR DEVELOPMENT, TESTICULAR LIPID PROFILE, AND MALE SEX MARKER IN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

รณพรธณ เลียงแจ่ม 5237282 SCAN/D

ปร.ด. (กายวิภาคศาสตร์และชีววิทยาโครงสร้าง)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ประเสริฐ โสภณ, Ph.D., ปีเตอร์ เจ ฮันนา, Ph.D., ชัยทิพย์ วนิชานนท์, Ph.D., ยศวินต์ ดินกุล, Ph.D., จรูญโรจน์ โชติวิวัฒน์กุล, Ph.D.,

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวงจรเครือข่ายของ ก้านตา สมอง ปมประสาทส่วนอก ต่อมแอนโดรเจนิก ในการควบคุมระบบสืบพันธุ์และการเจริญเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในกึ่งก้ามกรามเพศผู้ ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่า กึ่งก้ามกรามเพศผู้โตเร็ว และมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อเทียบกับกึ่งก้ามกรามเพศเมีย ซึ่งระบบสืบพันธุ์ของกึ่ง ถูกควบคุมด้วยสารสื่อประสาทซีโรโทนิน และโดปามีน ฮอร์โมน gonadotropin-releasing hormones (GnRHs) และฮอร์โมนจากต่อมแอนโดรเจนิก (insulin-like androgenic gland hormone, *MrLAG*) ซึ่งเป็นฮอร์โมนหลักในการควบคุมลักษณะเพศผู้ พบว่า สารสื่อประสาทซีโรโทนิน และแลมปีเพอร์ย์ GnRH มีฤทธิ์กระตุ้นระบบสืบพันธุ์ โดยเพิ่มขนาดของต่อมแอนโดรเจนิก การเจริญของเซลล์ในต่อมแอนโดรเจนิก และการสังเคราะห์ *MrLAG* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่สารสื่อประสาทโดปามีนและคอร์ราโซนินมีฤทธิ์ยับยั้งระบบสืบพันธุ์ โดย สามารถลดขนาดของต่อมแอนโดรเจนิก การเจริญของเซลล์ในต่อมแอนโดรเจนิก และการสังเคราะห์ *MrLAG* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จึงสามารถสรุปได้ว่าสารสื่อประสาทซีโรโทนิน และแลมปีเพอร์ย์ GnRH สามารถใช้ในการกระตุ้นระบบสืบพันธุ์เพศผู้ได้ เนื่องจาก *MrLAG* เป็นยีนที่พบเฉพาะในกึ่งเพศผู้ จึงได้ทำการใช้คุณสมบัติของยีน *LAG* เป็นตัวบ่งชี้กึ่งเพศผู้ระยะที่ตัวแล้ว พบว่า *MrLAG* มีการแสดงออกตั้งแต่วันแรกของการตัว และเมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนนี้ในวันที่ 8 หลังจากตัว พบว่า ร้อยละของกึ่งที่ตัวเร็วเป็นเพศผู้มากกว่าเพศเมีย ซึ่งกึ่งที่ถูกคัดแยกเหล่านี้จะถูกตรวจสอบเพศอีกครั้ง ด้วยการดู gonopore ที่โคนขาเดินคู่ที่ 5 หลังจากทำการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ร้อยละ 81.5 ของกึ่งที่ตัววันแรก ร้อยละ 76.1 ของกึ่งที่ตัววันที่สอง และ ร้อยละ 64.6 ของกึ่งที่ตัววันที่สาม เป็นเพศผู้ จึงสามารถสรุปได้ว่า *MrLAG* สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการคัดเลือกกึ่งเพศผู้ในระยะที่ตัวแล้วได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงกึ่งแบบ monoculture นอกจากฮอร์โมนแล้ว สารไขมัน โดยเฉพาะพอสฟาติลโคลีน และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ชนิด polyunsaturated fatty acid (PUFA) และ highly unsaturated fatty acid (HUFA) ยังมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของกึ่งอีกด้วย ซึ่งมีรายงานว่าสารไขมันดังกล่าว มีความจำเป็นต่อกระบวนการผลิตอสุจิ และความสมบูรณ์เพศ การศึกษานี้ได้แสดงองค์ประกอบและการกระจายตัวของ พอสฟาติลโคลีน และกรดไขมันชนิดต่างๆ ในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ small male (SM) orange claw male (OC) และตัวเต็มวัย (blue claw male, BC) ซึ่งหลอดสร้างอสุจิ ของกึ่งเหล่านี้ สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ประกอบด้วย เซลล์สืบพันธุ์ที่กำลังเจริญ กลุ่ม B ประกอบด้วย spermatid เป็นหลัก และกลุ่ม C ประกอบด้วยตัวอสุจิเป็นหลัก โดยปริมาณของพอสฟาติลโคลีน นั้นจะพบมากในหลอดสร้างอสุจิกกลุ่ม B เมื่อดูการกระจายตัวของพอสฟาติลโคลีน ด้วย imaging mass spectrometry พบว่าประกอบด้วย พอสฟาติลโคลีนชนิด 16:0/18:1, 18:0/18:2, 18:2/20:5 และ 16:0/22:6 พบมากในหลอดสร้างอสุจิกกลุ่ม B และ A จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่ามีชนิดของกรดไขมันที่พบ ดังนี้ 14:0 16:0 17:0 18:0 16:1 18:1 18:2 20:1 20:2 20:4 20:5 และ 22:6 ซึ่งพบมากที่สุดในกลุ่ม OC แต่พบน้อยในกลุ่มตัวเต็มวัย ข้อมูลดังกล่าวนี้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสุรอาหารที่เหมาะสมต่อพ่อพันธุ์กึ่งก้ามกรามได้ การค้นพบ ไลโปการควบคุมระบบสืบพันธุ์ ยับยั้งซึ่งเพศผู้ และองค์ประกอบของไขมันในอวัยวะนี้ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงพ่อพันธุ์กึ่ง และช่วยเพิ่มผลผลิตลูกกึ่งเพศผู้ต่อไป