บทที่ 4
บทวิจารณ์

ลักษณะทางกายวิภาคและเนื้อเยื่อวิทยาของระบบสืบพันธุ์ปลากดเหลืองเพศผู้

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลักษณะด้านสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลากดเหลืองเพศผู้ มีลักษณะเป็นรยางค์คล้ายกับแคทฟิช (catfish) ชนิดอื่นๆ คือรยางค์มีคล้ายนิ้วมือ ซึ่งเป็นลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในปลาหลายวงศ์ของอันดับ Siluriformes เช่น ปลากดน้ำจืด ชนิด *Mystus tengara* ของวงศ์ Bagridae (Rastogi, 1969) ปลาดุก ชนิด *Trachelyopterus lucenai* และ *T. galeatus* ของวงศ์ Auchenipteridae (Meisner *et al.*, 2000) สำหรับในวงศ์ Pimelodidae มีปลาหลายชนิดที่มีอัณฑะลักษณะเป็นรยางค์ ได้แก่ *Iheringichthys labrosus* (Santos *et al.*, 2001) *Conorhynchus conirostris* (Lopes *et al.*, 2004) และ *Pimelodus maculatus* (Cruz and Santos, 2004) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีปลาในอันดับ Siluriformes บางวงศ์ที่มีอัณฑะรูปร่างยาวเรียวและไม่มีรยางค์ เช่น ในปลากดทะเลชนิด *Genidens genidens* (Valenciennes 1839) และ *Sciadeichthys luniscutis* (Valenciennes 1840) ของวงศ์ Ariidae และ ปลาบางชนิดในวงศ์ Helogenneidae (Loir *et al.*, 1989; Gomes and Araujo, 2004) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาในอันดับ Siluriformes เป็นปลากลุ่มที่มีความหลากหลายทางด้านสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ค่อนข้างมาก นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบจำนวนรยางค์ของอัณฑะของปลากดเหลือง กับปลาชนิดอื่นที่มีลักษณะคล้ายกัน เช่น ใน *I. labrosus* ที่มีจำนวนรยางค์ของอัณฑะทั้งหมดประมาณ 178 - 204 รยางค์ (Santos *et al.*, 2001) ขณะที่ในปลากดเหลืองที่ศึกษานั้นมีจำนวนรยางค์ของอัณฑะน้อยกว่าคือมีค่าเฉลี่ยประมาณ 138 - 163 รยางค์ แต่พบว่ามีการจัดเรียงตัวของรยางค์คล้ายคลึงกัน คือเรียงตัวเป็นกลุ่มๆ กลุ่มละ 2 - 3 รยางค์ นอกจากนั้น ยังพบว่าแต่ละรยางค์ของอัณฑะปลากดเหลืองนั้นจะมีท่อเพื่อเปิดสู่ท่อนำอสุจิ (spermatic duct) ของอัณฑะแต่ละข้างก่อนจะรวมกันเป็นท่อนำอสุจิรวมที่เรียกว่า คอมมอน สเปอร์มาติก ดัก (common spermatic duct) ในอัณฑะส่วนท้าย ซึ่งลักษณะของท่อนำอสุจิเช่นนี้เป็นแบบเดียวกับที่พบในอัณฑะของปลากระดูกแข็งส่วนใหญ่ (Grier, 1981) โดยทั่วไป

แล้วอัณฑะของปลาประกอบด้วยหลอดสร้างอสุจิจำนวนมาก ซึ่งหลอดสร้างอสุจินั้นมีลักษณะเป็นท่อขดไปมาและกระจายอยู่ทั่วทั้งตลอดความยาวของอัณฑะ โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวเป็นชั้นบาง ๆล้อมรอบท่อเหล่านี้ไว้ ภายในหลอดสร้างอสุจิมีถุงเซลล์เจริญพันธุ์ (germinal cyst) ที่บรรจุเซลล์สืบพันธุ์แต่ละระยะแยกจากกันอยู่ (Grier, 1981) จากลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาแสดงให้เห็นว่าอัณฑะของปลากดเหลืองจัดเป็นแบบ unrestricted spermatogonial testis คือเป็นอัณฑะที่มีเซลล์สืบพันธุ์พัฒนาอยู่ในระยะต่าง ๆ และสามารถพบได้ตลอดทั้งความยาวของอัณฑะ นอกจากนั้น ยังพบอสุจิที่เจริญเต็มที่ได้ในบริเวณช่องว่างของหลอดสร้างอสุจิ ซึ่งอัณฑะแบบนี้พบในปลากระดูกแข็งส่วนใหญ่ เช่น ปลาในอันดับ Cypriniformes อันดับ Perciformes และ อันดับ Salmoniformes (Grier *et al.*, 1980)

นอกจากอัณฑะที่เป็นอวัยวะที่สำคัญในระบบสืบพันธุ์แล้วนั้น ในปลาบางชนิดยังมีส่วนของเซมินัล เวสิเคิล (seminal vesicle) ที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยให้การ ปฏิสนธิเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้น เซมินัล เวสิเคิล มีหน้าที่สร้าง เก็บ และหลั่งของเหลวที่เรียกว่าเซมินัล ฟลูอิด (seminal fluid) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตส (fructose) ซึ่งเป็นเหมือนแหล่งพลังงานสำหรับการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Kanai *et al.*, 1986) นอกจากนั้น ยังประกอบด้วยไฟบริโนเจน (fibrinogen) และ วิตามินซี (vitamin C) เพื่อทำหน้าที่เป็นอาหารและสารค้ำจุน (supporting fluid) ให้กับอสุจิ แต่อย่างไรก็ตามเซมินัล เวสิเคิล ไม่ได้ทำหน้าที่หลักในการเก็บอสุจิ (Moore and Persaud, 1993; Moore, 1998; Widmaier *et al.*, 2004) สำหรับในปลากระดูกแข็งนั้น สามารถพบเซมินัล เวสิเคิล ในปลาบางกลุ่ม (Fishelson, 1991; Patzner, 1991) แต่อย่างไรก็ตามหน้าที่แน่นอนของเซมินัล เวสิเคิล นั้นยังไม่ทราบชัดเจน สันนิษฐานว่าอาจจะสร้างสารของเหลวที่ช่วยในการเคลื่อนย้ายเชื้อตัวผู้ (Nagahama, 1983) สำหรับในกลุ่มปลาบู่ที่พบว่าเซมินัล เวสิเคิล เจริญดีมากนั้น คาดว่าจะเป็นอวัยวะสำคัญที่สร้างสารเหลวขึ้นเพื่อเคลือบผิววัสดุก่อนที่ปลาเพศเมียจะวางไข่ (Miller, 1984) สำหรับในปลากดเหลืองที่ศึกษานั้น พบว่าไม่มีการสร้างต่อมพิเศษขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่เซมินัล เวสิเคิล แต่พบว่าส่วนท้ายของอัณฑะจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป และทำหน้าที่เป็นเซมินัล เวสิเคิล แทน ลักษณะเช่นนี้คล้ายกับที่พบในปลาบางชนิด เช่น ปลาในวงศ์ Callichthyidae วงศ์ Loricariidae และ วงศ์ Pimelodidae (Loir *et al.*, 1989) เป็นต้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะแตกต่างกับในปลาบางชนิด เช่น ปลากลุ่ม Blennid ที่มีการสร้างเป็นต่อมพิเศษขึ้นโดยที่จะมีลักษณะไม่เหมือนกับส่วนของอัณฑะเลย

(Patzner, 1989) ทำให้สามารถแยกส่วนของอัณฑะและเซมินัล เวสิเคิล ออกจากกันได้โดยจากการสังเกตลักษณะภายนอก นอกจากนี้ยังพบลักษณะพิเศษของการสร้างเซมินัล เวสิเคิล ได้ในปลาวงศ์ Auchenipteridae วงศ์ Clariidae วงศ์ Heteropneustidae และ วงศ์ Gobiidae (Siscar, 1970; Meisner *et al.*, 2000) อีกด้วย นอกจากนั้นเซมินัล เวสิเคิล มีการศึกษาทั้งด้านสัณฐานวิทยาและเนื้อเยื่อวิทยาในปลาหลายกลุ่ม เช่น ในกลุ่มปลาบู่สามารถใช้สัณฐานวิทยาของเซมินัล เวสิเคิล ในการจัดจำแนกชนิดของปลาในกลุ่มนี้ได้ (Fishelson, 1991) ส่วนในกลุ่ม Mediterranean blennies พบว่าปลา 16 ชนิดในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต่อมพิเศษในอวัยวะสืบพันธุ์แตกต่างกัน ซึ่งทำให้สามารถใช้ทางสัณฐานวิทยาของต่อมพิเศษนี้ในการจำแนกชนิดของปลากลุ่มนี้ได้เช่นกัน (Richtarski and Patzner, 2000) ในปลากดเหลือง พบว่ามีเซมินัล เวสิเคิล ที่มีลักษณะเป็นรยางค์คล้ายนิ้วมือเหมือนกับอัณฑะ โดยมีตำแหน่งอยู่ติดกับอัณฑะส่วนท้าย และมีลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาคล้ายกับในปลาชนิดอื่น ๆ นอกจากนั้น ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซมินัล เวสิเคิล จะเปลี่ยนแปลงไปตามการพัฒนาของวงจรสืบพันธุ์ด้วย โดยพบว่าในระยะอัณฑะปล่อยอสุจิ ช่วงฤดูสืบพันธุ์ ภายในช่องของเซมินัล เวสิเคิล จะเต็มไปด้วยสารคัดหลั่ง พร้อมด้วยเซลล์ที่เสื่อมสภาพและอสุจิจำนวนหนึ่ง ซึ่งลักษณะดังกล่าวคล้ายกับที่พบในปลาบู่ ชนิด *Zosterisessor ophiocephalus* และนอกจากนั้นพบว่าเซมินัล เวสิเคิล ของ *Z. ophiocephalus* ยังมีการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกับวงจรการสืบพันธุ์ด้วย (Lahnsteiner *et al.*, 1992) โดยลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาแบบนี้แตกต่างกับในปลา ชนิด *Corallio zetus* ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Blenniidae ซึ่งไม่พบว่ามีอสุจิปะปนอยู่ภายในช่องว่างของเซมินัล เวสิเคิล เลย (Patzner, 1991) ส่วนในปลาจีด ชนิด *Heteropneustes fossilis* พบว่ามีเซมินัล เวสิเคิล ที่มีการสร้างสารคัดหลั่งเช่นกัน โดยจะเริ่มมีการสร้างสารคัดหลั่งตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นของวงจรสืบพันธุ์ไปจนมีการสร้างสารคัดหลั่งเต็มที่ในระยะปล่อยอสุจิ (Nayyar and Sundararaj, 2005)

โดยทั่วไปแล้วกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในปลาเพศผู้ สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทั้งปี (Bhatii and Daham, 1978; Htun – Han, 1978; Grier *et al.*, 1980; Miura, 1999; Suwanjarat *et al.*, 2005) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของปลากดเหลืองเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดปี เนื่องจากพบว่ามีอัณฑะระยะพัฒนาและอัณฑะระยะเจริญเต็มที่ในเกือบทุกเดือน ซึ่งการสืบพันธุ์ของปลานั้น นอกจากจะเกิดขึ้นจากกลไกภายในตัวปลาแล้ว ยังเกี่ยวเนื่องกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอกด้วย สิ่งแวดล้อมภาย

นอกนับว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นให้กลไกภายในตัวปลาทำงาน ส่งผลให้เซลล์สืบพันธุ์เจริญได้ (Miura, 1999) สำหรับสิ่งแวดล้อมภายนอกที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อสืบพันธุ์ ได้แก่ อุณหภูมิ ความยาวของกลางวันหรือแสง ปริมาณน้ำฝน คุณภาพของน้ำข้างขึ้น ข้างแรม และอาหารที่มีในธรรมชาติ (Kuo *et al.*, 1974; Smith, 1982) ในการศึกษาครั้งนี้เซลล์สืบพันธุ์มีการเจริญสูงสุด ไปจนถึงระยะที่มีการปล่อยอสุจิ พบในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2546 ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูร้อนและเข้าสู่ฤดูฝน และเป็นช่วงที่สิ่งแวดล้อมต่างๆ เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการสืบพันธุ์ ทั้งนี้ เนื่องจากพบว่าปัจจัยที่สำคัญในการกระตุ้นการสืบพันธุ์ในปลาเขตร้อน คือปัจจัยของน้ำใหม่และน้ำท่วม (Stacey, 1983) ปลาเขตร้อนเกือบทุกชนิดจะวางไข่ในฤดูน้ำหลาก โดยเมื่อถึงฤดูฝนระดับน้ำในแม่น้ำ ลำคลอง จะสูงขึ้นจนล้นตลิ่งและไหลเข้าท่วมท้องนา หนองน้ำ และลำธารต่างๆ จากนั้นพ่อแม่ปลาที่พร้อมผสมพันธุ์จะว่ายออกจากแหล่งอาศัยไปวางไข่และผสมพันธุ์ตามท้องนาที่มีน้ำท่วม บางชนิดอาจวางไข่ในแหล่งที่อยู่อาศัยเดิม บางชนิดก็อาจจะหาแหล่งที่อยู่ใหม่ สันนิษฐานว่าน้ำที่ท่วมในฤดูน้ำหลากนั้นได้พัดพาแร่ธาตุและความอุดมสมบูรณ์ต่างๆ มาสู่แหล่งน้ำ ปลาจึงเลือกที่จะวางไข่และผสมพันธุ์ในฤดูนี้ เพื่อลูกปลาที่เกิดมาจะมีอาหารอุดมสมบูรณ์ เพียงพอต่อการเจริญเติบโต โดยอาจจะเป็นไปได้ว่าน้ำใหม่มีคุณสมบัติบางประการที่ดีกว่าเดิม เช่น ออกซิเจนละลายอยู่ในปริมาณสูงขึ้น หรือแร่ธาตุในดินที่ถูกพัดพามากับน้ำด้วย และเมื่อเปรียบเทียบกับในเดือนมีนาคม และ เมษายน 2546 ซึ่งช่วงเดือนที่มีการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ต่ำสุด เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงหน้าร้อนของประเทศไทย ปริมาณน้ำฝนมีน้อย ทำให้อุณหภูมิในน้ำสูงขึ้น และอาหารในธรรมชาติของปลาอาจลดลงไปด้วย ซึ่งปัจจัยทั้งหลายนั้นน่าจะมีผลให้การสืบพันธุ์ของปลากดเหลืองลดต่ำลงด้วยเช่นกัน

การสืบพันธุ์ในปลากระดูกแข็งแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกันออกไป ซึ่งปลาบางชนิดอาจจะมีระยะเวลามากหรือน้อยแตกต่างกัน การแสดงออกของการสืบพันธุ์ในปลาบางชนิดปรากฏเพียง 1 ครั้งในช่วงชีวิตสั้น ๆ เช่น ในปลา brook silverside (*Labidesthes sicculus*) (Lagler *et al.*, 1977) ในปลาชนิดอื่น ถึงแม้ว่าจะมีช่วงชีวิตค่อนข้างยาวก็อาจจะปรากฏการสืบพันธุ์เพียงครั้งเดียวได้ เช่น ปลาแซลมอนชนิด *Oncorhynchus sp.* การสืบพันธุ์เกิดเพียง 1 ครั้งในช่วงชีวิตประมาณ 2 - 5 ปี หรือมากกว่านั้น (Lagler *et al.*, 1977) อย่างไรก็ตามพบว่าในปลากระดูกแข็งส่วนใหญ่นั้น การสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดเป็นวงจรในแต่ละรอบปี โดยเฉพาะในปลาเพศผู้กระบวนการสร้างอสุจิสามารถจะเกิดขึ้นได้ตลอดปี

(Bhatti and Daham, 1978; Grier, 1981; Mirua, 1999; Suwanjarat *et al.*, 2005) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีปลากดเหลืองที่มีระยะอัณฑะพัฒนาและระยะอัณฑะเจริญเต็มที่ได้เกือบทุกเดือน แสดงให้เห็นว่าการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของปลากดเหลืองสามารถเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในรอบปี

การศึกษาทางด้านฮีสโตเคมี

ในกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ นอกจากจะได้เซลล์สืบพันธุ์ที่สมบูรณ์แล้ว ยังได้เซลล์สืบพันธุ์ที่เสื่อมสภาพและไซโตพลาสซึมที่หลุดออกมาจากกระบวนการดังกล่าวด้วย เอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส (acid phosphatase) นับเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการกำจัดชิ้นส่วนของเซลล์ที่หลงเหลือจากการใช้ในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ รวมไปถึงเซลล์สืบพันธุ์ที่ตกค้างอยู่ภายในท่อนำอสุจิด้วย (Lahnsteiner *et al.*, 1994; Porawski *et al.*, 2004) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในอัณฑะของปลานั้นมีเซอโทไล เซลล์ ที่อยู่ในหลอดสร้างอสุจิทำหน้าที่ในการกำจัดเซลล์อสุจิที่หลงเหลืออยู่ด้วย (Grier, 1981; Nagahama, 1983) จากการศึกษาในท่อรวมของอัณฑะ (testicular main duct) และท่อนำอสุจิของ *Alburnus alburnus* L. *Leuciscus cephalus* L. และ *Vimba vimba* L. ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Cyprinidae พบว่าเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส ขึ้นหลังจากฤดูวางไข่ หรือหลังจากระยะปล่อยอสุจิ (Lahnsteiner *et al.*, 1994) ส่วนในอัณฑะของปลานิล ชนิด *Oreochromis niloticus* และ คิงฟิช (kingfish) ชนิด *Odonthestes perugiae* พบว่าเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส เฉพาะในช่วงที่ไม่ใช่ฤดูผสมพันธุ์ และยังพบว่าเซลล์ที่ทำหน้าที่กำจัดเซลล์ที่เสื่อมสภาพเหล่านั้นเป็นเซลล์บริเวณท่อนำอสุจิส่วนเอฟเฟอร์เรน ดัก (efferent duct) ซึ่งเซลล์ดังกล่าวไม่ใช่เซอร์โทไล เซลล์ แต่อย่างใด (Porawski *et al.*, 2004) สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส ในเนื้อเยื่ออัณฑะและเซมินัล เวสิเคิล ของปลากดเหลือง ในระยะก่อนที่จะปล่อยอสุจิ และระยะหลังจากปล่อยอสุจิแล้วซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส ทำหน้าที่ดูดซึมไซโตพลาสซึมของเซลล์สืบพันธุ์ที่หลงเหลืออยู่หลังจากกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ รวมไปถึงเซลล์สืบพันธุ์ที่ตกค้างอยู่ด้วย

นอกจากนี้ในเนื้อเยื่ออัณฑะมีเซลล์อีกหนึ่งชนิด ที่ทำหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการสืบพันธุ์ คือมีหน้าที่สังเคราะห์สารสเตอรอยด์ ซึ่งได้แก่ อินเตอร์สติเจียล เซลล์ หรือ เลย์ดิก เซลล์ พบเซลล์ชนิดนี้กระจายอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นกลุ่มแทรกอยู่ในบริเวณอินเตอร์สติเจียล ทิชชู ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ระหว่างหลอดสร้างอสุจิที่มีอยู่เป็นจำนวนมากภายในอัณฑะ นอกจากนี้ยังพบว่าในปลาบางชนิดเซอร์โทไล เซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ในหลอดสร้างอสุจิ นั้น นอกจากจะมีหน้าที่ในการทำลายเชื้อตัวผู้ที่ตกค้างหลังฤดูวางไข่แล้ว ก็ยังสามารถทำหน้าที่สร้างสเตอรอยด์ได้เช่นกัน (Grier *et al.*, 1980; Nagahama, 1983) ภายในอัณฑะของปลานั้น พบว่ามีการสร้างสารสเตอรอยด์หลายชนิด ได้แก่ ฮอร์โมนเพศผู้ (androgens) ในปลากระดูกแข็งส่วนใหญ่ ฮอร์โมนเพศผู้ที่สร้างขึ้น คือ 11 - คีโตเทสโทสเตอโรน (11 - ketotestosterone) ส่วนเทสโทสเตอโรน (testosterone) อาจเป็นฮอร์โมนเพศผู้ที่ออกฤทธิ์ได้ในปลาบางชนิดเท่านั้น ส่วนในปลาชนิดอื่นๆ ที่นอกเหนือจากนั้นพบว่าเทสโทสเตอโรนเป็นเพียงสารเริ่มต้นของ 11 - คีโตเทสโทสเตอโรน หรืออาจทำหน้าที่ช่วยในการเจริญขั้นสุดท้ายของอัณฑะ นอกจากนั้นแล้วอัณฑะยังสร้างฮอร์โมนอื่นๆ อีก ซึ่งพบว่าฮอร์โมนเหล่านั้นบางตัวมีคุณสมบัติเป็นฟีโรโมน (pheromones) ซึ่งสามารถกระตุ้นการวางไข่ของปลาเพศเมีย (Liley and Stacey, 1983) ซึ่งสเตอรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormone) และฟีโรโมนที่นอกจากจะเป็นสารสำคัญในการเจริญของอัณฑะแล้วนั้น ยังอาจจะเป็นประโยชน์ในการปฏิสนธิและยังเป็นสารที่ใช้ในการดึงดูดเพศเมียในระหว่างฤดูผสมพันธุ์อีกด้วย (Van Den Hurk *et al.*, 1987; Lahnsteiner *et al.*, 1992) เอนไซม์ที่แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างสารสเตอรอยด์เกิดขึ้น ได้แก่ เอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (glucose 6 phosphate dehydrogenase, G6PD) เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ดีไฮโดรจีเนส (3β - hydroxysteroid dehydrogenase, 3β-HSD) และ เอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส (uridine diphosphoglucose dehydrogenenase, UDPGD) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด เป็นเอนไซม์ที่พบเฉพาะบริเวณที่มีการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ และโดยเฉพาะเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส นั้น เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กลูโคโรนิกแอสิด (glucuronic acid) และยังอาจสันนิษฐานได้ว่าสารดังกล่าวมีคุณสมบัติคล้ายฟีโรโมน ดังนั้นเมื่อเอนไซม์ดังกล่าวมีการทำงานร่วมกันจึงแสดงให้เห็นได้ว่ามีการสร้างสารสเตอรอยด์กลูโคโรไนด์ (steroid glucuronide) ซึ่งทำหน้าที่คล้ายฟีโรโมน (Van Oordt *et al.*, 1987; Resink *et al.*, 1989; Lahnsteiner *et al.*, 1990; Lahnsteiner *et al.*, 1993; Lahnsteiner

et al., 1994; Cinquetti, 1997; Cornish, 1998) สำหรับหน้าที่ของสารสเตอรอยด์ในการเจริญของอัณฑะนั้นพบว่า ในอัณฑะที่ยังไม่เจริญเต็มที่มีการสร้างสารสเตอรอยด์บ้าง ซึ่งคาดว่าน่าจะมีส่วนกระตุ้นการสร้างสารโกนาโดโทรปิน (gonadotropin) ที่จะมีผลกระตุ้นการเจริญของอัณฑะต่อไป ในอัณฑะที่เจริญเต็มที่พบว่าฮอร์โมนเพศผู้มีอิทธิพลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ โดยอาจออกฤทธิ์โดยตรงต่ออัณฑะ หรือมีผลทางอ้อมผ่านทางโกนาโดโทรปิน (Liley and Stacey, 1983) ส่วนฟีโรโมนซึ่งเป็นชื่อทั่วไปที่ใช้เรียกสารเคมีที่สัตว์ปล่อยออกมาในสิ่งแวดล้อมเพื่อการสื่อสารระหว่างสัตว์ด้วยกัน (Stacey, 1990) จึงอาจจะทำหน้าที่เป็นสารที่ใช้ในการดึงดูดเพศเมียในระหว่างฤดูผสมพันธุ์ สำหรับในปลากดเหลือง พบว่าที่เลย์ดิก เซลล์ ของอัณฑะเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาในช่วงระยะอัณฑะพัฒนาไปจนถึงระยะปล่อยอสุจิ ดังนั้นการพบปฏิกิริยาดังกล่าวจึงอาจสันนิษฐานได้ว่าเนื้อเยื่ออัณฑะของปลากดเหลือง สามารถสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ได้ การพบปฏิกิริยาของเอนไซม์นี้คล้ายกับที่ศึกษาในปลาหลายชนิด เช่น ใน ปลาดุกน้ำจืดอเมริกัน ชนิด *Ictalurus nebulosus* Lesueur พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส เกิดที่เลย์ดิก เซลล์ และเกิดปฏิกิริยาสูงในช่วงก่อนฤดูวางไข่ (Rosenbelum *et al.*, 1987) ในปลาดุกอัฟริกัน ชนิด *Clarias gariepinus* พบว่าในระยะหลังจากระยะอัณฑะพักแล้ว เริ่มเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และ เอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ขึ้น โดยในระยะก่อนปล่อยอสุจิจะเกิดปฏิกิริยาสูงสุด ซึ่งปฏิกิริยาเกิดขึ้นทั้งในอัณฑะและเซมินัล เวสิเคิล และปฏิกิริยาส่วนใหญ่เกิดขึ้นในเซมินัล เวสิเคิล มากกว่า (Van Oordt and Goos, 1987; Resink *et al.*, 1989) ในปลาบู่ ชนิด *Gobius niger* L. วงศ์ Gobiidae พบว่าเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส เอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟ กลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ขึ้นในบริเวณ testicular gland (Seiwald and Patzner, 1989) ส่วนใน *Blennius pavo* Risso วงศ์ Blenniidae พบว่ามีปฏิกิริยาของเอนไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส เอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส เกิดขึ้นที่เซลล์ใน testicular gland แต่ไม่พบปฏิกิริยาของเอนไซม์ดังกล่าวในเนื้อเยื่ออัณฑะ (Seiwald and Patzner, 1989) ในปลาบู่

ชนิด *Z. ophiocephalus* วงศ์ Gobiidae พบว่ามีปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส ในเนื้อเยื่อเซมินัล เวสิเคิล (Lahnsteiner *et al.*, 1992) ในปลาแซลมอน ชนิด *O. mykiss* *Salvelinus alpinus* *Thymallus thymallus* และปลาไวท์ฟิช ชนิด *Coregonus* sp. ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Salmonidae พบว่าในช่วงฤดูผสมพันธุ์ท่อนำอสุจิ มีการสร้างสารคัดหลั่งมาก และเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซี สเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ขึ้น แสดงให้เห็นว่าบริเวณท่อนำอสุจิก็มีการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ด้วย (Lahnsteiner *et al.*, 1993a) ใน *Lipophrys canevae* และ *Salaria pavo* วงศ์ Blenniidae เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ชิ้นที่อวัยวะเพิ่มเติมในอัณฑะ (testicular accessory organs) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ กลูโคโรไนด์เกิดขึ้นเช่นกัน และมีความเป็นไปได้ว่าสารดังกล่าวอาจทำหน้าที่เป็นฟีโรโมน (Lahnsteiner *et al.*, 1993b) ในท่อรวมของอัณฑะ และท่อนำสเปิร์ม ของ *Alburnus alburnus* L. *Leuciscus cephalus* L. และ *Vimba vimba* L. ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Cyprinidae พบว่าเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ขึ้นหลังจากฤดูวางไข่ หรือหลังจากระยะปล่อยอสุจิ (Lahnsteiner *et al.*, 1994a) ในฤดูผสมพันธุ์ของปลาบู่น้ำจืด ชนิด *Padogobius martensi* พบว่ามีปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส ในระยะที่เซลล์สืบพันธุ์เริ่มเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆจนกระทั่งถึงระยะปล่อยอสุจิ (Cinquetti, 1994) ในปลาแซลมอน ชนิด *O. mykiss* พบว่าเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ดีไฮโดรจีเนส ที่อินเตอร์สติเจียล เซลล์ หรือ เลย์ดิก เซลล์ โดยที่ไม่พบปฏิกิริยาของเอนไซม์ดังกล่าวที่เซอโทไล เซลล์ แสดงให้เห็นว่าการทำหน้าที่ในการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์อยู่ที่เลย์ดิก เซลล์ เท่านั้น (Kabayashi *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าเลย์ดิก เซลล์ ของปลาบู่น้ำจืด ชนิด *P. martensi* มีปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรจีเนส ตลอดทั้งวงจรสืบพันธุ์ (Cinquetti and Dramis, 2003) ซึ่งจากผลการศึกษาครั้งนี้นอกจากจะแสดงให้

เห็นว่าอัณฑะของปลากดเหลือง สามารถสร้างสารสเตอรอยด์ได้แล้วนั้น ยังแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่าปลาแต่ละชนิดมีตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เหล่านี้แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่จะพบปฏิกิริยาของเอนไซม์ทั้งหลายในระยะเดียวกันในวงจรการสืบพันธุ์

นอกจากเอนไซม์ทั้งสี่ชนิดที่กล่าวมาแล้วนั้น พบว่าในอวัยวะสืบพันธุ์ของปลายังมีการสร้างสารพวกมิวโคโพลีแซคคาไรด์ (mucopolysaccharide) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าหน้าที่สำคัญอย่างหนึ่งของเซมินัล เวสิเคิล ในปลากระดูกแข็งคือการผลิตสารพวกพวกไกลโคโปรตีน (glycoprotein) (Van Den Hurk *et al.*,1987; Lahnsteiner *et al.*, 1992) การศึกษาปลากดเหลือง ในครั้งนี้พบว่าปฏิกิริยา Periodic Acid Schiff Reaction (PAS) เกิดขึ้นในช่องว่างภายเซมินัล เวสิเคิล โดยพบมากในระยะปล่อยอสุจิ ซึ่งเป็นลักษณะคล้ายกับที่พบในปลากระดูกแข็งชนิดอื่นๆ การหลั่งสารมิวโคโพลีแซคคาไรด์โดยเซมินัล เวสิเคิล ได้ศึกษาในปลาหลายชนิด เช่น ปลาดุกอัฟริกัน ชนิด *C. gariepinus* พบว่าเซมินัล เวสิเคิล สามารถสร้างสารพวกมิวโคโพลีแซคคาไรด์ (Van Den Hurk *et al.*, 1987) ในเซมินัล เวสิเคิลของปลาบู่ ชนิด *Z. ophiocephalus* สามารถหลั่งสารไซค์โลไกลโคโปรตีน (sialoglycoprotein) ซึ่งสารดังกล่าวจะถูกปล่อยออกมาพร้อมกับเซลล์สืบพันธุ์ (Lahnsteiner *et al.*, 1992) ในอัณฑะส่วนท้ายของ *I. labrosus* และ *P. maculatus* มีการหลั่งสารไกลโคโปรตีนในช่วงฤดูผสมพันธุ์ด้วย (Santos *et al.*, 2001; Cruz and Santos, 2004)

หน้าที่ของสารมิวโคโพลีแซคคาไรด์ ที่สร้างโดยอวัยวะสืบพันธุ์ในปลากระดูกแข็งนอกจากจะเป็นแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์สืบพันธุ์ในช่วงสุดท้ายของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Lahnsteiner and Patzner, 1990) แล้วนั้นยังมีหน้าที่อื่นๆอีก เช่นในปลาบู่ชนิด *Z. ophiocephalus* พบว่าไซค์โลไกลโคโปรตีนที่สร้างขึ้นมานั้นทำหน้าที่ให้ความเหนียวหนืดแก่เซมินัล ฟลูอิด ซึ่งเป็นผลดีต่อการผสมพันธุ์ เนื่องจากความเหนียวหนืดของเซมินัล ฟลูอิด ทำให้เซลล์สืบพันธุ์ไม่ฟุ้งกระจายไปในน้ำหลังจากที่ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมา ทำให้โอกาสที่อสุจิจะได้ผสมกับไข่นั้นเป็นไปได้มากยิ่งขึ้น (Lahnsteiner *et al.*, 1992) ในปลา *P. martensi* พบว่าต่อมที่ท่อนำอสุจิ หลั่งสารที่ทำให้น้ำเชื้อ (semen) มีความเหนียวและเกาะติดกับไข่ได้ดี (Cinquetti, 1997) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการที่เกิดปฏิกิริยาของ PAS ในเซมินัล เวสิเคิลของปลากดเหลืองในการศึกษาครั้งนี้ เกิดขึ้นเนื่องจากเซมินัล เวสิเคิล มีการหลั่งสารพวกมิวโคโพลีแซคคาไรด์ ที่ทำให้น้ำเชื้อมีความเหนียว หนืด ช่วยให้อสุจิสามารถเกาะติดกับไข่ได้ดี ซึ่งเป็นผลดีให้การผสมของไข่และอสุจิมีประสิทธิภาพดีด้วย อีกทั้งอาจจะช่วยให้สารสเตอรอยด์

ที่สร้างจากอัณฑะซึ่งอาจมีคุณสมบัติเป็นฟีโรโมนนั้น สามารถยืดเวลาในการออกฤทธิ์เพื่อดึงดูดเพศเมียให้เข้ามาผสมพันธุ์ และกระตุ้นการวางไข่ด้วย อย่างเช่นที่มีรายงานการศึกษาใน *Z. ophiocephalus* ว่าสามารถสังเคราะห์สารสเตอรอยด์กลูโคโรไนด์ ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นการรับกลิ่นของเพศเมียในช่วงฤดูวางไข่สืบพันธุ์ (Resink *et al.*, 1989) อย่างไรก็ตาม การศึกษาในครั้งนี้ยังไม่ได้มีการพิสูจน์อย่างแน่ชัดว่าสารสเตอรอยด์ที่ปลากดเหลือง สร้างขึ้นมานั้นมีคุณสมบัติเป็นฟีโรโมนหรือไม่ จึงควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับหน้าที่ที่แท้จริงของสารตัวนี้ด้วย