ว.วิทย. มข. 41(2) 281-297 (2556) KKU Sci. J. 41(2) 281-297 (2013)

ไวเทลโลเจเนซีส: กระบวนการสร้างไข่แดงของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Vitellogenesis: Yolk Synthesis Process in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ[1]

บทคัดย่อ

ในสัตว์กลุ่มกุ้งปูรวมทั้งกุ้งกุลาดำ กระบวนการไวเทลโลเจเนซีส (vitellogenesis) คือ กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนไข่แดง แล้วเปลี่ยนเป็นโมเลกุลขนาดเล็กเพื่อเข้าสู่เซลล์ไข่ที่กำลังพัฒนา ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่สำคัญของการสืบพันธุ์ในสัตว์กลุ่มนี้ ความเข้าใจในกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสที่ถูกต้อง เป็นสิ่งที่จำเป็นในการกำหนดมาตรการควบคุมการผลิตลูกพันธุ์กุ้งในเชิงพาณิชย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกุ้งทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เมื่อมีการพัฒนาเทคโนโลยีทางด้านชีววิทยาโมเลกุลและภูมิคุ้มกัน ส่งผลให้มีการปรับปรุงการศึกษาและมีความเข้าใจกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสของครัสเตเชียน ในแง่ของกลไกและการควบคุมการผลิตโปรตีนไข่แดงมากยิ่งขึ้น บทความนี้ เป็นการรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษากลไกของการผลิตไวเทลโลเจนินและโปรตีนไวเทลลินของกุ้งกุลาดำและกุ้งพีเนียสชนิดอื่น ๆ ในปัจจุบัน ในแง่มุมที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ รวมถึงฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการผลิตไวเทลโลเจนิน และบทบาทของโปรตีนไวเทลลินในระหว่างการพัฒนาไข่ของกุ้งเพศเมีย

[1]คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22170

E-mail: rachanimuk@buu.ac.th

ABSTRACT

In decapod crustaceans including the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), the process of vitellogenesis, which yolk proteins are synthesized, transformed into smaller molecules, and taken into maturing oocytes, is a central feature of reproduction. An understanding of the vitellogenesis in the important aquatic species may leads to sustainable seed production control in the commercial scale. The recent advances in molecular biology and immunological techniques result in the update knowledge of vitellogenesis in decapod crustaceans. This article covers the current status of research on vitellogenin in *Penaeus monodon* and other decapod crustaceans, especially prawns and shrimp. The article will also review the mechanisms of vitellogenin synthetic controlled by endocrine regulator. Finally, the related aspects of oocytes development in female shrimp during vitellogenesis will be discussed.

คำสำคัญ: กุ้งกุลาดำ กระบวนการไวเทลโลเจเนซีส การพัฒนาไข่

Keywords: *Penaeus monodon*, Vitellogenesis, Oocytes maturation

บทนำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยชนิดหนึ่ง (Rosenberry, 2001) ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยกำลังประสบปัญหาด้านการผลิตลูกกุ้งที่มีคุณภาพ ปัจจัยสำคัญประการหนึ่งคือการไม่เจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในโรงเรือน การสร้างโปรแกรมการคัดพันธุ์กุ้งกุลาดำจึงไม่ประสบความสำเร็จ ส่งผลให้เกษตรกรไม่สามารถผลิตลูกกุ้งที่มีคุณภาพจากพ่อแม่พันธุ์ที่มาจากโรงเรือนได้ (Kenway et al., 2006; Wongprasert et al., 2006) ความเข้าใจในกลไกการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำ มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ยั่งยืน (Preechaphol et al., 2007) อย่างไรก็ตาม การศึกษากลไกการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของครัสเตเชียนยังมีความล่าช้ากว่าการศึกษาในปลา เนื่องจากปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังจึงมีรูปแบบการเจริญพันธุ์ที่คล้ายมนุษย์ ส่งผลให้มีการพัฒนาเทคโนโลยีที่ช่วยควบคุมการสืบพันธุ์ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงกุ้ง (Wilder et al., 2010) ในช่วง 15 ปีที่ผ่านมาเมื่อมีความพร้อมของเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพมากขึ้น ส่งผลให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้างและกระบวนการสร้างโปรตีนไข่แดงหรือกระบวนการไวเทลโลเจเนซีส โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแง่ของการควบคุมกระบวนการพัฒนารังไข่และการลอกคราบในครัสเตเชียน ไวเทลโลเจเนซีสเป็นกระบวนการที่มักเกิดขึ้นในสัตว์ที่ออกลูกเป็นไข่ (oviparous) ซึ่งมีความแตกต่างกันมากแม้ว่าจะอยู่ในไฟลัมเดียวกัน เช่น กุ้งและบรรดาแมลงต่าง ๆ (Meusy and Payen, 1988; Okuno et al., 2000; Tseng et al., 2001)

กระบวนการไวเทลโลเจเนซีสเริ่มจากการผลิตโปรตีนตั้งต้น (ไวเทลโลเจนิน) ของโปรตีนไข่แดง ในเนื้อเยื่อที่เฉพาะเจาะจง แล้วผ่านการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกลายเป็นโมเลกุลที่เล็กลงและมีการสะสมในภายหลัง เพื่อใช้ในการพัฒนาเซลล์ไข่ในรูปของโปรตีนไวเทลลิน (Meusy and Payen, 1988; Okuno et al., 2002) โดยเป็นแหล่งของสารอาหารในระหว่างการพัฒนาของเอมบริโอ (embryogenesis) นอกจากการมีบทบาทในแง่โภชนาการสำหรับการสืบพันธุ์และการพัฒนาของเอมบริโอแล้ว โปรตีนไวเทลโลเจนิน ยังมีส่วนเกี่ยวข้องในการนำแร่ธาตุ ไขมัน และสารอื่น ๆ เข้าไปในเซลล์ไข่ที่กำลังมีการพัฒนาอีกด้วย (Wilder et al., 2010)

รูปแบบการพัฒนารังไข่ของกุ้งกุลาดำ

วงจรการสืบพันธุ์ของกุ้ง เริ่มต้นจากขั้นตอนการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์ (primordial germ cells) จนถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์เพื่อให้การสะสมโปรตีนไข่แดงเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ซึ่งการศึกษากระบวนการควบคุมให้การเจริญพันธุ์เป็นไปอย่างถูกต้องนั้น ต้องมีความเข้าใจเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะเซลล์ต้นกำเนิด (germ cells) และการจัดเรียงของเซลล์โอโอโกเนีย (oogonial cells) ในรังไข่ มีการเปลี่ยนแปลงของส่วนต่าง ๆ ทั้งบริเวณนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมภายในเซลล์ โดยเริ่มจากเซลล์โอโอโกเนียที่พัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์นั้นมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไข่ (oocytes) จนเริ่มมีการสะสมไข่แดงเพียงพอสำหรับการพัฒนาของตัวอ่อน เรียกว่า กระบวนการไวเทลโลเจเนซีส (vitellogenesis) (Diwan et al., 2009)

กระบวนการไวเทลโลเจเนซีสของกุ้งกุลาดำแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วงหลัก ๆ คือ ช่วงก่อนสะสมโปรตีนไข่แดง ช่วงสะสมโปรตีนไข่แดง และช่วงผลิตคอร์ติคอลรอด โดยจำแนกได้เป็น 6 ขั้นตอนตามลักษณะของเซลล์ไข่ที่แตกต่างกัน คือ ระยะไข่อ่อน (immature stage) ระยะพรีไวเทลโลเจนิก (previtellogenic stage หรือรังไข่ระยะที่ 1) ระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้น (early vitellogenic stage หรือรังไข่ระยะที่ 2) ระยะไวเทลโลเจนิกตอนปลาย (late vitellogenic stage หรือรังไข่ระยะที่ 3) ระยะไข่สุกหรือตั้งครรภ์ (mature stage หรือรังไข่ระยะที่ 4) และระยะหลังวางไข่ (post spawning stage หรือรังไข่ระยะที่ 5) (Diwan et al., 2009) (รูปที่ 1)

1) ช่วงก่อนสะสมโปรตีนไข่แดง พบบริเวณที่มีการเริ่มต้นการพัฒนาเซลล์โอโอโกเนีย และขยายเป็นบริเวณกว้างออกจากบริเวณที่ผลิตเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์ เพื่อเข้าสู่ระยะพรีไวเทลโลเจนิก พบเซลล์ไข่ที่ย้อมติดสีน้ำเงินม่วงของฮีมาท๊อกซิลิน (basophilic) โดยรังไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิกในช่วงต้นไม่พบชั้นของฟอลลิเคิลเซลล์ (follicle cells) มาล้อมรอบผนังด้านนอกของเซลล์ไข่ ส่วนช่วงปลายของระยะพรีไวเทลโลเจนิกนั้นเริ่มพบชั้นของฟอลลิเคิลเซลล์มาล้อมรอบผนังด้านนอกของเซลล์ไข่แต่ละเซลล์ โดยฟอลลิเคิลเซลล์ที่พบในระยะนี้สามารถเห็นนิวเคลียสได้อย่างชัดเจน (Diwan et al., 2009) (รูปที่ 1A-D)

2) ช่วงสะสมโปรตีนไข่แดง ในระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้น พบว่าขนาดของเซลล์ไข่เพิ่มเป็น 2 เท่า ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณไซโทพลาสซึมอย่างรวดเร็วนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์ไข่อยู่ในระหว่างขั้นตอนการพัฒนาและเริ่มต้นสะสมโปรตีนไข่แดง ลักษณะของไซโทพลาสซึมมีการเปลี่ยนแปลง โดยพบลักษณะของเม็ดกรานูลเล็ก ๆ เนื่องจากเริ่มมีการสะสมของเม็ดน้ำมัน (oil globules) ในไซโทพลาสซึมซึ่งเป็น

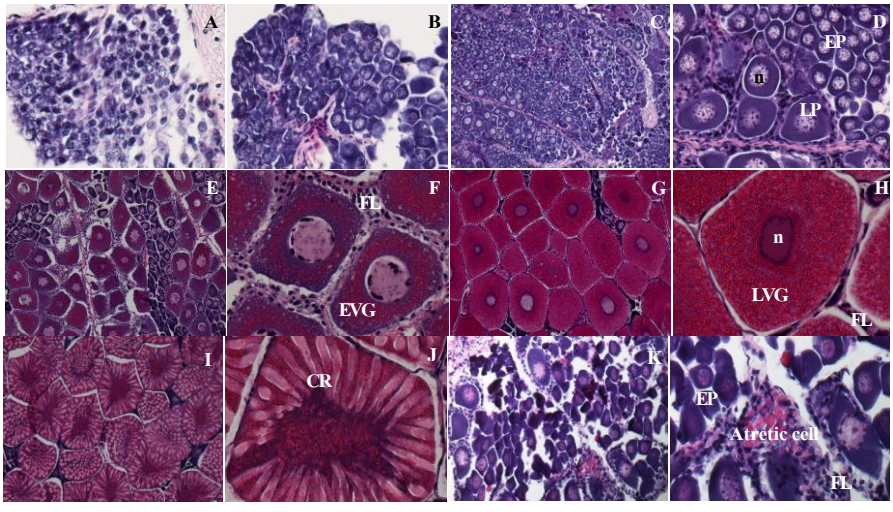
คุณลักษณะของการพัฒนารังไข่ในระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้น ในระหว่างการพัฒนารังไข่ระยะนี้ พบแนวการเรียงตัวของฟอลลิเคิลเซลล์รอบ ๆ เซลล์ไข่แต่ละฟอง และเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของขนาดเซลล์ไข่อย่างรวดเร็ว ทำให้ฟอลลิเคิลเซลล์มีแนวการเรียงตัวของเซลล์เป็นแนวเดียวและทำให้มีความหนาของชั้นเซลล์ลดลง เมื่อเข้าสู่ระยะไวเทลโลเจนิกตอนปลายพบการจัดเรียงของเซลล์ไข่ที่มีการพัฒนาที่ดีแล้วแบบชิดติดกันแน่น โดยภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ไข่เต็มไปด้วยเม็ดกรานูลไข่แดงที่ย้อมติดสีแดงของอิโอซิน (acidophilic) เนื่องจากขนาดของเซลล์ไข่ที่มีการเพิ่มขึ้น ทำให้การเรียงตัวของฟอลลิเคิลเซลล์มีลักษณะยืดแบนทอดยาวรอบเซลล์ไข่ และมีความบางของชั้นฟอลลิเคิลเซลล์เพิ่มมากขึ้น (Diwan et al., 2009) (รูปที่ 1E-H)

3) ช่วงผลิตคอร์ติคอลรอด ในเซลล์ไข่ระยะไข่สุกพบการพัฒนาโครงสร้างของคอร์ติคอลรอด (cortical rods) ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ไข่ (Khayat et al., 2001; Diwan et al., 2009) โดยคิดเป็นประมาณ 10% ของปริมาตรเซลล์ไข่ทั้งหมด (Yamano et al., 2004) ในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) พบว่าคอร์ติคอลรอดมีองค์ประกอบของโปรตีนคิดเป็นประมาณ 11% ของปริมาณโปรตีนในเซลล์ไข่ทั้งหมด (Rankin and Davis, 1990)

โปรตีนในคอร์ติคอลรอดถูกใช้ในการสร้างชั้นวุ้นรอบไข่ภายหลังจากที่กุ้งมีการวางไข่แล้ว โดยชั้นวุ้นนี้จะห่อหุ้มไข่ไว้จนกว่าเซลล์ไข่มีการสร้างเปลือก (Kruevaisayawan et al., 2010; Khayat et al., 2001) เชื่อว่าการสร้างชั้นวุ้นรอบไข่มีส่วนช่วยในการป้องกันเซลล์ไข่ต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกเพื่อให้ไข่มีการพัฒนาอย่างปกติ และเป็นการป้องกันการผสมด้วยสเปิร์มหลายตัว (polyspermy) (Clark Jr et al., 1980) ดังนั้น คอร์ติคอลรอดจึงถือว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งในช่วงการเริ่มพัฒนาและแบ่งเซลล์ของเอมบริโอกุ้ง (Yamano et al., 2004)

ระยะแรกของการพัฒนาเซลล์ไข่ระยะไข่สุกพบการเรียงตัวของฟอลลิเคิลเซลล์ทอดยาวรอบเซลล์ไข่เป็นชั้นบางมาก และฟอลลิเคิลเซลล์จะหายไปจากรอบเซลล์ไข่เมื่อถึงช่วงปลายของการพัฒนาเซลล์ไข่ระยะนี้ โดยการพัฒนาเซลล์ไข่ในระยะไข่สุกจะสิ้นสุดเมื่อเกิดการสลายตัวของเยื่อหุ้มนิวเคลียส (germinal vesicle breakdown; GVBD) และภายหลังจากขั้นตอนนี้ กุ้งจะมีการวางไข่ทันที (Diwan et al., 2009) (รูปที่ 1I และ 1J) ในกุ้งกุลาดำพบว่า กระบวนการปฏิสนธิระหว่างไข่กับสเปิร์มเกิดขึ้นภายใน 1 นาทีภายหลังจากที่มีการวางไข่ (Pongtippatee-Taweepreda et al., 2004) ซึ่งถือว่าเร็วมากเมื่อเทียบกับกุ้ง *Penaeus aztecus* ซึ่งใช้เวลาประมาณ 20-40 นาที ภายหลังจากที่มีการวางไข่ (Clark Jr et al., 1980)

เซลล์ไข่ในรังไข่ระยะหลังวางไข่ส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ไข่ในระยะพรีไวเทลโลเจนิก บางครั้งพบเซลล์ไข่ที่กำลังพัฒนา และอาจพบเซลล์โอโอโกเนียปฐมภูมิที่มีความผิดปกติ ซึ่งมีลักษณะไม่สมบูรณ์ (resorbing oocytes) และเซลล์ไข่ฝ่อ (atretic oocytes) แทรกอยู่ตามช่องว่างระหว่างฟอลลิเคิลเซลล์ที่รวมตัวเป็นชั้นหนา (Diwan et al., 2009) (รูปที่ 1K และ 1L)



รูปที่ 1 การศึกษาการพัฒนารังไข่ระยะต่าง ๆ ของกุ้งกุลาดำด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscopy) โดยย้อมสีด้วยฮีมาท๊อกซิลินและอีโอซิน; A และ B) พื้นที่เริ่มต้นของการพัฒนาเซลล์โอโอโกเนีย และเซลล์โอโอโกเนียของไข่ระยะอ่อน; C และ D) ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิก; E และ F) ไข่ระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้น; G และ H) ไข่ระยะไวเทลโลเจนิกตอนปลาย; I และ J) ระยะไข่สุก; K และ L) ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิกหลังวางไข่; EP = early previtellogenic oocyte, LP = late previtellogenic oocyte, EVG = early vitellogenic oocyte, LVG = late vitellogenic oocyte, CR = cortical granules, GVBD = germinal vesical breakdown, n = nucleus, FL = follicular layers (ที่มา: ผู้เขียน)

กระบวนการไวเทลโลเจเนซีสและอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโปรตีนไข่แดง

กระบวนการไวเทลโลเจเนซีส เกี่ยวข้องกับการผลิตโปรตีนไข่แดงและกระบวนการพัฒนาเซลล์ไข่ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในขั้นตอนการสืบพันธุ์ของสัตว์ที่ออกลูกเป็นไข่ (oviparous animals) (Tseng et al., 2001) โปรตีนตั้งต้นที่ทำหน้าที่ในการผลิตโปรตีนไวเทลลินหรือโปรตีนไข่แดง เรียกว่า โปรตีนไวเทลโลเจนิน (vitellogenin) และภายหลังสิ้นสุดกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสจะได้โปรตีนไวเทลลิน (vitellin) หรือโปรตีนไข่แดง ซึ่งเป็นโปรตีนที่จำเป็นต่อการพัฒนาเซลล์ไข่และตัวอ่อน (Tiu et al., 2008) อวัยวะที่มีรายงานว่าเป็นบริเวณที่มีการผลิตไวเทลโลเจนินในกุ้งพีเนียส คือ รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส หรือตับและตับอ่อน (hepatopancreas) มีรายงานในกุ้งหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

จากการศึกษาตำแหน่งของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกุ้งกุลาดำ ด้วยวิธี *in situ* hybridization พบว่ายีนไวเทลโลเจนินถูกผลิตบริเวณไซโทพลาสซึมของฟอลลิเคิลเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิก (Hiransuchalert et al., 2011) เช่นเดียวกับที่มีรายงานในกุ้งคุรุม่า (*Marsupenaeus japonicus*) (Tsutsui et al., 2000) ส่วนบริเวณเฮพาโตแพนเครียสนั้น ยีนไวเทลโลเจนินถูกผลิตที่บริเวณ parenchyma cells ของกุ้งที่มีการพัฒนารังไข่ในระยะไวเทลโลเจนิก (Tsutsui et al., 2000) โดยไม่พบการผลิตยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่และเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งที่มีการพัฒนารังไข่ในระยะพรีไวเทลโลเจนิก

(Hiransuchalert et al., 2011; Tsutsui et al., 2000; Tiu et al., 2006)

นอกจากนี้ มีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตไวเทลโลเจนิน ในรังไข่และเฮพาโตแพนเครียส ของกุ้งพีเนียสหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในเดคาพอดครัสเตเชียนหลายชนิดโดยใช้โปรแกรม PHYLIP (Felsenstein, 1989) ทำให้ทราบว่ายีนที่ผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในกุ้งพีเนียสมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มกุ้งปูชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในรูปที่ 2 (Wilder et al., 2010)

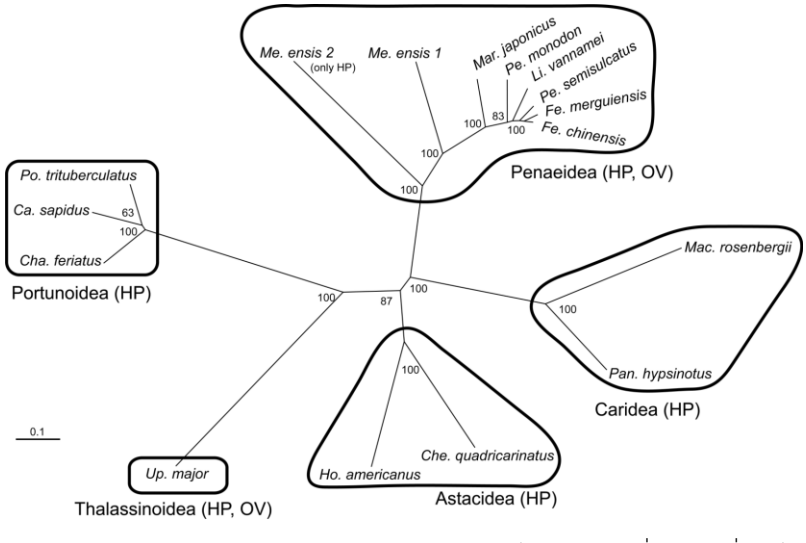
จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนินด้วยวิธี Northern hybridization และ RT-PCR พบการแสดงออกของยีนทั้งในรังไข่และเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำ (Tiu et al., 2006) กุ้งกุลาลาย (Avarre et al., 2003) กุ้งขาว (Raviv et al., 2006) กุ้งคุรุม่า (Tsutsui et al., 2000) กุ้งแชบ๊วย (Phiriyangkul et al., 2007) และกุ้งขาวจีน (*Fenneropenaeus chinensis*) (Xie et al., 2009) เป็นการยืนยันว่ารังไข่และเฮพาโตแพนเครียสเป็นตำแหน่งที่มีการผลิตยีนไวเทลโลเจนินในสัตว์กลุ่มกุ้งปู อย่างไรก็ตาม ในกุ้งตะกาดพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนินมี 2 ตำแหน่ง คือ *MeVg1* และ *MeVg2* (Tsang et al., 2003) ซึ่งคาดว่ายีน *MeVg2* มีการวิวัฒนาการมาจากยีน *MeVg1* (Kung et al., 2004) ส่งผลให้รูปแบบของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนินบริเวณเฮพาโตแพนเครียสและรังไข่มี 2 ลักษณะ โดยการแสดงออกของยีน *MeVg1* พบในรังไข่และเฮพาโต-แพนเครียส ส่วน *MeVg2* มีการแสดงออกในเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งเพียงอวัยวะเดียวเท่านั้น โดยผู้วิจัยสรุปว่า ไวเทลโลเจนินที่ใช้เป็นโปรตีนตั้งต้นในการผลิตโปรตีนไวเทลลินในรังไข่ของกุ้งตะกาดถูกผลิตมาจากทั้งรังไข่และเฮพาโตแพนเครียส (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 บริเวณที่มีการผลิตยีนไวเทลโลเจนินในกุ้งทะเลและกุ้งน้ำจืด

ชนิด		บริเวณ	เอกสารอ้างอิง
กุ้งทะเล			
กุ้งกุลาดำ	*Penaeus monodon*	รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส	Thurn and Hall, 1999; Tiu et al., 2008; Tseng et al., 2001
		รังไข่	Hiransuchalert et al., 2011
กุ้งกุลาลาย	*Penaeus semisulcatus*	รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส	Browdy et al., 1990; Shafir et al., 1992; Khayat et al., 1994; Avarre et al., 2003
กุ้งขาว	*Litopenaeus vannamei*	รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส	Quackenbush, 1992
กุ้งแชบ๊วย	*Fenneropenaeus merguiensis*	รังไข่	Auttarat et al., 2006
กุ้งตะกาด	*Metapenaeus ensis*	Vg1: รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส Vg2: เฮพาโตแพนเครียส	Tsang et al., 2003
กุ้งคุรุม่า	*Marsupenaeus japonicus*	รังไข่	Yano and Chinzei, 1987
		รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส	Tsutsui et al., 2000; Okumura et al., 2007
กุ้งน้ำจืด			
กุ้งก้ามกราม	*Macrobrachium rosenbergii*	เฮพาโตแพนเครียส	Okuno et al., 2002

ตารางที่ 2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์และรหัส (accession number) ของยีนไวเทลโลเจนินในกุ้งทะเลและกุ้งน้ำจืดที่มีการรายงานในฐานข้อมูลห้องสมุดยีน

ชนิด		ขนาด (คู่เบส)	รหัสในห้องสมุดยีน	บริเวณ	เอกสารอ้างอิง
กุ้งทะเล					
กุ้งกุลาดำ	*Penaeus monodon*	7752	DQ288843	รังไข่และเฮพาโตแพนเครียส	Tiu et al. (2006)
กุ้งแชบ๊วย	*Fenneropenaeus merguiensis*	7961	AY499620	รังไข่	Phiriyangkul and Utarabhand (2006)
กุ้งขาว	*Litopenaeus vannamei*	7970	AY321153	รังไข่	Parnes et al. (2004)
กุ้งครุ่มา	*Marsupenaeus japonicus*	7931	AB176641	เฮพาโตแพนเครียส	Tsutsui et al. (2005)
		7970	AB033719	รังไข่	Tsutsui et al. (2000)
กุ้งตะกาด	*Metapenaeus ensis*	7898	AY530205	เฮพาโตแพนเครียส	Kung et al. (2004)
		8012	AF548364	รังไข่	Tsang et al. (2003)
กุ้งกุลาลาย	*Penaeus semisulcatus*	7920	AY051318	รังไข่	Avarre et al. (2003)
		2068 (บางส่วน)	AY137466	เฮพาโตแพนเครียส	Avarre et al.(2003)
กุ้งน้ำจืด					
กุ้งก้ามกราม	*Macrobrachium rosenbergii*	7782	AB056458	เฮพาโตแพนเครียส	Yang et al. (2000)



รูปที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตไวเทลโลเจนินในสัตว์กลุ่มกุ้งปูที่มีการระบุในห้องสมุดยีน โดย *Callinectes sapidus*, DQ314748; *Charybdis feriatus*, AY724676; *Cherax quadricarinatus*, AF306784; *Fenneropenaeus chinensis*, DQ354690; *Fenneropenaeus merguiensis*, AY499620; *Homarus americanus*, EF422415; *Litopenaeus vannamei*, AY321153; *Macrobrachium rosenbergii*, AB056458; *Marsupenaeus japonicus*, AB033719; *Metapenaeus ensis* 1 (*MeVg1*), AF548364; *Metapenaeus ensis* 2 (*MeVg2*), AY530205; *Pandalus hypsinotus*, AB117524; *Penaeus monodon*, DQ288843; *Penaeus semisulcatus*, AY051318; *Portunus trituberculatus*, DQ000638; และ *Upogebia major*, AB365125; HP, เฮพาโตแพนเครียส; OV, รังไข่ (ที่มา: Wilder et al., 2010)

การควบคุมกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสโดยฮอร์โมนในต่อมไร้ท่อ

การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์และกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสในกุ้งพีเนียส ถูกควบคุมโดยกลไกการผลิตฮอร์โมนในกลุ่ม ecdysteroid (X-organ/sinus gland complex; XO-SG) ที่หลั่งมาจากเซลล์ประสาทที่บริเวณก้านตากุ้ง (รูปที่ 3) (De Kleijn et al., 1992; De Kleijn and Van Herp, 1995; Krungkasem et al., 2002; Yodmuang et al., 2004) ฮอร์โมนกลุ่มนี้ประกอบด้วยฮอร์โมนที่ควบคุมการลอกคราบ ควบคุมระดับน้ำตาล และการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ คือ molt-inhibiting hormone (MIH), mandibular organ-inhibiting hormone (MOIH) และ vitellogenesis /gonad-inhibiting hormone (VIH/GIH) ซึ่งฮอร์โมน VIH/GIH ทำหน้าที่ยับยั้งการพัฒนารังไข่ โดยป้องกันไม่ให้มีการผลิตไวเทลโลเจนินจากเฮพาโตแพนเครียส (Udomkit et al., 2000; Udomkit et al., 2004; Treerattrakool et al., 2008) ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีลักษณะโครงสร้างที่มีความคล้ายคลึงกัน การเรียงตัวของลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายคลึงกัน และตำแหน่งของกรดอะมิโนซิสเตอีน (cysteine) 6 ตำแหน่งที่อยู่บริเวณเดียวกัน ทำให้การจำแนกฮอร์โมนแต่ละชนิดในกลุ่มนี้เป็นเรื่องยาก (Chan et al., 2003)

ฮอร์โมน MIH, GIH/VIH และ MOIH สามารถยับยั้งได้โดยการทำลายก้านตา ซึ่งมีผลให้ทำไม่สามารถถูกส่งไปยังอวัยวะเป้าหมาย เช่น รังไข่ เฮพาโตแพนเครียส และ mandibular organ ได้ ส่วนเซลล์ประสาทส่วนกลางและเซลล์ประสาทส่วนอก มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นและ/หรือยับยั้งกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และสารสื่อประสาท เช่น serotonin (5-HT) และออกโตพามีน (octopamine) โดยมีผลยับยั้งการทำงานของ mandibular organ (Laufer et al., 1991) ในปัจจุบัน เกษตรกรที่เลี้ยงกุ้งกระตุ้นให้แม่พันธุ์กุ้งมีการวางไข่ได้หลายครั้งโดยการตัดก้านตาของกุ้ง (Okumura et al., 2006) ซึ่งเป็นการทำลายบริเวณที่มีการผลิตฮอร์โมน ทำให้มีการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินเป็นโปรตีนตั้งต้น เพื่อสะสมเป็นโปรตีนไข่แดงสำหรับการพัฒนาเซลล์ไข่ให้สมบูรณ์

Treerattrakool et al. (2008) ศึกษาการยับยั้งการทำงานของยีน *Pem-GIH* ในกุ้งกุลาดำ โดยใช้เทคนิค double stranded RNA (dsRNA) พบว่า GIH-dsRNA ส่งผลให้ระดับการแสดงออกของยีน *Pem-GIH* ในกลุ่มเซลล์ประสาทบริเวณก้านตา (eyestalk ganglia) และแนวเส้นประสาทตรงส่วนท้อง (abdominal nerve cord) ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำลดลง แต่ระดับการแสดงออกของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนินในรังไข่มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อยีน *Pem-GIH* ถูกยับยั้งการทำงานด้วย GIH-dsRNA แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนที่หลั่งมาจากต่อมไร้ท่อ (X-organ/sinus gland complex; XO-SG) ที่บริเวณก้านตากุ้งมีความสำคัญในการควบคุมกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสในกุ้งกุลาดำ

นอกจากนี้ พบว่าในครัสเตเชียนชนิดอื่น เช่น กุ้งเครฟิชน้ำจืด (*Procambarus clarkii*) มีฮอร์โมนที่ช่วยกระตุ้นกระบวนการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์และผลิตไวเทลโลเจนิน คือ gonad/vitellogenesis-stimulating hormone (GSH/VSH) (Sarojini et al., 1995) ซึ่งถูกสร้างจากระบบประสาทส่วนกลางและเซลล์ประสาทส่วนอก (เรณู และ พิษณุ, 2540) และสารสื่อประสาท (Sarojini et al., 1995) อย่างไรก็ตามในกุ้งกุลาดำยังไม่มีรายงานว่าพบลำดับกรดอะมิโนของฮอร์โมนดังกล่าว

ขั้นตอนการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินเข้าสู่รังไข่ของกุ้ง

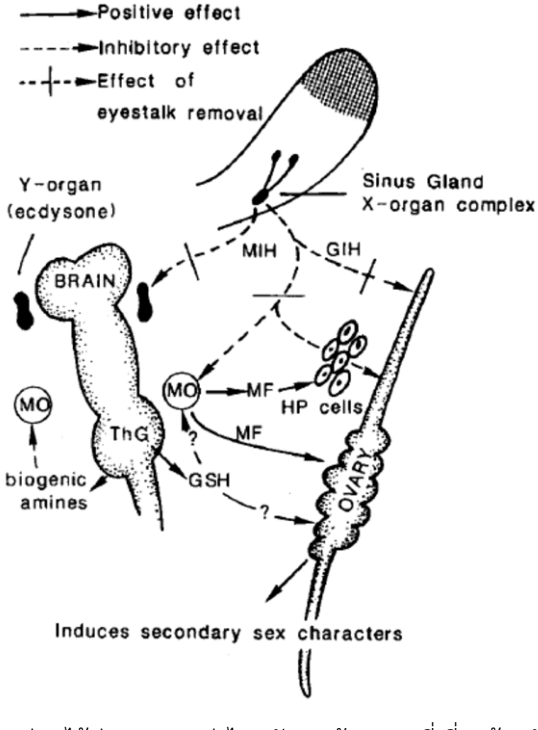
จากการศึกษาขั้นตอนของกระบวนการไวเทลโลเจเนซีส และบริเวณที่มีการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินและโปรตีนไวเทลลินในกุ้งพบว่า โดยทั่วไปโปรตีนไวเทลโลเจนินต้องผ่านขั้นตอนการตกแต่งโปรตีน (post-translational modification) แบบ Proteolytic cleavage โดยโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นมาถูกตัดบางส่วนของโมเลกุลออกไปเพื่อให้โปรตีนทำงานได้ ซึ่งเป็นกลไกการทำงานพื้นฐานในกุ้งหลายสายพันธุ์ ในช่วงแรกของการศึกษาองค์ประกอบย่อยและน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนไวเทลโลเจนินในกุ้งพบว่า โดยทั่วไปโปรตีนไวเทลโลเจนินประกอบด้วยหน่วยย่อยจำนวน 2-4 หน่วย (Chang et al., 1994) โดย Chang et al. (1994) รายงานว่าไวเทลโลเจนินของกุ้งกุลาดำ มีน้ำหนักโมเลกุล 263 กิโลดาลตัน และภายหลังจากที่เคลื่อนที่ผ่านทางเลือดเข้าไปในเซลล์ไข่ จะแยกออกเป็นหน่วยย่อยของโปรตีนไวเทลลิน 2 หน่วยที่มีขนาด 82 และ 170 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Longyant et al. (2000)

นอกจากนี้ จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า ขั้นตอนการตกแต่งโปรตีนไวเทลโลเจนินของกุ้งเกิดขึ้นที่เซลล์เฮพาโตแพนเครียส ผ่านทางเลือด แล้วจึงส่งไปยังอวัยวะเป้าหมายคือรังไข่ (Tiu et al., 2008; Wilder et al., 2010) ซึ่งรูปแบบการสังเคราะห์โปรตีนไวเทลโลเจนินเพื่อผลิตโปรตีนไวเทลลินลักษณะนี้มีการสรุปไว้จากการศึกษาในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) (Okuno et al., 2002) (รูปที่ 4) โดยการตรวจสอบองค์ประกอบของหน่วยย่อยของโปรตีนไวเทลโลเจนินในเลือดและโปรตีนไวเทลลินในรังไข่ของกุ้งก้ามกรามด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ Western blotting หลังจากที่โปรตีนไวเทลโลเจนินถูกสังเคราะห์เป็นโปรตีนตั้งต้นของโปรตีนไวเทลลินจะเริ่มมีการแยกส่วนบริเวณ RXRR consensus cleavage site ที่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 707-710 โดยเอนไซม์ subtilisin-like endoprotease ทำให้เกิดหน่วยย่อยจำนวน 2 หน่วย คือหน่วยย่อย A และ pro-B ภายในเฮพาโตแพนเครียส หลังจากหลั่งออกมาจากเฮพาโตแพนเครียสเข้าสู่เลือด หน่วยย่อย Pro-B จะถูกตัดด้วยเอ็นไซม์อีกครั้งก่อให้เกิดหน่วยย่อย B และ C/D หลังจากนั้น หน่วยย่อยของโปรตีนไวเทลโลเจนินทั้งหมดจากเลือดเคลื่อนที่เข้าสู่รังไข่เพื่อใช้เป็นโปรตีนไวเทลลินในรูปแบบ VnA VnB และ VnC/D ต่อไป ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรตีนไวเทลโลเจนินมีการแบ่งเป็นหน่วยย่อยก่อน แล้วจึงสามารถทำงานในลักษณะของโปรตีนไวเทลลินได้ (Okuno et al., 2002) นอกจากนี้ ลำดับกรดอะมิโนด้าน N-terminal ของโปรตีนไวเทลโลเจนินและโปรตีนไวเทลลินที่ปรากฏอยู่ในเลือดและรังไข่ตามลำดับ ยังเป็นข้อมูลยืนยันกระบวนการตกแต่งโปรตีนไวเทลลินในกุ้งน้ำจืดชนิดนี้ได้เป็นอย่างดี

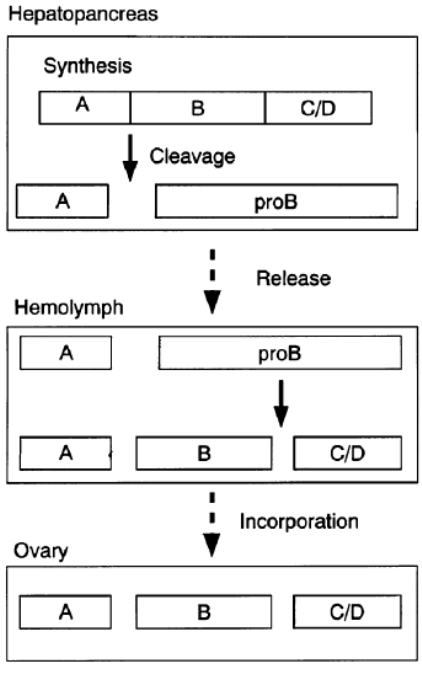
โปรตีนที่ทำหน้าที่รับโปรตีนไวเทลโลเจนินจากเลือดเข้าสู่เซลล์ไข่คือโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนิน (vitellogenin receptor) ซึ่งถือเป็นการสิ้นสุดกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสเพื่อใช้ในการพัฒนาเซลล์ไข่ มีรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับไวเทลโลเจนิน เป็นครั้งแรกในกุ้งกุลาดำ (Tiu et al., 2008) โดยพบการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนินที่ระดับต่ำในรังไข่ระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้นและสูงขึ้นเมื่อรังไข่ของแม่กุ้งมีค่าดัชนีรังไข่เป็น 3–4% ทำให้สามารถสันนิษฐานได้ว่าเป็นช่วงที่รังไข่มีความต้องการการส่งผ่านโปรตีนไวเทลโลเจนินจากเฮพาโตแพนเครียสผ่านเลือดเข้าไปในเซลล์ไข่ของกุ้งกุลาดำโดยอาศัยตัวรับดังกล่าว ซึ่งจากการศึกษา

ตำแหน่งของโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนินด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี (immunohistochemistry) พบว่ามีการแสดงออกอย่างชัดเจนบริเวณผนังเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิก แสดงให้เห็นว่ากลไกการรับโปรตีนไวเทลโลเจนินที่ผ่านการทำให้เป็นโมเลกุลเล็กลงแล้วเข้าสู่เซลล์ไข่ของกุ้งกุลาดำนั้น มีโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนินเป็นตัวนำเข้าสู่เซลล์ (Tiu et al., 2008)

นอกจากนี้ Mekuchi et al. (2008) รายงานตำแหน่งของตัวรับไลโพโปรตีนความหนาแน่นที่ต่ำ (LDL receptor) ในกุ้งคุรุม่า ซึ่งตัวรับชนิดนี้เป็นตัวรับโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับตัวรับโปรตีนไวเทลโลเจนิน โดยพบตำแหน่งของตัวรับไลโพโปรตีนความหนาแน่นต่ำอย่างชัดเจนบริเวณไซโทพลาสซึมของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิกตอนปลายและมีปริมาณตัวรับลดลงเมื่อไข่พัฒนาเข้าสู่ระยะไวเทลโลเจนิก แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างโปรตีนตัวรับไลโพโปรตีนขึ้นเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการรับโปรตีนไข่แดงที่ผลิตจากเฮพาโตแพนเครียสและฟอลลิเคิลเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิกตอนปลายเข้าสู่เซลล์ไข่ แล้วพัฒนาเข้าสู่ระยะไวเทลโลเจนิกเพื่อให้มีการสะสมพลังงานสำหรับการพัฒนาเซลล์ไข่ให้สมบูรณ์ต่อไป (Mekuchi et al., 2008)

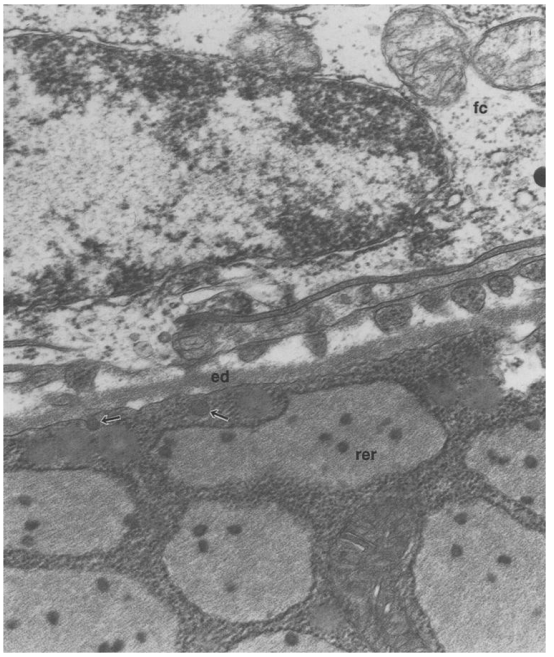


รูปที่ 3 การผลิตฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อและการส่งไปอวัยวะเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ในครัสเตเชียนเพศเมีย (ดัดแปลงจาก: Laufer et al., 1991; Subramoniam, 2011)



รูปที่ 4 แผนผังของกระบวนการตกแต่งโปรตีนไวเทลลินในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) (ที่มา: Okuno et al., 2002)

นอกจากการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินจากเฮพาโตแพนเครียสเข้าสู่เซลล์ไข่กุ้งแล้ว มีรายงานการศึกษาเส้นทางการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินที่ผลิตจากฟอลลิเคิลเซลล์ซึ่งล้อมรอบเซลล์ไข่เข้าไปภายในเซลล์ไข่ของกุ้งคุรุม่าโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี ซึ่งมีความแตกต่างจากไวเทลโลเจนินที่ลำเลียงจากเฮพาโตแพนเครียส โดย Yano et al. (1996) พบโปรตีนไวเทลลินในฟอลลิเคิลเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ระยะ oil globule ในรังไข่ของกุ้งระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้น แต่ไม่พบโปรตีนไวเทลลินในฟอลลิเคิลเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ระยะ yolk granule ในรังไข่ของกุ้งระยะไวเทลโลเจนิกตอนปลาย โดยบริเวณผนังภายนอกของฟอลลิเคิลเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ระยะ yolk granule มีวัตถุสีเข้มลักษณะคล้ายกับที่พบภายในเซลล์ไข่ ซึ่งวัตถุดังกล่าวได้กระจุกตัวอยู่บริเวณส่วนปลายของตำแหน่งที่มีการสร้างเม็ดแกรนูลในเซลล์ไข่ นอกจากนี้ บริเวณไมโครวิลไลที่เจริญดีพบการเว้าเข้าไปของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นถุงเพื่อนำสารเข้าภายในเซลล์แบบ pinocytosis โดยภายในส่วนที่เว้ามีวัตถุนี้บรรจุอยู่ด้วย จากผลการศึกษานี้ Yano et al. (1996) ได้สรุปว่า วัตถุนี้คือโปรตีนไวเทลลิน หรือโปรตีนไข่แดงที่ถูกส่งจากช่องว่างระหว่างผนังเซลล์ของฟอลลิเคิลเซลล์เข้ามาในเซลล์ไข่ระยะ yolk granule ผ่านทางไมโครวิลไลโดยใช้วิธี pinocytosis โดยไม่อาศัยตัวรับโปรตีนไวเทลโลเจนินเพื่อนำสารเข้าสู่เซลล์ไข่ (รูปที่ 5) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานว่าเกิดกระบวนการนำโปรตีนไวเทลโลเจนินเข้าภายในเซลล์ไข่แบบ pinocytosis ในกุ้งทะเลและกุ้งน้ำจืดชนิดอื่น



รูปที่ 5 เส้นทางของการลำเลียงไวเทลโลเจนินจากฟอลลิเคิลเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ไข่ของกุ้งคุรุม่า (*Marsupenaeus japonicus*) ลูกศรแสดงการเว้าเข้าไปของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นถุงเพื่อนำสารเข้าภายในเซลล์แบบ pinocytosis (ed, electron dense material; fc, follicle cell; rer, rough endoplasmic reticulum) (ที่มา: Yano et al., 1996)

บทสรุป

จากการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในอวัยวะที่แตกต่างกัน ทั้งเฮพาโตแพนเครียสและรังไข่ของกุ้งพีเนียสรวมทั้งกุ้งกุลาดำ ได้ชี้ให้เห็นคำตอบเกี่ยวกับบริเวณที่มีการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินที่ชัดเจนยิ่งขึ้นว่าอวัยวะหลักที่เป็นแหล่งผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในกุ้ง คือทั้งเฮพาโตแพนเครียสและรังไข่ ซึ่งมีความแตกต่างจากครัสเตเชียนชนิดอื่น เช่น ปูและกุ้งมังกร ที่บริเวณที่มีการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินจะจำกัดอยู่ที่เฮพาโตแพนเครียสเพียงอวัยวะเดียว โดยเส้นทางของการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินของกุ้งพีเนียสที่ผลิตจากเซลล์เฮพาโตแพนเครียส ผ่านกระบวนการตกแต่ง 2 ครั้ง และลำเลียงทางเลือด แล้วจึงส่งไปยังอวัยวะเป้าหมายคือรังไข่ โดยที่บริเวณผนังเซลล์ไข่มีตัวรับโปรตีนไวเทลโลเจนินที่มาจากเลือดเพื่อนำเข้าสู่เซลล์ไข่แล้วเปลี่ยนเป็นโปรตีนไวเทลลินต่อไป นอกจากนี้ มีงานวิจัยที่นำเสนอเส้นทางของการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินที่ผลิตจากจากฟอลลิเคิลเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ไข่ของกุ้ง โดยมีลักษณะการเว้าเข้าไปเป็นถุงของเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ไข่ของกุ้งระยะไวเทลโลเจนิกตอนต้นเพื่อนำโปรตีนไวเทลโลเจนินเข้าภายในเซลล์แบบ pinocytosis ด้วย

กระบวนการไวเทลโลเจเนซีส อยู่ภายใต้การควบคุมแบบยับยั้ง (negative control) โดยฮอร์โมนที่ผลิตจากบริเวณก้านตา ซึ่งมีรายงานลำดับกรดอะมิโนของฮอร์โมน gonad/vitellogenesis-inhibiting hormone (GIH/VIH) ในกุ้งกุลาดำ และแสดงให้เห็นชัดเจนในการยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ผลิตไวเทลโลเจนิน (mRNA vitellogenin) ในหลอดทดลอง

(Treerattrakool et al., 2008) ในทางกลับกัน มีรายงานว่าฮอร์โมน vitellogenesis-stimulating hormone (VSH) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ผลิตมาจากเซลล์ประสาทส่วนกลาง และ/หรือเซลล์ประสาทส่วนอก อาจทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสในครัสเตเชียน ผ่านการควบคุมโดยสารในกลุ่มไบโอ-เจนิกเอมีน แต่ลำดับกรดอะมิโนของฮอร์โมนดังกล่าวยังไม่มีรายงานในกุ้งกุลาดำ

ข้อสังเกตและข้อเสนอแนะ การวิจัยต่อเนื่องเกี่ยวกับฮอร์โมนที่ควบคุมกระบวนการไวเทลโลเจเนซีสในกุ้งทะเล ทั้งฮอร์โมนที่มีการผลิตเองจากกุ้ง และ/หรือฮอร์โมนที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของกุ้ง เช่น สเตียรอยด์ ฮอร์โมนที่เป็นสารสื่อประสาท หรือการค้นหาเครื่องหมายพันธุกรรมและการสร้างแผนที่ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตฮอร์โมนที่ควบคุมกระบวนการไวเทลโลเจเนซีส จะเป็นข้อมูลที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการเข้าใจกลไกการสืบพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น และช่วยพัฒนาศักยภาพการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศไทยให้ก้าวหน้าและยั่งยืน และทราบองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับกระบวนการดังกล่าวในเดคาพอดครัสเตเชียน เพื่อใช้เป็นแบบจำลองสำหรับสัตว์ชนิดอื่น ๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

เรณู ยาชิโร และ พิษณุ นาอนันต์. (2540). สรีรวิทยาการสืบพันธุ์, ระยะห่างของการลอกคราบและการผสมเทียมพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ, *Penaeus monodon* จากทะเลอันดามัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2540. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา, กรมประมง กรุงเทพฯ. 17 หน้า.

Auttarat, J., Phiriyangkul, P. and Utarabhand, P. (2006). Characterization of vitellin from the ovaries of the banana shrimp *Litopenaeus merguiensis*. Comp. Biochem. Physiol. B. 143: 27–36.

Avarre, J. C., Michelis, R., Tietz, A. and Lubzens, E. (2003). Relationship between vitellogenin and vitellin in a marine shrimp (*Penaeus semisulcatus*) and molecular characterization of vitellogenin complimentary DNAs. Biol. Reprod. 69: 355–364.

Browdy, C. L., Fainzilber, M., Tom, M., Loya, Y. and Lubzens, E. (1990). Vitellogenin synthesis in relation to oogenesis in in vitro-incubated ovaries of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea Decapoda, Penaeidae). J. Exp. Zool. 255: 205–215.

Chan, S. M., Gu, P. L., Chu, K. H. and Tobe, S. S., (2003). Crustacean neuropeptide genes of the CHH/MIH/GIH family: implications from molecular studies. Gen. Comp. Endocrinol. 134: 214–219.

Chang, C-F., Lee, F-Y., Huang, Y-S. and Hong, T-H. (1994). Purification and characterization of the female-specific protein (vitellogenin) in mature female hemolymph of the prawn, *Penaeus monodon*. Invertebr. Reprod. Develop. 25: 185–192.

Clark Jr., W. H., Lynn, J. W., Yudin, A. I. and Persyn, H. O. (1980). Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus*. Biol. Bull. 158: 175–186.

De Kleijn, D. P. V., Coenen, T., Laverdure, A. M., Tensen, C. P. and Van Herp, F., (1992). Localization of mRNAs encoding the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and gonad inhibiting hormone (GIH) in the X-organ sinus gland complex of the lobster *Homarus americanus*. Neuroscience. 51: 121–128.

De Kleijn, D. P. V. and Van Herp, F. (1995). Molecular biology of neurohormone precursors in the

eyestalk of Crustacea. Comp. Biochem. Physiol. B. 112: 573–579.

Diwan, A. D., Joseph, S. and Ayyappan, S. (2009). Physiology of reproduction, breeding and culture of tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). Narendra Publishing House, 1st edition. 292 pp.

Felsenstein, J. (1989). PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). Cladistics 5: 164-166.

Hiransuchalert, R., Klinbunga, S., Yamano, K. and Menasveta, P. (2011). Dynamics of *Vitellogenin* expression During Ovarian Development between the intact and eyestalk-ablated Giant Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. ***In*** The Third International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries (SAADC 2011). 26 - 29 July Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Kenway, M., Macbeth, M., Salmon, M., McPhee, C., Benzie, J., Wilson, K. and Knibb, W. (2006). Heritability and genetic correlations of growth and survival in black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks. Aquaculture 259: 138-145.

Khayat, M., Babin, P. J., Funkenstein, B., Sammar, M., Nagasawa, H., Tietz, A. and Lubzens, E., (2001). Molecular characterization and high expression during oocyte development of a shrimp ovarian cortical rod protein homologous to insect intestinal peritrophins. Biol. Reprod. 64: 1090–1099.

Khayat, M., Lubzens, E., Tietz, A. and Funkenstein, B. (1994). Are vitellin and vitellogenin coded by one gene in the marine shrimp *Penaeus semisulcatus*? J. Mol. Endo. 12: 251–254.

Kruevaisayawan, H., Vanichviriyakit, R., Weerachatyanukul, W., Withyachumnarnkul, B., Chavadej, J. and Sobhon, P. (2010). Oogenesis and formation of cortical rods in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture 301: 91-98.

Krungkasem, C., Ohira, T., Yang, W.-J., Abdullah, R., Nagasawa, H. and Aida, K. (2002). Identification of two distinct molt-inhibiting hormone-related peptides from the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. Mar. Biotechnol. 4: 132–140.

Kung, S. Y., Chan, S-M, Hui, J. H. L., Tsang, W. S., Mak, A. and He, J-G. (2004). Vitellogenesis in the sand shrimp, *Metapenaeus ensis*: The contribution from the hepatopancreas-specific vitellogenin gene (*MeVg2*). Biol. Reprod. 71: 863–870.

Laufer, H., Homola, E. and Landau, M. (1991). Hormonal regulation of reproduction in female Crustacea. NOAA Technical Report NMFS. 106: 89–98.

Longyant, S., Sithigorngul, P., Thammapalerd, N., Sithigorngul, W. and Menasveta, P. (2000). Characterization of vitellin and vitellogenin of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* using monoclonal antibodies specific to vitellin subunits. Invertebr. Reprod. Develop. 37: 211–221.

Mekuchi, M., Ohira, T., Kawazoe, I., Jasmani, S., Suitoh, K., Kim, Y. K., Jayasankar, V., Nagasawa, H. and Wilder, M. N. (2008). Characterization and expression of the putative ovarian lipoprotein receptor in the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. Zool. Sci. 25: 428–437.

Meusy, J. J. and Payen, G. G. (1988). Female reproduction in malacostracan Crustacea. Zool. Sci. 5: 217–265.

Okumura, T., Kim, Y. K., Kawazoe, I., Yamano, K., Tsutsui, N. and Aida, K. (2006). Expression of vitellogenin and cortical rod proteins during induced ovarian development by eyestalk ablation in the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. Comp. Biochem. Physiol. A 143: 246–253.

Okumura, T., Yamano, K. and Sakiyama, K. (2007). Vitellogenin gene expression and hemolymph vitellogenin during vitellogenesis, final maturation, and ovoposition in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. Comp. Biochem. Physiol. A. 147: 1028–1037.

Okuno, A., Katayama, H. and Nagasawa, N. (2000). Partial characterization of vitellin and localization of vitellogenin production in the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. Comp. Biochem. Physiol. B. 126: 397–407.

Okuno, A., Yang, W-J., Jayasankar, V., Saido-Sakanaka, H., Huong, D. T. T., Jasmani, S., Atmomarsono, M., Subramoniam, T., Tsutsui, N., Ohira, T., Kawazoe, I., Aida, K. and Wilder, M. N. (2002). Deduced primary structure of vitellogenin in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and yolk processing during ovarian maturation. J. Exp. Zool. 292: 417–419.

Parnes, S., Mills, E., Sagall, C., Raviv, S., Davis, C. and Sagi, A., (2004). Reproductive readiness of the shrimp *Litopenaeus vannamei* grown in a brackish water system. Aquaculture 236: 593–606.

Preechaphol, R., Leelatanawit, R., Sittikhankaew, K., Klinbunga, S., Khamnamtong, B., Puanglarp, N. and Menasveta, P. (2007). Expressed sequence tag analysis for identification and characterization of sex-related genes in the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. J. Biochem. Mol. Biol. 40: 501-510.

Phiriyangkul, P., Puengyam, P., Jakobsen, I. B. and Utarabhand, P. (2007). Dynamics of vitellogenin mRNA expression during vitellogenesis in the banana shrimp Penaeus (*Fenneropenaeus merguiensis*) using real-time PCR. Mol. Reprod. Dev. 74: 1198–1207.

Phiriyangkul, P. and Utarabhand, P. (2006). Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the banana shrimp, *Penaeus merguiensis* and sites of vitellogenin mRNA expression. Mol. Reprod. Dev. 73: 410–423.

Pongtippatee-Taweepreda, P., Chavadej, J., Plodpai, P., Pratoomchart, B., Sobhon, P., Weerachatyanukul, W. and Withyachumnarnkul, B. (2004). Egg activation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Aquaculture 234: 183-198.

Quackenbush, L. S. (1992). Yolk synthesis in the marine shrimp, *Penaeus vannamei*. Comp. Biochem. Physiol. A. 103: 711-714.

Rankin, S. M. and Davis, R. W. (1990). Ultrastructure of oocytes of the shrimp, *Penaeus vannamei*: cortical specialization formation. Tissue. Cell. 22: 879–893.

Raviv, S., Parnes, S., Segall, C. and Sagi, A. (2006). Complete sequence of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapod) vitellogenin cDNA and its expression in endocrinologically induced subadult females. Gen. Comp. Endocrinol. 145: 39–50.

Rosenberry, B. (2001). World Shrimp Farming 2001. Shrimp News International, San Diego, 316 pp.

Sarojini, R., Nagabhushanam, R. and Fingerman, M. (1995). Mode of action of the neurotransmitter 5-hydroxytryptamine in

stimulating ovarian maturation in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*: An *in vivo* and *in vitro* study. J. Exp.Zool. 271: 395–400.

Shafir, S., Ovadia, M. and Tom, M. (1992). *In vivo* incorporation of labeled methionine into protein, vitellogenin, and vitellin in females of the penaeid shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan. Biol. Bull. 183: 242–247.

Subramoniam, T. (2011). Mechanisms and control of vitellogenesis in crustaceans. Fisheries Science 77: 1–21.

Thurn, M. J. and Hall, M. R., (1999). Ovarian function in the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) as determined by in vitro bioassay. Physiol. Biochem. Zool. 72: 588–596.

Tiu, S. H. K., Benzie, J. and Chan, S.-M. (2008). From hepatopancreas to ovary: molecular characterization of a shrimp vitellogenin receptor involved in the processing of vitellogenin. Biol. Reprod. 79(1): 66-74.

Tiu, S. H. K., Hui, J. H., Mak, A. S., He, J. G. and Chan, S. M. (2006). Equal contribution of hepatopancreas and ovary to the production of vitellogenin (PmVg1) transcripts in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture 254: 666–674.

Treerattrakool, S., Panyim, S., Chan, S. M., Withyachumnarnkul, B. and Udomkit, A. (2008). Molecular characterization of gonad-inhibiting hormone of *Penaeus monodon* and elucidation of its inhibitory role in vitellogenin expression by RNA interference. FEBS J. 275: 970–980.

Tsang, W. S., Quackenbush, L. S., Chow, B. K., Tiu, S. H., He, J. G. and Chan, S.-M. (2003). Organization of the shrimp vitellogenin gene: evidence of multiple genes and tissue specific expression by the ovary and hepatopancreas. Gene 303: 99–109.

Tseng, D. Y., Chen, Y. N., Kou, G. H., Lo, C. F. and Kuo, C. M. (2001). Hepatopancreas is the extraovarian site of vitellogenin synthesis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Comp. Biochem. Physiol. A. 129: 909-917.

Tsutsui, N., Kawazoe, I., Ohira, T., Jasmani, S., Yang, W. J., Wilder, M. N. and Aida, K. (2000). Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the Kuruma Prawn, *Penaenus japonicus*. Zool. Sci. 17: 651–660.

Tsutsui, N., Kim, Y. K., Jasmani, S., Ohira, T., Wilder, M. N. and Aida, K. (2005). The dynamics of vitellogenin gene expression differs between intact and eyestalk ablated kuruma prawn *Penaeus* (*Marsupenaeus*) *japonicus*. Fish. Sci. 71: 249–256.

Udomkit, A., Chooluck, S., Santhayanon, B. and Panyim, S. (2000). Molecular cloning of a cDNA encoding a member of CHH / MIH / GIH family from *Penaeus monodon* and analysis of its gene structure. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 244: 145–156.

Udomkit, A., Treerattrokool, S. and Panyim, S. (2004). Crustacean hyperglycemic hormones of *Penaeus monodon*: cloning, production of active recombinant hormones and their expression in various shrimp tissues. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 298: 79–91.

Wilder, M. N., Okumura, T. and Tsutsui, N. (2010). Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: Vitellogenin structure, processing and

synthetic control. Aqua-BioScience Monographs 3(3): 73-110.

Wongprasert, K., Asuvapongpatana, S., Poltana, P., Tiensuwan, M. and Withyachumnarnkul, B. (2006). Serotonin stimulates ovarian maturation and spawning in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Aquaculture 261: 1447-1454.

Xie, S., Sun, L., Liu, F. and Dong, B. (2009). Molecular characterization and mRNA transcript profile of vitellogenin in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. Mol. Biol. Rep. 36: 389–397.

Yamano, K., Qiu, G. F. and Unuma, T. (2004). Molecular cloning and ovarian expression profiles of thrombospondin, a major component of cortical rods in mature oocytes of penaeid shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. Biol. Reprod. 70: 1670-1678.

Yang, W-J., Ohira, T., Tsutsui, N., Subramoniam, T., Huong, D. T. T., Aida, K. and Wilder, M. N. (2000). Determination of amino acid sequence and site of mRNA expression of four vitellins in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. J. Exp. Zool. 287: 413–422.

Yano, I. and Chinzei, Y. (1987). Ovary is the site of vitellogenin synthesis in Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Comp. Biochem. Physiol. 86(B): 213–218.

Yano, I., Krol, R. M., Overstreet, R. M. and Hawkins, W. E. (1996). Route of egg yolk protein uptake in the oocytes of kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Mar. Biol. 125: 773-781.

Yodmuang, S., Udomkit, A., Treerattrokool, S. and Panyim, S. (2004). Molecular and biological characterization of molt-inhibiting hormone of *Penaeus monodon*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 312: 101–114.

❑❑❑❑❑