# ผลของการแปลงเพศด้วยฮอร์โมนเพศต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกันและจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาสลิด, *Trichopodus pectoralis* (Regan, 1910)

นายอภินัทธ์ กับปา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2563

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# EFFECT OF HORMONAL SEX REVERSAL ON GROWTH PERFORMANCE, PROXIMATE CHEMICAL COMPOSITION, HEMATOLOGY, BLOOD CHEMISTRY, IMMUNOLOGY AND GONAD HISTOLOGY IN SNAKESKIN GOURAMI, *TRICHOPODUS PECTORALIS* (REGAN, 1910)

**Apinat Kabpa**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science in Animal Production Technology**

**Suranaree University of Technology**

**Academic Year 2020**

**ผลของการแปลงเพศด้วยฮอร์โมนเพศต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกัน และจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาสลิด, *Trichopodus pectoralis* (Regan, 1910)**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. ดร.สมร พรชื่นชูวงศ์)
ประธานกรรมการ

(รศ. ดร.สุรินทร บุญอนันธนสาร)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)
กรรมการ

(ผศ. นสพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)
กรรมการ

(ผศ. ดร.แก้วตา ลิ้มเฮง)
กรรมการ

(รศ. ดร.ฉัตรชัย โชติษฐยางกูร)
รักษาการแทนรองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพ

(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนาร

อภินัทธ์ กับปา : ผลของการแปลงเพศด้วยฮอร์โมนเพศต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกันและจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาสลิด, *Trichopodus pectoralis* (Regan, 1910) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.สุรินทร บุญอนันธนสาร, 108 หน้า.

การศึกษาผลการแปลงเพศด้วยฮอร์โมนเพศต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา และจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาสลิดโดยในการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาการแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 45 และ 90 วัน เพื่อแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมีย พบว่า จากการตรวจจุลกายวิภาควิทยาทั้งปลาสลิดกลุ่มควบคุมเพศเมียและกลุ่มเพศเมียแปลงเพศแสดงให้เห็นไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) เป็นส่วนใหญ่เช่นเดียวกันและการให้อาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่มีระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้สามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียได้ 100% เมื่อปลาสลิดอายุ 11 เดือนอิทธิพลของเพศจึงส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาเพศเมียแปลงเพศและเพศเมียกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวที่มากกว่ากลุ่มควบคุมเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) สำหรับค่าโลหิตวิทยาได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดงและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม ขณะที่ค่าฮีโมโกลบินในกลุ่มเพศเมียแปลงเพศและกลุ่มควบคุมเพศเมียสูงกว่ากลุ่มควบคุมเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) โดยค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดได้แก่ ค่ากลูโคส ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ ค่าคลอเลสเตอรอล และค่าโปรตีน เป็นต้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมนที่มากขึ้น และพบว่าค่ากลูโคส ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ส่วนค่า Blood urea nitrogen ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p$>0.05) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยาได้แก่ ค่าไลโซไซม์ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม ขณะที่ค่าคอมพลีเมนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ความชื้น โปรตีนหยาบ ไขมันหยาบ เถ้า และ NFE มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม

ในการทดลองต่อมาเป็นการศึกษาผลการแปลงเพศด้วยฮอร์โมนเพศ 17-α-Methyltestosterone ต่อค่าพารามิเตอร์เดียวกันกับในการทดลองที่ 1 ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 45 และ 90 วัน เพื่อแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้ พบว่า จากการตรวจจุลกายวิภาควิทยาทั้งปลาสลิดกลุ่มควบคุมเพศผู้และกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศแสดงให้เห็นสเปิร์มระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) เป็นส่วนใหญ่เช่นเดียวกันและ

การให้อาหารผสมฮอร์โมน MT ที่มีระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้สามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้มากถึง 94% เมื่อปลาสลิดอายุ 11 เดือน กลุ่มเพศผู้แปลงเพศและกลุ่มควบคุมเพศผู้จึงมีน้ำหนักตัวที่น้อยกว่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ค่าโลหิตวิทยาของปลาที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ในแต่ละระดับความเข้มข้นเป็นระยะเวลา 90 วัน มีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและค่าฮีโมโกลบินที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด ได้แก่ ค่ากลูโคส ค่าคลอเลสเตอรอล ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ โปรตีน และ BUN ตามลำดับไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยาได้แก่ ค่า ACH50 และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา มีความความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม ขณะที่ค่าไลโซไซม์ไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ความชื้น ไขมันหยาบ เถ้า และ NFE ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม

สรุปในการทดลองที่ 1 ปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้มีน้ำหนักตัวมากกว่าปลาสลิดเพศผู้และไม่แตกต่างกันกับปลาสลิดเพศเมียกลุ่มควบคุม แสดงว่า ระดับฮอร์โมน E2 และระยะเวลาที่เหมาะสมทำให้เซลล์สืบพันธุ์ของปลาแปลงเพศสามารถพัฒนาเป็นรังไข่ได้เหมือนกับปลาเพศเมียกลุ่มควบคุม และสามารถแปลงเพศได้ 100% และการทดลองที่ 2 ปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT ที่ระดับ 200 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้มีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปลาสลิดเพศเมียกลุ่มควบคุม โดยระดับฮอร์โมน MT และระยะเวลาที่เหมาะสมในการแปลงเพศทำให้เซลล์สืบพันธุ์ของสามารถพัฒนาเป็นอัณฑะจากการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมน MT เช่นเดียวกับปลาเพศผู้กลุ่มควบคุม และสามารถแปลงเพศได้ 94% ดังนั้นเพศเมียจึงมีน้ำหนักตัวที่มากกว่าปลาสลิดเพศผู้อย่างชัดเจน และอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นของเพศเมียจึงเกิดจากอิทธิพลของเพศที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา____________

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา____________

APINAT KABPHA : EFFECT OF HORMONAL SEX REVERSAL ON GROWTH PERFORMANCE, PROXIMATE CHEMICAL COMPOSITION, HEMATOLOGY, BLOOD CHEMISTRY, IMMUNOLOGY AND GONAD HISTOLOGY IN SNAKESKIN GOURAMI, *TRICHOPODUS PECTORALIS* (REGAN, 1910). THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SURINTORN BOONANUNTANASARN, Ph.D., 108 PP.

SNAKESKIN GOURAMI/SEX REVERSAL/SEX RATIO/ADMINISTRATION/ 17-α-METHYLTESTOSTERONE/17-β-ESTRADIOL

This study aims to investigate the effect of hormonal sex reversal on growth performance, body composition, blood chemistry, hematology, immunology and histology of the gonad in Snakeskin gourami. 17-β-Estradiol (E2) levels were 100, 200 and 300 mg/kg feed for 45 and 90 days causing sex-reversal to feminization (Genetical males to phenotypic female). The histological study of testis and ovary of control and sex reversed fish at 8 months of age. This study is to evaluate identified sex ratios of sex-reversed females. The stage of ovary appeared similar. For 90 days, E2 administration of 200 mg/kg diet were development of secondary sex characteristics, the sex ratio is defined as 100 percent of females. At age 11 months, sex influence affect on growth performance of sex reversed female and the female of control group had statistically significantly higher body weight than the male control group ($p<0.05$). For hematology was hemoglobin on sex-reversed female and control female were significantly higher than in the control male ($p<0.05$). Blood chemistry was glucose and triglycerides were increased statistically significantly ($p<0.05$).

Immunology, including the alternative complement pathway and total immunoglobulin were significantly different ($p<0.05$). The body composition of fish on moisture, crude protein, crude fat, crude ash and nitrogen free extract were significantly different ($p<0.05$) than the control group.

In Experiment 2, the levels of 17-α-Methyltestosterone were 100, 200 and 300 mg/kg diet for 45 and 90 days to the administration which induces to masculinization. The results showed that histological examination of sex ratios. The stage of testis appeared similar at the level of 200 mg MT /kg of diet for 90 days. The sex ratio was 94 percentage of male. At age of 11 months, shown growth performance in the sex-reversed male the male control group had a statistically significant lower body weight than the female control group ($p<0.05$) Hematologic values of fish fed MT in each concentration for 90 days are to immunology, including the alternative complement pathway and the plasma protein content, was statistically significantly different ($p<0.05$) from the control group. While the body composition of the fish were moisture, crude fat, crude ash and Nitrogen free extract respectively was statistically significantly different ($p<0.05$) with the control group.

In conclusion, Experiment 1. The treated fish with level of E2 at 200 mg/kg diet for 90 days. As a result, the body weight was higher than the male and was not different from the control female. the produced percentage of female was 100%. So female fish have a body weight higher than male. For sex reversed fish the increased of growth rate was due to the directly influence of sex on growth.

# กิตติกรรมประกาศ


วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนวิจัยจากแหล่งทุนภายนอก (OROG) จากโครงการวิจัยเรื่อง การประยุกต์ใช้เทคนิคการปลูกถ่ายเซลล์สืบพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลาในบ่อเลี้ยง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุรินทร บุญอนันธนสาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสทางการศึกษา ให้คำแนะนาปรึกษาด้านวิชาการแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมทั้งช่วยตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.อมรรัตน์ โมพี ผศ. ดร.สมร พรชื่นชูวงศ์ ผศ. นสพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์ และ ผศ. ดร.แก้วตา ลิ้มเฮง ที่ได้สละเวลามาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และให้ความรู้ คำปรึกษาด้านวิชาการ คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณสุนัย พลายมี หัวหน้างานสัตว์น้ำ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้านสถานที่ทำการทดลอง และขอบพระคุณ ดร.สุขสันต์ ขำคง และ ดร.อารยา แจ้งไพร ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ ให้ความช่วยเหลือระหว่างการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่น้องสาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ ความช่วยเหลือระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ และให้กำลังใจที่ดีมาโดยตลอด สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา

อภินัทธ์ กับปา

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ....................................................................................... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ................................................................................... ค

กิตติกรรมประกาศ ............................................................................................ จ

สารบัญ ............................................................................................................ ฉ

สารบัญตาราง .................................................................................................. ญ

สารบัญรูป ........................................................................................................ ฎ

**บทที่**

**1 บทนำ**

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการวิจัย ...................................................... 1

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย ................................................................................... 2

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย ................................................................................. 5

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ............................................................................ 5

1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย ........................................................................ 5

**2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

2.1 ปลาสลิด (Snakeskin gourami) ..................................................................... 6

2.1.1 การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน (Regan, 1910) ............................................. 6

2.1.2 ชีววิทยาของปลาสลิด (Snakeskin gourami) ................................................ 7

2.1.3 สถานการณ์ปัจจุบันของปลาสลิด (Snakeskin gourami) ................................. 7

2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Sex dimorphism) ................................................. 7

2.3 การกำหนดเพศ (Sex determination system) .................................................. 7

2.3.1 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environment Sex determination : ESD) .................... 7

2.3.2 ปัจจัยพันธุกรรม (Genetic sex determination : GSD) ..................................... 9

2.4 การแปลงเพศปลาด้วยฮอร์โมน ...................................................................... 9

2.4.1 ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศปลา ............................................................... 10

2.5 ผลของการแปลงเพศปลาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา ......................... 12

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 คุณภาพน้ำของการแปลงเพศปลา ....19
2.7 การศึกษาด้านการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในเลือด (Blood chemical) ....21
2.8 การศึกษาด้านค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....24
2.9 การศึกษาด้านค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Hematology) ....25
2.10 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ....32
2.11 การวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....33
3 วิธีดำเนินการวิจัย
3.1 สถานที่ทำการทดลอง ....40
3.2 ปลาสลิดที่ใช้ในการศึกษา.... 40
3.3 แผนการทดลองการทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วย ฮอร์โมน 17-β-Estradiol (ES) ....41
3.3.1 การเลี้ยงการปลาทดลอง ....42
3.3.2 การเก็บตัวอย่าง ....42
3.3.3 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....45
3.3.4 การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด (Blood chemical) ....47
3.3.5 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกัน (Immunity) ....49
3.3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition) ....51
3.3.7 การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์จุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....53
3.4 การทดลองที่ 2 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyl-testosterone (MT) ....55
3.4.1 การเลี้ยงการปลาทดลอง ....56
3.4.2 การเก็บตัวอย่าง ....57
3.4.3 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....57
3.4.4 การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด (Blood chemical) ....57

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.5 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกัน (Immunity) ....57
3.4.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition) ....58
3.4.7 การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์จุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....58

**4 ผลการทดลอง**

4.1 การทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ....59
4.1.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....59
4.1.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio) ....62
4.1.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant) ....62
4.1.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....67
4.1.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) ....67
4.1.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ....68
4.1.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body ....68

4.2 การทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-α- Methyl-testosterone (MT) ....70
4.2.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....70
4.2.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio) ....71
4.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant) ....74
4.2.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....74
4.2.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) ....79
4.2.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ....79
4.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ....80

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# สารบัญ (ต่อ)

**หน้า**

**5 การอภิปรายผลสรุป**

5.1 การทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-α- Estradiol (E2) ....83

5.1.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....83

5.1.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio) ....84

5.1.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant) ....84

5.1.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....86

5.1.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) ....86

5.1.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ....88

5.1.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ....89

5.2 การทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-α- Methyl-testosterone (MT) ....90

5.2.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) ....90

5.2.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio) ....91

5.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant) ....93

5.2.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ....94

5.2.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) ....94

5.2.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ....95

5.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ....96

**6 สรุปและข้อเสนอแนะ**

6.1 สรุป ....97

6.2 ข้อเสนอแนะ ....98

รายการอ้างอิง ....99

ประวัติผู้เขียน ....108

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**


2.1 ชนิดฮอร์โมนทางการค้าที่มีการใช้ในเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ...... 12

2.2.1 แสดงถึงสมรรถนะเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-β-estradiol (E2) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 15

2.2.2 แสดงถึงสมรรถนะเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-α-methyl testosterone (MT) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 16

2.2.3 แสดงถึงอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-β-estradiol (E2) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 17

2.2.4 แสดงถึงอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-α-methyl testosterone (MT) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 18

2.3 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการแปลงเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 20

2.4 แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าองค์ประกอบเคมีในเลือดระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 22

2.5 แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 26

2.6 แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าภูมิคุ้มกันวิทยาระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 27

2.7 แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ...... 34

3.1 แสดงการให้อาหารแต่ละชนิดตามอายุของปลาสลิด ...... 41

3.2 แสดงถึงระดับฮอร์โมน17-β-estradiol (E2) ที่ผสมในอาหาร ...... 41

3.3 แสดงถึงระดับฮอร์โมน 17-α-methyl testosterone (MT) ที่ผสมในอาหาร ...... 56

4.1 การศึกษาอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับต่าง ๆ กับปลากลุ่มควบคุม ...... 63

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

4.2 การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน ........ 64
4.3 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology), ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ........ 69
4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ........ 70
4.5 การศึกษาอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. กับปลากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ........ 74
4.6 การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน ........ 76
4.7 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology), ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT ที่ระดับ 1000 2000 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ ........ 81
4.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ........ 82

# สารบัญรูป

**รูปที่** **หน้า**


2.1 ลักษณะรูปร่างของปลาสลิด ........ 6

2.2 แสดงสูตรโครงงสร้างของฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ........ 11

2.3 แสดงสูตรโครงงสร้างของฮอร์โมน17-α-methyltestosteron (MT) ........ 11

2.4 แสดงตัวเมียถึงเปอร์เซ็นต์ตัวเมียของปลา Mexican snook (*Centropomus poeyi*) ........ 19

2.5 แสดงถึงค่า Cholesterol และ Triglyceride ในปลาสเตอร์เจียน ........ 23

2.6 แสดงระดับโปรตีนซีรั่มของปลาระยะ Fingerling และระยะ Juveniles (*Lateolabrax japonicus*) ที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่มีความเข้มข้นสองระดับ 200 และ 2,000 ng/L ........ 24

2.7 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลินในซีรัมของปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) ........ 28

2.8 ผลของฮอร์โมน E2 ต่อค่า Total Immunoglobulin และ lysozyme ในเลือดของปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) ........ 29

2.9 แสดงผลของฮอร์โมน Testosterone ต่อค่า ACH50 และ IgMของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) ........ 30

2.10 แสดงผลของฮอร์โมน E2 ต่อค่า ACH50 และ IgMของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) ........ 31

2.11 แสดงถึงค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ........ 35

2.12 ภาพพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียเมื่อสิ้นสุดการทดลองในปลา Common snook (*Centropomus undecimalis*) ที่แปลงเพศเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β- estradiol (E2) ........ 37

2.13 ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของปลา (*Oreochomis andersonii*) ........ 38

2.14 ภาพอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis Niloticus*) ........ 39

3.1 จำนวนลูกปลาในแต่ละซ้ำและแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ........ 43

3.2 แสดงถึงการเก็บข้อมูลขนาดตัว ........ 44

3.3 แสดงการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ตัวอย่าง ........ 45

# สารบัญรูป (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

3.4 ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือด ........ 45
3.5 ปริมาตรเลือดทั้งหมด และปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใน microhematocrit capillary tube ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงแล้ว........ 46
3.6 แสดงถึงกระบวนการวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ ........ 55
3.7 จำนวนลูกปลาในแต่ละซ้ำและแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน17-α-methyl testosterone (MT) ........ 57
4.1 ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศเมียอายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเป็นเพศเมียที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระยะเวลา 90 วัน ........ 60
4.2 ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศเมียอายุปลา 11 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเป็นเพศเมียที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระยะเวลา 90 วัน........ 61
4.3 ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศผู้อายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน MT เพื่อแปลงเป็นเพศผู้ที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระยะเวลา ระยะเวลา 90 วัน........ 72
4.4 ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศผู้อายุปลา 11 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน MT เพื่อแปลงเป็นเพศผู้ที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ระยะเวลา 90 วัน........ 73

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำวิจัย

ปลาสลิดเป็นน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ดังจะเห็นได้จากข้อมูลเชิงปริมาณและมูลค่าสัตว์น้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ปี 2557 ของประเทศไทย ได้แสดงว่าปลาสลิดมีปริมาณผลผลิต 22,911 ตัน คิดเป็นมูลค่ามากถึง 1,380,919 พันล้านบาท โดยปลาสลิดมีปริมาณผลผลิตเป็นอันดับ 4 ของประเทศไทย (กรมประมง, 2559) นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่เนื้อมีรสชาติดีและอร่อยเป็นที่นิยมของผู้บริโภค การเพาะเลี้ยงปลาสลิดส่วนใหญ่เป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อดินและใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ การเพาะเลี้ยงปลาสลิดส่วนใหญ่จะพบในพื้นที่ดังนี้ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ฉะเทริงเทรา และสุพรรณบุรี แต่ปัจจุบันพื้นที่การเลี้ยงลดลงเนื่องจากพื้นที่เพาะเลี้ยงส่วนใหญ่เปลี่ยนไปเป็นที่อยู่อาศัยและโรงงานอุตสาหกรรม (ชุติระ และคณะ, 2559) โดยธรรมชาติปลาสลิดจะมีลักษณะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้ และเพศเมีย ซึ่งปลาสลิดเพศเมียมีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากกว่าเพศผู้ ดังนั้นหากพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาสลิดไปสู่การเพาะเลี้ยงปลาสลิดเพศเมียล้วน จะเป็นแนวทางหนึ่งการเพิ่มผลผลิตปลาสลิด

การแปลงเพศคือการผลิตปลาเพศเดียวล้วนซึ่งสามารถทำได้หลายเทคนิคดังนี้ ไจโนเจเนซิส (Gynogenesis) คือการทำลายสารพันธุกรรมในสเปิร์มโดยการฉายรังสีเพื่อทำลายโครโมโซมเพศแล้วนำไปผสมกับไข่เพื่อกระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิ แล้วจึงเหนี่ยวนำให้ไข่เก็บ Polar body เอาไว้ตอนแบ่งเซลล์ ไข่จึงยังคงมีโครโมโซมสองชุดและพัฒนาเป็นตัวอ่อนได้ (Komen et al., 1992) วิธีไจโนเจเนซิสนี้ต้องการอุปกรณ์และเครื่องมือที่ทันสมัย ส่วนการทดสอบลูกหลาน (Progeny testing) คือหลังจากที่เราสามารถรู้ระบบกำหนดเพศในปลาชนิดแล้วเราสามารถนำปลาแปลงเพศ (Sex reversal fish) มาผสมพันธุ์กับปลาปกติ (Normal fish) และสามารถให้ลูกที่มีจีโนไทป์ (Genotype) ตามเพศที่เราต้องการได้ (Scott et al., 1989) วิธี progeny testing นี้ต้องใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน และที่สำคัญจะต้องมีการศึกษาถึงระบบกำหนดเพศ (Sex determination) ก่อน ในขณะที่การแปลงเพศด้วยฮอร์โมน คือ การใช้ฮอร์โมนเพศผสมในอาหาร และให้ลูกปลาวัยอ่อนกินเพื่อเหนี่ยวนำให้ปลาเปลี่ยนเป็นเพศที่ต้องการ วิธีการนี้สามารถปรับใช้ได้กับการผลิตลูกพันธุ์ปลาแบบเดิมได้ทั้งบ่อดิน กระชัง บ่อซีเมนต์ และยังสามารถแปลงเพศลูกปลาได้จำนวนมากต่อครั้งเป็นเพศที่ต้องการได้ (อุทัยรัตน์, 2531) จะเห็นว่าการแปลงปลาด้วยฮอร์โมนนั้นสามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว และลงทุนน้อย การแปลงเพศปลาต้องทำในลูกปลาวัยอ่อนที่การพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ยังไม่ปรากฏ (Sensitive period) การให้ฮอร์โมนเพศจากภายนอกในช่วงเวลานี้ซึ่งเป็น

ระยะต้นของชีวิต (Early phase) จึงสามารถเหนี่ยวนำให้สามารถพัฒนาการเป็นเพศใดเพศหนึ่งโดยสมบูรณ์ตามชนิดฮอร์โมนเพศที่ได้รับได้ (Ijiri et al., 2008) โดยฮอร์โมนที่นิยมใช้ คือ ฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) เป็นฮอร์โมนแอนโดรเจนสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในการแปลงเพศปลาเป็นเพศผู้ ส่วนการเหนี่ยวนำให้เป็นเพศเมียจะใช้ฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ซึ่งเป็นฮอร์โมนสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในการแปลงเพศปลาเป็นเพศเมีย (เกรียงศักดิ์, 2544; Yousefian et al., 2012)

การใช้ฮอร์โมนแปลงเพศปลาจะมุ่งศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน อายุของปลาวัยอ่อนที่เหมาะสมที่จะให้ฮอร์โมน และระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ฮอร์โมน (Rahma, 2015) การศึกษานี้มีเป้าหมายที่จะรู้ระยะเวลาและระดับฮอร์โมนที่เหมาะสมการแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศเมีย และนำไปสู่การเพาะเลี้ยงปลาสลิดเพศเมียล้วน ซึ่งเน้นวิธีการผสมฮอร์โมนเพศในอาหาร โดยทำการศึกษาระดับฮอร์โมนที่เหมาะสม และระยะเวลาในการแปลงเพศปลาในปลาระยะวัยอ่อน นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้จะศึกษาถึงผลของการแปลงเพศปลาสลิดต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance) เพื่อดูความแตกต่างของการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (Whole body composition) ค่าเคมีในเลือด (Blood chemistry) ค่าโลหิตวิทยา จุลกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ (Histology) โดยผลการศึกษาครั้งนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิด เพื่อการเพาะเลี้ยงปลาสลิดเพศเดียวในระดับฟาร์มธุรกิจต่อไป และเช่นกันในการศึกษานี้มีเป้าหมายที่จะรู้ระยะเวลาและระดับฮอร์โมนที่เหมาะสมการแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้ นอกจากนี้ในปลาหลายชนิดที่มีการใช้ฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) แปลงเพศแล้วมีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นด้วยซึ่งในปลาสลิดยังไม่เคยมีรายงานปรากฏว่ามีการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้ และเพื่อให้เป็นองค์ความรู้พื้นฐานในการศึกษาปลาสลิด การแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้ล้วนนั้นก็เป็นแนวทางหนึ่งที่สำคัญด้วยเช่นกัน ซึ่งผลที่ได้อาจจะนำไปสู่การศึกษาระบบกำหนดเพศ (Sex determination) ในปลาสลิดได้ในอนาคตอีกด้วย เพราะในปลาสลิดยังไม่มีการศึกษาว่าเป็นระบบกำเพศแบบ XY หรือระบบกำเพศแบบ ZW

## 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ต่อการแปลงเพศปลาสลิด ค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบของร่างกาย ค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีในเลือด ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา และสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์

2. เพื่อศึกษาผลของอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) ต่อการแปลงเพศปลาสลิด ค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบของร่างกาย ค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีในเลือด ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา และสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์

## 1.3 สมมติฐานงานวิจัย

1. การให้อาหารผสมฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ในปลาสลิดวัยอ่อนสามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียได้

2. การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลาสลิดได้

3. ฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลง (Modulate) ค่าองค์ประกอบเคมีของตัวปลา (Whole body composition) ค่าเคมีในเลือด (Blood chemistry) ค่าโลหิตวิทยา และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)

4. การให้อาหารผสมฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) ในปลาสลิดวัยอ่อนสามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ได้

5. ปลาสลิดเพศผู้แปลงเพศมีองค์ประกอบของเซลล์สืบพันธุ์ของปลาสลิดที่ไม่แตกต่างจากปลาสลิดในธรรมชาติ

6. ฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลง (Modulate) ค่าองค์ประกอบเคมีของตัวปลา (Whole body composition) ค่าเคมีในเลือด (Blood chemistry) ค่าโลหิตวิทยา และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)

## 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาเพื่อให้ทราบถึงระยะเวลาและระดับฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการแปลงเพศปลาสลิดได้มากกว่า 95% รวมถึงศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance) องค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition) ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) ค่าเคมีในเลือด (Blood chemistry) ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) และจุลกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ (Histology) ของปลาสลิดที่ได้รับฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) และ 17-α-methyltestosterone แปลงเพศที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

## 1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

Snakeskin gourami (*Trichopodus pectoralis*), Sex reversal, 17-β-estradiol, 17-α-methyltestosterone, Growth performance, Whole body composition, Hematology, Blood chemistry, Immunology, Histology

# บทที่ 2
# ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ปลาสลิด (Snakeskin gourami)

**ภาพที่ 2.1** ลักษณะรูปร่างของปลาสลิด ชื่อสามัญ Snakeskin gourami มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Trichopodus pectoralis*.

### 2.1.1 การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

Phylum : Vertebrata

Class : Teleostomi

Order : Cypriniformes

Family : Anabantidae

Genus : *Trichopodus*

Species : *Trichopodus pectoralis* (Regan, 1910)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**2.1.2 ชีววิทยาของปลาสลิด (Snakeskin gourami)**

ปลาสลิดหรือมีชื่อเรียกในคำราชาศัพท์อีกว่า ปลาใบไม้ เป็นปลาน้ำจืดที่เป็นปลาพื้นบ้านของประเทศไทย มีชื่อสามัญหลายชื่อเช่น Snakeskin gourami, Sepat siam และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Trichopodus pectoralis* (Regan, 1910) (พรพิมล และคณะ, 2559; Tan et al., 2019) ปลาสลิดมีรูปร่างลำตัวแบน และมีลายริ้วดำพาดขวางตามลำตัวจากหัวถึงโคนหาง เกล็ดบนเส้นข้างตัวประมาณ 42-47 เกล็ด ปากเล็กยืดหดได้ ปลาสลิดซึ่งมีขนาดใหญ่เต็มที่จะมีความยาว ประมาณ 20 เซนติเมตร เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะต่างกัน โดยเพศผู้จะมีลักษณะลำตัวเรียวยาว สันหลังและสันท้องเกือบจะขนานกัน ท้องแบนและแข็งลายเข้มเด่นชัด บริเวณครีบหางและครีบก้นจะมีสีเขียวออกเทา ส่วนเพศเมียมีลักษณะลำตัวสั้นป้อม ท้องมีลักษณะโค้งมนไม่ขนานกับสันหลัง สีจะค่อนข้างจางกว่าเพศผู้ (การุณ และ ไพรัตน์, 2548) มีลักษณะคล้ายกับปลากระดี่หม้อแต่มีขนาดตัวที่ใหญ่กว่า (ดังภาพที่ 2.1) เพศเมียเมื่ออายุครบ 7 เดือนจะสามารถสืบพันธุ์ได้และแต่ละครั้งวางไข่ 4,000-10,000 ฟอง เป็นปลาที่กินทั้งแพลงก์ตอนพืช, แพลงก์ตอนสัตว์และพืชพันธุ์ไม้ที่เน่าเปื่อยในน้ำ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเขต 9 ชัยนาท, 2017)

**2.1.3 สถานการณ์ปัจจุบันของปลาสลิด (Snakeskin gourami)**

ปลาสลิด เป็นปลาชนิดหนึ่งพบอยู่ในภูมิภาคอินโดจีน เช่น พม่า ลาว กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย ปากีสถาน ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ รวมทั้งประเทศไทย เป็นปลาที่ชอบอยู่ในน้ำนิ่งที่มีหญ้ารกหรือพืชน้ำขึ้นอย่างหนาแน่น เช่น บริเวณคูน้ำ หนอง บึง บ่อ และนาข้าวที่มีน้ำขัง เป็นต้น ปลาสลิดมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี (พรพิมล และคณะ, 2016) สำหรับแหล่งที่มีชื่อเสียงของปลาสลิดเป็นที่รู้จัก มีรสชาติดี เนื้ออร่อย คือ ปลาสลิดบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ แต่ปัจจุบันมีกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์มากขึ้น มีการขยายตัวของโรงงานอุตสาหกรรมที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมปนเปื้อนสู่ธรรมชาติและระบายลงสู่บ่อเลี้ยง ส่งผลให้พื้นที่ในการเลี้ยงปลาสลิดลดลง ทำให้ผลผลิตในปัจจุบันลดลงด้วย (ชุติระ และคณะ, 2559)

## 2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Sex dimorphism)

โดยทั่วไปแล้วลักษณะทางสัณฐานวิทยาในปลาที่เกี่ยวข้องกับเพศ (Sex dimorphism) มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตที่เกิดจากความแตกต่างของพลังงานที่ใช้ในระหว่างการเจริญวัยเข้าสู่ช่วงที่เกิดความแตกต่างของเพศผู้หรือเพศเมีย นอกจากนี้ค่าดัชนีความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์หรือค่า GSI (Gonadosomatic index) แสดงให้เห็นความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีอิทธิพลในการควบคุมการเจริญเติบโตในปลา (Kobayashi and Nagahama, 2009) อย่างไรก็ตามฮอร์โมนเพศที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตของแต่ละเพศผู้หรือเพศเมียแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเพศและกลไกทางสรีรวิทยาที่ตอบสนองต่อการควบคุมการใช้พลังงานและการ

พัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ยังไม่ปรากฏชัดเจน ในปลาเพศเมียและเพศผู้ฮอร์โมนเพศจะมีผลที่แตกต่างกันและในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน ดังเช่น ฮอร์โมน Estradiol (E2) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในปลาเพศเมียโดยการส่งเสริมการเจริญเติบโตและพัฒนาการของรังไข่ (Ovary) โดยคล้ายกับการหลั่งฮอร์โมนการเจริญเติบโต (Growth hormone: GH) (Trudeau et al., 1992) การผลิตของประชากรปลาเพศเดียว (Monosex) ของปลาในปัจจุบันซึ่งมีการกระจายพันธุ์ของปลาจากกลุ่ม ปลากระดูกแข็ง (Teleost) มากกว่า 60 ชนิด มากกว่า 16 ครอบครัว มีอย่างน้อย 20 สายพันธุ์ที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ที่มีการผลิตปลาแปลงเพศ ในปลาบางสายพันธุ์เพศเมียจะเจริญเติบโตช้ากว่าเพศผู้ทำให้น้ำหนักและขนาดจะเพิ่มขึ้นภายหลังจากที่เจริญพันธุ์เต็มที่และมีไข่แล้ว โดยปลาเพศเมียอาจมีน้ำหนักมากกว่าถึง 50% ของเพศผู้ การแปลงเพศปลาจึงทำให้สามารถหลีกเลี่ยงผลในเชิงลบ (Negative effect) ของช่วงวัยเจริญพันธุ์ที่มีการเลี้ยงแบบรวมเพศ (Mixed sex) เช่น อัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง อัตราอาหารแลกเนื้อ และพฤติกรรมการสืบพันธุ์ เป็นต้น (Reis and Almeida, 2018) การแปลงเพศปลาสามารถทำได้โดยการจัดการทางพันธุกรรมเช่น Gynogenesis หรือโดยการใช้ฮอร์โมน (เอสโตรเจน แอนโดรเจน และโปรเจสติน) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดความของความแตกต่างทางเพศซึ่งเป็นกระบวนการปกติที่เกิดขึ้นในสัตว์จำพวกปลา (Nakamura, 2010) ใช้เพื่อจัดการกับฟีโนไทป์เพศของปลา (Pandian and Sheela, 1995) สเตียรอยด์ตามธรรมชาติ, 17-β-estradiol (E2) เป็นฮอร์โมนหลัก ๆ ที่นิยมใช้สำหรับการแปลงเพศปลา Eels, Salmonids, Cichlids, Cyprinids, Poecilids และ Ictalurids (Piferrer, 2001)

## 2.3 การกำหนดเพศ (Sex determination system)

การกำหนดเพศในปลาเป็นกระบวนการที่มีความยืดหยุ่นอย่างมาก อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้โดยปัจจัยภายนอก อิทธิพลเหล่านี้สามารถส่งผลกระทบต่อทิศทางการพัฒนาของร่างกายและเซลล์สืบพันธุ์ ลักษณะดังกล่าวนี้เป็นผลจาก 2 ปัจจัยหลักคือ ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม (Environment Sex determination : ESD) และปัจจัยพันธุกรรม (Genetic sex determination : GSD) (Abucay et al., 1999)

### 2.3.1 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environment Sex determination : ESD)

มีผลต่ออัตราส่วนเพศของปลาในระบบสืบพันธุ์หลายชนิด สามารถที่จะกำหนดเพศ (Sex determination) หรือมีอิทธิพลต่อความแตกต่างทางเพศ (Sex differentiate) อุณหภูมิน้ำ ความหนาแน่น ค่า pH และการขาดออกซิเจนก็แสดงให้เห็นว่ามีอิทธิพลต่ออัตราส่วนเพศของปลาสายพันธุ์ต่าง ๆ ภายใต้อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันมาก ในสายพันธุ์ปลาส่วนใหญ่ที่ภายใต้สภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม ในปลานิลและปลากะพงขาว พบว่าอิทธิพลของอุณหภูมิน้ำภายใต้สภาวะแวดล้อม ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม (Baroiller et al., 1999)

### 2.3.2 ปัจจัยพันธุกรรม (Genetic sex determination : GSD)

พันธุกรรมมีผลต่อการควบคุมการสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศที่ทำให้เกิดความแตกต่างทางเพศซึ่งเป็นการแสดงออกของฮอร์โมนเพศมีรายงานการศึกษาพบว่า ฮอร์โมนจากภายนอกมีผลต่อการสมรรถนะการเจริญเติบโตซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับเพศ (Shi 1997; Shi et al. 1998) เช่น ปลานิลเพศผู้เจริญเติบโตไวกว่าเพศเมีย ปลาหมอเพศเมียที่เจริญเติบโตไวกว่าเพศผู้ เป็นต้น โดยเมื่อลูกปลาวัยอ่อนได้รับฮอร์โมนแปลงเพศจะทำให้เกิดเการเหนี่ยวนำให้ Primary germ cell พัฒนาเป็นอวัยวะเพศตามชนิดฮอร์โมนเพศที่เหนี่ยวนำ (Singh, 1993) นอกจากนี้มีรายงานว่ายีน DMRT1 เป็นทำให้เกิดการแปลงเพศในปลา เมื่อลูกปลาวัยอ่อน (XX) ได้รับฮอร์โมนแอนโดรเจน (Androgens) แปลงเพศเป็นเพศผู้ และเมื่อลูกปลาวัยอ่อน (XY) ได้รับฮอร์โมน estrogens แปลงเพศเป็นเพศเมีย (Kobayashi et al., 2008) อย่างไรก็ตามฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogens) จะส่งผลต่อ Estrogen receptors และฮอร์โมนแอนโดรเจนจะส่งผลต่อ Androgen receptors ในการศึกษาในปลานิลหลังฟักเป็นตัว 5 วัน ในลูกปลาวัยอ่อน (XX) พบ Estrogen receptors และ Androgen receptors (Nakamura et al., 1998) การที่ฮอร์โมนเพศมีผลต่อการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์และความแตกต่างของเพศนั้นเป็นเพราะมีตัวรับฮอร์โมนเพศคือ Receptor ดังนั้นช่วงเวลาที่ลูกปลาวัยอ่อนได้รับฮอร์โมนแล้วส่งผลต่อการพัฒนาเพศนั้นจะเกิดขึ้นหลังจากที่ Receptor พัฒนาแล้ว (Ijiri et al., 2008)

## 2.4 การแปลงเพศปลาด้วยฮอร์โมน

ในการผลิตปลาแปลงเพศหรือปลา monosex ไม่ว่าจะเป็นโดยทางตรงด้วยการใช้ฮอร์โมนโดยตรงเพื่อผลิตปลาแปลงเพศหรือการผลิตโดยทางอ้อมโดยใช้ปลาที่ได้การแปลงเพศ (Sex reversal fish) มาผสมกับปลาปกติ (Normal fish) (Devlin & Nagahama, 2002) การแปลงเพศโดยตรงนี้สามารถนำมาใช้ในสปีชีส์ใด ๆ ก็ได้ โดยไม่คำนึงถึงระบบกำหนดเพศ ในขณะที่ใช้วิธีทางอ้อมเหมาะสมเฉพาะสปีชีส์ที่ทราบกลไกการกำหนดเพศต้องเป็นได้รับการพิสูจน์มาก่อนหน้านี้ ปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดผลสำเร็จในการแปลงเพศปลา คือช่วงระยะเวลาที่อวัยวะเพศจะเกิดความแตกต่างจนกระทั่งระบุเพศได้ (labile phase) ปริมาณของฮอร์โมนและระยะเวลาที่ได้รับฮอร์โมนจึงมีความสำคัญ (Chatain, Saillant, and Peruzzi, 1999) โดยที่ช่วงเวลาปลาที่อ่อนไหวที่สุดสำหรับการเปลี่ยนแปลงคือก่อนการเริ่มต้นของความแตกต่างอวัยวะสืบพันธุ์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละสายพันธุ์ด้วยเหตุนี้ปลาจะต้องได้รับฮอร์โมนที่ระดับที่เหมาะสมและกำหนดช่วงเวลาที่เหมาะสม จึงส่งผลให้สามารถเหนี่ยวนำให้ปลาแปลงเพศได้ และการพัฒนาของอวัยวะเพศเป็นไปตามชนิดของฮอร์โมนที่ปลาโดยช่วงอายุของปลา ระดับความเข้มข้น ปริมาณของฮอร์โมนในการแปลงเพศปลาซึ่งแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ของปลา และปลาได้รับฮอร์โมนต่อไปจนกว่าจะสิ้นสุดระยะเวลาเพื่อที่เปลี่ยนเพศปลาไปจนถึงโครงสร้างของภายใน โดยที่เซลล์สืบพันธุ์พัฒนาจนกระทั่ง

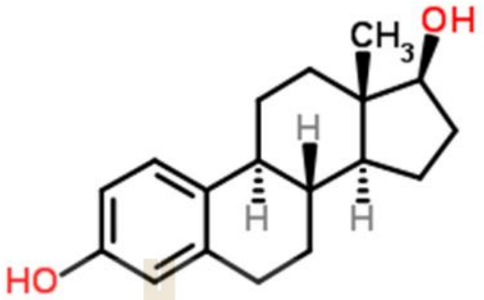
เป็นอัณฑะหรือรังไข่ได้อย่างสมบูรณ์จนลักษณะภายนอกทางเพศสามารถแยกเพศได้ (Phenotypic sex permanent) (Yamamoto, 1969; Nakamura, 1981; บัญชา, 2538) บางครั้งการแปลงเพศอาจจะไม่สมบูรณ์ทำให้เกิดอัณฑะและรังไข่ในปลาตัวเดียวกัน (Ovotestis) (Devlin and Nagahama, 2002) การที่ปลาได้รับฮอร์โมนที่คงที่จะมีผลต่อการที่จะประสบความสำเร็จมีเปอร์เซ็นต์การแปลงเพศสูง (Lin et al., 2012) ในกรณีที่ฮอร์โมนแปลงเพศสังเคราะห์จากธรรมชาติ การตกค้างในตัวปลามักจะใช้เวลาในการสลายตัวน้อยกว่าหนึ่งเดือนหลังจากสิ้นสุดการแปลงเพศ (Piferrer, 2001)

การแปลงเพศปลาสามารถทำได้โดยการใช้ฮอร์โมน การทำให้ปลาได้รับฮอร์โมนนั้นทำได้ 3 วิธีดังนี้ 1) การแช่ปลาในฮอร์โมน (Immersion) เป็นวิธีการที่ปลาจะได้รับฮอร์โมนในการแปลงเพศตลอดเวลา และได้รับในปริมาณที่แน่นอน เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ใช้เปลี่ยนเพศในลูกปลาขนาดเล็ก และในลูกปลาที่ไม่สามารถให้ฮอร์โมนโดยการผสมอาหารให้กินหรือฝังแคปซูลบรรจุฮอร์โมนได้ แต่จะต้องใช้ฮอร์โมนในปริมาณที่มากซึ่งจะเสียค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง มีปลาหลายชนิดที่ได้รับการแปลงเพศด้วยวิธีนี้ เช่น การแช่ไข่ปลาหมอไทยที่ได้รับการผสมแล้วด้วยฮอร์โมน 17-β-estradiol (พรศักดิ์ และคณะ, 2556) 2) การฝังฮอร์โมนในตัวปลา (Implantation) เป็นวิธีการที่ใช้ในปลาขนาดใหญ่เท่านั้น โดยฝังใต้ผิวหนังหรือฝังแคปซูลบรรจุฮอร์โมนลงในตัวปลา หรือฉีดเข้าช่องท้อง ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ถือเป็นวิธีที่ยุ่งยากโดยต้องใช้ความชำนาญและเสียค่าใช้จ่ายสูง ข้อดีคือ ปลาจะได้รับฮอร์โมนโดยตรง ได้รับฮอร์โมนตลอดเวลาและมีระดับฮอร์โมนที่แน่นอน และ 3) การผสมฮอร์โมนลงในอาหารปลาเพื่อให้ปลากิน (Feed Administration) เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปโดยการให้อาหารแก่ลูกปลาในวัยอ่อนเพื่อเหนี่ยวนำให้ปลาแปลงเป็นเพศที่ต้องการเช่น การใช้ฮอร์โมน 17-β-estradiol สามารถเปลี่ยนเพศปลาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) (นวลมณี, 2537) เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก ค่าใช้จ่ายต่ำ และสามารถแปลงเพศปลาได้จำนวนมากต่อครั้ง และยังสามารถปรับใช้กับการเพาะเลี้ยงลูกปลาแบบดั้งเดิมทำได้ทั้งแบบกระชัง บ่อซีเมนต์และบ่อดิน

### 2.4.1 ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศปลา

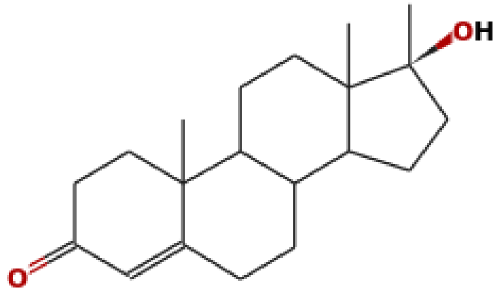
ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศเมียได้แก่ 17-β-estradiol (E2), Diethylstilbestrol (DES), 11-β-ethyl estradiol (EE), Estrone (E3) และ Estrol (E1) เป็นต้น แต่ที่นิยมนำมาใช้การแปลงเพศปลาส่วนใหญ่จะเป็นฮอร์โมน E2 ที่มีรายงานว่าประสบความสำเร็จแล้วในปลาเรนโบว์เทราต์ (*Salmo gairderI*) ที่เริ่มได้รับฮอร์โมนในระดับ 20 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 87 วัน พบว่าเพศเมีย 94 เปอร์เซ็นต์ (Kuzminski and Dobosz, 2010) และปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่ออาหาร เป็นระยะเวลา 40 วัน (Carvalho et al., 2014; Hossian and Rhaman, 2002) และในปลา Common snook (*Centropomus undecimalis*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 100 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 45 วัน ได้ลูก

ปลาเพศผู้ 90 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้มีรายงานการใช้ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสลายตัวได้ง่าย (เกรียงศักดิ์, 2544; Yousefian et al., 2012)




**ภาพที่ 2.2** แสดงสูตรโครงสร้างของฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2)

ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศผู้ ฮอร์โมนสังเคราะห์เพศผู้นิยมใช้ ได้แก่ 11-β-androstenedione, 11-ketotestosterone, Androsterone, Androstedione และ Methyldehydrotestosterine (MDHT) และ17-α-methyltestosterone เป็นต้น (ตารางที่ 2.1) โดยปกตินิยมใช้ฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone (MT) ในการแปลงเพศโดยการผสมอาหารให้ลูกปลากินแล้วประสบความสำเร็จในปลาต่าง ๆ ดังเช่น ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 28 วัน ซึ่งแปลงเป็นเพศผู้ได้ 94.28% และปลานิล (*Oreochromis andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 119 วัน ซึ่งแปลงเป็นเพศผู้ได้ 94.40% (Ferdous and Ali, 2011; Kefi et al., 2012; Alam and Uddin, 1998) สำหรับการตกค้างของฮอร์โมน MT ปกติแล้วฮอร์โมนชนิดนี้สามารถสลายตัวได้ทันทีเมื่อได้รับแสงแดดและความร้อน นอกจากนี้ในบ่อยังมีจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย การตกค้างอาจจะเกิดขึ้นที่บริเวณพื้นบ่อแต่หลังหยุดการแปลงเพศแล้ว 1 สัปดาห์ถัดมา พบว่าปริมาณฮอร์โมน MT ลดลงและไม่แตกต่างจากในธรรมชาติ (Contreras-Sánchez et al., 2002)




**ภาพที่ 2.3** แสดงสูตรโครงสร้างของฮอร์โมน17-α-methyltestosterone (MT)

**ตารางที่ 2.1** ชนิดฮอร์โมนทางการค้าที่มีการใช้ในเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

| ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศผู้ | ฮอร์โมนที่ใช้ในการแปลงเพศเมีย |
|---|---|
| 5-α-dehydrotestosterone (5-DHT) | Diethylbestrol |
| Ethynytestosterone | Dihydrodiethylstilbestrol |
| Fluoxymesterone | Diethylstilbestrol-diphosphate |
| Mestanolone | Diethylstilbestrol-dipropionate |
| Mibolerone | 14,15-methylene-estradiol |
| Norethindrone acetate | Estradiol-benzoate |
| Trenbolone acetate | Estradiol-butyryl-acetate |
| 11-β-androstenedione | Estradiol-propionate |
| 17-α-methyltestosterone | 17-α-ethynyl estradiol |
| | Estriol |
| | 11-β-hydroxy-androstenedione |
| | Ethyl-estradiol |
| | Diethylstilbestrol |
| | 17-β-estradiol |

**ที่มา** : ดัดแปลงมาจาก เกรียงศักดิ์ (2544); Yousefian et al. (2012)

## 2.5 ผลของการแปลงเพศปลาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา

ในการแปลงเพศปลาเป็นเพศเมียมักนิยมใช้ฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ที่ผ่านมามีการแปลงเพศเป็นเพศเมียที่ประสบความสำเร็จแล้วในปลาชนิดต่าง ๆ ดังนี้ ปลา Common snook (*Centropomus undecimalis*) ระดับความเข้มข้น 0 50 และ 100 มล./กก เป็นเวลา 45 วัน ปลา African catfish (*Clarias gariepinus*) ระดับความเข้มข้น 0 50 100 200 และ 400 มล./กก ปลา *Centropomus poeyi* ที่ระดับความเข้มข้น 0 40 50 และ 60 มล./กก และ ปลา *Leporinus macrocephalus* ที่ระดับความเข้มข้น 0 50 และ 100 มล./กก ตามลำดับ ในปลา Common snook (*C. undecimalis*) เมื่อได้รับฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้น้ำหนักตัวลดลงในช่วงที่ปลาได้รับฮอร์โมน แต่เมื่อเวลาผ่านไป 11 เดือน พบว่าอัตราการเจริญเติบโตในปลาที่ได้รับฮอร์โมนในระดับที่เหมาะสมคือ 100 มล./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียสูงกว่า 90% โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาหรืออัตรารอดจะมีน้ำหนักมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับฮอร์โมน แต่น้ำหนักในปลาที่ได้รับฮอร์โมนสูงขึ้นกลับลดลง และเช่นกันเมื่อปลาได้รับฮอร์โมนสูงขึ้นจะทำให้อัตราส่วนเพศเมียเพิ่มสูงขึ้น แต่ระดับฮอร์โมนที่สูงเกินไปจะส่งผลให้อัตราส่วนเพศเมียลดลงเช่นกัน สอดคล้องกับในปลา African catfish (*C. gariepinus*) ที่ได้รับฮอร์โมนมีน้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่สูงเกินไปจะส่งผลให้

น้ำหนักตัวลดลง และในลูกปลาที่ได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่เหมาะสมระดับ 100 มิลลิกรัม จะส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศเมียเพิ่มขึ้นได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามอัตราส่วนเพศเมียไม่ได้มีความสัมพันธ์กันกับน้ำหนักปลา นอกจากนี้ปลาต่างชนิดกันจะใช้ระยะเวลาในการแปลงเพศและใช้ปริมาณฮอร์โมนที่ไม่เท่ากัน โดยในปลา *Leporinus macrocephalus* มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมและปลาที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 100 มก./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อัตราส่วนเพศเมีย (77.78%) มากกว่ากลุ่มควบคุม (57.14%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อได้รับฮอร์โมนในระดับที่สูงขึ้น ส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศเมียเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน (Carvalho et al., 2014; Hossain and Rhaman, 2002; Pereira et al., 2020) ดังแสดงในตารางที่ 2.2.1 และ2.2.3 นอกจากนี้ในปลา Mexican snook (*Centropomus poeyi*) ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อได้รับฮอร์โมนในระดับที่มากขึ้นจะทำให้ปลามีน้ำหนักที่สูงขึ้น และเมื่อได้รับฮอร์โมนสูงขึ้นที่ระดับ 50 และ 60 มิลลิกรัม สามารถแปลงเพศเป็นเพศเมียได้ 100% ดังแสดงในภาพที่ 2.4 (Vidal-Lopez et al., 2019) ในการแปลงเพศปลาเป็นเพศผู้มักนิยมใช้ฮอร์โมน 17-α-methyl testosterone (MT) โดยที่ผ่านมา มีการแปลงเพศเป็นเพศผู้ที่ประสบความสำเร็จแล้วในปลาชนิดต่างๆดังนี้ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ระดับความเข้มข้น 0 40 50 60 และ 70 มล./กก. ให้อาหาร 5 เวลา เป็นเวลา 28 วัน ปลาหมอ (*Oreochromis andersonii*) ระดับความเข้มข้น 0 40 และ 90 มล./กก เป็นเวลา 119 วัน และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ระดับความเข้มข้น 0 40 50 60 และ 70 มล./กก. เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ในการทดลองของ Kefi et al., 2012 และ Rima et al., 2017 เมื่อปลาเมื่อได้รับระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นจะทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่สูงเกินไปจะส่งผลให้น้ำหนักตัวลดลง และเช่นกันเมื่อปลาได้รับฮอร์โมนสูงขึ้นจะทำให้อัตราส่วนเพศผู้เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่สูงเกินไปจะส่งผลให้อัตราส่วนเพศผู้ลดลงเช่นเดียวกัน โดยน้ำหนักและอัตราส่วนเพศผู้ที่เพิ่มสูงขึ้นไม่ได้มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งตรงกันข้ามกับการทดลองของ Ferdous and Ali, 2011 ที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อได้รับระดับฮอร์โมนเพิ่มสูงขึ้นทำให้น้ำหนักเพิ่มสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ปลาต่างชนิดกันจะใช้ระยะเวลาในการแปลงเพศและปริมาณฮอร์โมนที่ไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 2.2.2 และ 2.2.4

**ตารางที่ 2.2.1** แสดงถึงสมรรถนะเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-β-estradiol (E2) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | Treatment (มก./กก.) | ระยะเวลาแปลงเพศ (วัน) | ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน) | น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม) | น้ำหนักสุดท้าย (กรัม) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Clarias gariepinus* | 0 | 40 | | 0.0045±0.0009 | 0.8644$^{d}$ | Hossain and Rhaman, 2002 |
| | 50 | | | 0.0045±0.0009 | 0.9754$^{b}$ | |
| | 100 | | | 0.0045±0.0009 | 1.0530$^{a}$ | |
| | 200 | | | 0.0045±0.0009 | 0.9575$^{c}$ | |
| | 400 | | | 0.0045±0.0009 | 0.9577$^{c}$ | |
| *Centropomus undecimalis* | 0 | 45 | 11 เดือน | 27.21±11.20$^{a}$ | 271.04±70.87 | Carvalho et al., 2014 |
| | 50 | | | 20.18±6.26$^{b}$ | 278.64±84.14 | |
| | 100 | | | 20.01±6.96$^{b}$ | 258.83±76.67$^{ns}$ | |
| *Centropomus Poeyi* | 0 | 60 | 300 | 33.12±1.43$^{b}$ | 175.03±1.9$^{b}$ | Vidal-Lopez et al., 2019 |
| | 40 | | | 43.98±2.25$^{ab}$ | 179.97±1.56$^{b}$ | |
| | 50 | | | 46.66±1.75$^{a}$ | 178.10±0.97$^{b}$ | |
| | 60 | | | 47.47±1.71$^{a}$ | 193.73±1.02$^{a}$ | |
| *Leporinus macrocephalus* | 0 | 60 | | 2.12±1.36 | 21.53±1.08 | Pereira et al., 2020 |
| | 50 | | | 2.12±1.36 | 21.26±0.38 | |
| | 100 | | | 2.12±1.36 | 21.33±0.74 | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 2.2.2** แสดงถึงสมรรถนะเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-α-methyl testosterone (MT) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | ระดับฮอร์โมน (มก./กก.) | ระยะเวลาให้ฮอร์โมน (วัน) | น้ำหนักเริ่มต้น (มก.) | น้ำหนักสุดท้าย (มก.) | Weight gain (กรัม) | SGR (%) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Oreochromis niloticus* | 0 | 28 | 0.020±0.00 | 0.118±0.011$^{b}$ | 0.098±0.011$^{b}$ | 6.317±0.323$^{c}$ | Ferdous and Ali, 2011 |
| | 40 | | 0.020±0.00 | 0.134±0.013$^{b}$ | 0.114±0.013$^{b}$ | 6.785±0.340$^{bc}$ | |
| | 50 | | 0.020±0.00 | 0.155±0.016$^{b}$ | 0.135±0.016$^{b}$ | 7.292±0.377$^{bc}$ | |
| | 60 | | 0.020±0.00 | 0.183±0.24$^{b}$ | 0.163±0.024$^{b}$ | 7.891±0.471$^{b}$ | |
| | 70 | | 0.020±0.00 | 0.290±0.057$^{a}$ | 0.270±0.057$^{a}$ | 9.516±0.701$^{b}$ | |
| *Oreochromis andersonii* | 0 | 119 | - | 38.211±1.444$^{a}$ | 29.506±1.424$^{a}$ | 1.423±0.464$^{a}$ | Kefi et al., 2012 |
| | 40 | | - | 38.598±1.180$^{a}$ | 30.604±1.058$^{a}$ | 1.543±0.462$^{a}$ | |
| | 60 | | - | 44.601±1.414$^{b}$ | 36.428±1.134$^{a}$ | 1.550±0.356$^{a}$ | |
| | 90 | | - | 39.918±1.364$^{a}$ | 30.933±1.436$^{a}$ | 1.415±0.362$^{a}$ | |
| *Oreochromis niloticus* | 0 | 30 | 0.0138±0.00 | 1.24±0.011 | 1.22 | 16.03 | Rima et al., 2017 |
| | 40 | | 0.0138±0.00 | 2.04±0.045 | 2.03 | 17.84 | |
| | 50 | | 0.0138±0.00 | 2.81±0.005 | 2.79 | 18.98 | |
| | 60 | | 0.0138±0.00 | 2.41±0.045 | 2.39 | 18.43 | |
| | 70 | | 0.0138±0.00 | 2.04±0.011 | 2.02 | 17.84 | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 2.2.3** แสดงถึงอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ17-β-estradiol (E2) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

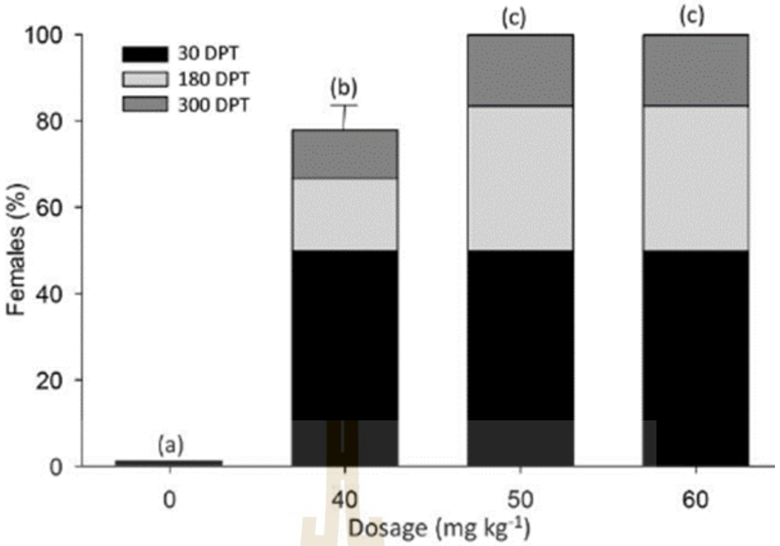
| ปลา | Treatment (มก./กก.) | ระยะเวลาแปลงเพศ (วัน) | อัตรารอด (%) | % ผู้ | % เมีย | % Intersex | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Centropomus undecimalis* | 0 | 45 | 84.00±8.00 | 100.00 | - | | Carvalho et al., 2014 |
| | 50 | | 78.67±6.11 | 26.32 | 68.42 | 5.26 | |
| | 100 | | 89.33±6.11$^{ns}$ | 10.00 | 90.00 | | |
| *Clarias gariepinus* | 0 | 40 | - | 55.00 | 45.00 | | Hossain and Rhaman, 2002 |
| | 50 | | - | 19.95 | 80.85 | | |
| | 100 | | - | 12.24 | 87.76 | | |
| | 200 | | - | 33.33 | 66.67 | | |
| | 400 | | - | 42.86 | 57.14 | | |
| *Leporinus macrocephalus* | 0 | 60 | | | 57.14±4.70$^{b}$ | | Pereira et al., 2020 |
| | 50 | | | | 62.50±2.60$^{b}$ | | |
| | 100 | | | | 77.78±1.80$^{a}$ | | |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($p$<0.05) ตามลำดับ

**ตารางที่ 2.2.4** แสดงถึงอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ 17-α-methyl testosterone (MT) และไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | Treatment | ระยะเวลาให้ | อัตรารอด (%) | | % เพศ | | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (มก./กก.) | ฮอร์โมน (วัน) | | %ผู้ | %เมีย | %intersex | |
| *Oreochromis niloticus* | 0 | 28 | - | 48.57$^{d}$ | - | - | Ferdous and Ali, 2011 |
| (MT) | 40 | | - | 88.57$^{c}$ | - | - | |
| | 50 | | - | 91.43$^{b}$ | - | - | |
| | 60 | | - | 94.28$^{a}$ | - | - | |
| | 70 | | - | 91.43$^{b}$ | - | - | |
| *Oreochromis* | 0 | 119 | - | 54.30$^{a}$ | 44.70$^{c}$ | 1.00$^{a}$ | Kefi et al., 2012 |
| *andersonii* | 40 | | - | 93.40$^{c}$ | 2.20$^{a}$ | 4.40$^{ab}$ | |
| (MT) | 60 | | - | 94.40$^{c}$ | 3.30$^{a}$ | 2.20$^{a}$ | |
| | 90 | | - | 79.30$^{b}$ | 14.60$^{b}$ | 6.10$^{b}$ | |
| *Oreochromis niloticus* | 0 | 28 | 95.00±0.808 | 42.50 | | | |
| (MT) | 40 | | 94.13±1.280 | 88.50 | | | Rima et al., 2017 |
| | 50 | | 96.40±1.700 | 95.00 | | | |
| | 60 | | 94.46±0.503 | 95.70 | | | |
| | 70 | | 96.73±1.030 | 92.50 | | | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 2.4** แสดงตัวเมียถึงเปอร์เซ็นต์ตัวเมียของปลา Mexican snook (*Centropomus poeyi*) ที่ได้รับสุ่มโดยใช้แถบสีที่แตกต่างกันเพื่อระบุถึงเปอร์เซ็นต์ตัวเมียในแต่ละครั้งที่สุ่มตัวอย่าง โดยตัวอักษร (a b c และ d) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Vidal-Lopez et al., 2019)

## 2.6 คุณภาพน้ำของการแปลงเพศปลา

การวัดคุณภาพน้ำเป็นการตรวจสอบผลกระทบของฮอร์โมนโดยการวัดค่าคุณภาพน้ำและเปรียบเทียบกับบ่อที่เลี้ยงปลาที่ไม่ได้รับฮอร์โมน โดยส่วนใหญ่ในการทดลองแปลงเพศปลามักจะมีการตรวจวัดคุณภาพอย่างสม่ำเสมอ ดังเช่นการแปลงเพศปลาชนิดต่างๆดังนี้ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นเพศผู้โดยใช้ฮอร์โมน MT ระดับความเข้มข้น 40 มล./กก. ในระยะเวลาที่ 0 15 18 และ 21 วัน ปลา (*Oreochromis andersonii*) ระดับความเข้มข้น 0 40 60 และ 90 มล./กก. มีการวัดคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาแปลงเพศ 119 วัน และการสำรวจคุณภาพน้ำปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ใช้ฮอร์โมน MT แปลงเพศตามฟาร์มต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 28 วัน ไม่ปรากฏว่าพบผลความแตกต่างและการเปลี่ยนแปลงของค่าการตรวจคุณภาพน้ำจากการใช้ฮอร์โมนแปลงเพศ แสดงว่าการแปลงเพศปลาไม่ส่งผลผลกระทบใด ๆ กับคุณภาพน้ำ (Kefi et al., 2012; Hasheesh, 2011; ธงชัย, 2558) ดังแสดงในตารางที่ 2.3

**ตารางที่ 2.3** แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการแปลงเพศระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | Treatment (มก./กก.) | ระยะเวลาให้ฮอร์โมน (วัน) | อุณหภูมิ (°C) | pH | ค่า DO (มก./ล.) | | $(NH_3)$ (มก./ล.) | ค่าอัลคาไลนิตี้ (มก./ล.) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | เช้า | เย็น | | | |
| *Oreochromis andersonii* (MT) | 0 | 119 | 23.656±0.205 | 6.95±0.08 | - | - | - | - | Kefi et al., 2012 |
| | 40 | | 23.638±0.212 | 7.03±0.06 | - | - | - | - | |
| | 60 | | 23.645±0.208 | 7.08±0.07 | - | - | - | - | |
| | 90 | | 23.645±0.208 | 6.98±0.08 | - | - | - | - | |
| *Oreochromis niloticus* (MT) | 0 | 28 | 22.00±0.68 | 6.85±0.26 | 6.86±0.32 | 1.27±0.05 | 189.33±4.10 | 120.00±3.24 | Hasheesh, 2011 |
| | 60 | | 23.30±1.23 | 7.30±0.14 | 6.60±0.24 | 1.90±0.14 | 216.80±4.53 | 147.20±4.48 | |
| *Oreochromis niloticus* (MT) | 0 | 0 | 20.0-24.0 | 7.5-8.4 | 7.0-8.0 | - | 0.0-1.3 | 56-80 | ธงชัย, 2558 |
| | 40 | 15 | 20.0-24.0 | 7.4-8.4 | 7.0-8.6 | - | 0.0-1.0 | 56-80 | |
| | 40 | 18 | 20.0-24.0 | 7.4-8.4 | 7.0-8.4 | - | 0.0-1.0 | 56-80 | |
| | 40 | 21 | 20.0-24.0 | 7.4-8.2 | 7.0-8.6 | - | 0.0-155 | 56-80 | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## 2.7 การศึกษาด้านการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในเลือด (Blood chemical)

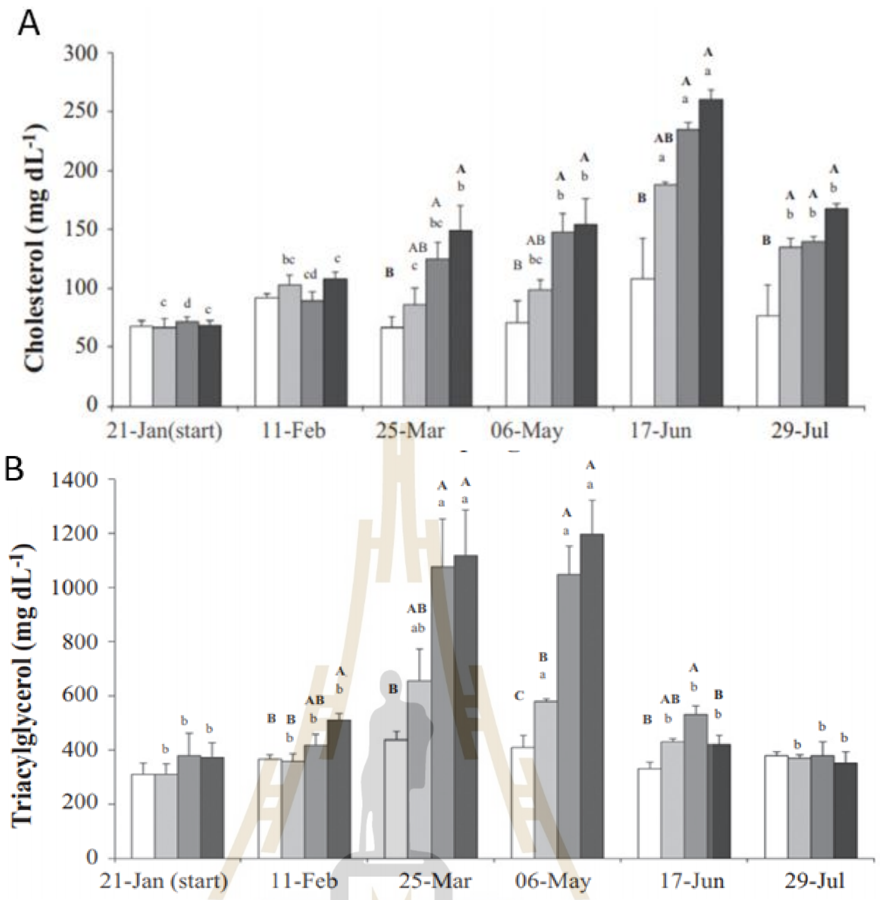
ค่าองค์ประกอบเคมีในเลือดสามารถบ่งบอกได้ถึงการสะสมไขมัน น้ำตาล และโปรตีน การวัดค่าองค์ประกอบเคมีในเลือดจึงมีความสำคัญในปลาแปลงเพศ เพื่อศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อสุขภาพในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน17-α-methyl testosterone (MT) โดยเก็บตัวอย่างมาจากฟาร์มต่าง ๆ และปลา (*Oreochromis andersonii*) แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT เช่นกันที่ความเข้มข้น 0 40 60 และ 90 มล./กก. พบว่าค่า Glucose ในปลานิล (*O. niloticus*) มีแนวโน้มที่ค่าลดในปลาที่ได้รับฮอร์โมน MT และมีค่า Cholesterol มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ปลา (*O. andersonii*) กลับไม่มีความแตกต่างกันระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนและไม่ได้รับฮอร์โมน อย่างไรก็ตามปลากลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนมีแนวโน้มที่ค่า Triglycerides ลดลง นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มที่ค่า Total protein แนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มปลาที่ได้รับฮอร์โมน MT (Sayed and Moneeb, 2015; Kefi et al., 2013) ดังแสดงในตารางที่ 2.4 ในการศึกษาผลของ 17-β-estradiol (E2) ในปลาสเตอร์เจียนเพศเมีย (*Huso huso*) ที่ได้รับการปลูกถ่ายทางช่องท้องทุก ๆ 1.5 เดือนในช่วง 6 เดือนตั้งแต่เดือนมกราคมถึงกรกฎาคม ในระดับต่าง ๆดังนี้ 0 (control) 3 6 และ 12 mg (E2)/kg ของน้ำหนักตัว ที่ส่งผลต่อพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงตลอดระยะเวลา 3 ปี โดยสุ่มตัวอย่างเลือดในช่วงเริ่มต้นของการทดลอง และ 3 สัปดาห์หลังที่การปลูกถ่ายเพื่อหาปริมาณระดับฮอร์โมน E2 ที่เกี่ยวข้องกับการสะสมโปรตีนวิเทลโลเจนนิน (Vitellogenin) พบว่าการฝังแคปซูล E2 ทำให้ค่าคอเลสเตอรอลในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนนั้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะที่ค่าไตรกลีเซอไรด์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) (Akhavan et al., 2014) ในรายงานการเลี้ยงปลา (*Lateolabrax japonicus*) ที่ระยะ Fingerling และ Juveniles ที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่มีความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 200 และ 2,000 ng/L ในช่วงระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน ที่พบว่าฮอร์โมน E2 ส่งผลให้ค่าโปรตีนในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ในกลุ่มปลาที่ได้รับฮอร์โมน E2 ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลาซึ่งมีค่าที่มีแนวโน้มใกล้เคียงกันทั้งในระยะ Fingerling และ Juveniles (Thilagam et al., 2009) ผลการใช้ฮอร์โมน E2 ในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) juveniles อายุ 5 เดือน ได้รับอาหาร 0 25 และ 50 มก. E2 กก. เป็นเวลา 210 วัน ผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน E2 ทำให้ค่า Glucose Cholesterol Triglyceride และProtein ในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) จากกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Khara et al., 2013) ดังภาพที่ 2.5 และ 2.6

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

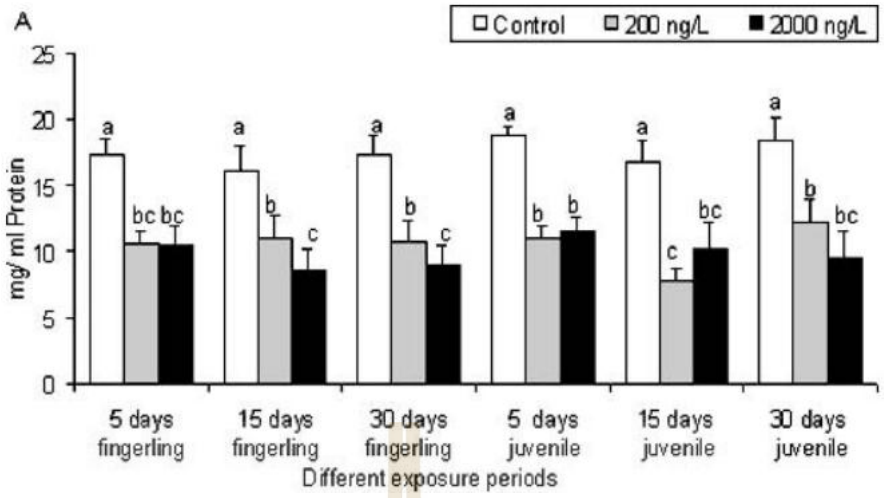
**ตารางที่ 2.4** แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าองค์ประกอบเคมีในเลือดระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | Treatment (มก./กก.) | ระยะเวลาให้ฮอร์โมน (วัน) | Glucose (mg/dl) | Cholesterol (mg/dl) | Total protein (g/dl) | Triglycerides (mmol/L$^{-1}$) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Oreochromis niloticus* (MT) | Control | - | $105.78\pm4.04^{a}$ | $183.11\pm7.32^{b}$ | $5.12\pm0.95^{b}$ | - | Sayed and Moneeb, 2015 |
| | Treated | - | $98.27\pm4.08^{b}$ | $209.89\pm9.04^{a}$ | $6.07\pm0.32^{a}$ | - | |
| | Treated | - | $102.29\pm2.23^{a}$ | $203.06\pm2.60^{ab}$ | $6.14\pm0.14^{a}$ | - | |
| | Treated | - | $105.76\pm2.69^{a}$ | $201.57\pm4.14^{ab}$ | $5.50\pm0.13^{b}$ | - | |
| *Oreochromis andersonii* (MT) | 0 | 30 | - | $3.225\pm0.359$ | $26.050\pm1.399$ | $0.993\pm0.182$ | Kefi et al., 2013 |
| | 40 | | - | $3.283\pm0.321$ | $26.350\pm1.251$ | $0.790\pm0.163$ | |
| | 60 | | - | $3.383\pm0.454$ | $30.317\pm1.770$ | $0.778\pm0.230$ | |
| | 90 | | - | $3.100\pm0.321$ | $27.733\pm1.251$ | $0.807\pm0.163$ | |
| *Acipenser stellatus* (E2) | Control | 210 | $75.6\pm3.7^{b}$ | $59.2\pm3.1^{b}$ | $2.21\pm0.04^{c}$ | $526.7\pm28.2^{c}$ | Khara et al., 2013 |
| | 25 | | $97.3\pm7.3^{a}$ | $255.9\pm12.4^{a}$ | $12.64\pm1.50^{b}$ | $1427.0\pm111.0^{b}$ | |
| | 50 | | $88.7\pm8.5^{b}$ | $298.1\pm23.4^{a}$ | $21.11\pm2.60^{a}$ | $2070.0\pm217.0^{a}$ | |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($p<0.05$) ตามลำดับ




**ภาพที่ 2.5** แสดงถึงค่า Cholesterol และ Triglyceride ในปลาสเตอร์เจียน A) Cholesterol ในเลือดของปลาสเตอร์เจียนที่ได้รับการฝังฮอร์โมนทางช่องท้องทุก 1.5 เดือนในระยะเวลา 6 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงกรกฎาคมโดยฝังแคปซูลที่มีฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ที่ระดับต่าง ๆ ดังนี้ 0 (control) 3 6 และ 12 mg (E2)/kg ของน้ำหนักตัวในปลาสเตอร์เจียน B) Triglyceride ในเลือดของปลาสเตอร์เจียนที่ได้รับการฝังฮอร์โมนทางช่องท้องทุก 1.5 เดือนในระยะเวลา 6 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงกรกฎาคมโดยมีแคปซูลที่มีฮอร์โมน E2 ที่ระดับต่าง ๆ ดังนี้ 0 (control) 3 6 และ 12 mg (E2)/kg ของน้ำหนักตัวในปลาสเตอร์เจียน (Akhavan et al., 2014)




**ภาพที่ 2.6** แสดงระดับโปรตีนซีรั่มของปลาระยะ Fingerling และระยะ Juveniles (*Lateolabrax japonicus*) ที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่มีความเข้มข้นสองระดับ 200 และ 2,000 ng/L โดยเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มควบคุม ในช่วงระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทางตามด้วยการทดสอบหลังการทดสอบของ Tukey และตัวอักษรที่ต่างกัน (a b และc) ระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Thilagam et al., 2009)

## 2.8 การศึกษาด้านค่าโลหิตวิทยา (Hematology)

ค่าโลหิตวิทยาเป็นค่าที่บ่งบอกถึงจำนวนของเม็ดเลือดแดง (Redblood cell) ความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง (Hematocrit) และค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) มีผลต่อการแลกเปลี่ยนออกซิเจน จึงสามารถบ่งบอกได้ถึงสุขภาพที่เปลี่ยนแปลงไปในปลาแปลงเพศได้ ในปลาหลายชนิดที่ปลาแปลงเพศได้สำเร็จแล้วโดยใช้ฮอร์โมน 17-α-methyltestosterone ได้แก่ ปลานิล *Oreochromis niloticus* และปลา (*Oreochromis andersonii*) ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0 40 60 และ 90 มก./กก. ระยะเวลา 30 วัน พบว่าจำนวนของเม็ดเลือดแดงในปลาทั้งสองชนิดที่ได้รับฮอร์โมน MT แล้วมีจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคม ในกลุ่มปลา *O. andersonii* ที่ได้รับฮอร์โมน MT ยังมีแนวโน้มที่ปริมาณเม็ดเลือดแดง และความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดงลดลงด้วยเช่นกัน ดังนั้นฮอร์โมน MT จึงมีผลต่อสุขภาพปลา *O. andersonii* อย่างชัดเจน ในขณะที่การให้ฮอร์โมน MT มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง จำนวนเม็ดเลือดแดง ความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง และค่าฮีโมโกลบินในปลานิล *O. niloticus* (Sayed and Moneeb, 2015; Kefi et al., 2013) ดังแสดงในตารางที่ 2.5 ผลการใช้ฮอร์โมน E2 ในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) ระยะ Juveniles อายุ 5 เดือน ได้รับอาหาร 0 25 และ 50 มก./กก. เป็นเวลา 210 วัน พบว่า

การเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน E2 ทำให้จำนวนของเม็ดเลือดแดงของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเพิ่มสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะที่ค่าความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง และค่าฮีโมโกลบินกลับลดลงเมื่อได้รับระดับฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน 50 มก./กก. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Khara et al., 2013) ดังแสดงในตารางที่ 2.5

## 2.9 การศึกษาด้านค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Hematology)

ระบบภูมิคุ้มกันเป็นกลไกที่มีผลเป็นอย่างมาก และมีความสำคัญต่อการป้องกันการติดเชื้อโรค ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยปกติแล้วค่าที่ทำการทดสอบมีดังนี้ ค่า Alternative complement ค่า Immunoglobulin และค่าไลโซไซม์ (Lysozyme) ของปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของปลาแปลงเพศเปลี่ยนแปลงไป จากรายงานของ Amaninejad et al. 2016 ที่ทดลองในปลา Koi carp (*Cyprinus carpio*) โดยศึกษาผลของ Nonylphenol (NP) (เป็นสารที่ขัดขวางการทำงานของต่อมไร้ท่อ) และผลของฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ทั้งในเพศผู้และเพศเมียต่อพารามิเตอร์ภูมิคุ้มกันได้แก่ IgM และการทำงานของไลโซไซม์ ปลาทดลองที่ได้รับการฉีดสาร 4-nonylphenol (4-NP) ตามระดับดังนี้ 10, 50 และ 100 μg/ $g^{-1}$ ของน้ำหนักตัว และฉีดฮอร์โมน E2 ในปริมาณ 2 μg/$g^{-1}$ ของน้ำหนักตัว หลังเวลาผ่านไป 21 วัน จึงเก็บตัวอย่างเลือดนำมาวัดค่าภูมิคุ้มกันของปลาจำนวน 180 ตัว พบว่า การให้สาร 4-NP ที่ระดับ 50 μg/$g^{-1}$ ส่งผลให้ระดับ IgM และกระตุ้นการทำงานของไลโซไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 2 μg/$g^{-1}$ ส่งผลให้มีค่า IgM และกระตุ้นการทำงานของไลโซไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) หลังฉีดฮอร์โมน E2 แล้ว 21 วัน ดังนั้นการที่ปลาได้รับ 4-NP และ E2 ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปของระบบภูมิคุ้มกันในปลาคาร์ฟ และจากรายงานของ Picchitti 2001 ที่ทดลองในปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) เพื่อสังเกตุกระบวนการพัฒนาในขณะที่แปลงเพศเป็นเพศเมีย แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์ Immunoglobulin อาจเป็นผลมาจากฮอร์โมนเพศที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ การวิเคราะห์ในซีรั่มได้แสดงให้เห็นว่า ในช่วงฤดูผสมพันธุ์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.01) จากฤดูที่ไม่มีการสืบพันธุ์ในแต่ละกลุ่ม ในช่วงฤดูสืบพันธุ์ปลาเพศเมียแปลงเพศที่สามารถปล่อยไข่ได้แล้ว และค่า Ig ของเพศเมียในธรรมชาติสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) แสดงว่าฮอร์โมน E2 มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า Ig นอกจากนี้ในการศึกษาพบว่าลูกปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) ในระยะ fingerlings และระยะ juveniles โดยการให้ฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 2,000 นาโนกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในค่า Immunoglobulin เพิ่มสูงขึ้น

**ตารางที่ 2.5** แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

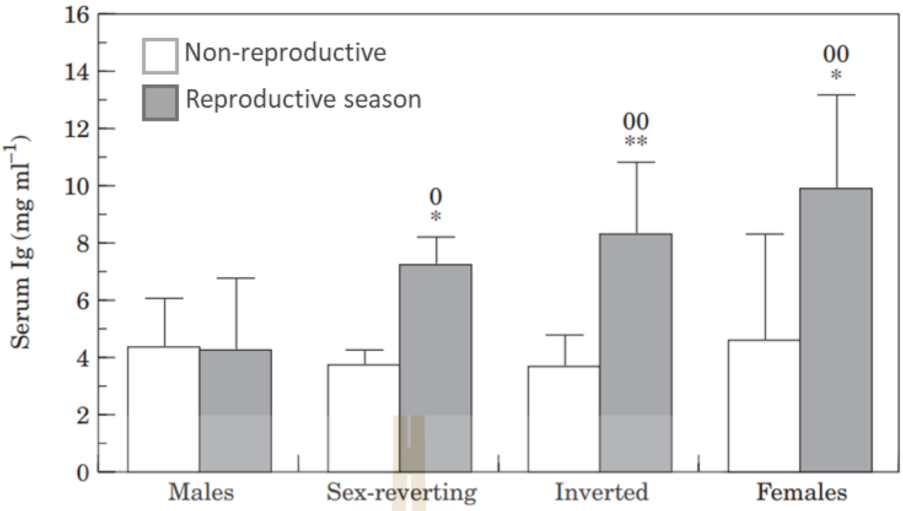
| ปลา | Treatment (มล./กก.) | ระยะเวลาให้ฮอร์โมน (วัน) | Red blood cell ($10^{6}$ µl$^{-1}$) | Hemoglobin (g/dL) | Hematocrit (%) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Oreochromis* | Control | - | $1.76 \pm 0.09^{a}$ | $8.24 \pm 0.15^{a}$ | $25.36 \pm 0.99^{a}$ | Sayed and |
| *niloticus* | Treated | - | $1.47 \pm 0.03^{c}$ | $7.60 \pm 0.25^{b}$ | $23.13 \pm 0.95^{b}$ | Moneeb, 2015 |
| (MT) | Treated | - | $1.65 \pm 0.03^{ab}$ | $8.42 \pm 0.17^{a}$ | $25.13 \pm 0.58^{a}$ | |
| | Treated | - | $1.51 \pm 0.03^{bc}$ | $8.13 \pm 0.14^{a}$ | $24.91 \pm 0.23^{a}$ | |
| *Oreochromis* | 0 | | $1.307 \pm 0.344^{b}$ | $7.067 \pm 0.696^{b}$ | $15.633 \pm 5.005^{b}$ | Kefi et al., 2013 |
| *andersonii* | 40 | 30 | $0.747 \pm 0.124^{a}$ | $4.333 \pm 0.633^{a}$ | $7.067 \pm 1.230^{a}$ | |
| (MT) | 60 | | $0.627 \pm 0.145^{a}$ | $3.567 \pm 0.524^{a}$ | $8.033 \pm 2.805^{a}$ | |
| | 90 | | $0.763 \pm 0.187^{a}$ | $5.033 \pm 1.071^{ab}$ | $7.867 \pm 0.606^{a}$ | |
| *Acipenser* | Control | 210 | $1.36 \pm 0.86^{b}$ | $26.60 \pm 1.70^{a}$ | $6.55 \pm 0.46^{a}$ | Khara et al., |
| *stellatus* | 25 | | $4.30 \pm 0.66^{a}$ | $21.10 \pm 1.00^{a}$ | $5.54 \pm 0.28^{a}$ | 2013 |
| (E2) | 50 | | $3.40 \pm 0.78^{a}$ | $15.40 \pm 1.20^{b}$ | $3.80 \pm 0.30^{b}$ | |

**หมายเหตุ** ตัวอักษร a b และc ที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($p<0.05$) ตามลำดับ

**ตารางที่ 2.6** แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าภูมิคุ้มกันวิทยาระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

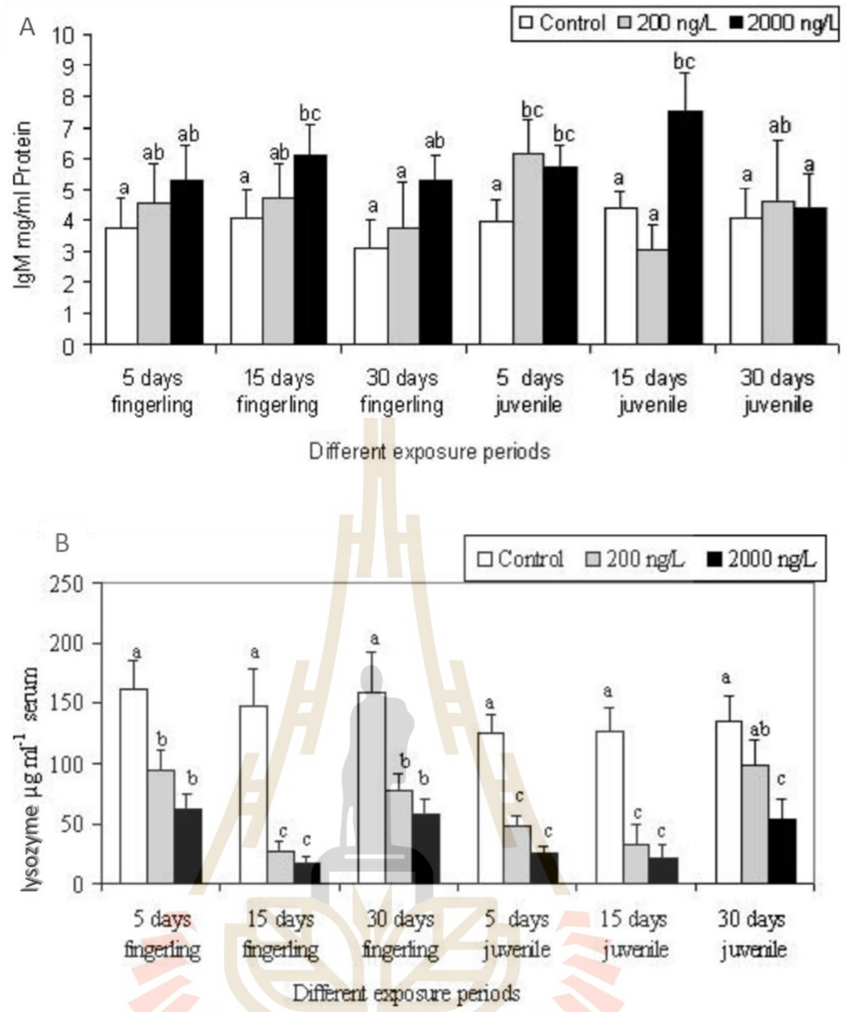
| ปลา | Treatment (มล./กก.) | ระยะเวลาแปลงเพศ (วัน) | Female Total Ig (ng/m$^{-1}$) | Female Lysozyme (ng/mL$^{-1}$) | Male Total Ig (ng/m$^{-1}$) | Male Lysozyme (ng/m$^{-1}$) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Cyprinus carpio* | Control 0 | 21 | 32.00±2.02$^{c}$ | 24.66±1.52$^{d}$ | 30.00±2.08$^{d}$ | 21.00±2.01$^{d}$ | Amaninejad et al., 2016 |
| | Control 1 | | 41.33±3.51$^{b}$ | 25.66±2.08$^{d}$ | 41.66±5.03$^{c}$ | 30.66±1.52$^{c}$ | |
| | Control 2 | | 41.66±4.16$^{b}$ | 22.00±2.02$^{d}$ | 42.00±3.60$^{c}$ | 32.00±2.02$^{c}$ | |
| | 2 μg E2 | | 45.00±4.01$^{b}$ | 33.00±5.01$^{c}$ | 45.00±2.30$^{b}$ | 34.00±2.05$^{c}$ | |
| | 10 μg 4NP | | 53.00±5.01$^{a}$ | 51.00±2.02$^{b}$ | 55.33±3.05$^{a}$ | 53.00±4.58$^{a}$ | |
| | 50 μg 4NP | | 55.66±2.51$^{a}$ | 64.33±2.08$^{a}$ | 59.00±2.01$^{a}$ | 62.66±2.51$^{a}$ | |
| | 100 μg 4NP | | 37.66±1.25$^{c}$ | 29.66±6.11$^{c}$ | 42.66±5.03$^{b}$ | 39.33±1.52$^{b}$ | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

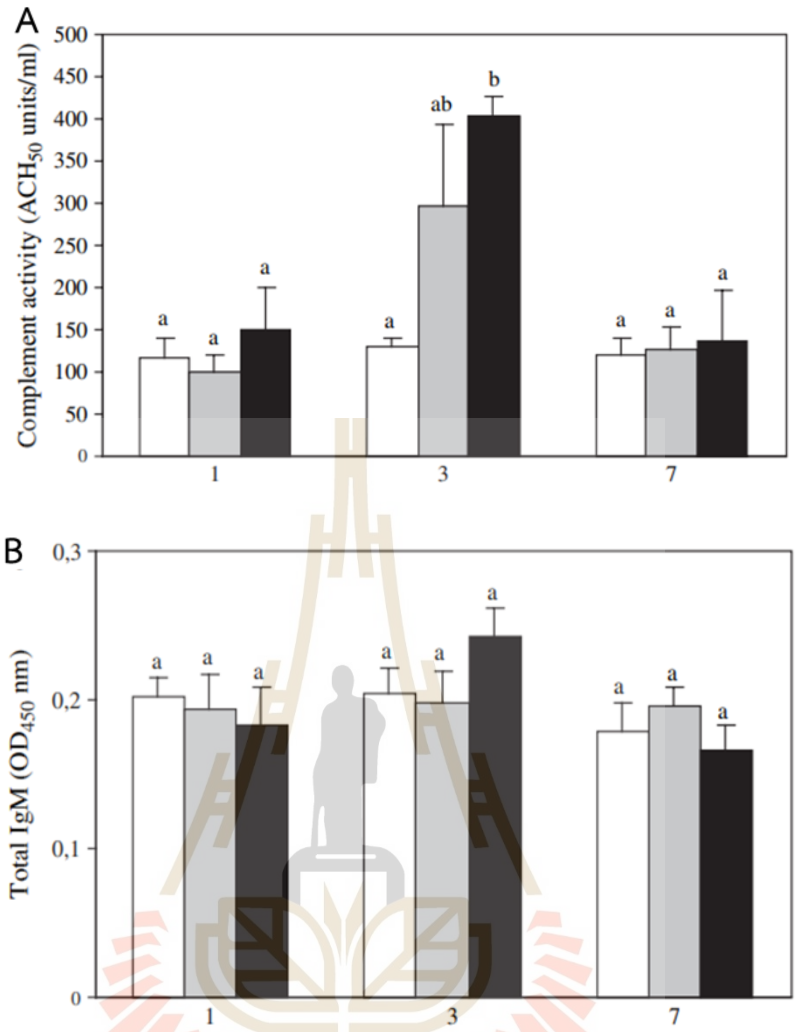



**ภาพที่ 2.7** แสดงผลการวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลินในซีรัมของปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) ด้วยเครื่อง ELISA โดยมี 2 ช่วง คือ ช่วงที่ไม่มีการสืบพันธุ์ (Non-reproductive) และฤดูสืบพันธุ์ (Reproductive season) มีการวิเคราะห์กลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม ได้แก่ เพศผู้ (n = 5) ปลาแปลงเพศ (ในฤดูสืบพันธุ์) (n = 4) ปลาที่ปล่อยไข่แล้ว (ปล่อยไข่ในฤดูสืบพันธุ์) (n = 5) และเพศเมีย (n = 5) (ปลาในช่วงฤดูผสมพันธุ์มีความแตกต่างจากฤดูที่ไม่มีการสืบพันธุ์ในแต่ละกลุ่ม ในช่วงฤดูสืบพันธุ์ปลาเพศเมียแตกต่างจากตัวผู้ (Picchietti et al., 2001)

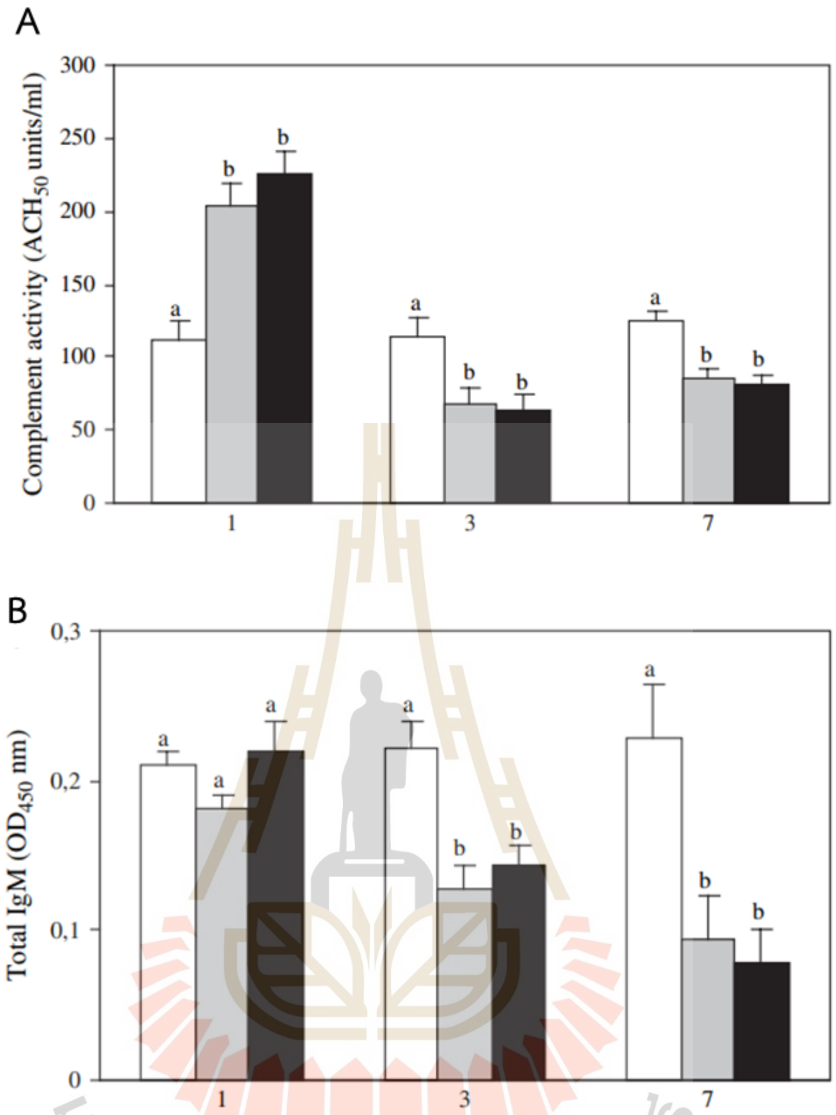
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 2.8** ผลของฮอร์โมน E2 ต่อค่า Total Immunoglobulin และ lysozyme ในเลือดของปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) (A) Total Immunoglobulin ในเลือดของปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) โดยใช้ตัวอย่างจากการเตรียมการที่แตกต่างกัน ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทางตามด้วยการทดสอบหลังการทำงานของ Tukey ตัวอักษรเดียวกัน (a b c) บ่งชี้ว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการสัมผัสที่ระยะเวลาการสัมผัสที่แตกต่างกันในขณะที่ตัวอักษรต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (B) lysozyme activity ในเลือดของปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) โดยใช้ตัวอย่างจากการเตรียมการที่แตกต่างกัน ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทางตามด้วยการทดสอบ Tukey ตัวอักษรเดียวกัน (a b c) บ่งชี้ว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการสัมผัสที่ระยะเวลาการสัมผัสที่แตกต่างกันในขณะที่ตัวอักษรต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Thilagam et al., 2009)




**ภาพที่ 2.9** แสดงผลของฮอร์โมน Testosterone ต่อค่า ACH50 และ IgM ของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) (A) ACH50 ของปลา Gilthead seabream (กลุ่มควบคุมไม่มีสี) กลุ่ม 2 ug/g$^{-1}$ testosterone (แท่งสีเทา) และกลุ่ม 5 ug/g$^{-1}$ testosterone (แท่งดำ) ตัวอักษรที่แตกต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (B) IgM ของปลา Gilthead seabream (กลุ่มควบคุมไม่มีมีสี) กลุ่ม 2 ug/g$^{-1}$ testosterone (แท่งสีเทา) และกลุ่ม 5 ug/g$^{-1}$ testosterone (แท่งดำ) ตัวอักษรที่แตกต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Cuesta et al., 2007)




**ภาพที่ 2.10** แสดงผลของฮอร์โมน E2 ต่อค่า ACH50 และ IgM ของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) (A) ACH50 ของปลา Gilthead seabream ปลาได้รับ E2 (กลุ่มควบคุมไม่มีมีสี) กลุ่ม 2 ug/g$^{-1}$ E2 (แท่งสีเทา) และกลุ่ม 5 ug/g$^{-1}$ E2 (แท่งดำ) ตัวอักษรที่แตกต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (B) IgM ของปลา Gilthead seabream ปลาได้รับ E2 (กลุ่มควบคุมไม่มีมีสี) กลุ่ม 2 ug/g$^{-1}$ E2 (แท่งสีเทา) และกลุ่ม 5 ug/g$^{-1}$ E2 (แท่งดำ) ตัวอักษรที่แตกต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Cuesta et al., 2007)

และกลไกการป้องกันที่ไม่เฉพาะเจาะจง lysozyme activity ในเลือดซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนของระบบภูมิคุ้มกันในปลา ซึ่งตรงกันข้ามกับรายงานของ Cuesta et al., 2007 ที่ศึกษาผลของฮอร์โมน Testosterone (T) และ E2 ต่อพารามิเตอร์ภูมิคุ้มกันของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) ระหว่างผลของฮอร์โมนเพศต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยฉีดฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนให้ปลาในระดับที่ต่างกัน 0 2 หรือ 5 มก. ของน้ำหนักตัวแล้วทำการสุ่มตัวอย่างหลังจากฉีดฮอร์โมนแล้วในวันที่ 1 3 และ 7 วันต่อมา IgM และ ACH50 ล้วนมีความคงที่ไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0·05) หลังจากฉีดฮอร์โมน E2 แล้วที่ระดับ 0 1 และ 2 มก. ของน้ำหนักตัว ทำการสุ่มตัวอย่างหลังฉีดฮอร์โมนแล้วที่ 1 3 และ 7 วันต่อมา IgM และ ACH50 พบว่า IgM และ ACH50 เปลี่ยนแปลงไปโดยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0·05) ดังนั้น ฮอร์โมน Testosterone ไม่มีต่อการเปลี่ยนแปลงต่อระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งตรงกันข้ามกับการเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันในปลาที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่มีผลต่อการลดลงของค่า IgM และ ACH50

## 2.10 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)

ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสามารถบ่งบอกได้ถึง %โปรตีนบอกถึงสัดส่วนโปรตีนในตัวปลา %ไขมันสัดส่วนไขมันในตัวปลา %สัดส่วนความชื้นในตัวปลา และ % เถ้าสัดส่วนกระดูกในตัวปลา ระหว่าง 1. ปลานิลลูกผสม (ปลาหมอ (*Oreochromis aureus*) กับปลานิล (*O. niloticus*) เพศเมีย) 2. ปลานิลปกติ 3. กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน MT 3 ระดับความเข้มข้นดังนี้ 1. กลุ่มลูกผสม (Hybrid) 2. ปลานิลกลุ่มควบคุม 3. กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน 60 80 และ 100 มล./กก. เป็นระยะเวลา 28 วัน จากนั้นนำมาเลี้ยงต่ออีก 210 วัน พบว่าในปลากลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนมีค่า %ความชื้นในร่างกายสูงสุดไม่มีแตกต่างกัน ในขณะที่ค่าโปรตีนหยาบ (CP) ค่าการวิเคราะห์ไขมัน (EE) และค่า % เถ้า มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในปลาแปลงเพศ แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมน MT มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Hakim et al., 2013) ดังแสดงในตารางที่ 6 จากรายงานของ Vázquez. et al ที่เลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (จีโนไทป์ XY) ด้วยอาหารฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเพศให้ได้ตัวเมียด้วยความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 60 และ 120 มก.$^{-1}$ เป็นระยะเวลา 30 วัน ส่งผลต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาที่ได้รับ E2 ทั้ง 2 ระดับ โดยที่ไขมันในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) และมีเปอร์เซ็นโปรตีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในปลาเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 3a) ปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 120 มก./กก.$^{-1}$ แสดงถึงค่าไขมันในกล้ามเนื้อต่ำที่สุด ในขณะที่เปอร์เซ็นไขมันไม่มีความ

แตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 60 มก./กก.$^{-1}$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางกลับกันเปอร์เซ็นโปรตีนในกล้ามเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในเพศเมียแปลงเพศ (XY) ในทั้งสองกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E22 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 3b) นอกจากนี้ในปลาที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 120 มก./กก.$^{-1}$ ได้มีเปอร์เซ็นโปรตีนที่ลดลงใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับปลาในกลุ่มควบคุม ดังนั้นเปอร์เซ็นต์โปรตีนในกล้ามเนื้อจะเพิ่มสูงสุดในปลาแปลงเพศที่ได้รับการฮอร์โมนที่ระดับ 60 มก./กก.$^{-1}$ โดยที่เปอร์เซ็นต์โปรตีนในกลุ่มควบคุมตัวเมียมีค่าสูงกว่าตัวผู้อย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p$<0.05) ในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E2 แปลงเพศเป็นเพศเมียที่ 60 มก./กก.$^{-1}$ ซึ่งสูงกว่าเพศผู้และเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) ในขณะที่เพศผู้มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าเพศเมียแปลงเพศที่ 120 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) (รูปที่ 3b) ผลการใช้ฮอร์โมน E2 ในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) ระยะ juveniles อายุ 5 เดือน ได้รับอาหาร 0 25 และ50 มก. E2 กก. เป็นเวลา 210 วัน พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน E2 ส่งผลต่อ %โปรตีน %ไขมัน %ความชื้น และ %เถ้า ให้มีแนวโน้มที่ลดลง แต่ไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p$>0.05) นอกจากนี้ในการทดลองของ Deani et al. 1986 ในปลา European eel (*Anguilla anguilla*) ในระยะ Juveniles ที่ได้รับการฮอร์โมน E2 และ MT ที่ระดับ 1 5 10 และ 15 มก./กก. เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน MT ไม่ส่งผลต่อ % โปรตีน % ความชื้น และ % เถ้า แต่ % ไขมันกลับมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับฮอร์โมน MT เพิ่มสูงขึ้น ในทางตรงข้ามฮอร์โมน E2 ไม่ส่งผลต่อ % โปรตีน % ความชื้น และ % เถ้า แต่ % ไขมันกลับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับฮอร์โมน E2 เพิ่มสูงขึ้น

## 2.11 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)

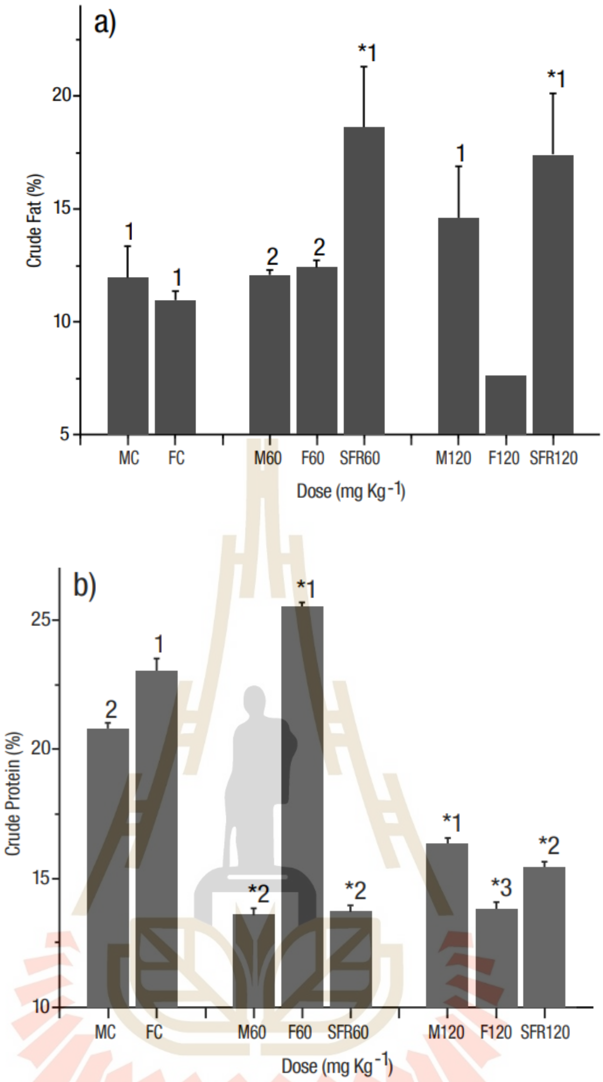
การวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์สามารถบ่งบอกได้ถึงความผิดปกติของรูปร่างอวัยวะสืบพันธุ์รวมถึงสามารถตรวจสอบพัฒนาการเปลี่ยนเพศที่สมบูรณ์ได้อีกด้วย โดยปกติแล้วในการตรวจสอบอัตราส่วนเพศของปลาแปลงเพศ วิธีการตรวจนี้ถือเป็นวิธีที่แม่นยำสามารถดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ (Morphology of gonad) ได้อย่างชัดเจน ดังเช่นในปลา Common snook (Centropomus undecimalis) ที่แปลงเพศเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ของ Carvalho et al. (2014) มีระดับความเข้มข้นดังนี้ 0 50 และ 100 มล./กก. เป็นระยะเวลา 45 วัน และเลี้ยงต่อจนถึงอายุ 11 เดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองตรวจสอบเพศด้วยการวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยา แสดงให้เห็นถึงพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาที่ไม่รับฮอร์โมนและปลาที่ได้รับฮอร์โมน 50 มล./กก. อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (Testis) และอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และ

**ตารางที่ 2.7** แสดงถึงการเปรียบเทียบค่าองค์ประกอบของปลาทั้งตัวระหว่างปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศและไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| ปลา | Treatment (มล./กก.) | ระยะเวลาให้ฮอร์โมน (วัน) | Moisture (%) | Crude protein (%) | Crude fat (%) | Ash (%) | อ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ผู้ (*O. aureus*) +เมีย (*O. niloticus*) | ลูกผสม | 28 | 68.570±0.068$^{a}$ | 57.080±0.104$^{a}$ | 16.530±0.027$^{a}$ | 15.100±0.035$^{a}$ | Hakim et al., 2013 |
| *Oreochromis niloticus* | ควบคุม | | 68.300±0.026$^{ab}$ | 50.190±0.176$^{b}$ | 14.770±0.069$^{b}$ | 13.400±0.041$^{b}$ | |
| (MT) | 60 | | 67.570±0.053$^{b}$ | 60.100±0.245$^{c}$ | 18.280±0.071$^{c}$ | 16.760±0.016$^{c}$ | |
| (MT) | 80 | | 68.270±0.089$^{ab}$ | 59.960$^{c}$±0.169 | 18.200±0.077$^{c}$ | 16.550±0.068$^{d}$ | |
| (MT) | 100 | | 68.870±0.018$^{a}$ | 59.650$^{c}$±0.166 | 18.120±0.068$^{c}$ | 16.490±0.059$^{d}$ | |
| *(Acipenser stellatus)* | Control | 210 | 75.60±0.40 | 14.62±0.19 | 9.20±0.40 | 2.91±0.10 | Khara et al., 2013 |
| (E2) | 25 | | 74.60±0.20 | 15.05±0.12 | 8.70±0.50 | 2.57±0.10 | |
| | 50 | | 74.70±0.40 | 14.45±0.17 | 8.40±0.40 | 2.54±0.03 | |
| (*Anguilla anguilla*) | control | 45 | 74.24±0.21 | 43.59±1.16 | 25.00±1.17 | 2.32±0.05 | |
| (MT) | 1 | | 73.59±0.31 | 40.46±0.97 | 33.14±1.22 | 2.22±0.44 | |
| (MT) | 5 | | 74.05±0.18 | 40.93±3.04 | 31.89±5.82 | 2.36±0.29 | |
| (MT) | 10 | | 74.30±0.05 | 41.82±0.61 | 27.02±0.92 | 2.33±0.26 | Degani et al.,1986 |
| (MT) | 15 | | 74.55±0.33 | 41.08±0.34 | 22.13±0.45 | 1.97±0.10 | |
| (E2) | 1 | | 74.68±0.50 | 43.45±0.86 | 21.77±0.31 | 2.11±0.03 | |
| (E2) | 5 | | 74.71±0.73 | 42.59±0.85 | 22.74±1.15 | 2.16±0.04 | |
| (E2) | 10 | | 74.55±0.17 | 42.05±3.83 | 25.48±0.19 | 2.10±0.02 | |
| (E2) | 15 | | 73.43±0.17 | 39.04±3.14 | 31.40±1.17 | 1.98±0.02 | |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($p$<0.05) ตามลำดับ

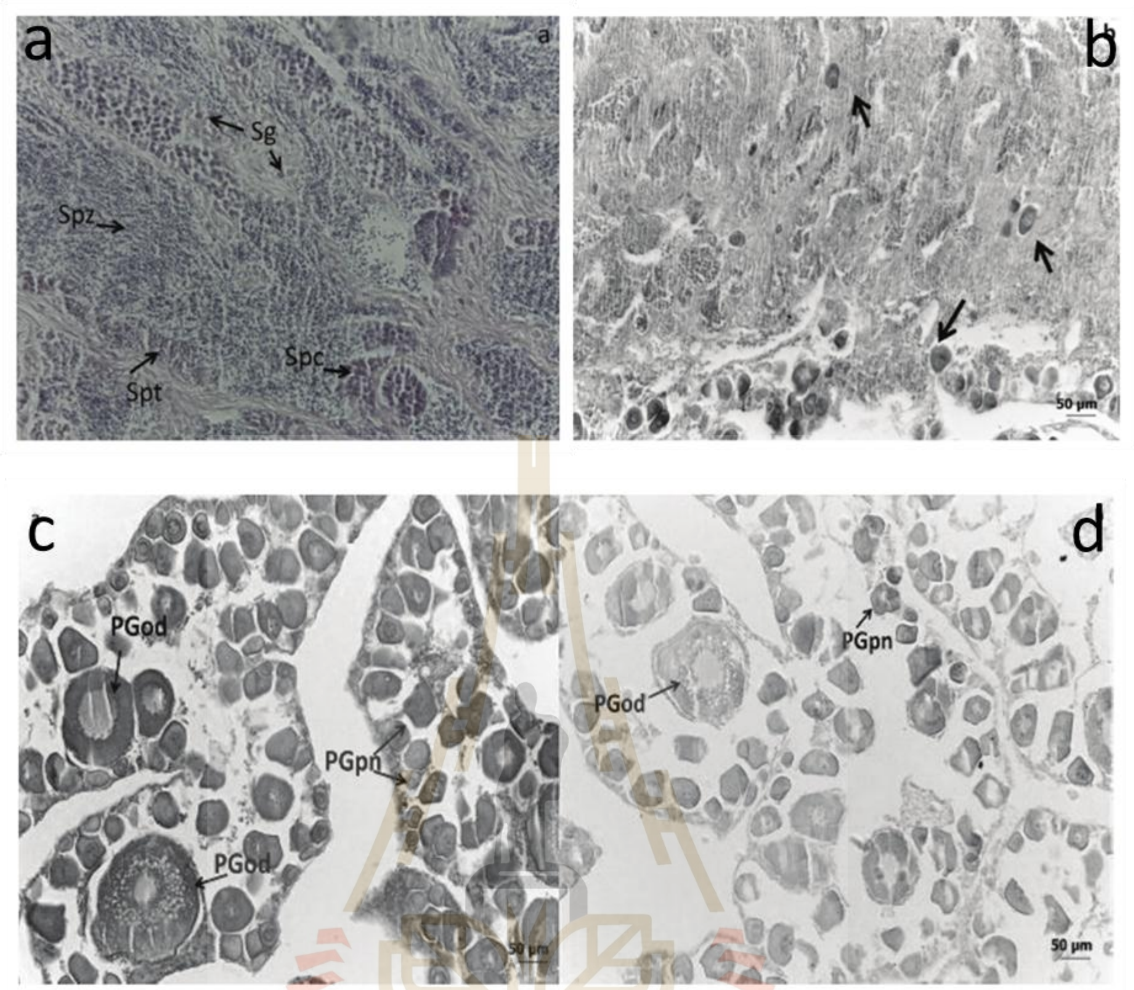
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 2.11** แสดงถึงค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลานิล (*Oreochromis niloticus*) a) % Crude fat ที่เปรียบเทียบระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมียกลุ่มควบคุม กลุ่มปลาเพศผู้ และปลาเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 60 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 30 วัน และกลุ่มปลาที่ได้รับการแปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 60 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 30 วันหลังแปลงเพศแล้วจึงเลี้ยงต่อจนมีอายุ 5 เดือน โดยเปรียบเทียบกันกับกลุ่มควบคุม b) % Crude Protein เปรียบเทียบระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมียกลุ่มควบคุม กลุ่มปลาเพศผู้ และปลาเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 60 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 30 วัน และกลุ่มปลาที่ได้รับการแปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 60 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 30 วันหลังแปลงเพศแล้วจึงเลี้ยงต่อจนมีอายุ 5 เดือน โดยเปรียบเทียบกันกับกลุ่มควบคุม (Vázquez. et al., 2015)

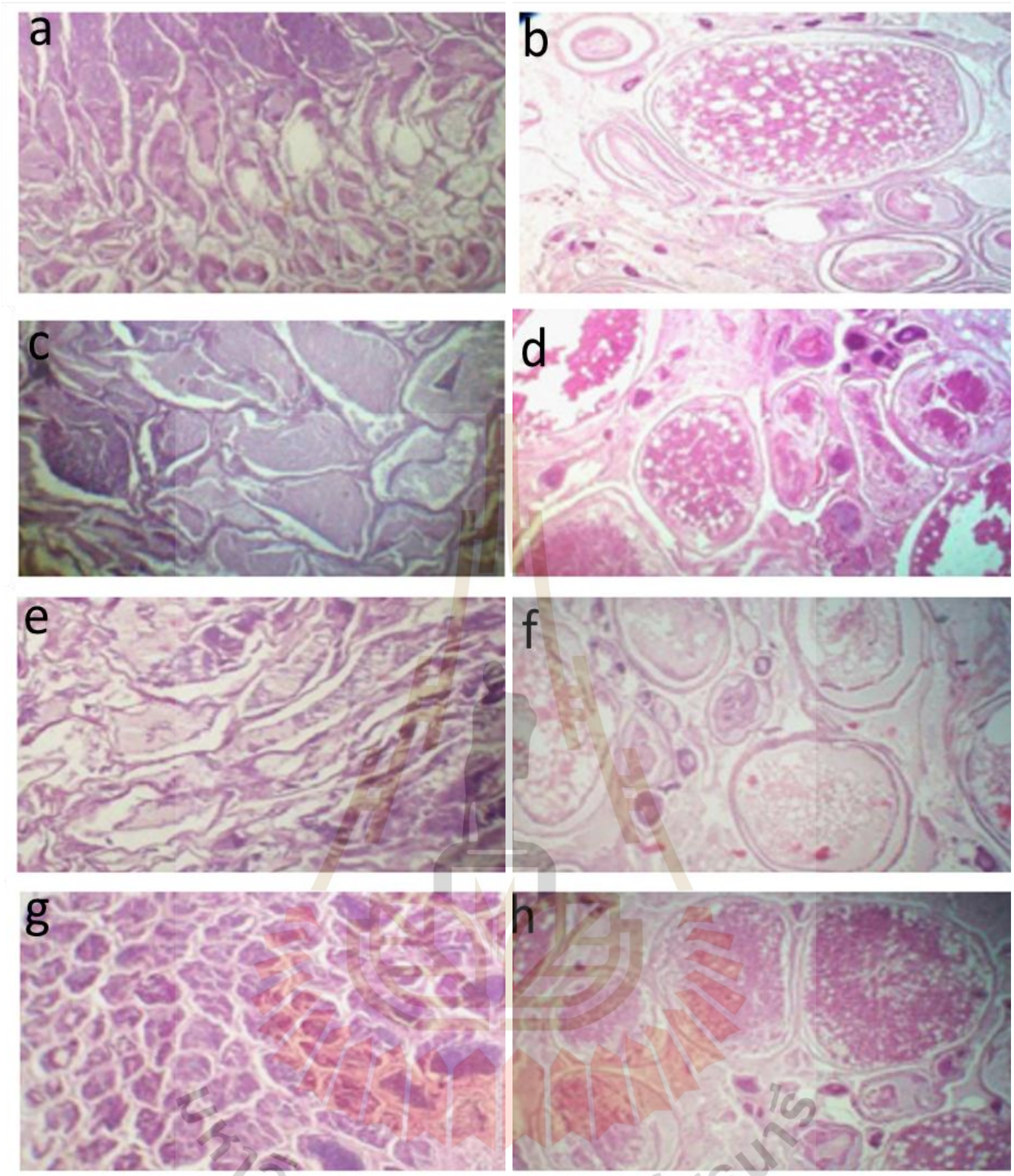
เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (Ovotestis) (ดังภาพที่ 2a และ 2b) โดยปลาที่ได้รับฮอร์โมน 50 และ 100 มก./กก. มีอวัยวะสืบพันธุ์เป็นเพศเมีย (Ovary) ที่สมบูรณ์และไม่มีความแตกต่างกัน (ดังภาพที่ 2c และ 2d) ในการทดลองแปลงเพศปลา Oreochromis andersonii ด้วยฮอร์โมน MT ของ Kefi et al. (2012) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับดังนี้ 0 40 60 และ 90 มล./กก. แสดงให้เห็นถึงอวัยวะเพศของเพศผู้ (ซ้าย) และเมีย(ขวา) ทั้งในปลาที่ไม่ได้รับฮอร์โมน (ดังภาพที่ 3a และ 3b) และอวัยวะเพศของเพศผู้ (ซ้าย) ที่ได้รับฮอร์โมน 40 มล./กก. (ดังภาพที่ 3c และ 3d) อวัยวะเพศของเพศผู้ (ซ้าย) ที่ได้รับฮอร์โมน 60 มล./กก. (ดังภาพที่ 3e และ 3f) อวัยวะเพศของเพศผู้ (ซ้าย) ที่ได้รับฮอร์โมน 90 มล./กก. (ดังภาพที่ 3g และ 3h) แสดงให้เห็นว่าเมื่อได้รับระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นแล้วจะส่งผลให้รังไข่แสดงให้เห็นถึงเซลล์สืบของเพศเมียที่เมื่อได้ระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้น รังไข่ในเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมนแล้ว แต่ไม่แปลงเพศนั้นไม่มีความแตกต่างกับรังไข่เพศเมียจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน (ดังภาพที่3d) ในปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่แปลงเพศโดยใช้ฮอร์โมน MT ของ Greisy และ Gamal (2012) ที่มีระดับความข้นดังนี้ 0 40 60 และ 80 มก./กก. เป็นระยะเวลา 28 วัน จากนั้นจึงตรวจสอบอัตราส่วนเพศด้วยวิธี (ดังภาพที่ 4a) ที่แสดงให้เห็นถึงอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 60 มก./กก. ที่อายุ 75 วัน แสดงให้เห็นถึงอัณฑะของปลานิลแปลงเพศในระยะ mature นอกจากนี้ยังมีสเปิร์ม ที่อยู่ในระยะที่ต่างกันซึ่งรวมตัวกันในท่อ seminiferous ภายหลัง 1 ปี อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 80 มก./กก. พบว่าภายในอัณฑะเพศผู้ ในท่อ seminiferous พบสเปิร์มในระยะ mature เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ดังภาพที่ 4b) ดังนั้น หากปลาได้รับฮอร์โมนในระยะเวลาและระดับฮอร์โมนที่เหมาะสมจะทำให้สามารถผลิตเซลล์พันธุ์ได้เหมือนปลาในกลุ่มควบคุม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 2.12** ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียเมื่อสิ้นสุดการทดลองในปลา Common snook (*Centropomus undecimalis*) ที่แปลงเพศเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) (a) ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้จากปลาปกติ(กลุ่มควบคุม) (spermatogonia (Sg) spermatocytes (Spc) Spermatids (Spt) and Spermatozoa (Spz) (b) อวัยวะเพศ Intersex ของปลา *C. undecimalis* ที่ได้รับฮอร์โมนE2 50 มก./กก. แสดงถึงไข่และสเปิร์ม (Intratesticular oocytes) (Primary growth stage (PG), Oil droplet step (PGod) และPerinucleolar step (PGpn) (c) ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศเมีย Ovary ของปลาที่ได้รับฮอร์โมน50 มก./กก. (d) ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศเมีย Ovary ของปลาที่ได้รับฮอร์โมน 100 มก./กก.

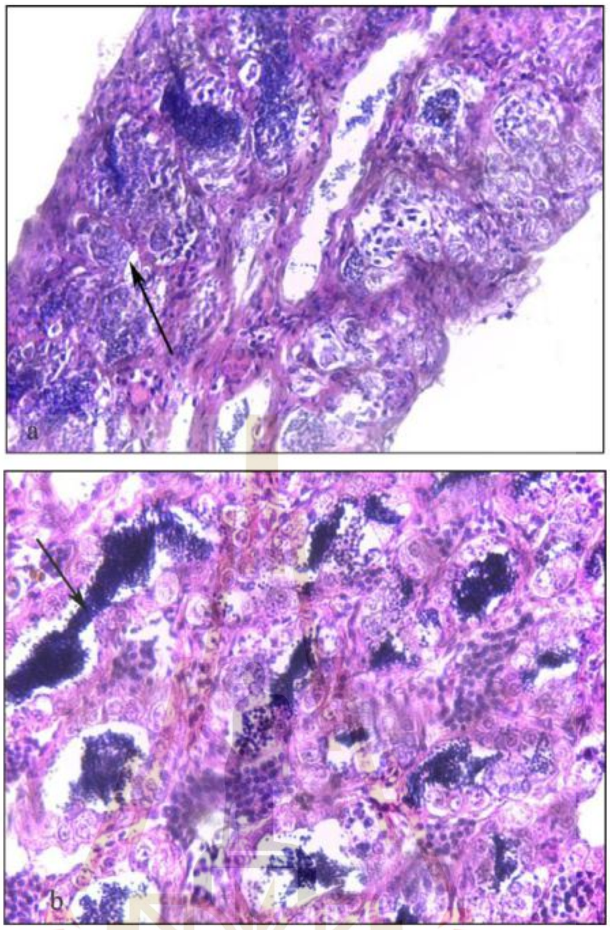
**ที่มา** : Carvalho et al. (2014)




**ภาพที่ 2.13** ภาพตัดขวางของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของปลา (*Oreochomis andersonii*) (a) Testis ของปลา (*O. andersonii*) กลุ่มควบคุม (b) Ovary ของปลา (*O. andersonii*) กลุ่มควบคุม (c) Testis ของปลา (*O. andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมน 40 มก.MT/กก. (d) Ovary ของปลา (*O. andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมน 40 มก. MT/กก. (e) Testis ของปลา (O. andersonii) ที่ได้รับฮอร์โมน 60 มก.MT/กก. (f) Ovary ของปลา (*O. andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมน 60 มก.MT/กก. (g) Testis ของปลา (*O. andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมน 90 มก.MT/กก. **(h)** ของปลา (*O. andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมน 90 มก.MT/กก.

**ที่มา** : Kefi et al. (2012)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



**ภาพที่ 2.14** ภาพอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis Niloticus*) (a) ภาพอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 60 มก./กก. ที่อายุ 75 วัน แสดงให้เห็นถึงอัณฑะของปลานิลแปลงเพศในระยะ mature นอกจากนี้ยังมีสเปิร์มที่อยู่ในระยะที่ต่างกันซึ่งรวมตัวกันในท่อ Seminiferous (b) ภาพอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 80 มก./กก. เลี้ยงต่อมา 1 ปี โดยภายในอัณฑะเพศผู้ในท่อ seminiferous พบสเปิร์มในระยะ mature

**ที่มา** : Greisy and Gamal, (2012)

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 สถานที่ทำการทดลอง

บ่อวิจัย ฟาร์มประมงมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (งานสัตว์น้ำ) ห้องปฏิบัติการอาคารเครื่องมือ 10 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, ห้องปฏิบัติการอาคารเกษตรภิวัฒน์ (F14)

## 3.2 ปลาสลิดที่ใช้ในการศึกษา

ปลาสลิดที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มเกษตรกร จ. สมุทรสาคร โดยการแยกเพศคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาสลิดที่มีความสมบูรณ์พันธุ์โดยมีหลักในการคัดเลือกดังดังนี้ พ่อพันธุ์จะมีสีเข้มลายเด่นชัดบริเวณท้องจะขนานกับลายด้านข้างลำตัว ครีบหลังยาวถึงครีบหาง และมีลำตัวเรียวยาว ส่วนแม่พันธุ์จะมีลำตัวกว้าง บริเวณท้องจะโค้งมนไม่ขนานกับเส้นข้างลำตัว ท้องจะอูมเป่ง สี และลายจะซีดกว่าตัวผู้ ครีบหลังจะสั้น มีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ จากนั้นเตรียมถังไฟเบอร์ใส่น้ำสำหรับเพาะพันธุ์ เตรียมผักบุ้ง และหญ้าขนมาแช่ไว้ในด่างทับทิมก่อน แล้วจึงนำผักบุ้งและหญ้าขนมาใส่ไว้ในแต่ละถังที่เตรียมน้ำไว้ ทำการจัดเรียงให้ผักบุ้งและหญ้าขนคิดเป็น 80% ของพื้นที่ทั้งหมดที่เหลืออีก 20% ไว้ให้ปลาสลิดผสมพันธุ์ ก่อหวอด กอดรัด และวางไข่ การเพาะครั้งนี้ใช้พ่อพันธุ์ทั้งหมด 72 ตัว แม่พันธุ์ทั้งหมด 48 ตัว อัตราส่วนพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่ใช้ในการผสมพันธุ์ในแต่ละถังคือ 3:2 เริ่มฉีดฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นให้มีการผสมพันธ์วางไข่ตามธรรมชาติดังนี้ โดยเข็มที่ 1 ฉีดเฉพาะตัวเมียใช้ Suprefact (Buserelin acetate) 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ Motilium (Domperidone) 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อีก 12 ชั่วโมงถัดมาจึงฉีดเข็มที่ 2 ตัวเมียใช้ Suprefact 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับ Motilium 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่ตัวผู้ฉีดฮอร์โมนเพียงเข็มเดียว (ฉีดพร้อมกับการฉีดตัวเมียที่ 2) โดยใช้ Suprefact 10 ไมโครลิตร/กิโลกรัม ร่วมกับ Motilium 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จากนั้นนำพ่อแม่พันธุ์ที่ฉีดฮอร์โมนแล้วใส่ลงในถังเพาะ 200 ลิตร ทั้งหมด 6 ถัง 24 ชั่วโมงต่อมาปลาก่อหวอด และวางไข่ เมื่อไข่ฟักแล้วลูกปลาที่ฟักจะมีถุงไข่แดง (Yolk sac) ซึ่งเป็นแหล่งอาหารและพลังงานในช่วงแรกของชีวิต หลังจากที่ลูกปลาฟักได้ 4 วัน จึงลดน้ำลง และจับพ่อแม่พันธุ์ออกจากถังเพาะ เมื่อลูกปลามีอายุ 6 วันอาหารในถุงไข่แดง (Yolk sac) ยุบลงเกือบหมดจึงย้ายปลาเข้าสู่การทดลอง (ดังตาราง 3.1)

**ตารางที่ 3.1** แสดงการให้อาหารแต่ละชนิดตามอายุของปลาสลิด

| อายุปลา | ชนิดของอาหาร | หมายเหตุ |
|---|---|---|
| 1 วัน | - | ฟักและมีถุงไข่แดง |
| 66วัน | - | ย้ายปลาเข้าสู่การทดลอง |
| | | ถุงไข่แดงยุบลงเกือบหมด |
| เริ่มต้นการทดลอง-3 เดือน | อาหารผงละเอียด | ให้อาหารผงละเอียดจนครบอายุ 3 เดือน |
| หลัง 3 เดือน | อาหารเม็ดทางการค้า | เลี้ยงจนครบอายุ 11 เดือน |

## การทดลองที่ 1 ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นปลาเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2)

### 3.3 แผนการทดลอง

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยมีกลุ่มการทดลอง (Treatment) 4 กลุ่ม คือ ระดับฮอร์โมนที่ผสมในอาหารที่แตกต่างกัน และแต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 6 ซ้ำ (Replication) ซึ่งกลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

**ตารางที่ 3.2** แสดงถึงระดับฮอร์โมนที่ 17-β-estradiol (E2) ผสมในอาหาร

| กลุ่มที่ (Treatment) | ระดับฮอร์โมนที่ผสมในอาหาร (Level of hormone) (mg/kg) |
|---|---|
| 1 (Control) | 0 |
| 2 (E2 Treated) | 100 |
| 3 (E2 Treated) | 200 |
| 4 (E2 Treated) | 300 |

อาหารทดลองคือ อาหารทางการค้าบดละเอียด (ระดับโปรตีน 42% ไขมัน 6% ไฟเบอร์ 4% และความชื้น 12%) ทำการเตรียมอาหารผสมฮอร์โมนโดยการชั่งฮอร์โมน17-β-Estradiol (E2) แล้วนำมาละลายในเอทานอล (Ethanol) 240 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ใส่ในขวดสเปรย์เขย่าให้ละลาย แล้วฉีดพ่นลงในอาหารที่เตรียมไว้คลุกเคล้าให้ทั่วถึงและนำไปตากให้แห้งในที่ร่มไม่มีแสง เนื่องจากแสงแดดอาจส่งผลให้ฮอร์โมนสลายตัวได้ การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยมีพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ ค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา และค่าองค์ประกอบ

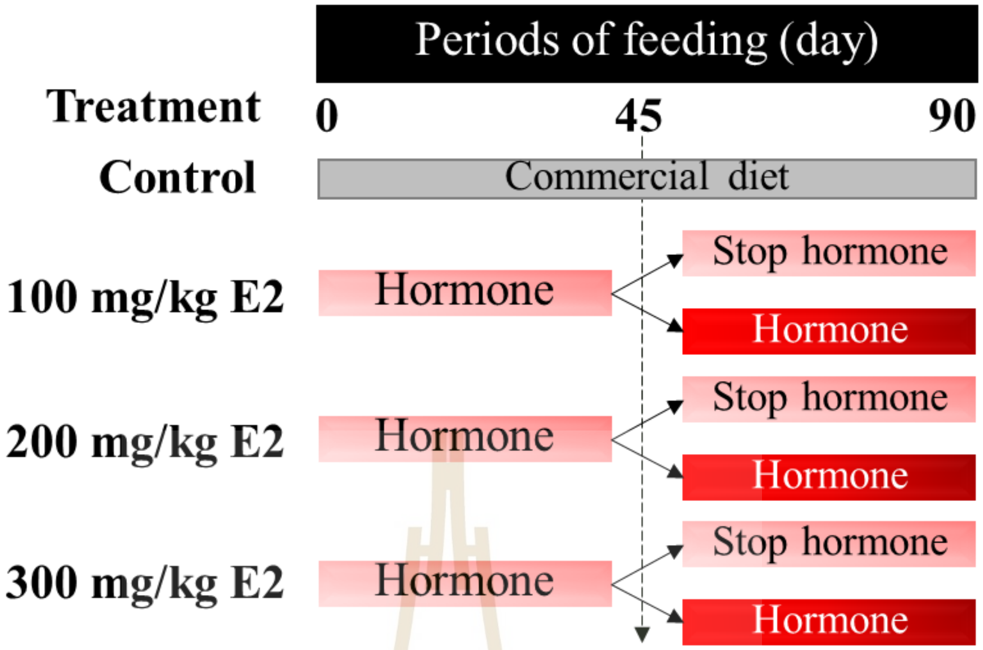
ทางเคมีในตัวปลาซึ่งวิเคราะห์ค่านัยสำคัญของอิทธิพลจากระดับฮอร์โมนที่แตกต่างกันด้วย Analysis of variance (ANOVA) Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ส่วนการวิเคราะห์อิทธิพลจากระดับฮอร์โมนที่แตกต่างกันต่ออัตราส่วนเพศ จะวิเคราะห์ด้วย Chi-square test ($X^2$)

**3.3.1 การเลี้ยงการปลาทดลอง**

สุ่มลูกปลาสลิดหลังจากฟักแล้ว 6 วันหลังฟักเข้าสู่การทดลองในกระชังโอล่อนแก้ว (Replication) ที่มีขนาดความกว้าง x ความยาว x ความสูง เท่ากับ 1 x 1 x 1 เมตร จำนวน 6 กระชังต่อกลุ่มทดลอง โดยเริ่มต้นแต่ละกระชังมีลูกปลา 600 ตัว ให้อาหารผสมฮอร์โมนแปลงเพศ E2 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 4 ครั้ง (8.30 11.30 14.30 และ 16.30 นาฬิกา) โดยเริ่มต้นให้อาหารปลามีอายุ 7 วันหลังฟักและแปลงเพศ 2 ช่วงเวลาได้แก่ 45 และ 90 วัน หลังจากแปลงเพศได้ระยะเวลา 45 วัน จึงแบ่งครึ่งจำนวนปลาที่อยู่ในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยกลุ่มแรกหยุดให้อาหารแปลงเพศฮอร์โมน E2 ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งก็ยังคงให้อาหารแปลงเพศต่อไปจนครบระยะเวลา 90 วัน (ภาพที่ 3.1) เมื่อสิ้นสุดการแปลงเพศแล้วจึงย้ายปลาไปเลี้ยงต่อในกระชัง 2 x 2 x 1.5 เมตร กระชังละ 30 ตัว และให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปทางการค้าวันละ 2 ครั้ง (9.00 และ 15.00 นาฬิกา) จนปลามีอายุ 8 เดือน จึงเก็บตัวอย่างปลาที่แปลงเพศเพื่อตรวจสอบอัตราส่วนเพศ จากนั้นเลือกปลาในช่วงเวลาที่แปลงเพศได้มาทดลองต่อ โดยย้ายปลาเข้าสู่กระชังอวนมุ้งฟ้า ที่มีขนาดความกว้าง x ความยาว x ความสูงเท่ากับ 2 x 2 x 1.5 เมตร 5 กระชังต่อกลุ่มทดลอง กระชังละ 20 ตัว ให้อาหารทางการค้า วันละ 2 ครั้ง (9.00 และ 15.00 นาฬิกา) จนปลามีอายุ 11 เดือน จึงเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 ในระหว่างการทดลองจะทำการวัดค่าคุณภาพน้ำในตอนเช้าและเย็นมีค่าเฉลี่ยต่าง ๆ ดังนี้ ค่าการละลายของออกซิเจนในน้ำ (Dissolved oxygen) เท่ากับ 4.5-6.92 และ 7.85-8.33 มิลลิกรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7.67-8.13 และ 8.20-8.63 อุณหภูมิน้ำเท่ากับ 28.3-31.9 และ 30.1-32.9 องศาเซลเซียส

**3.3.2 การเก็บตัวอย่าง**

ในระหว่างที่การเลี้ยงมีการจดบันทึกทุกครั้งที่มีปลาตาย และมีการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้งตลอดช่วงระยะเวลาที่ทดลอง ครั้งที่ 1 หลังจากเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 เดือน มีการเก็บตัวอย่างโดยเริ่มต้นจากสลบปลาด้วยสาร 2-Phenoxethanol แล้วจึงชั่งน้ำหนัก วัดความยาวลำตัวและเก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์ไปตรวจวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบเพศด้วยวิธีจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad histology) เมื่อปลามีอายุ 11 เดือน จึงเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 และสลบปลาด้วยสาร 2-Phenoxethanol โดยเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ขนาดลำตัว รูปร่างลักษณะภายนอก น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (WG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR) (Feed intake: FI) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average daily weight gain: ADG) และอัตราการรอด (%Survival rate) ของแต่ละกลุ่มทดลองตามสูตรดังต่อไปนี้




**ภาพที่ 3.1** จำนวนลูกปลาในแต่ละซ้ำและแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2)

$$\text{Weight gain (WG)} = \text{Final weight (g)} - \text{Initial weight (g)}$$

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = \left(\frac{\text{ln Finalweight} - \text{ln Initialweight}}{\text{Experimental duration}}\right) \text{x } 100$$

$$\text{Feed conversion ratio (FCR)} = \frac{\text{Total feed intake (dry weight)}}{\text{Total live weight gain}}$$

$$\text{Feed intake (FI)} = \frac{\text{Total feed intake}}{\text{Experimental duration}}$$

$$\text{Average daily weight gain (ADG)} = \frac{\text{Weight gain}}{\text{Experimental duration}}$$

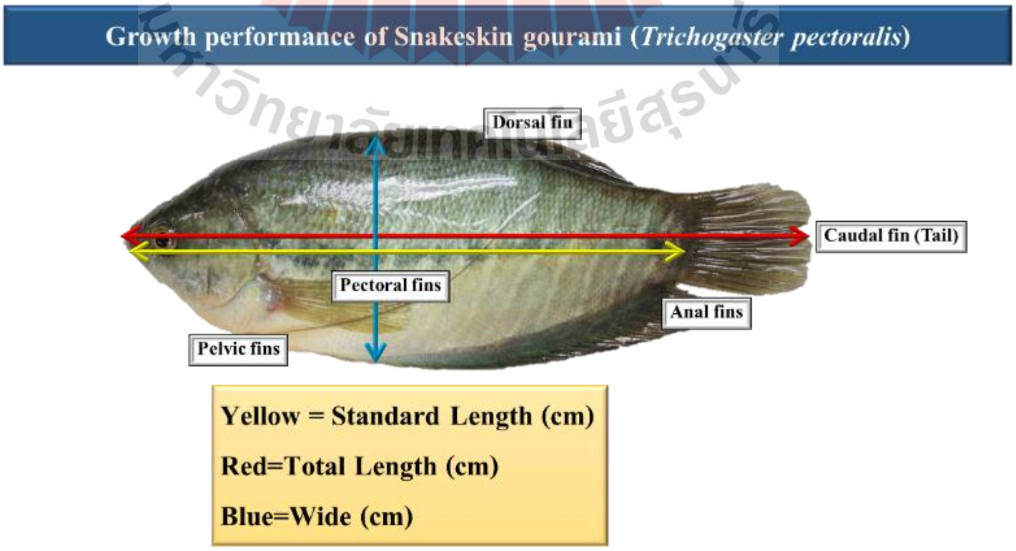
$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{Final count of fish}}{\text{Initial count of fish}} \text{ X } 100$$

แล้วจึงเก็บตัวอย่างเลือดซีรั่ม (Serum) (ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด) พลาสมา (Plasma) (ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (5% EDTA) โดยการเจาะเลือดที่บริเวณเส้นเลือด Caudal vein ซึ่งอยู่ที่บริเวณกลางลำตัวจนถึงหาง ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 ml และเข็มฉีด

ยา (Needle) ขนาดเบอร์ 21 G ความยาว 1 นิ้ว ดูดเลือดใส่ในหลอดทดลอง 1.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างเลือดวางลงบนน้ำแข็งทันทีภายใน 1 ชั่วโมงของการเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำพลาสมามาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (*Centrifuge*) 12500 รอบต่อนาที (rpm) 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วจึงดูดพลาสมาใส่ในหลอดทดลอง 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส สำหรับการเก็บข้อมูลดัชนีของตับ (Hepatosomatic index) (สมการที่ 1) และอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonadosomatic index) (สมการที่ 2) ด้วยการผ่าช่องท้องเพื่อนำตับและอวัยวะสืบพันธุ์นำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลที่มีทศนิยม 4 ตำแหน่ง โดยที่อวัยวะสืบพันธุ์ส่วนนึงจะถูกรวบรวมเก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์มาเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ในหลอดที่มี Bouin เพื่อสังเกตุลักษณะสันฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ด้วยวิธีจุลกายวิภาคศาสตร์ (Histology Method) และอีกส่วนนึงจะถูกเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ด้วย*ในโตรเจน*เหลว (Liquid nitrogen) จากนั้นเก็บตัวอย่างทั้งตัวปลา (Whole body) โดยการนำปลามาสับเป็นชิ้น ๆ ก่ อน แล้วนำไปใส่ในเครื่องบดเนื้อ (Meat grinder) เมื่อตัวอย่างละเอียดแล้วจะถูกรวบรวมแล้วใส่ถุงในแต่ละซ้ำในกลุ่มทดลองสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของร่างกาย (ภาพที่ 3.2)

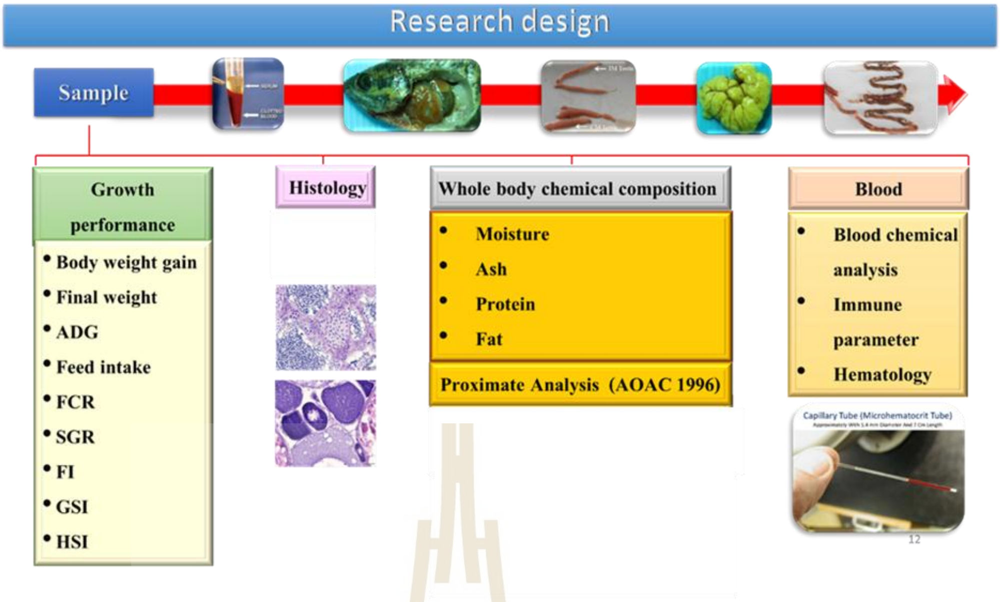
$$\text{Hepatosomatic index (HSI)} = \frac{\text{Liver weight}}{\text{Final Weight}} \times 100 \qquad (1)$$

$$\text{Gonadosomatic index (GSI)} = \frac{\text{Gonad weight}}{\text{Final Weight}} \times 100 \qquad (2)$$




**ภาพที่ 3.2** แสดงถึงการเก็บข้อมูลขนาดตัว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



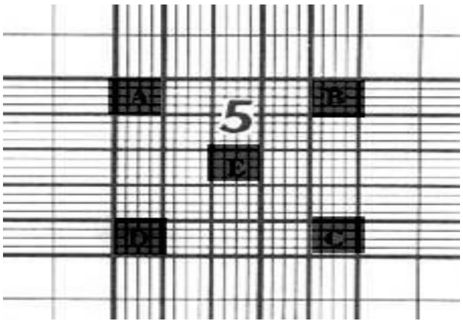

**ภาพที่ 3.3** แสดงการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ตัวอย่าง

**3.3.3 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

**3.3.3.1 การนับเซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cells count: RBC)**

การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง โดยเจือจางตัวอย่างเลือดด้วยน้ำยา Grower's solution ในอัตราส่วน 1:200 (whole blood:Grower's solution) โดยผสมให้เข้ากันเพื่อทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นนับเม็ดเลือดแดงในสารละลายด้วย hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า (ภาพที่ 3.4) แล้วคำนวณจำนวนเม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ดังสมการนี้

RBC = ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ได้ทั้งหมด 5 ช่อง (R) x 200 (1:200 dilution) x 25 x $10^4$ (1)



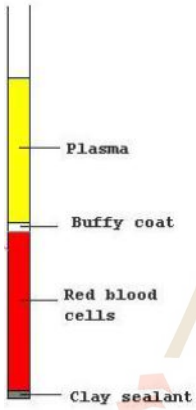

**ภาพที่ 3.4** ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือด

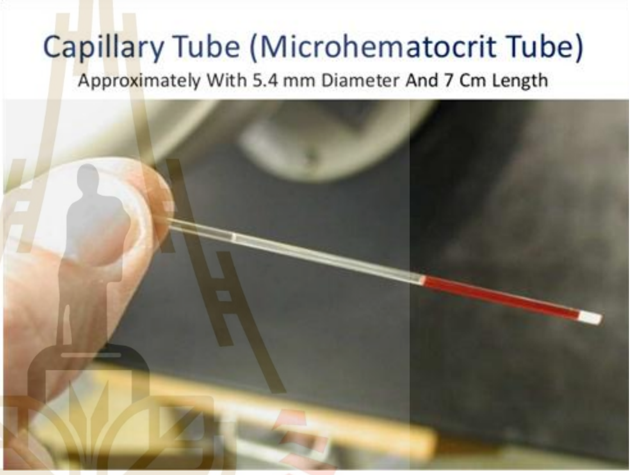
**ที่มา :** ดัดแปลงมา จาก : http://www.microbehunter.com/the-hemocytometercounting-chamber

**3.3.3.2 การวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit)**

บรรจุเลือดใส่หลอด Microhematocrit capillary tube 4/5 ส่วนของปริมาตร ปิดผนึกปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมัน ทำการปั่นเหวี่ยงเลือดด้วย Microcentifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที คำนวณเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นดังสมการนี้ (ภาพที่ 3.5)

$$\% \text{ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit)} = \frac{\text{ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เซนติเมตร)} \times 100}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด (เซนติเมตร)}}$$




**ภาพที่ 3.5** ปริมาตรเลือดทั้งหมด และปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใน microhematocrit capillary tube ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงแล้ว

**ที่มา :** http://loudoun.nvcc.edu/vetonline/vet131/introduction.htm

**3.3.3.3 การวัดค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin)**

วิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยชุดวิเคราะห์ Hemoglobin set (Cyanmethemoglobin Method) โดยใช้อัตราส่วน Whole blood ต่อ drabkin solution ในอัตราส่วน 4:1000 ไมโครลิตร ลงในหลอด 1.5 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ให้ตกตะกอน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) ส่วนใสด้านบนใส่ใน 96 well plate จากนั้นจึงวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ Drabkin Reagent เป็น Blank แล้วคำนวนค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin standard)

**3.3.4 การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด (Blood chemical)**

**3.3.4.1 การวิเคราะห์ค่ากลูโคส (Glucose) ใช้ชุด kit Erba-glucose (GOD-PAP method)**

วิเคราะห์ใช้ชุด kit Erba-glucose เริ่มจากแบ่งรีเอเจนต์ (Reagent) ที่จะใช้และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจากนั้นเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (Standard glucose) ความเข้มข้น 0 25 50 75 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) 2 ไมโครลิตร ปิเปตต์สารละลายกลูโคสมาตรฐานหรือตัวอย่างซีรั่ม (Serum) ลงในหลุม 96 well plate โดยปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นเติมรีเอเจนต์ลงในหลุมที่เติมสารละลายกลูโคสมาตรฐานหรือหลุมที่เติมตัวอย่างแล้ว หลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยใช้ Multichannel Pipette และปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Microplate reader 10 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร กำหนดให้เอนไซม์รีเอเจนต์ (Enzyme reagent) เป็น Blank หลังจากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาค่าโปรตีนโดยสร้างสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ และแทนค่าเพื่อหาปริมาณกลูโคสลในตัวอย่างซีรั่ม (Serum) (Trinder, 1969)

**3.3.4.2 การวิเคราะห์ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglycerides) ใช้ชุด kit Erba-triglycerides (GPO-PAP method)**

วิเคราะห์ใช้ชุด kit Erba-triglyceride เริ่มจากแบ่งรีเอเจนต์ (reagent) ที่จะใช้และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารละลายไตรกลีเซอร์ไรด์มาตรฐาน (Standard triglyceride) ความเข้มข้น 0 25 50 75 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) 2 ไมโครลิตร ปิเปตต์สารละลายไตรกลีเซอร์ไรด์มาตรฐาน (Standard triglyceride) หรือตัวอย่างซีรั่ม (Serum) ลงในหลุม 96 well plate โดยใช้เทคนิคปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นเติมรีเอเจนต์ลงในหลุมที่เติมสารละลายไตรกลีเซอร์ไรด์มาตรฐาน หรือ หลุมที่เติมตัวอย่างแล้ว หลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยใช้ Multichannel Pipette และปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Microplate reader 10 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร กำหนดให้เอนไซม์รีเอเจนต์ (Enzyme reagent) เป็น Blank หลังจากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาค่าไตรกลีเซอร์ไรด์โดยสร้างสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ และแทนค่าเพื่อหาปริมาณไตรกลีเซอร์ไรด์ในตัวอย่างซีรั่ม (Serum) (Jacobs and Van Dnmark, 1960; Kodischeck and Umbreit, 1969; Schelttler and Nussel, 1975)

**3.3.4.3 การวิเคราะห์ค่าคลอเลสเตอร์รอล (Cholesterol) ใช้ชุด kit Erba-cholesterol (CHOD/POD method)**

วิเคราะห์ใช้ชุด kit Erba- Cholesterol เริ่มจากแบ่งรีเอเจนต์ (reagent) ที่จะใช้และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารละลายคลอเลสเตอร์รอลมาตรฐาน (Standard Cholesterol) ความเข้มข้น 0 25 50 75 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) 2 ไมโครลิตร ปิเปตต์สารละลายคลอเลสเตอร์รอลมาตรฐานหรือตัวอย่างซีรั่ม (Serum) ลงในหลุม 96 well plate โดยใช้เทคนิคปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นเติมรีเอเจนต์ลงในหลุมที่เติมสารละลายคลอเลสเตอร์รอลมาตรฐาน หรือ หลุมที่เติมตัวอย่างแล้ว หลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยใช้ Multichannel Pipette และปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Microplate reader 10 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร กำหนดให้เอนไซม์รีเอเจนต์ (Enzyme reagent) เป็น Blank หลังจากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาค่าคลอเลสเตอร์รอล โดยสร้างสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ และแทนค่าเพื่อหาปริมาณคลอเลสเตอรรอลในตัวอย่างซีรั่ม (Serum) (Richmond, 1973; Thomas, Laborand Diagnose, 1992)

**3.3.4.4 การวิเคราะห์ค่าโปรตีน (Total protein) ใช้ชุด kit Erba-Total protein (Biuret method)**

วิเคราะห์ใช้ชุด kit Erba-Total protein เริ่มจากแบ่งรีเอเจนต์ (reagent) ที่จะใช้และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (Standard total protein) ความเข้มข้น 0 1.5 3 4.5 และ 6 กรัมต่อเดซิลิตร จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) 4 ไมโครลิตร ปิเปตต์สารละลายโปรตีนมาตรฐานหรือตัวอย่างพลาสมา (Plasma) ลงในหลุม 96 well plate โดยใช้เทคนิคปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นเติมรีเอเจนต์ลงในหลุมที่เติมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน หรือ หลุมที่เติมตัวอย่างแล้ว หลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยใช้ Multichannel Pipette และปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Microplate reader 10 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร กำหนดให้เอนไซม์รีเอเจนต์ (Enzyme reagent) เป็น Blank หลังจากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาค่าโปรตีน โดยสร้างสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 1.5 3 4.5 และ 6 กรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ และแทนค่าเพื่อหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างพลาสมา (Plasma) (Weichselbaum, 1964; Rosenthal and Cenditt, 1956)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**3.3.4.5 การวิเคราะห์ Blood urea nitrogen ใช้ชุด kit Erba-Urea (GLDH-UREASE method)**

วิเคราะห์ใช้ชุด kit Erba-Total protein เริ่มจากแบ่งรีเอเจนต์ 1 (reagent 1) ที่จะใช้และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเทแบ่งรีเอเจนต์ 2 ที่จะใช้บ่อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารละลายยูเรียมาตรฐาน (Standard urea) ความเข้มข้น 0 10.7 21.4 34.24 42.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยูเรียมาตรฐานที่ข้างกล่อง) จากนั้นปิเปตต์ (Pipette) 2 ไมโครลิตร ปิเปตต์สารละลายโปรตีนมาตรฐานหรือตัวอย่างซีรั่ม (Serum) ลงในหลุม 96 well plate โดยใช้เทคนิคปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นเติมรีเอเจนต์ 1 ลงในหลุมที่เติมสารละลายยูเรียมาตรฐาน หรือ หลุมที่เติมตัวอย่างแล้ว หลุมละ 160 ไมโครลิตร โดยใช้ Multichannel Pipette และปิเปตต์แบบ Reverse Mode Pipetting และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Microplate reader 10 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที หลังบ่มเติมรีเอเจนต์ 2 ลงในหลุม หลุมละ 40 ul แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร กำหนดให้เอนไซม์รีเอเจนต์ (Enzyme reagent) เป็น Blank หลังจากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาค่ายูเรีย โดยสร้างสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 10.7 21.4 34.24.42.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรตามลำดับ และแทนค่าเพื่อหาปริมาณของ Blood urea nitrogen ในตัวอย่างค่าเพื่อหาปริมาณยูเรียในตัวอย่างซีรั่ม (Serum) (Talke. and Schubert, 1965; Tiffany et al., 1972)

**3.3.5 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกัน (Immunity)**

**3.3.5.1 การวิเคราะห์ Lysozyme activity**

เป็นการวิเคราะห์ปฏิกิริยาการย่อยทำลายแบคทีเรียแกรมบวก (*Micrococcus lysodeikiticus*) ของ Lysozyme ในซีรั่ม (Serum) ของปลาสลิดโดยการเปรียบเทียบกับค่าการทำลายแบคทีเรียแกรมบวก *M. lysodeikiticus* ของ Standard lysozyme (จากไข่ขาวของไก่) เริ่มจากเตรียมรีเอเจนต์ (reagent) (สารละละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 0.09% NaCl แล้วชั่ง NaCl 0.225 กรัม จากนั้นเติมสารละละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 (ประกอบด้วย 0.1 M Citric acid ปริมาตร 37.9 มิลลิลิตร นำมาผสมกับ 0.2 M Phosphate solution 62.1 มิลลิลิตร) ปริมาตร 92.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร) และเก็บในตู้เย็น จากนั้นเจือจาง Standard lysozyme ให้มีความเข้มข้น 0 2.5 5 10 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยรีเอเจนต์ จากนั้นใส่ Standard lysozyme ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการวิเคราะห์ลงใน Plate 96 หลุม หลุมละ 10 ไมโครลิตร เติมเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *M. lysodeikiticus* ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ชั่ง *M. Lysodeikiticus* 0.012 กรัม เติมรีเอเจนต์ 40 มิลลิลิตร โดยตลอดการวิเคราะห์ต้องแช่อยู่น้ำแข็ง) หลุมละ 190 ไมโครลิตร นำไปเขย่าเข้ากันด้วย

เครื่อง Incubator shaker ที่ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 15 นาที จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ครั้งแรกมาลบกับค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ในครั้งที่ 2 แล้ว นำค่า Standard lysozyme ที่มีความเข้มข้น 0 2.5 5 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับมาสร้างกราฟเส้นตรง โดยกำหนดให้ความเข้มข้นเป็นแกน x และให้ค่าดูดกลืนแสงเป็นแกน y เพื่อหาสมการเส้นตรง จากนั้นจึงแทนค่าในสมการจะได้ค่าความเข้มข้นของ Lysozyme โดยนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างกับค่าดูดกลืนแสงของ Standard lysozyme

**3.3.5.2 การวิเคราะห์ Alternative complement (ACH 50)**

การวิเคราะห์ค่า Alternative complement pathway เป็นการวิเคราะห์กลุ่มของโปรตีน Complement ในซีรั่ม (Serum) ที่ช่วยให้แบคทีเรียที่มีแอนติบอดี (Antibody) เกาะติดสามารถโดนเซลล์ภูมิคุ้มกันจับกินได้มากขึ้น ทำให้แตกสลายได้ง่าย นอกจากนี้ยังสามารถช่วยในการควบคุมการเกิดอาการอักเสบ (Inflammatory response) อีกด้วย โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Montero et al. (1998) ที่สามารถทำได้ดังนี้ นำเม็ดเลือดแดงแพะมาล้างด้วยสารละลาย GVB-EGTA Buffer (ประกอบไปด้วย: Gelatin Veranol Buffer; 10 mM Batbital 145 mM NaCl 0.1% Gelatin 0.5 mM $MgCl_2$ 10 mM EGTA (Edetic acid) pH. 7.3-7.4) 3 ครั้ง แล้วปรับความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงให้เท่ากับ $2{\times}10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางซีรั่ม (Serum) ของตัวอย่างด้วย PBS (Phosphate Buffered Saline) ซึ่งเป็นบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการล้างเซลล์การขนส่งเนื้อเยื่อและการเจือจางด้วย PBS ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง ค่าออสโมลาริตี (Osmolarity) ที่มีความเข้มข้นของไอออนที่มีความใกล้เคียงกับร่างกายมนุษย์ ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 250 ไมโครลิตร ที่ระดับ 10% 5% 2.5% 1.25% และ 0.625% ตามลำดับ โดยกำหนดให้ GVB-EGTA เป็นกลุ่ม Spontaneous lysis และให้น้ำกลั่นเป็นกลุ่ม Hemolysis 100% เติมสารละลายเม็ดเลือดแดงที่ปรับความเข้มข้นแล้ว 100 ไมโครลิตร ในหลอดที่มีซีรั่มหลอดที่มีบัฟเฟอร์อย่างเดียวและหลอดที่มีน้ำกลั่นอย่างเดียวตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที แล้วเติมสารละลาย 0.85% NaCl ลงในทุกหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (*Centrifuge*) จากนั้นนำสารละลายส่วนบนมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ทำการคำนวณค่า Hemolytic titer ของแต่ละปฏิกิริยา โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า y/(1-y) และหาค่าของปริมาตรของ serum ที่ทำให้ได้ 50% Haemolysis (y/(1-y) =1)

$$\%\ \text{Lysis (y)} = \frac{(\text{OD540 of Serum} - \text{OD540 of spontaneous lysis})}{(\text{OD540 of haemolysis 100\%} - \text{OD540 of spontaneous lysis})} \times 100$$

**3.3.5.3 การวิเคราะห์ Total immunoglobulin (Total ig)**

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในพลาสมาทำโดยใช้ชุดทดสอบ Colorimetric Lowry micro-method (Sigma) ในการวัดค่าปริมาณ Total immunoglobulin ซึ่งเป็นการวัดโปรตีนชนิดโกลบูลินที่ล่องลอยอยู่ในกระแสเลือดซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการเป็นพาหนะให้เซลล์เม็ดเลือดขาวให้มาจับติดเกาะกันให้สามารถล่องลอยไปในกระแสเลือดเพื่อทำลายเหล่าจุลชีพที่ก่อโรค ทำตามวิธีการที่ได้รายงานไว้ใน Siwicki et al. (1994) โดยวิเคราะห์การตกตะกอนของ Total immunoglobulin ด้วยสารละลาย 12% Polyethylene glycol แล้ววัดปริมาณโปรตีนด้วยโดยเติม Biuret reagent จากชุด kit Erba-Total protein (Biuret method) ลงในพลาสมาตัวอย่าง จากนั้นหาค่าความแตกต่างของโปรตีนรวมในพลาสมากับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินในตัวอย่าง สารละลายหลังตกตะกอนปริมาณ Total immunoglobulin หาได้จากค่าความแตกต่างระหว่างปริมาณโปรตีนก่อนตกตะกอนและปริมาณโปรตีนหลังตกตะกอน

ปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total immunoglobulin)

= ปริมาณโปรตีนในพลาสมาก่อนตกตะกอน - ปริมาณโปรตีนในพลาสมาหลังตกตะกอน

**3.3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition)**

เมื่อปลาสลิดอายุ 11 เดือน จึงสุ่มปลาจากแต่ละกลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 5 ตัว สับปลาสลิดเป็นชิ้น ๆ เพื่อนำมาบดทั้งตัว ด้วยเครื่องบดเนื้อ (Meat grinder) ให้ละเอียดและง่ายต่อการนำไปวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition) เช่น ความชื้น เถ้า โปรตีน และองค์ประกอบไขมันในตัว ทำการเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ %โปรตีน %ไขมัน %เถ้า และ %ความชื้นของปลาทั้งตัว (Whole body) ซึ่งจะถูกวิเคราะห์ตาม (AOAC, 1990)

**3.3.6.1 การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น (% Moisture)**

เตรียมถ้วยฟอยล์และนำไปอบในตู้อบความชื้น (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นรอให้เย็นและนำไปใส่โถทำแห้ง (Desiccator) เพื่อให้ไล่ความชื้น นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักถ้วยฟอยล์ที่แท้จริง แล้วจึงชั่งตัวอย่างละ 2 กรัม แล้วนำไปอบในตู้อบความชื้น (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นรอให้เย็นแล้วจึงนำไปใส่โถทำแห้ง (Desiccator) และนำไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างอีกครั้งแล้วคำนวณค่า %ความชื้น

$$\% \text{ Moisture} = \frac{\text{Weight of sample before drying} - \text{Weight of sample after drying}}{\text{Weight of sample before drying}} \times 100$$

**3.3.6.2 การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์เถ้า (% Ash)**

เตรียมถ้วยเผา (Crucible) และนำไปเข้าในเตาเผา (Furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นรอให้เย็นและนำไปใส่โถทำแห้ง (Desiccator) เพื่อไล่ความชื้น นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักถ้วยเผา (Crucible) ที่แท้จริง แล้วจึงชั่ง ตัวอย่างละ 2 กรัม แล้วนำเข้าในเตาเผา (Furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นรอให้เย็นแล้วจึงนำไปใส่โถทำแห้ง (Desiccator) และนำไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างอีกครั้งแล้วคำนวณค่า % เถ้า

$$\% \text{ Ash} = \frac{\text{Weight of ash}}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

**3.3.6.3 การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์ไขมัน (% Crude fat)**

ชั่งน้ำหนัก ตัวอย่างละ 2 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Chloroform ($CHCl_3$ : Methanol (MeOH) (2 : 1) 10 เท่าของตัวอย่าง ปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นบดเนื้อที่ 1,957×g ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปกรองผ่าน Buchner funnel ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 3 ฉีดล้างส่วนที่ค้างอยู่ในโถปั่นและกระดาษกรองด้วย Chloroform : Methanol (2 : 1) แล้วนำส่วนที่กรองได้เทลงในกรวยแยก (Separatory funnel) เพื่อแยกเอาสารอินทรีย์ออก แล้วเติม 0.03 M $MgCl_2$ 2.5 เท่าของตัวอย่างลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติม BHT 1% ของตัวอย่างเพื่อป้องกันการเกิดออกซิไดซ์ (Oxidation-reduction) ของสาร แล้วเขย่าให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วไล่อากาศออกด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้นอย่างน้อย 6 ชั่วโมง เก็บไว้ในที่มืดที่ไม่มีแสงสว่าง เมื่อแยกชั้นแล้วจึงดูดชั้นล่างที่เป็น Chloroform และไขมันใส่ในหลอดทดลองหลอดใหม่ นำไประเหยเอาความชื้นออกด้วยเครื่อง Sample concentrators ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจนแห้ง นำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก คำนวนตามสูตรดังนี้

$$\% \textbf{ Crude fat} = \frac{\text{Weight of sample} - \text{Weight of tube}}{\text{Total CHCl3}} \times \frac{100}{\text{Weight of sample}}$$

**3.3.6.3 การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีน (%Crude protein)**

การวิเคราะห์ค่าโปรตีนด้วยวิธีการ Kjeldahl ชั่งน้ำตัวอย่าง 2 กรัม ลงในหลอดย่อยตัวอย่าง (Digestion tube) เติมสารเร่งปฏิกิริยา 2 กรัม (Catalyze mixers : สารผสมระหว่าง Copper sulfate ($CuSO_4$) : potassium sulfate ($K_2SO_4$) อัตราส่วน 1 : 10 แล้วจึงย่อยตัวอย่างด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. $H_2SO_4$ ) จะต้องมี Blank ด้วย 1 หลอด ประกอบไปด้วย Catalyze mixers และ

ย่อยด้วยเครื่องย่อยตัวอย่าง (Kjeldatherm Block Digestor) โดยค่อยๆให้ความร้อน (Heating mantle) จนกระทั่งหมดฟองแล้วค่อยๆเพิ่มความอุณหภูมิจนถึง 400 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารละลายมีลักษณะใสแล้วทิ้งไว้ให้เย็น ไนโตรเจนในตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงโดยมีสารเร่งปฏิกิริยา การกลั่นแอมโมเนีย (Distillation) เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย 15 มิลลิลิตร นำหลอดย่อยตัวอย่าง (Digestion tube) มาต่อเขาเครื่องกลั่นตัวอย่าง (Kjel Sampler) แล้วเติม 40% NaOH 50 มิลลิลิตร โดยการเติม 40% Sodium hydroxide (NaOH) 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำขวดชมพู่ (Erlenmeyer flask) ที่ใส่กรดบอริก 4% (Boric acid ; $H_3BO_3$) 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Indicator แล้วจึงนำมารองรับสารละลายประมาณ 25 มิลลิลิตร ที่ได้จากการกลั่นของเครื่อง ในขั้นตอนนี้ NaOH จะมาทำปฏิกิริยากับเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ที่ได้จากการย่อยตัวอย่างแล้ว จะได้ก๊าซแอมโมเนียและทำปฏิกิริยากับกรดบอริกจะได้สารละลาย จากนั้นจึงนำไปไทเทรต (Titration) ด้วย 0.1N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวอ่อนเป็นสีชมพู โดยเริ่มก่อน Blank เพื่อหาปริมาณไนโตรเจน การคำนวณนำปริมาณสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ใช้ในการไทเทรตไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนด้วยการคูณกับค่าเฉลี่ยของไนโตรเจนในโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 16 (100/16) = 6.25 ได้เป็นค่าปริมาณโปรตีนหยาบ (Crude protein) คำนวนได้ดังนี้

$$\text{\% Nitrogen (\%N)} = \frac{\left(A(\text{มิลลิลิตร}) - B(\text{มิลลิลิตร})\right) \times C(N) \times 0.014 \times 100}{W}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไทเทรต (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไทเทรต (มิลลิลิตร) กับ Blank (มิลลิลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)

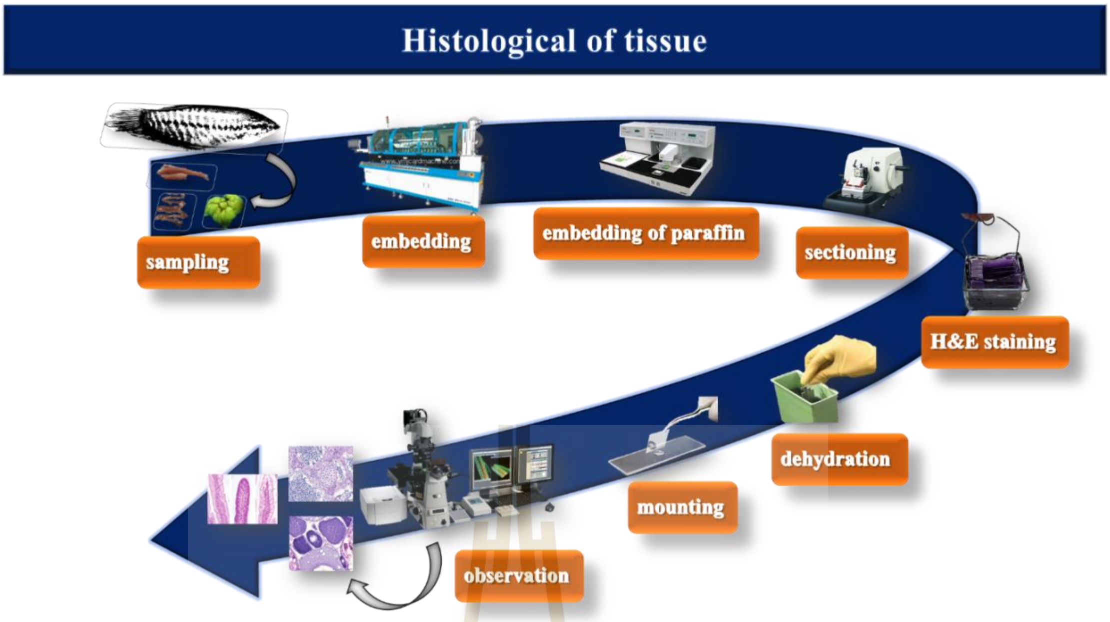
W คือ น้ำหนักของตัวอย่างเปอร์เซ็นโปรตีนของตัวอย่าง (%crude protein) = %N x 6.25

**3.3.7 การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์จุลกายวิภาคศาสตร์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)**

เก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์มารักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วยสารละลาย Bouin เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นแทนที่ด้วย Ethanol ($C_2H_5OH$) 80% และเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำเนื้อเยื่อมาใส่ใน Tissue cassette แล้วผ่านกระบวนการนำน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (Dehydration) โดยใช้สาร Ethyl alcohol จากนั้นค่อยๆนำ Ethanol ออกจากเนื้อเยื่อโดยการแทนที่จาก Ethanol เป็น Butanol แล้วถูกแทนที่ด้วย Xylene เพื่อทำให้ชิ้นเนื้อใสด้วยสารเคมี (Clearing agent) แล้วจึงเข้าสู่กระบวนการขจัด Clearing agent ออกจากเนื้อเยื่อ (Infiltration หรือ Impregnation) ด้วยการนำสารพาราฟิน (Paraffin) เข้ามาแทนที่ซึ่งจะช่วยให้เซลล์ตลอดจน

โครงสร้างเนื้อเยื่อสามารถคงรูปอยู่ได้ เสร็จแล้วจึงทำบล็อกตัวอย่าง (Embedding of paraffin) โดยการฝังเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการคงรูปโครงสร้างเนื้อเยื่อ(Histological processing) แล้วมาลงในพาราฟิน (Paraffin) ที่หลอมเหลวและหล่อขึ้นรูปเป็น Block ด้วยแม่พิมพ์ (Base Molds) ด้วยเครื่อง Embedding center จากนั้นก็วางบน Cold plate เพื่อหล่อเย็นให้ Paraffin แข็งตัวแล้ว จึงแกะ Molds ออกจากแม่พิมพ์ แล้วจึงสามารถนำตัวอย่างมาตัด (Sectioning) ได้เป็นชิ้นบาง ๆ (5 Micrometer = 5/1,000 ไมโครเมิตอน) ด้วยเครื่อง (Microtome) นำชิ้นบาง ๆ ที่ตัดแล้วมาวางบนสไลด์ (Slide) และทำให้แห้งโดยวางบน Hot plate ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นจึงเอานำพาราฟิน (Paraffin) ออกจากเนื้อเยื่อจะถูกย้อมสีด้วย Hematoxylin-Eosin (H&E) เพื่อดูลักษณะของเซลล์และแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อซึ่งมีกระบวนการดังนี้ เริ่มจากกระบวนการการขจัดพาราฟิน (Deparaffinization) โดยจุ่มกระจกสไลด์ที่ มีอยู่ลงไปใน Xylene 2 ครั้ง ครั้งละ10 นาที จากนั้นจึงนำน้ำเข้าสู่เนื้อเยื่อ (Hydration) โดยเริ่มจากจุ่มสไลด์ (Slide) ใน Ethanol 100% 95% 80% และ 50% ที่ความเข้มสูงไปหาต่ำเพื่อให้น้ำเข้ามาแทนที่แล้วจึงจุ่มสไลด์ (Slide) ใน Deionized water เพื่อเตรียมสไลด์ก่อนจะย้อมสี การย้อมสีครั้งแรก (Primary stain) เริ่มจากย้อมด้วยสี Hematoxylin 5 % แล้วล้างด้วยน้ำ แล้วล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) เพื่อเตรียมสไลด์ที่จะย้อมอีกครั้งแล้วจึงทำการย้อมสีซ้ำ (Counterstain) ด้วยสี Eosin แล้วล้างจึงด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water) แล้วจึงเข้าสู่ขั้นตอนการขจัดน้ำ (Dehydration) โดยจุ่มสไลด์ (Slide) ใน Ethanol 70% 80% 90% 95% 99.5% และ 100% ที่ความเข้มต่ำไปหาสูงเพื่อให้น้ำออกจากสไลด์ (Slide) แล้วจึงจุ่มสไลด์ (Slide) ลงใน xylene เพื่อล้างและขจัดสีส่วนเกินออกเพื่อเตรียมทำสไลด์ถาวร (Mounting slide) โดยทำการหยดสาร Mount median ลงบนสไลด์ (Slide) แล้วจึงปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (Cover slide) รีดให้สารกระจายอย่างสม่ำเสมอและรอจนแห้งสนิท แล้วจึงค่อยนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และรูปร่างของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 3.6)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 3.6** แสดงถึงกระบวนการวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์

**การทดลองที่ 2 ผลของฮอร์โมน 17-α-Methyl-testosterone (MT) ต่อการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้**

ในการทดลองที่ 2 นี้ ใช้ปลาทดลองและสถานที่เดียวกันกับในการทดลองที่ 1 ดังที่อธิบายรายละเอียดไว้ในหัวข้อ 3.2

## 3.4 แผนการทดลอง

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยมีกลุ่มการทดลอง (Treatment) 4 กลุ่ม คือ ระดับฮอร์โมนที่ผสมในอาหารที่แตกต่างกัน แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 6 ซ้ำ (Replication) กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

อาหารทดลองคือ อาหารทางการค้าบดละเอียด (ระดับโปรตีน 42% ไขมัน 6% ไฟเบอร์ 4% และความชื้น 12%) ทำการเตรียมอาหารผสมฮอร์โมนโดยการชั่งฮอร์โมน 17-α-methyl testosterone (MT) แล้วนำมาละลายใน เอทานอล (Ethanol) 240 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ใส่ในขวดสเปรย์เขย่าให้ละลาย แล้วฉีดพ่นลงในอาหารที่เตรียมไว้คลุกเคล้าให้ทั่วถึงและนำไปตากให้แห้งในที่ร่มไม่มีแสง เนื่องจากแสงแดดอาจส่งผลให้ฮอร์โมนสลายตัวได้ การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยมีพารามิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

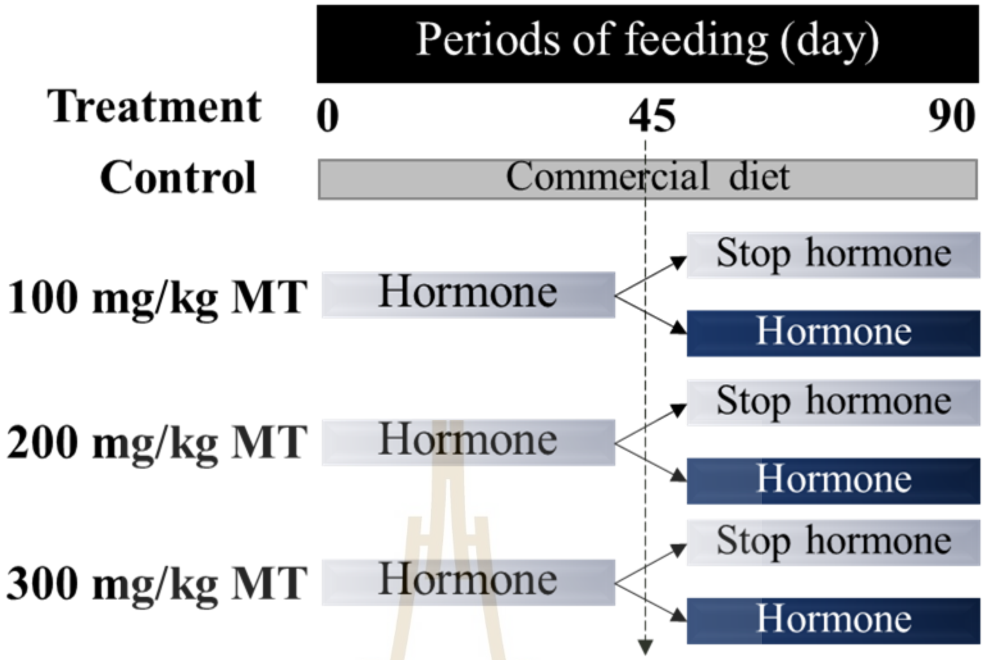
ได้แก่ ค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าเคมีในเลือด ค่าโลหิตวิทยา ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา และค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาซึ่งวิเคราะห์ค่านัยสำคัญของอิทธิพลจากระดับฮอร์โมนที่แตกต่างกันด้วย Analysis of variance (ANOVA) Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p$<0.05) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ส่วนการวิเคราะห์อิทธิพลจากระดับฮอร์โมนที่แตกต่างกัน ต่ออัตราส่วนเพศจะวิเคราะห์ด้วย Chi-square test ($X^2$) เช่นเดียวกันการทดลองที่ 1

**ตารางที่ 3.3** แสดงถึงระดับฮอร์โมนที่ 17-α-methyl testosterone (MT) ผสมในอาหาร

| **กลุ่มที่ (Treatment)** | **ระดับฮอร์โมนที่ผสมในอาหาร (Level of hormone) (mg/kg)** |
|---|---|
| 1 (Control) | 0 |
| 2 (Mt Treated) | 100 |
| 3 (Mt Treated) | 200 |
| 4 (Mt Treated) | 300 |

### 3.4.1 การเลี้ยงการปลาทดลอง

สุ่มลูกปลาสลิดเมื่อมีอายุ 6 วันหลังฟักเข้าสู่การทดลองในกระชังโอล่อนแก้ว (Replication) ที่มีขนาดความกว้าง x ความยาว x ความสูง เท่ากับ 1 x 1 x 1 เมตร จำนวน 6 กระชังต่อกลุ่มทดลอง แต่ละกระชังมีลูกปลา 600 ตัว ให้อาหารผสมฮอร์โมนแปลงเพศ MT 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 4 ครั้ง (8.30 11.30 14.30 และ16.30 นาฬิกา) โดยเริ่มต้นให้อาหารเมื่อปลามีอายุ 7 วันหลังฟัก แปลงเพศ 2 ช่วงเวลาได้แก่ 45 และ 90 วัน หลังจากแปลงเพศได้ถึงระยะเวลา 45 วัน จึงแบ่งครึ่งปลาออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 หยุดให้อาหารแปลงเพศฮอร์โมน MT ส่วนอีกครึ่งนึงก็ยังคงให้อาหารแปลงเพศต่อไปจนครบระยะเวลา 90 วัน เมื่อสิ้นสุดการแปลงเพศแล้วจึงย้ายปลาไปเลี้ยงต่อในกระชัง 2 x 2 x 1.5 เมตร กระชังละ 30 ตัว และให้อาหารทางการค้าวันละ 2 ครั้ง (9.00 และ 15.00 นาฬิกา) จนปลามีอายุ 8 เดือน จึงเก็บตัวอย่างปลาที่แปลงเพศเพื่อตรวจอัตราส่วนเพศ จากนั้นเลือกปลาในช่วงเวลาที่แปลงเพศได้มาทดลองต่อ โดยย้ายปลาเข้าสู่กระชังอวนมุ้งฟ้า ที่มีขนาดความกว้าง x ความยาว x ความสูง เท่ากับ 2 x 2 x 1.5 เมตร 5 กระชังต่อกลุ่มทดลอง กระชังละ 20 ตัว ให้อาหารทางการค้า วันละ 2 ครั้ง (9.00 และ 15.00 นาฬิกา) จนปลามีอายุ 11 เดือน จึงเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 ในระหว่างการทดลองจะทำการวัดค่าคุณภาพน้ำได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ ค่าการละลายของออกซิเจนในน้ำ (Dissolved oxygen) เท่ากับ 4.50-6.90 และ 7.75-8.33 มิลลิกรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7.76-8.13 และ 8.20-8.65 อุณหภูมิน้ำเท่ากับ 28.0-29.9 และ 30.3-32.9 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.7)




**ภาพที่ 3.7** จำนวนลูกปลาในแต่ละซ้ำและแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน 17-α-methyl testosterone (MT)

**3.4.2 การเก็บตัวอย่าง**

ในระหว่างที่การเลี้ยงปลาทดลองมีการจดบันทึกปริมาณอาหารที่ลูกปลากินในแต่ละเดือน ในขณะที่ทดลองมีการจดบันทึกทุกครั้งที่มีปลาตาย และมีการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้งตลอดช่วงระยะเวลาที่ทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ซึ่งมีการเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 1 หลังจากเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 เดือน และในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 เมื่อปลามีอายุ 11 เดือน

**3.4.3 การศึกษาด้านค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาเพื่อตรวจดูสุขภาพของปลา เช่น Red blood cell number Hematocrit และHemoglobin เป็นต้น เพื่อเป็นการศึกษาองค์ประกอบของเลือด เช่น จำนวนเม็ดเลือด ขนาดเม็ดเลือด ปริมาณ Hemoglobin เป็นต้น ดังเช่นการทดลองที่ 1

**3.4.4 การศึกษาด้านการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีในเลือด (Blood chemical)**

การวิเคราะห์เมตาโบไลต์ (Metabolite) ในเลือด ทั้งกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล และโปรตีน การวิเคราะห์ระดับกลูโคสโดยใช้พลาสมา ดังเช่นการทดลองที่ 1

**3.4.5 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกัน (Immunity)**

การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกัน (Immunity) วิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้ การวิเคราะห์ Lysozyme activity การวิเคราะห์ Alternative complement (ACH 50) และการวิเคราะห์ Total immunoglobulin

(Total ig) ดังเช่นการทดลองที่ 1

**3.4.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition)**

เมื่อปลาสลิดอายุ 11 เดือน จึงสุ่มปลาจากแต่ละกลุ่มมากลุ่มละ 5 ตัว สับปลาสลิดเป็นชิ้น ๆ เพื่อนำมาบดทั้งตัวเพื่อวัดสัดส่วนองค์ประกอบสารอาหารทั้งตัวปลา (Whole body composition) ดังเช่นการทดลองที่ 1

**3.4.7 การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์เนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)**

เริ่มจากเก็บรวบรวมตัวอย่าง อวัยวะสืบพันธุ์และลำไส้ทั้งหมดได้รับเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วยกระบวนการ fixation ในสารละลายของ Bouin เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นสารละลายจะถูกแทนที่ด้วย Ethanol 80% และเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ดังเช่นการทดลองที่ 1

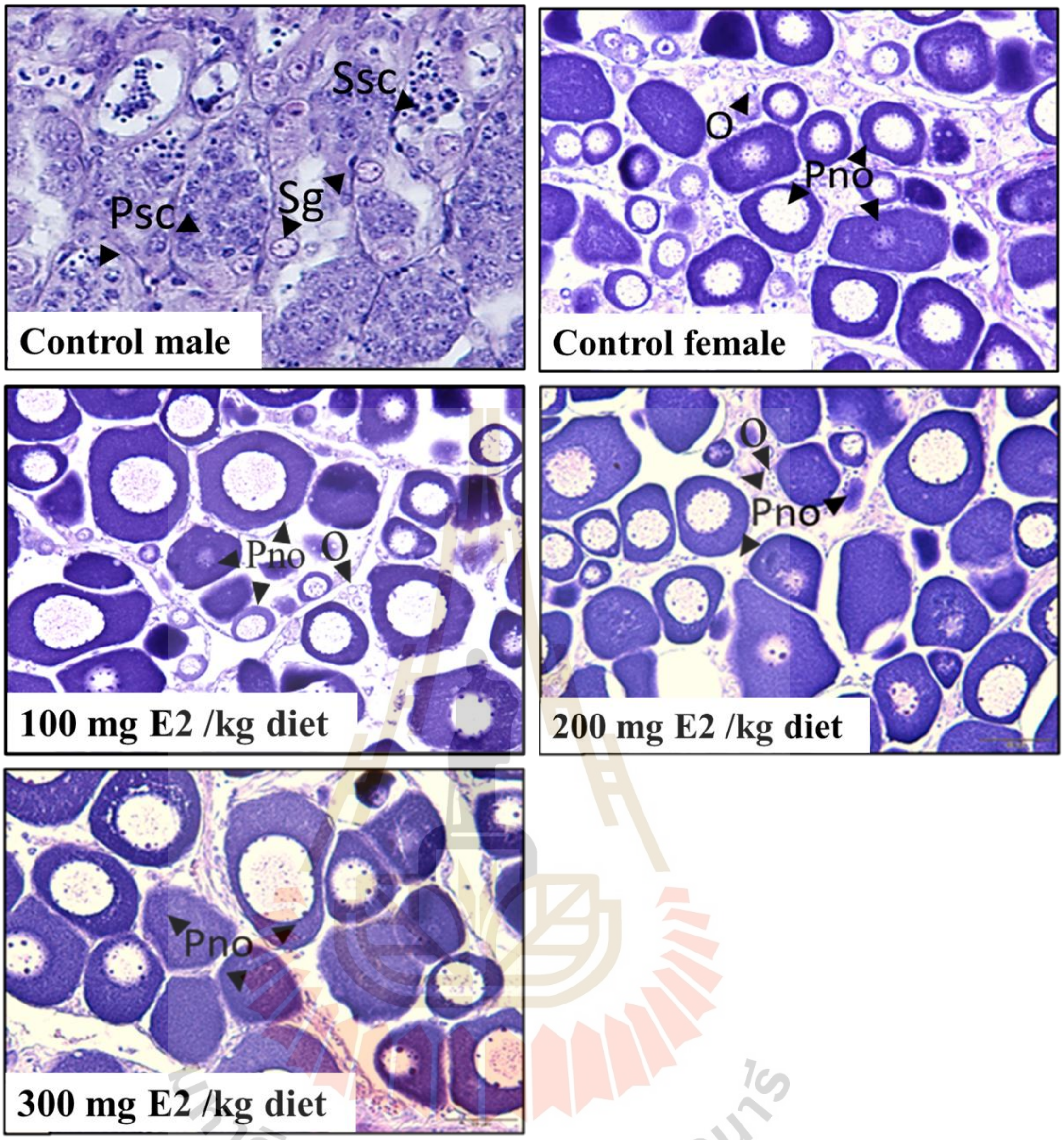
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 4
# ผลการทดลอง

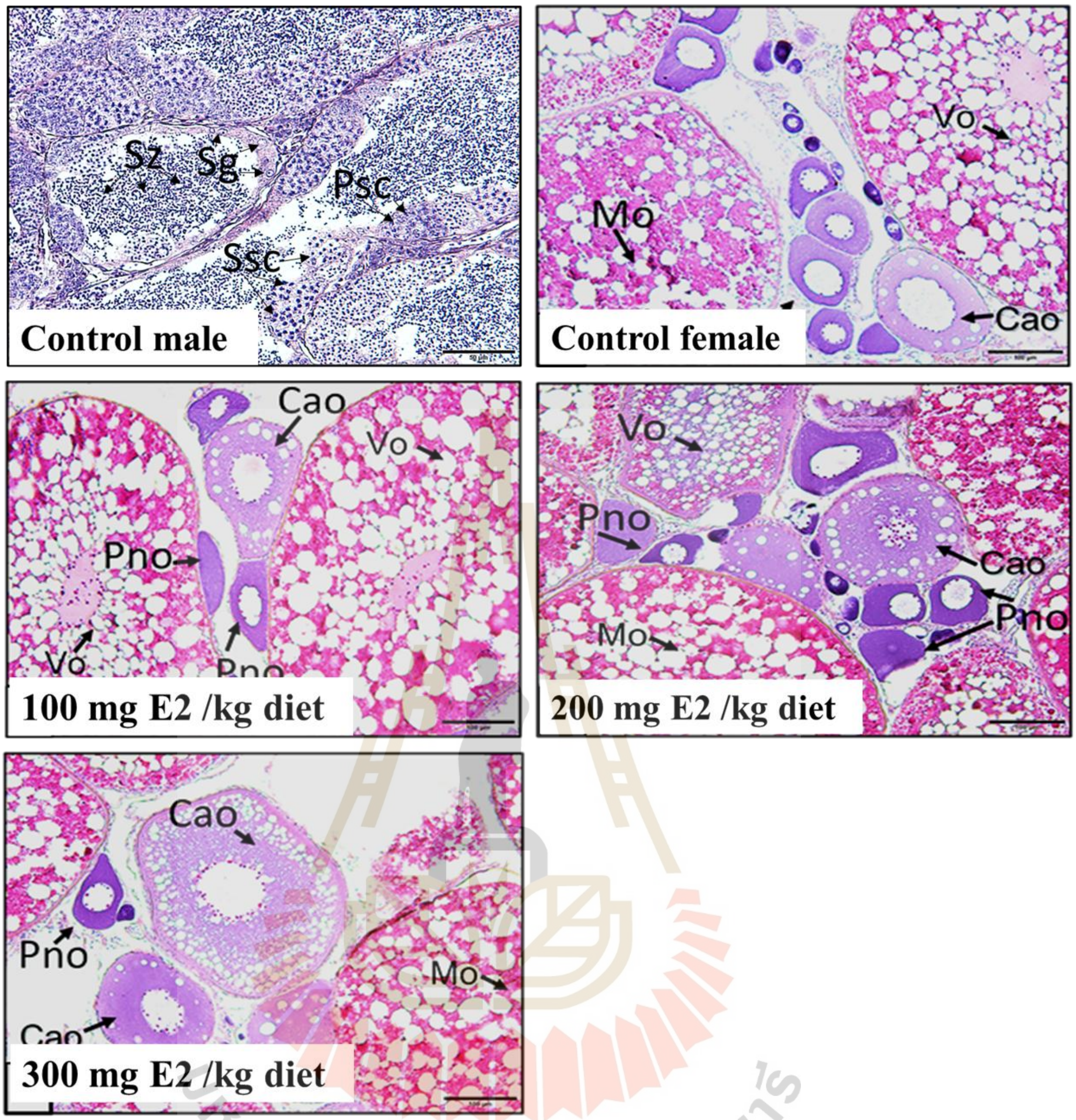
## 4.1 การทดลองที่ 1 การฮอร์โมนแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

### 4.1.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยการให้อาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (มก./กก.) เพื่อแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศเมีย โดยแบ่งเป็น 2 ช่วงระยะเวลาคือ 45 และ 90 วัน จากนั้นเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุ 8 เดือน แล้วจึงเก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์มาตรวจสอบอัตราส่วนเพศด้วยการดูลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่า การเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ความเข้มข้นในแต่ละระดับเป็นระยะเวลา 45 วัน มีอัตราในการแปลงเพศเป็นเพศเมียน้อยกว่าเพศผู้ และในขณะที่การเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน มีอัตราส่วนเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ (ภาพที่ 4.1) ตามลำดับ อวัยวะสืบพันธุ์ของปลาสลิดที่มีระยะเวลาในการให้อาหารฮอร์โมนที่แตกต่างกันมีองค์ประกอบภายในเซลล์ไม่ได้แตกต่างกัน โดยตรวจพบไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) ในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของปลาสลิด โดยไข่ส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) จากนั้นเมื่อนำปลาทดลองที่แปลงเพศเป็นเวลา 90 วัน มีอายุ 11 เดือน เก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์อีกครั้งเพื่อตรวจสอบการพัฒนาการทางเนื้อเยื่อวิทยา ซึ่งพบว่า อวัยวะสืบพันธุ์ของปลาสลิดเพศเมีย มีองค์ประกอบภายในไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม โดยพบเซลล์ไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) ระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) และ ระยะ maturation oocyte (Mo) ซึ่งไข่ส่วนใหญ่ที่ปรากฏจะอยู่ในระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) และ ระยะ maturation oocyte (Mo) (ภาพที่ 4.2) ตามลำดับ ดังนั้นปลาสลิดเพศเมียกลุ่มทดลองที่ระยะเวลา 90 วัน จึงมีพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ไปจนกระทั่งเป็นไข่อย่างปกติเมื่อเปรียบเทียบกับปลาสลิดเพศเมียของกลุ่มควบคุม




**ภาพที่ 4.1** ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศเมียอายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเป็นเพศเมียที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระยะเวลา 90 วัน มีไข่ 3 ระยะที่ตรวจพบ คือ ระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) ตามลำดับ




**ภาพที่ 4.2** ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศเมียอายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเป็นเพศเมียที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 90 วัน มีไข่ 3 ระยะที่ตรวจพบ คือ ระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) ตามลำดับ และเมื่อนำปลาสลิดแปลงเพศ 90 วัน มาเลี้ยงต่อจนอายุปลา 11 เดือน จึงตรวจลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ตามกลุ่มควบคุมระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ไข่มี 4 ระยะที่ตรวจพบคือ ระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) ระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) และระยะ maturation oocyte (M) ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**4.1.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. โดยศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศเมีย เป็นระยะเวลา 45 วัน จากนั้นจึงเลี้ยงปลาต่อจนมีอายุ 8 เดือนแล้ว นำไปตรวจเพศด้วยวิธีจุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad) และวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราส่วนเพศทางสถิติโดยใช้ Chi-square test พบว่า ปลาสลิดที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 และ 300 มก./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียที่แตกต่างกันกับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 100 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.1) โดยมีอัตราส่วนเพศเมียตามระดับฮอร์โมนอยู่ในช่วง 27-59% ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาการทดลองเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน เพื่อแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศเมีย พบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. โดยมีอัตราส่วนเพศเมียตามระดับฮอร์โมนอยู่ในช่วง 54-100% ซึ่งอัตราส่วนเพศส่วนเพศเมียที่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) และกลุ่มทดลองที่ใช้ฮอร์โมน E2 ระดับความเข้มข้น 200 มก./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียมากที่สุด (ตารางที่ 4.1)

**4.1.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant)**

การศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาสลิดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. โดยในการทดลองแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศเมียในแต่ละกลุ่มทดลองเป็นระยะเวลา 45 วัน และเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 8 เดือน พบว่า ปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight), น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain), น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG), อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) (ตารางที่ 4.2) ต่อมาเป็นการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมีย ด้วยฮอร์โมน E2 ที่ความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 8 เดือน พบว่า ปลากลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมนทุกกลุ่มการทดลองมีน้ำหนักที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.2) และเมื่อเลี้ยงปลาทดลองต่อด้วยอาหารทางการค้าจนอายุ 11 เดือน พบว่า อัตราการรอดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) (ตารางที่ 4.2) แต่มีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed

conversion ratio; FCR) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) นอกจากนี้ค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ของปลาสลิดจากปลาเพศเมียกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่อายุ 11 เดือนมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.2) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าการที่ปลาสลิดสลิดได้รับฮอร์โมน E2 ทำให้แปลงเป็นเพศเมียแล้ว น้ำหนักของปลาสลิดเพศเมียกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้น น้ำหนักตัวที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นอิทธิพลที่มาจากเพศ และไม่ได้เป็นผลกระทบจากฮอร์โมน E2

**ตารางที่ 4.1** การศึกษาอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับต่าง ๆ กับปลากลุ่มควบคุม

| Parameter | กลุ่มควบคุม | 100 E2 (mg/kg) | 200 E2 (mg/kg) | 300 E2 (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 45 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2)** | | | | |
| No. male | 50 | 84 | 71 | 45 |
| Male (%) | 44.81±17.19$^{ab}$ | 72.34±11.64$^{b}$ | 59.96±19.13$^{ab}$ | 40.00±26.08$^{a}$ |
| No. female | 62 | 32 | 46 | 67 |
| Female (%) | 55.19±17.19$^{ab}$ | 27.66±11.64$^{b}$ | 39.17±17.70$^{ab}$ | 59.17±26.91$^{a}$ |
| No. Intersex | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Intersex (%) | - | - | 1.85±0.00 | 1.67±0.00 |
| $X^2$ | 1.0816 | 19.8920 | 4.0000 | 4.0000 |
| *p-values* | 0.2983 | <0.0000 | 0.0455 | 0.0455 |
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2)** | | | | |
| No. male | 40 | 9 | 0 | 4 |
| Male (%) | 45.56±15.44$^{a}$ | 10.00±6.99$^{b}$ | - | 4.44±3.85$^{b}$ |
| No. female | 45 | 75 | 85 | 81 |
| Female (%) | 54.44±15.44$^{b}$ | 88.89±6.89$^{a}$ | 100±0.00$^{a}$ | 95.56±5.44$^{a}$ |
| No. Intersex | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Intersex (%) | - | 1.11±0.00 | - | - |
| $X^2$ | 0.7744 | 64.0000 | 100.0000 | 83.1740 |
| *p-values* | 0.3789 | <0.0000 | <0.0000 | <0.0000 |

หมายเหตุ : a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ภายในแถวแนวนอน ($p$<0.05), Chi-square ($X^2$) หมายถึง ค่าความแตกต่างที่วัดได้ (ค่าสังเกต) ซึ่งเปรียบเทียบกับค่าคาดหวังโดยมีสมมติฐานอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียของปลาสลิดจะเท่า 1:1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.2** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 E2 (mg/kg)** | **200 E2 (mg/kg)** | **300 E2 (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 45 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 8 เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.36±0.02 | 2.35±0.02 | 2.33±0.02 | 0.434 |
| Final weight (g) | 42.26±9.32 | 42.84±9.21 | 38.31±8.96 | 38.78±11.38 | 32.58±14.61 | 0.510 |
| Weight gain (g) | 39.91±9.34 | 40.49±9.19 | 35.95±8.95 | 36.43±11.38 | 30.25±14.61 | 0.511 |
| ADG (g/day) | 0.51±0.12 | 0.51±0.12 | 0.46±0.11 | 0.46±0.14 | 0.38±0.18 | 0.511 |
| SGR (%/day) | 2.59±0.23 | 2.60±0.21 | 2.47±0.26 | 2.48±0.28 | 2.24±0.51 | 0.308 |
| FCR (%) | 0.57±0.12 | 0.56±0.11 | 0.64±0.18 | 0.64±0.17 | 0.90±0.51 | 0.186 |
| Survival rate (%) | 61.45±6.96[a] | 61.45±6.96[a] | 59.70±7.90[a] | 47.18±4.03[b] | 44.80±3.43[b] | <0.001 |
| GSI (%) | 0.17±0.04 | 3.88±2.76 | 4.93±4.89 | 4.85±1.72 | 5.41±3.96 | 0.054 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.2** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน (ต่อ)

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 E2 (mg/kg)** | **200 E2 (mg/kg)** | **300 E2 (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 8 เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.34±0.03 | 2.35±0.03 | 0.939 |
| Final weight (g) | 25.16±5.31 | 24.36±3.81 | 27.00±3.67 | 26.23±3.93 | 24.31±2.40 | 0.707 |
| Weight gain (g) | 22.81±5.30 | 22.01±3.81 | 24.65±3.67 | 23.88±3.92 | 21.96±2.41 | 0.706 |
| ADG (g/day) | 0.29±0.07 | 0.28±0.05 | 0.31±0.05 | 0.30±0.05 | 0.27±0.03 | 0.706 |
| SGR (%/day) | 2.94±0.28 | 2.91±0.19 | 3.04±0.17 | 3.00±0.18 | 2.91±0.13 | 0.716 |
| FCR (%) | 1.02±0.31 | 1.03±0.35 | 0.91±0.13 | 0.94±0.15 | 1.01±0.11 | 0.738 |
| Survival rate (%) | 69.99±11.60 | 69.99±11.60 | 62.48±8.57 | 58.71±4.22 | 58.28±8.24 | 0.098 |
| GSI (%) | 0.33±0.16$^{b}$ | 6.69±2.05$^{a}$ | 5.79±2.39$^{a}$ | 4.11±1.18$^{a}$ | 4.25±0.99$^{a}$ | <0.001 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.2** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน (ต่อ)

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 E2 (mg/kg)** | **200 E2 (mg/kg)** | **300 E2 (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.34±0.03 | 2.35±0.03 | 0.939 |
| Final weight (g) | 58.18±2.00$^{b}$ | 64.97±11.08$^{ab}$ | 66.68±3.96$^{ab}$ | 77.30±12.49$^{a}$ | 79.62±3.94$^{a}$ | 0.004 |
| Weight gain (g) | 55.82±2.00$^{b}$ | 62.62±11.08$^{ab}$ | 64.33±3.96$^{ab}$ | 74.96±12.49$^{a}$ | 77.27±3.94$^{a}$ | 0.004 |
| ADG (g/day) | 0.29±0.01$^{b}$ | 0.33±0.06$^{ab}$ | 0.34±0.02$^{ab}$ | 0.39±0.07$^{b}$ | 0.40±0.02$^{b}$ | 0.003 |
| SGR (%/day) | 1.68±0.02$^{b}$ | 1.73±0.08$^{ab}$ | 1.75±0.03$^{ab}$ | 1.83±0.09$^{a}$ | 1.84±0.03$^{a}$ | 0.002 |
| FCR (%) | 1.98±0.07$^{a}$ | 1.81±0.29$^{ab}$ | 1.73±0.11$^{abc}$ | 1.51±0.25$^{bc}$ | 1.43±0.07$^{c}$ | 0.002 |
| Survival rate (%) | 89.00±10.84 | 89.00±10.84 | 90.00±10.00 | 88.00±11.51 | 90.00±10.00 | 0.989 |
| GSI (%) | 0.27±0.09$^{b}$ | 11.53±2.55$^{a}$ | 10.99±5.31$^{a}$ | 9.23±2.94$^{a}$ | 8.67±2.54$^{a}$ | <0.001 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**4.1.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าโลหิตวิทยาของปลาสลิดเพศเมียอายุ 11 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน E2 ในแต่ละระดับความเข้มข้นมีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.3) ขณะที่ค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 200 และ 300 มก./กก.อาหาร สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.3) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 3.34-4.21 $g/dl^{-1}$ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบินระหว่างเพศเมียในธรรมชาติกับเพศเมียแปลงเพศปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างเพศผู้และเพศเมียนั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ดังนั้นเมื่อปลาสลิดได้รับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลกระตุ้นให้ปริมาณฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้น

**4.1.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดของปลาสลิดแปลงเพศในกลุ่มทดลองมีค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด ได้แก่ กลูโคส (Glucose) ไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglyceride) คลอเลสเตอรอล (Cholesterol) และโปรตีน (Protein) มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมนที่มากขึ้น โดยค่ากลูโคสและไตรกลีเซอร์ไรด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.3) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 45.5-87.40 mg/dl และ 147.60-181.35 mg/dl ตามลำดับ ส่วนค่า Blood urea nitrogen ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p$>0.05) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบปลาสลิดระหว่างเพศเมียในธรรมชาติกับเพศเมียแปลงเพศ ปรากฏว่าค่ากลูโคส, ไตรกลีเซอร์ไรด์, คลอเลสเตอรอล, โปรตีน และค่า Blood urea nitrogen ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) นอกจากนี้ในการเปรียบเทียบปลาสลิดระหว่างเพศผู้และเพศเมียพบว่า ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดของปลาสลิดเพศผู้ในกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับเพศเมียกลุ่มควบคุมและเพศเมียกลุ่มทดลอง ดังนั้นระดับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มสูงขึ้น จึงส่งผลต่อแนวโน้มการสะสมพลังงาน โปรตีน และไขมันที่เพิ่มสูงขึ้นด้วย

**4.1.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาได้แก่ ค่าไลโซไซม์ (lysozyme activity) ค่า Alternative complement pathway (ACH 50) และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total immunoglobulin) ของปลาสลิดแปลงเพศ โดยในกลุ่มทดลองมีค่าไลโซไซม์ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับกลุ่มควบคุมทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ตารางที่ 4.3) ในขณะที่ค่า Alternative complement pathway และ ค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.3) มีค่าอยู่ในช่วง 298-362 (units/mL$^{-1}$)$^{6}$ และ 3.56-5.79 (mg/mL$^{-1}$)$^{5}$ ตามลำดับ ดังนั้น ในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E2 ส่งผลให้มีค่า ACH50 และค่าโปรตีนในพลาสมามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

**4.1.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนอายุปลา 11 เดือน พบว่าปลาสลิดในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีผลทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีนหยาบ (Crude protein) ไขมันหยาบ (Crude fat) เถ้า (Crude ash) และ NFE (Nitrogen free extract) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.4) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 64-65 % 22-23% 3.33-3.62% 4.84-5.81% และ 1.74-4.40% ตามลำดับ ดังนั้นการปลาสลิดได้รับฮอร์โมน E2 ส่งให้มีเปอร์เซ็นโปรตีนและไขมันในร่างกายที่เพิ่มสูงขึ้น

**ตารางที่ 4.3** การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา(Hematology) ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุม เพศผู้** | **กลุ่มควบคุม เพศเมีย** | **100 E2 (mg/kg)** | **200 E2 (mg/kg)** | **300 E2 (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าโลหิตวิทยาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| RBC Count (Cell x$10^{12(-1)}$) | 1.39±0.14 | 1.42±0.13 | 1.41±0.07 | 1.39±0.06 | 1.42±0.07 | 0.965 |
| Hematocrit (%) | 49.06±0.68 | 47.89±1.13 | 44.01±1.48 | 44.57±3.51 | 45.36±1.92 | 0.069 |
| Hemoglobin (g/$dl^{-1}$) | 3.34 0.05$^{b}$ | 3.60±0.40$^{ab}$ | 3.57±0.34$^{ab}$ | 4.21±0.49$^{a}$ | 4.09±0.170$^{a}$ | 0.041 |
| **ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| Glucose (mg/dl) | 45.53±0.47$^{b}$ | 60.70±9.66$^{ab}$ | 49.53±4.39$^{b}$ | 76.70±8.46$^{a}$ | 80.70±7.00$^{a}$ | 0.001 |
| Triglyceride (mg/dl) | 147.60±7.31$^{b}$ | 167.93±6.84$^{ab}$ | 169.18±11.96$^{ab}$ | 177.68±5.92$^{a}$ | 181.35±8.98$^{a}$ | 0.019 |
| Cholesterol (mg/dl) | 111.78±4.71 | 123.60±5.57 | 126.33±8.60 | 128.45±6.33 | 130.95±7.86 | 0.172 |
| Total protein (g/dl) | 2.34 0.17 | 2.08±0.42 | 2.22±0.18 | 2.40±0.22 | 2.43±0.35 | 0.707 |
| Blood urea nitrogen (g/dl) | 0.81±0.09 | 0.69±0.09 | 0.69±0.07 | 0.78±0.06 | 0.69±0.06 | 0.165 |
| **ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| ACH50 (Units $mL^{-1}$)$^{6}$ | 295.45±4.95$^{c}$ | 298.41±3.78$^{c}$ | 362.72±9.96$^{a}$ | 319.74±8.75$^{b}$ | 324.68±15.20$^{b}$ | <0.001 |
| Lysozyme (lg $mL^{-1}$) | 5.56±0.18 | 5.84±0.11 | 5.87±0.13 | 5.83±0.34 | 5.70 0.36 | 0.742 |
| Total Ig (mg $mL^{-1}$)$^{5}$ | 3.56±0.17$^{b}$ | 3.72±0.23$^{b}$ | 3.56±0.23$^{b}$ | 5.57±0.18$^{a}$ | 5.79±0.22$^{a}$ | <0.001 |

หมายเหตุ: a b และ c ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ภายในแถวแนวนอน

**ตารางที่ 4.4** การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| Parameter | กลุ่มควบคุม | 100 E2 (mg/kg) | 200 E2 (mg/kg) | 300 E2 (mg/kg) | *p-values* |
|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) อายุ 11 เดือน** | | | | | |
| Moisture (%) | $65.37\pm0.18^{a}$ | $64.34\pm0.12^{b}$ | $65.28\pm0.12^{a}$ | $65.38\pm0.10^{a}$ | <0.001 |
| Crude protein (%) | $22.05\pm0.17^{b}$ | $23.52\pm0.13^{a}$ | $23.54\pm0.28^{a}$ | $23.51\pm0.13^{a}$ | <0.001 |
| Crude fat (%) | $3.35\pm0.01^{b}$ | $3.33\pm0.02^{b}$ | $3.62\pm0.02^{a}$ | $3.62\pm0.01^{a}$ | <0.001 |
| Crude ash (%) | $4.84\pm0.02^{c}$ | $5.81\pm0.06^{a}$ | $5.82\pm0.04^{a}$ | $5.33\pm0.01^{b}$ | <0.001 |
| NFE (%) | $4.40\pm0.32^{a}$ | $3.00\pm0.21^{b}$ | $1.74\pm0.40^{c}$ | $2.16\pm0.15^{c}$ | <0.001 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

## 4.2 การทดลองที่ 2 การแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

### 4.2.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)

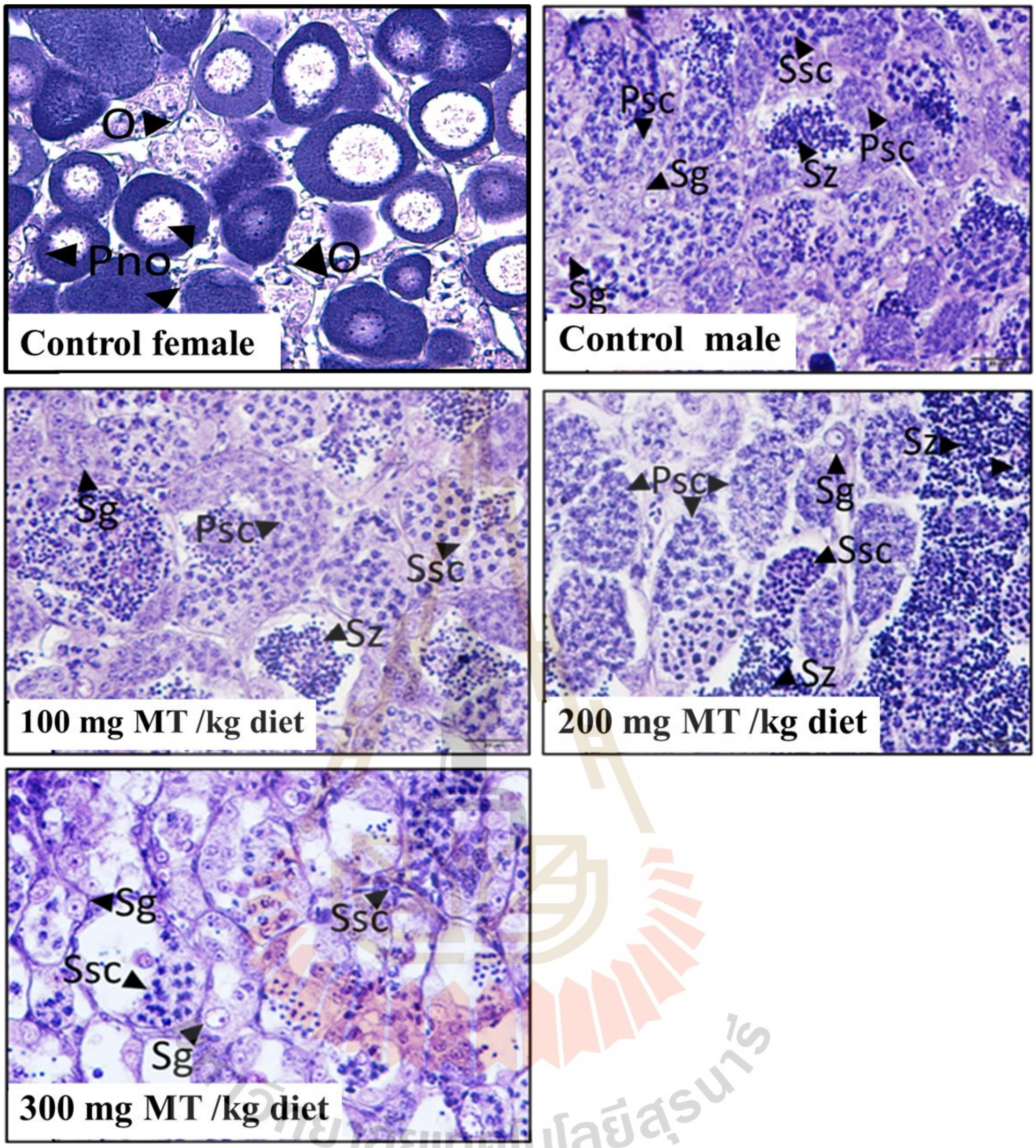
การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้แล้ว ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยการให้อาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มก./กก.) โดยแบ่งเป็น 2 ช่วงระยะเวลาคือ 45 และ 90 วัน จากนั้นจึงเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุ 8 เดือน แล้วจึงเก็บตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์มาตรวจสอบอัตราส่วนเพศ โดยดูลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า การเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ความเข้มข้นแต่ละระดับเป็นระยะเวลา 45 วัน มีอัตราการแปลงเพศเป็นเพศผู้ที่น้อยกว่าเพศเมีย ในการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ที่ระยะเวลา 90 วัน มีอัตราการแปลงเพศเป็นเพศผู้ที่สูงกว่าเพศเมีย และจากลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาได้แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบของเซลล์สืบพันธุ์ที่ระยะต่างๆ (ภาพที่ 4.3) โดยมีองค์ประกอบภายในเซลล์ที่ไม่ได้แตกต่างกัน ซึ่งพบเซลล์ในระยะ Spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ Spermatozoa (Sz) โดยพบเซลล์ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) เป็นส่วนใหญ่ และเช่นเดียวกันเมื่อปลาที่ได้รับการแปลงเพศที่ระยะเวลา 90 วัน มีอายุ 11 เดือน ได้แสดงให้เห็นว่าปลาที่ได้รับฮอร์โมน MT ไม่ได้แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมโดยพบเซลล์ในระยะ Spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc)

และ Spermatozoa (Sz) ส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นเซลล์ระยะ spermatozoa (Sz) (ภาพที่ 4.4) ดังนั้นปลาสลิดเพศผู้กลุ่มทดลองที่ระยะเวลา 90 วัน จึงมีพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ไปจนกระทั่งเป็นสเปิร์มอย่างปกติเมื่อเปรียบเทียบกับเพศผู้กลุ่มควบคุม

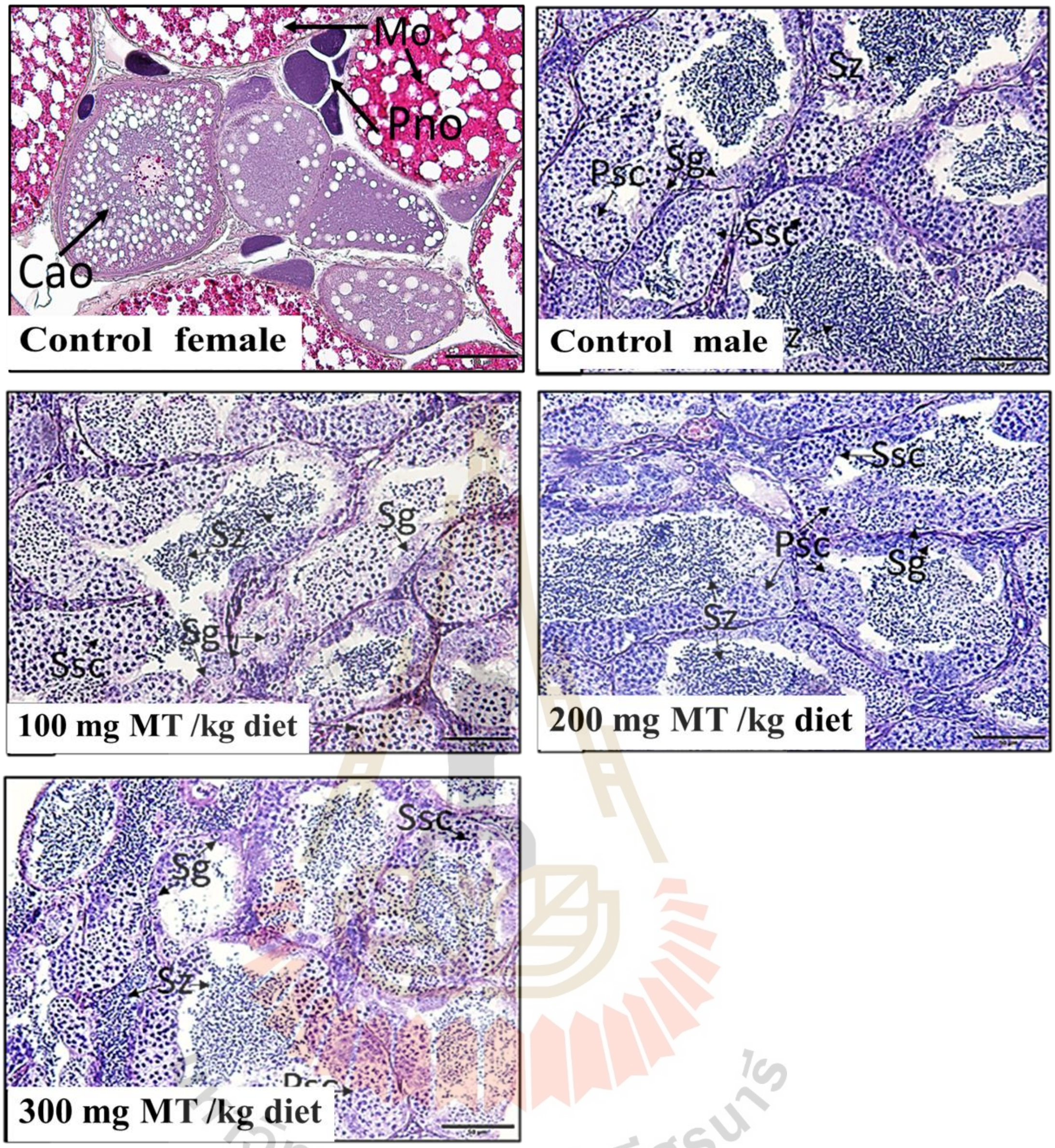
**4.2.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio)**

การทดลองการแปลงเพศปลาสลิดด้วยการเลี้ยงปลาตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. โดยเป็นการแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้เป็นระยะเวลา 45 และ 90 วัน พบว่า ปลาในกลุ่มทดลองมีอัตราส่วนเพศส่วนเพศผู้ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.5) และในการทดลองต่อมาเป็นการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ ที่ระยะเวลา 90 วัน ผลการศึกษาพบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร มีอัตราส่วนเพศส่วนเพศผู้ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.5) อย่างไรก็ตามปลาในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร นั้นสามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ได้ และในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ระดับ 200 มก./กก.อาหาร ส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศผู้มากถึง 94 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




**ภาพที่ 4.3** ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศผู้อายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน MT เพื่อแปลงเป็นเพศผู้ที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารที่ระยะเวลา 90 วัน มีสเปิร์ม 4 ระยะที่ตรวจพบ คือ ระยะ spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ spermatozoa (Sz) ตามลำดับ




**ภาพที่ 4.4** ลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดเพศผู้อายุปลา 8 เดือน ที่ได้รับฮอร์โมน MT เพื่อแปลงเป็นเพศผู้ที่ระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระยะเวลา 90 วัน มีสเปิร์ม 4 ระยะที่ตรวจพบ คือ ระยะ spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ spermatozoa (Sz) ตามลำดับ และเมื่อปลาสลิดแปลงเพศ 90 วัน มีอายุปลา 11 เดือน จึงตรวจลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ตามกลุ่มควบคุมระดับ 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีสเปิร์ม 4 ระยะที่ตรวจพบ คือ spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ spermatozoa ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.5** การศึกษาอัตราส่วนเพศระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. กับปลากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุม** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** |
|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 45 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT)** | | | | |
| No. male | 67 | 57 | 58 | 43 |
| Male (%) | 47.75±15.08 | 40.47±14.39 | 40.30±12.46 | 32.74±26.70 |
| No. female | 79 | 81 | 85 | 84 |
| Female (%) | 54.25±15.08 | 58.01±13.41 | 58.99±12.02 | 65.81±26.61 |
| No. Intersex | - | 2 | 1 | 2 |
| Intersex (%) | - | 1.52±0.29 | 0.67±0.00 | 1.45±0.92 |
| $X^2$ | 0.7217 | 2.5600 | 3.2400 | 9.9856 |
| *p-values* | 0.3956 | 0.1096 | 0.0719 | 0.0016 |
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT)** | | | | |
| No. male | 48 | 79 | 80 | 69 |
| Male (%) | 55.56±10.89$^b$ | 93.33±5.96$^a$ | 94.44±5.02$^a$ | 81.16±17.86$^a$ |
| No. female | 37 | 6 | 5 | 16 |
| Female (%) | 44.44±10.89$^a$ | 6.67±5.96$^b$ | 6.67±5.02$^b$ | 18.33±17.86$^b$ |
| $X^2$ | 1.2544 | 74.9960 | 78.8540 | 40.1960 |
| *p-values* | 0.2626 | <0.0000 | <0.0000 | <0.0000 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ภายในแถวแนวนอน, Chi-square ($X^2$) หมายถึง ค่าความแตกต่างที่วัดได้ (ค่าสังเกต) ซึ่งเปรียบเทียบกับค่าคาดหวังโดยมีสมมติฐานอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียของปลาสลิดจะเท่า 1:1

### 4.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 45 และ 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 8 เดือน พบว่า ปลาในกลุ่มทดลองมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น

เนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.6) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 23-32 กรัม 21-29 กรัม 0.27-0.38 กรัม/วัน 2.07-2.39 %/วัน และ 0.75-1.05 % ตามลำดับ โดยอัตราการรอดของปลาในกลุ่มทดลอง 100 มก./กก. ต่ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.6) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 35-38% และในปลาเพศผู้กลุ่มทดลองและเพศผู้กลุ่มควบคุมมีค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Gonadosomatic index; GSI) ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเพศเมียกลุ่มควบคุม มีค่าอยู่ในช่วง 0.11-3.72% ต่อมาเป็นการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 8 เดือน พบว่า ปลากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตรารอดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) มีอัตรารอดอยู่ในช่วง 42-56% (ตารางที่ 4.6) จากนั้นเลี้ยงปลาในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุ 11 เดือน พบว่า อัตราการรอดของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) (ตารางที่ 4.6) และมีสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (ตารางที่ 4.6) และค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ปลาสลิดของอายุ 8 และ 11 เดือน จากเพศผู้กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเพศเมียกลุ่มควบคุม ดังนั้น การที่ปลาสลิดได้รับฮอร์โมน MT ไม่ได้ทำให้น้ำหนักของปลาสลิดเพิ่มสูงขึ้น และอิทธิพลของฮอร์โมน MT จึงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้เมื่อสังเกตค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ปลาสลิดของเพศผู้จะเห็นว่าน้อยกว่าในเพศเมีย

**4.2.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุ 11 เดือน พบว่า ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) และค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ของปลากลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.7) และเมื่อเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาของปลากลุ่มควบคุมเพศเมีย กลุ่มควบคุมเพศผู้และกลุ่มทดลองเพศผู้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ดังนั้น การให้ฮอร์โมน MT ในปลาสลิดทุกกลุ่มทดลองเป็นระยะเวลา 90 วัน จึงไม่มีผลกระทบเชิงลบต่อค่าโลหิตวิทยา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.6** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 45 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 8 เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.35±0.02 | 2.36±0.02 | 2.34±0.02 | 0.254 |
| Final weight (g) | 24.78±2.41$^{ab}$ | 24.50±6.97$^{ab}$ | 18.81±1.97$^{b}$ | 19.28±2.72$^{b}$ | 32.01±5.89$^{a}$ | 0.001 |
| Weight gain (g) | 22.43±2.42$^{ab}$ | 22.15±6.97$^{ab}$ | 16.46±1.98$^{b}$ | 16.92±2.73$^{b}$ | 29.68±5.89$^{a}$ | 0.001 |
| ADG (g/day) | 0.28±0.03$^{ab}$ | 0.28±0.09$^{ab}$ | 0.21±0.03$^{b}$ | 0.21±0.03$^{b}$ | 0.38±0.07$^{a}$ | 0.001 |
| SGR (%/day) | 2.03±0.11$^{ab}$ | 1.98±0.29$^{ab}$ | 1.71±0.12$^{b}$ | 1.73±0.17$^{b}$ | 2.30±0.20$^{a}$ | <0.001 |
| FCR (%) | 0.98±0.11$^{ab}$ | 1.05±0.28$^{ab}$ | 1.33±0.15$^{a}$ | 1.32±0.24$^{a}$ | 0.76±0.15$^{b}$ | <0.001 |
| Survival rate (%) | 58.48±4.21$^{a}$ | 58.48±4.21$^{a}$ | 35.78±4.70$^{b}$ | 51.24±6.16$^{ab}$ | 47.93±9.22$^{ab}$ | <0.001 |
| GSI (%) | 0.21±0.16$^{b}$ | 3.72 2.78$^{a}$ | 1.07 0.50$^{b}$ | 0.11±0.03$^{b}$ | 0.13±0.01$^{b}$ | 0.001 |

หมายเหตุ: a และ b ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.6** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน (ต่อ)

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ ค เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.03 | 2.35±0.03 | 2.35±0.03 | 2.36±0.02 | 2.34±0.02 | 0.923 |
| Final weight (g) | 21.85±4.86 | 24.52±6.84 | 22.12±2.46 | 23.00±3.96 | 19.84±2.98 | 0.497 |
| Weight gain (g) | 19.49±4.84 | 22.16±6.84 | 19.76±2.44 | 20.64±3.97 | 17.48±2.98 | 0.496 |
| ADG (g/day) | 0.24±0.06 | 0.28±0.09 | 0.25±0.03 | 0.26±0.05 | 0.22±0.04 | 0.496 |
| SGR (%/day) | 2.75±0.27 | 2.88±0.35 | 2.79±0.12 | 2.83±0.20 | 2.65±0.19 | 0.519 |
| FCR (%) | 1.19±0.31 | 1.08±0.35 | 1.13±0.13 | 1.10±0.17 | 1.30±0.23 | 0.576 |
| Survival rate (%) | 56.71±6.65$^{a}$ | 56.71±6.65$^{a}$ | 42.98±4.84$^{b}$ | 53.80±5.31$^{a}$ | 53.90±6.08$^{a}$ | 0.003 |
| GSI (%) | 0.17±0.04$^{b}$ | 3.11±2.81$^{a}$ | 0.18±0.07$^{b}$ | 0.11±0.04$^{b}$ | 0.20±0.12$^{b}$ | 0.001 |

หมายเหตุ: a b และ c ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.6** การศึกษาสมรรถนะเจริญเติบโตของปลาทดลองแปลงเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 45 วัน และ 90 วัน (ต่อ)

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **การแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| Initial weight (g) | 2.35±0.03 | 2.35±0.03 | 2.35±0.03 | 2.36±0.02 | 2.34±0.02 | 0.923 |
| Final weight (g) | 69.29±8.55$^{ab}$ | 76.49±2.25$^{a}$ | 62.94±6.04$^{bc}$ | 61.24±2.63$^{bc}$ | 57.20±4.84$^{c}$ | <0.001 |
| Weight gain (g) | 66.93±8.55$^{ab}$ | 74.12±2.25$^{a}$ | 60.59±6.04$^{bc}$ | 58.88±2.63$^{bc}$ | 54.83±4.84$^{c}$ | <0.001 |
| ADG (g/day) | 0.35±0.04$^{ab}$ | 0.39±0.01$^{a}$ | 0.32±0.03$^{bc}$ | 0.31±0.01$^{bc}$ | 0.29±0.03$^{c}$ | <0.001 |
| SGR (%/day) | 1.77±0.06$^{ab}$ | 1.82±0.02$^{a}$ | 1.72±0.05$^{bc}$ | 1.70±0.02$^{bc}$ | 1.67±0.04$^{c}$ | <0.001 |
| FCR (%) | 1.48±0.14$^{ab}$ | 1.31±0.07$^{b}$ | 1.51±0.07$^{ab}$ | 1.61±0.12$^{a}$ | 1.31±0.07$^{b}$ | <0.001 |
| Survival rate (%) | 91.00±8.94 | 91.00±8.94 | 94.00±4.18 | 87.00±9.75 | 81.00±9.62 | 0.126 |
| GSI (%) | 0.27±0.11$^{b}$ | 8.44±6.17$^{a}$ | 0.34±0.23$^{b}$ | 0.19±0.05$^{b}$ | 0.35±0.40$^{b}$ | <0.001 |

หมายเหตุ: a b และ c ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

### 4.2.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดได้แก่ ค่ากลูโคส (Glucose) ค่าคลอเลสเตอรอล (Cholesterol) ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglyceride) โปรตีน (Protein) และ Blood urea nitrogen ตามลำดับ ของปลาสลิดในกลุ่มทดลองเพศผู้ไม่แตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเพศผู้กลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มทดลองเพศผู้ กลุ่มควบคุมเพศผู้ และกลุ่มควบคุมเพศเมีย พบว่าค่ากลูโคส ค่าคลอเลสเตอรอล และค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ ของเพศผู้ในกลุ่มทดลองและเพศผู้กลุ่มควบคุมต่ำกว่าปลาเพศเมียกลุ่มควบคุมอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่เพศผู้ในกลุ่มทดลองและเพศผู้กลุ่มควบคุม มีค่าโปรตีนสูงกว่าเพศเมียกลุ่มควบคุมอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7) ดังนั้น การที่ปลาสลิดได้รับฮอร์โมน MT เป็นระยะเวลา 90 วัน แปลงเป็นเพศผู้ เมื่อทำการเปรียบค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดระหว่างเพศผู้กลุ่มควบคุม และเพศผู้กลุ่มทดลองไม่พบผลกระทบเชิงลบใด ๆ ต่อการสะสมพลังงาน ไขมัน และโปรตีน

### 4.2.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาได้แก่ ค่า Alternative complement pathway (ACH 50) และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total immunoglobulin; total ig) ของกลุ่มทดลองมีความความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม มีค่าอยู่ในช่วง 302-375 (units/mL$^{-1}$)[6] และ 3.71-4.70 (mg/mL$^{-1}$)[5] ตามลำดับ ในขณะที่ค่าไลโซไซม์ (Lysozyme activity) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบกันระหว่างเพศผู้กลุ่มควบคุมและเพศผู้กลุ่มทดลองพบว่าค่า ACH50 ของกลุ่มทดลองมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นตามระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาของกลุ่มทดลองมีแนวโน้มที่ลดลง ตามระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่โดยปกติแล้วค่า ACH50 และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาของเพศผู้แ ละเพศเมียของกลุ่มควบคุมนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงว่าการที่ปลาสลิด

ได้รับฮอร์โมน MT ระดับที่เพิ่มสูงขึ้นสามารถกระตุ้นค่า ACH50 ให้เพิ่มขึ้นได้ ซึ่งตรงกันข้ามค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่ได้รับผลกระทบจากการที่ได้รับฮอร์โมน MT ระดับที่เพิ่มสูงขึ้น

### 4.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน พบว่า ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ความชื้น (Moisture) ไขมันหยาบ (Crude fat) เถ้า (Crude ash) และ NFE (Nitrogen free extract) ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.8) มีค่าอยู่ในช่วง 65-69% 21-22% 2.72-3.62% และ 1.51-3.98% ตามลำดับ ในขณะที่ค่าโปรตีนหยาบ (Crude protein) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.8) แสดงว่าฮอร์โมน MT ไม่ได้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นโปรตีนของปลาสลิด ในขณะที่ฮอร์โมน MT มีผลทำให้ไขมันในตัวปลาลดลงเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.7** การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology), ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุมเพศผู้** | **กลุ่มควบคุมเพศเมีย** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าโลหิตวิทยาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| RBC Count (cell x$10^{12}$ $L^{-1}$) | 1.30±0.02 | 1.37±0.08 | 1.38±0.10 | 1.39±0.16 | 1.35±0.06 | 0.839 |
| Hematocrit (%) | 46.34±1.33 | 46.45±1.86 | 42.62±2.62 | 46.69±2.96 | 43.52±2.28 | 0.127 |
| Hemoglobin (g/$dl^{-1}$) | 3.67±0.11 | 3.45±0.61 | 3.52±0.52 | 3.73±0.68 | 3.24±0.58 | 0.739 |
| **ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| Glucose (mg/dl) | 43.70±4.48$^{b}$ | 60.37±0.24$^{a}$ | 40.12±1.66$^{b}$ | 46.45±8.46$^{ab}$ | 48.45±7.00$^{ab}$ | 0.029 |
| Triglyceride (mg/dl) | 152.60±4.95$^{ab}$ | 171.27±2.12$^{a}$ | 151.10±9.27$^{ab}$ | 144.68±5.92$^{b}$ | 140.68±8.98$^{b}$ | 0.008 |
| Cholesterol (mg/dl) | 112.85±7.07$^{ab}$ | 128.00±3.21$^{a}$ | 104.74±11.12$^{b}$ | 99.44±6.33$^{b}$ | 95.04±7.86$^{b}$ | 0.007 |
| Total protein (g/dl) | 2.25±0.24$^{ab}$ | 2.20±0.23$^{b}$ | 2.42±0.50$^{ab}$ | 2.81±0.22$^{ab}$ | 3.20±0.30$^{a}$ | 0.022 |
| Blood urea nitrogen (g/dl) | 0.81±0.09 | 0.69±0.09 | 0.69±0.07 | 0.72±0.06 | 0.85±0.06 | 0.086 |
| **ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 11 เดือน** | | | | | | |
| ACH50 (units $mL^{-1}$)$^{6}$ | 301.85±0.69$^{c}$ | 302.06±12.59$^{c}$ | 310.08±7.62$^{c}$ | 334.27±4.31$^{b}$ | 375.85±3.37$^{a}$ | <0.001 |
| Lysozyme (lg $mL^{-1}$) | 5.59±0.02 | 5.49±0.07 | 5.81±0.22 | 6.00±0.47 | 5.61±0.24 | 0.313 |
| Total Ig (mg $mL^{-1}$)$^{5}$ | 4.61±0.56$^{a}$ | 4.70±0.20$^{a}$ | 3.71±0.32$^{b}$ | 4.62±0.30$^{a}$ | 4.31±0.51$^{ab}$ | 0.001 |

หมายเหตุ: a b และ c ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4.8** การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body) ระหว่างปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลาไม่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ

| **Parameter** | **กลุ่มควบคุม** | **100 MT (mg/kg)** | **200 MT (mg/kg)** | **300 MT (mg/kg)** | ***p-values*** |
|---|---|---|---|---|---|
| **ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาของการแปลงเพศ 90 วัน ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) อายุ 11 เดือน** | | | | | |
| Moisture (%) | $65.28 \pm 0.43^{c}$ | $68.56 \pm 0.26^{b}$ | $69.27 \pm 0.26^{a}$ | $69.21 \pm 0.32^{a}$ | <0.001 |
| Crude protein (%) | $22.27 \pm 0.61$ | $21.59 \pm 0.52$ | $22.03 \pm 0.12$ | $21.88 \pm 0.17$ | 0.108 |
| Crude fat (%) | $3.62 \pm 0.02^{a}$ | $3.08 \pm 0.02^{b}$ | $2.72 \pm 0.01^{d}$ | $3.03 \pm 0.04^{c}$ | <0.001 |
| Crude ash (%) | $4.84 \pm 0.04^{a}$ | $4.48 \pm 0.03^{b}$ | $4.40 \pm 0.02^{c}$ | $4.37 \pm 0.01^{c}$ | <0.001 |
| NFE (%) | $3.98 \pm 0.40^{a}$ | $2.29 \pm 0.62^{b}$ | $1.58 \pm 0.31^{b}$ | $1.51 \pm 0.43^{b}$ | <0.001 |

**หมายเหตุ:** a b และ c ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ภายในแถวแนวนอน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 5
# การอภิปรายผล

## 5.1 การทดลองที่ 1 การฮอร์โมนแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

### 5.1.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)

จากการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน สามารถแปลงเพศปลาสลิดได้ และกลุ่มทดลอง 200 มก./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียมากที่สุด ซึ่งเมื่อสังเกตองค์ประกอบของไข่ที่ระยะต่าง ๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยพบไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) ส่วนใหญ่ที่พบคือ ไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ซึ่งสอดคล้องกับในปลา Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) ที่ได้การอินเจ็คชั่น (Injection) ฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 5 มก./กก. แสดงให้เห็นถึงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างไข่ในรังไข่ระยะ Oocyte และมีระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) เป็นส่วนใหญ่ (Falahatkar et al., 2014) จากนั้นเลี้ยงปลาสลิดแปลงเพศที่ระยะเวลา 90 วัน จนมีอายุ 11 เดือน แสดงให้เห็นว่าปลาที่ได้รับฮอร์โมน E2 มีระยะของไข่ที่ไม่ได้แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมเพศเมีย โดยพบเซลล์ไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) ระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) และระยะ Maturation oocyte (Mo) และไข่ที่พบเป็นส่วนใหญ่จะอยู่ในระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) และระยะ Maturation oocyte (Mo) เช่นเดียวกับในปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) ที่ได้รับฮอร์โมน E2 เป็นระยะเวลา 20 วัน ส่งผลให้เกิดการสร้างท่อนำไข่แทนที่จะเป็นท่อนำน้ำเชื้อ โดยระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นในการแปลงเพศมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาภายในได้อย่างสมบูรณ์และในกรณีที่ได้รับฮอร์โมนในระดับต่ำนั้นทำให้ได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นอาจทำให้เกิดการแปลงเพศที่ไม่สมบูรณ์ในระดับสัณฐานวิทยา (Feist et al., 1995) และในการเปรียบเทียบไข่ในระยะต่าง ๆ ในปลา European eel (*Anguilla anguilla*) และปลา Shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองต่างก็มีระยะพัฒนาการของไข่ที่ไม่ได้แตกต่างกัน (Tzchori et al. 2004; Flynn and Benfey, 2007)

### 5.1.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio)

อัตราส่วนการแปลงเพศปลาเพศเมียที่ใช้ฮอร์โมน 17-β-estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 100 200 และ 300 มก./กก. เป็นระยะเวลา 45 วัน อยู่ในช่วง 27-59% ซึ่งแตกต่างกับการแปลงเป็นเพศเมีย ที่ระยะเวลา 90 วัน โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. มีอัตราส่วนเพศเมียที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) และปลาในกลุ่มทดลองที่สามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียได้ที่ระดับ 200 มก./กก. ส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศเมียมากถึง 100% ปัจจุบันมีการผลิตปลาแปลงเพศอย่างน้อย 20 สายพันธุ์ และเป็นปลาที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ มีบางสายพันธุ์ที่เพศเมียเจริญเติบโตเร็วกว่าเพศผู้ เมื่อเจริญพันธุ์มีไข่สมบูรณ์จะมีน้ำหนักและขนาดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจมีน้ำหนักมากกว่าเพศผู้ถึง 50% (Piferrer, 2001) การแปลงเพศปลาโดยส่วนใหญ่จะนิยมใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์จากธรรมชาติ (Natural synthesis) ได้แก่ ฮอร์โมน (E2) ที่มีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างพัฒนาการของรังไข่ (Ovary) ของปลาเพศเมีย (Trudeau et al., 1992) ดังเช่นในปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ที่ใช้ระดับความเข้มข้น 50 100 200 และ 400 มก./กก. พบว่าการให้ฮอร์โมนที่ระดับ 100 มก./กก. สามารถแปลงเป็นเพศเมียได้มากที่สุด 87.76% (Hossain and Rahman, 2002) และเมื่อได้รับฮอร์โมน E2 ในระดับความเข้มข้นที่สูงจนเกินไป กลับทำให้ประสิทธิภาพในการแปลงเพศลดลงหรืออาจทำให้มีโอกาสเกิดลักษณะสองเพศในตัวเดียวกัน (Ovotestis) มากขึ้น (Nakamura, 1975) ซึ่งอัตราส่วนเพศเมียที่ลดลงนี้สอดคล้องกับในการแปลงเพศปลาสลิดที่ใช้ระดับฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้นคือ 300 มก./กก. กลับทำให้มีอัตราส่วนเพศเมียลดลง ซึ่งแตกต่างกับในปลา Tambaqui (*Colossoma macropomum*) ที่ได้ฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 20 40 80 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ และที่ความเข้มข้น 120 มก./กก. สามารถผลิตเพศเมียได้มากกว่า 80% (Reis and Almeida, 2018) และในปลา Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มก./กก. เป็นระยะเวลา 60 วัน สามารถแปลงเป็นเพศเมียได้ถึง 100% (Wang et al., 2008)

### 5.1.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant)

การศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะ 45 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้า จนปลามีอายุ 8 เดือน ทำให้ปลาทุกกลุ่มทดลองมีสมรรถนะการเจริญเติบโต และค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Gonadosomatic index; GSI) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) อย่างไรก็ตามอัตราการรอดของปลากลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในการแปลงเพศปลาปริมาณฮอร์โมนที่ได้รับจะต้องเพียงพอมีความสำคัญต่อการสร้างความแตกต่างเพศ (Sex differentiate) จนกระทั่งแปลงเพศ

โดยสมบูรณ์ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ ระยะเวลาที่ปลาได้รับฮอร์โมน และขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการสร้างความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาแต่ละชนิด (Lin et al., 2012; Piferrer, 2001) การแปลงเพศที่ระยะเวลา 45 วัน อาจเป็นช่วงเวลาสั้นเกินไปหรือปลาอาจจะได้รับฮอร์โมนไม่เพียงพอต่อการเปลี่ยนเพศและไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตด้วยเช่นกัน ต่อมาเป็นการทดลองเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน E2 ที่ระดับเข้มข้นต่าง ๆ ตามกลุ่มทดลอง เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้า จนปลามีอายุปลา 8 เดือน โดยปลาทุกกลุ่มทดลองมีสมรรถนะการเจริญเติบโตและมีอัตรารอดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) เมื่อเลี้ยงปลาแปลงเพศ 90 วันต่อด้วยอาหารทางการค้าจนมีอายุ 11 เดือน ทำให้มีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) นอกจากนี้ค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ของปลาสลิดจากปลาเพศเมียที่อายุ 8 และ 11 เดือนมีค่ามากกว่าปลาเพศผู้จากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) สอดคล้องกับในการแปลงเพศปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 50 100, 200 และ 400 มิลลิกรัม ส่งผลให้มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่ขึ้นในการแปลงเพศและปลาในกลุมทดลอง 100 มิลลิกรัม มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (Hossain and Rahman, 2002) สอดคล้องรายงานของ พรศักดิ์ และคณะ 2556 ที่ทดลองในปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) ที่แปลงเพศด้วยการแช่ไข่ลงในฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 50 100 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร แช่เป็นระยะเวลา 4 วัน ส่งผลให้กลุ่มที่แช่ในฮอร์โมนที่ความเข้มข้น 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม จากการทดลองในปลา Common snook (*Centropomus undecimalis*) ที่ใช้ฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 0 50 และ 100 มก./กก. ของ Carvalho et al. 2014 ทำให้อัตราการเจริญเติบโตช่วงแรก (Primary growth phased) ไม่มีความแตกต่างกัน จากนั้นในช่วงที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (Juvenile) และกำลังจะเข้าสู่ช่วงโตเต็มวัย (Adult) อัตราการเจริญเติบในกลุ่มทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุมเป็นอิทธิพลที่มาจากเพศที่ส่งผลให้มีอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น (Almeida et al., 2016) ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในปลากระดูกแข็ง (Teleost) ช่วงที่ได้รับฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเพศจะทำให้มีการกินอาหารที่สูงขึ้น ดังนั้นฮอร์โมน E2 จึงสามารถกระตุ้นความอยากอาหารของปลาได้ตั้งแต่ในระยะวัยอ่อน โดยฮอร์โมน E2 จะกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในเช่น เกิดการสร้างรังไข่ การเพิ่มขึ้นของระดับการเผาผลาญพลังงานในตับ เป็นต้น (Mommsen and Walsh, 1988) อย่างไรก็ตามฮอร์โมน E2 ไม่ได้มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาโดยตรง แต่ฮอร์โมน E2 ทำให้สามารถแปลงเพศและผลของความแตกต่างระหว่างเพศ (Sex dimorphism) โดยธรรมชาตินี้ได้ส่งผลการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น

(Piferrer, 2001; Alcántar-Vázquez et al., 2015) เช่นเดียวกับในปลาสลิดที่เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ทำให้กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

**5.1.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนมีอายุ 11 เดือน โดยที่ค่าโลหิตวิทยาของปลาเพศเมียในกลุ่มทดลองมีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม ขณะที่ค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในกลุ่มได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 200 และ 300 มก./กก. สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ซึ่งตรงข้ามกับในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) วัยเจริญพันธุ์ (Juvenile) อายุ 5 เดือน ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 0 25 และ 50 มก./กก. เป็นเวลา 210 วัน โดยระดับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มทดลองทำให้จำนวนของเม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะที่ค่าความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง และค่าฮีโมโกลบินกลับลดลงเมื่อได้รับระดับฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน 50 มก./กก. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Khara et al., 2013) การเปลี่ยนแปลงนี้ยังตรงข้ามกับในปลา Rice field eel (*Monopterus albus*) เลี้ยงด้วยอาหารที่มีฮอร์โมน E2 ด้วยปริมาณฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ทำให้ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าลดลง (Tang et al., 1974) และยังตรงข้ามกับรายงานของปลา Brooktrout (*Salvelinus fontinalis*) โดยพบว่าความเข้มข้นของค่าความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง และฮีโมโกลบินต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี E2 ความเข้มข้น 30 มก./กก. เป็นเวลา 8 เดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) (Schafhauser-Smith and Benfey, 2003) แม้ผลของค่าโลหิตวิทยาในปลาสลิดจะไม่สอดคล้องกับในปลาชนิดอื่น ๆ แต่ผลฮอร์โมน E2 ไม่ได้ส่งผลกระทบใด ๆ ต่อค่าโลหิตวิทยาและฮอร์โมน E2 มีผลต่อการกระตุ้นให้ฮีโมโกลบินเพิ่มสูงขึ้นในปลาสลิด โดยการตอบสนองต่อฮอร์โมนE2 ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาที่แตกต่างกัน

**5.1.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนมีอายุ 11 เดือน ทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด ได้แก่ กลูโคส (Glucose) ไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglyceride) คลอเลสเตอรอล (Cholesterol) และโปรตีน (Protein) มีแนวโน้ม

เพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้น และมีความสอดคล้องกันกับในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) ระยะ Juveniles จนถึงอายุ 5 เดือน ได้รับอาหารฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 0 25 และ 50 มก./กก. เป็นเวลา 210 วัน ส่งผลให้ค่ากลูโคส คลอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอร์ไรด์ และโปรตีนจากกลุ่มทดลองเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ตามระดับฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดได้แก่ กลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ คลอเลสเตอรอล และโปรตีนให้เพิ่มสูงขึ้นได้ (Khara et al., 2013) และเช่นเดียวกันในปลาสเตอร์เจียนเพศเมีย (*Huso huso*) ที่ได้รับการปลูกถ่ายฮอร์โมน E2 ระดับต่าง ๆ ดังนี้ 0 (ควบคุม) 3 6 และ 12 mg/kg ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยค่าคลอเลสเตอรอลในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนนั้นมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะที่ค่าไตรกลีเซอไรด์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E2 ของปลาสลิดที่ค่าคลอเลสเตอรอลมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมน E2 ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ในเพศเมียกลุ่มควบคุมและเพศเมียในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยเช่นกัน และในปลาเรนโบวเทราซ์ (*Oncorhynchus mykiss*) ที่ได้รับฮอร์โมน E2 และอีก 24 ชั่วโมงถัดมา ทำให้ค่าคลอเลสเตอรอล และค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ที่เพิ่มสูงขึ้น (Wallaert and Babin, 1992) สำหรับค่าโปรตีนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ซึ่งต่างจากการทดลองในปลา (*Lateolabrax japonicus*) ระยะ Fingerling และ Juveniles ที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่มีความเข้มข้นสองระดับ 200 และ 2,000 ng/L โดยเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม ในช่วงระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน ส่งผลให้ค่าโปรตีนในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) โดยในแต่ละช่วงเวลาและมีแนวโน้มใกล้เคียงกันทั้งระยะ Fingerling และระยะ Juveniles การเพิ่มของฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นเกี่ยวข้องกับการสะสมไขมันที่เป็นองค์ประกอบส่วนนึงของโปรตีนวิเทลโลเจนนิน (Vitellogenin) (Akhavan et al., 2014) นอกจากนี้ในปลา sea bass (*Dicentrarchus labrax*) ซึ่งกระตุ้นน้ำตาลในเลือดสูงผ่านกระบวนการกลูโคนีโอเจเนสิส (Gluconeogenesis) ทำให้กลูโคสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) (Teles et al., 2004) เนื่องจากกลูโคสเป็นแหล่งสำคัญสำหรับการเผาผลาญเป็นพลังงาน (Mommsen et al. 1999) ความเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ คลอเลสเตอรอล และโปรตีน ในซีรัมอาจบ่งชี้ว่ามีการสะสมของไขมันและโปรตีน (วิเทลโลเจนนิน) เพื่อใช้ในการสร้างไข่ให้สมบูรณ์เพื่อเข้าสู่วงจรการสืบพันธุ์และในช่วงที่เก็บตัวอย่างเป็นฤดูสืบพันธุ์ของปลาสลิด

**5.1.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนมีอายุ 11 เดือน ทำให้ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาของปลาสลิดแปลงเพศในกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 0 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร มีค่าไลโซไซม์ (Lysozyme activity) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ค่า Alternative complement pathway (ACH 50) และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total immunoglobulin) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่เพิ่มขึ้นนั้นสอดคล้องกับในปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) ในระยะ Fingerlings และระยะ Juveniles โดยการให้ฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 2,000 นาโนกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน ระดับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มขึ้นจึงสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดปริมาณโปรตีนในพลาสมาให้เพิ่มขึ้นได้ (Thilagam et al., 2009) อย่างไรก็ตามในปลา Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) การเพิ่มขึ้นของระดับเอสโตรเจนส่งผลให้เกิดการยับยั้งภูมิคุ้มกันชนิดปริมาณโปรตีนในพลาสมาให้ลดลง (Hou et al., 1999) และในปลา *Cyprinus carpio* ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันชนิดปริมาณโปรตีนในพลาสมา เปลี่ยนแปลงไป (Saha et al., 2014) ดังนั้นฮอร์โมนเอสโตรเจนจึงให้ผลที่ต่างกันในปลาที่ต่างสายพันธุ์กัน และในการทดลองของ Amaninejad et al. 2016 ที่ทดลองในปลา Koi carp (*Cyprinus carpio*) โดยศึกษาผลของ Nonylphenol (NP) (เป็นสารที่ขัดขวางการทำงานของต่อมไร้ท่อ) ผลของฮอร์โมน E2 ทั้งในเพศผู้และเพศเมียต่อค่า IgM, ค่าไลโซไซม์ ปลาทดลองที่ได้รับการฉีดสาร 4-nonylphenol (4-NP) ตามระดับดังนี้ 10 50 และ 100 μg/ $g^{-1}$ และฉีดฮอร์โมน E2 ในปริมาณ 2 μg/$g^{-1}$ หลังเวลาผ่านไป 21 วัน จึงเก็บตัวอย่างเลือดนำมาวัดค่าภูมิคุ้มกันของปลาจำนวน 180 ตัว พบว่า การให้สาร 4-NP ที่ระดับ 50 μg/$g^{-1}$ ทำให้กระตุ้นระดับ IgM และการทำงานของไลโซไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ปลาได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 2 μg/$g^{-1}$ ส่งผลให้มีค่า IgM และกระตุ้นการทำงานของไลโซไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) หลังฉีดฮอร์โมน E2 แล้ว 21 วัน ดังนั้นการที่ปลาได้รับ 4-NP และ E2 ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปของระบบภูมิคุ้มกันในปลาคาร์ฟ จากรายงานของ Picchitti 2001 ที่ทดลองในปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) เพื่อสังเกตุกระบวนการพัฒนาขณะที่แปลงเป็นเพศเมีย แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์ Immunoglobulin อาจเป็นผลมาจากฮอร์โมนเพศที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างเซลล์

สืบพันธุ์ ในช่วงที่ปลาเพศเมียแปลงเพศสามารถปล่อยไข่ได้ในฤดูสืบพันธุ์นั้น พบว่าค่า Ig ของเพศเมียในธรรมชาติสูงกว่าเพศผู้ แสดงว่าฮอร์โมน E2 มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า Ig จากการศึกษาในปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) ในระยะ Fingerlings และระยะ Juveniles พบว่าการให้ฮอร์โมน E2 ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 2,000 นาโนกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 5 15 และ 30 วัน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในค่า Immunoglobulin และ Lysozyme activity มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Thilagam et al., 2009) โดยผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนของระบบภูมิคุ้มกันนี้ยังสอดคล้องกับในปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) โดยฉีดฮอร์โมน E2 แล้วที่ระดับ 0 1 และ 2 มก. ของน้ำหนักตัว ทำการสุ่มตัวอย่างหลังฉีดฮอร์โมนแล้วที่ 1 3 และ 7 วัน ทำให้ค่า IgM และ ACH50 เปลี่ยนแปลงไปมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0·05) อย่างไรก็ตามฮอร์โมน E2 มีผลต่อการกระตุ้นให้ ACH50 และ Total immunoglobulin เพิ่มสูงขึ้นในปลาสลิด โดยการตอบสนองต่อฮอร์โมน E2 นั้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดปลา

**5.1.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol (E2) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนมีอายุ 11 เดือน ทำให้ปลาสลิดที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 100 200 และ 300 มก./กก. มีผลทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีนหยาบ (Crude protein) ไขมันหยาบ (Crude fat) เถ้า (Crude ash) และค่า NFE (Nitrogen free extract) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม โดยฮอร์โมน E2 ได้ส่งผลต่อค่าโปรตีนและไขมันนั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Alcántar-Vázquez et al. 2015 ที่เลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (จีโนไทป์ XY) ด้วยอาหารฮอร์โมน E2 เพื่อแปลงเพศให้ได้ตัวเมียด้วยความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 60 และ 120 มก./กก. เป็นระยะเวลา 30 วัน ส่งผลต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาที่ได้รับ E2 ทั้ง 2 ระดับ พบไขมันในกล้ามเนื้อที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ปลาที่แปลงเพศด้วยฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 120 มก./กก. แสดงถึงค่าไขมันในกล้ามเนื้อต่ำที่สุด ($p$<0.05) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ไขมันไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 60 มก./กก.เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางกลับกันเพศเมียแปลงเพศ (XY) ในทั้งสองกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน E2 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเปอร์เซ็นต์โปรตีนในกล้ามเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) นอกจากนี้ในปลาที่ได้รับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ

120 มก./กก. ยังมีเปอร์เซ็นโปรตีนที่ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม และเปอร์เซ็นต์โปรตีนในกล้ามเนื้อจะเพิ่มสูงสุดในปลาแปลงเพศที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 60 มก./กก. ($p$<0.05) โดยที่เปอร์เซ็นต์โปรตีนในกลุ่มควบคุมตัวเมียและกลุ่มทดลองแปลงเป็นเพศเมียที่ฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 60 มก./กก. สูงกว่าตัวผู้อย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p$<0.05) ดังเช่นผลการใช้ฮอร์โมน E2 ในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) ระยะ Juveniles อายุ 5 เดือน ที่ความเข้มข้น 0 25 และ50 มก./กก. เป็นเวลา 210 วัน โดยระดับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อ %โปรตีน %ไขมัน %ความชื้น และ %เถ้า ทำให้มีแนวโน้มที่ลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p$>0.05) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Degani et al. 1986 ในปลา European eel (*Anguilla anguilla*) ในระยะ Juveniles ที่ได้รับการฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 1 5 10 และ 15 มก./กก. เป็นระยะเวลา 45 วัน โดยที่ระดับฮอร์โมน E2 ที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีน เปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์เถ้า ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ไขมันกลับมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับฮอร์โมน E2 เพิ่มสูงขึ้น ความเปลี่ยนแปลงของ E2 มีผลกระทบต่อองค์ประกอบของตัวปลาอาจบ่งชี้ว่ามีการสะสมของไขมันและโปรตีน (วิเทลโลเจนนิน) เพื่อใช้ในการสร้างไข่ให้สมบูรณ์เพื่อเข้าสู่วงจรการสืบพันธุ์ และในช่วงที่เก็บตัวอย่างเป็นฤดูสืบพันธุ์ของปลาสลิด โดยผลที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของปลา

## 5.2 การทดลองที่ 2 การแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

### 5.2.1 จุลกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (Histology of gonad)

จากการศึกษาการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ในกลุ่มทดลอง เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า กลุ่มทดลอง200 มก./กก. สามารถแปลงเพศปลาสลิดได้มีอัตราส่วนเพศผู้มากที่สุด และเมื่อสังเกตองค์ประกอบของเซลล์ที่ระยะต่าง ๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน และเมื่อเลี้ยงต่อด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุ 8 เดือน และตรวจสอบอัตราส่วนเพศผู้ด้วยการสังเกตทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์แสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน MT ทุกความเข้มข้นเป็นระยะเวลา 45 วัน ทำให้อัตราการแปลงเพศเป็นเพศผู้ต่ำ ในขณะที่การแปลงเป็นเพศผู้ในกลุ่มทดลองเป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศผู้สูง เมื่อสังเกตองค์ประกอบของเซลล์สืบพันธุ์ที่ระยะต่าง ๆ ในกลุ่มทดลองและเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเพศผู้ที่ตรวจพบจากการเลี้ยง 45 และ 90 วัน มีองค์ประกอบภายเซลล์ที่ไม่แตกต่างกัน และตรวจพบเซลล์ที่ใช้สร้างสเปิร์มในระยะ Spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ

Spermatozoa (Sz) โดยพบเซลล์ที่ใช้สเปิร์มระยะ Primary spermatocyte (Psc) และระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) เป็นส่วนใหญ่ เช่นเดียวกันเมื่อปลาที่ได้รับการแปลงเพศที่ระยะเวลา 90 วัน มีอายุ 11 เดือน ได้แสดงให้เห็นว่าปลาที่ได้รับฮอร์โมน MT ไม่ได้แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมโดยพบเซลล์ที่ใช้สร้างสเปิร์มในระยะ Spermatogonia (Sg) ระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) และ Spermatozoa (Sz) โดยพบเซลล์ที่ใช้สร้างสเปิร์มระยะ spermatozoa (Sz) เป็นส่วนใหญ่ สอดคล้องกับในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่แปลงเป็นเพศผู้โดยใช้ฮอร์โมน MT ที่ระดับความเข้มข้น 0 40 60 และ 80 มก./กก. เป็นระยะเวลา 28 วัน จากนั้นตรวจสอบอัตราส่วนเพศ ที่แสดงถึงอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลาที่ได้รับฮอร์โมน MT 60 มก./กก. ที่อายุ 75 วัน ที่มีอยู่ในระยะ mature ซึ่งรวมกันในท่อ Seminiferous ภายหลัง 1 ปี อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 80 มก./กก. หากปลาได้รับระดับฮอร์โมนและระยะเวลาที่ได้ฮอร์โมนที่เหมาะสมทำให้สามารถผลิตเซลล์สืบพันธุ์ได้เหมือนปลาในกลุ่มควบคุม (Greisy and Gamal, 2012) สอดคล้องกับในปลา (*Oreochomis mossambica*) ที่ได้รับฮอร์โมน MT ในระดับ 50 ไมโครกรัม/กรัมอาหาร แสดงให้เห็นว่าภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน MT ทำให้มีการเสื่อมสภาพของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และมีการสร้างสเปอร์มาโตไซต์แทนที่ในที่สุด (Nakamura, 1975) โดยในปลา *Sparus aurata* มีการพิสูจน์แล้วว่า ฮอร์โมน MT มีผลเสียต่อรังไข่ในขั้นตอนการพัฒนาของโอโอไซต์ โดยที่อัณฑะของปลา *Pseudorasbora parva* ที่เมื่อได้รับฮอร์โมน MT สามารถยับยั้งการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ ขัดขวางการเจริญเติบโตของโอโอไซต์ และมีการสร้างสเปิร์มเกิดขึ้น (Boj et al., 2015; Wang et al., 2020) จากศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสามารถเก็บปลาแปลงเพศด้วยฮอร์โมน MT เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อทดสอบ progeny test ได้ต่อไปในอนาคต

**5.2.2 การวิเคราะห์อัตราส่วนเพศ (Sex ratio)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะ 45 วัน ทำให้ปลาในกลุ่มทดลองมีอัตราส่วนเพศผู้ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเกิดจากระยะเวลาและปริมาณฮอร์โมนที่น้อยไป ทำให้ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแปลงเพศได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดผลสำเร็จในการแปลงเพศปลาที่มีความสำคัญ คือช่วงระยะเวลาที่ปลาจะได้รับอาหารผสมฮอร์โมนแปลงเพศจนกระทั่งสามารถเหนี่ยวนำอวัยวะเพศให้เกิดความแตกต่างจนแปลงเพศได้อย่างสมบูรณ์ (labile phase) ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของฮอร์โมนที่ได้รับด้วย (Chatain, Saillant and Peruzzi, 1999) ช่วงเวลาปลาที่

อ่อนไหวที่สุดสำหรับการเปลี่ยนแปลง ก่อนที่เริ่มต้นเข้าสู่ระยะที่มีความแตกต่างอวัยวะสืบพันธุ์ ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์นั้นใช้ระยะเวลา และปริมาณของฮอร์โมนที่ได้รับแตกต่างกัน การได้รับฮอร์โมนระดับที่เหมาะสมในวัยอ่อนจะส่งผลให้ปลาสามารถเหนี่ยวนำให้แปลงเพศ และมีการพัฒนาอวัยวะเพศเป็นไปตามชนิดของฮอร์โมนที่ได้รับ ซึ่งจะต้องให้ปลาได้รับฮอร์โมนจนกว่าจะสิ้นสุดระยะเวลาที่มีการแสดงลักษณะฟีโนไทป์ภายนอกของเพศที่สมบูรณ์ (Phenotypic sex permanent) (Yamamoto, 1969) อย่างไรก็ตามฮอร์โมน MT นั้นไม่ได้ส่งผลใด ๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตในปลา Black crappie (*Pomoxis nigromaculatus*) (Arslan and Phelps 2004) ต่อมาเป็นการศึกษาเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตามกลุ่มทดลอง เป็นระยะเวลา 90 วัน เพื่อแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ ทำให้ปลากลุ่มทดลองมีอัตราส่วนเพศส่วนเพศผู้ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) อย่างไรก็ตามปลาในกลุ่มทดลอง และในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ระดับ 200 มก./กก. ส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศผู้สูงที่สุด ถึง 94% โดยเมื่อลูกปลาวัยอ่อนได้รับฮอร์โมนแปลงเพศจะทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้ Primary germ cell พัฒนาเป็นอวัยวะเพศตามชนิดฮอร์โมนเพศที่เหนี่ยวนำ (Singh, 1993) การผสมฮอร์โมนลงในอาหารปลาเพื่อให้ปลากิน (Feed administration) เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปโดยการให้อาหารแก่ลูกปลาในวัยอ่อนเพื่อเหนี่ยวนำให้ปลาแปลงเป็นเพศที่ต้องการ โดยปกตินิยมใช้ฮอร์โมน MT ในการแปลงเพศโดยการผสมอาหารให้ลูกปลากินแล้วประสบความสำเร็จในปลาต่าง ๆ ดังนี้ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ระดับความเข้มข้น 0 40 50 60 และ 70 มล./กก. ให้อาหาร 5 เวลา เป็นเวลา 28 วัน ปลาหมอ (*Oreochromis andersonii*) ระดับความเข้มข้น 0 40 60 และ 90 มก./กก เป็นเวลา 119 วัน และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ระดับความเข้มข้น 0 40 50 60 และ 70 มก./กก. เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ในการทดลองของ Kefi et al., 2012 และ Rima et al., 2017 เมื่อปลาได้รับระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นจะทำให้น้ำหนักตัวและอัตราส่วนเพศผู้ที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ถ้าได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่สูงเกินไปจะส่งผลให้น้ำหนักตัวและอัตราส่วนเพศผู้ลดลงเช่นกัน โดยที่น้ำหนักและอัตราส่วนเพศผู้ที่เพิ่มสูงขึ้นไม่ได้มีความสัมพันธ์กัน โดยเมื่อลูกปลาวัยอ่อนได้รับฮอร์โมนแปลงเพศจะทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้ Primary germ cell พัฒนาเป็นอวัยวะเพศตามชนิดฮอร์โมนเพศที่ใช้ในการเหนี่ยวนำ (Singh, 1993) การผสมฮอร์โมนลงในอาหารปลาเพื่อให้ปลากิน (Feed administration) เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปเนื่องจากสามารถให้อาหารแก่ลูกปลาในวัยอ่อนได้อย่างคงที่ และสม่ำเสมอ โดยปกตินิยมใช้ฮอร์โมน MT (Lin et al., 2012) ในการแปลงเพศโดยการผสมอาหารให้ลูกปลากินแล้วประสบความสำเร็จในปลาชนิดต่าง ๆ ในการแปลงเพศปลาเป็นเพศผู้มักนิยมใช้ฮอร์โมน MT โดยที่ผ่านมามีการแปลงเพศเป็นเพศผู้ที่ประสบความสำเร็จ เมื่อปลาได้รับระดับฮอร์โมนที่สูงขึ้นจะทำให้

อัตราส่วนเพศผู้ที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ถ้าได้รับฮอร์โมนในปริมาณที่สูงเกินไปจะส่งผลให้อัตราส่วนเพศผู้ลดลงเช่นกันโดยที่น้ำหนักและอัตราส่วนเพศผู้ที่เพิ่มสูงขึ้นไม่ได้มีความสัมพันธ์กัน (Ferdous and Ali, 2011; Kefi et al., 2012; Alam and Uddin, 1998)

### 5.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performant)

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 45 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 8 เดือน ปลาในกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดและค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) และมีค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ของปลาเพศผู้แต่ละกลุ่มทดลองที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับปลาเพศเมีย ต่อมาเป็นการเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน MT ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้า จนปลามีอายุปลา 8 เดือน ทำให้ปลาทุกกลุ่มทดลองมีสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) และมีอัตรารอดที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) และเลี้ยงปลาต่อด้วยอาหารทางการค้าเป็นระยะเวลา 11 เดือน มีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวสุดท้ายน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) นอกจากนี้ค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ของปลาสลิด จากปลาเพศผู้อายุ 8 และ 11 เดือนในกลุ่มทดลองน้อยกว่าปลาเพศเมียกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ฮอร์โมนจากภายนอกมีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับเพศ (Shi, 1997; Shi et al. 1998) โดยระยะเวลา และปริมาณที่ได้รับฮอร์โมนในปลาชนิดต่าง ๆ นั้นแตกต่างกันเช่นในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 28 วัน ซึ่งแปลงเพศเป็นเพศผู้ได้ 94.28% และปลานิล (*Oreochromis andersonii*) ที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 119 วัน ซึ่งแปลงเป็นเพศผู้ได้ 94.40% (Ferdous and Ali, 2011; Kefi et al., 2012; Alam and Uddin, 1998)

**5.2.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา (Hematology)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงปลาด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน ทำให้ค่าโลหิตวิทยาของปลาเพศเมียอายุ 11 เดือน ที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน MT ในแต่ละระดับความเข้มข้นเป็นระยะเวลา 90 วัน ไม่ได้ส่งผลต่อค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) และค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศเมียและเพศเมียแปลงเพศ ระหว่างเพศผู้กับเพศเมียไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) ค่าโลหิตวิทยาเป็นค่าที่บ่งบอกถึงจำนวนของเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง (Hematocrit) และค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) มีผลต่อการแลกเปลี่ยนออกซิเจนจึงสามารถบ่งบอกได้ถึงสุขภาพที่เปลี่ยนแปลงไปในปลาแปลงเพศได้อย่างไรก็ตามในการใช้ฮอร์โมน MT แปลงเพศปลาสลิดนั้นไม่พบว่ามีความเครียดที่ผลกระทบเชิงลบต่อค่าโลหิตวิทยา ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับในปลาหลายชนิดที่ปลาแปลงเพศได้สำเร็จแล้วโดยใช้ฮอร์โมน MT ได้แก่ ปลานิล *Oreochromis niloticus* และปลา (*Oreochromis andersonii*) ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0 40 60 และ 90 มล./กก. ระยะเวลา 30 วัน พบว่าจำนวนของเม็ดเลือดแดงในปลาทั้งสองชนิดที่ได้รับฮอร์โมน MT แล้วมีจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคม ในกลุ่มปลา *O. andersonii* ที่ได้รับฮอร์โมน MT ยังมีแนวโน้มที่ปริมาณเม็ดเลือดแดง และความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดงลดลงด้วยเช่นกัน ดังนั้นฮอร์โมน MT จึงมีผลต่อสุขภาพปลา *O. andersonii* อย่างชัดเจน ในขณะที่การให้ฮอร์โมน MT มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง ความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดงและค่าฮีโมโกลบินในปลานิล *O. niloticus* (Sayed and Moneeb, 2015; Kefi et al., 2013) อย่างไรก็ตามฮอร์โมน MT ไม่ได้ส่งผลต่อสุขภาพปลาสลิด

**5.2.5 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือด (Blood chemistry)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน ทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเลือดของปลาสลิดแปลงเพศในกลุ่มทดลองที่ได้รับฮอร์โมน MT และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่ากลูโคส (Glucose) ค่าคลอเลสเตอรอล (Cholesterol) ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglyceride) โปรตีน (Protein) และ Blood urea nitrogen ตามลำดับไม่มีความแตกต่างอย่าง

นัยสำคัญทางสถิติ (*p*>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศผู้ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศเมียแล้วปรากฏว่า ค่ากลูโคส ค่าคลอเลสเตอรอล และค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ ของเพศเมียนั้นสูงกว่าในเพศผู้ ในขณะที่ค่าโปรตีนนั้นเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย โดยของค่าคลอเลสเตอรอล ค่าไตรกลีเซอร์ไรด์ และค่าโปรตีนในปลาสลิดนั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกันกับการทดลองในปลาสี (*O. andersonii*) (Kefi et al., 2013) นอกจากนี้ค่ากลูโคสและค่าโปรตีนยังมีความสอดคล้องกับในปลานิล (*O. niloticus*) และในปลา Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*) เมื่อได้รับฮอร์โมน MT ส่งผลให้มีแนวโน้มค่ากลูโคสและค่าโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน (Sayed and Moneeb, 2015; Khara et al., 2013) ค่าองค์ประกอบเคมีในเลือดสามารถบ่งบอกได้ถึงการสะสมไขมัน น้ำตาล และโปรตีนเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์

**5.2.6 การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน และเลี้ยงด้วยอาหารทางการค้าจนปลามีอายุปลา 11 เดือน ทำให้ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาของปลาสลิดแปลงเพศในกลุ่มทดลองโดยมี ค่า Alternative complement pathway (ACH 50) และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total immunoglobulin) มีความความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ค่าไลโซไซม์ (Lysozyme activity) กลับไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (*p*>0.05) ระบบภูมิคุ้มกันเป็นกลไกที่มีผลเป็นอย่างมากและมีความสำคัญต่อการป้องกันการติดเชื้อโรค ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของปลาแปลงเพศเปลี่ยนแปลงไป จากรายงานของ Cuesta et al., 2007 ที่ศึกษาผลของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (Testosterone) ต่อพารามิเตอร์ภูมิคุ้มกันของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) ระหว่างผลของฮอร์โมนเพศต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยฉีดฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนให้ปลาในระดับที่ต่างกัน 0 2 หรือ 5 มก. ของน้ำหนักตัว และสุ่มเก็บตัวอย่าง หลังจากฉีดฮอร์โมนแล้วในวันที่ 1 3 และ 7 วันต่อมา IgM และ ACH50 ล้วนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*>0·05) ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อระบบภูมิคุ้มกันซึ่งสอดคล้องกับในปลาสลิด อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะพบความแตกต่างทางสถิติแต่แนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของค่า Alternative complement ค่า Immunoglobulin และค่า Lysozyme อาจเกิดจากฮอร์โมน MT ที่เป็นฮอร์โมนที่สังเคราะห์ได้จากคลอเลสเตอรอล และมีฤทธิ์ทำให้ร่างกายเร่งกระบวนการสร้างกล้ามเนื้อ อัตราเมตาบอลิซึม การเสริมสร้างระบบสืบพันธุ์ของเพศผู้เสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้สูงขึ้น (นทีทิพย์, 2538) ผลของฮอร์โมน MT ไม่ได้สั่งผล

เชิงลบต่อปลาสลิดแปลงเพศ และยังสามารถกระตุ้นให้มีค่า Alternative complement และ ค่า Immunoglobulin ให้สูงขึ้นอีกด้วย

**5.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Proximate composition of whole body)**

การแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม) 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน แล้วจึงเลี้ยงต่อมาด้วยอาหารทางการค้าจนสิ้นสุดการทดลอง ปลามีอายุปลา 11 เดือน พบว่าปลาสลิดที่ได้รับฮอร์โมน MT ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีผลทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ความชื้น (Moisture) ไขมันหยาบ (Crude fat) เถ้า (Crude ash) และ NFE (Nitrogen free extract) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ค่าโปรตีนหยาบ (Crude protein) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$>0.05) กับกลุ่มควบคุม โดยค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา สัดส่วนเปอร์เซ็นโปรตีนในตัวปลา เปอร์เซ็นไขมันสัดส่วนไขมันในตัวปลา เปอร์เซ็นสัดส่วนความชื้นในตัวปลา และเปอร์เซ็นเถ้าสัดส่วนกระดูกในตัวปลา ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับในรายงานของ Degani et al. 1986 ในปลา European eel (*Anguilla anguilla*) ในระยะ Juveniles ที่ได้รับการฮอร์โมน MT ที่ระดับ 1 5 10 และ 15 มก./กก. เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน MT ไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นโปรตีน เปอร์เซ็นความชื้น และเปอร์เซ็นเถ้า แต่เปอร์เซ็นไขมันกลับมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับฮอร์โมน MT เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามค่าองค์ประกอบทางเคมีในปลาสลิดมีความแตกต่างกันกับในการทดลองของ Hakim et al., 2013 ซึ่งทดลองในปลานิลลูกผสม (ปลาหมอเทศ (*O. aureus*) กับปลานิล (*O. niloticus*) เพศเมีย) ปลานิลปกติ กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน MT 3 ระดับความเข้มข้นดังนี้ 1. กลุ่มลูกผสม (Hybrid) 2. ปลานิลกลุ่มควบคุม 3. กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน 60 80 และ 100 มล./กก. เป็นระยะเวลา 28 วัน จากนั้นนำมาเลี้ยงต่ออีก 210 วัน พบว่าในปลากลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนมีค่าเปอร์เซ็นความชื้นในร่างกายสูงสุดไม่มีแตกต่างกัน ในขณะที่ค่าโปรตีนหยาบ (CP) ค่าการวิเคราะห์ไขมัน (EE) และค่าเปอร์เซ็นเถ้ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในปลาที่ได้รับฮอร์โมนแปลงเพศ การเปลี่ยนแปลงในระดับโปรตีน ไขมันในปลาสลิดอาจเกิดจากการเข้าสู่ระยะโตเต็มวัยพร้อมที่จะสืบพันธุ์ทำให้มีการใช้ไขมันและโปรตีนเพื่อให้สร้างสเปิร์ม

# บทที่ 6
# สรุปและข้อเสนอแนะ

## 6.1 สรุป

ในการทดลองที่ 1 การใช้ฮอร์โมน 17-β-Estradiol เพื่อแปลงเพศที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน มีเหมาะสมต่อการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียและสามารถให้อัตราส่วนเพศ 100% เมื่อปลาสลิดแปลงเพศเป็นเมียมีอายุ 11 เดือนมีน้ำหนักตัวมากกว่าปลาสลิดเพศผู้กลุ่มควบคุม และการทดลองที่ 2 ปลาที่ได้รับการฮอร์โมนแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyl-testosterone ที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ส่งผลให้สามารถแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ทำให้มีอัตราส่วนเพศผู้มากถึง 94% เมื่อปลาสลิดแปลงเพศผู้อายุ 11 เดือนมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปลาสลิดเพศเมียกลุ่มควบคุม ปลาสลิดเพศเมียจึงมีน้ำหนักตัวที่มากกว่าปลาสลิดเพศผู้อย่างชัดเจน และอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นของปลาสลิดเพศเมียแปลงเพศเกิดขึ้นจากอิทธิพลของเพศที่มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตไม่ได้เป็นผลที่เกิดขึ้นอิทธิพลของฮอร์โมน E2

จากการตรวจจุลกายวิภาควิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาสลิดในการทดลองที่ 1 ชี้ให้เห็นว่าปลาสลิดที่แปลงเพศด้วยระดับฮอร์โมน E2 ที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน มีเซลล์สืบพันธุ์ของที่พัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์เป็นรังไข่ได้เหมือนกับปลากลุ่มควบคุมซึ่งแสดงให้เห็นถึงไข่ในระยะ Perinucleolus oocyte (Pno) ระยะ Cortical alveoli oocyte (Cao) และระยะ Vitellogenic oocyte (Vo) เป็นส่วนใหญ่ และการทดลองที่ 2 การแปลงเพศด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone ที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน เพื่อแปลงเพศปลาสลิดให้เป็นเพศผู้ จากตรวจสอบจุลกายวิภาควิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาสลิดได้รับฮอร์โมนแปลงเพศสามารถพัฒนาเป็นอัณฑะได้เช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุมเพศผู้และยังแสดงให้เห็นสเปิร์มระยะ Primary spermatocyte (Psc) ระยะ Secondary spermatocyte (Ssc) เป็นส่วนใหญ่ จึงไม่พบความแตกต่างและอวัยวะสืบพันธุ์ 2 เพศในตัวเดียวกัน (Ovotestis) โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ที่ไม่แตกต่างกันของทั้งสองการทดลอง

ผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศเมียด้วยฮอร์โมน 17-β-Estradiol ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศเมียแปลงเพศกับเพศเมียกลุ่มควบคุม ฮอร์โมน 17-β-Estradiol ไม่ส่งผลต่อค่ามีค่าเคมีในเลือด (ได้แก่ ค่ากลูโคส ไตร-กลีเซอร์ไรด์ คลอเลสเตอรอล โปรตีน และค่า Blood urea nitrogen) ค่าโลหิตวิทยา (ได้แก่ ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบิน) และค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (ค่าไลโซไซม์) แต่

ฮอร์โมน 17-β-Estradiol ยังสามารถกระตุ้นค่า Alternative complement pathway และค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาของระบบภูมิคุ้มกันให้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) สำหรับค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ความชื้น โปรตีนหยาบ ไขมันหยาบ เถ้า และค่า Nitrogen free extract มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม ในการทดลองต่อมาผลของการแปลงเพศปลาสลิดเป็นเพศผู้ด้วยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone ที่ระดับ 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีในเลือด (ได้แก่ ค่ากลูโคส ไตรกลีเซอร์ไรด์ คลอเลสเตอรอล โปรตีน และค่า Blood urea nitrogen) ค่าโลหิตวิทยา (ได้แก่ ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบิน) ค่าภูมิคุ้มกันวิทยา (ค่าไลโซไซม์) และค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (โปรตีนหยาบ) โดยฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone สามารถกระตุ้นค่า Alternative complement pathway ของระบบภูมิคุ้มกันให้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) ในขณะที่ฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone มีผลทำให้ค่าปริมาณโปรตีนในพลาสมาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) สำหรับค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ความชื้น ไขมันหยาบ เถ้า และNitrogen free extract มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) กับกลุ่มควบคุม

## 6.2 ข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการแปลงเพศปลาสลิดเพศเมียได้ เนื่องจากไม่พบผลกระทบเชิงลบจากการใช้ฮอร์โมน 17-β-Estradiol เพื่อแปลงปลาสลิดเพศที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน อย่างไรตามหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจจะสามารถลดระยะเวลาในการแปลงเพศให้สั้นลงได้ จากการใช้ฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone แปลงเพศที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 90 วัน ปลาสลิดที่แปลงเพศมีลักษณะสัณฐานวิทยาของรังไข่และอัณฑะ ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม เราจึงคาดหวังว่าจะสามารถนำไปเป็นพ่อแม่พันธุ์ปลาสลิดเพื่อใช้ในการศึกษาการทดสอบลูกหลาน (Progeny test) เพื่อศึกษาระบบกำหนดเพศและสามารถคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาสลิดที่สามารถให้กำเนิดลูกปลาเพศเมียล้วนได้ในอนาคต

# รายการอ้างอิง


การุณ อุไรประสิทธิ์ และ ไพรัตน์ แม่ลิ่ม. (2547). **การอนุบาลปลาสลิดในกระชัง.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2547. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดปัตตานี สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2543. **หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** เชียงใหม่. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง. คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ชุติระ ระบอบ, พรรณราย แสงวิเชียร, แววมยุรา คำสุข, มรกต กำแพงเพชร, ชรินพร งามกมล, บรรเจิดศักดิ์ สันหภักดี, ณภัทร ศรีนวล และ กันต์ติกมาฐ รัตนปริญญานุกูล. 2559. **การพัฒนาตัวชี้วัดเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาสลิดสู่ผู้ประกอบการ 4.0 (The development of Snakeskin gourami farmer Indicatorsn to enterpreneur 4.0).** วารสาร ธุรกิจปริทัศน์, ปีที่ 10, ฉบับที่ 1.

ธงชัย เย็นเปิง, วนัส เชิดฉัน, ชูชาติ ผิวเผือก และ เอกราช รุ่งรังษี. 2015. **ระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ฮอร์โมน 17 alpha methyltestosterone ในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศระบบน้ำหมุนเวียน (Optimum feed for a period by oral administration of 17 alpha methyltestosterone for seed production of sex reversal of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the water recirculation system ).** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรมประมง, กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2558.

นทีทิพย์ กฤษณามระ. 2538. **ฮอร์โมน กลไกและการออกฤทธิ์ร่วม.** ภาควิชาสรีรวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 321

นวลมณี รุ่งราตรี. 2535. **การผลิตปลาตะเพียนขาวเพศเมียทั้งหมดโดยใช้วิธีเหนี่ยวนำ gynogenesis dipiod.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 2. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 10 น.

พรพิมล กาญจนวาศ, ชุตาภา คุณสุข, อลิษา สุนทรวัฒน์, สุภาภรณ์ วรรณภิญโญชีพ, เดชาวุธ นิตยสุทธิ และ วิภาวรรณ วิทยกฤตศิริกุล. 2559. **ลักษณะสัณฐานวิทยา และความหลากหลายของปลาสลิดในประเทศไทย (Morphology and biodiversity of snakeskin gourami (*Trichogaster pectoralis*) in Thailand.** มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเขต 9 (ชัยนาท). 2560. **รายงานประจำปี 2560.** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรมประมง.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2531. **การเพาะขยายพันธุ์ปลา.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 139 หน้า.

Abucay, J.S., Mair, G.C., Skibinski, D.O.F., and Beardmore, J.A. 1999. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. School of Biological Sciences. University of Wales Swansea Philippines. **Aquaculture**. 173: 219-234.

Akhavan, S. R., Falahatkar, B., Gilani, M. H. T., & Lokman, P. M. (2015). Effects of estradiol-17β implantation on ovarian growth, sex steroid levels and vitellogenin proxies in previtellogenic sturgeon *Huso huso*. **Animal reproduction science.** 157: 1-10.

Alam, M.S. and Uddin, M.Z. 1998. Effects of testosterone propionate on growth survival and sex-ratio of African catfish (*Clarias gariepinus*). Department of Fisheries Biology and Genetics. Bangladesh Agricultural University. **Bangladesh Fish** : 31-39.

Alcántar-Vázquez, J. P., Rueda-Curiel, P., Calzada-Ruíz, D., Antonio-Estrada, C., & Moreno-de la Torre, R. (2015). Feminization of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by estradiol-17β Effects on growth, gonadal development and body composition. **Hidrobiológica.** 25(2): 275-283.

Amaninejad, P., Sahafi, H., Soltani, M., Kamali, A., & Naji, T. (2018). Effects of endocrine disruption by 4-nonylphenol ethoxylate on the growth performance and immune response of female and male immature koi carp (*Cyprinus carpio*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences.** 17(4): 725-744.

AOAC 1990. Association of official analytical chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Vol. 1, 14th edn. **AOAC, Arlington**, VA, USA.

Arslan T. & Phelps R.P. (2004) Production of monosex male Black crappie, (*Pomoxis nigromaculatus*), populations by multiple androgen immersion**. Aquaculture.** 234:561-573.

Baroiller, J.F., Guiguen, Y. and Fostier, A. 1999. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish CMLS, Cell. **Mol. Life Sci.** 55 : 910-931.

Boj, M., Chauvigné, F., Zapater, C., & Cerdà, J. (2015). Gonadotropin-activated androgen-dependent and independent pathways regulate aquaporin expression during teleost (*Sparus aurata*) spermatogenesis. **PLoS One.** 10(11): e0142512.

Bucolo, G. and David, H. 1973. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. **Clin. Chem.** 19(5): 476-482.

Carvalho, C.V.A., Passini, G., Costa, W.M., Vieira B.N. and Cerqueira, V.R. 2014. Effect of estradiol-17β on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (on the sex ratio growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*). **Acta Scientiarum Animal Sciences Maringa.** v. 36: 239-245.

Cuesta, A., Vargas-Chacoff, L., García-López, A., Arjona, F. J., Martínez-Rodríguez, G., Meseguer, J., ... & Esteban, M. A. (2007). Effect of sex-steroid hormones, testosterone and estradiol, on humoral immune parameters of gilthead seabream. **Fish & Shellfish Immunology.** 23(3): 693-700.

Chatain, B., Saillant, E., & Peruzzi, S. (1999). Production of monosex male populations of European seabass, *(Dicentrarchus labrax)* L. by use of the synthetic androgen 17-α-methyldehydrotestosterone. **Aquaculture.** 178: 225-234. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00111-8.

Contreras-Sánchez, W. M., Márquez-Couturier, G., Feist, G., Hernández-Franyutti, A., Schreck, C. B., & Giannico, G. (2003). Diversification of Aquacultural practices by incorporation of native species and implementation of alternative sex inversion techniques. Twenty-first Annual technical reports. Corvallis, Oregón, EE. UU.: **Aquaculture CRSP**.

Degani, G. (1986). Effect of combined dietary 17-β-estradiol and 17-α-methyltestosterone on growth and body composition of European eels (*Anguilla anguilla*). **Aquaculture.** 59(3-4): 169-175.

Devlin, R. H., & Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture.** 208: 191-364. 0.1016/S0044-8486 (02)00057-1.

Donaldson, E.M., Fagerlund, U.H.M., Higgs, D.A. and McBride, J.R. 1979. Hormonal enhancement of growth. In: **Fish physiology** Vol VIII. Academic Press New York. : 455-597.

Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol. Chem:**751-766.

Greisy, Z.A., Gamal, A.E. 2012. Monosex production of tilapia, Oreochromis niloticus using different doses of 17-α-methyltestosterone with respect to the degree of sex stability after

one year of treatment. National Institute of Oceanography and **Fisheries Kaetbey Alexandria Egypt.**

Grossman CJ. 1985. Interactions between the gonadal steroids and the immune system. **Science** 227: 257-2

Falahatkar, B., Poursaeid, S., Meknatkhah, B., Khara, H., & Efatpanah, I. (2014). Long-term effects of intraperitoneal injection of estradiol-17β on the growth and physiology of juvenile stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. **Fish physiology and biochemistry.** 40(2): 365-373.

Ferdous, Z. and Ali, M.M. 2011. Optimization of hormonal dose during masculinization of tilapia (*Oreochromis niloticus)* fry. Department of Aquaculture, Bangladesh Agricultural University**, J.Bangladesh** Agril Univ. 9: 359-364.

Feist, G., Yeoh, C. G., Fitzpatrick, M. S., & Schreck, C. B. (1995). The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17α-methyltestosterone and 11 β-hydroxyandro-stenedione. **Aquaculture.** 131(1-2): 145-152.

Fleg, H.M. 1973. An investigation of determination of serum cholesterol by an enzymatic method. Ann. **Clin. Biochem**: 79-84.

Flynn SR, Benfey TJ (2007). Effects of dietary estradiol-17β in juvenile shortnose sturgeon, (*Acipenser brevirostrum*), Lesueur. **Aquaculture.** 270: 405-412

Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of biological chemistry.** 177(2): 751-766.

Hakim, N.F.A., Rizkalla, E.H., Hessen M.S., Hegazi, A.Z., Tahoun, A.A.M. and Khalfalla, A.I. 2013. Comparative study for the production of the male Nile tilapia between inter specific hybridization and hormonal sex reversal. Animal Production Dept., Faculty of Agriculture, Al-Azhar University. Egypt. **J. Aquat. Biol. & Fish.** 17: 73-89.

Hasheesh, W. S., Marie, M. A. S., Abbas, H. H., Eshak, M. G., & Zahran, E. A. (2011). An evaluation of the effect of 17α-Methyltestosterone hormone on some biochemical, molecular and histological changes in the liver of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Life Science Journal**. 8(3): 343-358.

Hossain, Z., Afruj, S., & Rahman, M. M. (2002). Effects of different levels of estradiol-17β on growth, survival and sex-ratio of African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell**).** **Pakistan Journal of Biological Science**. 5: 355-358.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Hou Y, Suzuki Y, Aida K. 1999. Effects of steroids on the antibody producing activity of **lymphocytes in rainbow trout. Fish Sci.** 65: 850-855.

Hunter, G.A. and Donaldson E.M., 1983. Hormonal sex control and its application. In: **Fish physiology** Vol XB**.** Academic Press New York. 223-303.

Jie, M. and Fang, G.J. 2014. Genetic basis and biotechnological manipulation of sexual dimorphism and sex determination in fish. Chinese Academy of Sciences. University of the Chinese Academy of Sciences. **Sciences China Life Sciences**.

Khara, H., Falahatkar, B., Meknatkhah, B., Ahmadnezhad, M.,Efatpanah, I., Poursaeid, S. and Rahbar, M. 2013. Effect of dietary estradiol 17β on growth, haematology and biochemistry of stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. **World J. Fish. Mar. Sci**. 5(2): 113-120.

Kefi, A.S., Kang, J., Kassam, D. and Katongo C. 2012. Growth reproduction and sex ratios in (*Oreochromis Andersonii*) fed with varying levels of 17-α-Methyl testosterone. **Journal of Aquaculture Research & Development.** 3: 155.

Kobayshi, T., Kajura, H., Guan, G. and Nagahama, Y. 2008. Sexual dimorphic expression and development of Dmrt1 and sox9a during gonadal differentiation and hormone induced sex reversal in the teleost fish Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Developmental Dynamics**. 237: 297-306.

Kobayashi, T., & Nagahama, Y. (2009). Molecular aspects of gonadal differentiation in a teleost fish, the Nile tilapia. **Sexual Development.** 3(2-3): 108-117.

Komen, J., G.F. Wiegertjes, V.J.T. Van Ginneken, E.H. Eding, and C.J.J. Richter. 1992. Gynogenesis in common carp (*Cyprinus carpio*). The effects of inbreeding on gonadal development of heterozygous and homozygous gynogenetic offspring**. Journal of Aquaculture.** 104: 51-66.

Ijiri, S., Kaneko, H., Kobayashi, T., Wang, D.S., Sakai, F., Prasanth, B.P., Nakamura, M. and Nagahama, Y. 2008. Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Biol. Reprod**uct. 78: 333-341.

Lin, S., Benfey, T. J., and Martin-Robichaud, D. J. (2012). Hormonal sexreversal in Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Aquaculture.** 364: 192-197. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.023

Mommsen, T.P., Walsh, P.J., 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), Fish Physiology, vol 11A. Academic, **New York**, pp. 347–406

Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanism of action and metabolic regulation. **Rev Fish Biol Fish** 9:211–26

Nakamura, M. 1975. Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestoeterone on gonadal sex differentiation in Tilapia mosambica. **Bulletin of the Faculty of fisheries**, Hokkaido University 26: 99-108.

Nakamura, M. 1981. Feminization of Masu salmon, (*Oncorhynchus masou*), by administration of Estradiol -17-β. Bull. **Jpn . Sci. Fish.** 47: 15-29

Nakamura, M., Kobayashi, T., Chang X.T. and Nagahama Y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish. **Journal of Experimental Zoology.** 281: 362-372.

Nakamura, M. (2010). The mechanism of sex determination in vertebrates are sex steroids the key-factor. Journal of Experimental Zoology Part A**: Ecological Genetics and Physiology.** 313: 381-398. https://doi.org.

Pandian, T. J., & Sheela, S. G. (1995). Hormonal induction of sex reversal in fish**. Aquaculture.** 138(1-4): 1-22. https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01075-0.

Picchitti, S., Scapigliati, G., Fanelli, M., Barbato, F., Canese, S., Mastrolla, L., ... & Abelli, L. (2001). Sex-related variations of serum immunoglobulins during reproduction in gilthead sea bream and evidence for a transfer from the female to the eggs. **Journal of Fish Biology. 59(6): 1503-1511**.

Piferrer, F. (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture.** 197(1-4): 229-281. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-50913-0.50014-X.

Piferrer, F., & Guiguen, Y. (2008). Fish gonadogenesis. Part II: molecular biology and genomics of sex differentiation. **Reviews in Fisheries Science.** 16(sup1): 35-55.

PEREIRA, T. S. B., BOSCOLO, C. N. P., & Batlouni, S. R. (2020). EFFECTS OF THE USE OF 17B-ESTRADIOL FOR Leporinus macrocephalus FEMINIZATION. **Boletim do Instituto de Pesca.** 46(2).

Rahma A., Kamble M.T., Ataguba, l.A., Chavan, B.R., Rusydi, R. and Melisa. S. 2015. Steroidogenic and thermal control of sex in tilapia (*Oreochromis niloticus*): A review. International **Journal of Current Microbioly and Applied Sciences**. 214-229.

Reis, V. R., & Almeida, F. L. (2019). Effect of 17-β-oestradiol on the sex ratio of Tambaqui, (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Research.** 50(1): 154-161. https://DOI: 10.1111/ are.13878.

Rima, N. N., Rahman, M. M., & Sarker, M. J. (2017). Optimization of 17-alpha methyltestosterone (MT) hormone dose during masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **J Noakhali Sci Technol Univ (JNSTU).** 1: 35-41.

Sugiura, K., Naito, K., Endo, T. and Tojo, H., 2006. Study of germinal vesicle requirement for the normal kinetics of maturation/M-phase-promoting factor activity during porcine oocyte maturation. **Biology of reproduction.** 74(3): 593-600.

Saha, N. R., Usami, T., & Suzuki, Y. (2004). In vitro effects of steroid hormones on IgM-secreting cells and IgM secretion in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & Shellfish Immunology**. 17(2): 149-158.

Sayed, A.E.D.H. and Moneep R.H. 2015. Hematological and biochemical characters of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated using methyltestosterone. The Egyptian German Society for Zoology. The **Journal of Basic and Applied Zoology**. 36–42.

Schafhauser-Smith, D. and T.J. Benfey, 2003. The effects of long-term estradiol-17b treatment on the growth and physiology of female triploid brooktrout (*Salvelinus fontinalis*). **General Comparative Endocrinology.** 131: 9-20.

Scott, A.G., Penman, D.J., Beardmore, J.A., and Skibinski, D.O.F. 1989. The "YY" supermale in (*Oreochromis niloticus*) and its potential in aquaculture. **Journal of Aquaculture.** 78: 237-251.

Shi, Q. 1997. Melatonin: secretional characteristics and effects on gonadal development in the rice-field eel, *Monopterus albus* Zuiew. **PhD dissertation. Zhongshan University**, Guangzhou, China.

Shi, Q., H. R. Lin, and P. L. Tang. 1998. Effects of exogenous melatonin on gonadal development and secretion of gonadal hormones in the rice-field eel, *Monopterus albus* Zuiew. **Acta Zoologica Sinica**. 4: 435-442.

Singh, H. 1993. Effects of malathion on steroidogenesis and sex reversal in *Monopterus albus*. **Marin Environmental Research.** 159-164.

Tan, M. P., Amornsakun, T., Siti Azizah, M. N., Habib, A., Sung, Y. Y., & Danish-Daniel, M. (2019). Hidden genetic diversity in snakeskin gourami, *Trichopodus pectoralis*

(Perciformes, Osphronemidae), inferred from the mitochondrial DNA CO1 gene. **Mitochondrial DNA Part B.** 4(2): 2966-2969.

Tang, F., S.T.H. Chan and B. Lofts, 1974. Effect ofsteroid hormones on the process of natural sexreversal of the rice field eel, *Monopterus albus* (Zuiew). **General Comparative Endocrinology.** 24: 227-241.

Teles, M., Gravato, C., Pacheco, M., & Santos, M. A. (2004). Juvenile sea bass biotransformation, genotoxic and endocrine responses to β-naphthoflavone, 4-nonylphenol and 17-β-estradiol individual and combined exposures. **Chemosphere**. 57 (2): 147-158.

Thilagam, H., Gopalakrishnan, S., Bo, J., & Wang, K. J. (2009). Effect of 17β-estradiol on the immunocompetence of japanese sea bass (*Lateolabrax Japonicus*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal.** 28(8): 1722-1731.

Trudeau, V. L., Somoza, G. M., Nahorniak, C. S., & Peter, R. E. (1992). Interactions of estradiol with gonadotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone in the control of growth hormone secretion in the goldfish. **Neuroendocrinology.** 56(4): 483-490.

Tzchori I, Degani D, Elisha R, Eliyahu R, Hurwitz A, Vaya J, Moav B (2004). The influence of phytoestrogens and oestradiol-17b on growth and sex determination in the European eel (*Anguilla anguilla*). **Aquac Res.** 35: 1213-1219

Vidal-López, J. M., Contreras-Sánchez, W. M., Hernández-Franyutti, A., Contreras-García, M. D. J., & Uribe-Aranzábal, M. D. C. (2019). Functional feminization of the Mexican snook (*Centropomus poeyi*) using 17β-estradiol in the diet. **Latin american journal of aquatic research**. 47(2): 240-250.

Wallaert, C., & Babin, P. J. (1992). Effects of 17β-estradiol and starvation on trout plasma lipoproteins. **Lipids.** 27(12): 1032-1041.

Wang, H. P., Gao, Z., Beres, B., Ottobre, J., Wallat, G., Tiu, L., ... & Yao, H. (2008). Effects of estradiol-17β on survival, growth performance, sex reversal and gonadal structure of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. **Aquaculture.** 285(1-4): 216-223.

Wang, J., Zhou, J., Yang, Q., Wang, W., Liu, Q., Liu, W., & Liu, S. (2020). Effects of 17α-methyltestosterone on the transcriptome, gonadal histology and sex steroid hormones in *Pseudorasbora parva*. **Theriogenology.** 155: 88-97.

Yousefian, M., Laghab, A.O., Ahmadi, E., Irani M. and Makhdoo, C. 2012. Effect of different administration of 17β-estradiol on gonadal sex differentiation in *Astatotilapia latifasciata*. **World Applied Sciences Journal**. 18(7): 868-872.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# ประวัติผู้เขียน

นายอภินัทธ์ กับปา เกิดเมื่อวันที่ 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดชุมพร เริ่มศึกษาชั้นประถมศึกษาที่โรงเรียนชุมชนบ้านทะเลทรัพย์ อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ได้ศึกษาต่อชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายที่โรงเรียนสอาดเผดิมวิทยา อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์น้ำ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี ในปีการศึกษา 2558 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี 2561

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี