

เสาวลักษณ์ เอี่ยมไผ่ : ผลของสารสกัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีโปรเจสเตอโรนจากแม่เพรียงทราย *Perinereis* sp. ต่อการเจริญของเซลล์ไข่กึ่งกลาค่า *Penaeus monodon* (EFFECTS OF PROGESTERONE AND 17 α -HYDROXYPROGESTERONE EXTRACTED FROM POLYCHAETES *Perinereis* sp. ON *Penaeus monodon* OOCYTE DEVELOPMENT) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรศิริกุล, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ ดร. อรพร หมั่นพล. 87 หน้า. ISBN 974-17-5899-5.

วิเคราะห์ความเข้มข้นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) และ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีโปรเจสเตอโรน (17 α -OHP4) จากแม่เพรียงทรายธรรมชาติและแม่เพรียงทรายฟาร์มเพาะเลี้ยง (*Perinereis* sp.) อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน และ ศึกษาฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้ในรังไข่ เลือด และกล้ามเนื้อของแม่กึ่งกลาค่า (*Penaeus monodon*) ที่รังไข่ ระยะต่างๆกัน ด้วยวิธี Radioimmunoassay (RIA) และ Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

แม่เพรียงทรายธรรมชาติ อายุ 2 เดือน มีปริมาณฮอร์โมน P4 และ 17 α -OHP4 มากที่สุด (47.48 $\pm$ 6.70 ng P4/mg protein และ 143.74 $\pm$ 28.70 ng 17 α -OHP4/mg protein) และลดลงจนต่ำสุดในแม่เพรียงอายุ 8 เดือน (3.86 $\pm$ 0.37 ng P4/mg protein และ 16.22 $\pm$ 8.55 ng 17 α -OHP4/mg protein) ในทางตรงข้ามแม่เพรียงทรายจากฟาร์มเพาะเลี้ยง อายุ 2 เดือน มีปริมาณฮอร์โมน P4 และ 17 α -OHP4 น้อยที่สุด (39.79 $\pm$ 16.64 ng P4/mg protein และ 100.29 $\pm$ 31.70 ng 17 α -OHP4/mg protein) และเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในแม่เพรียงทรายเลี้ยง อายุ 6 เดือน (640.76 $\pm$ 54.10 ng P4/mg protein และ 449.07 $\pm$ 35.48 ng 17 α -OHP4 /mg protein) ความแตกต่างของปริมาณฮอร์โมน P4 และ 17 α -OHP4 ในแม่เพรียงธรรมชาติ และแม่เพรียงเลี้ยง แสดงว่า ฮอร์โมนทั้งสองอาจไม่มีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่เพรียง แต่อาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดของแม่เพรียง สถานที่เลี้ยง ฤดูกาลในการเก็บรวบรวมแม่เพรียง และอาหารที่แม่เพรียงได้รับ

ในรังไข่แม่กึ่งกลาค่า พบว่าฮอร์โมน P4 และ 17 α -OHP4 มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของรังไข่ โดยฮอร์โมนทั้งสองเพิ่มขึ้นจากรังไข่ระยะที่ 1 (14.84 $\pm$ 1.87 ng P4/mg protein และ 33.17 $\pm$ 5.75 ng 17 α -OHP4/mg protein) จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (67.55 $\pm$ 5.70 ng P4/mg protein และ 163.65 $\pm$ 4.59 ng 17 α -OHP4/mg protein) เช่นเดียวกับในเลือด ที่ฮอร์โมนทั้งสองมีระดับคงที่ จนสูงสุดในรังไข่ระยะที่ 4 (13.28 $\pm$ 2.31 ng P4/mg protein และ 30.18 $\pm$ 2.83 ng 17 α -OHP4/mg protein) โดยที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนทั้งสองในกล้ามเนื้อแม่กึ่งกลาค่า

จากการทดลองบ่มเลี้ยงเซลล์ไข่ระยะแรกของกึ่งกลาค่า (Previtellogenic oocytes) ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* incubation) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยสารสกัดฮอร์โมนจากแม่เพรียงและฮอร์โมนสังเคราะห์ พบว่าฮอร์โมนทั้งสองสามารถทำให้ไข่ระยะปริไวเทิลโลเจนิคพัฒนาจนถึงไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลลอคได้ทั้งคู่ โดยมีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 1.0 ng/ml แต่ฮอร์โมนสังเคราะห์ P4 ทำให้เปอร์เซ็นต์ไข่ระยะที่มีคอร์ติคอลลอคสูงกว่าสารสกัด P4 จากแม่เพรียง (48.55 $\pm$ 8.48 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับ 24.31 $\pm$ 9.13 เปอร์เซ็นต์) เมื่อทดลองบ่มไข่อ่อนของแม่กึ่งกลาค่ากับ 17 α -OHP4 พบว่าต้องใช้ความเข้มข้นของฮอร์โมนสูงกว่าฮอร์โมน P4 โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้เปอร์เซ็นต์ไข่ระยะคอร์ติคอลลอคสูงสุด คือ 2.0 ng/ml จากฮอร์โมน 17 α -OHP4 สังเคราะห์ (29.16 $\pm$ 2.21 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ถ้าใช้ฮอร์โมนสกัด 17 α -OHP4 ต้องใช้ความเข้มข้นถึง 3.0 ng/ml จึงจะทำให้ไข่พัฒนาจนได้เปอร์เซ็นต์ไข่ระยะคอร์ติคอลลอคสูงสุด (21.76 $\pm$ 10.17 เปอร์เซ็นต์)

= # 4772546023 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: Polychaete / *Penaeus monodon*/ progesterone / 17 α -hydroxyprogesterone/ shrimp maturation

SAOVALUK IAMPHAI : EFFECTS OF PROGESTERONE AND 17 α -HYDROXYPROGESTERONE
EXTRACTED FROM POLYCHAETES *Perinereis* sp. ON *Penaeus monodon* OOCYTE

DEVELOPMENT. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL., Ph.D.

THESIS COADVISOR : ORAPORN MEUNPOL., Ph.D. 87 pp. ISBN 974-17-5899-5.

Progesterone (P4) and 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP4) were determined in polychaetes *Perinereis* sp. at various ages (2, 4, 6 and 8 month) and female *Penaeus monodon* broodstock tissues (ovary hemolymph and muscle) at different ovarian stages using Radioimmunoassay (RIA) and Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC).

It was found that 2 month-old natural polychaetes contained highest levels of P4 (47.48 ± 6.70 ng/mg protein) and 17 α -OHP4 (143.74 ± 28.70 ng/mg protein) which gradually decreased as they became matured (3.86 ± 0.37 ng/mg protein for P4 and 16.22 ± 8.55 ng/mg protein for 17 α -OHP4 at 8 month old polychaetes). In contrary, younger farmed polychaetes displayed lower concentration of both hormones than the older ones (39.79 ± 16.64 ng/mg protein for P4 and 100.29 ± 31.70 ng/mg protein for 17 α -OHP4 at 2 month old polychaetes compared to 640.76 ± 54.10 ng/mg protein for P4 and 449.07 ± 35.48 ng/mg protein for 17 α -OHP4 at 6 month old polychaetes). The results possibly indicated a non-maturational relationship of P4 and its derivative with polychaetes. Diverse concentrations of both hormones may be linked with other factors like types of polychaetes, habitats, seasons, and feed intake.

Data from various tissues of *Penaeus monodon* female broodstock at different ovarian stages showed that P4 and 17 α -OHP4 increased as the prawn became more matured. Both hormones are the lowest at previtellogenic oocytes stage I (14.84 ± 1.9 ng/mg protein for P4 and 33.17 ± 5.8 ng/mg protein for 17 α -OHP4) which progressively increased as it reached its maximum ovary stages IV (67.55 ± 5.70 ng/mg protein for P4 and 163.7 ± 4.5 ng/mg protein for 17 α -OHP4). Both hormones in prawn hemolymph had the highest concentrations at ovary stage IV (13.28 ± 2.3 ng P4/mg protein and 30.18 ± 2.8 ng 17 α -OHP4/mg protein). No significant changes of each hormone were detected from prawn muscle.

Twenty-four hours in vitro incubation of immature prawn oocytes (previtellogenic oocyte) with P4 and 17 α -OHP4 extracted from polychaetes or with synthetic hormones significantly increased development of previtellogenic oocytes to oocytes with cortical rods. Synthetic hormones were more potent than extracted ones. At similar concentration (1 ng/ml), synthetic P4 yielded 48.55 ± 8.5 percent of oocytes with cortical rods whereas extracted P4 resulted in 24.31 ± 9.1 percent of oocytes with cortical rods).