EFFECT OF 3', 5' cAMP ON EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN, *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

KETKAEW SUWANNARONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2003

ISBN 974-04-4033-9
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ผลของ 3', 5' cAMP ต่อการเจริญของเอมบริโอกุ้งก้ามกราม
(EFFECT OF 3', 5' cAMP ON EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN, *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*)

เกศแก้ว สุวรรณรงค์ 4137547 SCEB/M

วท.ม. (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ปราณีต ดำรงผล, Ph.D., วันดี พูลสงวน, Ph.D.,

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของ N^6, 2'-O-dibutyryl adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate, leukemia inhibitory factor และ forskolin ต่อการเจริญของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์และการเจริญของเอมบริโอกุ้งก้ามกรามที่เพาะเลี้ยงใน *in vitro* เอมบริโอกุ้งก้ามกรามระยะ 1.5 วันเพาะเลี้ยงร่วมกับสารที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา2-4วัน แล้วจึงประเมินผลจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ต่อเอมบริโอระยะ 3.5 และ 5.5 วัน, ลักษณะของเอมบริโอ, การเจริญของตาในระยะ8.5 วัน, อัตราการรอด, อัตราการฟักในระยะ18.5 วันและลักษณะของลูกกุ้งวัยอ่อนที่เพิ่งฟัก

ผลของการทดลองเห็นชัดว่า dbcAMP ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 mM สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ในเอมบริโอระยะ 5.5 วัน ได้ดีกว่าระยะ 3.5 วัน พบว่าความผิดปกติเกิดขึ้นกับความเจริญของตาเอมบริโอในระยะแรกเพราะความไวต่อdbcAMP ส่วนการเพาะเลี้ยงร่วมกับ LIF ในทุกความเข้มข้นมีผลเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ทั้งระยะอายุ 3.5 และ 5.5 วัน แต่ที่ความเข้มข้นระดับสูงของ LIF กลับลดอัตราเร็วในการเจริญของตาในเอมบริโอ แต่ในทางตรงข้ามการเพิ่มระดับของ cAMP โดยใช้ FRSK นั้นไม่สามารถเพิ่มอัตราการเจริญหรือเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ในเอมบริโอกุ้งทั้งในระยะ 3.5 หรือ 5.5 วัน

จากการวิจัยครั้งนี้พบว่า LIF มีความสำคัญต่อการควบคุมการเจริญของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ ดังนั้นจึงอาจใช้เป็นตัวเสริมในการเพาะเลี้ยงเอมบริโอกุ้งก้ามกรามเพื่อกระตุ้นการเจริญของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์

91 หน้า ISBN 974-04-4033-9

EFFECT OF 3', 5' cAMP ON EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN, *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

KETKAEW SUWANNARONG 4137547 SCEB/M

M.Sc. (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PRANEET DAMRONGPHOL, Ph.D.,
WANDEE POOLSANGUAN, Ph.D.

ABSTRACT

The present study was conducted to examine the effects of N^6, 2'-O- dibutyryl cyclic adenosine monophosphate (0.05, 0.1, or 0.5mM dbcAMP), the leukemia inhibitory factor (10, 20, or 50 ng/ml LIF), and forskolin (5, 10, or 20 μM FRSK) on the number of primordial germ cells (PGCs) and the development of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, embryo cultured *in vitro*. The 1.5-day-old embryos were cultured with various concentrations of chemical supplements for 2 or 4 days. Total number of PGC per embryo on days 3.5 and 5.5, embryo morphology, the eye formation rates on day 8.5, the survival rates, hatching rates on day 18.5 and characteristics of newly hatched larvae were evaluated.

The results clearly demonstrated that 0.1 and 0.5 mM dbcAMP markedly increased PGC number on day 5.5; the effect is more distinct on day 5.5 than on day 3.5. The sensitivity of embryos during the early period of development could be seen in an abnormal eye formation. All concentrations of LIF supplement were able to increase PGC numbers in the early stage of development on both days 3.5 and 5.5. But at the high level of concentration, eye formation was retarded. In contrast, an increase in cAMP level caused by FRSK did not stimulate embryo development or the number of PGC on day 3.5 or day 5.5.

These findings suggest that LIF is an important regulator for PGC development and may possibly be used as supplements for culturing of the giant freshwater prawn embryo in stimulating PGC development.

KEY WORDS : N^6, 2'-O- DIBUTYRYL ADENOSINE 3',5'-CYCLIC MONOPHOSPHATE/ LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR/ FORSKOLIN / PRIMORDIAL GERM CELLS/ PRAWN / *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

91 P. ISBN 974-04-4033-9