สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางชีววิทยาแม่เพรียงทราย (*Perinereis* sp.)

แม่เพรียงมีลำตัวเป็นปล้องยาวจำนวนมาก ร่างกายแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ลำตัว และหาง (Baoling *et al.*, 1985) โดยส่วนหัวประกอบด้วย โพรสโตเมียม (prostomium) และเพอริสโตเมียม (peristomium)โพรสโตเมียมอยู่ด้านหน้าสุดของลำตัว มีตา 2 คู่ และอวัยวะด้านข้างของส่วนท้องค่อนไปทางด้านท้ายของโพรสโตเมียม มีลักษณะแท่งมน เรียกว่า พัลพ์ (palps) จำนวน 1 คู่ ทำหน้าที่รับความรู้สึกด้านเคมีและกินอาหาร 1 คู่ เทนทาคูลาร์เซอราย (tentacular cirri) 4 คู่ และมีพาราแนธ (paragnaths) เป็นสารไคติน อยู่บริเวณด้านปาก และ maxillary ring ส่วนถัดมาคือ เพอริสโตเมียม เป็นปล้องที่ไม่มีระยางค์ ถัดจากส่วนหัวต่อมา คือส่วนลำตัว ประกอบด้วยปล้อง และมีระยางค์ข้างลำตัวสำหรับการเคลื่อนที่ เรียกว่า พาราโปเดียม (parapodium) แต่ละอันแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ระยางค์บน (notopodium) และ ระยางค์ล่าง (neuropodium) พาราโปเดียมสองปล้องแรกเป็นแฉกเดียว เรียกว่า ยูนิรามัส (uniramous) ถัดลงมาเป็นเป็นขาที่แยกเป็นสองแฉก เรียกว่า ไบรามัส (biramous) ระยางค์ส่วนใหญ่มีข้อต่อ (compound setae) ปลายจะมีลักษณะตรง (spiniger) หรือเป็นแบบตาขอ (falciger) ส่วนสุดท้ายคือ ส่วนหาง (pygidium) เป็นปล้องสุดท้ายอยู่ปลายลำตัว

แม่เพรียงอาศัยอยู่บนพื้นทะเลใกล้ฝั่งเขตน้ำท่วมตลอดเวลา พบตามพื้นทราย ใต้ก้อนหิน หรือขุดรูอยู่ (บพิธและนันทพร จารุพันธ์, 2538) ปกติจะฝังตัวลึกในทราย และขึ้นมาหาอาหารในเวลาน้ำขึ้น เป็นสัตว์กินเนื้อ (carnivore) (Mettam, 1980) หรืออาจกินสารอินทรีย์ลอยตามน้ำโดยการกรอง สำหรับบางชนิดที่เคลื่อนที่ช้ามักกินอาหารตามผิวหน้าดิน

การสืบพันธุ์เป็นแบบภายนอกตัว อาศัยเพศ มีเพศผู้และเมียแยกจากกัน (จิรประภา บริรักษ์, 2543) เมื่อถึงฤดูผสมพันธุ์ ตัวผู้และตัวเมียจะว่ายขึ้นสู่ผิวน้ำและว่ายวนไปมาในช่วงเช้า พฤติกรรมการผสมพันธุ์นี้เรียกว่า นุปเชียล แดนซ์ (Nuptial dance) ตัวเมียปล่อยฟีโรโมน (pheromone) ออกมากระตุ้นตัวผู้ให้มาผสมพันธุ์ อาจมีตัวผู้ตัวเดียวหรือหลายตัว ตัวเมียจะปล่อยไข่ก่อนและตัวผู้จึงปล่อยสเปิร์มเข้าผสมกับไข่ในน้ำ (Elliott, 1952) การผสมพันธุ์เป็นช่วงที่มีระยะสั้น เมื่อผสมพันธุ์เสร็จแล้ว ตัวผู้และตัวเมียจะจมสู่พื้นท้องน้ำและตายในที่สุด (อนงค์ สวรรยาธิปัตย์และปิยะพงศ์ โชติพันธุ์, 2527) ไข่ที่ได้รับการผสมจะพัฒนาออกเป็น 4 ระยะ คือ คลีเวจ (cleavage) โทรโคฟอร์ (trochophore) เฮทาโทรโคฟอร์ (hetatrochophore) และเนคโทคีต (nectochaete)

ฮอร์โมนของแม่เพรียง

1. เปปไทด์ ฮอร์โมน (Peptide hormone)

เปปไทด์ ฮอร์โมนของแม่เพรียง ประกอบด้วยหลายกลุ่ม มีหน้าที่แตกต่างกัน หน้าที่ที่สำคัญ คือ ควบคุมปริมาณไกลโคโปรตีน และ ไกลโคลิปิดที่อยู่ในเซลล์ไข่ ซึ่งสามารถแบ่งเปปไทด์ฮอร์โมนแต่ละกลุ่มตามหน้าที่ ดังนี้

RFamide เป็นเปปไทด์ ฮอร์โมนที่มีโครงสร้างเป็นกลุ่มคาร์บอนิลมีลำดับเบส คือ Arg-Phe-amide ในแม่เพรียง *Nereis virens* (Krajniak and Price, 1990) และ *Neanthes diversicolor* สามารถจำแนก RFamide ได้ 2 รูปแบบ คือ FM(O)RFamide และ FTRFamide (Baratte *et al.*, 1991) ซึ่งเปปไทด์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ควบคุมการเต้นของหัวใจในแม่เพรียง *Sabellastarte magnifica* (Diaz-Miranda *et al.*, 1989)

Oxytocin และ vasopressin เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่มีโครงสร้างเป็นวงไดซัลไฟด์ 2 วง ประกอบด้วยกรดอะมิโน 9 ชนิดมีลำดับเบสคือ cysteine-tyrosin-isoleucine-glutamine-asparagine-cysteine-proline-leucine-glycine ในแม่เพรียงพบว่า มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมความเข้มข้นของสารละลายภายในระบบขับถ่าย (Salzet *et al.*, 1993; Oumi *et al.*, 1996) นอกจากนั้น เปปไทด์ฮอร์โมนมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสเปิร์มมาโตเจเนซิส (spermatogenesis) ในเพรียงเพศผู้สกุล *Nereis* และช่วยในการพัฒนาเซลล์ไข่ในระยะพรีไวเทลโลเจนิน ซึ่งเป็นการพัฒนาในระยะต้น (Golding, 1983)

2. ฮอร์โมนของระบบสืบพันธุ์ (Reproductive hormones)

2.1. การสร้างและพัฒนาเซลล์ไข่

แม่เพรียงในวงศ์ Nereidae มีช่วงอายุ ตั้งแต่วัยอ่อน ถึงวัยเจริญพันธุ์ ประมาณ 3 ปี การเติบโตของเซลล์ไข่นั้น ในช่วงแรกจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆและเพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะสุดท้าย (Clark and Ruston, 1963; Dhainaut, 1970) ฮอร์โมนควบคุมการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่เพรียง คือ โพรสโตรเมียล แมทูเรชั่น ฮอร์โมน (prostomial maturation hormone) สามารถเหนี่ยวนำการเจริญเติบโตของเซลล์ไข่ โดยกระตุ้นของเหลวภายในช่องท้อง และมีผลต่อเซลล์ไข่ (Watson and Bentley, 1997) โดยกระบวนการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ไข่ของแม่เพรียงนั้น มีกระบวนการคล้ายคลึงกับในสัตว์กลุ่มเอคไคโนเดิร์ม (echinoderms) เช่น ดาวทะเล (starfish) (Watson and Bentley, 1998)

ในช่วงปีแรก ภายในลำตัวแม่เพรียงเพศเมีย จะพบเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค (Previtellogenic oocytes) โดยเริ่มเจริญเติบโตหลังจากมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ระยะโพรเฟส สามารถพบไรโบโซม ไมโทคอนเดีย และการพัฒนาของเอนโดพลาสมิค เรติคูลัม (endoplasmic reticulum) หลังจากนั้น เซลล์ไข่พัฒนาเข้าสู่ระยะไวเทลโลเจนิค (Vitellogenic oocytes) มีการสะสมไข่แดง (yolk) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง เรียกว่า ไวเทลลิน (vitellin) จากสารตั้งต้นคือ ไวเทลโลเจนิน (vitellogenin) แม่เพรียงที่เจริญพันธุ์ มีการสะสมไวเทลลินภายในเซลล์ไข่ ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด เช่น ใน *Perinereis cultrifera* (Baert, 1986) แต่ในแม่เพรียงที่ยังไม่เจริญพันธุ์ มีการสะสมไวเทลลิน เพียง 40 เปอร์เซ็นต์ เช่นใน *Nereis virens* (Fisher and Schmitz, 1981) การสังเคราะห์โปรตีนภายในรังไข่ควบคุมโดย ฮอร์โมนซีรีบัล โกนาโดโทรปิน (cerebral gonadotrophic hormone : GH) และฮอร์โมนซูพราอีโซฟาเจียล แกงเกลีย (supraoesophageal-ganglion hormone) (Olive and Lawrence, 1990) ทำหน้าที่กระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนภายในรังไข่ของ *Harmothoe imbricata* (Olive *et al.*, 1990) และควบคุมการเจริญพันธุ์ของ *Nereis hombergi* (Olive and Bentley, 1980)

เมื่อเซลล์ไข่พัฒนาจนถึงระยะคอร์ติคอเจเนซิส (Corticogenesis) มีคอร์ติคอล กรานูล (cortical granules) จำนวนมากอยู่ภายใน ประกอบด้วย โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ฟูโคส (fucose) กลูโคโรนิค แอซิค (glucoronic acid) (Dhainaut, 1970; Porchet and Spik, 1978; Porchet, 1984) ระยะสุดท้ายของเซลล์ไข่ คือ ระยะเจริญพันธุ์ ภายในประกอบด้วย คอร์ติคอล แอลวิโอไล อยู่บริเวณใกล้เยื่อหุ้มเซลล์ ไรโบโซม ไมโทครอนเดรีย และไขมัน (Dhainaut, 1970)

2.2. ฮอร์โมนเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการสืบพันธุ์

สัตว์ทะเลจำพวกไม่มีกระดูกสันหลัง เมื่อถึงช่วงสืบพันธุ์จะมีการวางไข่และปล่อยสเปิร์ม พฤติกรรมดังกล่าว เกิดจากการกระตุ้นของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความสั้นยาวของช่วงวัน แม่เพรียงบางชนิด วางไข่ช้า เมื่อน้ำทะเลมีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (Olive, 1981) หรือในวงศ์ Nereidae เกิดการ สวอมมิ่ง (swarming) คือ พฤติกรรมการรวมกลุ่มของตัวผู้และตัวเมียบริเวณผิวน้ำ เมื่อมีอุณหภูมิต่ำ (Goerke, 1984) การเกิดสวอมมิ่ง และการปล่อยไข่ มีความสัมพันธ์กับปรากฏการณ์ธรรมชาติคือ น้ำขึ้นน้ำลงเป็นปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการโคจรของดวงจันทร์ ส่งผลให้เกิดข้างขึ้นข้างแรม น้ำขึ้นน้ำลง เป็นต้นหรือบางชนิดตอบสนองเมื่อพระจันทร์เต็มดวง ได้แก่ *Neanthes unifasiata* และ *Nereis zhongshaensis* (จิรประภา บริรักษ์, 2543)

พฤติกรรมสืบพันธุ์ ประกอบด้วยปัจจัยหลายประการ ซึ่งปัจจัยทางเคมีเป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญ เพื่อช่วยในการส่งสัญญาณ (Zeeck *et al.*, 1990) เมื่อเพศผู้และเพศเมียพร้อมผสมพันธุ์ จะว่ายน้ำออกจาก รูหรือท่อ ขึ้นมาบริเวณผิวน้ำ โดยเพศเมียว่ายน้ำช้าๆเป็นวงกลม เมื่อเพศผู้ว่ายถึง

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผิวน้ำ จะเข้าจับคู่กับเพศเมียและว่ายอยู่รอบๆ จนเริ่มปล่อยสเปิร์ม เป็นการปล่อยในปริมาณน้อย สามารถสังเกตได้จากลักษณะขาวขุ่น หลังจากนั้นเพศเมียเปลี่ยนมาว่ายอยู่รอบๆเพศผู้ ประมาณ 10 ถึง 40 วินาที เมื่อเพศเมียปล่อยไข่ เพศผู้จึงปล่อยสเปิร์มครั้งสุดท้ายเพื่อผสม ซึ่งเป็นการปล่อยในปริมาณมากกว่าครั้งแรก (Hardege *et al.*, 1997) ช่วงที่เพศผู้และเพศเมียจับคู่กัน ทั้งเพศผู้และเพศเมียจะปล่อยสารเคมี ที่เรียกว่า ฟีโรโมน (Pheromone) เป็นการกระตุ้นเพศตรงข้าม ฟีโรโมนที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการสืบพันธุ์ ประกอบด้วย

2.2.1 เมท เร็คคอทนิชัน ฟีโรโมน (mate-recognition pheromone; MRP)

เป็นสารที่ปล่อยจากเพศเมีย เพื่อกระตุ้นเพศตรงข้ามสำหรับการจับคู่ผสมพันธุ์ เป็นสารเคมีจำพวกระเหยได้ เช่น คีโตน อัลเคน อัลดิไฮด์ เบนซีน แอลกอฮอล์ และ อัลเคน Zeeck *et al.* (1991) รายงานว่า สามารถแยกสารประกอบต่างๆ ภายในลำตัวแม่เพรียง ชนิด *Platynereis dumerilii* ได้ 60 ชนิด แต่ใน *Nereis japonic* เพศเมีย สามารถจำแนกได้ ประมาณ 32 ชนิด (Bartels-Hardege *et al.*, 1996) สำหรับฟีโรโมนชนิดแรกที่จำแนกได้ คือ 5-methyl-3-heptanone พบว่า สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดพฤติกรรมนุปเชียล แดนซ์ ในแม่เพรียง *Platynereis dumerilii* (Zeeck *et al.*, 1988) ภายหลัง พบสารชนิดใหม่ คือ ซิสเทอีน กลูทาไทโอน ไดซัลไฟล์ (cysteine-glutathione disulfide; CySSG) (Hardege *et al.*, 1997; Zeeck *et al.*, 1998) ทำหน้าที่ส่งสัญญาณ และเหนี่ยวนำเพศผู้ให้ว่ายน้ำเป็นวงก่อนจะปล่อย สเปิร์ม

2.2.2 เอ็ก รีลิส ฟีโรโมน (egg-release pheromone; ERP)

ฟีโรโมนนี้ทำหน้าที่กระตุ้นให้เพศเมียปล่อยไข่ หลั่งออกมาจากแม่เพรียงตัวผู้ เช่นใน *Nereis succinea* เมื่อแยกชนิดของของเหลวภายในช่องท้องของแม่เพรียงเพศผู้ พบว่า ภายในช่องท้องประกอบด้วยสาร 3 ชนิด คือ Inosine L-glutamic acid และ L-glutamine ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zeeck *et al.* (1998) ทดลองฉีด L-glutamic acid inosine และ guanosine แก่ *Nereis succinea* พบว่า แม่เพรียงเพศเมีย เริ่มปล่อยไข่ ระดับของฟีโรโมนทั้งสามนี้มีการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์ โดย inosine จะเพิ่มมากขึ้นในช่วงเจริญพันธุ์ก่อนการปล่อยไข่ (Fishcer and Hoeger, 1993)

ในแม่เพรียง *Platynereis dumerilii* นอกจากสารทั้ง 3 ชนิดที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการปล่อยไข่แล้ว ยังพบฟีโรโมนอีกชนิดคือ 3,5-octadien-2-one ที่สามารถเหนี่ยวนำให้แม่เพรียงปล่อยไข่ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Zeeck *et al.*, 1991)

2.2.3 สเปิร์ม รีลีส ฟีโรโมน (sperm-release pheromone; SRP)

สเปิร์ม รีลีส ฟีโรโมน (SRP) เป็นสารกลุ่มเดียวกับ CySSG (Hardege *et al.*, 1997; Zeeck *et al.*, 1998) ซึ่ง SRP เป็นฟีโรโมนของแม่เพรียงเพศเมียที่สามารถกระตุ้นการปล่อยสเปิร์ม เช่น ในแม่เพรียงเพศเมีย *Nereis succinea* โดย SRP มีหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณและกระตุ้นให้มีการปล่อยสเปิร์ม (Ram *et al.*, 1999) เช่นเดียวกับในแม่เพรียงเพศเมีย *Platynereis dumerilii* ที่ปล่อยสาร SRP ความเข้มข้น 0.6×10^{-6}M เพื่อเหนี่ยวนำการปล่อยสเปิร์มของเพรียงเพศผู้ (Eriksson and Eriksson, 1967; Dahm and Jones, 1994; Kleinmann *et al.*, 1995)

ฮอร์โมนระบบสืบพันธุ์ของสัตว์กลุ่มครัสตาเชียน

1. เปปไทด์ ฮอร์โมน (Peptide hormone)

1.1 ไวเทลโลเจเนซิส อินฮิบิติง ฮอร์โมน (Vitellogenesis Inhibiting Hormone : VIH)

Vitellogenesis Inhibiting Hormone (VIH) หรือ Gonad inhibiting hormone (GIH) เป็นฮอร์โมนในกลุ่มเปปไทด์ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 53-55 หน่วย ผลิตจาก เอ็กซ์ ออแกน ในก้านตากุ้ง (X-organ sinus gland) มีหน้าที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ (Kleijn *et al.*, 1998; Wilder *et al.*, 2002) จากการทดลอง พบว่าการตัดก้านตาของกุ้งก้ามกราม *Macrobranchium rosenbergii* ทำให้กุ้งพัฒนารังไข่และมีการวางไข่ (Okumura, 2001) แต่เมื่อฉีดสารสกัดจากก้านตาเข้าตัวกุ้ง *Sicyonia ingentis* พบว่า สารสกัดจากก้านตาไปยับยั้งการพัฒนาของรังไข่และการปล่อยไข่ของกุ้ง Chang *et al.* (1992) อธิบายว่า บริเวณก้านตาเป็นแหล่งผลิต VIH และเมื่อตัดก้านตา ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการพัฒนาของรังไข่ เพราะแหล่งผลิตฮอร์โมนยับยั้งการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ถูกทำลาย

1.2 ไวเทลโลเจเนซิส สติมิวเลติง ฮอร์โมน (Vitellogenesis Stimulating Hormone : VSH)

ฮอร์โมนอีกชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่ตรงข้ามกับ VIH คือ Vitellogenesis Stimulating Hormone (VSH) สร้างจากสมอง (brain) และ เทอราซิค แกงเกลีย (thoracic ganglia) มีโครงสร้างและขนาดใกล้เคียงกับ VIH (Otsu, 1963; Gomez, 1965; Kulkarni *et al.*, 1984; Eastman-Reks and Figerman, 1984) ออกฤทธิ์เหนี่ยวนำการพัฒนาของรังไข่ โดยกระตุ้นให้รังไข่ ตับและตับอ่อนสังเคราะห์ไวเทลโลเจนิน สะสมเป็นอาหารสำหรับตัวอ่อน Eastman-Reks and Fingerman (1984) ทดลองสกัด thoracic ganglia ของปูก้ามดาบ *Uca pugilator* แล้วฉีดเข้าตัวสัตว์ พบว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิด

พัฒนาการของรังไข่ อย่างไรก็ตาม สารสกัดที่ได้ต้องมาจากสัตว์ที่อยู่ในช่วงเจริญพันธุ์ เพราะ VSH สามารถพบใน brain และ thoracic ganglia ของสัตว์เพศเมียที่เจริญพันธุ์แล้วเท่านั้น

1.3 ครัสตาเชียน ไฮเปอร์ไกลซีมิค ฮอร์โมน (Crustacean hyperglycemic hormone : CHH)

เป็นเปปไทด์ ฮอร์โมน (Wainwright *et al.*, 1996; Chang, 1997) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 72-78 หน่วย ซึ่งมีซิสเทอีน (cysteine) ทั้งหมด 6 หน่วย โดย CHH ผลิตจาก เอ็กซ์ ออร์แกน (X-organ) ในก้านตา มีหน้าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Cooke and Sullivan, 1982) ควบคุมกระบวนการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต (Keller and Sedlmeier, 1998) การเผาผลาญไขมัน (Santos *et al.*, 1997) ควบคุมการผ่านของไอออน (Charmantier-Daures *et al.*, 1994; Serrano *et al.*, 2003) และ ลักษณะทางกายภายของรังไข่ (Khayat *et al.*, 1998)

เนื่องจาก CHH มีรูปแบบหลากหลาย จึงทำหน้าที่และมีความจำเพาะต่ออวัยวะเป้าหมายแตกต่างกัน เช่น มีความจำเพาะต่อตับและตับอ่อน (hepatopancreas) หัวใจ (heart) เนื้อเยื่อ (epidermis) และวายออแกน (Y-organ) เป็นต้น (Kummer and Keller, 1993; Webster, 1993)

2. เอคไดสเตียรอยด์ (Ecdysteroids)

เอคไดสเตียรอยด์เป็นฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์ มีโครงสร้างคล้ายเอคไดโซน (ecdysone) ทำหน้าที่กระตุ้นการลอกคราบของสัตว์กลุ่มกุ้งปู สร้างจาก Y-organ ทำงานร่วมกับฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบ (Molt-inhibiting hormone: MIH) ที่ผลิตจาก เอ็กซ์ ออแกน ไซนัส แกรน (X-organ sinus gland) ซึ่งมีหน้าที่ยับยั้งการลอกคราบ ecdysteroids ประกอบด้วย ฮอร์โมนหลายตัวด้วยกัน เช่น เอคไดโซน (ecdysone) 3-ดีไฮโดรเอคไดโซน (3-dehydroecdysone) หรือ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน (20-hydroxyecdysone) (Okumura, 2004) ระดับของฮอร์โมนมีความแตกต่างกันออกไปในช่วงต่างๆของการลอกคราบ โดยสัตว์จะมี ecdysteroids ปริมาณสูงสุดในช่วงลอกคราบ และจะลดลงต่ำสุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการ หลังจากนั้นสัตว์จะอยู่ในช่วงพักตัว และเตรียมพร้อมสำหรับการลอกคราบในครั้งต่อไป

ขวัญเรือน (2533) ทดลองฉีด 2-ดีออกซีเอคไดโซน (2-deoxyecdysone) และ เบตา-เอคไดโซน (β-ecdysone) ที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 0.2 และ 0.4 ไมโครกรัมฮอร์โมนต่อน้ำหนักตัว (กรัม) แก่กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* พบว่า กุ้งมีการลอกคราบเร็วกว่าปกติในทุกกลุ่มการทดลอง และให้ผลการทดลองเหมือนกับ เมื่อใช้ฮอร์โมน β-ecdysone ในกุ้ง *Penaeus merguiensis* ดังนั้น จึงสรุปว่า ฮอร์โมนกลุ่มดังกล่าวจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการลอกคราบในสัตว์กลุ่มครัสตาเชียน (Pornsilp *et al.*, 1987) ecdysteroids อาจมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของไข่และรังไข่อีกทางหนึ่ง

ด้วย Spindler *et al.* (1987) พบความสัมพันธ์ของระดับ ecdysteroids กับพัฒนาการตัวอ่อนกุ้ง ในกุ้ง *Palaemon serratus* เมื่อวางไข่แล้ว พบว่าไข่ที่ถูกปล่อยออกมามีปริมาณ ecdysteroids ต่ำ และระดับ ecdysteroids จะเพิ่มขึ้นเมื่อไข่เริ่มฟักเป็นตัวอ่อน ในกุ้ง *Sicyonia ingentis* เมื่อไข่ถูกปล่อยออกมามักมีระดับ ecdysteroids ต่ำกว่าในช่วงที่ไข่เริ่มมีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะต่างๆ (Chang *et al.*, 1992) นอกจากนั้น ecdysteroids สามารถกระตุ้นกระบวนการไวเทลโลเจเนซิส (vitellogenesis) ของแมลง และระดับ ecdysteroids ในกระแสเลือดยังสามารถควบคุมการหลั่งฮอร์โมนจาก Y-organ ได้ด้วย (Okumura, 2004)

3. เทอร์พีนอยด์ ฮอร์โมน (Terpenoid hormone)

เทอร์พีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ที่เกิดจากการรวมตัวของหมู่ไอโซพรีน (isoprene) หลายหน่วย (อะตอมคาร์บอน 5 อะตอมต่อกัน) พบในธรรมชาติ และระบบสรีระวิทยาของสัตว์ เช่น แมลง เป็นต้น ฮอร์โมนที่สำคัญในกลุ่มนี้ คือ เมธิล ฟาร์นีโซเอท (Methyl farnesoate: MF) มีความสำคัญต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน ผลิตโดยแมนดิบูลา ออร์แกน (Mandibular organ: MO) และเป็นสารตั้งต้นของจูวีไนล์ ฮอร์โมน (Juvenile hormone: JH III) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่พบในแมลง (Charmantier *et al.*, 1997)

ในสัตว์กลุ่มครัสตาเชียน MF สร้างจากแมนดิบูลาร์ ออแกน มีหน้าที่กระตุ้นการพัฒนาของรังไข่ (Laufer and Biggers, 2001) ระดับของ MF มีความสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์ โดยสัตว์ที่เจริญพันธุ์แล้ว พบว่ามีระดับของ MF สูงกว่าในสัตว์ที่ยังไม่เจริญพันธุ์ (Laufer *et al.*, 1986; Sagi *et al.*, 1993)

ฮอร์โมนควบคุมการผลิต MF คือ แมนดิบูลา ออแกน อินฮิบิติง ฮอร์โมน (Mandibular organ-inhibiting hormone: MO-IH) สร้างจาก X-organ ในก้านตาของครัสตาเชียน (Chang, 1997) Tsukimura *et al.* (1993) ทดลองตัดก้านตาของกุ้งมังกร (*Homarus americanus*) พบว่าระดับของ MF เพิ่มขึ้น

4. โพรสตาแกลนดิน (Prostaglandins)

โพรสตาแกลนดิน (Prostaglandins: PG) เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไขมัน มีโครงสร้างวงแหวน 5 วง ประกอบด้วยคาร์บอน 20 อะตอม (Sreenivasula *et al.*, 2004) มีอะราคิโดนิค แอซิค (Arachidonic acid: AA) ไอโคสะเพนทาอีโนอิค แอซิค (Eicosapentaenoic acid: EPA) และโดโคสะเฮกซาอีโนอิค แอซิค (Docosahexaenoid acid: DHA) เป็นสารตั้งต้น โดย PG มีหลายรูปแบบ เช่น PGF_{2a} PGE_2 PGD_2 6-keto-PGE_2 เป็นต้น (Ono *et al.*, 1982; Osada *et al.*, 1989; Osada and

Nomura, 1990) และมีความสำคัญต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์กลุ่มครัสตาเชียนหรือสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Stanley-Samuelson, 1994; Herman, 1990)

Spaziani *et al.* (1995) พบว่า PG เกี่ยวข้องกับการตกไข่ (ovulation) ใน Florida crayfish (*Procambarus paeninsulanus*) และ crayfish (*Cherax quadricarinatus*) (Sagi *et al.*, 1996) นอกจากนั้น PG สามารถกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของหอย (mollusks) เช่น หอยเป๋าฮื้อ *Haliotis refescens* หอยสองฝา *Crassostrea Mytilus Tridacna* and *Ctena* (Morse *et al.*, 1997) เป็นต้น

5. ไบโอเจนนิค อามีน (Biogenic amine)

5.1 5-ไฮดรอกซีทริปทามีน หรือ ซีโรโทนิน (5-Hydroxytryptamine or Serotonin: 5-HT)

5-ไฮดรอกซีทริปทามีน หรือ ซีโรโทนิน เป็นสารประกอบโมโนเอมีน (monoamine) สังเคราะห์จากเส้นประสาทซีโรโทเนอจิค (serotonergic neuron) ในระบบประสาทส่วนกลาง พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด การทำงานของ 5-HT เป็นแบบนิวโรทรานสมิทเทอร์ (neurotransmitter) และนิวโรฮอร์โมน (neurohormone) (Elofsson *et al.*, 1982; Beltz *et al.*, 1984) ในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน หน้าที่ของ 5-HT คือ กระตุ้นการพัฒนาของรังไข่ และการปล่อยไข่ (Vaca and Alfaro, 2000) เช่น เมื่อฉีด 5-HT แก่ red swamp crayfish *Procambarus clarkii* เพศเมีย พบว่าเซลล์ไข่มีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีด 5-HT (Kulkarni *et al.*, 1992) นอกจากนั้น 5-HT สามารถกระตุ้นการพัฒนาระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของ red swamp crayfish เช่นเดียวกัน (Sarojini *et al.*, 1994)

5.2 โดปามีน (Dopamine : DA)

โดปามีนเป็นสารประกอบในกลุ่ม คาทิโคลามีน (catecholamine) เป็นสารตั้งต้นของอีพิเนฟริน (epinephrin) และนอร์อีพิเนฟริน (norepinephrin) สามารถทำงานเป็นได้ทั้งนิวโรทรานสมิทเทอร์ (neurotransmitter) และ นิวโรฮอร์โมน (neurohormone) (Lingle, 1981; Luschen *et al.*, 1993) ในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน DA ทำหน้าที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมน GSH หรือ VSH จากระบบสืบพันธุ์ กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนผลิตเม็ดสี (Fingerman, 1977; Quackenbush and Fingerman, 1984) และยับยั้งการหลั่ง CHH จากก้านตา (Sarojini *et al.*, 1995)

6. เวอร์ทีเบรท ไทป์ สเตียรอยด์ ฮอร์โมน (Vertebrate-type steroid hormone)

ฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์อยู่ในกลุ่มไขมัน สังเคราะห์จากคอเลสเตอรอล ประกอบด้วยคาร์บอน 21 อะตอมและมีโครงสร้างเป็นวง 5 เหลี่ยม 1 วงและ 6 เหลี่ยม 3 วง ซึ่งในรังไข่ ตับและตับอ่อนสามารถเปลี่ยนคอเรสเตอรอลเป็นฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์ได้ (Shih and Liao, 1998) ฮอร์โมนสเตอรอย์ที่พบในครัสตาเชียนได้แก่ โพรเจสเทอโรน (Progesterone: P4) เอสตราไดออล (Estradiol: E2) และเทสโทสเตอโรน (Testosterone: T) ระดับของฮอร์โมนแตกต่างตามระยะการเจริญพันธุ์ ฮอร์โมน P4 และ E2 ที่พบในเลือดกุ้ง *Pandalus kessleri* มีปริมาณมากในช่วงเริ่มต้นของระยะไวเทลโลเจนินและเริ่มลดลงหลังจากปล่อยไข่ (Quinitio *et al.*, 1991) ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ตรวจวัดพบฮอร์โมน P4 และ E2 ในเลือด รังไข่ ตับและตับอ่อน โดยระดับของฮอร์โมนทั้งสองมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของรังไข่ (Quinitio *et al.*, 1994) และการสร้างและสะสมไข่แดง (vitellin) (Fair *et al.*, 1989) ทำให้ไข่เพิ่มขนาด (*Litopenaeus vannamei*) (Tsukimura and Kamemoto, 1991)

ฮอร์โมนโพรเจสเทอโรน (P4) และ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีโพรเจสเทอโรน (17α-OHP4)

ฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 เป็นสเตียรอยด์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 21 อะตอม โครงสร้างเป็นวง 5 เหลี่ยม 1 วงและ 6 เหลี่ยม 3 วง (รูปที่ 1) และมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ สร้างจากรังไข่และ ตับและตับอ่อน สามารถพบฮอร์โมนกลุ่มนี้ในสัตว์หลายกลุ่ม เช่น ในสัตว์กลุ่มเดคาพอด (decapod) *Homarus* sp. *Penaeus* sp. *Portunus* sp. (Sandor, 1980; Burns *et al.*, 1984; Van Beek and De Loff, 1988; Fairs *et al.*, 1990) sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* ในหอย *Pecten hericius* (Botticelli *et al.*, 1961) และในสัตว์กลุ่มแมลง *Periplaneta* sp. *Neobellieria* sp. (Coleoptera, Dictyoptera, Diptera, Heteroptera, Homoptera, Hymenoptera, Orthoptera) (Bradbrook *et al.*, 1990) เป็นต้น

มีการตรวจพบฮอร์โมน P4 ในอวัยวะต่างๆของกุ้งมังกร *Homarus americanus* (Couch *et al.*, 1987) และกุ้ง *Mictyris brevidactylus* (Shih, 1997) ได้แก่ ในแมนดิบูลา ออแกน (mandibular organ) กรีนแกรน (green gland) ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) รังไข่ (ovary) และ ของเหลวในร่างกาย (serum)

จากการทดลอง in vitro พบว่ารังไข่ของกุ้งมังกร spiny lobster (*Panulirus japonicus*) จะเปลี่ยนคอเลสเตอรอลเป็นฮอร์โมนเพรกนีโนโลน (pregnenolone) และ P4 ซึ่งฮอร์โมน P4 ยังสามารถถูกเปลี่ยนรูปเป็นฮอร์โมนตัวอื่นๆที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ เช่น 17α-OHP4 (Shih and Liao, 1998) ได้โดยขบวนการเมตาบอลิสมที่อวัยวะต่างๆ เช่น ที่รังไข่ และตับและ

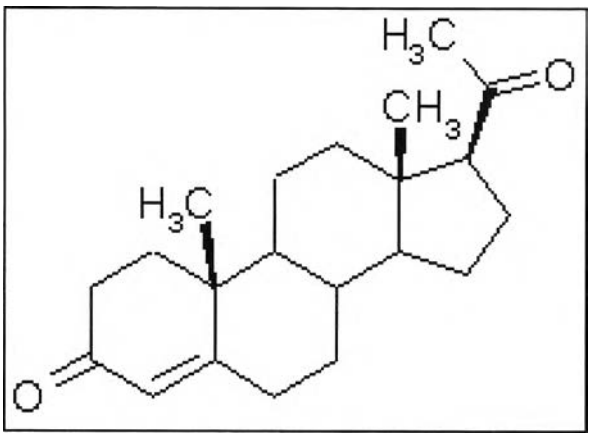
ตับอ่อนโดยเอนไซม์ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีเลส (17alpha-hydroxylase) (Swevers *et al.*, 1991) นอกจากนั้น ในรังไข่และลิมป์ฟอยด์ ออแกน (lymphoid organ) ของกุ้งขาว *Penaeus vannamei* ก็มีความสามารถเปลี่ยนฮอร์โมนเพรกนีโนโลน และ P4 เป็น 17α-OHP4 ได้เช่นกัน (Tsukimura, 1988)

กลไกการทำงาน

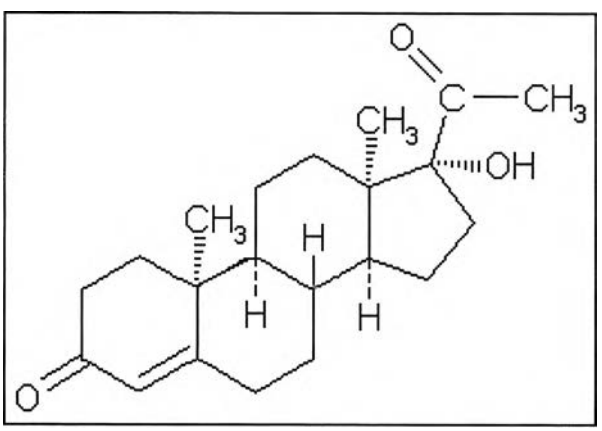
สเตียรอยด์ฮอร์โมนสามารถผ่านเข้าสู่นิวเคลียสได้ 2 วิธี คือโดยการแพร่ และการจับกับฮอร์โมน รีเซ็ปเตอร์ (receptors) ซึ่งตัวรับหรือตัวพาฮอร์โมนจะทำหน้าที่นำฮอร์โมนเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย เพื่อการทำงานหรือควบคุมระบบต่างๆ เช่น การทำงานของระบบสืบพันธุ์ ระบบภูมิคุ้มกัน การปรับสมดุลของเกลือแร่ การต้านทานความเครียด เป็นต้น การทำงานของตัวรับ แบ่งเป็น 2 แบบ คือ ตัวรับฮอร์โมนอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane steroid receptors) และตัวรับฮอร์โมนบริเวณนิวเคลียส (nuclear steroid receptors) โดยการทำงานของตัวรับฮอร์โมนบริเวณนิวเคลียสมีผลต่อการเกิดกระบวนการทรานสคริปชั่น (transcription) ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนตัวใหม่เกิดขึ้นช้ากว่าการทำงานของตัวรับฮอร์โมนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ แต่การทำงานของตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ คือ เมื่อฮอร์โมน P4 จับกับตัวรับฮอร์โมนบริเวณนิวเคลียส (progestin nuclear receptor) พบว่ามีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ (Pinter and Thomas, 1995) แต่ถ้าจับกับตัวรับฮอร์โมนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (progestin membrane receptor) จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ช่วงสุดท้าย (final maturation) ของเซลล์ไข่ และสเปิร์ม เป็นต้น (Thomas and Trant, 1989; Thomas and Ghosh, 1995)

หน้าที่ต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์

เมื่อฉีดฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 แก่กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) จะทำให้กุ้งมีไข่แก่โดยไม่ต้องบีบตา (เรณู และคณะ, 2534) ฮอร์โมนยังมีผลต่อการวางไข่ในกุ้ง *Metapenaeus ensis* และการปล่อยไข่ในกุ้ง *Penaeus sytlifera* (Nagabhushanam *et al.*, 1980) อีกด้วย ฮอร์โมนทั้งสองเริ่มออกฤทธิ์ที่ขบวนการสร้างและสะสมไข่แดง โดยกระตุ้นการหลั่งสารไวเทลโลเจนินสู่กระแสเลือดในกุ้ง *Penaeus japonicus* (Yano, 1987) และในไอโซพอด (isopod) (Souty *et al.*, 1982) ทำให้ไข่สร้างสะสมไวเทโลเจนนิน (Nagabhushanam *et al.*, 1980; Yano, 1987) และไขมันมากขึ้น (Kulkarni *et al.*, 1979) เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ขยายขนาดขึ้นในกุ้ง *Litopenaeus vannamei* (Tsukimura and Kamemoto, 1991) และกุ้ง *Parapenaeopsis hardwickii* (Kulkarni *et al.*, 1979) มีผลทำให้น้ำหนักอวัยวะสืบพันธุ์ต่อน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (Gonad Index; GSI) (*Chasmagnathus granulate*, Zapata *et al.*, 2003)



P4 (Progesterone; P4)



17 แอลฟา-ไฮดรอกซีP4 (17α-hydroxyprogesterone; 17α-OHP4)

รูปที่ 1 โครงสร้างฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 (วารุณี เกียรติดุริยกุล และ พิชิต เจริญกุล, 2543)

การจำแนกระยะเซลล์ไข่ในรังไข่ของกุ้งกุลาดำเพศเมีย

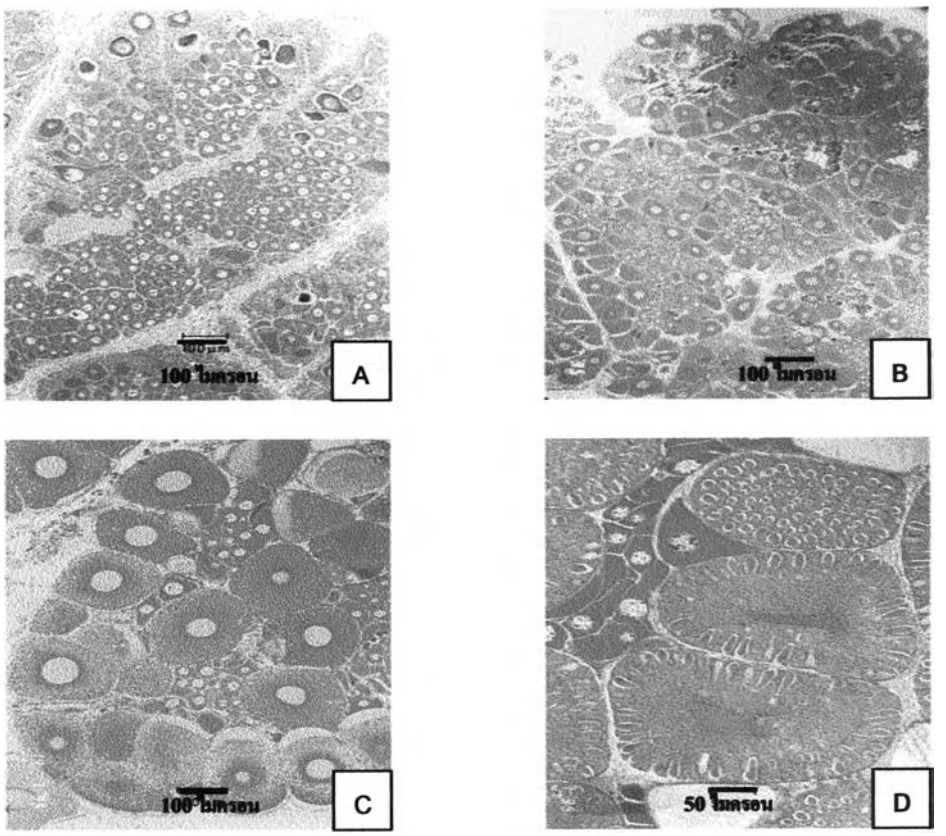
ระยะของไข่กุ้งกุลาดำสามารถจำแนกตามลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาตามการศึกษาของเรณู ยาชิโร (2533) และ Tan-Fermin and Pudadera (1989) (รูปที่ 2) ดังนี้

ระยะที่ 0, 1 หรือ พรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (Previtellogenic oocytes: Stage P) ประกอบด้วยโอโอโกเนีย (oogonia) และไพรมารี โอโอไซต์ (primary oocyte) ไข่มีขนาดเล็กรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 50 ไมครอน นิวเคลียสขนาดใหญ่สีขาว มีนิวคลีไอไล (nucleoli) กระจายอยู่จำนวนมากภายในนิวเคลียส ฟอลลิเคิล เซลล์ (follicle cells) มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสหรือผืนผ้า ย้อมติดสีม่วงของ haematoxylin และ eosin

ระยะที่ 2, 3 หรือ ไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (Vitellogenic oocytes: Stage V) ระยะนี้เซลล์ไข่เริ่มสะสมไข่แดง (yolk) ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จำนวนเซลล์ไข่ในรังไข่ลดลง ขนาดของเซลล์ไข่เพิ่มขึ้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 70ไมครอน ฟอลลิเคิล เซลล์เปลี่ยนรูปร่างจากสี่เหลี่ยมเป็นทรงกลม ย้อมติดสีม่วงของ haematoxylin และ eosin

ระยะที่ 4 หรือ ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (Oocytes with Cortical rod : Stage C) เซลล์ไข่มีขนาดเพิ่มขึ้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 180 ไมครอน พบคอร์ติคอลรอด (Cortical rod) ลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกยาวบริเวณขอบเซลล์และยื่นเข้าสู่บริเวณนิวเคลียส ติดสีย้อมของ Sudan black แสดงว่าเป็นส่วนประกอบของไขมัน พบเซลล์ไข่ระยะเสื่อม (atretic oocyte) กระจายอยู่เล็กน้อยภายในรังไข่ ไม่พบว่ามีจำนวนเซลล์ไข่เพิ่มขึ้นในระยะนี้

ระยะที่ 5 หรือ สเปนท์ สเตจ (Spent stage: Stage S) ระยะนี้ภายในรังไข่เกิดการตกของเซลล์ไข่ (ovulation) จึงเหลือแต่ follicle cells ที่มีลักษณะยวบตัวเข้าในช่องว่างที่เคยเป็นเซลล์ไข่ เรียกลักษณะของเซลล์ไข่ว่า atretic cells นอกจากนั้นพบไพรมารี โอโอไซต์ แต่สามารถแบ่งแยกจากระยะพรีไวเทลโลเจนิค โดยพบลักษณะของคอร์ติคอลรอด หลงเหลืออยู่



รูปที่ 2 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ระยะต่างๆ

A คือ ระยะพรีไวเทลโลเจนิค (previtellogenic stage)

B และ C คือ ระยะไวเทลโลเจนิค (vitellogenic stage)

C คือ ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

แหล่งที่มา : http:/www.aims.gov.au