ใฝ่ภูมิ งามจันทร์ : การพัฒนาการใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ในการแยกเพศปลานิล
(TILAPIA SEX CHROMOSOME IDENTIFICATION USING MOLECULAR GENETIC TECHNIQUES)
อาจารย์ที่ปรึกษา :อ. ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์, 39 หน้า, ISBN

การเพาะเลี้ยงปลานิลให้มีผลผลิตสูงต้องมีการปรับปรุงโดยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารเพื่อให้อาหารนั้นเปลี่ยนเป็นเนื้อปลาได้มากที่สุด (Feed Conventional Ratio; FCR) ซึ่งปัจจุบันนิยมการเลี้ยงปลานิลเพศผู้เพศเดียว โดยหลีกเลี่ยงการใช้ฮอร์โมนในการแปลงเพศปลาที่อาจก่อให้เกิดปัญหาภายหลัง การเลี้ยงปลานิลเพศเดียวนี้ทำได้โดยการสร้างพ่อพันธุ์ที่เป็น YY-supermale (YY-chromosome) จากการผสมพันธุ์ระหว่างปลานิลแปลงเพศเพศเมีย (XY-female) กับปลานิลเพศผู้ปกติ (XY-male) ซึ่งพ่อพันธุ์ดังกล่าวเมื่อผสมพันธุ์กับปลานิลเพศเมียปกติ (XX-female) จะได้ปลานิลเพศผู้ทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตามการตรวจหาปลานิลเพศผู้ (YY-supermale) จากปลานิลเพศผู้ปกติ (XY-male) โดยวิธี progeny test ต้องอาศัยระยะเวลายาวนาน อีกทั้งยังมีค่าใช้จ่ายสูง การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งหวังที่จะพัฒนาวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงและรวดเร็วขึ้นในการตรวจหาปลานิลเพศผู้ (YY-supermale) โดยการใช้ DNA probe ที่แยกได้จากวิธี Subtractive hybridization ซึ่งผลการศึกษาพบว่ามี 62 โคลน ได้แก่ pSK1-pSK62 ที่ได้รับการคัดเลือกโดยการตัดด้วยเอนไซม์ *Pvu* II และโคลนที่ pSK39 จัดว่าเป็นโคลนที่น่าสนใจที่สุดเมื่อนำมาเป็น DNA probe เนื่องจากสามารถบอกความแตกต่างระหว่างปลานิลเพศผู้ (XY-male) และปลานิลเพศเมีย (XX-female)ได้ ซึ่งจะพบ band product ที่ 510 bp เฉพาะปลานิลเพศผู้ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Sau* I96 เท่านั้น อย่างไรก็ตาม DNA probe ดังกล่าวควรนำไปศึกษาและพัฒนาโดยการหาลำดับเบสและออกแบบ primer สำหรับการแยกความแตกต่างระหว่าง ปลานิลเพศผู้; YY-supermale และ XY-male ต่อไป นอกจากนี้ยังได้นำเทคนิค RAPD-PCR มาใช้และพบว่า OPS03 primer สามารถแยกปลานิลเพศผู้ทั้งสองชนิดดังกล่าวได้ แต่ผลที่ได้ไม่คงที่ เพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่ดีขึ้นควรมีการปรับปรุงสภาวะให้เหมาะสมสำหรับ RAPD-PCR หรือ ใช้ primer ชนิดอื่นในการศึกษา ซึ่งหากได้ผลการศึกษาตามต้องการควรพัฒนาเป็น DNA probe เช่นเดียวกับการใช้เทคนิค Subtractive hybridization

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนักศึกษา…….
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา…….
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม……..
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม……..

PHAIPOOM NGAMJUN: TILAPIA SEX CHROMOSOME IDENTIFICATION USING MOLECULAR GENETIC TECHNIQUES, THESIS ADVISOR: DR. MARIENA KETUDAT-CAIRNS, Ph. D., 39 PP. ISBN

TILAPIA/MONOSEX-CULTURED/SUBTRACTIVE HYBRIDIZATION/RAPD-PCR

Tilapia culture performed high heterogeneity of fish yield, therefore increased efficiency of feed convention ratio (FCR) is needed. Several attempts such as monosex-cultured, hormonal treatment have been used to overcome these problems. Addition of testosterone has been extensively used to obtained monosex (YY-chromosome, supermale) tilapia as parental stock. However, detection of YY-supermale using conventional progeny-test is time consuming and costly. This study aims to develop methodology with higher efficiency and more rapid than the conventional methods. Specific DNA probe isolate from Y chromosome was carried out using subtractive hybridization technique. Sixty-two clones were chosen by digested the plasmid DNA with restriction enzyme *Pvu* II as pSK1-pSK62. Plasmid SK39 was the most promissing one because the capability to distinguish between female and male tilapia. Only male tilapia DNA that digested with restriction enzyme *Sau* I96 give signal band at 510 bp when insert DNA of pSK 39 was use as probe. However, this probe should be examined further. The probe should be sequenced and the sequence can be used to design primers to further use to distinguish YY and XY-fry by PCR. Furthermore, RAPD-PCR was also used to distinguish YY and XY-fry. The result indicated that distinguishing the 2 type of fry can be done by using OPS3 primer. However, this result was not stable. Therefore, more detail experiment should be done. Moreover, RAPD-PCR results need to be develop to use as probe. The sequence can be used to design specific primer for PCR technique to identify XY or YY male fry in the future.

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนักศึกษา…….
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา…….
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม……..
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม……..