บทที่ 5

อภิปรายผล

วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการตรวจพบฮอร์โมนสเตียรอยด์ P4 และ 17α-OHP4 ในแม่เพรียงทราย แสดงให้เห็นว่า ฮอร์โมนสเตียรอยด์ มีการพัฒนาในสัตว์พวกแม่เพรียง โดยฮอร์โมนดังกล่าวมีบทบาทหน้าที่เกี่ยวข้องการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ สามารถพบได้ในพ่อแม่พันธุ์กุ้ง หมึก หอย อย่างไรก็ตาม กุ้งกุลาดำยังเป็นสัตว์น้ำที่มีปริมาณฮอร์โมนสเตียรอยด์กลุ่มนี้สูงสุด

ระดับของฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ในแม่เพรียงทราย เปลี่ยนแปลงไปตามอายุของสัตว์ โดยที่แม่เพรียงทรายที่เก็บรวบรวมจากธรรมชาติอายุน้อยสุด จะมีระดับของฮอร์โมนสูงสุด และลดลงเมื่อแม่เพรียงเติบโตขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับแม่เพรียงฟาร์มเลี้ยง ที่แม่เพรียงวัยเจริญพันธุ์จะมีระดับฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 มากกว่าแม่เพรียงวัยอ่อน ผลการทดลองที่ได้รับเป็นสิ่งที่ตรงข้ามกับความคาดหมาย ชี้ให้เห็นว่าฮอร์โมนสเตียรอยด์ในแม่เพรียงอาจไม่เกี่ยวเนื่องกับการเจริญพันธุ์ แต่เกี่ยวข้องการพัฒนาช่วงวัยอ่อน (Darvas *et al.*, 1997) หรือ การสร้างฮอร์โมนสเตียรอยด์อาจเป็นผลมาจากการได้รับอาหารที่มีสารตั้งต้นของฮอร์โมนตัวนั้นๆ (Marsh *et al.*, 1990)

การมีอยู่ของฮอร์โมนสเตียรอยด์เกิดทั้งจากขบวนการสังเคราะห์ภายในร่างกาย (de novo synthesis) และการได้รับฮอร์โมนโดยตรงจากอาหารที่กินเข้าไป หรือจากแหล่งภายนอกอื่น สัตว์ชั้นต่ำหลายกลุ่ม มีความสามารถในการสังเคราะห์สเตียรอยด์ จากการวัดสารสกัดรังไข่ Silkworm (*Bombyx mori*) พบว่ามีฮอร์โมนเอสตราไดออล (estradiol) เป็นองค์ประกอบ (Ohnishi *et al.*, 1985) สัตว์ในกลุ่มแอนนีลิดา (Annelida) มี cytochrome P450 ในเซลล์ไมโตคอนเดรีย (Mitochondria) และ เอนโดพลาสมิค เรติคูลัม (Endoplasmic reticulum) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฮอร์โมนต่างๆ โดยเฉพาะสเตียรอยด์ ฮอร์โมน (Lee, 1998) จึงคาดว่าแม่เพรียงซึ่งเป็นสัตว์กลุ่ม Annelida เช่นกัน ก็น่าที่จะมีความสามารถในการสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ อย่างไรก็ตาม อัตราการสังเคราะห์สเตียรอยด์อาจต่ำมาก จนไม่เพียงพอต่อความต้องการ จำเป็นที่ต้องมีการรับโดยตรงจากภายนอก ทั้งจากสิ่งแวดล้อม และอาหารที่กินเข้าไป เช่นกรณีของฟองน้ำ (Walton and Pennock, 1972 อ้างถึงใน Kanazawa, 2001) หรือสัตว์กลุ่มนีมาโทด (Nematode) ที่เป็นปรสิตของพืช (*Caenorhabditis elegans*) (Entchev and Kurzchalia, 2005) ผลการทดลองของ Marsh *et al.*

(1990) ใน *Capitella* sp. (Annelida: Polychaeta) ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆกัน ส่งผลทำให้แม่เพรียงแต่ละกลุ่มมีองค์ประกอบของสเตอรอลต่างกันด้วย แสดงถึงอิทธิพลของอาหารต่อการมีอยู่ของสเตียรอยด์ในตัวสัตว์

เช่นเดียวกับฮอร์โมนสเตียรอยด์ กรดไขมันในแม่เพรียงได้มาจากสองแหล่ง คือจากการสังเคราะห์และจากอาหาร (Cowey and Sargent, 1972 อ้างถึงใน Luis and Passos, 1995) ปริมาณของกรดไขมันสะสมในเนื้อเยื่อแม่เพรียง *Nereis diversicolor* มีการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับฤดูกาล อาหาร อุณหภูมิ และสภาพทางสรีรวิทยาของสัตว์ เช่นกำลังอยู่ในช่วงเจริญเติบโตปกติ หรืออยู่ในช่วงการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยอาหารเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญสูงสุด (Luis and Passos, 1995) แต่อิทธิพลของอาหาร ยังมีความแตกต่างกันออกไป แล้วแต่ชนิดของแม่เพรียงอีกด้วย (Pocock *et al.*, 1971; Dales, 1957)

ผลจากการวัดฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 จากหลายอวัยวะในกุ้งทะเล ที่ช่วงพัฒนาการของรังไข่และไข่ต่างๆ กัน แสดงว่า ฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 มีความสัมพันธ์ต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ (Quinito *et al.*, 1992) ในแม่เพรียงพบว่าความสัมพันธ์ของ P4 และ 17α-OHP4 เป็นไปในทางตรงข้าม กล่าวคือ แม่เพรียงอายุน้อยจะมีปริมาณฮอร์โมนมากกว่าแม่เพรียงวัยเจริญพันธุ์ หรือกล่าวได้ว่ามีความสัมพันธ์แบบผกผัน ตัวอย่างสัตว์ชนิดอื่นที่ฮอร์โมนสเตียรอยด์ไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญพันธุ์ หรือเกี่ยวข้องแบบผกผันคือ การทดลองในแมลงสาบอเมริกัน (American Cockroach, *Periplaneta americana*) (Darvas *et al.*, 1997) พบว่ามีฮอร์โมน P4 สูงสุดในระยะตัวอ่อน (procuticle phase) ฮอร์โมนจะลดลงต่ำสุดในช่วงเจริญพันธุ์ และไม่พบการสะสมของฮอร์โมนในอวัยวะสืบพันธุ์ แต่กลับพบสะสมมากที่สุดในระบบย่อยอาหาร (digestive system) และ Malpighian tubules หรือจากการตรวจวัดเมตาบอลิสมของ P4 ใน Blow fly (*Calliphora vicina*) พบว่าอวัยวะที่มีการ uptake P4 และ 17α-OHP4 มาใช้ไม่ใช่อวัยวะสืบพันธุ์ แต่เป็น ต่อมน้ำลายและเซลล์ประสาท (Bidmon and Stumpf, 1991) Swever (1991) สรุปในรายงานวิจัยเกี่ยวกับ P4 ของแมลงว่า รังไข่ของแมลง water beetle (*Acilius sulcatus*) และ tobacco hornworm (*Manduca sexta*) ไม่ได้เป็นอวัยวะที่สังเคราะห์ P4 และ 17α-OHP4 ฮอร์โมนทั้งสองจึงไม่มีบทบาทในการเจริญของรังไข่และไข่ในแมลงนั้น นอกจากแมลงแล้ว ใน ดาวทะเล สกุล *Sclerasterias mollis* จะพบฮอร์โมน P4 สูงสุดในรังไข่ระยะที่ 1 (previtellogeneis) และระดับของฮอร์โมนจะลดลงเรื่อยๆเมื่อสัตว์เริ่มเข้าสู่ฤดูกาลผสมพันธุ์ นอกจากนั้น ฮอร์โมนมีการสะสมมากใน pyloric caeca ซึ่งเป็นส่วนเก็บอาหาร ดูเหมือนว่าฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 มีส่วนในการยับยั้งขบวนการ oogenesis ในดาวทะเล (Xu and Barker, 1990)

อีกสาเหตุของการที่แม่เพรียงวัยเจริญพันธุ์มี P4 และ 17α-OHP4 น้อยกว่าแม่เพรียงวัยอ่อนนั้น อาจเนื่องจากการทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนโพรสตาแกลนดิน (PGs) ที่มีอยู่มากในแม่เพรียง งานวิจัยก่อนหน้าโดยเอกชัย ดวงใจ (2548) พบว่าในแม่เพรียงธรรมชาติ ฮอร์โมน PG จะเพิ่มขึ้นตามอายุของแม่เพรียง และมีความสัมพันธ์ชัดเจนกับการเจริญพันธุ์ อาจเป็นไปได้ที่ฮอร์โมน PG ในแม่เพรียงเป็นตัวยับยั้งการสังเคราะห์ P4 ในช่วงที่แม่เพรียงถึงวัยเจริญพันธุ์

ฮอร์โมน P4 และ PG เป็นฮอร์โมนควบคุมการเจริญของระบบสืบพันธุ์ ที่เป็นผลจากการกระตุ้นของโกนาโดโทรปิน (Gonadotropin) แต่มีฤทธิ์ทำงานคนละช่วงเวลา การสังเคราะห์และหลั่ง P4 และ PG เป็นขบวนการที่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งอาจจะเป็นทั้งทางบวกและทางลบ โดยมีปัจจัยกำหนด เช่น ความเข้มข้นของฮอร์โมน PG ที่ความเข้มข้นต่ำจะกระตุ้นการหลั่ง P4 แต่จะยับยั้งที่ความเข้มข้นสูง (Szekeres-Bartho *et al.*, 2001) หรือช่วงเวลาของการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ เช่น การสร้าง PG โดยรกของคน ที่ควบคุมโดย glucocorticoids ซึ่งจะออกฤทธิ์ยับยั้งในตอนแรกต่อในระยะต่อมาจะกลับกลายเป็นกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน P4 (Gibb and Lavoie, 1990) หรือ เป็นความสัมพันธ์แบบแปรผกผัน เช่นจากการทดลองบ่มเลี้ยง human granulosa lutein cells เริ่มต้นเซลล์จะหลั่ง PG (ทั้ง PGE2 และ PGF2α) ออกมามากกว่า P4 แต่ในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเซลล์ จะพบว่าการหลั่ง P4 จากเซลล์กลับมากกว่า PG (Fowkes *et al.*, 2001) หรือขึ้นกับชนิดของ PG เช่น PGE2 กระตุ้นการสร้าง P4 ขณะที่ PGF2α ยับยั้งการสร้าง P4 (Olofsson and Leung, 1994) เช่น ในหนู P4 กระตุ้นการสร้าง PGE2 แต่ยับยั้งการสร้าง PGF2α (Motta *et al.*, 1995)

เมื่อเปรียบเทียบแม่เพรียงทรายธรรมชาติกับแม่เพรียงทรายจากฟาร์มเพาะเลี้ยง พบว่ามีรูปแบบของฮอร์โมนเป็นไปในทางตรงข้าม คือ โดยที่แม่เพรียงเลี้ยงจะมี P4 และ 17α-OHP4 สูงสุดเมื่อเจริญเติบโตจนเต็มที่ สาเหตุที่เป็นไปได้ ได้แก่ แม่เพรียงธรรมชาติเป็นคนละชนิดจากแม่เพรียงเลี้ยง หรือ ความแตกต่างของสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติและฟาร์มเพาะเลี้ยง หรืออาหารที่แม่เพรียงกินแตกต่างกัน

ในเรื่องชนิดของแม่เพรียงนั้น จากการจัดจำแนกชนิดแม่เพรียงจากลักษณะภายนอก พบว่าเป็นแม่เพรียงชนิดเดียวกัน คือ *Perineries nuntia* และแม่เพรียงทั้งสองกลุ่มก็ได้มาจากบริเวณเดียวกัน โดยแม่เพรียงธรรมชาติรวบรวมมาจากบริเวณชายหาดศรีราชา จ.ชลบุรี ส่วนแม่เพรียงเลี้ยงได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มที่จังหวัดระยอง ซึ่งทำการเพาะมาจากพ่อแม่พันธุ์แม่เพรียงธรรมชาติที่รวบรวมจากจ.ชลบุรี เช่นเดียวกัน ประเด็นนี้จึงไม่ใช่สาเหตุของความแตกต่างของฮอร์โมน P4 ที่วัดได้ สาเหตุที่เป็นไปได้มากที่สุด น่าจะมาจากประเภทของอาหารที่แม่เพรียงได้รับ มีความแตกต่างกัน จากงานทดลองของปนัดดา (2546) พบว่าแม่เพรียงธรรมชาติมีองค์ประกอบกรดไขมันหลักเป็น

กรดอะราคิโดนิค (ARA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ PG ขณะที่แม่เพรียงเลี้ยงมีกรดโดโคสะเฮกซาอีโนอิค (DHA) เป็นหลัก เนื่องจากแม่เพรียงฟาร์ม ได้รับอาหารลูกกุ้งวัยอ่อน ซึ่งอุดมด้วย DHA แต่ขาดแคลน ARA ส่งผลต่อเนื่องให้แม่เพรียงเลี้ยงมีระดับของ PG ต่ำ แต่มี P4 สูง เนื่องจากกรดไขมันโอเมก้า 3 เช่น EPA และ DHA นั้น เป็นตัวกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน P4 (Pike, 2006)

ฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ในรังไข่มีความสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์ของกุ้งกุลาดำ ระดับของฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ในรังไข่จะค่อยๆเพิ่มขึ้นตามพัฒนาการของรังไข่และไข่ จนกระทั่งถึงจุดสูงสุดในไข่ระยะสุดท้าย ปริมาณของฮอร์โมนทั้งสองในเลือดมีระดับคงที่มาตลอด แต่จะพบว่าฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 จะขึ้นสูงสุดทันที เมื่อกุ้งพัฒนาจนมีไข่แก่ระยะที่4 อาจสรุปจากผลการศึกษานี้ว่า ฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ไม่ได้ถ่ายทอดมาจากอวัยวะอื่น แต่จะสร้างมาจากไข่ที่พัฒนาในแต่ละระยะ เพื่อกระตุ้นการสร้างไข่แดงภายในรังไข่เอง ส่วนระดับของฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ที่พบสูงระยะสุดท้ายระยะเดียวในเลือด อาจเป็นการถ่ายเทจากฮอร์โมนที่สร้างจากรังไข่ก็ได้ งานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ เรณู ยาชิโร และ ยุพาพร ไชยสีหา (2534) ที่พบว่าฮอร์โมน P4 ในรังไข่ของกุ้งกุลาดำ ที่ยังไม่พัฒนามีระดับต่ำที่สุด (130.4±4.42 pg/ml) และเพิ่มขึ้นเมื่อเข้าระยะไข่แก่ (333.9±59.45 pg/ml) เช่นเดียวกับใน Indian Spiny Lobster, *Panulirus homarus* ที่ฮอร์โมนมีความสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์ (Kirubagaran *et al*., 2005) รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์มีลักษณะคล้ายกับในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ดังนั้น ในช่วงการเจริญพันธุ์จึงเกิดการทำงานของฮอร์โมนสองชนิด คือ เอสตราไดออล (E2) และ P4 ซึ่งฮอร์โมนทั้งสองแบ่งการทำงานเป็นสองช่วง โดยฮอร์โมน E2 ทำหน้าที่ในช่วงแรกเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ไข่และสะสมไข่แดง (yolk accumulation) ต่อมาฮอร์โมน P4 ทำหน้าที่ช่วงสุดท้ายของการเจริญพันธุ์ (final oocyte maturation) จึงกล่าวได้ว่า ฮอร์โมน P4 เป็น Maturation-Inducing Steroid (MIS) (Nagahama *et al*., 1982)

การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน 17α-OHP4 มีลักษณะคล้ายกับฮอร์โมน P4 ระดับฮอร์โมน 17α-OHP4 ในรังไข่และในเลือดเพิ่มขึ้นตามการพัฒนาของรังไข่จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 แต่ฮอร์โมนในกล้ามเนื้อไม่มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของรังไข่ ผลการทดลองสอดคล้องกับผลของการตรวจวัดฮอร์โมนในกลุ่มปลากระดูกแข็ง *Chalcalburnus tarichi* ที่ฮอร์โมนมีการเพิ่มความเข้มข้นสัมพันธ์กับการพัฒนาของรังไข่ โดย ในระยะ cortical alveoli มีระดับ 17α-OHP4 ต่ำที่สุดและเพิ่มขึ้นในระยะ vitellogenesis และช่วงปลายของระยะ oocyte maturation (Ünal, 2005)

งานวิจัยหลายชิ้นสรุปผลที่ต่างกันออกไป นั่นคือ P4 ไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์ในสัตว์เลย เช่น ในกุ้ง *Pandalus kessleri* (Quinitio *et al*., 1991), *Penaeus esculentus* (Koskela *et*

al., 1992) และ ปู *Scylla serrata* (Warrier *et al.*, 2001; Zapata *et al.*, 2001) ตรวจพบ P4 สูงในช่วงไข่อ่อนเท่านั้น ใน *Artemia* sp. ระดับ P4 จะเพิ่มสูงในช่วงแรกและช่วงสุดท้ายของขบวนการสร้างและสะสมไข่แดง (Van beek and De Loof, 1988) ในดาวทะเล *Asterias rubens* และ *Sclerasterias mollis* มีระดับ P4 เพิ่มสูงสุดในช่วงแรกจากนั้นลดลงตลอดฤดูกาลสืบพันธุ์ (Schoenmakers, 1981 อ้างถึงใน Xu and Barker, 1990) ซึ่งเป็นกรณีที่ใกล้เคียงกับแม่เพรียงทรายธรรมชาติ หรืออาจจะไม่พบความแตกต่างของฮอร์โมน P4 ตลอดช่วง เนื่องจาก P4 ไม่มีหน้าที่เกี่ยวกับการเจริญพันธุ์ ทำหน้าที่เพียงเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนตัวอื่น ได้แก่ ฮอร์โมนเอสตราไดออลเท่านั้น เช่นใน *Homarus. americanus* (Couch *et al.*, 1987) และ ในปลาเรนโบว์ เทราท์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Atteke *et al.*, 2003) หรือ ใน Giant African land snail (*Achatina fulica*) ซึ่งฮอร์โมน P4 จะเกี่ยวข้องกับเพศผู้มากกว่าเพศเมีย (Bose *et al.*, 1997)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนที่นำมาใช้ทดลองบ่มไข่กุ้งในห้องปฏิบัติการ ออกแบบมาจากความเข้มข้นของฮอร์โมนที่วัดได้จากไข่ของแม่กุ้ง แล้วนำมาบ่มกับไข่อ่อน (immature oocytes or previtellogenic oocytes) พบว่าแผนการทดลองที่วางไว้ประสบผลสำเร็จตามเป้าหมาย เป็นวิธีการทดลอง in vitro incubation ที่ง่ายไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องมีการเติมออกซิเจน หรือเลี้ยงในตู้บ่มเลี้ยงเซลล์แต่อย่างใด จุดสำคัญคือเรื่องการทำปราศจากเชื้อ (sterilization) ทุกขั้นตอน กับการเปลี่ยนน้ำเลี้ยงผสมฮอร์โมนใหม่ เมื่อครบกำหนดการทดลองสามารถตรวจประสิทธิภาพของฮอร์โมนต่อการเจริญของไข่โดยตรงจากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่ากลุ่มการทดลองที่ให้ผลดี จะทำให้ไข่พัฒนาจากไข่อ่อนเป็นไข่แก่ และเป็นไข่ที่พร้อมจะตกไข่ คือการมีจำนวนคอร์ติคอลรอด (cortical rod) สูงสุด เรียกว่าเป็นระยะ final maturation โดยคอร์ติคอลรอด ประกอบด้วยไขมัน ไกลโคโปรตีน ซึ่งมีความสำคัญในการพัฒนาของเซลล์ไข่ (Medina *et al.*, 1996) เมื่อแม่กุ้งปล่อยไข่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิวของเซลล์ไข่ เรียกว่า egg activation เพื่อปฏิสนธิกับสเปิร์ม หลังจากนั้นเกิดวุ้นหุ้มรอบไข่และสเปิร์มเข้าปฏิสนธิกับไข่ ถ้าเซลล์ไข่ระยะนี้ไม่สมบูรณ์การปฏิสนธิระหว่างไข่กับสเปิร์มจะเกิดได้น้อย (Pongtippatee-Taweepreda *et al.*, 2004)

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่กุ้งกับฮฮร์โมน พบว่า ฮอร์โมน P4 มีผลต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่สูงสุด โดยกลุ่มฮอร์โมน P4 สังเคราะห์มีผลทำให้เซลล์ไข่ในระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์พัฒนาเป็นเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอด มากกว่าสารสกัด P4 จากแม่เพรียงทรายทั้งที่มีความเข้มข้นเท่ากัน สำหรับฮอร์โมน17α-OHP4 นั้น ฮอร์โมนสังเคราะห์ก็ยังมีประสิทธิภาพสูงกว่าฮอร์โมน 17α-OHP4 สกัดจากแม่เพรียง ทั้งในแง่ความสามารถในการกระตุ้นไข่ให้สร้างคอร์ติคอลรอด และความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ต่ำกว่าสารสกัดจากแม่เพรียง

การทดลองเลี้ยงเซลล์ไข่นอกตัวกุ้งแบบการศึกษาครั้งนี้ ไม่ค่อยแพร่หลายมากนัก ส่วนใหญ่จะเป็นการทดลองด้วยวิธี in vivo คือฉีดฮอร์โมน P4 เข้าตัวกุ้งโดยตรงที่ความเข้มข้น 0.1 ug/g น้ำหนักตัว สามารถกระตุ้นการพัฒนาของรังไข่และเหนี่ยวนำการวางไข่ของกุ้ง greasyback shrimp *Metapenaeus ensis* (Yano, 1985) หรือทดลองฉีดฮอร์โมน P4 ในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.01 0.1 0.2 และ 0.4 μg/g น้ำหนักตัว พบว่า เมื่อกุ้งได้รับฮอร์โมนทำให้เกิดการพัฒนาของรังไข่เพิ่มขึ้น (ขวัญเรือน ศรีภิรมย์, 2534) การทดลองฉีดฮอร์โมน 17α-OHP4 เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์ไวเทลโลเจนินในกุ้ง *Penaeus japonicus* ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน (Yano, 1987) โดยใช้ที่ความเข้มข้น 0.01 ug/g น้ำหนักตัว การทดลองในปู Freshwater rice field Crab (*Oziotelphusa senex senex*) และ Red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) เมื่อฉีดฮอร์โมน 17α-OHP4 ที่ความเข้มข้น 10^{-8} หรือ 10^{-7} mol/crab ทำให้ ค่า gonadosomatic index (GSI) และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่เพิ่มขึ้น (Reddy *et al*., 2005; Rodriguez *et al*., 2002)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้มีความสำคัญต่อการกระตุ้นหรือการยับยั้งการเจริญพันธุ์ เช่น เมื่อทดลองฉีดฮอร์โมน 17α-OHP4 ที่ความเข้มข้น 50 ng/g น้ำหนักตัว จะทำให้คุณภาพ สเปิร์ม และน้ำหนักถุงสเปิร์มรวมถึงจำนวนสเปิร์มเพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงกว่า 50 ng/g น้ำหนักตัว กลับทำให้คุณภาพของสเปิร์มลดลงได้ (วิชัย วัฒนกุล, 2535)

สรุปการศึกษาครั้งนี้ว่าแม่เพรียงประกอบด้วยฮอร์โมนในกลุ่ม P4 แม้ว่าฮอร์โมนนี้อาจไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญของระบบสืบพันธุ์ของตัวแม่เพรียงเอง แต่ฮอร์โมนดังกล่าวก็มีความสำคัญต่อการพัฒนาของไข่กุ้งกุลาดำ ทำให้เกิดขบวนการสร้างและสะสมไข่แดง จนกระทั่งการตกไข่ ฮอร์โมนในแม่เพรียงแม้ว่าจะมีน้อยในธรรมชาติ แต่ก็สามารถเพิ่มได้จากการให้อาหารที่เหมาะสม เพราะ P4 ในสัตว์กลุ่มแอนนีลิดได้มาจากทั้งการสังเคราะห์ภายใน และการรับจากอาหาร เมื่อทดลองเปรียบเทียบฮอร์โมนสกัดกับฮอร์โมนสังเคราะห์ พบว่าฮอร์โมนสังเคราะห์ก็ให้ผลดีต่อการพัฒนาของรังไข่และไข่เช่นเดียวกับฮอร์โมนสกัดจากแม่เพรียง จากความรู้นี้สามารถนำมาประยุกต์ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การนำฮอร์โมนสเตียรอยด์มาพัฒนาเป็นส่วนผสมในอาหารสำหรับแม่พันธุ์กุ้ง หรือการฉีดเข้าตัวกุ้งเพื่อกระตุ้นการเจริญของไข่กุ้งซึ่งเป็นทางเลือกในการพัฒนาความสมบูรณ์พันธุ์ได้อีกทางโดยไม่ต้องตัดก้านตาของกุ้ง

สรุปผลการวิจัย

- แม่เพรียงทรายมีฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดย Radioimmunoassay (RIA) และ High performance liquid chromatography (HPLC)
- เมื่อเปรียบเทียบสัตว์ในกลุ่มอาร์โธรโปดา (Arthropoda) พบว่ากุ้งกุลาดำมีปริมาณฮอร์โมน P4 สูงสุด (12.29±4.34 ng/mg protein) รองลงมาคือ หมึก (9.19±0.21 ng/mg protein) กุ้งก้ามกราม (3.08±0.24 ng/mg protein) หอยลาย (1.8±0.14 ng/mg protein) เพรียงทราย (1.69±0.94 ng/mg protein) และเพรียงเลือด (1.28±1.08 ng/mg protein) ตามลำดับ
- แม่เพรียงทรายธรรมชาติอายุ 2 เดือนมีปริมาณฮอร์โมน P4 มากที่สุด (47.48±6.70 ng/mg protein) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 6 และ 8 เดือน (31.70±22.74 23.62±8.69 และ 3.86±0.37 ng/mg protein) เช่นเดียวกับปริมาณฮอร์โมน 17α-OHP4 ที่พบมากในแม่เพรียงทรายอายุ 2 เดือน (143.74±28.70 ng/mg protein) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 6 และ 8 เดือน (73.69±33.11 17.70±15.05 และ 16.22±8.55 ng/mg protein)
- แม่เพรียงทรายธรรมชาติมีปริมาณฮอร์โมนแตกต่างจากแม่เพรียงทรายเลี้ยง โดยแม่เพรียงทรายเลี้ยงอายุ 6 เดือนมีปริมาณฮอร์โมน P4 มากที่สุด (640.76±54.10 ng/mg protein) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (213.11±64.36 ng/mg protein) และ 2 เดือน (39.79± 16.64 ng/mg protein) เช่นเดียวกับปริมาณฮอร์โมน 17α-OHP4 ที่พบมากในแม่เพรียงทรายอายุ 6 เดือน (449.07±35.48 ng/mg protein) รองลงมาคือ แม่เพรียงทรายอายุ 4 เดือน (151.20±25.91 ng/mg protein) และ 2 เดือน (100.29±31.70 ng/mg protein)
- ฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ของแม่เพรียงทรายธรรมชาติไม่มีความสัมพันธ์กับระบบสืบพันธุ์ ตรงกันข้ามกับแม่เพรียงทรายเลี้ยง สาเหตุอาจเป็นเพราะความแตกต่างของสถานที่เก็บตัวอย่าง หรือ อาหารที่แม่เพรียงชุดนั้นกินเข้าไป ซึ่งมีบางส่วนเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตอรอยด์
- ฮอร์โมน P4 ในรังไข่ของแม่กุ้งกุลาดำมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ พบว่า ระดับฮอร์โมนค่อยๆ เพิ่มขึ้นจากรังไข่ระยะที่1 (14.84±1.87 ng/mg protein) จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (67.55±5.70 ng/mg protein) ส่วนฮอร์โมนในเลือดมีระดับคงที่ แต่เพิ่มสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (13.28±2.31 ng/mg protein) ในขณะเดียวกันไม่พบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนในกล้ามเนื้อแม่กุ้ง
- ฮอร์โมน 17α-OHP4 ในรังไข่ของแม่กุ้งกุลาดำมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ พบว่า ระดับฮอร์โมนค่อยๆ เพิ่มขึ้นจากรังไข่ระยะที่1 (33.17±5.75 ng/mg protein) จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (163.65±4.59 ng/mg protein) ส่วนฮอร์โมนในเลือดมีระดับคง

ที่ แต่เพิ่มสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (30.18±2.83 ng/mg protein) ในขณะเดียวกันไม่พบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนในกล้ามเนื้อกุ้ง

- การศึกษาผลของฮอร์โมน P4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* bioassay) พบว่า สารสกัด P4 จากแม่เพรียงทราย และฮอร์โมน P4 สังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.0 ng/ml มีผลต่อการพัฒนาเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์เป็นเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดมากที่สุด (เปอร์เซ็นต์ระยะคอร์ติคอลรอด เท่ากับ 24.31±9.13 และ 48.55±8.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)
- การศึกษาผลของฮอร์โมน17α-OHP4 ต่อการเจริญของเซลล์ไข่ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* bioassay) พบว่า สารสกัด 17α-OHP4 จากแม่เพรียงทราย ที่ความเข้มข้น 3.0 ng/ml และฮอร์โมน 17α-OHP4 สังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 2.0 ng/ml มีผลต่อการพัฒนาเซลล์ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์เป็นเซลล์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลรอดมากที่สุด (เปอร์เซ็นต์ระยะคอร์ติคอลรอด เท่ากับ 21.76±10.17 และ 29.16±2.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)
- ศึกษาผลของฮอร์โมน P4 และ 17α-OHP4 ต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไข่ พบว่า ฮอร์โมนทั้งสองชนิดมีผลต่อการเพิ่มขนาดของเซลล์ไข่ในระยะไวเทลโลเจนิค โอโอไซต์ และคอร์ติคอลรอด