การเปลี่ยนระดับของโดพามีน และสเตียรอยด์บางชนิดที่มีผลต่อการพัฒนารังไข่ของกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879)

Changes of Dopamine and some Steroids Hormones Responsible for Ovarian Development of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879)

จักร อรัณยกานนท์[1] และ อรพร หมื่นพล[2]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจสอบปริมาณของโดพามีนในกุ้งก้ามกรามเพศเมียที่มีการพัฒนารังไข่ต่างกันสี่ระยะด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) นอกจากนี้ยังทำการตรวจปริมาณ 17 เบตาเอสตราไดออล (E2) และ 17 อัลฟาโฮดรอกซีโปรเจสเตอโรน (17α-OHP) ในฮีโมลิมป์ ด้วยเทคนิค Time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) พบว่าปริมาณโดพามีนสูงสุดในรังไข่คือ 11.831±7.04 µg/mg protein แตกต่างจากอวัยวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ อวัยวะที่พบปริมาณโดพามีนสูงรองลงมาคือปมประสาทส่วนอก พบโดพามีน 2.389±0.74 µg/mg protein ส่วนในฮีโมลิมป์ และกล้ามเนื้อพบโดพามีน 0.513±0.30 µg/ml protein และ 0.473±0.15 µg/mg protein ตามลำดับ ปริมาณ E2 ในฮีโมลิมป์สูงสุดที่ในกุ้งที่มีรังไข่ระยะ 3 คือ 1.804±0.72 ng/ml และต่ำสุดที่รังไข่ระยะ 4 ปริมาณ 0.553±0.32 ng/ml ส่วน 17α-OHP สูงสุดในรังไข่ระยะ 3 ที่ 3.103±1.31 ng/ml ต่ำสุดในกุ้งที่มีรังไข่ระยะที่ 4 ปริมาณ 1.401±0.34 ng/ml ข้อมูลจากการศึกษาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวิธียับยั้งการเจริญพันธุ์ของกุ้งก้ามกรามต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: กุ้งก้ามกราม, โดพามีน, สเตียรอยด์, ฮอร์โมน

Abstract

This study investigated changes in the levels of Dopamine (DA) during four different phases of the ovarian cycle of the Giant freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii. The levels of DA were quantified by using High Performance Liquid

[1] บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 ประเทศไทย

Chromatography with UV-vis detection (HPLC-UV). Moreover, changes in the levels of 17ß-Estradiol (E2) and 17α-Hydroxy progesterone (17α-OHP) concentrations in the hemolymph were also examined by using Time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) technique. The study found that the amount of DA was highest in the ovary. The concentration of DA in the ovary was measured at 11.831±7.04 µg/mg of protein, which was significantly higher than that of other organs. The second highest concentration of DA was found in the thoracic ganglia, where the concentration was measured at 2.389±0.74 µg/mg of protein. Hemolymph and muscle were found to have the lowest concentrations of DA measured at 0.513±0.30 µg/ml and 0.473±0.15 µg/mg of protein, respectively. The concentration of E2 was higher in the hemolymph (1.804±0.72) at ovary stage III, and lower (0.553±0.32 ng/ml) at ovary stage IV. The concentration of 17α-OHP in the hemolymph was higher (3.103±1.31 ng/ml) at ovary stage III and lower (1.401±0.34 ng/ml) at ovary stage IV. The results obtained from this study may prove to be useful in inhibiting the reproduction of Giant freshwater prawns.

Keywords: Macrobrachium, Dopamine, Hormone, Steroids

บทนำ

ในประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมาอย่างยาวนาน เนื่องจากเป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ที่ไม่มีปัญหาด้านโรคร้ายแรงอย่างหัวเหลืองและตัวแดงดวงขาวเหมือนกุ้งทะเล จึงน่าจะผลิตเพื่อส่งออกได้ง่าย ซึ่งการผลิตกุ้งเนื้อโดยเลี้ยงในบ่อดินช่วงแรกที่กุ้งอายุน้อยจะมีการเจริญเติบโตต่อเนื่องใกล้เคียงกันทั้งสองเพศ แต่เมื่อกุ้งมีอายุหลังจากระยะคว่ำครบ 105 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่กุ้งโตถึงวัยเจริญพันธุ์ เพศเมียเริ่มมีการสร้างไข่ในระยะ previtellogenic stage (วิกรม และ อุทัยรัตน์, 2549) หลังจากนี้กุ้งเพศผู้จะเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง ขณะที่เพศเมียมีปัญหาเรื่องการเจริญเติบโตที่ช้าลงอย่างมากทั้งที่การกินอาหารยังปกติ ซึ่งผเด็จ (2550) ให้ข้อมูลว่าในการทดลองเลี้ยงนาน 81 วัน น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งเพศเมียวัยเจริญพันธุ์เพิ่มขึ้นน้อยมากเพียง 3.79 กรัม และกุ้งมีการสร้างไข่ถึงสองรอบ ขณะที่การศึกษาของ O'Donovan *et al.* (1984) พบว่ากุ้งเพศเมียที่มีไข่ติดหน้าท้องสามารถพัฒนารังไข่ชุดใหม่และผสมพันธุ์ได้เกือบทันทีเมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่หมด และกุ้งที่รวบรวมมาเป็นตัวอย่างเมื่อเริ่มการทดลองเป็นกุ้งที่อุ้มไข่ถึง 90% จึงเห็นได้ว่าเมื่อเพศเมียโตถึงวัยเจริญพันธุ์จะมีระดับการเจริญพันธุ์ที่สูงมาก ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต

มีปัจจัยหลายอย่างที่ชี้ว่าการที่เพศเมียเจริญเติบโตช้าลงเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เนื่องจากต้องใช้พลังงานที่ได้รับจากอาหารไปกับการสร้างและพัฒนารังไข่ ทำให้เหลือพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตน้อยลง ต่างจากกุ้งอายุน้อยที่ไม่สร้างไข่ หรือกุ้งเพศผู้ที่ใช้พลังงานน้อยเพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ กุ้งอายุน้อยและเพศผู้จึงเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้ในการเลี้ยงเกษตรกรผู้เลี้ยงจะคัดกุ้งเพศเมียออกขายในช่วงประมาณ 4 -5 เดือนแรกของการเลี้ยง เพื่อส่งขายสู่ตลาดเป็นกุ้งไซส์เล็กที่มีราคาถูก ส่วนกุ้งเพศผู้ที่สามารถโตได้อย่างต่อเนื่องก็จะปล่อยคืนลงบ่อเพื่อเลี้ยงให้มีขนาดใหญ่ขึ้นต่อไป ซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีความยุ่งยากทำให้การเลี้ยงไม่ต่อเนื่อง และทำให้เกิดการสูญเสียกุ้งบางส่วนจากการตายในขั้นตอนการลากอวนคัดแยกเพศ

ปัจจัยภายในอย่างหนึ่งที่มีผลมากต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของครัสตาเชียคือสารสื่อประสาทโดพามีน (Dopamine ; DA) ทำหน้าที่ควบคุมฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนารังไข่ และกระบวนการวางไข่ ซึ่งมีการศึกษาในกุ้งก้ามกรามพบว่าทำงานในการยับยั้งการเจริญพัฒนาของระบบสืบพันธุ์โดย Chen *et al*., 2003 รายงานว่าโดพามีนมีการออกฤทธิ์ที่รุนแรงในการยับยั้งการสังเคราะห์ vitellogenin (Vg) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สร้างจากเฮพาโตแพนเครียสเพื่อไปขยายขนาดรังไข่ เฮพาโตแพนเครียสจะสร้างโปรตีนชนิดนี้เมื่อถูกกระตุ้นจากสเตียรอยด์ 17 เบตาเอสตราไดออล (17ß-Estradiol ; E2) และ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรน (17α-Hydroxy progesterone ; 17α-OHP) (Yano, 1992; Nagabhushanam & Kulkarni, 1980; Fairs *et al*., 1990) การศึกษาระดับของโดพามีนและสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดในร่างกายกุ้งจึงมีความสำคัญเพื่อนำไปปรับใช้พัฒนาการเพาะเลี้ยง ทั้งในระดับโรงเพาะฟักเพื่อสร้างความสมบูรณ์เพศของพ่อแม่พันธุ์ และการเลี้ยงในบ่อดินเพื่อยับยั้งการสร้างไข่ ให้กุ้งเพศเมียใช้พลังงานที่ได้รับจากอาหารเพื่อการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ลดความยุ่งยากและการสูญเสียในขั้นตอนคัดแยกกุ้งเพศเมียออกระหว่างการเลี้ยง ซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าของกุ้งก้ามกรามในบ่อเลี้ยง และยังเป็นประโยชน์ในการพัฒนาปรับปรุงสูตรอาหารเสริมฮอร์โมนเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์สำหรับผู้สนใจศึกษาต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ เพื่อศึกษาปริมาณโดพามีนในอวัยวะต่างๆ ของกุ้งก้ามกรามเพศเมียที่มีระยะการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์แตกต่างกัน จากนั้นเปรียบเทียบปริมาณโดพามีนในฮีโมลิมป์กับปริมาณสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลมากต่อการเจริญพัฒนาของรังไข่คือ 17 เบตาเอสตราไดออล และ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรน

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

ปัจจัยภายในสำคัญที่การควบคุมการสืบพันธุ์ในครัสตาเชียคือฮอร์โมน ช่วงแรกมีการควบคุมโดยฮอร์โมนจากระบบประสาทส่วนกลาง ในแบบทางอ้อม (indirect) ผ่านการควบคุมฮอร์โมนอื่น เช่นโดพามีนซึ่งเป็นตัวยับยั้งหลัก (major inhibitory factor) โดย Chen *et al.* (2003) ทำการการฉีดโดพามีนสังเคราะห์ ร่วมกับสารยับยั้ง receptor ของโดพามีนที่ต่างชนิดกันคือ SCH 23390 ซึ่งเป็นสารยับยั้ง D1 receptor ของโดพามีน พบว่าสามารถลดผลจากการได้รับโดพามีนสังเคราะห์ที่มีต่อการสร้างไวเทลโลเจนิน (vitellogenin ; Vg) ในขณะที่การฉีดด้วย domperidone ซึ่งเป็นสารยับยั้ง D2 receptor ของโดพามีนไม่มีผลเกิดขึ้น แสดงให้เห็นว่าการทำงานของโดพามีนในระบบสืบพันธุ์กุ้งก้ามกรามจะผ่านช่องทาง D1 receptor คาดว่าส่งผลให้ปมประสาทส่วนอกยับยั้งการหลั่งโกแนดสติมิวเลทิง ฮอร์โมน (GSH) ซึ่งทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์ Vg เพื่อเพิ่มขนาดรังไข่

ฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์ทำงานช่วงท้ายของการสืบพันธุ์ ออกฤทธิ์กระตุ้นขบวนการสร้างและสะสมไข่แดงในครัสตาเชียคือ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรน,17 เบตาเอสตราไดออล สร้างจากรังไข่และเซลล์ไข่ ซึ่งจะหลั่งเมื่อมีการกระตุ้นจาก GSH โดยมีเป้าหมายที่เฮพาโตแพนเครียสทำให้เกิดการสร้าง Vg ส่งกลับไปสะสมที่รังไข่โดยผ่านทางฮีโมลิมป์เพื่อให้รังไข่ขยายขนาด (Yano, 1992; Nagabhushanam & Kulkarni, 1980; Fairs *et al.*, 1990)

วิธีดำเนินการวิจัย

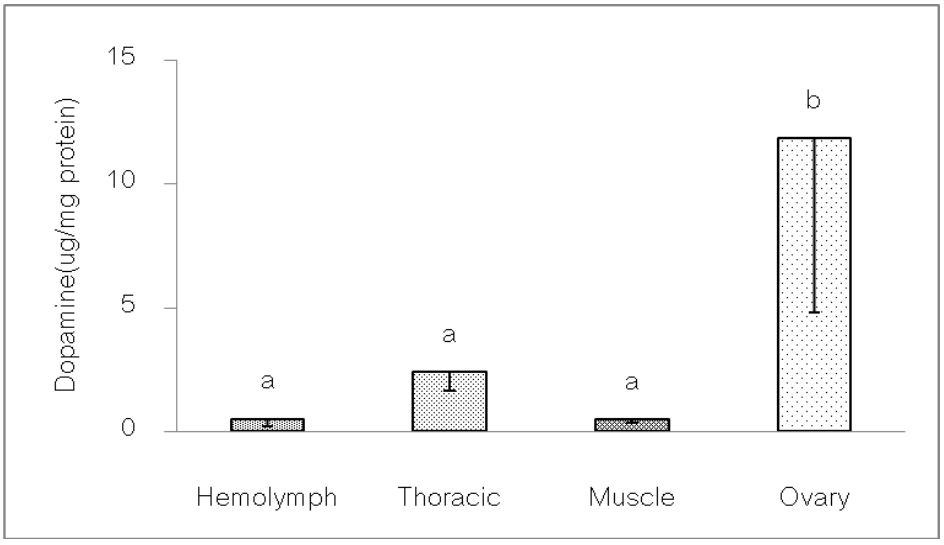
กุ้งก้ามกรามจำนวน 24 ตัวที่ใช้ในการทดลองได้จากตลาดสด เป็นกุ้งเพศเมียอายุประมาณ 5 เดือน ที่ขนส่งมาจากบ่อเลี้ยงของเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม นำมาพักเป็นเวลาห้าวันเพื่อให้ฟื้นตัวจากการขนส่งในบ่อพักที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แบ่งกุ้งออกเป็นสี่กลุ่มตามระยะการพัฒนารังไข่ ระยะละ 6 ตัว โดยอ้างอิงตามหลักการของ Meeratana & Sobhon (2007) ทำการชั่งน้ำหนักเปียกของกุ้งและรังไข่ เพื่อหาค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Gonadosomatic index ; GSI) ก่อนทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโดพามีนจากอวัยวะที่คาดว่ามีการทำงานของโดพามีนผ่านทางอวัยวะนั้น ประกอบด้วย ฮีโมลิมป์, รังไข่, ปมประสาทส่วนอก และมีการตรวจเพิ่มในกล้ามเนื้อ เพื่อใช้เป็นชุดตรวจสอบความแน่นอนในการศึกษาหากมีโดพามีนปนเปื้อนในการตรวจ ทำการตัดเก็บตัวอย่างอวัยวะมาประมาณ 0.1 กรัม และ 0.5 ml ฮีโมลิมป์ ทำการบด และสกัดโดพามีนตามวิธีการของ Muzzi *et al.* (2008) จากนั้นจะเข้าสู่ขั้นตอนการคัดแยกโดพามีนในสารสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (C_{18} Solid phase extraction: C_{18} SPE) โดยใช้วิธีของ Peterson (2004) ตัวอย่างที่ผ่านการสกัดปริมาณ 20 ไมโครลิตรได้รับการฉีด

เข้าสู่ HPLC เพื่อตรวจปริมาณโดพามีนเป็นจำนวน 3 ซ้ำ ตามวิธีการของ (Muzzi *et al.*, 2008) การตรวจสอบดำเนินการช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเมษายน 2556

ตัวอย่างฮีโมลิมป์ในขั้นตอนก่อนหน้าถูกแบ่งมา 0.3 ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 ◦C เพื่อตรวจปริมาณสเตียรอยด์ โดยทำการสกัดตัวอย่างและระเหยแห้งตามวิธีการของ (Yamada *et al.*, 1997) จากนั้นทำการส่งตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ TR-FIA ที่มหาวิทยาลัยฮอกไกโด วิทยาเขตฮาโกดาเทะ ประเทศญี่ปุ่น เก็บรักษาตัวอย่างในน้ำแข็งระหว่างการเดินทางทำการตรวจในช่วงระหว่างเดือนมกราคม 2557 ใช้วิธีการตรวจตาม (Yamada *et al.*, 1997) ทำการตรวจแต่ละตัวอย่างจำนวน 3 ซ้ำ เมื่อเสร็จสิ้นการเก็บข้อมูลทั้งหมดทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Tukey's pairwise comparisons ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Hammer *et al.*, 2001)

ผลการวิจัย

จากการทดลองศึกษาปริมาณโดพามีนในกุ้งก้ามกรามที่มีรังไข่พัฒนาต่างกันสี่ระยะด้วย HPLC-UV โดยเลือกตรวจในอวัยวะต่างๆ คือฮีโมลิมป์ รังไข่ ปมประสาทส่วนอก และกล้ามเนื้อ พบโดพามีนปริมาณสูงสุดในรังไข่ 11.831±7.04 μg/mg protein แตกต่างจากอวัยวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ปมประสาทส่วนอกเป็นอวัยวะที่มีปริมาณโดพามีนสูงรองลงมา คือ 2.389±0.74 μg/mg protein ฮีโมลิมป์มีปริมาณโดพามีน 0.513±0.30 μg/ml protein และพบโดพามีนต่ำสุดในกล้ามเนื้อ 0.473±0.15 μg/mg protein



ภาพที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณโดพามีนในแต่ละอวัยวะของกุ้งก้ามกรามเพศเมียวัยเจริญพันธุ์

อวัยวะที่พบโดมามีนสูงสุดคือรังไข่ โดยพบโดพามีนต่ำสุดในระยะที่ 1 ปริมาณ 5.943±1.42 µg/mg protein ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับรังไข่ระยะที่ 2 คือ 6.357±1.27 µg/mg protein จากนั้นปริมาณโดพามีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อรังไข่พัฒนาเข้าระยะที่ 3 คือ 15.443±7.00 µg/mg protein และเพิ่มสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 ปริมาณ 19.580±3.62 µg/mg protein ปริมาณโดพามีนในปมประสาทส่วนอก และฮีโมลิมป์สูงสุดในกุ้งที่มีรังไข่ระยะที่ 1 คือ 3.180±0.52 µg/mg protein และ 0.797±0.09 µg/ml protein จากนั้นลดระดับลงจนต่ำสุดในกุ้งที่มีรังไข่ระยะที่ 4 ที่ปริมาณ 1.480±0.35 µg/mg protein และ 0.163±0.06 µg/ml protein ตามลำดับ ส่วนปริมาณโดพามีนในกล้ามเนื้อพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบจากกุ้งที่มีระยะรังไข่แตกต่างกันทั้งสี่ระยะ ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณโดพามีนในอวัยวะกุ้งก้ามกรามเพศเมีย ที่มีระยะการพัฒนารังไข่ต่างกัน ปริมาณโดพามีนในรังไข่, ปมประสาทส่วนอก และกล้ามเนื้อรายงานในหน่วย µg/mg protein ปริมาณโดพามีนในฮีโมลิมป์รายงานในหน่วย µg/ml protein

ระยะรังไข่	ฮีโมลิมป์	รังไข่	ปมประสาทอก	กล้ามเนื้อ
1	0.797^{a}±0.09	5.943^{a}±1.42	3.180^{a}±0.52	0.407^{a}±0.17
2	0.750^{a}±0.17	6.357^{a}±1.27	2.677^{a}±0.53	0.557^{a}±0.11
3	0.340^{b}±0.18	15.443^{ab}±7.00	2.210^{ab}±0.11	0.467^{a}±0.10
4	0.163^{b}±0.06	19.580^{b}±3.62	1.480^{b}±0.35	0.460^{a}±0.23

ปริมาณ 17 เบตา เอสตราไดออลสูงสุดในฮีโมลิมป์ของกุ้งระยะรังไข่ที่ 3 ปริมาณ 1.804±0.72 ng/ml ต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกุ้งระยะรังไข่ที่ 4 ปริมาณ 0.553±0.32 ng/ml ส่วนค่าเฉลี่ยของ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเทอโรนในฮีโมลิมป์สูงกว่าในทุกระยะ โดยสูงสุดในกุ้งระยะรังไข่ที่ 3 ปริมาณ 3.103±1.31 ng/ml และต่ำสุดในระยะรังไข่ที่ 4 ปริมาณ 1.401±0.34 ng/ml ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (GSI) ของกุ้งแต่ละระยะรังไข่ และปริมาณสเตียรอยด์ในฮีโมลิมป์กุ้งก้ามกรามเพศเมียที่ระยะรังไข่ 1, 2, 3 และ 4 รายงานในหน่วย ng/ml

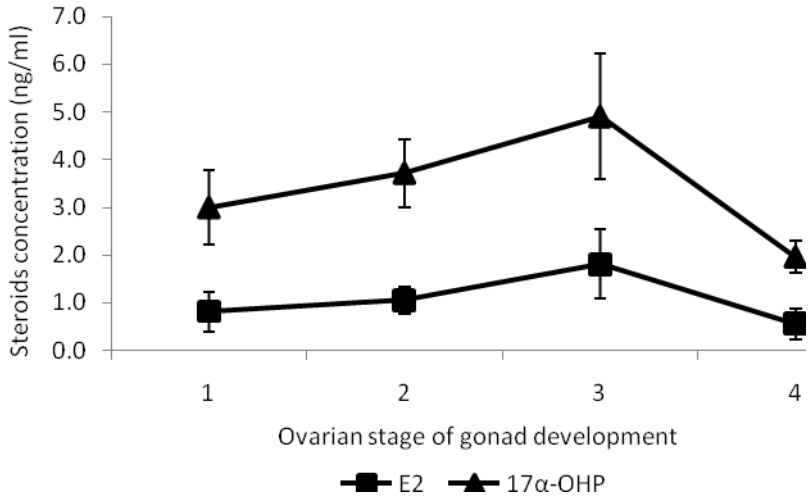
ระยะรังไข่	GSI (%)	E2	17α-OHP
1	0.270±0.03	0.810^{a}±0.42	2.184^{ab}±0.78
2	0.437±0.02	1.046^{a}±0.27	2.672^{ab}±0.72
3	0.710±0.08	1.804^{b}±0.72	3.103^{a}±1.31
4	8.676±0.34	0.553^{a}±0.32	1.401^{b}±0.34

สรุป

เมื่อกุ้งก้ามกรามมีการพัฒนารังไข่ต่ำ คือในระยะรังไข่ที่ 1 จะมีปริมาณโดพามีนในปมประสาทส่วนอกสูงคือ 3.180±0.52 µg/mg protein และลดต่ำลงตามลำดับจนอยู่ที่ 1.480±0.35 µg/mg protein เมื่อรังไข่เจริญเต็มที่ในระยะที่ 4 สอดคล้องกับ Tinikul *et al*., (2009) ที่ศึกษาพบการแพร่กระจายของโดพามีนในระบบประสาทส่วนกลาง ของกุ้งก้ามกรามอย่างทั่วถึง และได้สรุปว่าปมประสาทส่วนอกเป็นแหล่งผลิตโดพามีน ปริมาณโดพามีนจากปมประสาทส่วนอกที่ตรวจพบสูงในกุ้งที่มีการพัฒนารังไข่ต่ำ อาจแสดงถึงการทำงานของโดพามีนที่ทำหน้าที่ยับยั้งการสร้างโปรตีนไวเทลโลเจนิน ทำให้ไม่มีการขยายขนาดรังไข่ เมื่อปมประสาทส่วนอกมีการสร้างโดพามีนน้อยลง ทำให้โปรตีนไวเทลโลเจนินถูกสร้างมากขึ้นรังไข่จึงขยายขนาด กุ้งจะเข้าสู่ระยะการพัฒนารังไข่ระยะต่อไป ส่วนปริมาณโดพามีนที่พบเล็กน้อยในกล้ามเนื้อของกุ้งทุกระยะรังไข่อย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ คาดว่าเกิดจากโดพามีนในฮีโมลิมป์ที่ซึมอยู่ในกล้ามเนื้อ โดยที่โดพามีนในกล้ามเนื้อไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญพันธุ์แต่อย่างใด

การทดลองของ Chen *et al*., (2003) ที่ตรวจฮีโมลิมป์กุ้งก้ามกรามเพื่อศึกษาปริมาณของโดพา (DOPA), นอร์เอพิเนฟริน (Norepinephrine), เอพิเนฟริน (Epinephrine) ซีโรโตนิน (Serotonin) และโดพามีน ซึ่งรายงานไว้ว่าพบสารนอร์เอพิเนฟริน เพียงชนิดเดียวไม่พบโดพามีนในฮีโมลิมป์แต่อย่างใด ต่างจากผลการตรวจครั้งนี้ที่ใช้วิธีการตรวจต่างกัน ซึ่งตรวจพบโดพามีนในฮีโมลิมป์สูงเมื่อกุ้งอยู่ในระยะรังไข่ที่ 1 และระยะรังไข่ที่สอง ปริมาณ 0.797±0.09 µg/ml protein และ 0.750±0.17 µg/ml protein ตามลำดับ เมื่อกุ้งเข้าสู่ระยะรังไข่ที่ 3-4 พบว่าปริมาณโดพามีนลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) คาดว่าเป็นผลกระทบจากปมประสาทส่วนอกที่สร้างโดพามีนลดลงในช่วงระยะดังกล่าว ทำให้ปริมาณโดพามีนที่ปล่อยออกสู่ฮีโมลิมป์ต่ำลง ในทางกลับกันปริมาณของสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดกลับต่ำในระยะรังไข่ที่ 1-2 จากนั้นเพิ่มขึ้นสูงสุดอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติเมื่อกุ้งมีการพัฒนารังไข่เข้าสู่ระยะที่ 3 จากนั้นลดลงจนต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อกุ้งมีรังไข่เจริญเต็มที่คือรังไข่ระยะที่ 4 อธิบายได้ว่าในระหว่างการพัฒนารังไข่จากระยะที่ 2 เข้าสู่รังไข่ระยะที่ 3 ซึ่งเป็นช่วงที่รังไข่มีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นอย่างมาก มีการเปลี่ยนแปลงของสารทั้งสองกลุ่ม คือโดพามีนที่ทำหน้าที่ยับยั้งการพัฒนารังไข่จะลดต่ำลง ส่วนสเตียรอยด์ที่ช่วยการพัฒนารังไข่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเพื่อให้รังไข่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงนี้ จากนั้นเมื่อรังไข่พัฒนาเต็มที่ในระยะที่ 4 ปริมาณของสเตียรอยด์จึงต่ำลงเนื่องจากสิ้นสุดหน้าที่การขยายขนาดรังไข่



ภาพที่ 2 ค่าเฉลี่ยปริมาณสเตียรอยด์ทั้งสองชนิด คือ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรน และ 17 เบตา เอสตราไดออลในฮีโมลิมป์ของกุ้งก้ามกรามที่มีการพัฒนารังไข่แตกต่างกันทั้ง 4 ระยะ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างรังไข่ระยะเดียวกันปริมาณ 17 เบตา เอสตราไดออลในฮีโมลิมป์ที่พบจากทุกระยะรังไข่ต่ำกว่าปริมาณ 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดูภาพที่ 2) แสดงถึงกระบวนการพัฒนารังไข่ของกุ้งชนิดนี้เกิดขึ้นได้โดยการกระตุ้นจาก 17 เบตา เอสตราไดออลในปริมาณต่ำกว่า 17 อัลฟาไฮดรอกซี โปรเจสเตอโรน และเนื่องจากการเปลี่ยนระดับของสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดในแต่ละระยะการพัฒนาของรังไข่มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเพิ่มขึ้นและลดลงในช่วงเวลาเดียวกัน เช่นสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 3 ต่ำสุดในรังไข่ระยะที่ 4 เหมือนกัน จึงไม่สามารถแบ่งแยกหน้าที่การทำงานอย่างชัดเจนของสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดที่มีในการพัฒนารังไข่แต่ละขั้นตอนได้จากตรวจสอบครั้งนี้

การเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มระดับของโดพามีนในรังไข่แตกต่างจากในอวัยวะอื่น คือปมประสาทส่วนอก และฮีโมลิมป์ที่ลดระดับลงเมื่อกุ้งมีการพัฒนารังไข่ใหญ่ขึ้น (ดูตารางที่ 1) ต่างจากการทดลองของ Tinikul *et al*., (2008) ที่ศึกษาโดพามีนในรังไข่กุ้งก้ามกรามที่ระยะรังไข่ต่างๆ และรายงานผลว่าพบโดพามีนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 1 จากนั้นปริมาณโดพามีนลดลงเป็นลำดับจนต่ำสุดในรังไข่ที่เจริญเต็มที่คือระยะที่ 4 ทั้งนี้หากพิจารณาข้อมูลประกอบจากหน้าที่การทำงานของโดพามีนในไข่แมลง ซึ่งเป็นสัตว์ที่มีความใกล้เคียงกับกุ้งและพบโดพามีนในไข่สูงมากเช่นกัน ซึ่งชี้ว่าโดพามีนในไข่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการดึงน้ำเข้าในฟองไข่ในขั้นตอนการพัฒนาตัวอ่อน เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของไข่ และกำหนดระยะเวลาฟักตัวของไข่แมลง (Schlaegearn & Fuchs., 1974; Furneaux & McFarlane., 1965; Sefiani., 1987; Noguchi & Hayakawa., 2001) ประกอบกับข้อมูลที่ได้จากผลการตรวจครั้งนี้ จึงอาจสรุปได้ว่าโดพามีนในรังไข่ของครัสตาเชียมีปริมาณสูง แต่ไม่ได้ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญพันธุ์ของตัวสัตว์แม่พันธุ์ ปริมาณที่พบจึงไม่สัมพันธ์กับระดับความเจริญพันธุ์ โดพามีนในรังไข่อาจเป็นสารที่มีอยู่เพื่อทำหน้าที่แตกต่างออกไป เช่นควบคุมการดึงน้ำเข้าในฟองไข่หลังจากกุ้งปล่อยไข่ออกสู่ภายนอก หรือเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสีของไข่ เช่นเดียวกับในไข่แมลงก็เป็นได้ อย่างไรก็ตามผลการตรวจปริมาณของโดพามีนที่พบในฮีโมลิมป์ และในระบบประสาทส่วนกลางคือปมประสาทส่วนอก ที่สูงสุดเมื่อกุ้งอยู่ในระยะรังไข่ที่ 1 ซึ่งเป็นระยะที่รังไข่มีขนาดเล็กมีการพัฒนาน้อย แสดงถึงการทำงานของโดพามีนในระบบประสาท ที่มีผลยับยั้งระบบสืบพันธุ์ของกุ้งก้ามกราม และอธิบายเส้นทางการเคลื่อนย้ายจากแหล่งผลิตที่ปมประสาทส่วนอกไปสะสมยังรังไข่โดยผ่านไปทางฮีโมลิมป์ ซึ่งสามารถใช้พัฒนาวิธีออกแบบงานวิจัยเพื่อศึกษาโดพามีนในครัสตาเชียได้อย่างหลากหลายมากขึ้น

คำขอบคุณ

การทำงานครั้งนี้ประสบผลสำเร็จได้เนื่องจากความช่วยเหลือให้คำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. อรพร หมื่นพล ขอบคุณความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่จาก ดร. อิจิริ ชิเกโฮะ มหาวิทยาลัยฮอกไกโด และหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

ผเด็จ หงษ์มณี. (2550). *ผลของการวางไข่หลายครั้งของแม่กุ้งก้ามกรามต่อความสามารถในการสืบพันธุ์วางไข่และคุณภาพของลูกกุ้ง*. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิกรม รังสินธุ์ และ อุทัยรัตน์ ณ นคร. (2549). การเจริญของระบบสืบพันธุ์ และผลของ andrectomy ในกุ้งก้ามกรามเพศผู้, น. 172-179. *ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาประมง)*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Chen, Y. N., Fan, H. F., Hsieh, S. L., & Kuo, C. M. (2003). Physiological involvement of DA in ovarian development of the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 228, 383-395.

Fairs, N. J., Quinlan, P. T., & Goad, L. J. (1990). Changes in ovarian unconjugated and conjugated steroid titers during vitellogenesis in *Penaeus monodon* . Aquaculture, 89, 83-99.

Furneaux, P. J. S., & Mc Farlane, J. E. (1965). A possible relationship between the occurrence of Catecholamines and water absorption in insect eggs. P. Ins. Physiol, 11, 631-635.

Hammer, Y., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Paleontologia Electronica, 4(1), 9.

Meeratana, P., & Sobhon, P. (2007). Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de man. Aquaculture, 270, 249-258.

Muzzi, C., Bertocci, E., Terzuoli, L., Porcelli, B., Ciari, I., Pagani, R., & Guerranti, R. (2008). Simultaneous determination of serum concentrations of levodopa, dopamine, 3-O-methyldopa and **α**-methyldopa by HPLC. Biomedicine & Pharmacotherapy, 62, 253-258.

Noguchi, H., & Hayakawa, Y. (2001). Dopamine is a key factor for the induction of egg diapause of the silkworm, *Bombyx mori*. Eur. J. Biochem, 268, 774-780.

Nagabhushanam, R., & Kulkarni, G. K. (1980). Role of ovary-inhibiting hormone from eyestalks of marine penaeid prawns (*Parapenaeopsis hardwickii*) during ovarian developmental cycle. Aquaculture, 19, 13-19

O'Donovan, P., Abraham, M., & Cohen, D. (1984). The Ovarian cycle during the intermoult in Ovigerous *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 36, 347-358.

Peterson, Z. D. (2004). Analysis of clinically important compounds using electrophoretic separation techniques coupled to time-of-flight mass spectrometry. Doctor of Philosophy. Department of Chemistry and Biochemistry. Brigham Young University, 132.

Tinikul, Y., Mercier, A. J., Soonklang, N., & Sobhon, P. (2008). Changes in the levels of serotonin and dopamine in the central nervous system and ovary, and their possible roles in the ovarian development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. General and Comparative Endocrinology, 158, 250-258.

Tinikul, Y., Mercier, A. J., & Sobhon, P. (2009). Distribution of dopamine and octopamine in the central nervous system and ovary during the ovarian maturation cycle of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii.* Tissue and Cell, 41, 430-442.

Schlaeger, D. A., & Fuchs, M. S. (1974). Effect of Dopa-decarboxylase inhibition on *Aedes aegypti* eggs: Evidence for Sclerotization. J. Insect Physiol, 20, 349-357.

Sefiani, M. (1987). Regulation of egg laying and *in vitro* oviductal contractions in *Gryllus bimaculatus*. J. Insect Physiol, 33(4), 215-222.

Yamada, H., Satoh, R. I., Yamashita, T., Kambegawa, A., & Iwata, M. (1997). Development of a Time-Resolved Fluoroimmunoassay (TR-FIA) for Testosterone: Measurement of Serum Testosterone Concentrations after Testosterone Treatment in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and Comparative Endocrinology, 106, 181-188.

Yano, I., (1992). Effect of thoracic ganglion on vitellogenin secretion in kuruma prawn, *Penaeus japonicus.* Bull.Nat.Res. Inst. Aquacult, 21, 9-14.