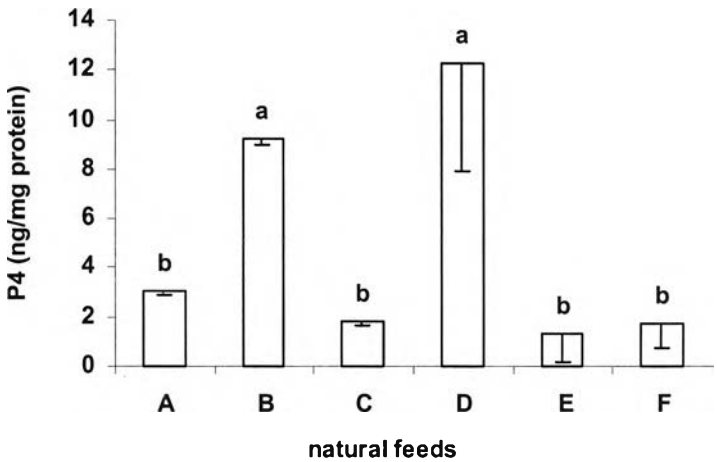
บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ในอาหารธรรมชาติของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ โดยเทคนิค Radioimmunoassay (RIA)

ผลการศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ในกุ้งและอาหารธรรมชาติที่นิยมใช้ในการบำรุงพันธุ์ของกุ้ง ได้แก่ กุ้งก้ามกราม (*Macrobranchium rosenbergii*) หมึกกล้วย (*Logigo* sp.) หอยลาย (*Paphia* sp.) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เพรียงเลือด (*Marphysa* sp.) และ เพรียงทราย (*Perinereis* sp.) พบว่า กุ้งกุลาดำ และหมึกกล้วยมีฮอร์โมนมากที่สุด (12.29±4.34 และ 9.19±0.21 ng/mg protein ตามลำดับ) และสูงกว่าสัตว์ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกุ้งก้ามกราม หอยลาย เพรียงทราย และเพรียงเลือด (3.08±0.24 1.80±0.14 1.69±0.94 และ 1.28± 1.08 ng/mg protein ตามลำดับ) (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ความเข้มข้นฮอร์โมน P4 (ng/mg protein) ในอาหารธรรมชาติของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ (A=*Macrobrachium rosenbergii*; B=*Logigo* sp.; C=*Paphia* sp.;D=*Penaeus monodon*; E=*Marphysa* sp.; F=*Perinereis* sp.)

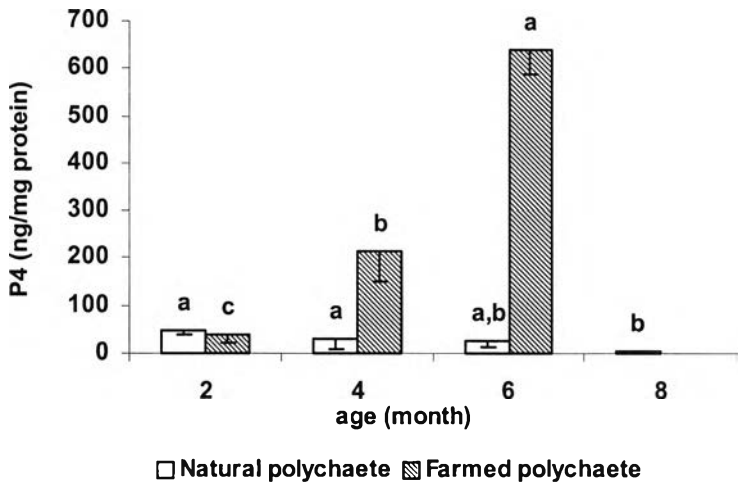
*อักษรที่ต่างกันเหนือกราฟแท่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2. ความเข้มข้นฮอร์โมน P4

2.1 ฮอร์โมน P4 ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติและแม่เพรียงทรายฟาร์มเพาะเลี้ยง

การศึกษาความเข้มข้นฮอร์โมนP4ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติที่มีอายุต่างกันได้แก่ อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน จำแนกตามน้ำหนักและความยาว (ภาคผนวก ค) พบว่า แม่เพรียงทรายอายุ 2 เดือน มีฮอร์โมน P4 มากที่สุด (47.48±6.70 ng/mg protein) แตกต่างกับแม่เพรียงทรายอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (31.70±22.74 ng/mg protein) 6 เดือน (23.62±8.69 ng/mg protein) และพบฮอร์โมนต่ำสุดในแม่เพรียงทรายอายุ 8 เดือน (3.86±0.34 ng/mg protein) (รูปที่ 5)

การศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ในแม่เพรียงทรายจากฟาร์มเพาะเลี้ยง อายุ 2 4 และ 6 เดือน จำแนกตามน้ำหนักและความยาว (ภาคผนวก ค) พบว่า แม่เพรียงทรายอายุ 6 เดือน มีฮอร์โมน P4 มากที่สุด (640.76±54.10 ng/mg protein) แตกต่างกับแม่เพรียงทรายอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (213.11±64.36 ng/mg protein) และ 2 เดือน (39.79±16.64 ng/mg protein) (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 ความเข้มข้นฮอร์โมน P4 (ng/mg protein) ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติ อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน เปรียบเทียบกับแม่เพรียงทรายฟาร์มเพาะเลี้ยง อายุ 2 4 และ 6 เดือน

*อักษรที่ต่างกันเหนือกราฟแท่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2.2 ฮอร์โมน P4 ในรังไข่ระยะต่างๆ ในแม่กุ้งกุลาดำ

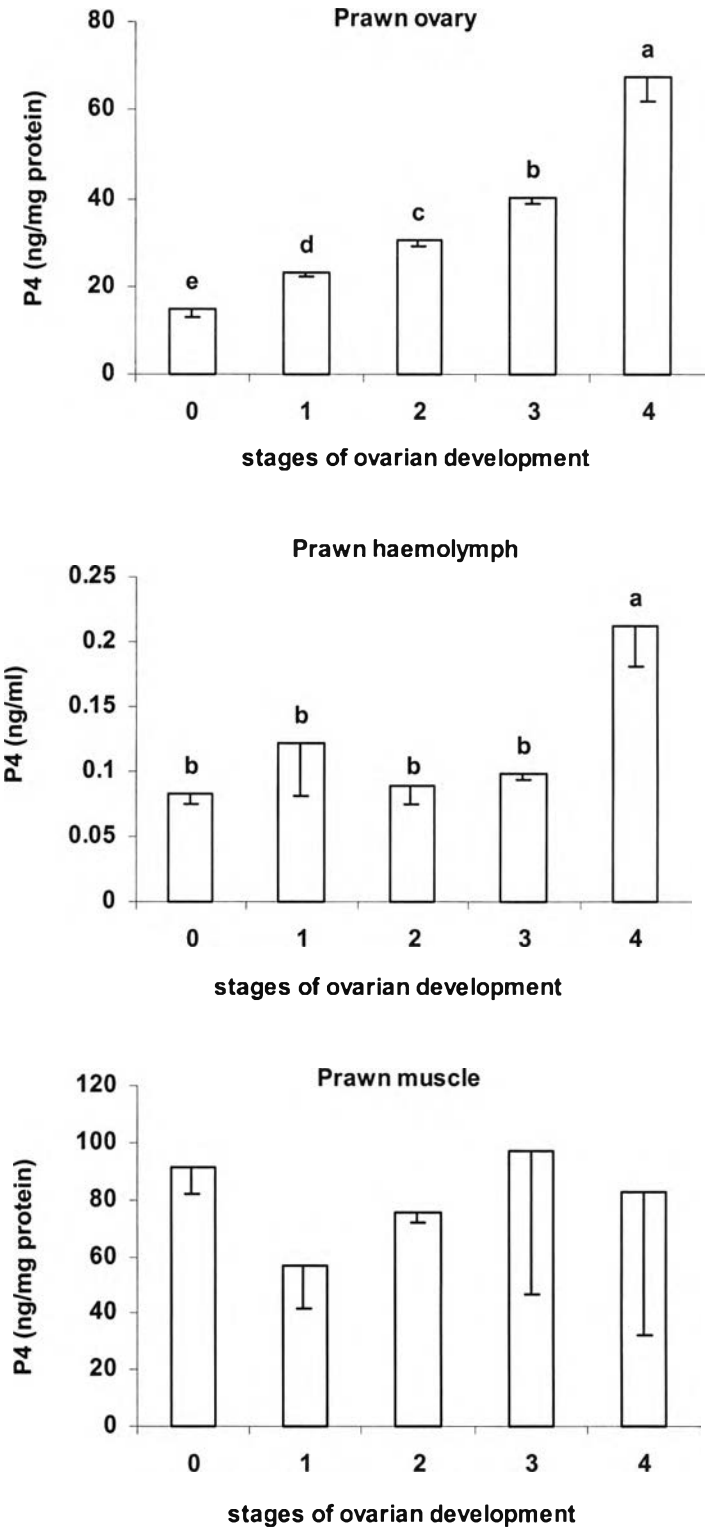
การศึกษาฮอร์โมน P4 ในรังไข่แม่กุ้งกุลาดำ ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 แสดงในรูปที่ 6 ฮอร์โมนในรังแต่ละระยะของการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยแม่กุ้งที่มีรังไข่ระยะที่ 0 มีฮอร์โมน P4 ต่ำสุด คือ 14.84±1.87 ng/mg protein จากนั้นฮอร์โมนจึงเพิ่มขึ้นตามลำดับ ตั้งแต่รังไข่ระยะที่ 1 (23.33±1.12 ng/mg protein) ระยะที่ 2 (30.34± 1.06 ng/mg protein) ระยะที่ 3 (40.03±0.99 ng/mg protein) จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (67.55±5.70 ng/mg protein)

2.3 ฮอร์โมน P4 ในเลือดของแม่กุ้งกุลาดำ

การศึกษาฮอร์โมน P4 ในเลือดแม่กุ้งกุลาดำ ที่มีรังไข่ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 (รูปที่ 6) พบว่า ในรังไข่ระยะที่ 0 มีฮอร์โมนต่ำสุด คือ 0.08±0.01 ng/ml และในรังไข่ระยะที่ 1 2 3 มีฮอร์โมน เท่ากับ 0.12±0.04 0.09±0.02 0.10±0.01 ng/ml ตามลำดับ โดยพบฮอร์โมนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (0.21±0.03 ng/ml) ซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนแตกต่างจากรังไข่ระยะอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2.4 ฮอร์โมน P4 ในกล้ามเนื้อของแม่กุ้งกุลาดำ

การศึกษาฮอร์โมน P4 ในกล้ามเนื้อแม่กุ้งกุลาดำ ที่มีรังไข่ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 (รูปที่ 6) ปริมาณฮอร์โมนในกล้ามเนื้อของกุ้งที่รังไข่ระยะต่างๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) และมีค่าความแปรปรวนสูงมาก ซึ่งฮอร์โมนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 3 (97.33±50.97 ng/mg Protein) และในรังไข่ระยะที่ 0 1 2 และ 4 มีฮอร์โมนเท่ากับ 91.08±9.33 57.10±15.27 75.17±3.23 และ 82.71± 50.14 ng/mg protein ตามลำดับ



รูปที่ 6 ความเข้มข้นฮอร์โมน P4 (ng/mg protein) ในรังไข่ เลือด และกล้ามเนื้อของแม่กุ้งกุลาดำ

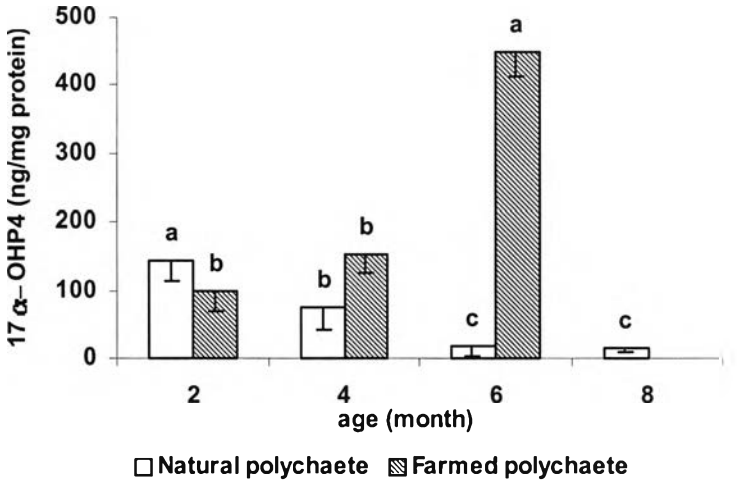
*อักษรที่แสดงเหนือกราฟแท่งที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. ความเข้มข้นฮอร์โมน 17α-OHP4

3.1 ฮอร์โมน 17α-OHP4 ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติและแม่เพรียงทรายฟาร์มเพาะเลี้ยง

การศึกษาความเข้มข้นฮอร์โมน 17α-OHP4 ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติ อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน จำแนกตามน้ำหนักและความยาว (ภาคผนวก ค) พบว่า แม่เพรียงทรายอายุ 2 เดือนมีฮอร์โมน 17α-OHP4 มากที่สุด (143.74±28.70 ng/mg protein) แตกต่างกับแม่เพรียงทรายอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (73.89±33.11 ng/mg protein) 6 เดือน (17.70±15.05 ng/mg protein) และฮอร์โมนต่ำสุดพบในแม่เพรียงทรายอายุ 8 เดือน (16.22± 8.55 ng/mg protein) (รูปที่ 7)

การศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมน 17α-OHP4 ในแม่เพรียงทรายจากฟาร์มเพาะเลี้ยง อายุ 2 4 และ 6 เดือน จำแนกตามน้ำหนักและความยาว (ภาคผนวก ค) พบว่า แม่เพรียงทรายอายุ 6 เดือน มีฮอร์โมน 17α-OHP4 มากที่สุด (449.07±35.48 ng/mg protein) แตกต่างกับแม่เพรียงทรายอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (151.20±25.91 ng/mg protein) และ 2 เดือน (100.29±31.70 ng/mg protein) ตามลำดับ (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 ความเข้มข้นฮอร์โมน 17α-OHP4 (ng/mg protein) ในแม่เพรียงทรายธรรมชาติ อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน เปรียบเทียบกับแม่เพรียงทรายฟาร์มเพาะเลี้ยง อายุ 2 4 และ 6 เดือน

*อักษรที่แสดงเหนือกราฟแท่งที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.2 ฮอร์โมน 17α-OHP4 ในรังไข่ระยะต่างๆ ในแม่กุ้งกุลาดำ

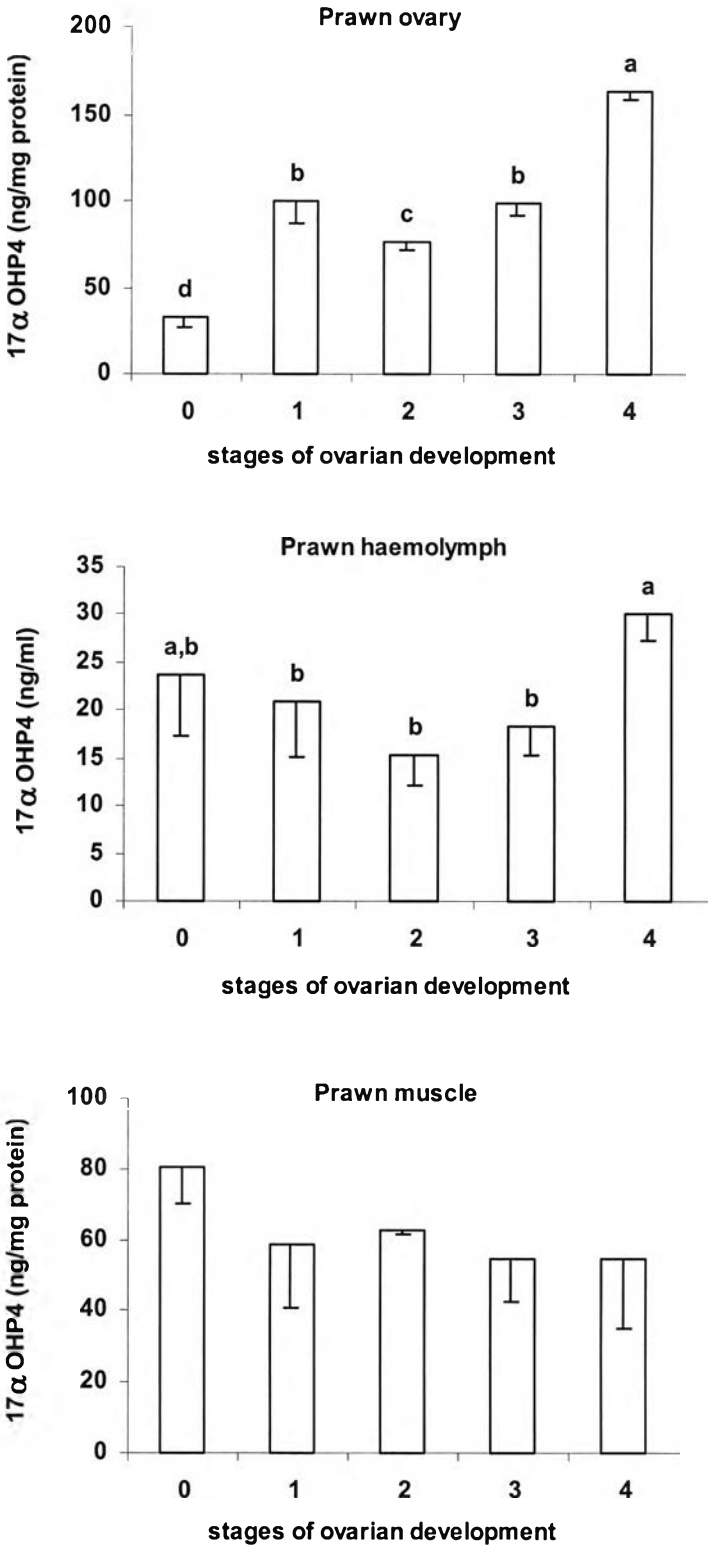
การศึกษาฮอร์โมน 17α-OHP4 ในรังไข่แม่กุ้งกุลาดำ ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 (รูปที่ 8) พบว่า ในรังไข่ระยะที่ 0 มีฮอร์โมนต่ำสุด คือ 33.17±5.75 ng/mg protein ซึ่งฮอร์โมนในรังไข่ระยะที่ 1 2 และ 3 มีค่าใกล้เคียงกัน เท่ากับ 99.59±12.55 76.64±4.29 และ 98.88±7.46 ng/mg protein ตามลำดับ แต่ฮอร์โมนในรังไข่ระยะที่ 4 (163.65±4.59 ng/mg protein) มีความเข้มข้นสูงสุดแตกต่างกับรังไข่ระยะต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.3 ฮอร์โมน 17α-OHP4 ในเลือดของแม่กุ้งกุลาดำ

การศึกษาฮอร์โมน 17α-OHP4 ในเลือดแม่กุ้งกุลาดำ ที่มีรังไข่ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 (มีค่าเท่ากับ 0.57±0.15 0.49±0.13 0.36±0.05 0.42±0.05 และ 0.48±0.03 ng/ml ตามลำดับ) (รูปที่ 8) พบว่า ฮอร์โมนในรังไข่แต่ละระยะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) และระดับฮอร์โมนในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของรังไข่

3.4 ฮอร์โมน 17α-OHP4 ในกล้ามเนื้อของแม่กุ้งกุลาดำ

การศึกษาฮอร์โมน 17α-OHP4 ในกล้ามเนื้อแม่กุ้งกุลาดำ ที่มีรังไข่ระยะที่ 0 1 2 3 และ 4 (รูปที่ 8) พบฮอร์โมนในรังไข่ระยะต่างๆ มีค่าเท่ากับ 80.25±10.28 58.35±17.79 62.63±1.33 54.50±11.88 และ 54.49±19.71 ng/mg protein ตามลำดับ ซึ่งฮอร์โมนในรังไข่แต่ละระยะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)



รูปที่ 8 ความเข้มข้นฮอร์โมน 17α-OHP4 (ng/mg protein) ในรังไข่ เลือด และกล้ามเนื้อของแม่กุ้งกุลาดำ

*อักษรที่แสดงเหนือกราฟแท่งที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถติ ($P<0.05$)

4. การศึกษาผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเปลี่ยนแปลงระยะของเซลล์ไข่

ศึกษาผลของฮอร์โมน P4 จากสารสกัดแม่เพรียงทรายและสารสังเคราะห์ บ่มเลี้ยงกับเซลล์ไข่แม่กุ้งกุลาดำ เพื่อศึกษาผลโดยตรงของฮอร์โมนต่อการเจริญของเซลล์ไข่ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงระยะของเซลล์ไข่ (รูปที่ 16)

4.1 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (previtellogenic oocytes)

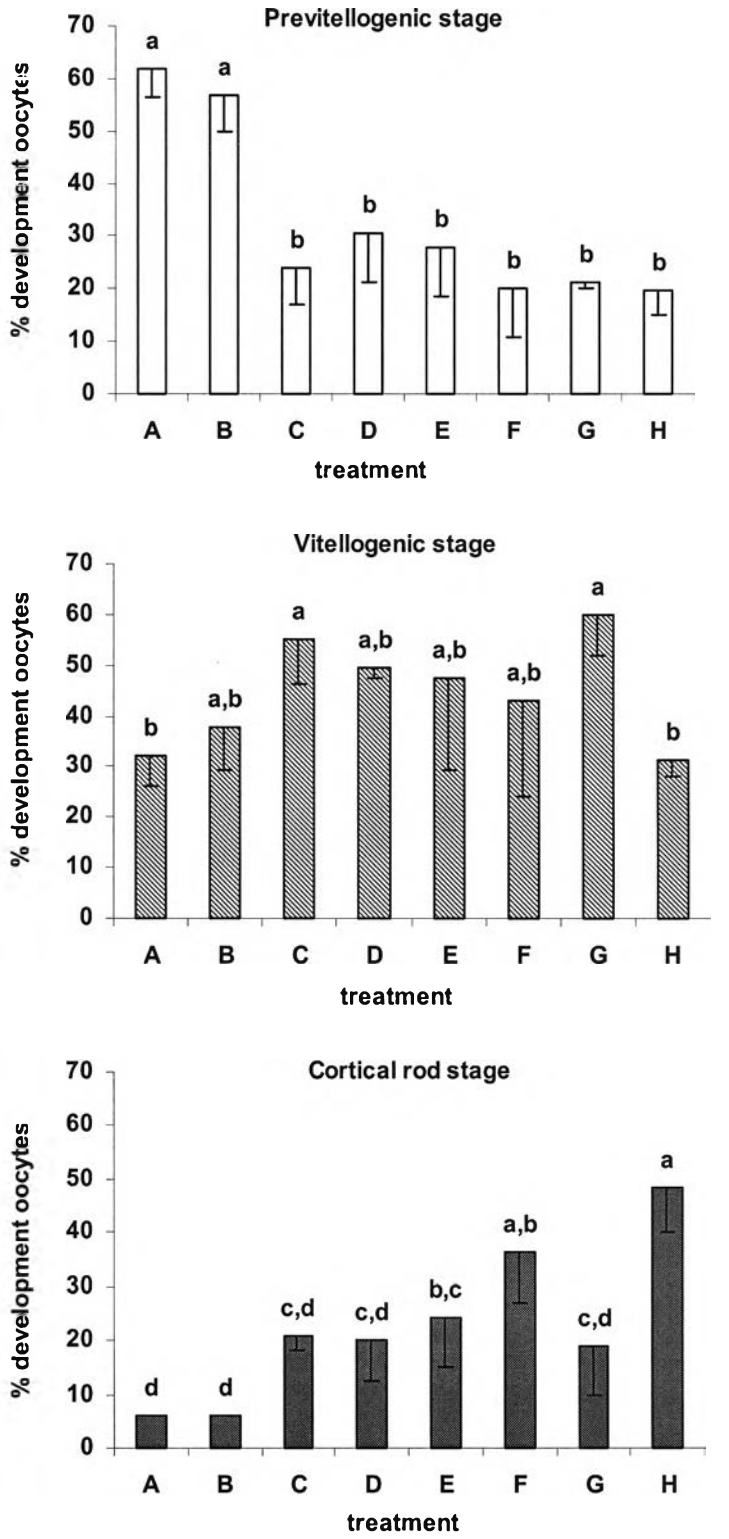
จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนเซลล์ไข่ ทำให้จำนวนเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ลดลงแตกต่างจากชุดควบคุมที่1 และ 2 (62±5.66 และ 57±7.07เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 9) โดยกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ระยะนี้ต่ำที่สุด (19.88±4.98 เปอร์เซ็นต์)

4.2 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (vitellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่1 และ 2 (32±5.66 และ 38±8.49เปอร์เซ็นต์) ($P>0.05$) (รูปที่ 9) โดยกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.7 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ระยะนี้มากที่สุด (60.09±8.05 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย ที่ความเข้มข้น 0.4 ng/ml (55.20±8.82 เปอร์เซ็นต์)

4.3 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลทำให้จำนวนเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดเพิ่มขึ้นแตกต่างจากชุดควบคุมที่1 และ2 (6±0 และ 6±0 เปอร์เซ็นต์) โดยกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ (24.31±9.13 เปอร์เซ็นต์) เพิ่มขึ้นกว่าในกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทรายที่ความเข้มข้น 0.4 ng/ml (20.84±2.69 เปอร์เซ็นต์) และ 0.7 ng/ml (20.16±7.69 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับจำนวนเซลล์ไข่ในกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml ที่เพิ่มขึ้นมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง (48.55±8.48 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 9)



รูปที่ 9 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (PO) ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (VO) และระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (CR) ภายในรังไข่เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml

หมายเหตุ A = กลุ่มควบคุมที่1 (ก่อนการทดลอง)
B = กลุ่มควบคุมที่2 (ไม่เติมฮอร์โมน)
C = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 0.4 ng/ml
D = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 0.7 ng/ml
E = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 1.0 ng/ml
F = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.4 ng/ml
G = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.7 ng/ml
H = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml

5 การศึกษาผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่

ศึกษาผลของฮอร์โมน P4 จากสารสกัดแม่เพรียงทรายและสารสังเคราะห์ บ่มเลี้ยงกับเซลล์ไข่แม่กุ้งกุลาดำ เพื่อศึกษาผลโดยตรงของฮอร์โมนต่อการเจริญของเซลล์ไข่ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ (รูปที่ 16)

5.1 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (previtellogenic oocytes)

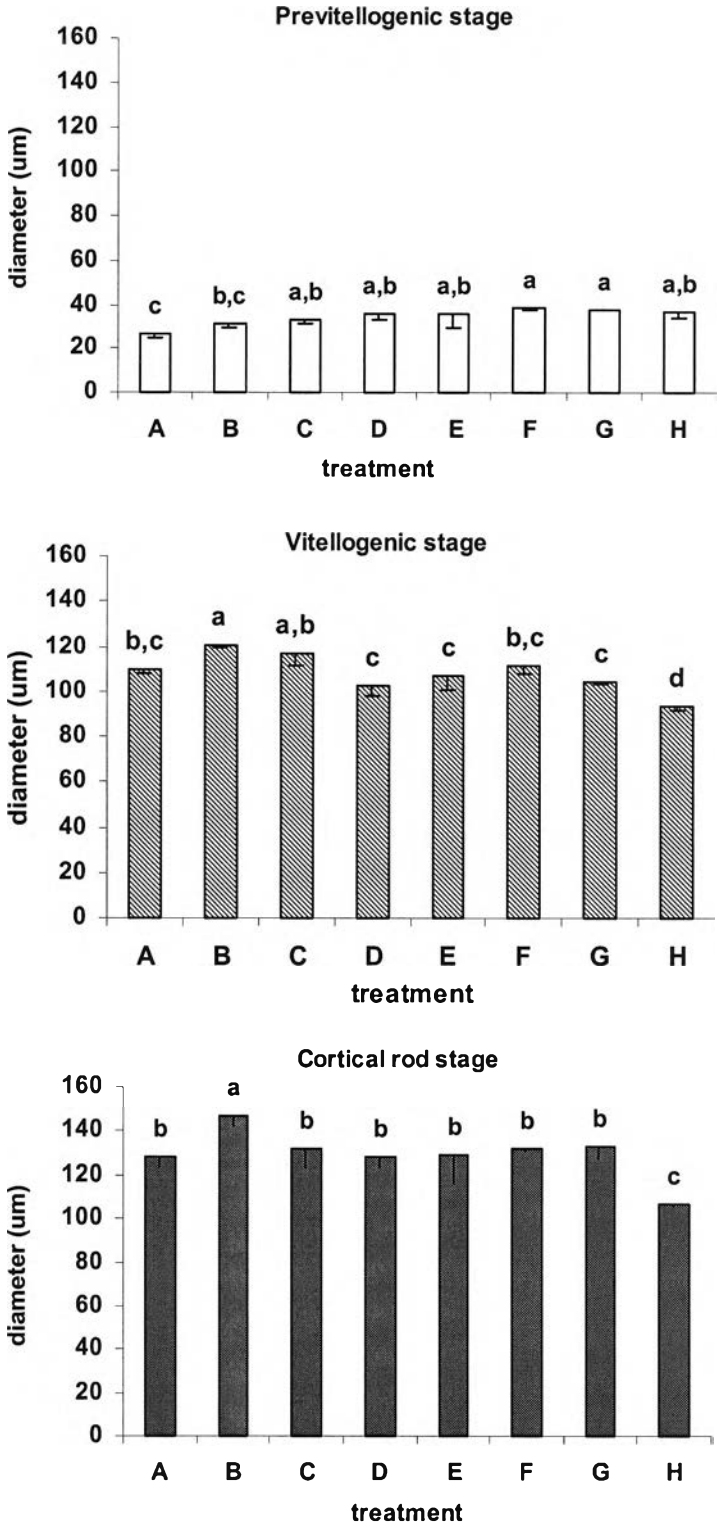
จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml พบว่า กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 ng/ml ทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่เพิ่มขึ้นแตกต่างกับกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (26.38±1.24 และ 31.0±1.41 ไมครอน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 10)

5.2 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (vitellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (110±1.77 และ 120.63± 0.88 ไมครอน) พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ โดยชุดการทดลองฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีผลทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่มีขนาดลดลง (93.91±1.99 ไมครอน) แตกต่างจากทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 10)

5.3 ผลของฮอร์โมน P4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (128.13±4.42 และ 146.88±4.42 ไมครอน) พบว่า กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ โดยทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่มีขนาดลดลง (106.23±0.85 ไมครอน) แตกต่างจากทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (PO) ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (VO) และ ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (CR) ภายในรังไข่เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml

I22747792

หมายเหตุ A = กลุ่มควบคุมที่1 (ก่อนการทดลอง)
B = กลุ่มควบคุมที่2 (ไม่เติมฮอร์โมน)
C = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้นข้น 0.4 ng/ml
D = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 0.7 ng/ml
E = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 1.0 ng/ml
F = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.4 ng/ml
G = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.7 ng/ml
H = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml

6 การศึกษาผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเปลี่ยนแปลงระยะของเซลล์ไข่

ศึกษาผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 จากสารสกัดแม่เพรียงทรายและสารสังเคราะห์ บ่มเลี้ยงกับเซลล์ไข่แม่กุ้งกุลาดำ เพื่อศึกษาผลโดยตรงของฮอร์โมนต่อการเจริญของเซลล์ไข่ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงระยะของเซลล์ไข่ (รูปที่ 17)

6.1 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (previtellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml จำนวนเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ของกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (62±5.66 และ 57±7.07เปอร์เซ็นต์) พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนเซลล์ไข่ ทำให้เซลล์ไข่ระยะนี้ลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 11) โดยกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ระยะนี้ต่ำที่สุด (10.31±9.34 เปอร์เซ็นต์)

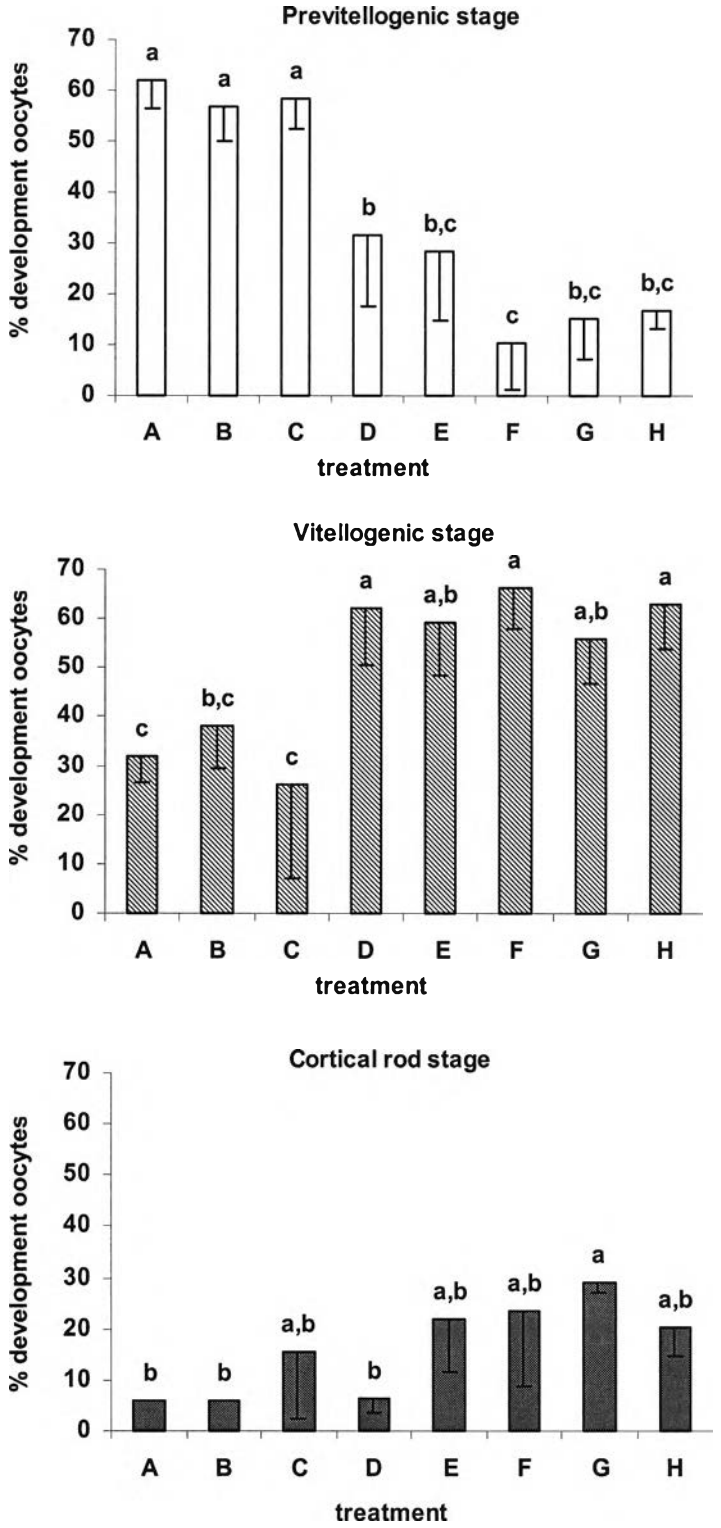
6.2 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (vitellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลทำให้จำนวนเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ระยะนี้มากที่สุด (66.18±8.36 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 3.0 ng/ml (63.01±9.05

เปอร์เซ็นต์) และกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย ที่ความเข้มข้น 2.0 ng/ml (61.95±11.39) ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ 1 และ 2 (32±5.66 และ 38±8.49เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 11)

6.3 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลทำให้จำนวนเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่1 และ2 (6±0 และ 6±0 เปอร์เซ็นต์) โดยกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย ที่ความเข้มข้น 3.0 ng/ml มีจำนวนเซลล์ไข่ (21.76±10.17 เปอร์เซ็นต์) เพิ่มขึ้นกว่าในกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทรายที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml (15.63±13.26 เปอร์เซ็นต์) และ 2.0 ng/ml (6.43±2.75 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับจำนวนเซลล์ไข่ในกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ความเข้มข้น 2.0 ng/ml ที่เพิ่มขึ้นมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง (29.16±2.21 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (PO) ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (VO) และระยะที่มีคอร์ติคอล รอด (CR) ภายในรังไข่เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml

หมายเหตุ A = กลุ่มควบคุมที่1 (ก่อนการทดลอง)
B = กลุ่มควบคุมที่2 (ไม่เติมฮอร์โมน)
C = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้นข้น 1.0 ng/ml
D = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 2.0 ng/ml
E = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 3.0 ng/ml
F = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml
G = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 2.0 ng/ml
H = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 3.0 ng/ml

7 การศึกษาผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่

ศึกษาผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 จากสารสกัดแม่เพรียงทรายและสารสังเคราะห์ บ่มเลี้ยงกับเซลล์ไข่แม่กุ้งกุลาดำ เพื่อศึกษาผลโดยตรงของฮอร์โมนต่อการเจริญของเซลล์ไข่ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ (รูปที่ 17)

7.1 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (previtellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่จากกลุ่มสารสกัดแม่เพรียงทราย กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ และกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (26.38±1.24 และ 31.0±1.41 ไมครอน) พบว่า ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ ($P>0.05$) (รูปที่ 12)

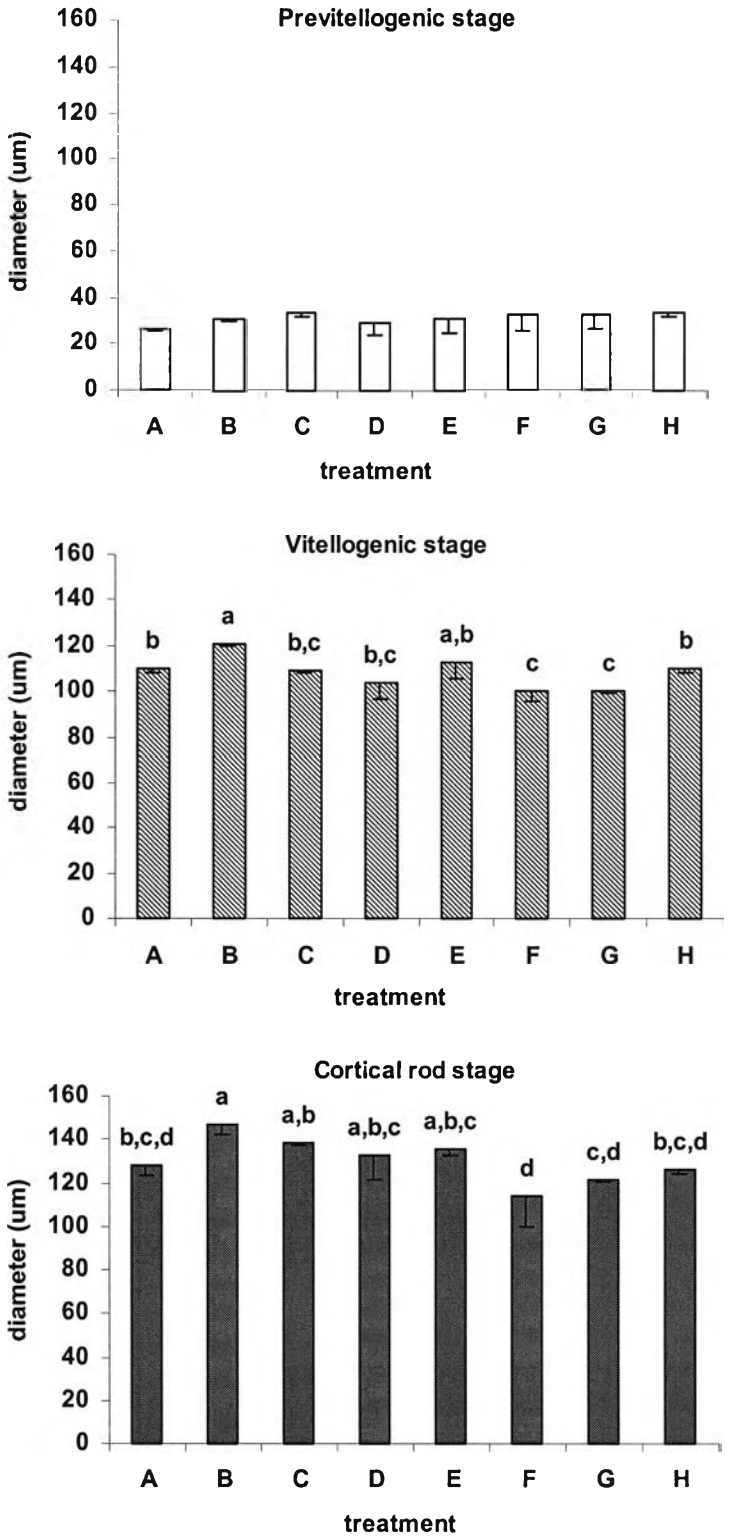
7.2 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (vitellogenic oocytes)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml พบว่า กลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ โดยกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีผลทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่มีขนาดลดลง

(100.35±4.63ไมครอน) แตกต่างกับกลุ่มควบคุมที่1 และ 2 (110±1.77 และ 120.63±0.88 ไมครอน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (รูปที่ 12)

7.3 ผลของฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัดจากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml พบว่า กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ โดยทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่มีขนาดลดลง (114.34±14.42 ไมครอน) แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ 2 (146.88±4.42 ไมครอน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (รูปที่ 12)

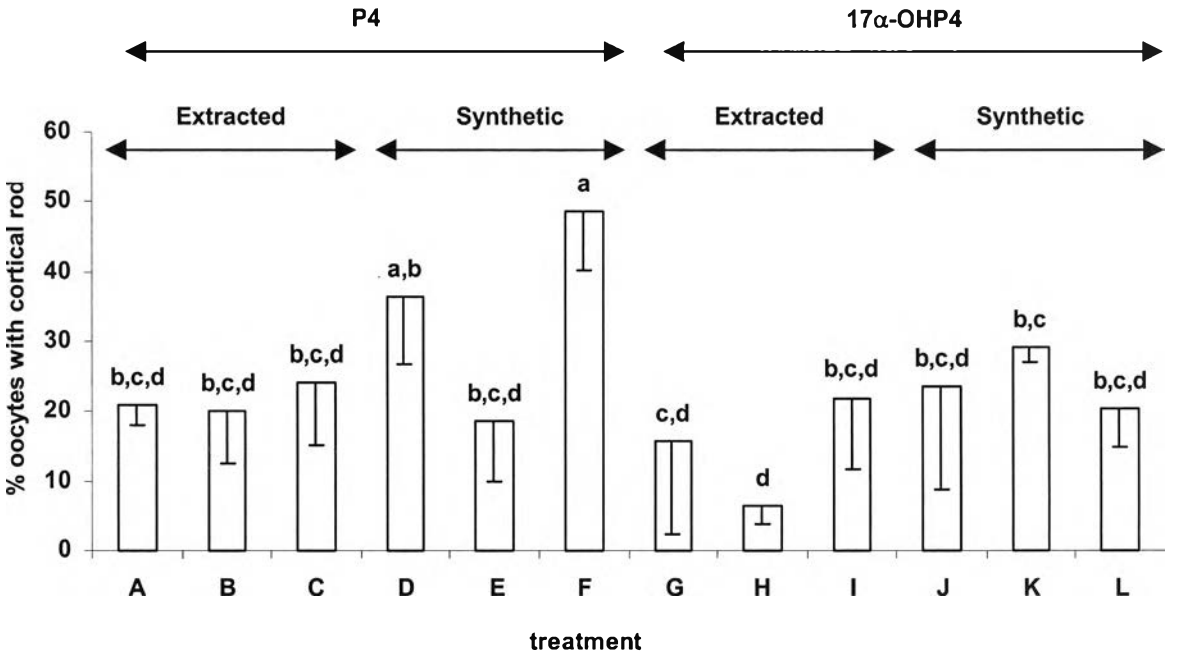


รูปที่ 12 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (PO) ระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ (VO) และระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (CR) ภายในรังไข่เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัดฮอร์โมน 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml

หมายเหตุ A = กลุ่มควบคุมที่1 (ก่อนการทดลอง)
B = กลุ่มควบคุมที่2 (ไม่เติมฮอร์โมน)
C = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้นข้น 1.0 ng/ml
D = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 2.0 ng/ml
E = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 3.0 ng/ml
F = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml
G = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 2.0 ng/ml
H = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 3.0 ng/ml

8 เปรียบเทียบผลของฮอร์โมน P4 และ ฮอร์โมน 17α-OHP4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (oocytes with cortical rod)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กับสารสกัด P4 และ 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มแตกต่างกัน พบว่า ทุกกลุ่มการทดลองมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด โดยการทดลองฮอร์โมน P4 ในกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดมากกว่าในกลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย เช่นเดียวกับการทดลองของฮอร์โมน 17α-OHP4 ที่กลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่มากกว่ากลุ่มสารสกัดจากแม่เพรียงทราย โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดระหว่างฮอร์โมน P4 และ17α-OHP4 พบว่า ฮอร์โมนที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่มากกว่า คือ ฮอร์โมน P4 ในกลุ่มฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml (48.55±8.48 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีจำนวนเซลล์ไข่ระยะนี้สูงที่สุดแตกต่างจากทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 13)



รูปที่ 13 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด (CR) ภายในรังไข่เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัด P4 และ 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

A = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้นข้น 0.4 ng/ml

B = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 0.7 ng/ml

C = กลุ่มสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 1.0 ng/ml

D = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.4 ng/ml

E = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 0.7 ng/ml

F = กลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml

G = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้นข้น 1.0 ng/ml

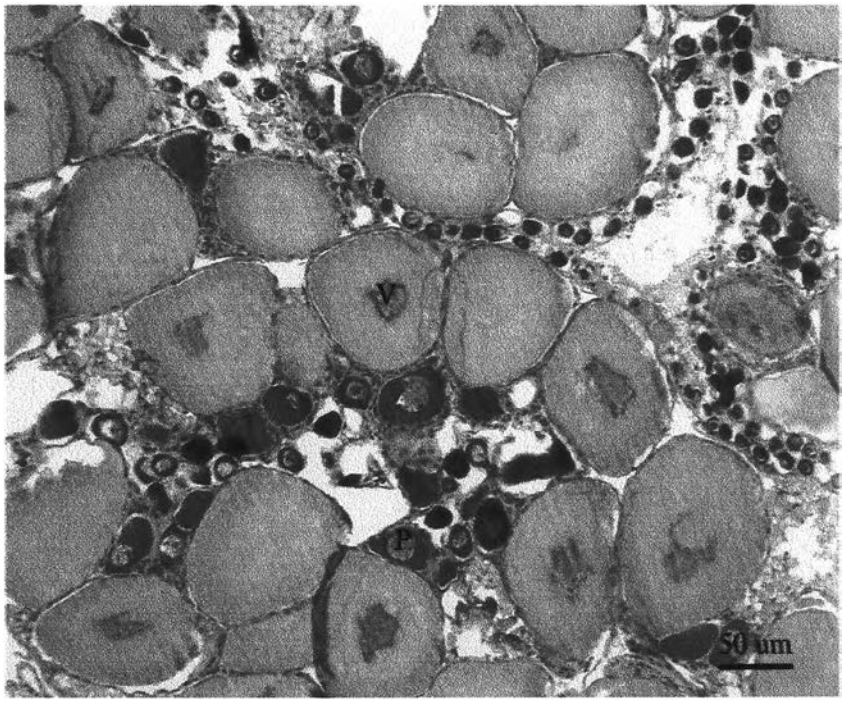
H = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 2.0 ng/ml

I = กลุ่มสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ความเข้มข้น 3.0 ng/ml

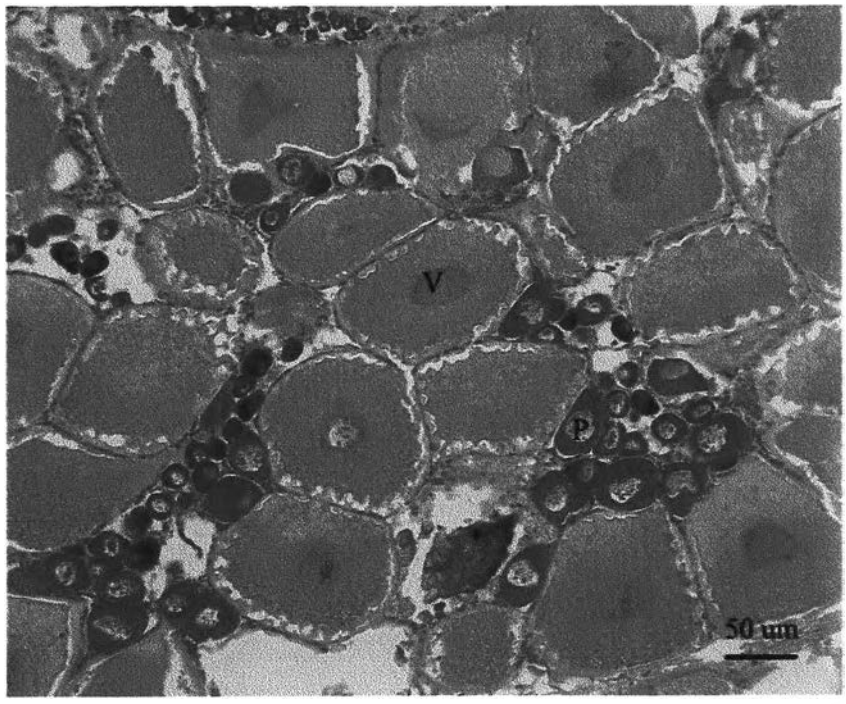
J = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 1.0 ng/ml

K = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 2.0 ng/ml

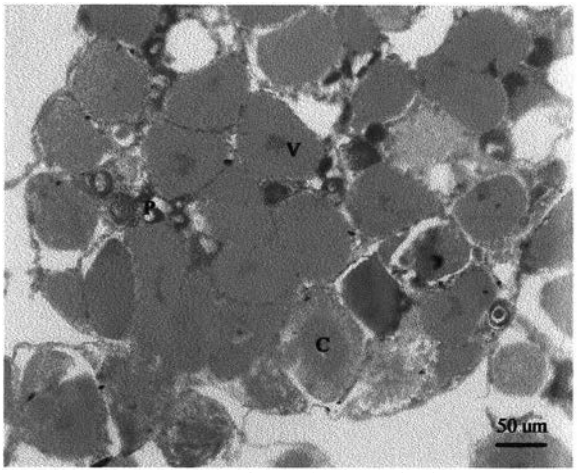
L = กลุ่มฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ความเข้มข้น 3.0 ng/ml



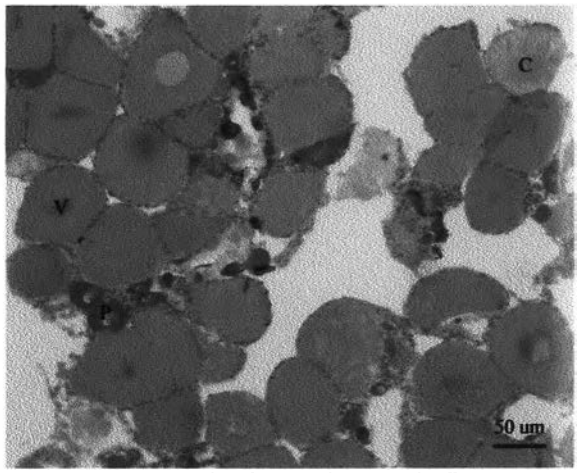
รูปที่ 14 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เมื่อตรึงในน้ำยาตรึงเดวิดสัน (Davidson's fixative) แท่งทึบ (bar) ขนาด 50 ไมครอน



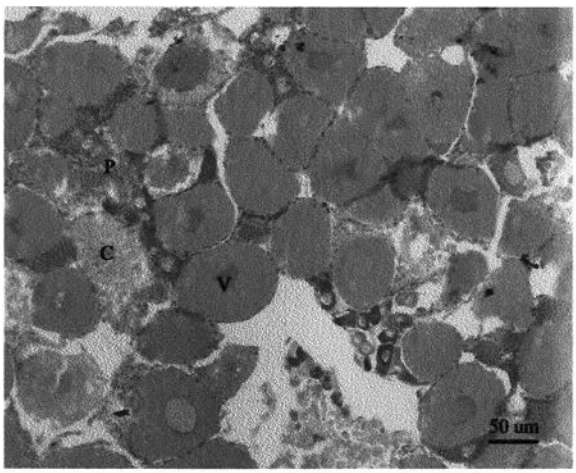
รูปที่ 15 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เมื่อบ่มเลี้ยงในน้ำเลี้ยง (ไม่เติมฮอร์โมน) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แท่งทึบ (bar) ขนาด 50 ไมครอน



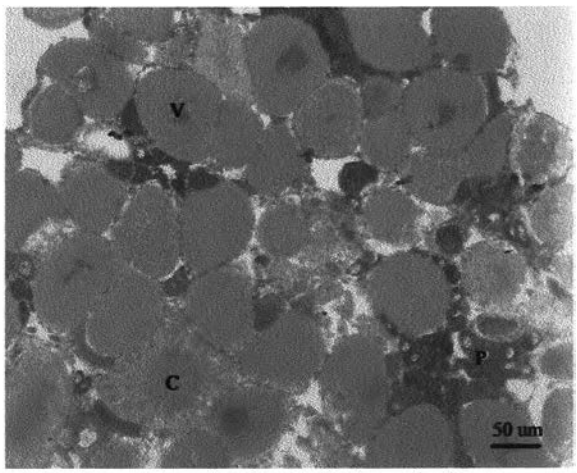
Extracted P4 (0.4 ng/ml)



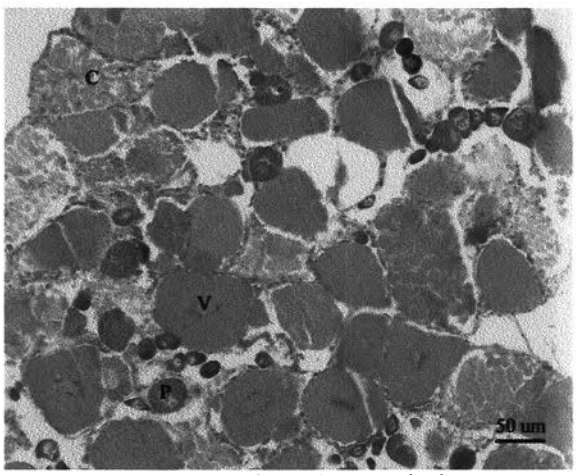
Synthetic P4 (0.4 ng/ml)



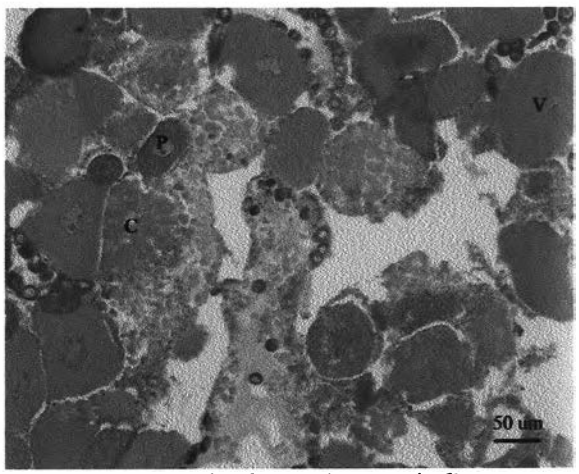
Extracted P4 (0.7 ng/ml)



Synthetic P4 (0.7 ng/ml)

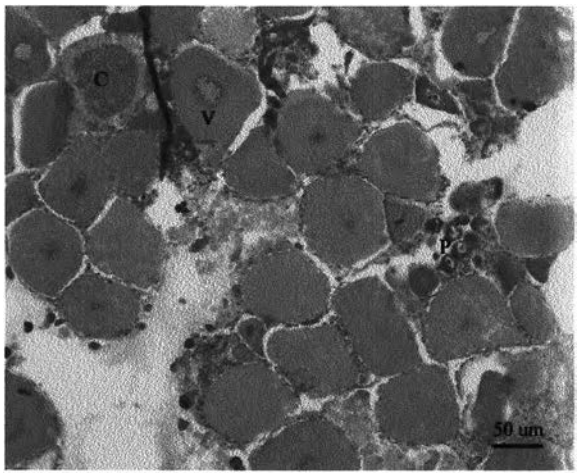


Extracted P4 (1.0 ng/ml)

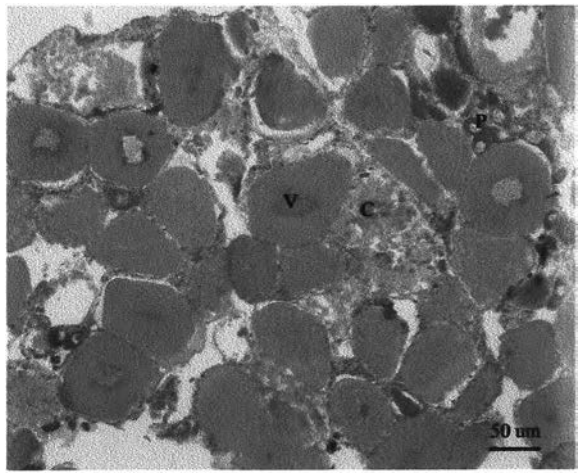


Synthetic P4 (1.0 ng/ml)

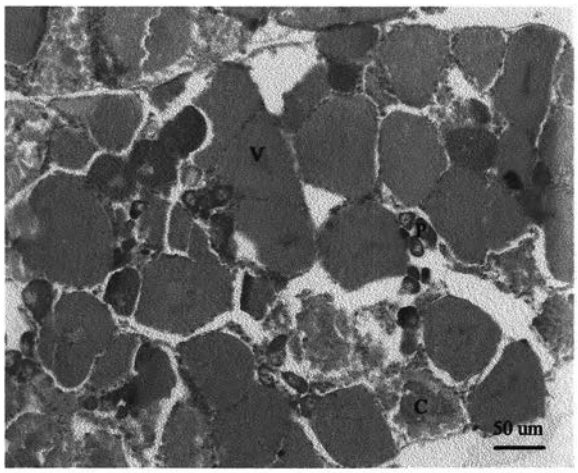
รูปที่ 16 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัดฮอร์โมน P4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 0.7 และ 1.0 ng/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แท่งทึบ (bar) ขนาด 50 ไมครอน



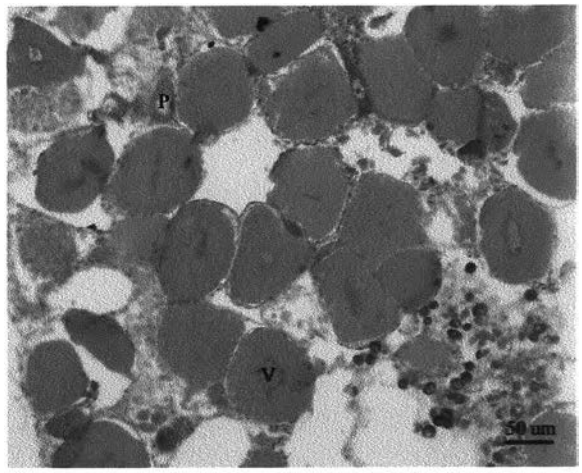
Extracted 17α-OHP4 (1.0 ng/ml)



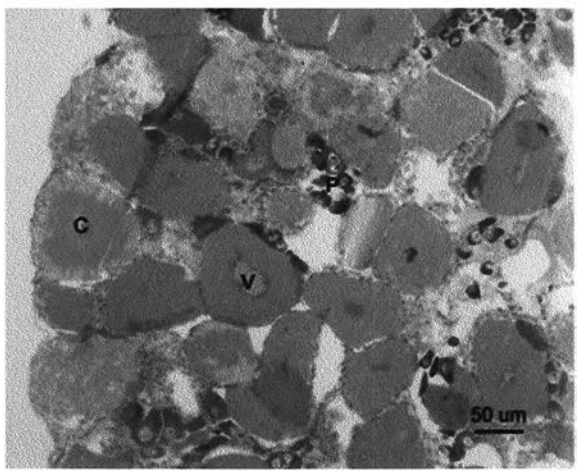
Synthetic17α-OHP4 (1.0 ng/ml)



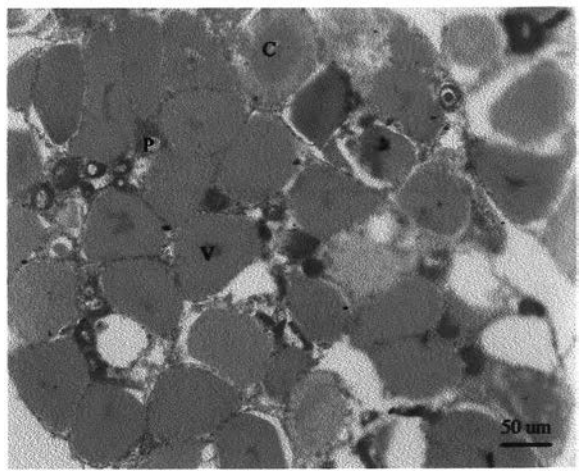
Extract 17α-OHP4 (2.0 ng/ml)



Synthetic 17α-OHP4 (2.0 ng/ml)



Extracted 17α-OHP4 (3.0 ng/ml)



Synthetic 17α-OHP4 (3.0 ng/ml)

รูปที่ 17 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เมื่อบ่มเลี้ยงกับสารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 ng/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แท่งทึบ (bar) ขนาด 50 ไมครอน