

**THE EFFECTS OF PHOTOPERIODISM ON MOLTING  
ACTIVITIES OF *PENAEUS MONODON* JUVENILES**



**WISA NAMWONG**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (ANATOMY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2009**

Copyright by Mahidol University

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

THE EFFECTS OF PHOTOPERIODISM ON MOLTING ACTIVITIES OF  
*PENAEUS MONODON* JUVENILES

WISA NAMWONG 4637672 SCAN/D

Ph.D. (ANATOMY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : BOONSIRM WITHYACHUMNARNKUL,  
M.D., Ph.D., TIMOTHY W. FLEGEL, Ph.D., APINUNT UDOMKIT, Ph.D.,  
SOMLUK ASUVAPONGPATANA, Ph.D., SAENGCHAN SENAPIN, Ph.D.

ABSTRACT

The purpose of this study is to elucidate if changes in normal light/dark cycle or photoperiod affect the molt cycle and growth in juveniles *Penaeus monodon*, and molt-related hormones. *P. monodon* were reared individually under normal (12L:12D)-, long (18L:6D)- and short (6L:18D)-day, with light intensity at ~ 3000 lux. Molt intervals, weight gain, survival rate, profiles of hemolymph ecdysteroids and *MIH-1* transcript in the optic lobe were determined. Anti-rMIH-1 polyclonal antibody was raised in order to localize the MIH-1 immunoreactive cells in the optic lobe by immunohistochemistry.

Results showed no change in the molt intervals and durations of each molt stage in the shrimp exposed to the three photoperiod regimes. There were no differences in percentage of body weight gain or survival rate. The profiles of hemolymph ecdysteroids were similar in all photoperiods: the basal levels were at intermolt, gradually elevated during early premolt, and peaked significantly at the late premolt, before rapidly declining to the basal level at the postmolt stage. In contrast, the *MIH-1* transcript levels were markedly different among the three groups of animals. In normal-day shrimp, the transcripts at postmolt gradually decreased from the postmolt toward the late premolt stages. In the long-day shrimp, the transcript gene was up-regulated at intermolt, whereas no differential levels among the molting stages were observed in the short-day shrimp. The *MIH-1* transcripts at the late premolt stage in the long- and short-day shrimp were up-regulated, compared to that of the normal-day shrimp. The MIH-1 immunoreactivity was observed in the neurosecretory cells of the medulla terminalis and in the sinus gland and other unidentified structures in the eyestalk. In normal-day shrimp, MIH-1 staining intensity was variably high at postmolt and low at late premolt, which corresponded to the pattern of MIH-1 transcript. The MIH-1 immunoreactivity in the neurosecretory cells of the long- and short-day shrimp was variably low and high, respectively; high intensity was observed in the late premolt stage of the short-day shrimp. In the sinus gland, MIH-1 immunoreactivity was similar in all molting stages, and in all groups of animals.

KEY WORDS: PHOTOPERIOD / *Pem-MIH-1* mRNA / ECDYSTEROIDS / MOLT  
STAGE / ANTI-RECOMBINANT MIH-1 ANTIBODY / *PENAEUS  
MONODON*

96 pages

ผลของช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันต่อการลอกคราบของกุ้งกุลาดำวัยรุ่น

THE EFFECTS OF PHOTOPERIODISM ON MOLTING ACTIVITIES OF *PENAEUS MONODON* JUVENILES

วิชา นามวงศ์ 4637672 SCAN/D

ปร.ด. (กายวิภาคศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : บุญเสริม วิทยชานัญกุล, M.D., Ph.D., ทิมโมที วิลเลียม เฟล-เกส, Ph.D., อकिनันท์ อุคมกิจ, Ph.D., สมลักษณ์ อสุวพงษ์พัฒนา, Ph.D., แสงจันทร์ เสนาปิ่น, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการที่จะศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันที่มีต่อวงจรการลอกคราบ การเจริญเติบโตและฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น กุ้งได้ถูกแยกเลี้ยงเดี่ยว ณ ช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันในระยะต่างๆกัน แบ่งออกเป็น ระยะแสงสั้น (6L:18D) ระยะแสงปกติ (12L:12D) และระยะแสงยาว (18L:6D) โดยได้กระทำการวัดระยะวงจรการลอกคราบ ร้อยละการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว อัตราการรอดชีวิต รวมทั้งการวัดระดับฮอร์โมนที่เหนี่ยวนำการลอกคราบในเลือดและวัดระดับการแสดงออกของยีนที่ยับยั้งการลอกคราบจากเนื้อเยื่อประสาทก้านตา รวมทั้งการผลิตแอนติบอดีต่อโปรตีนของฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบเพื่อที่จะดูว่าเซลล์หรือเนื้อเยื่อใดในก้านตาที่มีผลบวกต่อโปรตีนชนิดนี้บ้าง โดยใช้วิธีการย้อมเนื้อเยื่อด้วยอิมมูโนเทคนิค

ผลการทดลองจากการเปรียบเทียบข้อมูลโดยพิจารณาจากความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างสามช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวัน พบว่าไม่มีความแตกต่างของระยะการลอกคราบในแต่ละวงจร อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักและอัตราการรอดชีวิต รวมทั้งระดับของฮอร์โมนที่เหนี่ยวนำการลอกคราบในเลือด แต่เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงความยาวแสงสว่างในรอบวันพบว่าการหลั่งของฮอร์โมนสูงสุดที่ระยะสุดท้ายก่อนการลอกคราบสูงกว่าระยะอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) ในทางตรงกันข้าม ระดับการแสดงออกของยีนที่ยับยั้งการลอกคราบพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ทั้งระหว่างวงจรการลอกคราบ และภายในวงจรการลอกคราบเดียวกัน ณ ช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันระยะแสงปกติพบว่าการแสดงออกของยีนสูงสุดและต่ำสุดในระยะหลังและก่อนการลอกคราบ ตามลำดับและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ณ ช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันระยะแสงยาวพบว่าการแสดงออกของยีนสูงสุดช่วงกลางของการลอกคราบ (intermolt stage) สูงกว่าระยะอื่นๆในวงจรการลอกคราบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของยีน ณ ระยะสุดท้ายก่อนการลอกคราบ (late premolt stage) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงความยาวของแสงสว่างทั้งระยะแสงสั้นและระยะแสงยาว เปรียบเทียบกับระยะแสงปกติ ( $P < 0.001$ ) สำหรับผลการย้อมเนื้อเยื่อในก้านตาด้วยแอนติบอดีของฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบพบว่ามีผลบวกที่ต่อมไซนัส (sinus gland) ต่อมเอ็กออร์แกน (X-organ) ต่อมบางชนิดที่ยังจำแนกไม่ได้และเซลล์ขนาดเล็ก ผลบวกในต่อมเอ็กออร์แกน ณ ช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันระยะแสงปกติพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณการแสดงออกของยีน กล่าวคือเพิ่มขึ้นมากในระยะหลังการลอกคราบและเจือจางลง ณ ระยะสุดท้ายก่อนการลอกคราบ ผลบวก ณ ช่วงความยาวของแสงสว่างในรอบวันระยะแสงสั้นและแสงยาว มีความเข้มข้นมากและน้อยลงตามลำดับ สำหรับผลบวกในต่อมไซนัสพบว่ามีความเข้มข้นสูงและไม่แตกต่างกันมากนักในกุ้งแต่ละตัว