

การทดลองผลของแมกนีเซียมต่อการพัฒนาของไข่ที่ได้รับการผสมแล้วในกึ่งกุลาคำ มีวัตถุประสงค์เพื่อชะลอพัฒนาการ (egg activation) ของไข่กึ่งกุลาคำที่มีความไม่พร้อมเพรียงกันให้เริ่มต้นพัฒนาอย่างพร้อมเพรียงกันในไข่ทั้งหมดที่ไข่ในคราวเดียวกัน โดยการให้แม่กุ้งไข่ลงน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นของ  $Mg^{2+}$  ที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ น้ำทะเลปกติที่เตรียมเอง (artificial seawater) ซึ่งมีความเข้มข้นของ  $Mg^{2+}$  ที่ 55 mM หรือ 1,400 ppm ซึ่งคิดเป็น 100% และที่ความเข้มข้นของ  $Mg^{2+}$  50%, 20% และ 0% ของน้ำทะเลปกติ โดยมีกลุ่มที่ไข่ลงน้ำทะเลปกติ (seawater) ในโรงเพาะฟักเป็นกลุ่มควบคุม พบว่า จากการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ในกลุ่ม 100% การเกิด egg activation เป็นปกติ คือ การ protrude ของ cortical rods สมบูรณ์และจางหายไปภายในเวลา 45 วินาทีหลังวางไข่ และการเกิด hatching envelope สมบูรณ์ภายในเวลา 15 นาทีหลังวางไข่ ในกลุ่ม 20% การ protrude ของ cortical rods ช้ากว่าปกติโดยสมบูรณ์ที่เวลา 2 นาทีหลังวางไข่ ในกลุ่ม 50% การ protrude ของ cortical rods เร็วกว่ากลุ่ม 20% เล็กน้อย อย่างไรก็ตามทั้งสองกลุ่ม cortical rods ไม่มีการจางหายไปหลังจากหลุดออกมาจาก cortical crypts แม้ว่าที่เวลา 45 นาทีหลังวางไข่ โดยโคนของ cortical rods เชื่อมติดกันเป็นชั้นอยู่รอบไข่และเกิด hatching envelope ขึ้นบริเวณฐานของชั้น ในกลุ่ม 0% ไม่มีการเกิด egg activation นอกจากนี้พบการเกิด polyspermy และ meiotic arrest ที่ระยะ prophase ในกลุ่ม 20% และ 0% จากการสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและการติดตามด้วย lectin พบพัฒนาการในช่วงแรกของ egg activation ได้ดีขึ้นจากการชะลอพัฒนาการในกลุ่ม 20% ซึ่งไม่สามารถสังเกตได้อย่างละเอียดจากไข่ที่มีพัฒนาการปกติซึ่งใช้เวลารวดเร็วมาก คือพบ jelly layer รอบเซลล์ไข่ที่เกิดจากการละลายตัวของ cortical rods ก่อนที่ cortical rods จะจางหายไปและขอบล่างของ jelly layer มีการพัฒนาไปเป็น template ของ hatching envelope อัตราการผสมติดในกลุ่ม 50%, 20% และ 0% เป็น 0% ในขณะที่ในกลุ่ม 100% เป็น  $83.00 \pm 9.85\%$  เมื่อไข่ถูกไข่ลงใน 0%  $Mg^{2+}$  ASW และเติมอีก 100%  $Mg^{2+}$  ลงไปหลังจากไข่เสร็จซึ่งใช้เวลาประมาณ 3-7 นาที พบว่า การสร้าง hatching envelope สมบูรณ์ที่เวลา 30 นาทีหลังจากเติม  $Mg^{2+}$  และให้อัตราการผสมติด  $5.67 \pm 3.83\%$  แต่ถ้าความเข้มข้นตั้งต้นของ  $Mg^{2+}$  ในน้ำทะเลเป็น 20% แทนที่จะเป็น 0% และหลังจากไข่เสร็จเติม  $Mg^{2+}$  ลงไปอีก 80% เพื่อให้ครบ 100% พบว่าอัตราการผสมติดเพิ่มขึ้นเป็น  $75.90 \pm 13.18\%$  จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า  $Mg^{2+}$  มีบทบาทสำคัญในการเกิด egg activation ในกึ่งกุลาคำ และปริมาณตั้งต้นของ  $Mg^{2+}$  ปริมาณหนึ่งมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของตัวอ่อน และพัฒนาการของตัวอ่อนเกิดขึ้นหลังจากเติม  $Mg^{2+}$  ลงไปให้เท่ากับความเข้มข้นปกติ

Egg activation and embryonic development of many crustacean species require the presence of magnesium ( $Mg^{2+}$ ). The aim of this study was to find out roles of  $Mg^{2+}$  on egg activation of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* and whether the egg activation could be temporarily disrupted in water containing sub-optimal level of  $Mg^{2+}$  and resumed normally when  $Mg^{2+}$  was added to its full-strength. Female *P. monodon* broodstocks were allowed to spawn into artificial seawater (ASW) that contained  $Mg^{2+}$  at full-strength (55 mM or 1,400 ppm or 100%) and at 50%, 20% and 0% of the full-strength. Under light microscopy, egg activation was found to be normal in the 100%, with complete cortical rod protrusion within 45 sec, and hatching envelope formation was complete within 15 min. In the 20% groups, cortical rod protrusion occurred gradually and completely protruded within 2 min post-spawning. In the 50%, cortical rods extrusion was completed within shorter period when compare to that of 20% group. However, in both groups, the cortical rods did not dissolved away as in the 100% group even until 45 min post-spawning. Hatching envelope was formed underneath the patch of cortical rods. In the 0% group, cortical protrusion did not occur. Polyspermy and meiosis arrest at prophase were also observed in the 20% and 0% groups. Under transmission electron microscopy and using lectin as molecular probe, however, the 20% group showed initial progress of egg activation resulting in an incomplete hatching envelope formation. In addition, the protruded cortical rods formed a jelly layer surrounding the egg. Rates of fertilization in the 50%, 20% and 0% groups were zero, whereas in the 100% groups were  $83.00 \pm 9.85\%$ . When the animals spawned into 0%  $Mg^{2+}$  ASW and  $Mg^{2+}$  was added to make 100% after the completion of spawning (3-7 min from the beginning of spawning), complete hatching envelope was formed at 30 min after the addition. The rates of fertilization were  $5.67 \pm 3.83\%$ . If the ASW in the spawning tanks contained 20%  $Mg^{2+}$ , instead of 0%, and  $Mg^{2+}$  was added to make 100% immediately after completion of spawning, complete formation of hatching envelope was also observed. But in this case, rates of fertilization were increased to  $75.90 \pm 13.18\%$ . This study suggests that  $Mg^{2+}$  plays a significant role in egg activation of *P. monodon*, and that a certain level of  $Mg^{2+}$  is required to keep the embryo survive and embryonic development could be resumed following an addition of  $Mg^{2+}$  to its full strength.