จุลกายวิภาคระบบย่อยอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*)

Digestive system histology of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

สุวลี มะอนันต์ และ จิราพร โรจน์ทินกร*

Suwalee Ma-anun and Jiraporn Rojtinnakorn*

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University

Corresponding author: jiraroj@mju.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะต่างๆ ในกุ้งก้ามกราม เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการตรวจสอบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ทำการตัดชิ้นเนื้อและย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย hematoxylin & eosin พบว่าเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวๆ เรียงขนานกัน ด้วยโครงสร้างของ mucus cells และ epithelial cells มีลักษณะประสานกันอย่างเห็นได้ชัด ในส่วนเนื้อเยื่อของเหงือกเป็นแบบ branching form มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบและยึดกันแน่น สำหรับเนื้อเยื่อของกระเพาะ ประกอบด้วยผนัง 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscularis และ serosa โดยแต่ละชั้นประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบและกล้ามเนื้อเกี่ยวพันที่เรียงตัวอย่างหลวมๆ ส่วนเนื้อเยื่อของลำไส้มีลักษณะการจัดเรียงตัวเป็นเส้นตรง ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ในชั้น mucosa เรียงตัวซ้อนพับและประสาน ถัดมาเป็นชั้น muscularis ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ เรียงตัวกันเป็นวงกลมและตามยาว และชั้น serosa มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อบางๆ ในส่วนเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนประกอบด้วยท่อ hepatopancreatic tubularis ซึ่งแยกออกจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน reserve inclusion cells อย่างชัดเจน ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อใช้ประโยชน์ในงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลกายวิภาคต่อไป

คำสำคัญ จุลกายวิภาค, กุ้งก้ามกราม, ระบบทางเดินอาหาร, *Macrobrachium rosenbergii*

Abstract

This study of histology of various organs in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) aimed to be reference for its histopathology determination. Tissues were section and stained with hematoxylin & eosin. For muscle tissue, it consisted of long cells obviously aligning parallel with mucus cells and epithelial cells. For gill tissue, it showed branching form and arranged neatly and tightly. For stomach tissue, it consisted of 4 layers of mucosa, submucosa, muscularis and serosa, which each layer consisting of smooth muscle and loose connective tissue. While intestine tissue consisted of straight mucosa tissue with 3 layers; folding and coordinating mucosa, next layer of muscularis arranging in circular and longitudinal, and thin tissue of serosa layer. For hepatopancreatic tissue, it consisted of hepatopancreatic tubularis, which clearly separating from connective reserve inclusion cells.

Keywords: histology, giant freshwater prawn, digestive system, *Macrobrachium rosenbergii*

บทนำ

กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) เป็นกุ้งน้ำจืดที่มีขนาดใหญ่ โดยรู้จักกันทั่วไป คือ กุ้งนาง กุ้งหลวง ปัจจุบันกุ้งก้ามกรามในประเทศไทยนั้น เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญ มีราคาสูง ได้รับความสนใจจากผู้บริโภค เป็นที่ต้องการของตลาด การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในปัจจุบันมีผลผลิตจากพื้นที่ภาคกลางเป็นส่วนใหญ่ (FAO, 2011)

การศึกษาทางจุลกายวิภาคสามารถใช้ประโยชน์ในการยืนยันโครงสร้างระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ได้อย่างถูกต้อง และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับประยุกต์ใช้ในการศึกษาสรีรวิทยา ตลอดจนใช้เปรียบเทียบกับการศึกษาจุลกายวิภาคของตัวกุ้ง กลไกการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในระดับเนื้อเยื่อเมื่อเกิดโรคหรือสัมผัสกับสิ่งกระตุ้นอื่นๆ นำมาใช้ในการประกอบการวินิจฉัยโรค การจัดการด้านสุขภาพ สิ่งแวดล้อม และวิธีการเลี้ยงได้ (Supattra, 2001) อย่างไรก็ตาม รายงานเกี่ยวกับจุลกายวิภาคของกุ้งก้ามกรามยังมีจำนวนจำกัด ในงานนี้ได้ศึกษาโครงสร้างทางกายวิภาคและลักษณะจุลกายภาคของเนื้อเยื่อสำคัญต่างๆ ของกุ้งก้ามกราม โดยเฉพาะระบบการป้องกันเชื้อจุลชีพเข้าสู่ร่างกายที่ก่อให้เกิดโรคจะสามารถเข้าสู่ร่างกายของกุ้งได้ ได้แก่ เหงือก กล้ามเนื้อ และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยอาหาร (Seehabutr *et al*., 2013) เพื่อใช้ประโยชน์ในงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลกายวิภาคต่อไป

วิธีการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างอวัยวะภายในกุ้งก้ามกราม ขนาดตัวละ 450 กรัม จำนวน 3 ตัว จากการตรวจสอบสุขภาพโดยรวมพบว่า เป็นกุ้งที่แข็งแรงดี ไม่มีความผิดปกติ โดยแช่กุ้งในน้ำเย็น เมื่อกุ้งสลบดีแล้ว ผ่าตัดแยกเนื้อเยื่อจากตัวกุ้งก้ามกราม ถ่ายภาพลักษณะทางกายภาพของชิ้นเนื้อส่วนต่างๆ แล้วเก็บไว้ใน Davidson's fixative นาน 24 - 72 ชม. จากนั้นเก็บไว้ใน 70% ethanol นำไปศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตามวิธีของ Bell and Lightner (1988) โดยเข้ากระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อและฝังชิ้นเนื้อใน paraffin ตัดชิ้นเนื้อที่ความหนา 5 μm ย้อมด้วยสี hematoxylin & eosin และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 10 เท่า และ 40 เท่า

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. โครงสร้างทางกายวิภาคของกุ้งก้ามกราม

ลักษณะทางกายวิภาคของกุ้งก้ามกรามมีลักษณะลำตัวแบนข้างแนวสันหลังโค้งงอ มีเปลือกเป็นสารประกอบจำพวกไคติน (chitin) (Sawika, 2011) ห่อหุ้มตัว เปลือกหุ้มแยกออกเป็น 2 ตอน คือ ตอนหน้าหุ้มหัวและอก และส่วนร่างกายของกุ้ง ซึ่งแบ่งออกเป็นปล้องๆ มีทั้งหมด 19 ปล้อง แบ่งออกเป็นส่วนหัว 5 ปล้อง ส่วนอก 8 ปล้อง และส่วนท้อง 6 ปล้อง แต่ละปล้องมีรยางค์ 1 คู่ อวัยวะต่างๆ ที่สำคัญของกุ้ง มีดังนี้ รยางค์บริเวณหัว 6 คู่ ทำหน้าที่ในการกินอาหาร ระยางค์ที่ปากกุ้ง คือกรามของกุ้ง ใช้บดเคี้ยวอาหาร กุ้งมีขา 5 คู่ (Figure 1) ทำหน้าที่เป็นก้ามหนีบและขาเดินอยู่บริเวณส่วนอกส่วนท้องมีรยางค์ว่ายน้ำ 5 คู่ ในกุ้งตัวเมียส่วนนี้ใช้ทำหน้าที่ยึดเกาะไข่ที่ได้รับการผสมน้ำเชื้อแล้วและเป็นที่ฟักไข่ด้วย ปล้องสุดท้ายเป็นส่วนของหางทำหน้าที่

คล้ายหางเสือเรือ นัยน์ตาของกุ้ง เป็นนัยน์ตารวม มีก้านตาที่โยกคลอนได้ หนวด มี 2 คู่ หนวดคู่แรกแต่ละเส้นที่ปลายแยกออกเป็นหนวดเส้นเล็กๆ ข้างละหนึ่งคู่ หนวดคู่ที่สองค่อนข้างยาว ทำหน้าที่รับความรู้สึก (Bell and Lightner, 1988)

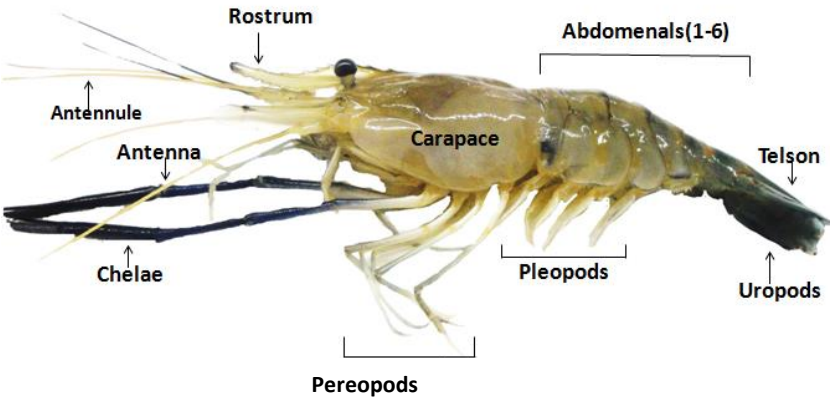


Figure 1 External anatomy of giant freshwater prawn

อวัยวะภายในของกุ้งส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณหัว (Figure 2-3) ประกอบด้วยหัวใจ กระเพาะอาหาร ตับและตับอ่อน ระบบประสาท และอวัยวะสืบพันธุ์ ส่วนอวัยวะหายใจของกุ้ง คือ เหงือก ซึ่งอยู่ด้านข้างของกระดองหัวและเกาะติดกับรยางค์หัวตัวเหงือก เป็นเยื่อบางๆ ซ้อนกันหลายๆ ชั้น หล่อเลี้ยงด้วยเลือดที่ไม่มีสี เม็ดเลือดกุ้ง ประกอบด้วย ไฮยาลินเซลล์ (hyaline cells) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีรูปร่างแบน กลม ผิวเรียบ เซมิกรานูลลาร์ (semigranular hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่พบลักษณะของเม็ดกรานูลร์ขนาดเล็กอยู่ในเซลล์ กรานูลาร์ (large granular hemocyte)เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุด (Sinchaipanit, 2012)

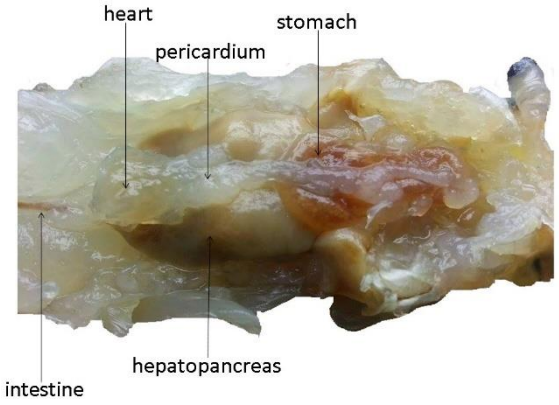


Figure 2 Abdominal anatomy of giant freshwater prawn

2. โครงสร้างทางจุลกายวิภาคของอวัยวะของกุ้งก้ามกราม

ในโครงสร้างกล้ามเนื้อของกุ้งก้ามกราม พบว่าประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวๆ เรียงขนานกัน มีเส้นใยประสาน หรือเกาะกันอย่างเหนียวแน่นและแข็งแรง การพัฒนาของ mucus cells และ epithelial cells มีลักษณะประสานกันอย่างเห็นได้ชัด มีการยืดหดสลับกันตามการโค้งงอของลำตัว (Sinchaipanit, 2012) โดยมีลักษณะตรงกับเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกุ้งฝอยปกติ ซึ่งมีการเรียงตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers) อย่างเป็นระเบียบ (Viyada *et al.*, 2013) และในกุ้งล็อบสเตอร์ (*Homarus americanus*) มี hemal sinuses ตามแนวโครงสร้างของกล้ามเนื้อ skeletal muscle (Shields and Boyd, 2014) (Figure 4)

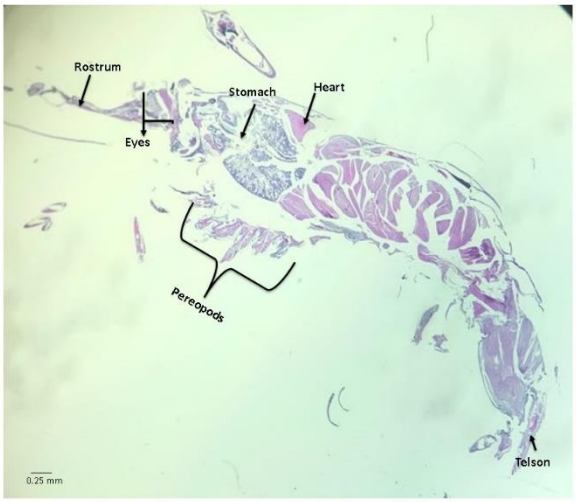


Figure 3 Anatomy structure of giant freshwater prawn with 10x magnification

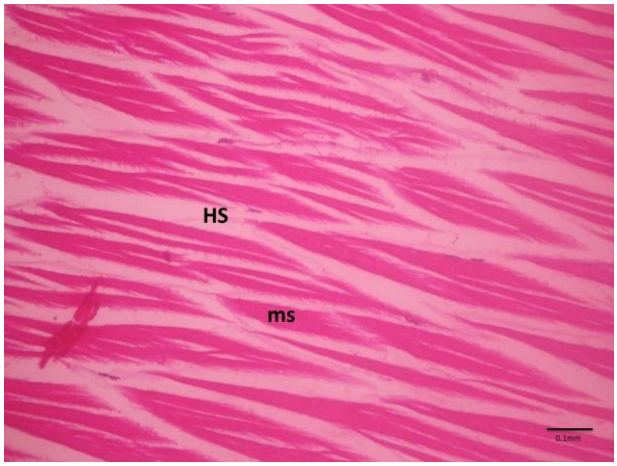


Figure 4 Muscle tissue of giant freshwater prawn with 40x magnification
HS = hemal sinus, ms = skeletal muscle fibers

เนื้อเยื่อเหงือกของกุ้งก้ามกราม พบว่ามีรูปร่างเป็นแบบ branching form มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบและยึดกันแน่น (Seehabutr *et al.*, 2013) ซึ่งเหงือกหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน (O_2) ที่ละลายอยู่ในน้ำโดยการไหลผ่านเข้าทางเหงือก และขับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) (Viyada *et al.*, 2013; Lodhi *et al*, 2006; Sharma and Subba, 2005) (Figure 5)

Figure 5 Gill tissue of giant freshwater prawn with (a)10x and (b)40x magnification

PI = primary lamella, CS = central sinus, lam = lamellae,

L= acuna (capillary lumen), con = connective tissue, SI = secondary lamella

ส่วนเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของกุ้งก้ามกราม (Figure 6) พบว่าเนื้อเยื่อของกระเพาะประกอบด้วยผนัง 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscularis และ serosa โดยแต่ละชั้นประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบและกล้ามเนื้อเกี่ยวพันที่เรียงตัวอย่างหลวมๆ (loose connective tissue) มีลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงกันกับเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของกุ้งฝอย (*Palaemonetes argentines*) โดยมีเนื้อเยื่อ cylindrical epithelium ซึ่งมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ ล้อมรอบด้วยเส้นใยที่เรียงตัวกันในลักษณะวงกลมและแนวยาว นอกจากนั้น nuclei ยังมีความยาวที่แตกต่างกันภายในเซลล์ (Sousa and Petriella, 2006)

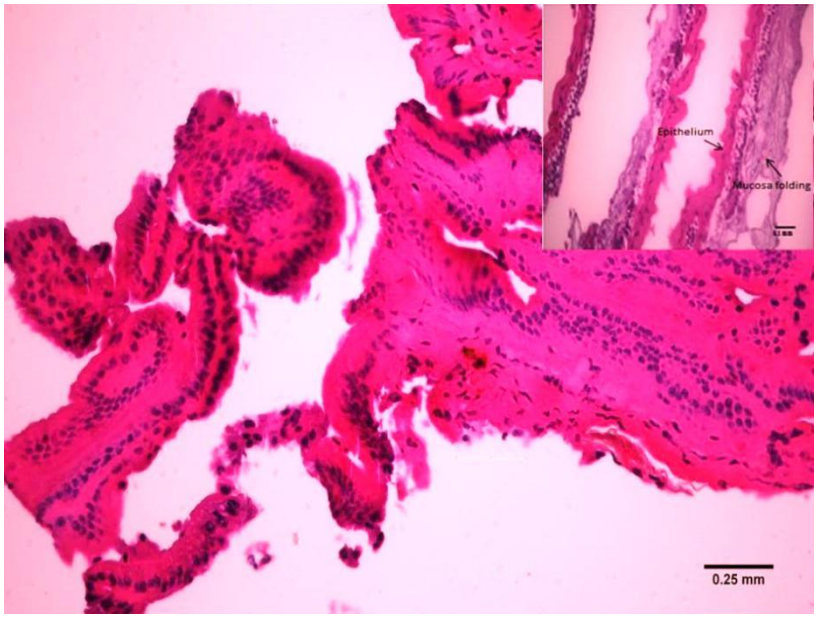
ในส่วนของขนาดความกว้างของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารกุ้งก้ามกราม พบว่ามีขนาดความกว้างของกระเพาะที่ใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกระเพาะของกุ้งฝอย (*P. argentinus)* ซึ่งมีความกว้างของช่องกระเพาะที่แคบ แตกต่างตามขนาดของลำตัว (Icely and Nott, 1992) นอกจากนั้นลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารคล้ายคลึงกับกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) กุ้งตะกาด (*Melapenaeus ensis*) (Lin, 2000) และกุ้งน้ำจืดกลุ่มอื่นๆ อีกด้วย (Icely and Nott, 1992)

Figure 6 Stomach tissue of giant freshwater prawn with 10x and 40x magnification
M = mucosa, S = serosa, Sb = submucosa, Mu = muscularis, L = lumen,
Lp = lamina propria, Gg = gastric gland

ส่วนเนื้อเยื่อลำไส้ของกุ้งก้ามกราม (Figure 7) พบว่าเนื้อเยื่อของลำไส้มีลักษณะของการจัดเรียงตัวเป็นเส้นตรง โดยชั้น mucosa เป็นแบบพับซ้อนและเนื้อเยื่อประสานกัน ถัดมาชั้น muscularis ประกอบไปด้วยกล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวกัน โดยมีทั้งที่เรียงตัวเป็นวงกลมและเรียงตัวตามยาว ในชั้น serosa พบว่ามีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อบางๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการรายงานว่าโดยปกติเนื้อเยื่อลำไส้ของสัตว์น้ำมี mucosa folding และ branching ซึ่งพบมากในหลอดอาหารและในส่วนของลำไส้ ลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้ของกุ้งก้ามกรามนั้นคล้ายคลึงกับกุ้งขาว (*Penaeus setiferus*) โดยในส่วนของชั้นเนื้อเยื่อ epithelium ประกอบไปด้วยกล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวกัน ทั้งเรียงตัวเป็นวงกลมและเรียงตัวตามยาว ในหนึ่งเซลล์มีบทบาทที่สำคัญในการขยายจากฐาน basal lamina ไปถึง lumen โดยภายในเซลล์มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง และมีการพัฒนาไปเป็น brush border ซึ่งมี lamina propria อยู่ภายใน (Lovett and Felder, 1990)

สำหรับเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนของกุ้งก้ามกราม (Figure 8) พบว่าเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนพบท่อ hepatopancreatic tubularis (H) ซึ่งถูกแยกออกจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน reserve inclusion cells โดยมีลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนคล้ายคลึงกับตับอ่อนในกุ้งฝอย (*P. argentines*) พบว่าใน tubular gland แต่ละ tubule ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อชนิด epithelium และเซลล์ 4 cellular types ได้แก่ embryonalzellen cells (E), fibrillenzellen cells (F) ช่วยสังเคราะห์โปรตีน, restzellen cells (R) ช่วยดูดซึมสารอาหารและขจัดสารพิษ และ blasenzellen cells (B) ทำหน้าที่เกี่ยวกับการคัดหลั่ง (Sousa and Petriella, 2007) นอกจากนั้นยังพบ metacercarial cysts เคลื่อนที่อยู่ใน hepatopancreatic tubules โดยลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงตับและตับอ่อนของ brown shrimp (*Crangon crangon*) (Stentiford and Feist, 2005)

(A)



(B)

Figure 7 Gut tissue of giant freshwater prawn with 10x (A) and 40x(B) magnification

(A) (B)

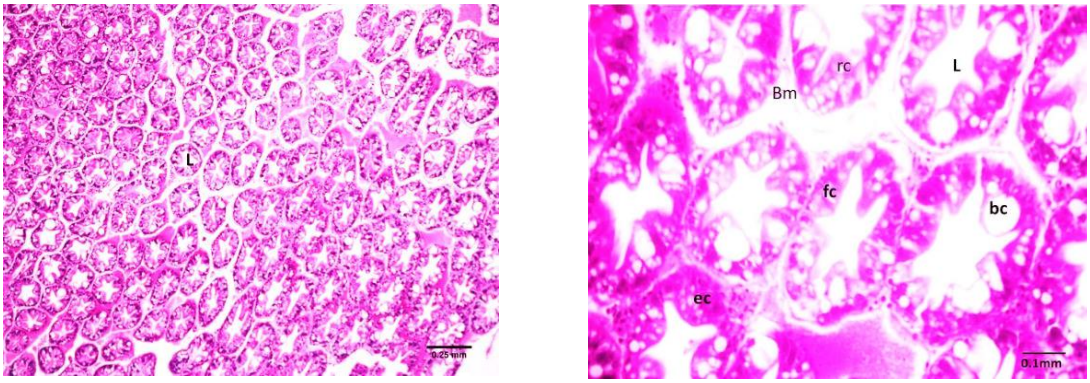


Figure 8 Hepatopancreatic tissue of giant freshwater prawn with 10x (A) and 40x (B) magnification
L = lumen, rc = R cells, ec = E cells, fc =F cells, bc = B cells, Bm = basement membrane

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะต่างๆ ในกุ้งก้ามกราม พบว่าลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกับกุ้งชนิดอื่นๆ มีความคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อชนิดเดียวกันในกุ้งทะเล กุ้งล็อบสเตอร์ และกุ้งฝอย โดยแตกต่างกันที่ขนาดและความกว้างของช่องว่างในเนื้อเยื่อ ตามขนาดลำตัวที่แตกต่างกันและตามอายุของกุ้ง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยที่ได้รับทุนโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

เอกสารอ้างอิง

Bell, T.A. and Lightner, D.V. 1988. A Hand Book of Normal Penaeid Shrimp Histology. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 114 p.

FAO. 2011. The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW) - Managing systems at risk. Food and Agriculture Organization of the United Nations/ Earthscan. Rome/ London. 105 p

Icely, J. D. and Nott, J. A. 1992. Digestion and absorption: digestive system and associated organs. Microscopic anatomy of invertebrates: Decapod, Crustacea. 147-201 p.

Lin, F. Y. 2000. Scanning electron microscopic observations on the gland filters of the pyloric stomach of *Penaeus monodon* and *Metapenaeus ensis* (Decapoda, Penaeidae). Journal of Crustacean Biology. 73(2):163-174.

Lodhi, H. S., Khan M. A., Verma R. S. and Shama U. D. 2006. Acute toxicity of copper sulfate to freshwater prawns. Journal of Environmental Biology 27(3):585-588.

Lovett, D. L. and Felder, D. L. 1990. Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). Journal of Biological Bulletin 178(2):160-174.

Sawika K. 2011. Chaitosan in aquaculture. Veridian e journal, Silpakorn University. 6(2): 984 -993. [in Thai]

Seehabutr, V., Sroysongwan, W. and Satsrisakul, P. 2013. Effect of Copper Sulfate on Gill and Muscle of *Macrobrachium lanchesteri* (De Man, 1911). Journal of Science and Technology. 2(1):21-26. [in Thai]

Sharma, A. and Subba, B. R. 2005. General biology of freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne-Edwards) of Biratnagar. Journal of Our Nature 3(1):31-41.

Shields, J. D. and Boyd, R. A. 2014. Atlas of lobster anatomy and histology. [Online] Available from http://www.vims.edu/~jeff/biology/Atlas_of_lobster_histology.pdf [2016, April 20]

Sinchaipanit, P. 2012. Physical and biochemical changes in the muscle of giant fresh water- prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, during frozen storage and freeze- thaw cycles. Thesis (Ph. D.) Chulalongkorn University. Thailand. 254 p

Sousa, L. G. and Petriella, A. M. 2006. Morphology and histology of *P. argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) digestive tract. Journal of Biocell 30(2):287-294.

Sousa, L. G. and Petriella, A. M. 2007. Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution. Journal of Revista de biologia tropical 55(1):79-86.

Stentiford, G. D. and Feist, S. W. 2005. A histopathological survey of shore crab (*Carcinus maenas*) and brown shrimp (*Crangon crangon*) from six estuaries in the United Kingdom. Journal of invertebrate pathology 88(2):136-146.

Supattra S, 2001. Acquired defense of *Penaeus monodon* following bacterin, 1,3- glucan and probiotics administration. Thesis (Ph.D.) Mahidol University. Thailand. 294 p.

Sawika K. 2011. Chaitosan in aquaculture. Veridian e journal, Silpakorn University. 6(2): 984 - 993. [in Thai]

Viyada S, Watthana S, and Pakthida S. 2013. Effect of copper sulfate on gill and muscle of *Macrobrachium lanchesteri* (De Man, 1911). Journal of Science and Technology Vol. 2, No. 1, 2013. [in Thai]