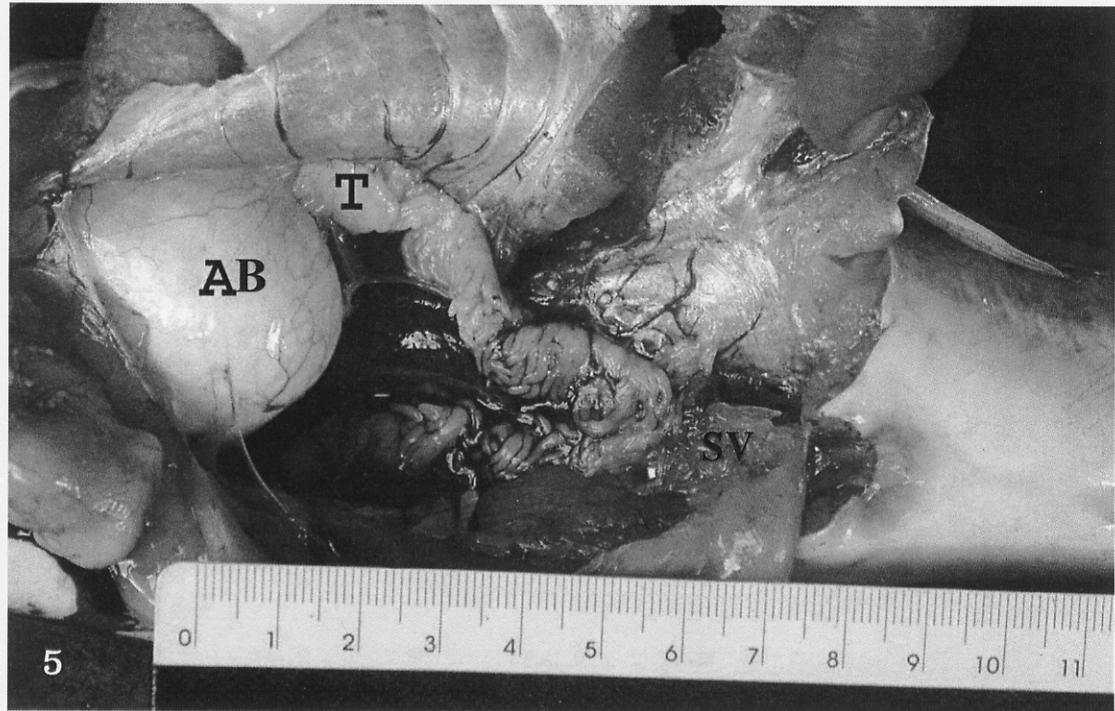


บทที่ 3

ผลการศึกษา

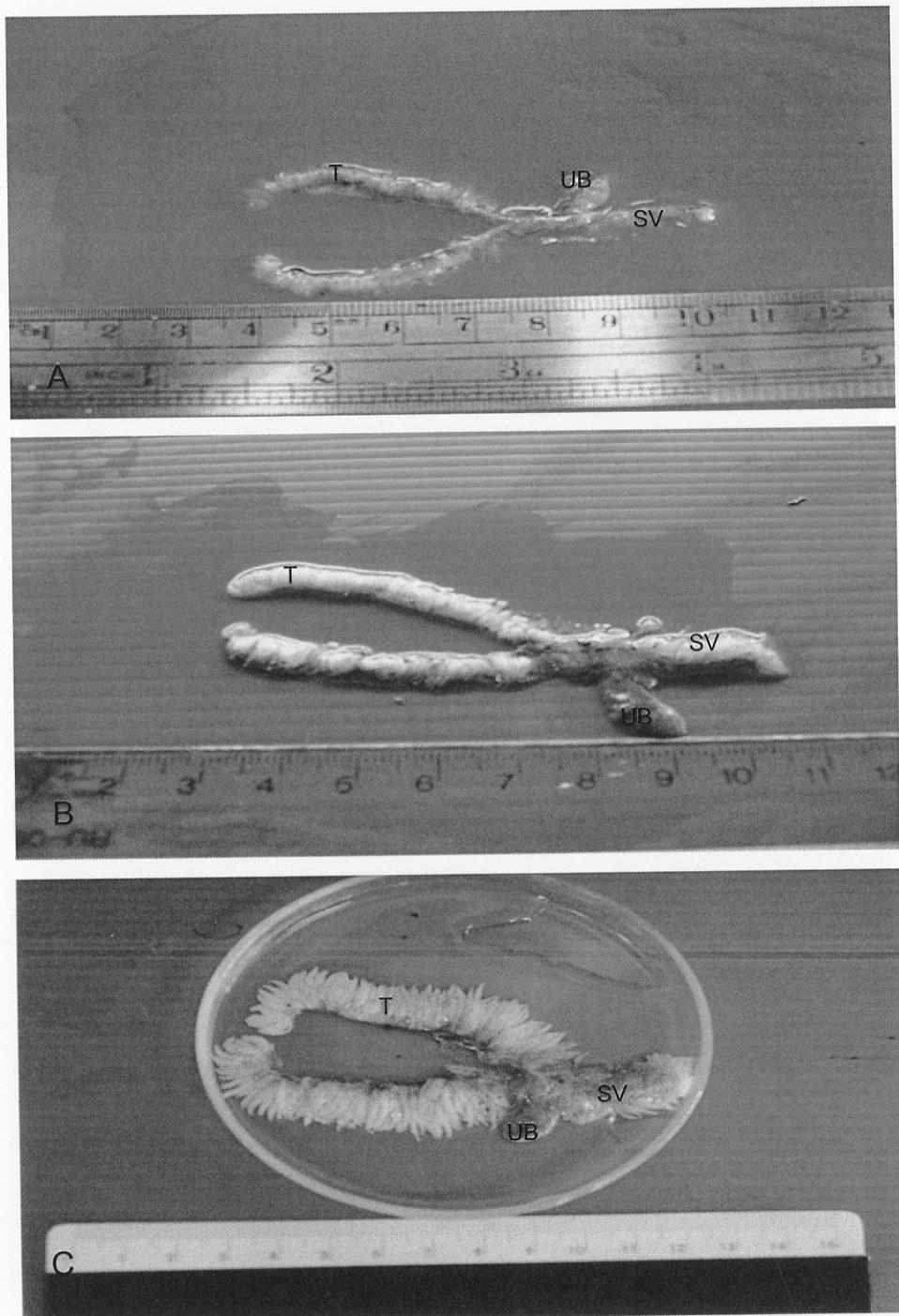
ลักษณะทั่วไปของระบบสืบพันธุ์ในปลาด对待องเพศผู้

ปลาด对待องมีอัณหะ 1 คู่ ออยู่แนวติดกับกระดูกสันหลังและถุงลม อัณหะแต่ละข้างมีลักษณะเป็นรยางค์คล้ายนิ้วมือและมีสีครีมชุ่น หากแบ่งอัณหะเป็น 3 ส่วน พบร้า อัณหะส่วนต้น และส่วนกลาง จะมีสีครีมค่อนข้างชุ่นกว่าอัณหะส่วนท้ายที่มีสีค่อนข้างอ่อนกว่า (ภาพที่ 5) และเมื่อเปรียบเทียบขนาด ความยาวและสีของอัณหะ พบร้าจะแตกต่างกันในแต่ละระยะของวงจรสืบพันธุ์ คือในระยะที่อัณหะเจริญเติบโต จะมีขนาดและความยาวมากกว่า อัณหะระยะพักอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 6) จากการศึกษาทางเนื้อเยื่ออวัยวะพบว่าส่วนท้ายของ อัณหะมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อเชมินัล เวสิเคิล แต่จากลักษณะทางกายวิภาคภายนอก พบร้าโดยทั่วไปแล้วลักษณะภายนอกของเชมินัล เวสิเคิล จะคล้ายกับอัณหะคือมีลักษณะเป็นรยางค์คล้ายนิ้วมือเช่นกันแต่จะมีสีอ่อนและใสกว่า อัณหะแต่ละข้างมีจำนวนรยางค์เฉลี่ย 85.26 ± 14.43 อัน และมีความยาวของแต่ละรยางค์เฉลี่ยต่ำสุดคือ 2.2 ± 1.0 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ยสูงสุดคือ 10.5 ± 4.4 มิลลิเมตร สำหรับในส่วนของเชมินัล เวสิเคิล มีจำนวนรยางค์เฉลี่ย 46.16 ± 17.56 อัน และมีความยาวของแต่ละรยางค์เฉลี่ยต่ำสุดคือ 2.5 ± 1.1 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ยสูงสุดคือ 10.4 ± 4.5 มิลลิเมตร โดยที่การเรียงตัวของรยางค์ของอัณหะ จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ ประมาณกลุ่มละ 2 – 3 รยางค์ (ภาพที่ 7) จากการฉีดสีเข้าทางช่องเปิดของติ่งเพศ (genital papillae) พบร้าอัณหะข้างซ้าย และขวาจะมีท่อน้ำสู่ เรียกว่าสเปอร์มาติก ตัก (spermatic duct) ซึ่งจะรวมกันในส่วนท้ายเป็นท่อรวมที่เรียกว่าคอมมอนสเปอร์มาติก ตัก (common spermatic duct) จากนั้นจะเปิดออกสู่ภายนอกบริเวณช่อง เปิดที่อยู่ปลายสุดของติ่งเพศที่มีรูปร่างเป็นกรวย อยู่ด้านล่างจากช่องเปิดของทวารหนัก (ภาพที่ 8)



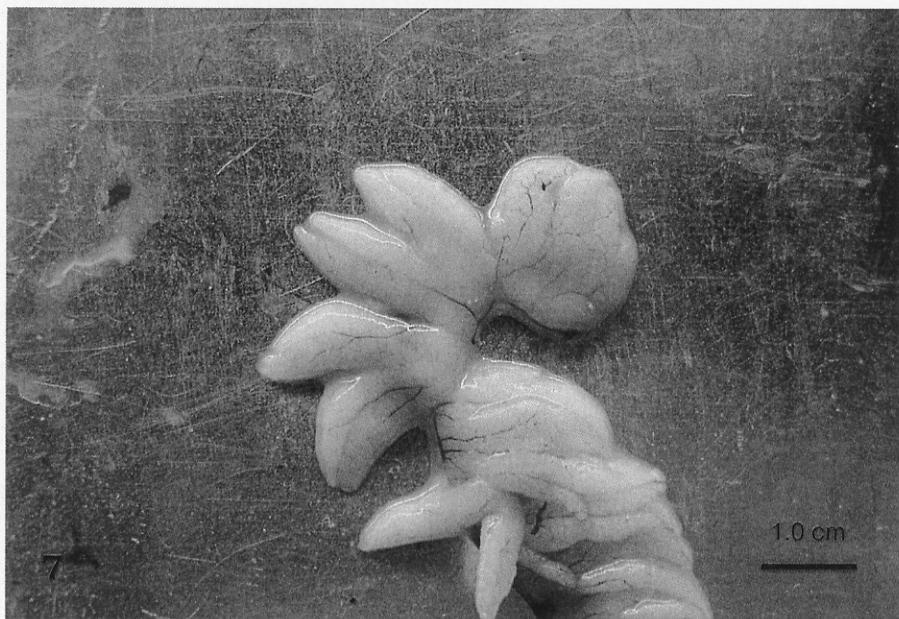
ภาพที่ 5 อวัยวะภายในช่องท้องของปลาดเดลีอง

(AB : air bladder; T : testis; SV : seminal vesicle)



ภาพที่ 6 ลักษณะภายนอกของอัณฑะ และ เซมินัล เวสิเคิล (seminal vesicle)
ของปลากรดเหลือง

A : อัณฑะระยะพัก (resting stage); B : อัณฑะระยะกำลังพัฒนา
(developing stage); C : อัณฑะระยะเจริญเต็มที่ (maturing stage)
(SV : seminal vesicle; T : testis; UB : urinary bladder)



ภาพที่ 7 ลักษณะร่างกายค์ของอัณฑะ

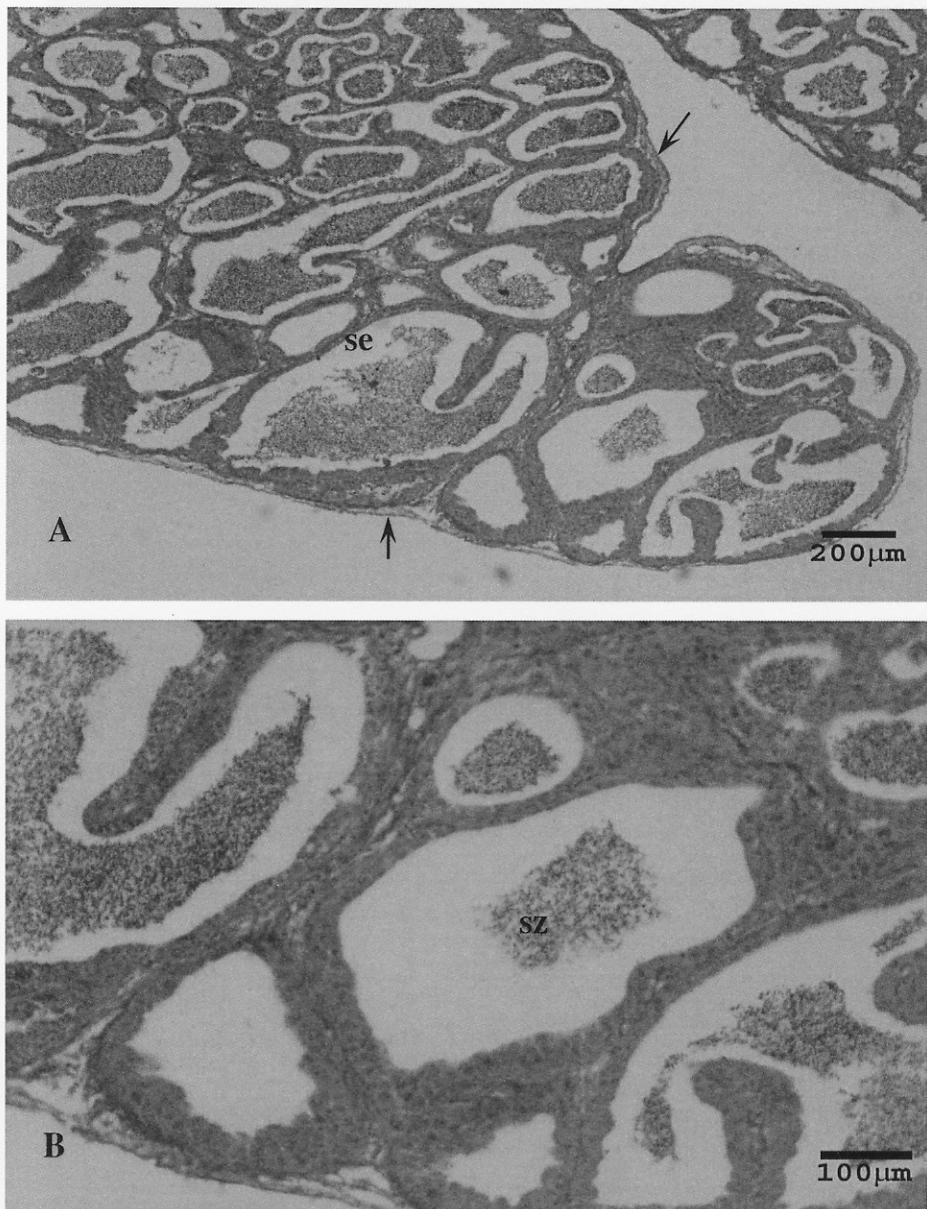
ภาพที่ 8 อัณฑะ และ เชมินัล เวสิเดิล ฉีดสี

(CSD : common spermatic duct; P : genital papilla; SD : spermatic duct;
SV : semininal vesicle; T : testis)

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอัณฑะปลากดเหลือง

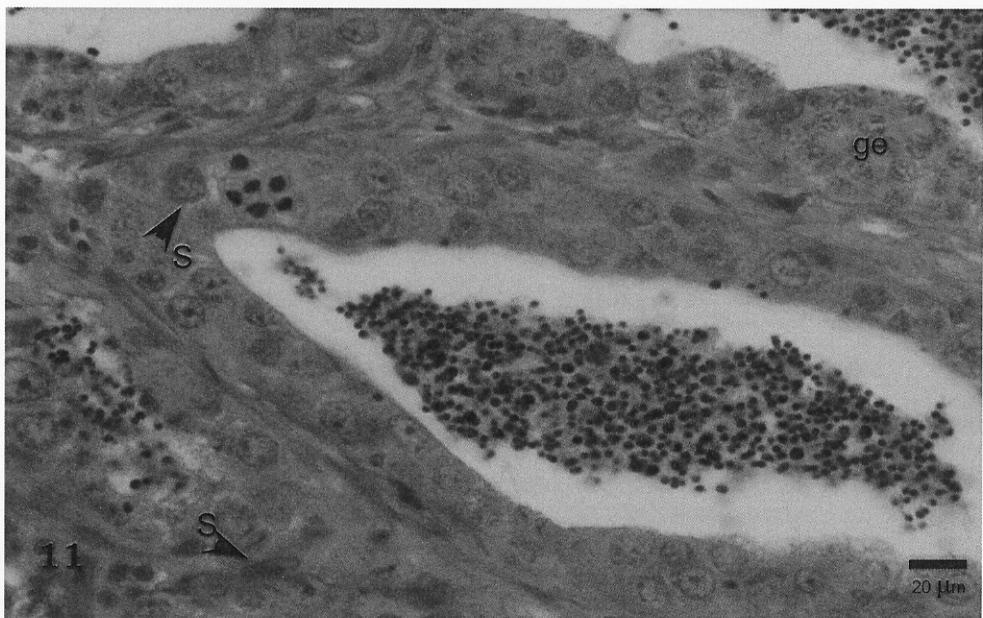
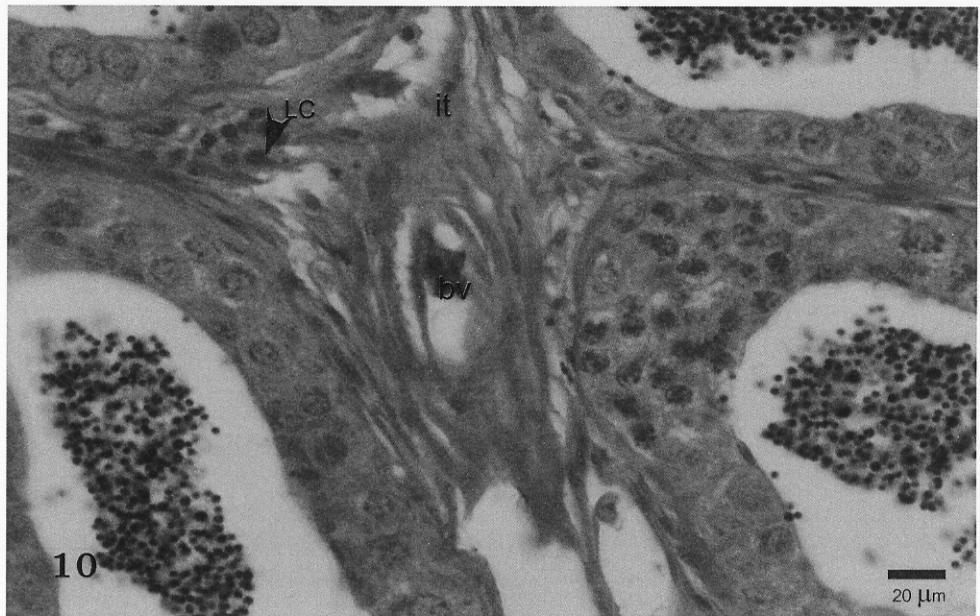
พบว่าภายในอัณฑะของปลากดเหลือง มีลักษณะคล้ายกับในสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น คือแต่ละข้างของอัณฑะจะถูกหุ้มด้วยชั้นทูนิก้า อัลบูจีเนีย (*tunica albuginea*) ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและมีกล้ามเนื้อเรียบแทรกอยู่ ส่วนด้านในจะประกอบด้วยหลอดสร้างอสุจิจำนวนมาก มีลักษณะเป็นท่อชิดไปมา (ภาพที่ 9) และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวเป็นชั้นบาง ๆ ล้อมรอบท่อเหล่านี้ไว้ เรียกเนื้อเยื่อชั้นนี้ว่าอินเตอร์สติเชียล ทิชชู ซึ่งภายในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันนี้พบท่อเลือดขนาดเล็กและเลียดิก เชลล์ แทรกอยู่ (ภาพที่ 10) ในตลอดความยาวของหลอดสร้างอสุจิ มีการสร้างอสุจิ (*spermatogenesis*) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์ หรือสเปอร์ม่าโตจีนิกระยะต่าง ๆ เกาะอยู่เป็นกลุ่มอยู่ภายใต้กลุ่มเซลล์เจริญพันธุ์ (*germinal cyst*) ซึ่งอยู่รอบผนังด้านในของท่อ และพบเชอโนໄล เชลล์ แทรกอยู่ระหว่างสเปอร์ม่าโตจีนิก เชลล์ ด้วย (ภาพที่ 11)

สเปอร์ม่าโตจีนิก เชลล์ จะเจริญตามกระบวนการสร้างอสุจิที่เกิดขึ้นภายในอัณฑะ โดยจะประกอบด้วยเซลล์หลายระยะ ได้แก่ สเปอร์ม่าโตโกเนีย (*spermatogonia*) สเปอร์ม่าトイไซต์ (*spermatocyte*) สเปอร์ม่าติด (*spermatid*) และสเปอร์ม่าトイชา (*spermatozoa*) โดยการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์นั้นจะเกิดขึ้นภายในถุงเซลล์เจริญพันธุ์จนถึงเสร็จสิ้นกระบวนการสร้างอสุจิ แล้วจึงหลุดออกไปในบริเวณช่องตรงกลางของหลอดสร้างอสุจิ การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาในวงจรการสืบพันธุ์ของปลากดเหลืองนั้นจะเกิดขึ้นพร้อม ๆ กันตลอดความยาวอัณฑะ โดยวงจรการสืบพันธุ์ของปลากดเหลืองแบ่งเป็น 5 ระยะ คือ ระยะอัณฑะพักตัว (*resting stage*) , ระยะอัณฑะพัฒนา หรือ สร้างอสุจิ (*developing stage*) , ระยะอัณฑะเจริญเติบโต (*maturing stage*) , ระยะปล่อยอสุจิ (*spawning stage*) และระยะหลังปล่อยอสุจิ (*spent stage*) โดยแบ่งตามลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของอัณฑะและปริมาณสเปอร์ม่าโตจีนิก เชลล์ แต่ละระยะเป็นเกณฑ์ในการกำหนด ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 9 ภาพตัดตามขวางของอัณฑะปลากดเหลือง (H&E)

- A : อัณฑะปลากดเหลืองที่ประกอบด้วยหลอดสร้างอสุจิมากมาย และภายนอกที่หุ้มด้วยชั้นทูนิก้า อัลบูจีเนีย (ลูกครรช์)
- B : ภาพขยายหลอดสร้างอสุจิแสดงเซลล์อสุจิอยู่ภายในท่อ
(se : seminiferous tubules; ta : tunica albuginea)



ภาพที่ 10 ภาพตัดตามขวางของอัณฑะปลากดเหลือง (H&E) แสดงเลyerดิก เชลล์ที่แทรกอยู่ในชั้น อินเตอร์สติเชียล ทิชชู

(bv : blood vessel; LC : Leydig cells; it : interstitial tissue)

ภาพที่ 11 ภาพตัดตามขวางของอัณฑะปลากดเหลือง (H&E) แสดงเซอโนໄไล เชลล์แทรกอยู่ระหว่างสเปอร์มาโทเจนิก เชลล์

(ge : germinal cyst; S : Sertoli cell)

ตารางที่ 1 เกณฑ์การแบ่งระยะของวงจรสืบพันธุ์ของปลาดเดื่อง

(Suwanjarat et al., 2005)

Stage	Relative abundance of various spermatogenic cells in testis					
	1° spermatogonia	2° spermatogonia	1° spermatocyte	2° spermatocyte	spermatid	spermatozoa
Resting	+++ +	+++	+	-	-	-
Developing	++	+++	+++	++	+++	+++
Maturing	+	+	++	++	+++	++++
Spawning	++	++	+	-	++	+++
Spent	+++	++	-	-	+	++

+ to ++++ indicates the degree of abundance ; - , not found

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาแต่ละระยะของวงจรสืบพันธุ์มีดังนี้

ระยะอัณฑะพักตัว (resting stage) ระยะนี้อัณฑะมีขนาดเล็ก ไม่พบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยจะพัฒนาโดยไม่มีระยะแรก และ สเปอร์มมาโดยไม่มีระยะที่สอง จำนวนมากอยู่บริเวณผนังของหลอดสร้างอสุจิ และพัฒนาโดยใช้ตัวรับสารเคมีที่อยู่ในช่องของหลอดสร้างอสุจิ ควบคุมและไม่พัฒนาเซลล์ในระยะอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้ว (ภาพที่ 12A) สามารถพัฒนาอัณฑะระยะนี้เฉพาะในเดือนมีนาคม เมษายน และธันวาคม 2546

ระยะอัณฑะพัฒนา หรือ สร้างอสุจิ (developing stage) อัณฑะจะมีขนาดใหญ่ขึ้น บริเวณผนังของหลอดสร้างอสุจิพัฒนาเป็นเซลล์ครูบทุกราย โดยที่พัฒนาโดยไม่มีระยะแรกและระยะที่สองลดลง ขณะที่สเปอร์มมาโดยใช้ตัวรับสารเคมีและระยะที่สองมีจำนวนเพิ่มขึ้น ซึ่งหลังจากนั้นจะพัฒนาต่อไปเป็นสเปอร์มนาติด จำนวนของสเปอร์มนาติด และ สเปอร์มมาโดยช้า จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในช่วงสุดท้ายของระยะนี้ (ภาพที่ 12B) โดยในการศึกษาครั้งนี้ พัฒนาในราย ๆ เดือน ได้แก่ เดือนมกราคม มีนาคม เมษายน มิถุนายน กรกฎาคม และ ธันวาคม 2546

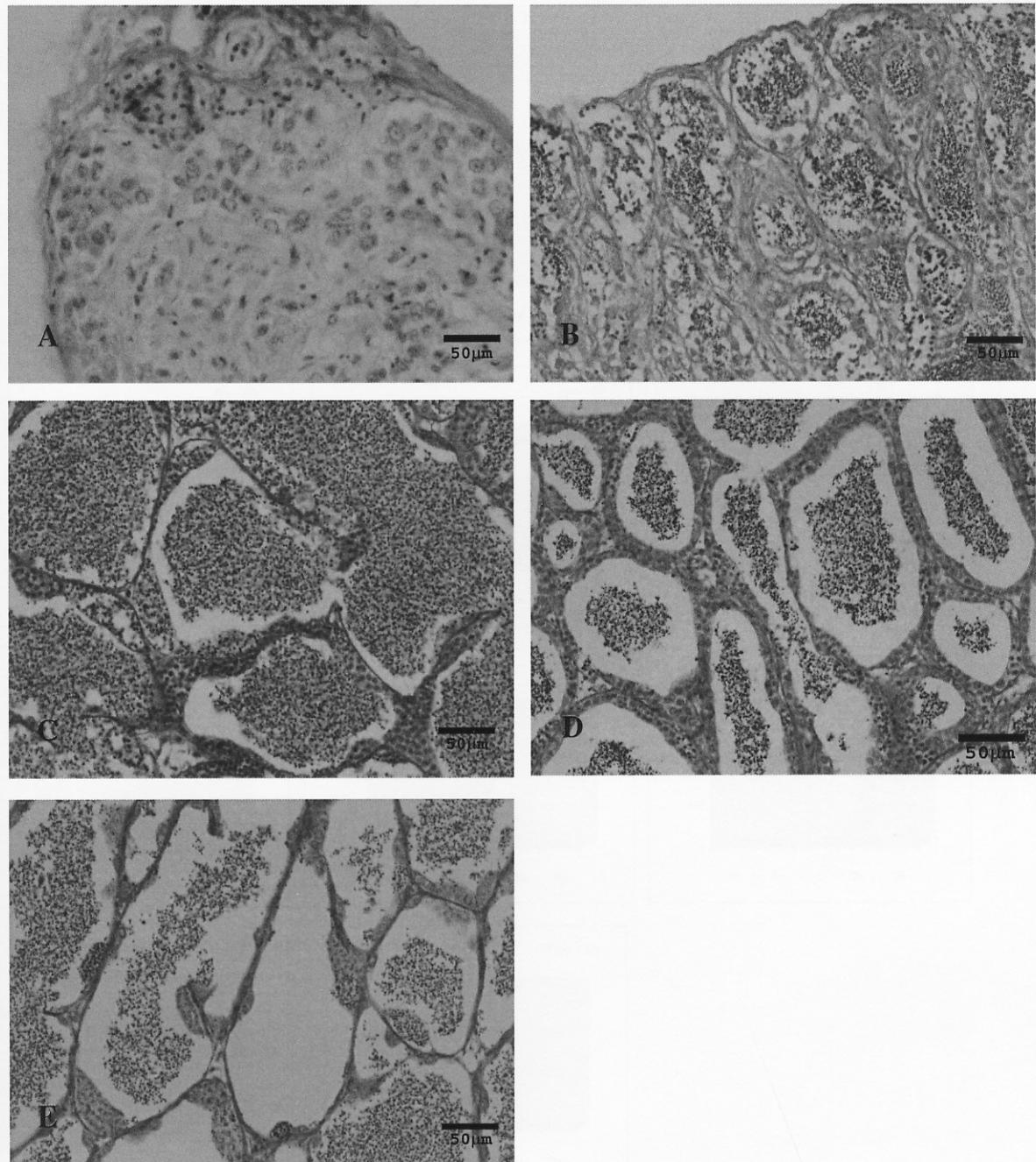
ระยะอัณฑะเจริญเติบโต (maturing stage) ระยะนี้พบว่ามีสเปอร์มมาโดยช้า อยู่เต็มช่องของหลอดสร้างอสุจิ และมีสเปอร์มนาติด จำนวนน้อยมาก พบรอยบ้างในช่องดังกล่าว บริเวณผนังของหลอดสร้างอสุจิ พบรอยบ้างในช่องดังกล่าว บริเวณผนังของหลอดสร้างอสุจิ และสเปอร์มมาโดยใช้ตัวรับสารเคมี และ สเปอร์มมาโดยใช้ตัวรับสารเคมี จำนวนเล็ก

น้อยอยู่ (ภาพที่ 12C) อันหมายความว่าในเกือบทุกเดือน โดยพบสูงในช่วงเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายน ตุลาคม และพฤษจิกายน 2546

ระยะปล่อยอสุจิ (spawning stage) ระยะนี้มีการปล่อยเซลล์อสุจิออกไปบ้างแล้ว จึงพบว่าซองของหลอดสร้างอสุจิ มีช่องว่างเพิ่มขึ้นสเปอร์มมาโดยเนียมรำแทรกและระยะที่สอง มีจำนวนเพิ่มขึ้น และพบสเปอร์มมาโดยใช้ตระยะแรกในบางช่องของหลอดสร้างอสุจิ (ภาพที่ 12D) พนอัณฑะระยะนี้ในหลาย ๆ เดือน โดยพบสูงช่วงเดือนมิถุนายน สิงหาคม ตุลาคม และพฤษจิกายน 2546

ระยะหลังปล่อยอสุจิ (spent stage) ระยะนี้พบว่าซองของหลอดสร้างอสุจิ ว่างมากขึ้น เนื่องจากเป็นระยะที่มีการปล่อยเซลล์อสุจิไปแล้วจำนวนมาก บางช่องของหลอดสร้างอสุจิอาจจะไม่พบเซลล์อสุจิอยู่เลย และ พนสเปอร์มมาโดยเนียมมากขึ้น (ภาพที่ 12E) พนอัณฑะระยะนี้ในช่วงเดือนตุลาคม 2546

การเปลี่ยนแปลงในวงจรการสืบพันธุ์ของปลาดุกเหลืองในช่วงเดือนธันวาคม 2545 ถึงเดือนธันวาคม 2546 (ภาพที่ 13) พนว่าอัณฑะระยะเจริญเต็มที่มีค่าสูงสุดในช่วงเดือนกรกฎาคม และ กันยายน 2546 คือคิดเป็น 67% (ภาพที่ 14) ส่วนระยะปล่อยอสุจิ พนว่ามีค่าสูงสุดในช่วงเดือนสิงหาคม 2546 คือคิดเป็น 100% นอกจากนี้สามารถพบระยะนี้ในเดือนอื่นบ้าง เช่นเดือนมิถุนายน ตุลาคม และเดือนพฤษจิกายน 2546 (ภาพที่ 15) ซึ่งคาดว่าปลาดุกเหลืองมีการผสมพันธุ์ได้ในช่วงเดือนที่พบระยะปล่อยอสุจินี้ (ภาพที่ 16) ส่วนในเดือนเมษายน 2546 มีค่าเปอร์เซ็นต์ระยะอัณฑะพักตัวสูงที่สุด โดยอยู่ที่ 50% (ภาพที่ 17) เดือนมกราคม 2546 มีค่าเปอร์เซ็นต์ระยะอัณฑะพัฒนา หรือ สร้างอสุจิสูงที่สุด โดยอยู่ที่ 50% (ภาพที่ 18) และพบอัณฑะระยะหลังปล่อยอสุจิในช่วงเดือนตุลาคม 2546 สูงสุดที่ 50% (ภาพที่ 19) และพบว่าปลาดุกเหลืองมีอัณฑะในระยะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ และระยะเจริญเต็มที่ในเกือบทุกเดือนที่ทำการศึกษา (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 12 ภาพตัดตามขวางของอัณฑะปลาดุริ่ง (H&E) แสดงการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่ออวิทยาในระหว่างวงจรสืบพันธุ์

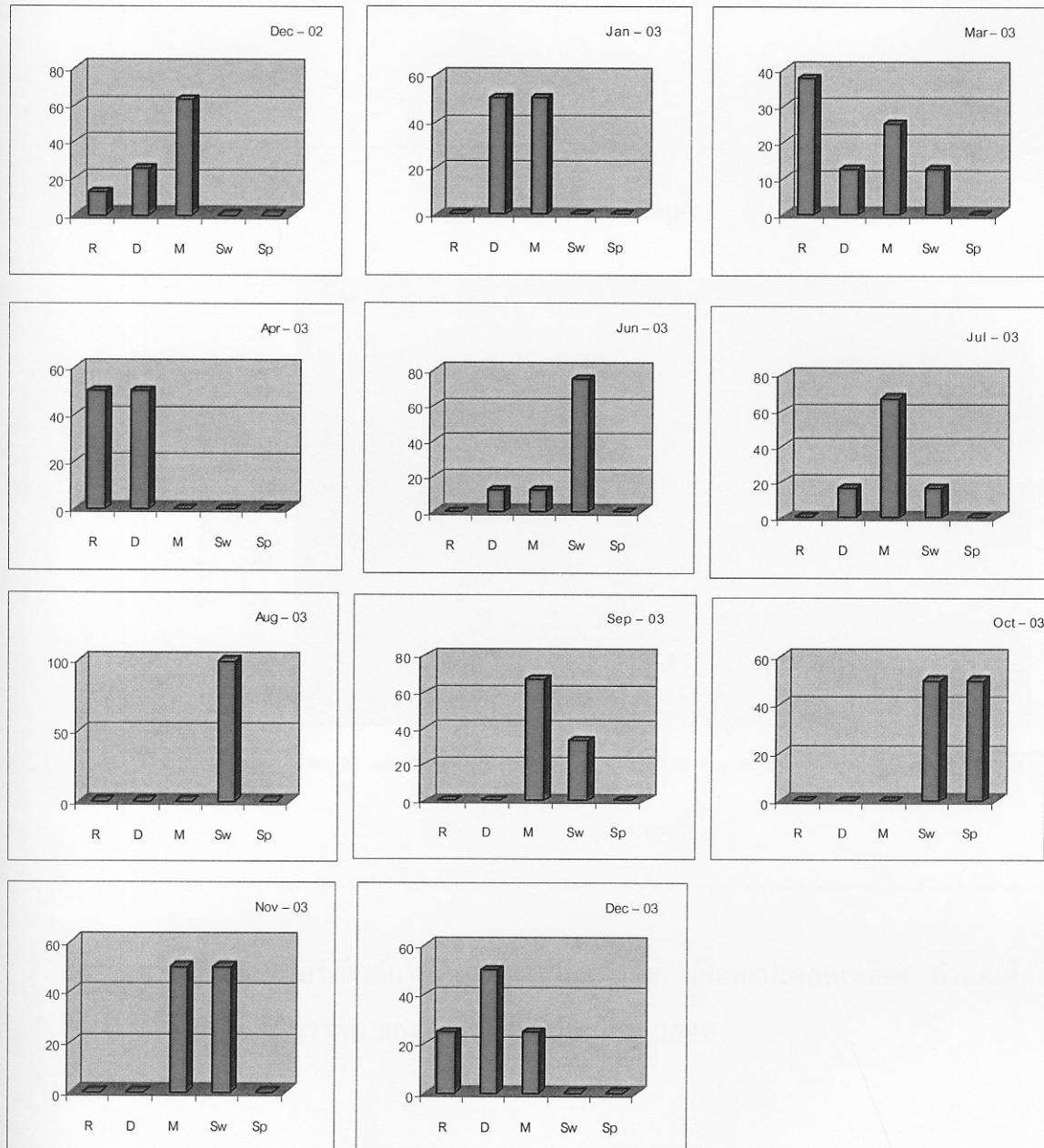
A : ระยะอัณฑะพักตัว (resting stage)

B : ระยะอัณฑะพัฒนา หรือ สร้างอสุจิ (developing stage)

C : ระยะอัณฑะเจริญเติมที่ (maturing stage)

D : ระยะปล่อยอสุจิ (spawning stage)

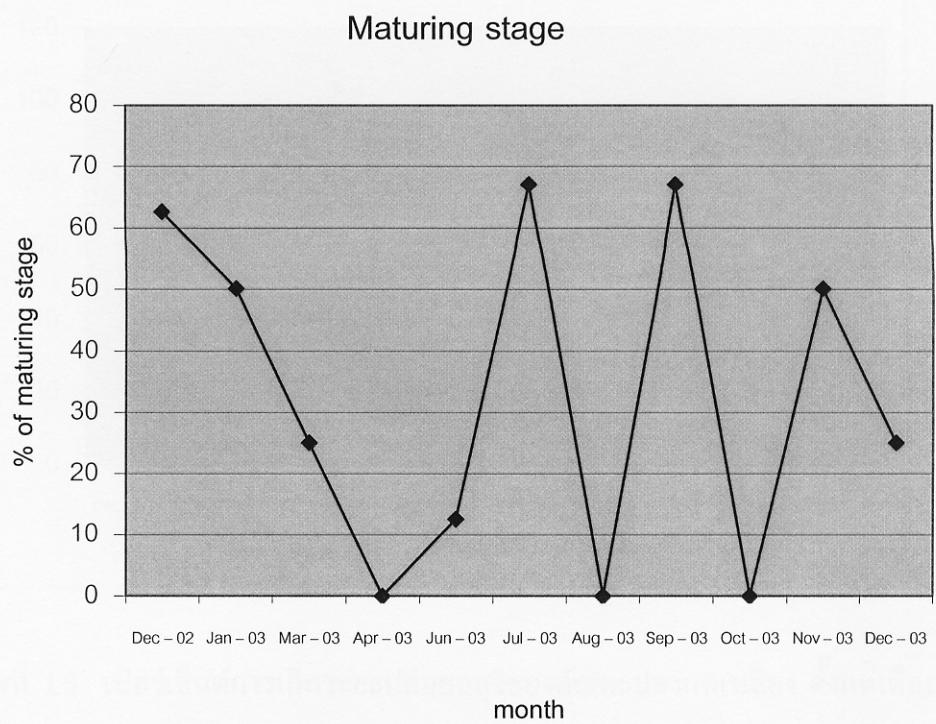
E : ระยะหลังปล่อยอสุจิ (spent stage)



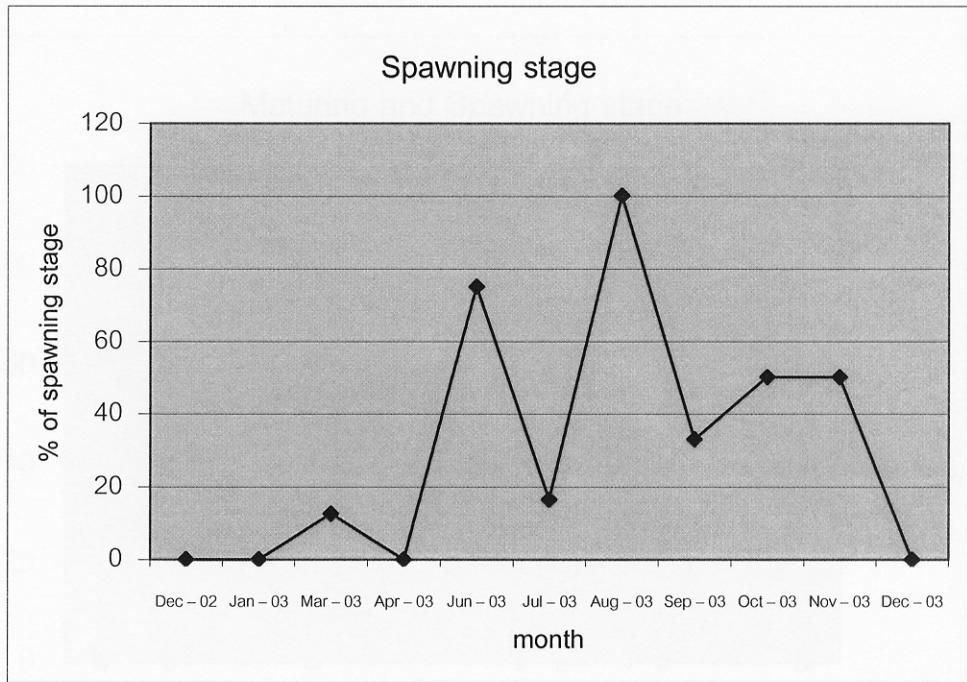
ภาพที่ 13 ฮีสโตแกรมแสดงเปอร์เซ็นต์แต่ละระยะของวงจรสืบพันธุ์ปลากรดเหลือง
ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546

R : resting stage; D : developing stage; M : maturing stage;

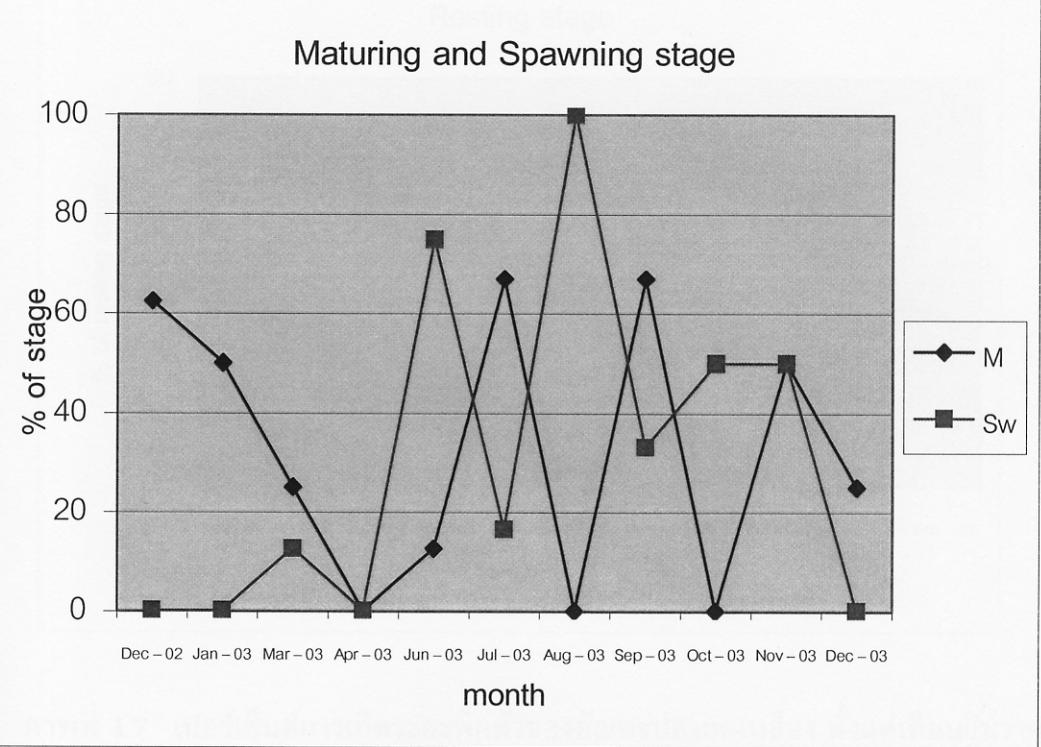
Sw : spawning stage; Sp : spent stage



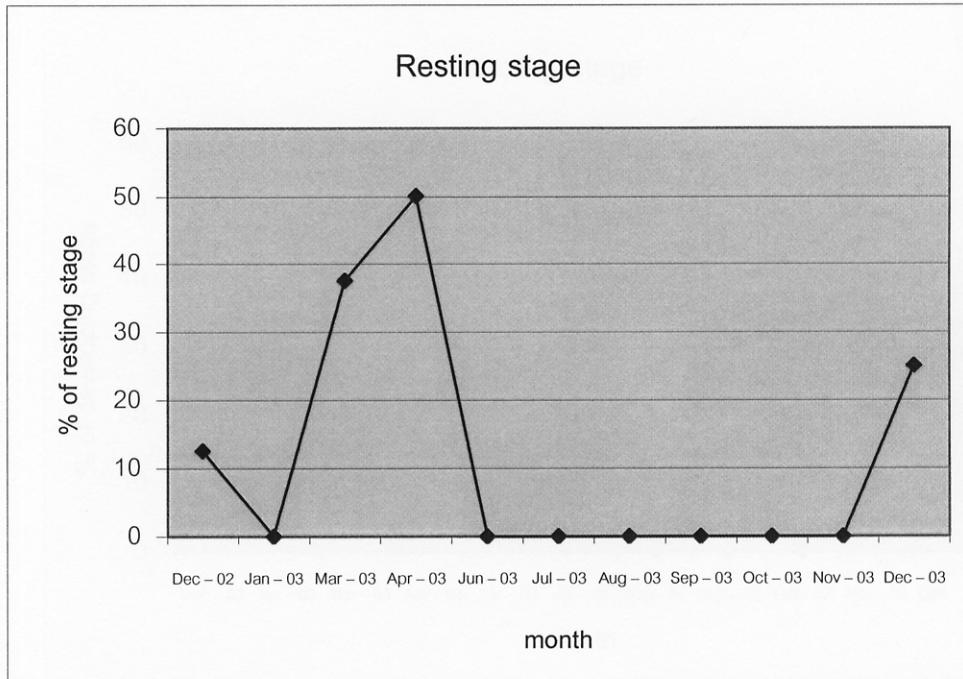
ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์การเกิดระยะเจริญเต็มที่ของอัณฑะปลากัดเหลือง ตั้งแต่เดือน
ธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546



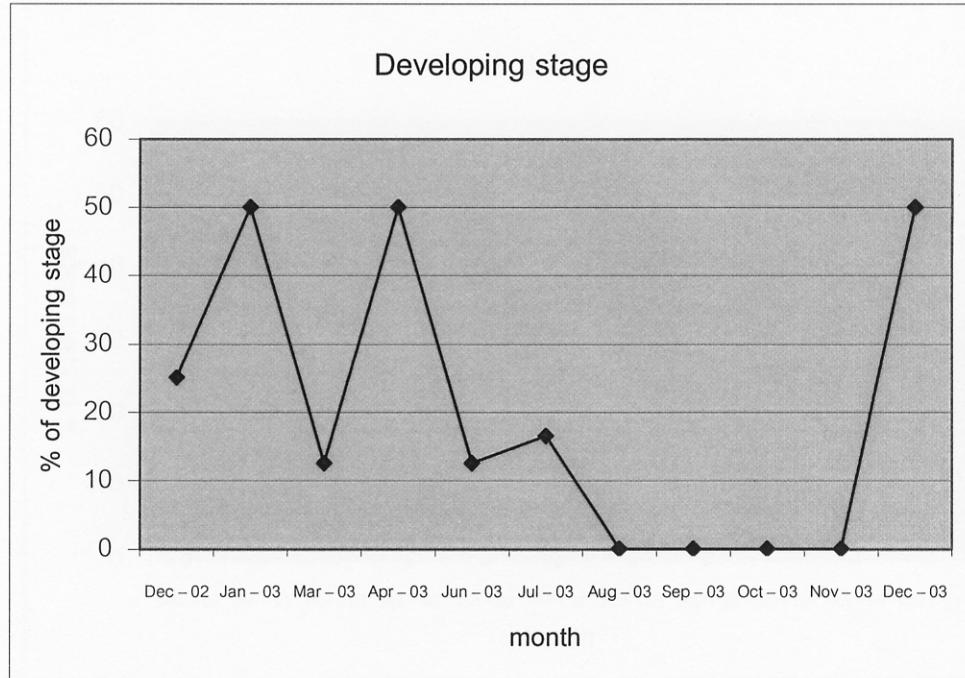
ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์การเกิดระยะปล่อยอสุจิของอันทะปลากรดเหลือง ตั้งแต่เดือน
ธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546



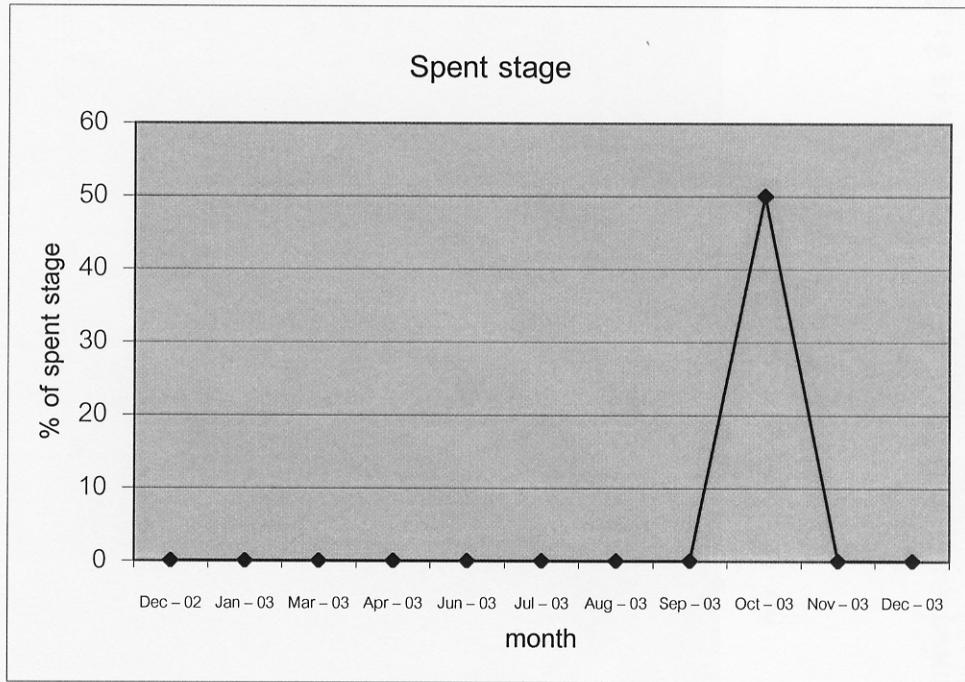
ภาพที่ 16 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของอัณฑะปลากดเหลือง ระยะเจริญเติบโตและระยะปล่อยอสุจิ ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึงเดือนธันวาคม



ภาพที่ 17 เปอร์เซ็นต์การเกิดระยะพักตัวของอันทะปลากรดเหลือง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546

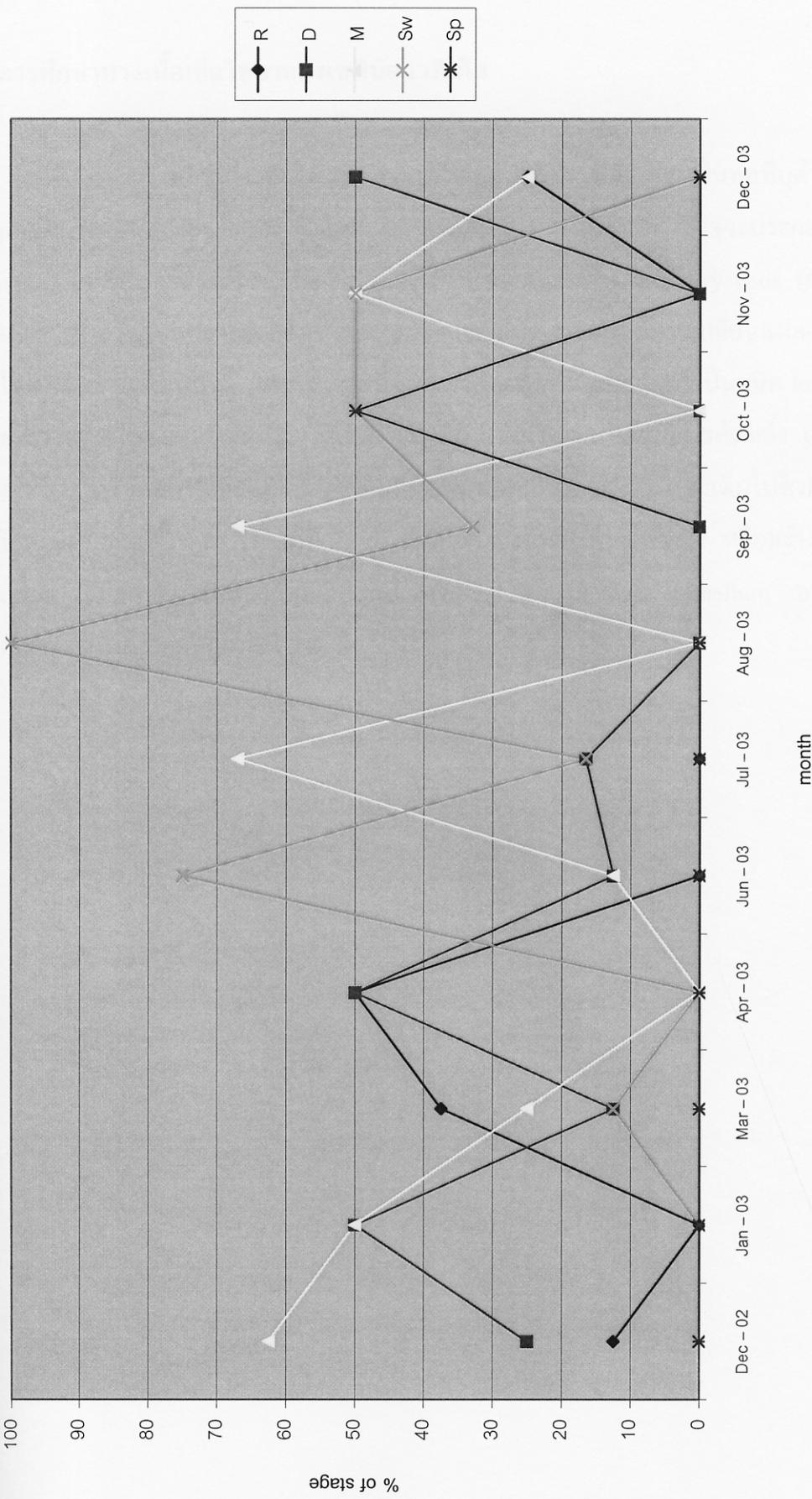


ภาพที่ 18 เปอร์เซ็นต์การเกิดระยะพัฒนา หรือ สร้างอสุจิของอัณฑะปลากระเหดื่อง
ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546



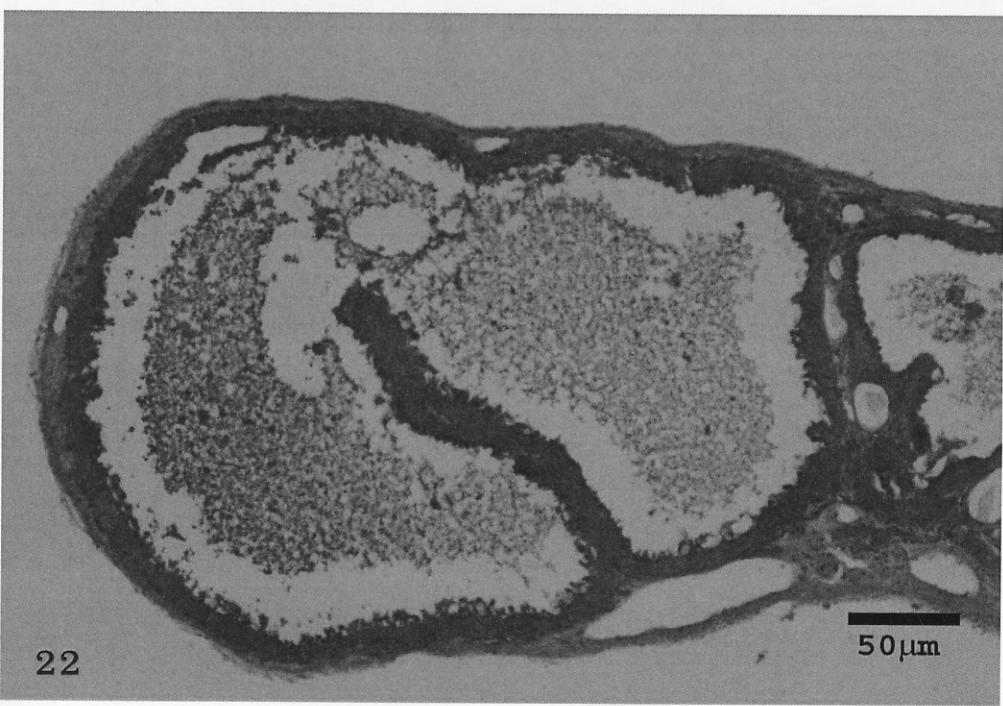
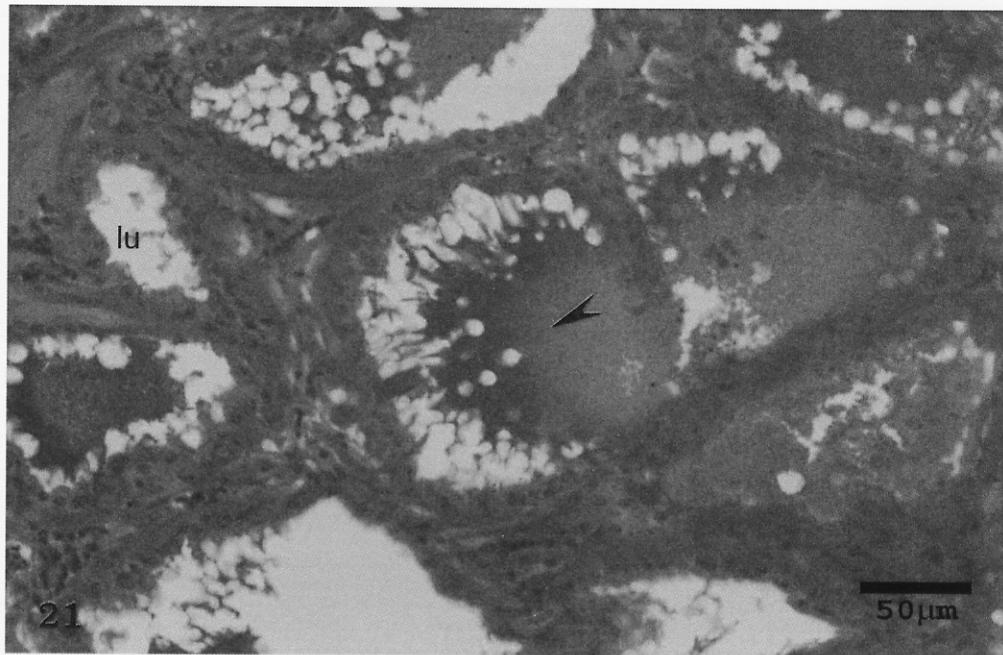
ภาพที่ 19 เปอร์เซ็นต์การเกิดระยะหลังปล่อยอสุจิของอัณฑะปลากรดเหลือง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546

ภาพที่ 20 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของอัตราพัฒนาในวงจรการเติบโตพันธุ์ของปลาดุกเหลือง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนธันวาคม 2546



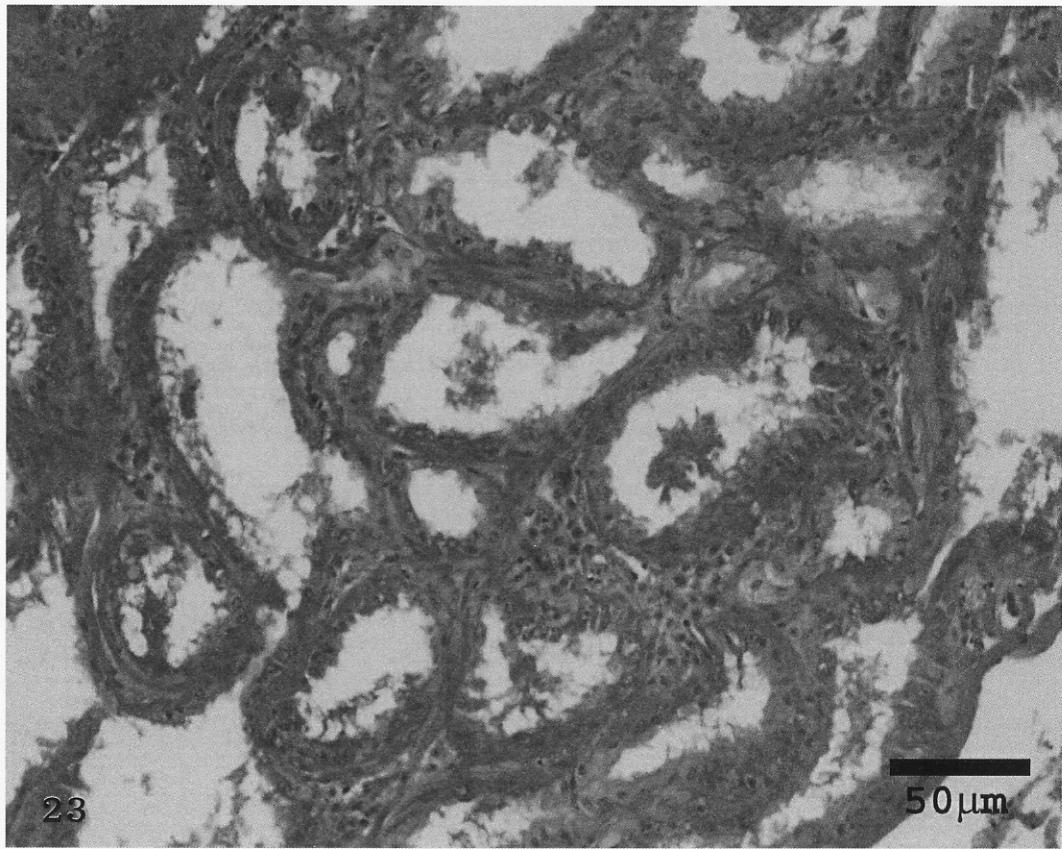
การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซมินัล เวสิเคิล

เซมินัล เวสิเคิล เป็นส่วนปลายของอณฑะ มีลักษณะเป็นท่อที่บุด้วยเซลล์ชนิด psuedostratified columnar epithelium เซลล์มีรูปร่างไม่แน่นอน อาจจะประกอบด้วย low columnar หรืออาจจะเป็น cuboidal cells ซึ่งเป็นลักษณะของ secretory cells (Gartner and Hiatt, 2001) ในปลายดูดเหลือง เซลล์บุผิวของเซมินัล เวสิเคิล มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันไปตามวงจรการสืบพันธุ์ โดยในระยะที่อณฑะเจริญเติบโตนั้นเซลล์บุผิวเป็นชนิด low columnar ซองว่างภายในท่อของเซมินัล เวสิเคิล กว้างขึ้น และจะเติบโตด้วยสารคัดหลัง (ภาพที่ 21) สำหรับระยะอณฑะปล่อยอสุจินั้นภายในช่องของท่อเซมินัล เวสิเคิล จะเติบโตด้วยสารคัดหลังที่ปิดด้วยเซลล์สืบพันธุ์ (ภาพที่ 22) ส่วนในระยะอณฑะกำลังพัฒนา หรือสร้างอสุจิ พบว่า เซลล์บุผิวมีลักษณะเป็นเซลล์ชนิด psuedostratified low columnar epithelium อาจจะพบสารคัดหลังบ้างเล็กน้อย (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 21 ภาพตัดตามขวางของเชมินัล เวสิเดิล ปลากรดเหลือง ระยะอัณฑะเจริญเต็มที่ (H&E) ที่เต็มไปด้วยสารคัดหลัง (ลูกศรชี้) ภาพที่ 22 ภาพตัดตามขวางของเชมินัล เวสิเดิล ปลากรดเหลือง ระยะปล่อยอสุจิ

(H&E) (lu : lumen)



ภาพที่ 23 ภาพตัดตามขวางของเมมเบรน เวสิเดล ปลากระเบื้อง ระยะอัณฑะพัฒนา
หรือสร้างอสุจิ (H&E)

การศึกษาการทำงานของเอนไซม์

จากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ 4 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์แอกซิด ฟอสฟาเตส (acid phosphatase) เอนไซม์กูลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์ (G6PD) เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอร้อยต์ ดีไฮโดรเจนส์ (3 β - HSD) และเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสโฟกูลูโคส ดีไฮโดรเจนส์ (UDPGD) ในอัณฑะและเยมินัล เวสิเคิล ของปลาดเดื่องทั้ง 5 ระยะ พบร่วมระดับของเอนไซม์มีความแตกต่างกัน ตั้งแสดงในตารางที่ 2 และต่อไปนี้ของการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แต่ละชนิดแสดงในภาพที่ 24 25 26 27 และ 28 ตามลำดับ

เอนไซม์แอกซิด ฟอสฟาเตส ซึ่งจะเกิดตะกอนสีดำในบริเวณที่เอนไซม์ชนิดนี้ทำงาน จากผลการศึกษาพบว่าเกิดปฏิกิริยามากทั้งในส่วนของอัณฑะและเยมินัล เวสิเคิล (ภาพที่ 24 และ 25) โดยในระยะที่อัณฑะระยะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ ไปจนถึงระยะอัณฑะเจริญเต็มที่ และระยะปล่อยอสุจิ ซึ่งจะพบปฏิกิริยาดังกล่าวที่บริเวณเซลล์บุผิวของหลอดสร้างอสุจิในอัณฑะและบริเวณผิวของผนังท่อเยมินัล เวสิเคิล มากขึ้นตามลำดับ ส่วนในระยะพักของอัณฑะนั้นไม่เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอกซิด ฟอสฟาเตส

สำหรับปฏิกิริยาของเอนไซม์กูลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์ เอนไซม์ชนิดนี้จะตรวจพบตะกอนสีม่วงดำในบริเวณที่เอนไซม์ชนิดนี้มีการทำงาน ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้เกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงในวงจรสืบพันธุ์ของปลาดเดื่อง โดยมีการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะในส่วนของอัณฑะ บริเวณเลย์ดิก เซลล์ ในอินเตอร์สติเชียล ทิชชู (ภาพที่ 26) โดยเกิดปฏิกิริยามากในระยะอัณฑะเจริญเต็มที่และระยะปล่อยอสุจิ สำหรับระยะอัณฑะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ นั้นเกิดปฏิกิริยาน้อยลง และไม่พบปฏิกิริยาเลยในระยะอัณฑะพักตัว

เอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอร้อยต์ ดีไฮโดรเจนส์ เอนไซม์ชนิดนี้จะตรวจพบตะกอนสีม่วงในบริเวณที่เอนไซม์ชนิดนี้มีการทำงาน ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้เกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงในวงจรสืบพันธุ์ของปลาดเดื่อง เช่นกัน โดยมีการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะในส่วนของอัณฑะ บริเวณเลย์ดิก เซลล์ ในอินเตอร์สติเชียล ทิชชู (ภาพที่ 27) โดยเกิดปฏิกิริยามากในระยะอัณฑะเจริญเต็มที่และระยะปล่อยอสุจิ สำหรับระยะอัณฑะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ นั้นเกิดปฏิกิริยาน้อยลง และไม่พบปฏิกิริยาเลยในระยะอัณฑะพักตัว เช่นเดียวกับที่พบในปฏิกิริยาของเอนไซม์กูลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์

ส่วนเอนไซม์ยูริดิน ไดฟอสโฟกลูโคส ดีไฮโดรเจนส์ เออนไซม์ชนิดนี้จะตรวจพบต่อก่อนสีม่วงในบริเวณที่เอนไซม์ชนิดนี้มีการทำงาน เช่นเดียวกับเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรเจนส์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้เกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงในวงจรสืบพันธุ์ของปลากรดเหลือง เช่นเดียวกับทั้งเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอกซีสเตอรอยด์ ดีไฮโดรเจนส์ และเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์ โดยมีการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะในส่วนของอัณฑะ บริเวณเลียร์ติก เซลล์ เช่นกัน (ภาพที่ 28) โดยเกิดปฏิกิริยามากในระยะอัณฑะเจริญเติบโตและระยะปล่อยอสุจิ สำหรับระยะอัณฑะพัฒนา หรือสร้างอสุจินั้นเกิดปฏิกิริยาน้อยลง และไม่พบปฏิกิริยาเลยในระยะอัณฑะพักตัว เช่นเดียวกับที่พบในปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์ และเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรเจนส์

ตารางที่ 2 ฮีสโตเคมีของเอนไซม์ ในอัณฑะ และเซมินัล เวสิเคิล ของปลากรดเหลือง

reproductive stage	testis				seminal vesicle			
	Acid p.	G6PD	3β-HSD	UDPGD	Acid p.	G6PD	3β-HSD	UDPGD
Resting	+	-	-	-	+	-	-	-
Developing	++	+	+	+	++	-	-	-
Maturing	++	++	+	+	+++	-	-	-
Spawning	++	+	+	-	++	-	-	-
Spent	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

หมายเหตุ :

เครื่องหมาย + , ++, +++ แสดงความเข้มข้นปฏิกิริยาของเอนไซม์

เครื่องหมาย - แสดงว่าไม่เกิดปฏิกิริยา

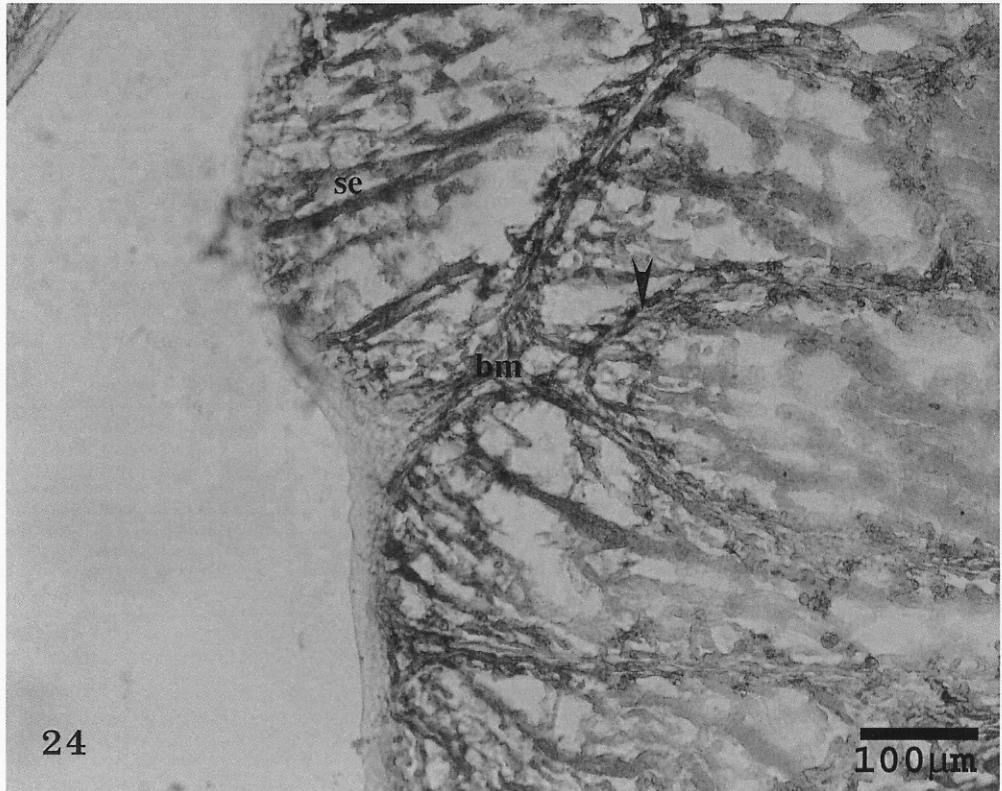
NA = ไม่มีข้อมูล

Acid p. : Acid phosphatase

G6PD : Glucose – 6 – phosphatase dehydrogenase

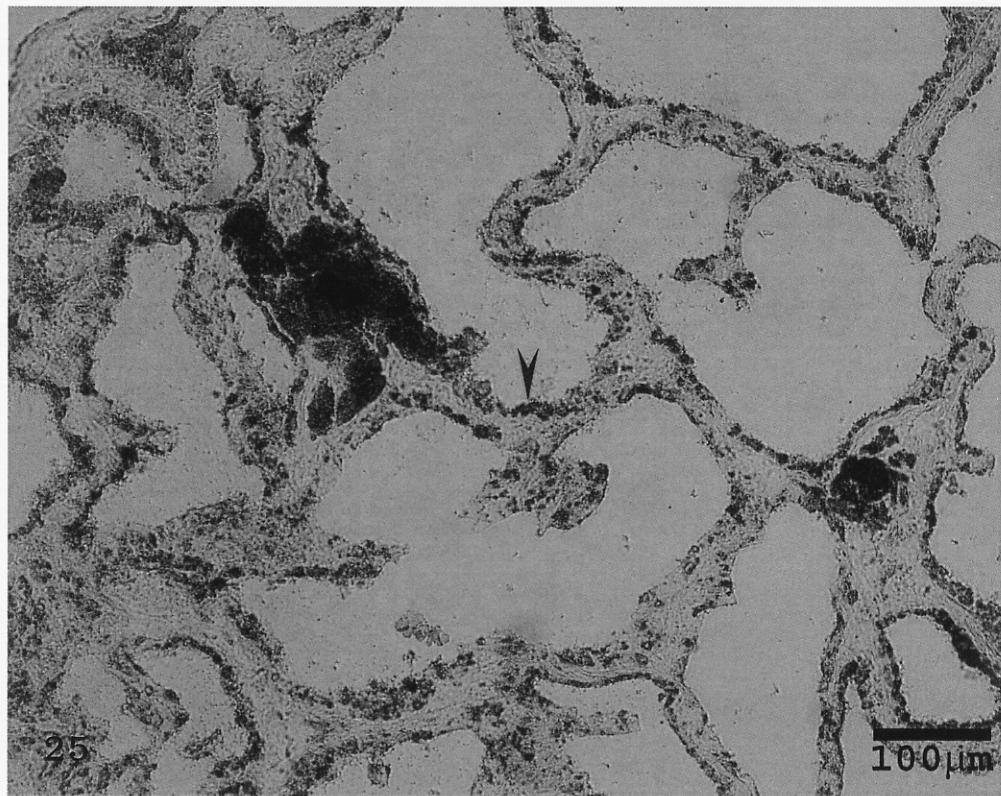
3β-HSD : 3 β – hydroxysteroid dehydrogenase

UDPGD : Uridine diphosphoglucose dehydrogenase

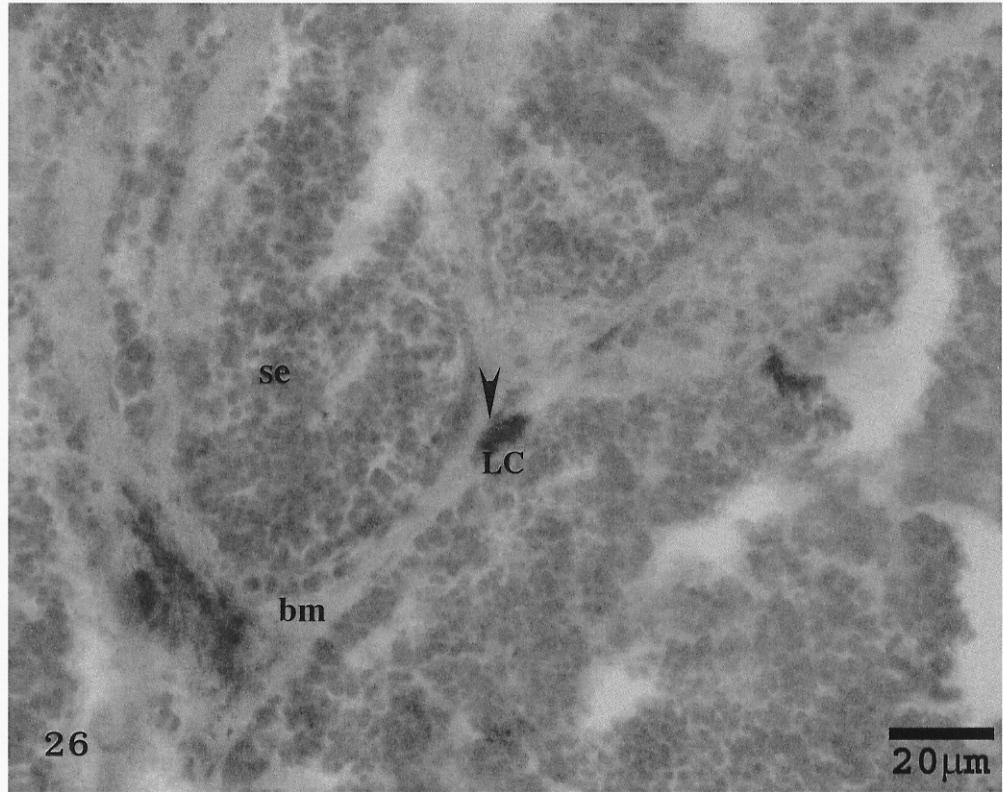


24

ภาพที่ 24 ปฏิกิริยาของเอนไซม์แอลสิด พอลฟ่าเตส ในอัณฑะของปลากดเหลือง สังเกต
ตะกอนสีดำบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ (ลูกศรชี้)
(bm : basement membrane; se : seminiferous tubules)

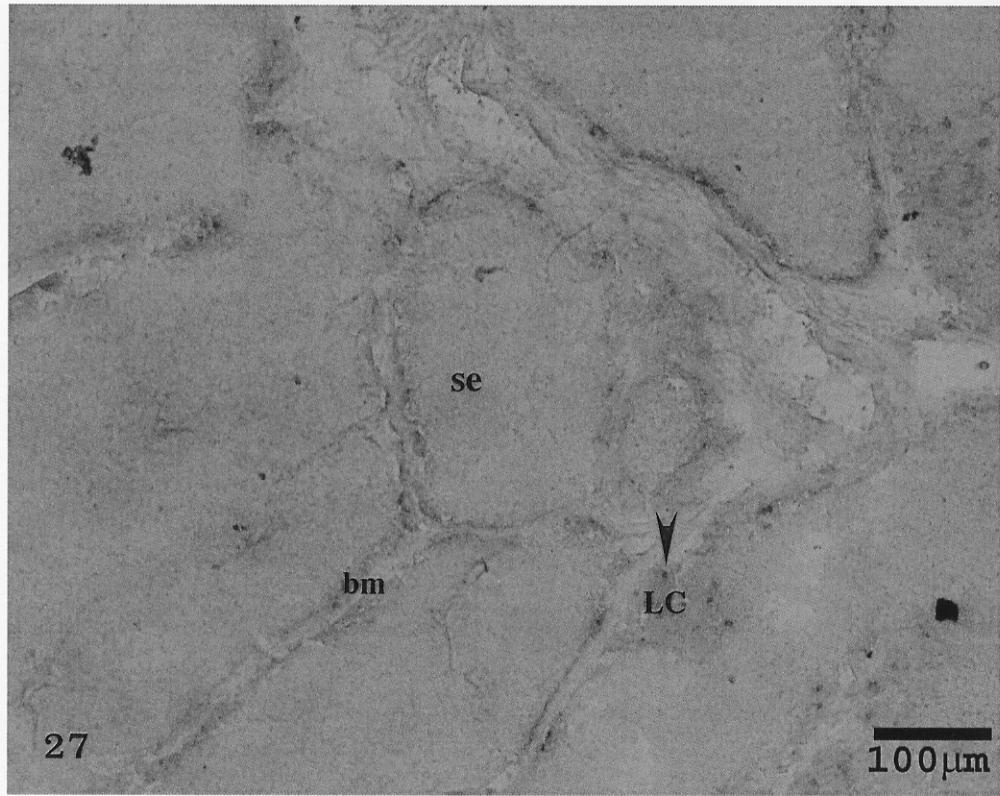


ภาพที่ 25 ปฏิกิริยาของเอนไซม์แอลิต ฟอสฟาเตส ในเชมินัล เวลิเคิล ของปลาดเดื่อง พבתะกอนสีดำบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ (ลูกศรชี้)

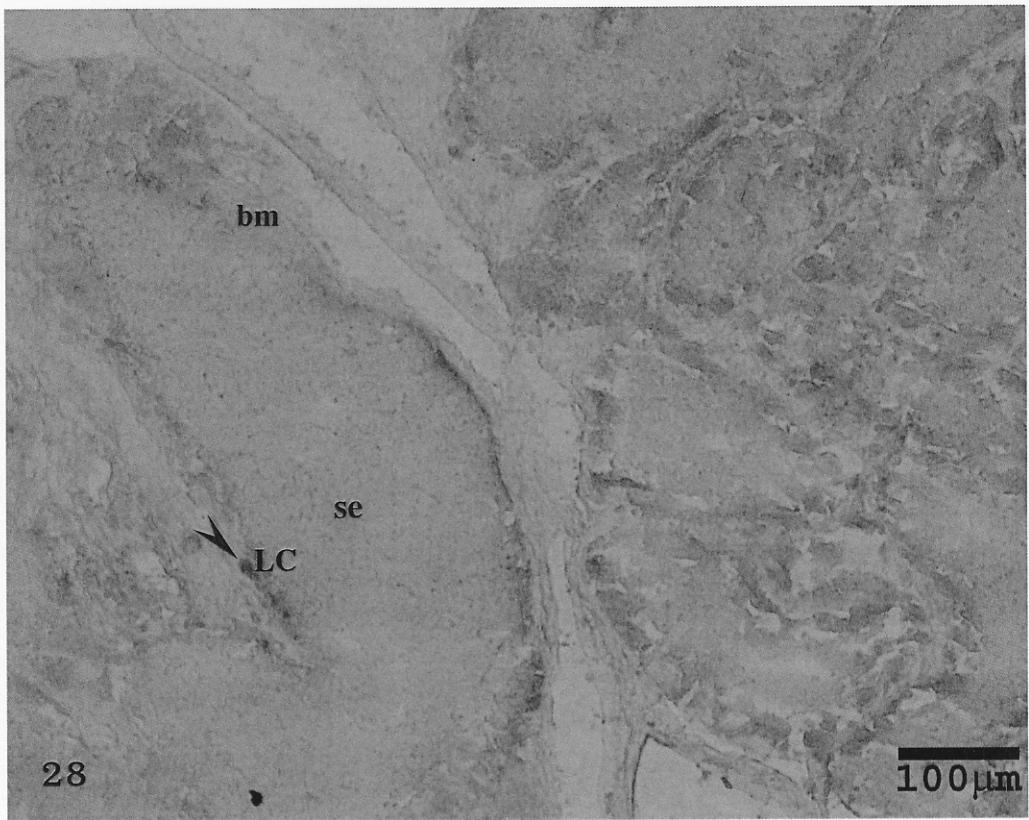


ภาพที่ 26 ปฏิกิริยาของเอนไซม์กูลูโคส 6 พอสเฟต ดีไฮโดรเจนेनในอัณฑะของปลา กดเหลือง สังเกตตะกอนสีม่วงดำบริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (ลูกศรชี้)

(bm : basement membrane; LC : Leydig cell; se : seminiferous tubules)



ภาพที่ 27 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ 3 เบต้า ไฮดรอคีสเตอโรยด์ ดีไฮโดรเจนส์ในอัณฑะของ
ปลาดงเหลือง สังเกตตะกอนสีน้ำเงินบริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (ลูกศรชี้)
(bm : basement membrane; LC : Leydig cell; se : seminiferous tubules)



ภาพที่ 28 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ยูริดีน ไดฟอสฟoglูโคส ดีไฮโดรเจนส์ ในอัณฑะของ
ปลากรดเหลือง สังเกตตะกอนลีม่วงบริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (ลูกศรชี้)
(bm : basement membrane; LC : Leydig cell; se : seminiferous tubules)

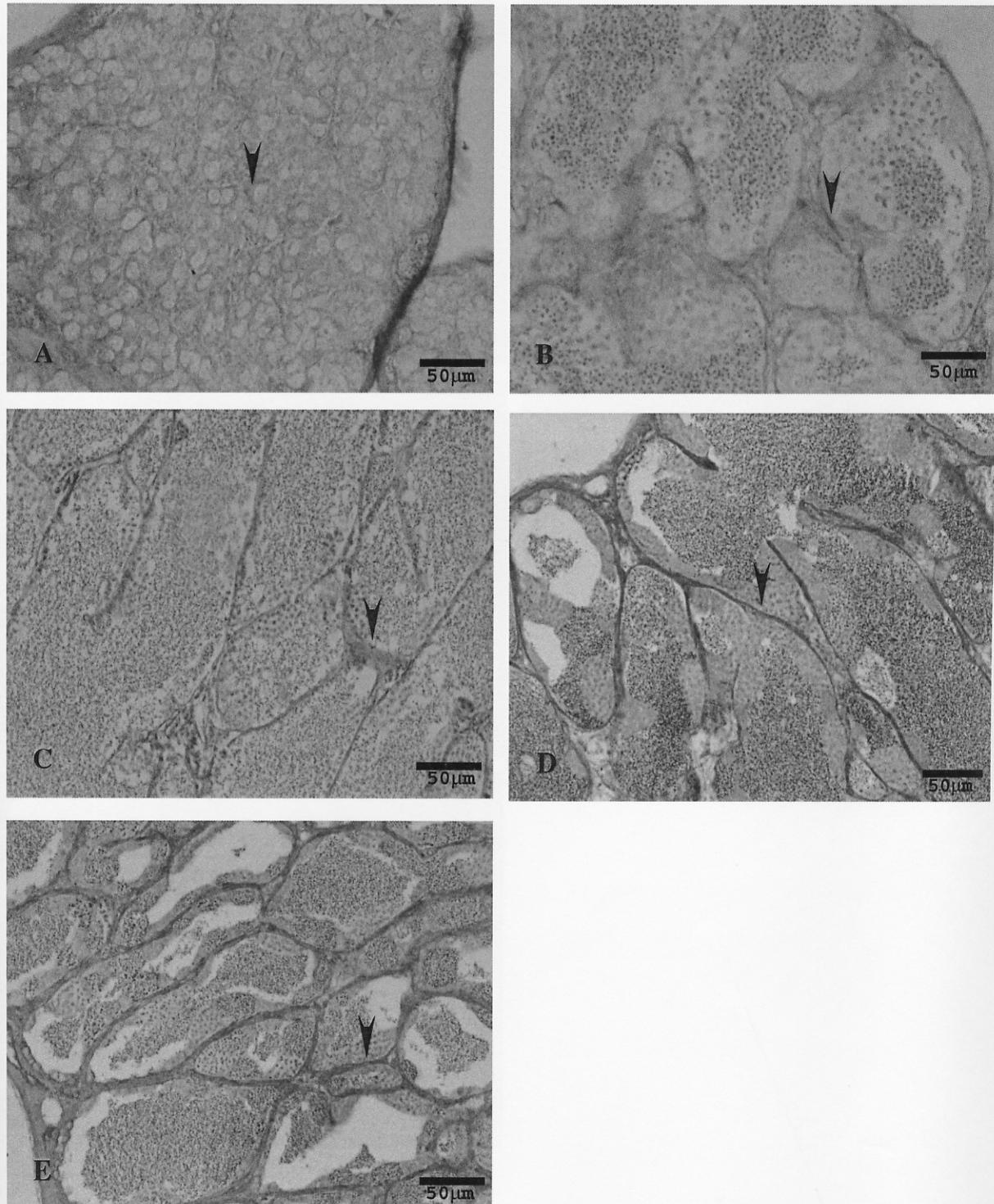
การศึกษาการสร้างสารพวกโพลีแซคคาไรด์

จากการศึกษาการสร้างสารพวกโพลีแซคคาไรด์ ด้วยวิธี Periodic Acid Schiff's reaction (PAS) พบว่าเกิดปฏิกิริยาขึ้นที่บริเวณผนังเซลล์ของหลอดสร้างอสุจิในอัณฑะ พนบว่าระดับความเข้มข้นของปฏิกิริยามีความแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3 จากผลการศึกษาพบว่าปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นมากในระยะอัณฑะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ และอัณฑะระยะเจริญเติมที่ ส่วนรับในอัณฑะระยะพักตัวจะเกิดปฏิกิริยาน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 29) ส่วนในเชมินัล เวสิเคิล นั้น พบว่าเกิดปฏิกิริยาของ PAS ที่บริเวณผนังเซลล์ของเชมินัล เวสิเคิล และในช่องของท่อเชมินัล เวสิเคิล ที่มีสารคัดหลั่งที่เกิดปฏิกิริยาของ PAS เช่นกัน โดยในระยะอัณฑะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ ระยะเจริญเติมที่ และระยะปล่อยเซลล์อสุจินั้น เกิดปฏิกิริยามากขึ้นตามลำดับ หลังจากนั้นปฏิกิริยาจะเกิดลดน้อยลงในอัณฑะระยะหลังปล่อยอสุจิ และระยะพักตัว (ภาพที่ 30)

ตารางที่ 3 อีสโตเคมีด้วยวิธี PAS ในอัณฑะและเชมินัล เวสิเคิล ของปลากรดเหลือง

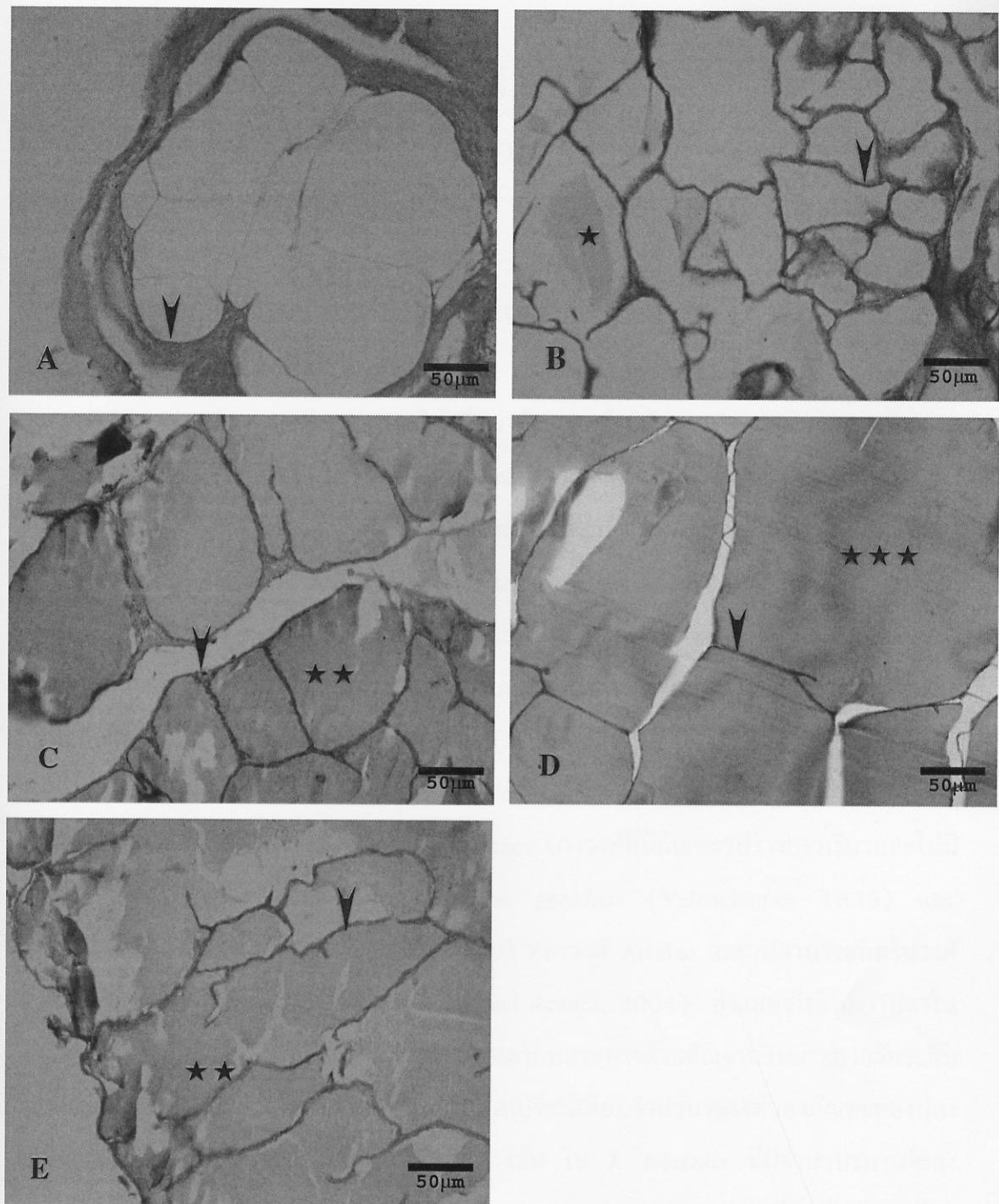
Reproductive stage	PAS reaction	
	testis	sv (epithelium lining / secretion)
Resting	++	+ / -
Developing	+++	++ / -
Maturing	++++	++++ / +++
Spawning	++++	++++ / +++
Spent	+++	+++ / +++

หมายเหตุ : เครื่องหมาย + , ++, +++ แสดงความเข้มข้นของปฏิกิริยา PAS
เครื่องหมาย - แสดงว่าไม่เกิดปฏิกิริยา PAS



ภาพที่ 29 ปฏิกิริยา Periodic Acid Schiff's reaction (PAS) (ลูกศรช์) ในอันทะของปลา กดเหลือง

A : ระยะพัก; B : ระยะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ; C : ระยะเจริญเติบโต;
D : ระยะปล่อยอสุจิ; E : ระยะหลังปล่อยอสุจิ



ภาพที่ 30 ปฏิกิริยา Periodic Acid Schiff's reaction (PAS) (ลูกศรชี) ในเชมินัล เวสิเคล
ของปลากดเหลือง

★ , ★★, ★★★ : ความเข้มข้นของการเกิดปฏิกิริยาของ PAS

A : ระยะพัก; B : ระยะพัฒนา หรือสร้างอสุจิ; C : ระยะเจริญเติบโต;

D : ระยะปล่อยอสุจิ; E : ระยะหลังปล่อยอสุจิ