



รายงานการวิจัย

ผลของการอดอาหารต่อการปรับตัวทางสรีรวิทยาของปลาน้ำจืดทราย และ
การศึกษาการแสดงออกของยีนในตับปลาน้ำจืดทรายที่ได้รับอาหาร
เปรียบเทียบกับปลาน้ำจืดทรายที่อดอาหาร

(Effects of food deprivation on physiological adaptation in Sand
goby and study on hepatic gene expression in fed fish comparing to
food-deprived fish)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

ผลของการอดอาหารต่อการปรับตัวทางสรีรวิทยาของปลาน้ำจืดทราย และ
การศึกษาการแสดงออกของยีนในตับปลาน้ำจืดทรายที่ได้รับอาหาร
เปรียบเทียบกับปลาน้ำจืดทรายที่อดอาหาร

(Effects of food deprivation on physiological adaptation in Sand
goby and study on hepatic gene expression in fed fish comparing to
food-deprived fish)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ บุญอนันตธาน

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ธันวาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง “ผลของการอดอาหารต่อการปรับตัวทางสรีรวิทยาของปลาบู่ทราย *Oxyleotris mamorata* Bleeker และการศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับปลาบู่ทรายที่ได้รับอาหารเปรียบเทียบกับปลาบู่ทรายที่อดอาหาร” ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2549 การทำวิจัยในครั้งนี้ได้รับการเอื้อเพื่อให้ใช้ห้องปฏิบัติการเครื่องมือ อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ และบุคลากร จากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (F3) และการการเอื้อเพื่อสถานที่ในการทดลองเลี้ยงปลา จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี แผนกสัตว์น้ำ นอกจากนี้การวิจัยนี้ยังได้รับการสนับสนุนพันธุ์ปลาบู่ทรายและสถานที่ทดลองที่ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัยอย่างดียิ่ง และยังให้ข้อมูลการเพาะเลี้ยงปลาบู่ทรายและปัญหาการเพาะเลี้ยงที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัยเป็นอย่างยิ่ง และ นายสุนัย พลายมี หัวหน้างานสัตว์น้ำ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี รวมทั้งบุคลากรฝ่ายสนับสนุนทุกท่าน ที่ได้ให้การช่วยเหลือ ให้คำแนะนำต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวศิริวรรณ เพชรสมบัติ หัวหน้างานกลุ่มห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และนายมานะ ชาญเวช พนักงานวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ที่ได้ให้การช่วยเหลือ และคำแนะนำต่าง ๆ ในการทำงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณหัวหน้าสถานวิจัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร (รองศาสตราจารย์ ดร. หนึ่ง เตียอำรุง) บุคลากรของสถานวิจัย (นางศุภกาญจน์ บุญอยู่ และนาง ปุณณภา สุปโคกสูง) ที่ได้ให้คำแนะนำ และการช่วยเหลือในส่วนของงานธุรการและการเงินในการวิจัยครั้งนี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์ บุคลากรและนักศึกษา ของสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ที่ได้ให้การช่วยเหลือ คำแนะนำ และการสนับสนุนในด้านต่าง ๆ สำหรับงานวิจัยนี้

บทคัดย่อ

ผลการรอดอาหารต่อการสรีรวิทยาการปรับตัวในปลาน้ำจืดแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ปลาบางชนิดมีความอดทนต่อการรอดอาหารได้ดี เช่นปลาที่มีการอพยพสามารถอดอาหารในช่วงที่อพยพได้เป็นระยะทางไกล ๆ ปลาบางชนิดสามารถอยู่รอดได้แม้ในช่วงเวลาอดอาหารสั้น ๆ ตับปลาเป็นอวัยวะที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่อการปรับตัวของสัตว์ในระหว่างการอดอาหาร ปลาบู่ทราย (*Oxyleotris mamorata* Bleeker) เป็นปลาชนิดหนึ่งที่นิยมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มักจะประสบกับภาวะการอดอาหารในช่วงชีวิตของปลา การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาน้ำหนักบัพทบาทสำคัญต่อกลไกเมตาบอลิซึมของปลาที่พบในปลาที่ได้รับอาหารปกติ และที่ไม่พบในปลาที่อดอาหาร โดยผลการศึกษานี้ได้พบยีนที่เกี่ยวข้องกับค่าทางโลหิตวิทยา ค่าทางชีวเคมีในเลือด ภูมิคุ้มกันโรค เมตาบอลิซึมของร่างกาย และกระบวนการทางชีววิทยาอื่น ๆ ในปลาที่ได้รับอาหารเป็นปกติโดยพบว่าปลาในกลุ่มอดอาหารมีการแสดงออกของยีนในกลุ่มดังกล่าวน้อย

ภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาของปลาบู่ทราย การศึกษานี้ได้ทำการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าพารามิเตอร์ของปลาบู่ทรายที่อดอาหารเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในการทดลองนี้ปลาได้นำมาเลี้ยงและให้อาหารตามปกติเป็นเวลา 1 เดือน ต่อจากนั้นจึงทำการงดอาหารและทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว ค่าดัชนีตับองค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยา และ ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีในเลือด ที่ระยะเวลา 0 (ก่อนเริ่มอดอาหาร), 1, 4, 7, 14, 21, และ 28 วัน พบว่าปลาบู่ทรายที่ได้รับอาหารจะมีการเจริญเติบโตแบบ sigmoid curve [$\ln(Y) = 0.257 - 3.808(1/x); R^2 = 0.768, P < 0.01$] ในขณะที่ปลาที่อดอาหารจะการลดลงของน้ำหนักตัวแบบ quadratic [$Y = 0.008x^2 - 0.367x + 0.4; R^2 = 0.738, P < 0.01$] ค่าดัชนีตับมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ปลาบู่ทรายที่อดอาหารจะมีปริมาณน้ำในเนื้อปลาเพิ่มขึ้น ($P < 0.01$) และการลดลงของค่าไขมันในกล้ามเนื้อ ($P < 0.01$) ตามเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเถ้าในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ทางด้านโลหิตวิทยานั้นพบว่าระยะเวลาการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบแนวโน้มการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินตามระยะเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น และพบว่าการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับการศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงเอ็นไซม์ในตับนั้นพบว่าระยะเวลาการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเอ็นไซม์ SGPT, SGOT, alkaline phosphatase และ Amylase ($P < 0.01$) นอกจากนี้ภาวะการอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าโปรตีนในพลาสมา ($P < 0.01$) และค่าอัลบูมิน ($P > 0.05$) แต่มีผลทำให้ค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.01$) สำหรับค่าเมตาบอลิซึม

ในเลือดนั้นพบว่าภาวะการอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่ากลูโคสในเลือด ($P < 0.01$) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคลอเลสเตอรอลและค่าไตรกลีเซอไรด์อย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ในการศึกษาผลของการอดอาหารต่อค่าแร่ธาตุในเลือดพบว่าภาวะการอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าคลอไรด์ในเลือดและการเพิ่มของค่าแคลเซียมในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ค่าเหล็กในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยภาพรวมสามารถสรุปได้ว่าปลานู๋ทรายมีการปรับตัวทางด้านสรีรวิทยาในระหว่างที่ปลาอยู่ในภาวะอดอาหาร ในระหว่าง 28 วันที่ปลาไม่ได้รับอาหารนั้นเป็นช่วงที่ปลานู๋ทรายได้ใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงานเพื่อเผาผลาญให้ได้กลูโคสให้พลังงานแก่การดำรงชีวิต



Abstract

Effects of food deprivation on physiological adaptations vary among fish. Some fish such as migrating fish exhibit high ability in maintain physiological state during their migrating to spawn. Several fish cannot survive even in the short-term fasting. Liver plays a major role in a number of metabolic adaptations to fasting period. During its lifetime, sand goby, *Oxyleotris mamorata* Bleeker, is an aquaculture-related fish which often experienced food deprivation during their production. Therefore, the aim of this research is to comparatively investigate the expression of gene involved in metabolic adaptation of liver in fed-fish which were not found in food-deprived fish. The present results found the expression of gene related to hematological parameters, blood biochemistry, metabolism, immune-related gene as well as other biological process genes in fish that have been normally fed. However, these genes were rarely found in fasted food-deprived fish.

The effects of food deprivation on physiological adaptation in sand goby were investigated. In this study, fish were normally fed for a month. Then, fish were not fed, and the changes in body weight gain, hepatosomatic index (HSI), chemical composition in muscle, hematological indices, and blood chemical parameters were evaluated at 0 (before fasting), 1, 4, 7, 14, 21, and 28 days during fasting period. The sigmoid curve [$\ln(Y) = 0.257 - 3.808(1/x)$; $R^2 = 0.768$, $P < 0.01$] was predicted between a number of days and weight gain in normally fed fish while the quadratic relationship [$Y = 0.008x^2 - 0.367x + 0.4$; $R^2 = 0.738$, $P < 0.01$] was predicted in food-deprived fish. The value of HSI decreased as fasting days increased; however, there was no statistically significant ($P > 0.05$). During the fasting period, muscular water content increased while muscular lipid decreased ($P < 0.01$). While there were no marked different in muscular protein, the muscular ash was changed. In order to determine the influence of food deprivation on hematological parameters, red blood cell number (RBC), hemoglobin [Hb] and hematocrit [Ht] were analyzed. Although no significant differences were observed, RBC and [Hb] decreased as fasting days increase ($P > 0.05$). The significant alteration in Ht was observed ($P < 0.01$). Significant changes in the enzymes associated with liver function including SGOT, SGPT and alkaline phosphatase were detected ($P < 0.01$). The significant reduction in amylase level was observed in food-deprived fish ($P < 0.01$). Moreover, plasma protein and albumin

decreased while blood urea-nitrogen increased ($P < 0.05$). While cholesterol and triglyceride were not different among fasting days, blood glucose decreased ($P < 0.01$). The effects of food deprivation on blood mineral were also determined. There were no significant change in serum iron ($P > 0.05$). Serum chloride decreased whereas calcium increased ($P < 0.01$). Taken together, sand goby exhibit adaptive physiological responses in food deprivation. During 28 days of fasting, lipid became the energy source for sand goby to supply the requirement of glucose in fish body, indicating that fish entered to a period of adapted starvation.



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	10
ขอบเขตของการวิจัย	10
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	11
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
การทดลองที่ 1 การศึกษาการแสดงออกของยีนในตับปลาบู่ทรายที่ได้รับอาหารปกติ	
เปรียบเทียบกับปลาบู่ทรายที่อดอาหาร.....	12
การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการ	
เปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวองค์ประกอบเคมีในกล้ามเนื้อค่าทาง	
โลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาบู่ทราย.....	14
บทที่ 3 ผลการวิจัย.....	24
อภิปรายผลการทดลอง.....	50
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	62
ข้อเสนอแนะ	65
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	70
ประวัติผู้วิจัย	97

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 ชิ่นที่ทราบหน้าที่ที่พบในปลาที่ได้รับอาหารปกติการศึกษาครั้งนี้.....52



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1.1 ผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและการขับถ่ายไนโตรเจน ในแต่ละระยะของการอดอาหาร.....	4
ภาพที่ 1.2 การผลิตกลูโคสในช่วงระยะเวลาที่อดอาหาร	6
ภาพที่ 1.3 ผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสและทีโตนบอดี (A) และระดับไกลโคเจนในตับ (B)	7
ภาพที่ 2.1 แผนภาพสร้างห้องสมุด cDNA ของ mRNA จากตับของปลาบู่ทราย.....	13
ภาพที่ 2.2 รายละเอียดวิธีการจัดการทดลองเพื่อศึกษาผลของการอดอาหารในปลาบู่ทราย ดังการทดลองที่ 2.2.....	16
ภาพที่ 3.1 การประมาณกราฟการเจริญเติบโตของปลาบู่ทรายที่ได้รับอาหาร (ก) และปลาบู่ทรายที่อดอาหาร(ข).....	26
ภาพที่ 3.2 ผลของการอดอาหารต่อค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index) ในปลาบู่ทราย.....	28
ภาพที่ 3.3 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อ (muscular water content) ในปลาบู่ทราย.....	29
ภาพที่ 3.4 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณโปรตีนในกล้ามเนื้อ (muscular protein) ในปลาบู่ทราย.....	30
ภาพที่ 3.5 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อ (muscular lipid) ในปลาบู่ทราย.....	31
ภาพที่ 3.6 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณเถ้าในกล้ามเนื้อ (muscular ash) ในปลาบู่ทราย.....	32
ภาพที่ 3.7 ผลของการอดอาหารต่อค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cells number) ในปลาบู่ทราย.....	33
ภาพที่ 3.8 ผลของการอดอาหารต่อค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในปลาบู่ทราย.....	34
ภาพที่ 3.9 ผลของการอดอาหารต่อค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ในปลาบู่ทราย.....	35
ภาพที่ 3.10 ผลของการอดอาหารต่อค่า SGPT (Serum glutamate pyrophosphate transaminase) ในปลาบู่ทราย.....	37
ภาพที่ 3.11 ผลของการอดอาหารต่อค่า SGOT (Serum glutamate oxalolactate transaminase) ในปลาบู่ทราย.....	38
ภาพที่ 3.12 ผลของการอดอาหารต่อค่า alkaline phosphatase ในปลาบู่ทราย.....	39

ภาพที่ 3.13 ผลของการอดอาหารต่อค่า amylase ในปลาญูทราย.....	40
ภาพที่ 3.14 ผลของการอดอาหารต่อค่าโปรตีนในพลาสมา (plasma protein) ในปลาญูทราย.....	41
ภาพที่ 3.15 ผลของการอดอาหารต่อค่าอัลบูมิน (albumin) ในปลาญูทราย.....	42
ภาพที่ 3.16 ผลของการอดอาหารต่อค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด (Blood Urea Nitrogen) ในปลาญูทราย.....	43
ภาพที่ 3.17 ผลของการอดอาหารต่อค่ากลูโคสในเลือดในปลาญูทราย.....	44
ภาพที่ 3.18 ผลของการอดอาหารต่อค่าคลอเลสเตอรอล (cholesterol) ในปลาญูทราย.....	45
ภาพที่ 3.19 ผลของการอดอาหารต่อค่าไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในปลาญูทราย.....	46
ภาพที่ 3.20 ผลของการอดอาหารต่อค่าคลอไรด์ในซีรัมในปลาญูทราย.....	47
ภาพที่ 3.21 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณเหล็กในเลือดในปลาญูทราย.....	48
ภาพที่ 3.22 ผลของการอดอาหารต่อค่าแคลเซียมในเลือดในปลาญูทราย.....	49



บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

ปลาบู่หรือปลาบู่ทราย (Sand Goby or marbled sleepy Goby) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Oxyleotris mamorata* Bleeker จัดเป็นปลากินเนื้อเป็นอาหาร (carnivorous) เป็นปลาน้ำจืดพบตามแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบตามแหล่งน้ำธรรมชาติ ได้แก่ ลำคลอง แม่น้ำ อ่างเก็บน้ำต่างๆ มีอุปนิสัยชอบอยู่นิ่งๆตามพื้นดินหรือพื้นทราย การเพาะเลี้ยงในอศิตอาศัยการเสาะหาลูกพันธุ์จากธรรมชาติเป็นหลัก ในปัจจุบันกรมประมงโดยศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี สามารถเพาะพันธุ์แบบเลียนแบบธรรมชาติโดยการฉีดฮอร์โมน ทำให้ได้ลูกพันธุ์จำนวนมากขึ้น อย่างไรก็ตามการอนุบาลจนถึงขนาดที่จะนำไปเลี้ยงในบ่อดินได้ยังมีอัตราที่ต่ำ (10-15 เปอร์เซ็นต์) การอนุบาลลูกปลาบู่ทรายยังมีข้อจำกัดอย่างมาก เนื่องจากไม่สามารถหาอาหารมีชีวิตขนาดเล็กที่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลลูกปลาบู่ทรายได้ ทำให้อัตราการรอดในการอนุบาลลูกปลาบู่ทรายต่ำมาก การเลี้ยงปลาบู่ทรายก็ยังมีปัญหาในด้านอาหาร ปลาบู่ทรายเป็นปลากินเนื้อและมักชอบกินเหยื่อที่เคลื่อนไหวได้ การพัฒนาสูตรอาหารก็มีส่วนต่อเนื่อง โดยการหาวัสดุท้องถิ่นต่างๆมาผสมลงไปในการอาหารร่วมกับปลาสด ซึ่งทำให้การเลี้ยงปลาบู่ทรายยังจำกัดอยู่ในเขตจังหวัดที่สามารถใช้ปลาเป็ดที่เป็นของเหลือจากการทำการประมง การเลี้ยงปลาบู่มีทั้งเลี้ยงในบ่อดินและการเลี้ยงในกระชัง ระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในช่วง 6 เดือน ถึง 1 ปี ขึ้นกับขนาดของลูกปลาที่ปล่อยตอนต้นและขนาดที่ต้องการจับขาย อาหารที่ใช้เลี้ยงปลาบู่หลักๆคือปลาเป็ดและมีการผสมวัตถุดิบอื่นๆในท้องถิ่นซึ่งอาจมีการเสริมวิตามินรวมด้วย ปลาบู่มีนิสัยหากินเวลากลางคืนและกินอาหารซ้ำ การให้อาหารจึงให้วันละ 1 ครั้ง โดยให้ตอนเย็น ในอัตราประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว จากข้อมูลการเลี้ยงที่เป็นกรณีศึกษาที่พบว่าการเลี้ยงพบว่าปลาบู่มีอัตราการผลิตอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) สูงคืออยู่ในช่วง 8-9.4 กิโลกรัม (ณรงค์, 2547) ราคาปลาบู่ทรายมีราคาสูงเมื่อเทียบกับปลาน้ำจืดอื่นๆ มีราคาประมาณ 200-300 บาทต่อกิโลกรัม ถ้ามีขนาดตัวใหญ่ประมาณ 400-500 กรัม จะมีราคาสูงขึ้น จึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่อยากผลิตปลาบู่ขนาดใหญ่แต่การเจริญเติบโตของปลาในช่วงท้ายๆนั้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำ

เนื่องจากปลาน้ำจืดเป็นปลากินเนื้อและมักจะกินอาหารมีชีวิต กอปรกับการอนุบาลลูกปลาน้ำจืดยังเป็นปัญหาของเกษตรกรที่สำคัญของการเลี้ยงปลาน้ำจืด ทำให้การเลี้ยงปลาน้ำจืดส่วนใหญ่ยังต้องอาศัยการรวบรวมลูกพันธุ์ปลาจากธรรมชาติ ซึ่งลูกปลาที่รวบรวมได้จากธรรมชาติมักจะมีปัญหาในด้านการปรับตัวของปลาที่นำมาเลี้ยง ซึ่งอาจจะบอบช้ำและเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากการจับและการขนส่ง ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญสำหรับการปรับตัวของปลาที่นำมาจากการรวบรวมจากธรรมชาติ ก็คือการที่ปลาน้ำจืดจะไม่ยอมรับอาหาร ทำให้ปลาน้ำจืดประสบกับสภาวะการอดอาหาร ซึ่งสภาวะการอดอาหารจะส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตและสุขภาพของปลาน้ำจืด ดังนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีววิทยาและสรีรวิทยาของปลาน้ำจืดในสภาวะที่ปลาน้ำจืดไม่ได้รับอาหารหรืออดอาหาร จึงเป็นข้อมูลวิชาการที่สำคัญที่จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดให้ประสบผลสำเร็จต่อไป

โดยทั่วไปปลาในธรรมชาติมักจะมีสภาวะการอดอาหาร (food deprivation) ในแหล่งน้ำธรรมชาติเนื่องจากอาหารธรรมชาติไม่แน่นอน โดยเฉพาะปลากินเนื้อซึ่งเป็นปลาล่าเหยื่อ ซึ่งจะต้องอยู่ในภาวะที่ในบางครั้งไม่พบเหยื่อ (sit-and-wait predators) อาจจะต้องอยู่ในช่วงรอเหยื่อเป็นวันหรือเป็นสัปดาห์ ปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตหนาวมักจะต้องผ่านช่วงเวลาของการขาดแคลนอาหารในช่วงฤดูหนาว ปลาสองน้ำ (diadromous fish) ซึ่งต้องมีการอพยพเพื่อไปวางไข่ก็ต้องผ่านช่วงเวลาการอดอาหาร เช่น ปลาซาลมอนแปซิฟิกไม่ได้กินอาหารในช่วงเวลาที่ต้องว่ายน้ำอพยพไปกลับไปแม่น้ำซึ่งอาจจะต้องเป็นระยะทางกว่า 1,000 กิโลเมตร (French et al., 1983) ปลาไหลที่มีการอพยพก็ไม่ได้กินอาหารในช่วงที่ต้องอพยพผ่านมหาสมุทรแอตแลนติกเพื่อไปวางไข่ ดังนั้นปลาจึงมีการปรับร่างกายในช่วงเวลาที่ขาดแคลนอาหาร การปรับร่างกายในช่วงเวลาที่ขาดแคลนอาหารซึ่งได้แก่การปรับทางด้านสรีรวิทยาในร่างกาย ซึ่งเป็นกลไกการปรับตัวเพื่อการอยู่รอด การศึกษาถึงสภาวะการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าทางสรีรวิทยาในสัตว์เป็นการศึกษาที่เป็นประโยชน์ ต่อการศึกษาทางชีววิทยาของสัตว์ในหลายๆ ด้าน เช่น เป็นข้อมูลทางวิชาที่สำคัญในการศึกษาด้านการอพยพของปลาในธรรมชาติ สามารถนำไปประยุกต์ในการศึกษาด้านสถานะทางโภชนาการในปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ และปลาในการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ในทางปศุสัตว์ซึ่งได้มีการปรับปรุงพันธุ์และการคัดเลือกพันธุ์สุกรและพันธุ์ไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว ได้มีการศึกษาทางด้านการใช้ประโยชน์จากการอดอาหารต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงสุกรและไก่ ซึ่งเรียกลักษณะการอดอาหารนี้ว่า skip-a-day feeding จัดเป็นสภาวะการอดอาหารอย่างอ่อน และพบว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดอัตราการตายของสัตว์ เพิ่มคุณภาพเนื้อ เพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร การศึกษาทางด้านชีววิทยาของการอดอาหารของสัตว์ยังนำไปสู่การ

เปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้ เนื่องจากเมื่อสัตว์ประสบกับภาวะการอดอาหารจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจะมีผลกระทบโดยตรงต่อประชากรจุลินทรีย์ได้

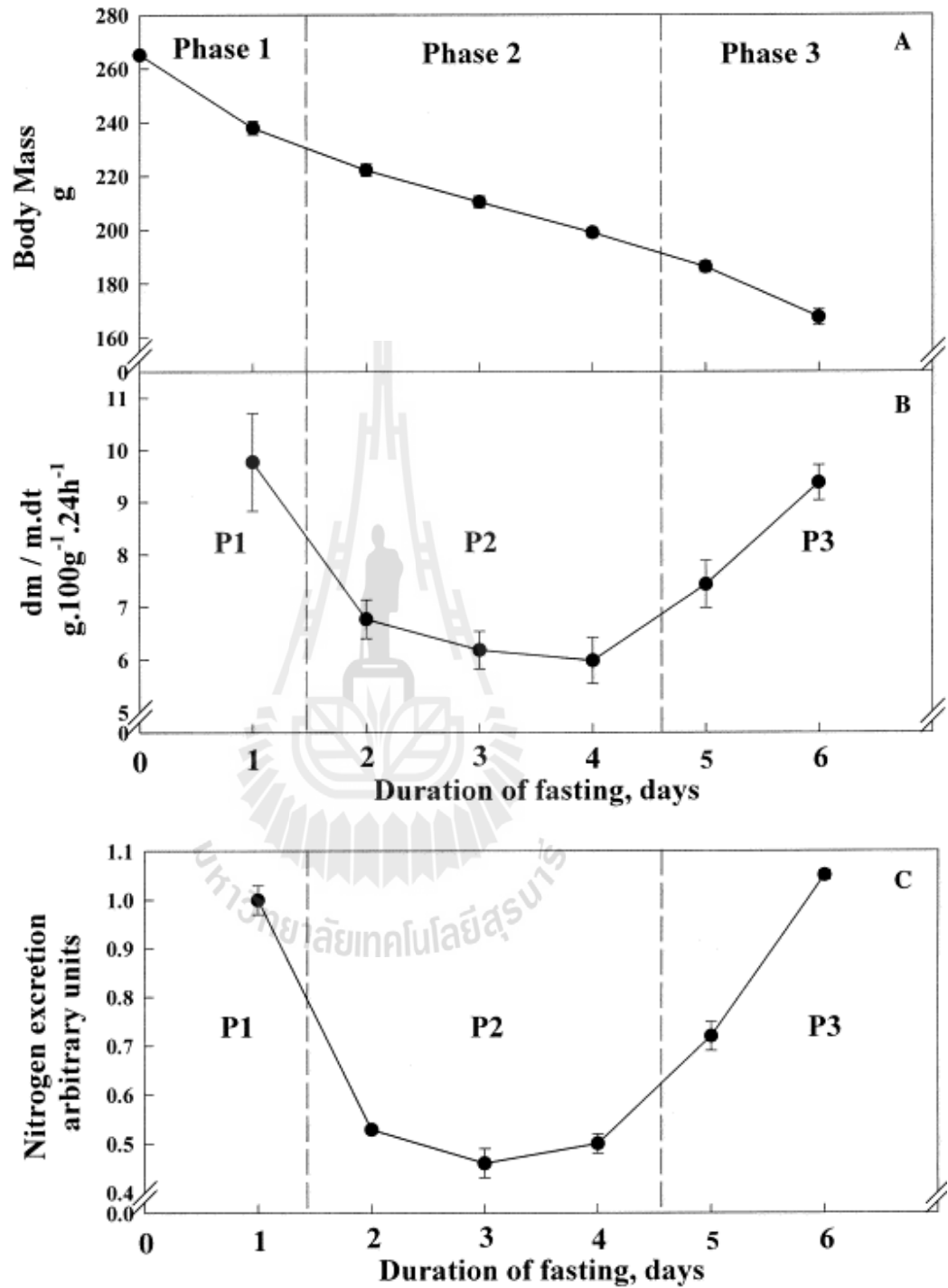
การศึกษาและผลงานที่มีมาก่อน

เมื่อสัตว์อยู่ในภาวะการขาดแคลนอาหารสัตว์ต้องใช้พลังงานที่เก็บสะสมไว้ในร่างกาย เพื่อการรักษาเมตาบอลิซึมพื้นฐาน (basal metabolism) การเคลื่อนไหวของร่างกาย พฤติกรรมการเจริญเติบโต และการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ดังนั้นถ้าสัตว์มีการเก็บสะสมพลังงานภายในไว้มาก ก็จะเป็นการทำให้สัตว์สามารถอดทนในช่วงเวลาการขาดแคลนอาหารได้นานขึ้น นอกจากนี้สัตว์จะมีการปรับตัวให้อยู่รอดในภาวะการอดอาหารให้นานขึ้น โดยการลดอัตราเมตาบอลิซึมในร่างกายลง เช่น การชะลอหรือการหยุดการสืบพันธุ์ของสัตว์ การลดอุณหภูมิในร่างกายลง ดังจะเห็นได้ว่าธรรมชาติของปลาส่วนใหญ่มักจะสืบพันธุ์ในช่วงเวลาที่ในธรรมชาติมีอาหารอุดมสมบูรณ์

การศึกษาด้านการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาสรีรวิทยาของสัตว์ในช่วงระยะเวลาการอดอาหาร มีการศึกษากันมาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก fasting หมายถึงการที่ร่างกายขาดอาหารหรืออดอาหาร starvation หมายถึงภาวะที่ร่างกายขาดสารอาหารเป็นระยะเวลานานส่งผลให้ร่างกายใช้สารอาหารที่เก็บสะสมเอาไว้ทำให้เกิดภาวะการขาดสารอาหารในร่างกาย ซึ่งอาจจะขาดทั้งสารอาหารหลัก (macronutrient) เช่น โปรตีนและไขมัน ร่วมกับการขาดสารอาหารที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อย (micronutrient) ภาพที่ 1.1 เป็นการอธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาของหนูในด้านการลดลงของน้ำหนักตัวและการเกิดของเสียในโตรเจนในร่างกาย (Bertile et al., 2003)

Wang และคณะ (2006) ได้อธิบายภาวะการอดอาหารในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยมีการแบ่งระยะการขาดอาหารออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่

ระยะที่ 1 (phase I) Post absorptive phase เป็นการเริ่มเข้าสู่ภาวะการอดอาหาร โดยเริ่มตั้งแต่ร่างกายได้ดูดซึมสารอาหารจากอาหารมื้อสุดท้ายหมดไปจากอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร เป็นระยะที่กระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายจะใช้พลังงานจาก glycogenolysis หรือการสลายไกลโคเจนในตับ โดยการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเพื่อรักษาระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ adipose tissue จะมีการสลายเป็นกรดไขมัน (fatty acid) ในพลาสมา



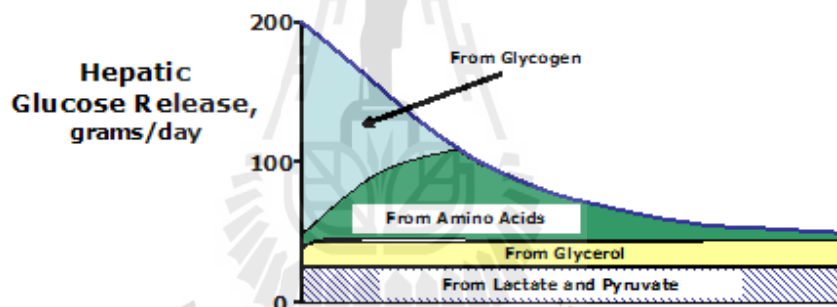
ภาพที่ 1.1 ผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและการขับถ่ายไนโตรเจนในแต่ละระยะของการอดอาหาร (Bertile et al., 2003)

ระยะที่ 2 (Phase II) เมื่อไกลโคเจนที่อยู่ในตับถูกใช้หมดไป ร่างกายจะผลิตกลูโคสเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของอวัยวะต่างๆ เช่น สมอง กล้ามเนื้อ และเม็ดเลือดแดง เป็นต้น ซึ่งร่างกายจะได้กลูโคสจากกระบวนการ gluconeogenesis ซึ่งเป็นกระบวนการที่ผลิตกลูโคสจากสารที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต (ไพรูเวต กรดแลคติก อะลานีน และกลีเซอรอล) ในระยะนี้ร่างกายจะมีการสลายโปรตีน (proteolysis) ในกล้ามเนื้อให้ได้กรดอะมิโน สลาย adipose tissue และไตรกลีเซอไรด์ ให้ได้กลีเซอรอล เพื่อนำไปสร้างเป็นกลูโคสในกระบวนการ gluconeogenesis และเกิดการเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันในกรดไขมันที่ได้มา ทำให้เพิ่มระดับของคีโตนบอดี (ภาพที่ 1.2) ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในสมองและเซลล์ที่ไม่มีไมโทคอนเดรีย สัตว์จะมีการปรับตัวเมื่ออยู่ในระยะนี้นานขึ้น คือ การสลายโปรตีนจะเกิดขึ้น แต่จะเป็นการปรับตัวไปใช้พลังงานจากการสลายไขมันใน adipose tissue ในระยะนี้การลดลงของน้ำหนักตัวจะลดน้อยลง เพราะไขมันเป็นสารที่ให้พลังงานสูงนั่นเอง

ระยะที่ 3 (Phase III) เป็นระยะที่การสลายไขมันของ adipose tissue หดลงเกิดการสลายโปรตีนที่กล้ามเนื้ออย่างรวดเร็ว เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการ gluconeogenesis ซึ่งถ้าการสลายโปรตีนในร่างกายนั้นเกิดขึ้นเป็นระยะยาวจะทำให้สัตว์ตาย

การเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาเพื่อตอบสนองต่อภาวะการอดอาหาร หรือความทนต่อภาวะการอดอาหารของสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น ในคนหรือนกสามารถทนทานต่อภาวะการอดอาหารได้สั้น ในขณะที่งูอาจจะทนต่อภาวะการอดอาหารได้นานเป็นปี ปลาไหลสามารถทนต่อการอดอาหารได้นานกว่า 4 ปี (McCue, 2010) ภาวะการอดอาหารต่อการลดลงของน้ำหนักตัวสัตว์จะมีความแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด สัตว์แต่ละชนิดจะมีการตอบสนองของการลดลงของน้ำหนักตัวต่อภาวะการอดอาหารแตกต่างกัน ดังนั้นความสามารถที่สัตว์แต่ละชนิดจะสามารถอยู่ได้ในสภาวะการอดอาหารจึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกว่าสัตว์ชนิดนั้นสามารถปรับตัวได้ดีเพียงไรในสภาวะการอดอาหาร หรือสัตว์แต่ละชนิดจะสามารถปรับตัวให้มีน้ำหนักตัวลดลงได้น้อยลงเพียงใด ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวระหว่างการอดอาหารมี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านความต้องการพลังงาน และความต้องการพลังงานในสัตว์ชนิดเดียวกันยังแตกต่างกันเนื่องมาจากปัจจัยของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิภายในร่างกาย และปัจจัยจากพันธุกรรม และปัจจัยที่ 2 คือสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในการใช้พลังงานในร่างกายในระหว่างที่สัตว์อยู่ในภาวะอดอาหาร (McCue, 2010; Munoz-Garcia and Williams, 2005) โดยทั่วไปสัตว์เลือดเย็น (poikilothermic animals) มีความทนทานต่อภาวะการอดอาหารได้ดีกว่าสัตว์เลือดอุ่น ทั้งนี้ เนื่องจากสัตว์เลือดเย็นมีความต้องการพลังงาน เพื่อใช้ในการดำรงชีวิตต่ำกว่า

สัตว์เลือดอุ่น (Hulbert and Else, 2000) นอกจากนี้เพศของสัตว์ยังมีผลต่อความแตกต่างของการอดทนต่อภาวะการอดอาหาร ซึ่งความทนทานต่อการอดอาหารที่ต่างกันระหว่างเพศอาจเป็นสาเหตุเนื่องมาจากขนาดตัวของสัตว์ในแต่ละเพศที่แตกต่างกัน ในสัตว์ที่เพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าสัตว์เพศเมียสัตว์เพศผู้จะมีน้ำหนักตัวลดลงเร็วกว่าสัตว์เพศเมีย (Lamsova et al., 2004; Wang et al., 2006) การลดลงของน้ำหนักตัวในระหว่างที่อดอาหารเป็นผลมาจากการลดลงของน้ำหนักของอวัยวะต่างๆ ซึ่งอวัยวะต่างๆจะมีน้ำหนักลดลงแตกต่างกัน พบว่าอวัยวะในระบบทางเดินอาหารจะมีน้ำหนักลดลงมากกว่าตับ และ adipose tissue อันเนื่องมาจากความแตกต่างในด้านการสะสมของสารอาหารในแต่ละอวัยวะที่แตกต่างกัน และการปรับตัวของระบบทางเดินอาหาร เพื่อลดความต้องการพลังงานของอวัยวะอื่น ๆ ได้แก่ หัวใจ ไต อวัยวะสืบพันธุ์ จะมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักน้อยกว่าอวัยวะอื่นๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการสลายสารชีวโมเลกุล (catabolic processes) ในอวัยวะเหล่านี้เกิดขึ้น

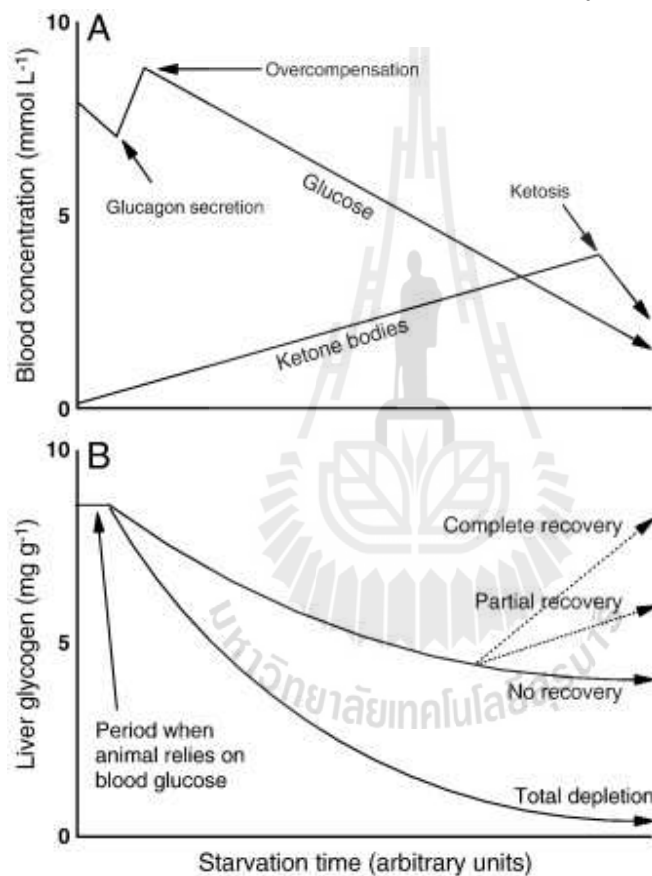


ภาพที่ 1.2 การผลิตกลูโคสในช่วงระยะเวลาที่อดอาหาร

<http://www.medbio.info/Horn/Time%203-4/homeostasis1.htm>

ในระหว่างการอดอาหารปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสในเลือด เมื่อสัตว์อยู่ในภาวะอดอาหารระดับกลูโคสในเลือดจะลดลง กลูโคสจะลดลงเมื่อปลาอดอาหารนานขึ้น (hypoglycemia) (ภาพที่ 1.3) ปลาจะมีการตอบสนองต่อการลดลงของกลูโคสในเลือด โดยการหลั่งกลูคาگونในตับอ่อน เพื่อชดเชยระดับกลูโคสในเลือดให้กลับคืนมา หรือเรียกภาวะนี้ว่า overcompensation โดยระดับกลูโคสจะสูงขึ้นหลังจากผ่านระยะเวลาอดอาหารไปช่วงระยะเวลาหนึ่ง โดยกลูโคสที่เพิ่มขึ้นนั้นมาจากการสลายไกลโคเจนในตับ อย่างไรก็ตามภาวะที่กลูโคสลดลงในช่วงที่สัตว์อดอาหารนั้นไม่ได้เกิดกับนก นกสามารถรักษาระดับของกลูโคสในเลือดให้คงที่ในช่วงเวลาอดอาหาร กลไกในการรักษาระดับกลูโคสในนกนั้นไม่ทราบแน่นอนแต่คาดว่ารักษาระดับกลูโคสเกิดเนื่องจากการที่นกสามารถสลายไขมันในร่างกาย

และเปลี่ยนเป็นกลูโคส (Lamsova et al., 2004; McWilliams et al., 2004) ฮอร์โมนอินซูลินและฮอร์โมนกลูคาгонเข้ามามีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคสในร่างกายของสัตว์ ในระหว่างการอดอาหาร เช่น ในระหว่างการอดอาหารที่ร่างกายมีการใช้โปรตีนที่สะสมเป็นแหล่งพลังงาน โดยการสลายโปรตีนและสร้างกลูโคสขึ้นมา ในร่างกายจะพบว่าฮอร์โมนอินซูลินและกลูคาгонมีระดับสูงขึ้นฮอร์โมนกลูคาгонทำหน้าที่ในการเพิ่มกระบวนการ gluconeogenesis ในขณะที่ฮอร์โมนอินซูลินทำหน้าที่ในกระบวนการ glycogenesis เป็นการสร้างไกลโคเจนขึ้นมาใหม่จากกลูโคสที่ผลิตขึ้น



ภาพที่ 1.3 ผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสและคีโตนบอดี (A) และระดับไกลโคเจนในตับ (Bertile et al., 2003)

ไขมันจัดเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกายสัตว์และเป็นแหล่งพลังงานสำรองที่ให้พลังงานสูงในช่วงที่สัตว์อดอาหาร ปริมาณไขมันในร่างกายสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน เช่น สัตว์ที่อาศัยอยู่ในเขตนหนาวอาจจะมีปริมาณไขมันในร่างกายถึง 50 % เช่น นกเพนกวิน หมูขี้โกล และ ในคนอ้วน

และหนูอ้วน ในขณะที่ปลาและสัตว์เลื้อยคลานมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกายประมาณ 8 % เป็นต้น สัตว์เลือดอุ่นและสัตว์เลือดเย็นแต่ละชนิดจะมีความทนทานต่อการลดลงของเปอร์เซ็นต์ไขมันในช่วง ภาวะการอดอาหารแตกต่างกัน โดยในภาวะการอดอาหารนั้นเปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกายจะลดลงถึง 20-70 % ในสัตว์บางชนิด เช่น *Xenopus laevis* สามารถอยู่ในภาวะการอดอาหารได้นาน จนสามารถใช้ไขมันในร่างกายได้จนเกือบหมด ในขณะที่ voles (สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมคล้ายหนู) ไม่สามารถทนอยู่ในภาวะการอดอาหารได้ และตายลงแม้ว่าในร่างกายยังมีไขมันเก็บสะสมอยู่มากก็ตาม (Mosin, 1984; Shoemaker et al., 2003; Sompkins and Huber, 2003) ในขณะที่สัตว์อยู่ในภาวะอดอาหาร สาร lipid metabolites ในเลือด ได้แก่ glycerol (กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับกระบวนการ gluconeogenic) และ free fatty acid (สารตั้งต้นในกระบวนการ β -oxidation ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญสำหรับการใช้พลังงานจากกรดไขมัน ทำให้เกิดออกซิเดชันในกรดไขมัน ซึ่งจะนำเอาคาร์บอน 2 อะตอมออกจากโมเลกุลของกรดไขมันตรงปลายคาร์บอกซิล ไปเป็น acetyl-CoA เพื่อเป็นสารตั้งต้นในวัฏจักรของกรดซิตริก) จะมีการเปลี่ยนแปลงในสภาวะที่ปลาอดอาหาร ระดับ glycerol และ free fatty acid จะสูงขึ้นในตับและไต acetyl-CoA สองโมเลกุลจะรวมกันเป็น acetoacetyl-CoA และเปลี่ยนเป็น ketone bodies, acetone, acetoacetate และ β -hydroxy butyrate ในระหว่างการอดอาหารนั้นในขณะที่กลูโคสในเลือดต่ำและไกลโคเจนถูกใช้หมดไป ketone bodies จะเป็นพลังงานที่สำคัญสำหรับเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 1.3)

การใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานในช่วงที่สัตว์มีการอดอาหารนั้นจะเกิดหลังจากที่ระดับไขมันในร่างกายสัตว์ลดลงอย่างมาก ดังนั้นภาวะการอดอาหารจึงมีผลต่อกระบวนการ protein catabolism ในสัตว์ ซึ่งจะเห็นได้จากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนและสารเมตาบอไลต์ของโปรตีนในกระแสเลือด (circulating protein metabolites) ระดับเอ็นไซม์ในเนื้อเยื่อ (tissue enzyme levels) การลดลงขององค์ประกอบโปรตีนในเนื้อเยื่อ (tissue protein content) และการเพิ่มขึ้นของอัตราการขับถ่ายสารประกอบไนโตรเจน (rate of nitrogen excretion)

จากการศึกษาพบว่าผลของการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในเลือดในสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น ภาวะการอดอาหารทำให้หนูมีระดับโปรตีนในเลือดสูงขึ้น ในขณะที่ภาวะการอดอาหารทำให้ปลา chanel catfish ปลา sea bream และ ไก่ มีระดับโปรตีนในเลือดลดลง นอกจากนี้การศึกษาในสัตว์อื่นๆ พบว่าภาวะการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีนในเลือด (Arola et al., 1984; Shoemaker et al., 2003; Alonso-Alvarez and Ferrer 2001; McCue 2010) กรดอะมิโนเป็นสารตั้งต้นที่นำไปใช้ในกระบวนการ gluconeogenesis แต่ก็มีรายงานการศึกษาว่า ชนิดของกรดอะมิโนที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการ gluconeogenesis

แตกต่างกัน เช่น การศึกษาพบว่ากรดอะมิโนชนิดอะลานีน (alanine) และ กลูตามีน (glutamine) จะถูกนำไปใช้เป็นส่วนตั้งต้นในกระบวนการ gluconeogenesis ได้ดีกว่ากรดอะมิโนตัวอื่นๆ ดังนั้นระดับการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนสองตัวนี้จึงมักถูกใช้เป็นตัวชี้วัดสภาวะการอดอาหาร การเปลี่ยนแปลงระดับของยูเรียในเลือด (blood urea nitrogen; BUN) ได้มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับภาวะของสัตว์ที่อดอาหารในสัตว์หลายชนิด เช่น ภาวะการอดอาหารส่งผลให้ค่า BUN ในปลา pike (*Esox lucius*) เพิ่มขึ้นแต่กลับพบว่าภาวะการอดอาหารส่งผลให้ค่า BUN ในสุนัขและในหนูมีค่าลดลง (Murray, 2003; Hoffer, 1999; Mathews, 2005) โดยสรุปแล้วจะเห็นภาวะของการอดอาหารส่งผลต่อค่าระดับกรดอะมิโนในกระแสเลือด และ ค่า BUN แตกต่างกัน ดังนั้นผลการศึกษาเพิ่มเติมจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นในการศึกษาผลของภาวะการอดอาหารต่อระดับกรดอะมิโนในกระแสเลือดและค่า BUN เนื่องจากกระบวนการ protein catabolism นี้จะก่อให้เกิดของเสียใน ไตรเจนในระบบหมุนเวียนโลหิต (circulating nitrogenous wastes) จึงได้มีการรายงานว่าการวัดการขับถ่ายของเสียใน ไตรเจนจึงเป็นตัวดัชนีที่บ่งบอกถึงภาวะการอดอาหารได้เช่นเดียวกัน

ภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารพันธุกรรมในเนื้อเยื่อ เนื่องจากเซลล์แต่ละเซลล์มีองค์ประกอบของสารพันธุกรรม ดังนั้นการวัดระดับของสารพันธุกรรมในเนื้อเยื่อจึงเป็นตัวบ่งชี้ภาวะการอดอาหารของสัตว์ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งการวัดระดับของสารพันธุกรรมในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อ คือการวัดระดับของ DNA และ/หรือ RNA การเปลี่ยนแปลงปริมาณ DNA เป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำหนักของอวัยวะที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากการลดลงของขนาดเซลล์หรือจำนวนเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ RNA เป็นตัวบ่งชี้ถึงผลของภาวะการอดอาหารต่อกระบวนการสร้างโปรตีนในร่างกาย

ภาวะการอดอาหารมีผลต่อปริมาณน้ำในร่างกาย (water content) โดยได้มีรายงานการศึกษาว่าปริมาณน้ำในอวัยวะและเนื้อเยื่อจะเพิ่มขึ้นเมื่อสัตว์อยู่ในภาวะการอดอาหาร โดยปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นในขณะที่สัตว์อดอาหารนั้นน่าจะเกิดการที่น้ำเข้าไปแทนที่อินทรีย์สารในร่างกายที่ลดลง นอกจากนี้พบว่าในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังนั้น เมื่อสัตว์อยู่ในภาวะอดอาหารน้ำหนักตัวไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องมาจากการแทนที่ของน้ำในอินทรีย์สารที่ลดลง เหตุผลที่น้ำเข้าไปแทนที่อินทรีย์สารในร่างกายที่ลดลงอันเนื่องมาจากการอดอาหารนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจอธิบายได้ว่าเป็นผลของการเปลี่ยนแปลงแรงดันออสโมติกของเนื้อเยื่อ ซึ่งเกิดโดยการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาบอไลต์ในเนื้อเยื่อและ/หรือการที่เซลล์พยายามที่จะคงขนาดและรูปร่างเอาไว้ ดังนั้นน้ำจึงเข้ามาแทนที่อินทรีย์สารที่สูญเสียไป (Hervant et al., 2001; Frick et al., 2008; Hervant and Resnault, 2002; Comoglio et al., 2004) ภาวะการอดอาหารมี

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแร่ธาตุในร่างกายสัตว์ โดยพบว่าปริมาณแร่ธาตุในร่างกายจะสูงขึ้นเมื่อสัตว์อยู่ในภาวะการอดอาหาร ได้มีรายงานการศึกษาว่าปริมาณเถ้า (ash residue) สูงขึ้นอันเป็นผลจากการอดอาหารของสัตว์ (Gzesny et al., 2003)

ค่าทางโลหิตวิทยาเป็นอีกค่าหนึ่งที่ได้มีการรายงานมีการเปลี่ยนแปลงอันเป็นผลมาจากการอดอาหารของสัตว์โดยการศึกษาส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาถึงค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) และ ค่าปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin) โดยค่าทางโลหิตวิทยาทั้งสองค่านี้จะเป็นค่าที่มีความเกี่ยวข้องกันและมักเป็นไปในทางเดียวกัน อย่างไรก็ตามมีการรายงานว่า ผลของภาวะการอดอาหารส่งผลต่อค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด โดยพบว่าผลของภาวะการอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใน wolf fish (*Hoplias labaricus*) ปลาช่อน (*Channa punctatus*) และในสุกร ในทางตรงกันข้ามการศึกษาในปลาคอด (*Godus morhua*) และปลา channel catfish พบว่ามีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงขึ้น (Yi and Chang, 1994; Shoemaker et al., 2003) โดยการเปลี่ยนแปลงของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น อาจมีสาเหตุมาจากผลของภาวะการอดอาหารต่อการกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง (erythropoiesis) และปริมาณน้ำในร่างกาย (body water content)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับปลาทุทรายที่ได้รับอาหารปกติเปรียบเทียบกับปลาทุทรายที่อดอาหาร
2. เพื่อศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวองค์ประกอบเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาทุทราย

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการอดอาหารต่อการทำงานของตับ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ในระดับอนุพันธุศาสตร์ศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับของปลาปกติที่ไม่พบในปลาที่อดอาหาร และยีนที่แสดงออกในปลาที่อดอาหารและไม่พบในปลาปกติ นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาผลของการอดอาหารในปลาทุทรายต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อ ค่าทางชีวเคมีในเลือด และค่าโลหิตวิทยา เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบของการอดอาหารต่อปลาทุทราย ว่าปลาทุทรายจะมีการใช้พลังงานสำรองชนิดใดในร่างกายเมื่อปลาอดอาหาร

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ประโยชน์ที่จะได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นการสร้างองค์ความรู้ในด้านผลกระทบของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาของปลา และการทำงานของตับในระดับอนุพันธุศาสตร์ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะใช้เป็นข้อมูลในการต่อยอดในการพัฒนาระบบการเลี้ยงปลาน้ำจืดให้ดีขึ้น เนื่องจากการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดนั้นยังไม่มีอาหารสำเร็จรูป ต้องใช้อาหารสด ดังนั้นการอดอาหารจึงยังเป็นปัญหาของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาน้ำจืด ทำให้ผลผลิตปลาน้ำจืดไม่แน่นอนทั้ง ๆ ปลาน้ำจืดเป็นปลาที่ผลิตเพื่อการส่งออกตลาดต่างประเทศเป็นหลัก ราคาสูง ดังนั้นข้อมูลการวิจัยครั้งนี้จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดในประเทศไทยได้



บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาการแสดงออกของยีนในตับปลาบูทรายที่ได้รับอาหารปกติ เปรียบเทียบกับปลาบูทรายที่อดอาหาร และการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว องค์ประกอบเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาบูทราย ทั้งสองการทดลองดำเนินการที่ฟาร์มมหาวิทยาลัย แผนกสัตว์น้ำ (ฟาร์มมทส.) อาคารศูนย์เครื่องมือ 3 และ ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี

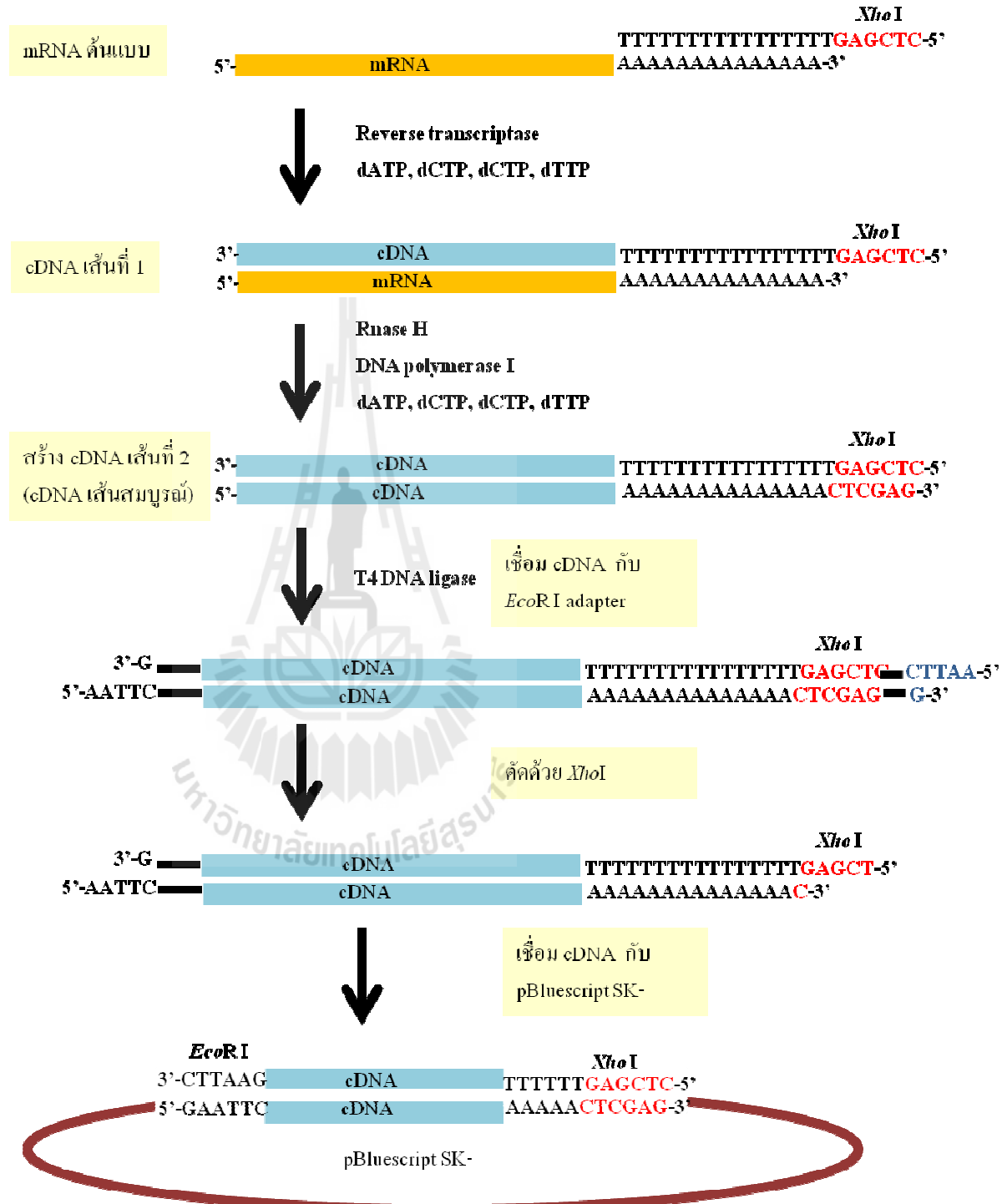
การทดลองที่ 1 การศึกษาการแสดงออกของยีนในตับปลาบูทรายที่ได้รับอาหารปกติเปรียบเทียบกับปลาบูทรายที่อดอาหาร

ปลาทดลอง

ปลาทดลองในการทดลองนี้ได้จากศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี นำปลาขนาดประมาณ 100 กรัม ไล่ลงในบ่อซีเมนต์จำนวน 2 บ่อ บ่อละ 5 ตัว โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มทดลอง คือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่อดอาหาร เลี้ยงปลาทั้งสองกลุ่ม โดยให้อาหารเป็นเนื้อปลาสดเป็นระยะเวลา 1 เดือน เริ่มเข้าสู่การทดลองโดยให้อาหารปลาในบ่อที่ได้รับอาหารเป็นเวลา 7 วัน และงดให้อาหารกลุ่มที่อดอาหารเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการสลับปลาทั้ง 2 กลุ่มด้วยการนำปลาไปแช่ในน้ำที่มี phenoxy ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 300 ppm แล้วทำการเก็บตัวอย่างตับปลา

การศึกษาการแสดงออกของยีน

ทำการสกัด Total RNA โดยใช้ Trizol reagent (Invitrogen) จากนั้นทำการแปลง mRNA ให้เป็น cDNA เส้นที่หนึ่ง (The first strand cDNA) ด้วยชุดน้ำยา ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene, CA, USA) โดยใช้ Oligo (dT) linker-primer (รายละเอียดลำดับเบส แสดงในภาคผนวก ก) แล้วทำการสร้าง cDNA เส้นที่สอง (The second strand cDNA) โดยทำการย่อย mRNA ด้วยเอ็นไซม์ RNase H แล้ว



ภาพที่ 2.1 แผนภาพสร้างห้องสมุด cDNA ของ mRNA จากตับของปลาบู่ทราย

จึงสร้าง cDNA เส้นที่สองด้วยเอ็นไซม์ DNA polymerase I แล้วทำการเชื่อมต่อ cDNA กับ adapter (รายละเอียดลำดับเบส แสดงในภาคผนวก ก) แล้วทำการสร้าง cDNA เส้นสมบูรณ์ให้มีปลายด้าน 5' เป็นปลายเหนียวของเอ็นไซม์ *EcoR* I และทำการตัดปลายด้าน 3' ด้วยเอ็นไซม์ *Xho* I เพื่อให้ได้ปลายด้าน 3' ของ cDNA เป็นปลายเหนียวของเอ็นไซม์ *Xho* I (รายละเอียดการสร้าง cDNA เส้นสมบูรณ์ แสดงดังแผนภาพที่ 2.1)

แล้วทำการเชื่อมต่อ cDNA เส้นสมบูรณ์ข้างต้นเข้ากับเวกเตอร์ pBluescript SK- แล้วจึงทำการ transformation เวกเตอร์เข้าสู่ Competent *Escherichia coli* ทำการคัดเลือก recombinant plasmid ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 2xYT ที่มี ampicillin, X-Gal (5-bromo-4-chloro-indolyl- β -D-galactopyranoside) และ IPTG (isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside) แล้วคัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีขาวจากกลุ่มควบคุม 100 โคโลนี เพื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ ในการศึกษาครั้งนี้เนื่องจากการสกัด totalRNA จากกลุ่มอดอาหารได้ปริมาณน้อย จึงส่งผลให้ได้ cDNA เส้นสมบูรณ์จำนวนน้อยและมีขนาด cDNA ขนาดสั้นๆ จึงทำการคัดเลือกเฉพาะโคโลนีที่มีขนาด cDNA ขนาดเกิน 400 คู่เบสจำนวน 20 โคโลนี ไปวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว องค์ประกอบเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาบุทราย

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว

ปลาทดลองที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นปลาบุทราย (*Oxyeleotris marmorata*) ได้จากฟาร์มเอกชน จังหวัดอยุธยา ที่ทำการรวบรวมปลาบุทรายจากแหล่งน้ำธรรมชาติปลา ปลาทดลองมีขนาดประมาณ 50-100 กรัม เริ่มการทดลองโดยการนำปลามาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 2 * 2.5 เมตร² (กว้าง * ยาว) ระดับน้ำสูง 70 เซนติเมตร โดยให้อาหารเป็นเนื้อปลานิลหั่นเป็นชิ้นเล็กวันละ 1 ครั้ง เพื่อให้ปลาปรับตัว ในระหว่างการเลี้ยงมีการให้อากาศในน้ำตลอดเวลา เลี้ยงปรับสภาพเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

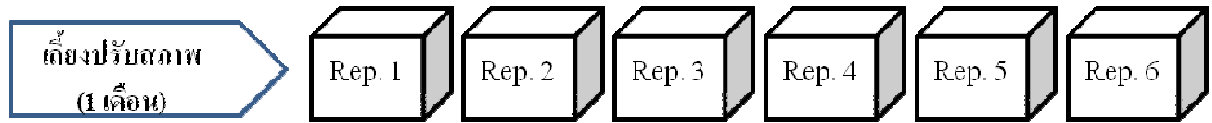
การทดลองนี้เป็นการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวระหว่างกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารปกติ (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มปลาที่อดอาหาร แต่ละกลุ่มมีจำนวนซ้ำ 3 ซ้ำ (ตู้ทดลอง) โดยในขั้นต้นได้ทำการสุ่มปลาเข้าสู่ตู้ทดลองจำนวน 6 ตู้ ตู้ละ 12 ตัว ตู้ทดลองที่ใช้ในครั้งนี้มีขนาด 60 * 30 * 45 ลูกบาศก์เซนติเมตร (กว้าง * ยาว * สูง) เพื่อปรับสภาพให้เข้ากับตู้ทดลอง เลี้ยงปลาบุทรายแบบให้อากาศ

ในน้ำตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 1 เดือนให้อาหารเป็นเนื้อปลานิลหั่นเล็กวันละ 1 ครั้งแบบให้กินเต็มที่ เป็นเวลา 15 นาที ทำการชั่งน้ำหนักตัวปลาในแต่ละตู้ปลา ก่อนเริ่มเข้าสู่การทดลอง ปลาในกลุ่มควบคุมจะได้รับอาหารเป็นเนื้อปลานิลหั่นเล็กแบบให้กินเต็มที่เป็นเวลา 15 นาทีต่อมื้อ และเนื้อที่กินเหลือจะถูกนำออก วันละครั้งปลา ในกลุ่มอดอาหารไม่ได้รับอาหาร แต่มีการจัดการทุกอย่างเหมือนปลาในกลุ่มควบคุม ในระหว่างการเลี้ยงทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในตู้ปลาทุก ๆ 3 วัน ทำการบันทึกน้ำหนักปลาที่เวลา 1, 4, 7, 14, 21, 28 วัน วิเคราะห์ผลการทดลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows, version 10 (SPSS Inc, Chicago, IL) โดยการวิเคราะห์การถดถอยด้วยแบบจำลองหลายชนิด แล้วเลือกแบบจำลองที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่สูง (R^2) และทำการประมาณเส้นโค้ง โดยการสร้างกราฟและสมการระหว่างจำนวนวัน (x) การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว (Y)

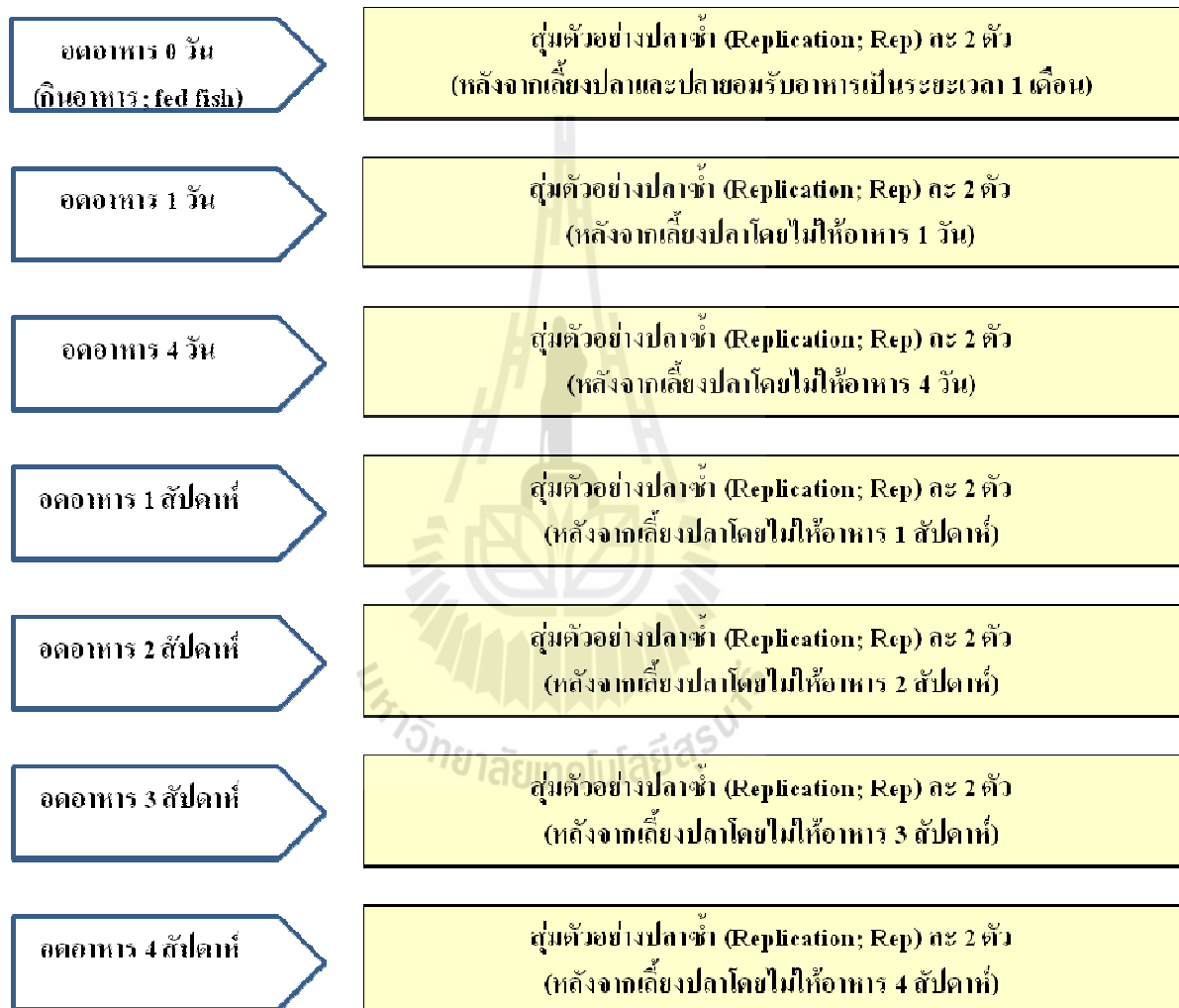
การทดลองที่ 2.2 การศึกษาผลของการอดอาหารต่อองค์ประกอบเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยา และ ค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาบุทราย

1. แผนการทดลอง

แผนการทดลองในการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีจำนวนซ้ำ 6 ซ้ำ เป็นการศึกษาถึงผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ทางชีววิทยา และ สรีรวิทยา ของปลาบุทราย โดยทำการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว ค่าดัชนีตับ องค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางชีวเคมีโลหิต และค่าทางโลหิตวิทยา ซึ่งได้ทำการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ ก่อนเริ่มอดอาหาร (อดอาหาร 0 วัน หรือ fed fish) และที่ระยะการอดอาหารที่ 1, 4, 7, 14, 21 และ 28 วัน ดังรายละเอียดแผนการทดลองแสดงในภาพที่ 2.2



ให้อาหารวันละ 1 ครั้ง เปลี่ยนถ่ายน้ำครั้งหนึ่ง ทุก ๆ 3 วัน (1 เดือน นับจากเวลาที่ปลายอมรับอาหาร)



ภาพที่ 2.2 รายละเอียดวิธีการจัดการทดลองเพื่อศึกษาผลของการอดอาหารในปลานู๋ทราย ดังการทดลองที่ 2.2

2. ปลาทดลองและการเก็บตัวอย่างปลาทดลอง

ปลาทดลองที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นปลานู๋ทราย (*Oxyeleotris marmorata*) เป็นปลาทดลองชุดเดียวกับปลาทดลองของการทดลองที่ 2.1 นำมาเลี้ยงปรับสภาพเช่นเดียวกับรายละเอียดในการทดลองที่ 2.1

จากนั้นทำการสุ่มปลาเข้าสู่ตู้ทดลอง ตู้ทดลองที่ใช้ในครั้งนี้มีขนาด 60 * 30 * 45 ลูกบาศก์เซนติเมตร (กว้าง*ยาว*สูง) เพื่อปรับสภาพให้เข้ากับตู้ทดลอง เลี้ยงปลานู๋ทรายแบบให้อากาศในน้ำ ตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ให้อาหารเป็นเนื้อปลานิลหั่นเล็กวันละ 1 ครั้ง แบบให้กินเต็มที่เป็นเวลา 15 นาที ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในตู้ปลาทุก ๆ 3 วัน ทำการบันทึกอุณหภูมิในระหว่างที่ทำการให้อาหาร วัดค่าการละลายออกซิเจน โดยใช้ oxygen meter และ ค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter (ค่าอุณหภูมิ น้ำตลอดการทดลองเท่ากับ 25-27 องศาเซลเซียส, ค่า pH เท่ากับ 7.0-8.5 และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ เท่ากับ 7.23–8.08 มิลลิกรัมต่อลิตร)

เมื่อปลาตู้ได้ยอมรับอาหารและกินอาหารเป็นระยะเวลา 1 เดือนจึงจะเริ่มเข้าสู่การทดลอง โดยทำการสุ่มตัวอย่างปลาจากตู้ปลา (replication) ตู้ละ 3 ตัว เพื่อนำมาเก็บตัวอย่างรวมกัน ก่อนการเก็บตัวอย่างปลา ได้ทำการสลบปลาด้วยการนำปลาไปแช่ในน้ำที่มี phenoxy ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 300ppm ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาโดยใช้เข็มขนาด 21 g เจาะเลือดที่เส้นเลือด dorsal aorta ได้เลือดครึ่งหนึ่งในหลอดที่มี 15 % Na₂EDTA (ปริมาตร 2.0% ของปริมาณเลือด) และอีกครั้งหนึ่งใส่ในหลอดเก็บซีรัม จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักปลา และจึงผ่าช่องท้องปลาเพื่อเก็บตัวอย่างตับชั่งน้ำหนัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณค่าดัชนีตับ (ดัชนีตับ = น้ำหนักตับ * น้ำหนักตัว⁻¹ * 100) และเก็บตัวอย่างเนื้อปลาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น ตามวิธีของ AOAC (1990)

3. การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาทำในตัวอย่างเลือดที่มี EDTA

3.1 การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (Total red blood cell count)

ทำการเจือจางเลือดแดงให้ได้สัดส่วน 1:200 แล้วหยดสารละลายเลือดลงใน Hemocytometer แล้วทิ้งไว้สักครู่หนึ่ง จนสารละลายเซลล์เม็ดเลือดหยุดนิ่งทำการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยนับจากสี่เหลี่ยมจัตุรัส 5 ช่อง (medium-sized square)

คำนวณจำนวนเม็ดเลือดแดงต่อ 1 ไมโครลิตรของเลือด (mm^3) ได้เท่ากับจำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ x 10,000

3.2 การวิเคราะห์ค่าฮีโมโกลบิน(Hemoglobinconcentration;Hb)

วิเคราะห์ค่าฮีโมโกลบินในเลือดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์Advia® 60 hematology system (Bayer Healthcare, NY)

3.3 การวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น(Hematocrit)

ใช้หลอด microcapillary tube ดูดเลือดตัวอย่าง แล้วนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วอ่านค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%) ด้วย microhematocritreader

4. การวิเคราะห์ค่าทางเคมีในเลือด

4.1 การวิเคราะห์ SGOT (Serum glutamate oxalolactate transaminase)

การวิเคราะห์ SGOT ทำโดยวิธี Reitman & Frankel Colorimetric method ในหลักการที่ว่า SGOT จะเคลื่อนย้ายหมู่อามิโนของ aspartic acid ไปที่ ketoglutarate ได้ Oxaloacetate ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ 2,4-Dinitrophenyl hydrazine ในสารละลายต่างได้ hydrazone โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปของ (BIOTECH Reagent, กรุงเทพฯ) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 100 ไมโครลิตร กับ 250 ไมโครลิตรSGOT substrate แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที แล้วเติม 250 ไมโครลิตรของ Color reagent ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที จากนั้นเติม 0.4 N NaOH 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนโมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.2 การวิเคราะห์ SGPT (Serum glutamate pyrophosphate transaminase)

การวิเคราะห์ SGPT ทำโดยวิธี Reitman & Frankel Colorimetric method ในหลักการที่ว่า SGPT จะเคลื่อนย้ายหมู่อามิโนของ alanine ไปที่ ketoglutarate ได้ Pyruvate ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ 2,4-Dinitropheny thydrazine ในสารละลายต่างได้ hydrazone โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 100 ไมโครลิตร กับ 250 ไมโครลิตร SGPT substrate แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที แล้วเติม 250 ไมโครลิตรของ Color reagent ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 20

นาที่ จากนั้นเติม 0.4 N NaOH 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.3 การวิเคราะห์เอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในเลือด

การวิเคราะห์เอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทำได้โดยวิธี PMP method ในหลักการที่ว่าเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสย่อย Phenolphthalein Monophosphate ได้ Phenolphthalein และ ฟอสเฟต โดย Phenolphthalein จะมีสีชมพูในสถานะที่เป็นค่า โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 20 ไมโครลิตร กับ alkaline phosphatase substrate แล้วตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้วเติม 1.0 มิลลิลิตรของ color stabilizer แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.4 การวิเคราะห์อะไมเลส (Amylase) ในเลือด

การวิเคราะห์เอ็นไซม์อะไมเลสทำได้โดยวิธี PMP method ในหลักการที่ว่าเอ็นไซม์อะไมเลสย่อยแป้งได้น้ำตาล หาปริมาณแป้งที่ไม่ได้ถูกย่อย โดยให้แป้งทำปฏิกิริยากับ Iodine ได้เป็น Starch-Iodine Complex สีน้ำเงิน โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดย กำหนดให้มีหลอดควบคุมและหลอดตัวอย่าง เติมน้ำตาลละลายแป้ง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทั้ง 2 จากนั้นเติม 0.5 N HCl 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดควบคุมเพียงหลอดเดียว แล้วตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้วเติมซีรัมลงในหลอดทั้งสอง 20 ไมโครลิตร แล้วตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 15 นาที โดยเขย่าสารเป็นระยะแล้วเติม 0.5 N HCl 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดตัวอย่าง เพียงหลอดเดียว จากนั้นเติมน้ำ 8.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทั้งสอง แล้วจึงเติมน้ำตาลละลายไอโอดีน 20 ไมโครลิตร และ น้ำกลั่น 460 ไมโครลิตร ของ color stabilizer ลงในหลอดทั้งสอง ผสมให้เข้ากัน แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640-660 นาโนเมตร หาค่าปริมาณเอ็นไซม์อะไมเลสด้วยสูตร

$$\text{Amylase (*500U / 100ml) = } \frac{\text{OD. หลอดควบคุม} - \text{OD. หลอดตัวอย่าง}}{\text{ODหลอดควบคุม}}$$

4.5 การวิเคราะห์โปรตีนในพลาสมา

การวิเคราะห์โปรตีนในพลาสมาทำโดยวิธี Biuret method ในหลักการที่ว่าโปรตีนทำปฏิกิริยากับ Cupric ion ในสารละลายที่เป็นด่าง ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีม่วงน้ำเงิน ความเข้มของสีเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณโปรตีน โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมพลาสมา 20 ไมโครลิตร กับ 1.0 มิลลิลิตรของ Biuret reagent แล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนโมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.6 การวิเคราะห์อัลบูมินในเลือด

การวิเคราะห์อัลบูมินทำโดยวิธี Bromcresolgreen method ในหลักการที่ว่าอัลบูมินทำปฏิกิริยากับ Bromcresolgreen indicator ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีเขียว ความเข้มของสีเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอัลบูมิน โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตร กับ 1.5 มิลลิลิตร ของ Bromcresolgreen indicator reagent แล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600-640 นาโนโมตร (วัดภายใน 5 นาที) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.7 การวิเคราะห์ค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด

การวิเคราะห์ยูเรีย-ไนโตรเจนทำโดยวิธี Urease colormetric method ในหลักการที่ว่ายูเรียถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ Urease ได้ ammonium ion ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Salicylate และ Hypochlorite ในด่าง โดยมี Sodium Nitroprusside เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของ Berthelotreaction ได้สารประกอบสีเขียวโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตรกับ 1.0 มิลลิลิตรของ enzyme reagent แล้วตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้วเติม color reagent 1.0 มิลลิลิตร ตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560-600 นาโนโมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.8 การวิเคราะห์ค่ากลูโคสในเลือด

การวิเคราะห์กลูโคสทำโดยวิธี GPO-PAP method End Point Enzymatic Colometric Test ในหลักการที่ว่าเอ็นไซม์กลูโคสออกซิเดส จะออกซิไดซ์น้ำตาลกลูโคสในซีรัมเป็น D-Gluconic acid และ H_2O_2 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ quinoneimine ที่ได้จาก H_2O_2 และ 4-aminoantipyrine และ 4-chlorophenol ภายใต้การเร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ peroxidase โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตรกับ 1 มิลลิลิตรของสารประกอบเอ็นไซม์

(750U/L peroxidase; 30kU/L glucoseoxidase) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนโมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.9 การวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลในเลือด

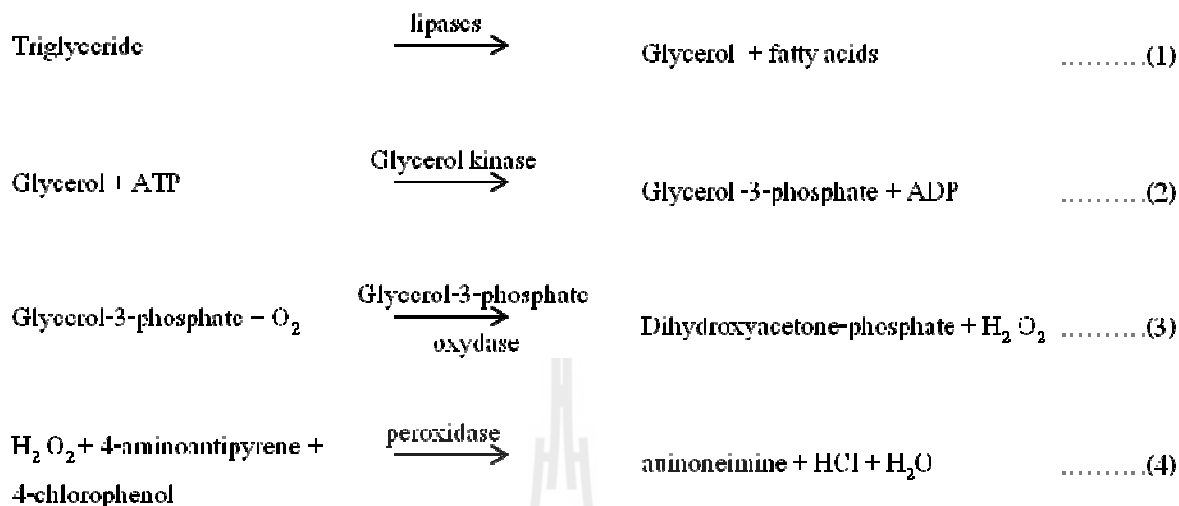
การวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลทำโดยวิธี CHOD method, Enzymatic colormetric test ในหลักการที่ว่าเอ็นไซม์ cholesterol oxidase เปลี่ยนไปเป็น cholestenon และ H_2O_2 ด้วยเอ็นไซม์จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ quinoneimine ที่ได้จาก H_2O_2 และ 4-aminoantipyrine และ 4-chlorophenol ภายใต้การเร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ peroxidase โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH)



วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตรกับ 1.0 มิลลิลิตรของ enzyme reagent แล้วตั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนโมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.10 การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์

การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ทำโดยวิธี GPO-PAP method ในหลักการที่ว่าเอ็นไซม์ไลเปสจะย่อยไตรกลีเซอไรด์เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน แล้วกลีเซอรอลและATP จะถูกเอ็นไซม์glycerol kinase เปลี่ยนไปเป็น glycerol-3-phosphate จากนั้น glycerol-3-phosphate เปลี่ยนไปเป็น dihydroxyacetonephosphate และ H_2O_2 ด้วยเอ็นไซม์ glycerol-3-phosphateoxydase จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ quinoneimine ที่ได้จาก H_2O_2 และ 4-aminoantipyrine และ 4-chlorophenol ภายใต้การเร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ peroxidase โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH)



วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตร กับ 1 มิลลิลิตรของ สารประกอบ(50mmol/L PIPES buffer pH7.5; 5mmol/L 4-chlorophenol; 0.25 mmol/L 4-aminoantipyrine; 4.5mmol/L magnesium ions; 2mmol/L ATP; 1.3U/ml lipases; 0.5U/ml peroxidase; 0.4U/ml glycerol; 1.5U/ml Glycerol-3-phosphate oxidase) แล้วป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนโมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.11 การวิเคราะห์คลอไรด์ในเลือด

การวิเคราะห์คลอไรด์ทำได้โดยวิธี Thiocyanate method ในหลักการที่ว่าคลอไรด์ทำปฏิกิริยากับ Mercuric Thiocyanate และ Ferric Nitrate ได้สารประกอบเชิงซ้อนของ Ferric Thiocyanate โดยใช้ชุดน้ำยาลำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตร กับ 1.5 มิลลิลิตรของ Chloride reagent แล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนโมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.12 การวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในเลือด

การวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในเลือดโดยใช้หลักการที่ว่าเหล็กที่อยู่ในเลือดจะอยู่รูปของ สารประกอบ transferrin และ transferrin เมื่ออยู่ในสารละลายกรด (pH4.8) จะปล่อยให้ได้เหล็กอิสระ อยู่ในรูป ferrous (Fe^{2+}) และทำปฏิกิริยากับ Ferene S ได้สารประกอบเชิงซ้อนซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะ

เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเหล็กในเลือด โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยใช้ซีรัม 200 ไมโครลิตรผสมกับ 1 มิลลิลิตรของสารประกอบ(1.4 mmol/L Acetate buffer, pH4.8; 4.5 mol/L Guanidine hydrochloride; copper specific agent) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580-600 นาโนเมตร แล้วจึงเติม50ไมโครลิตรของสารประกอบ(20 mmol/L Ferene S; 0.5 mol/L Ascorbic acid) นำไปอ่านที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 580-600 นาโนเมตร สีของสารประกอบจะคงที่ประมาณ 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบความเข้มข้นกับเส้นกราฟมาตรฐาน

4.13 การวิเคราะห์แคลเซียมในเลือด

การวิเคราะห์แคลเซียมทำโดยวิธี o-Cresolphthalein method ในหลักการที่ว่าแคลเซียมทำปฏิกิริยากับ o-Cresolphthalein โดยมี 8-Hydroxyquinoline เป็นตัวช่วยป้องกันการรบกวนปฏิกิริยาของแมกนีเซียมไอออน โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (BIOTECH) วิธีการทำโดยผสมซีรัม 10 ไมโครลิตรกับ 1.0 มิลลิลิตรของreagent (0.16 mmol/L o-Cresolphthalein; 0.90 mmol/L8-Hydroxyquinoline; 160 mmol/L HCL; 500mmol/L 2-amino-2methyl-1-propanol; 15.5 mmol/L KCN) แล้วตั้งที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

5. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปSPSS for windows, version 10 (SPSS Inc, Chicago, IL) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลอง (ระยะเวลาที่อดอาหาร) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลอง โดยวิธี Duncan's multiple range test นอกจากนี้วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ของแต่ละพารามิเตอร์ที่คาดว่าน่าจะมีการสัมพันธ์กัน ตลอดการทดลองนี้ยอมรับผลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ จากนั้นใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (Microsoft Excel) ในการสร้างเส้นแนวโน้มและการสร้างสมการของกราฟจากค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยสร้างความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหาร (x) และค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ (Y) และ ค่า R-square

บทที่ 3

ผลการศึกษา

1. การศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับปลาน้ำจืดที่ได้รับอาหารปกติเปรียบเทียบกับปลาน้ำจืดที่อดอาหาร

ผลการศึกษากการแสดงออกของยีนในระดับของปลาน้ำจืดที่ได้รับอาหารเป็นปกติมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของ โภชนาการที่ไม่พบในปลาน้ำจืดที่อดอาหารครั้งนี้และมีข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอดังภาคผนวก

- Fattyacidbindingprotein
- Antifreezeproteinprecursor
- Cystathionine-beta-synthase
- Heatshockprotein
- Testisenhancedgenetranscript
- Skinmucuslectin
- CytochromeCcosicasesubunits(COX3)
- Sodium/Calciumexchanger
- Ubiquitinproteinligase
- Fructose-1,6-biphosphate
- Transferrin
- C1inhibitor
- C-typelectin
- EnoylCoenzymeAhydratasedomaincontaining3(ECHDC3)
- Ferritin
- Guaninenucleotideexchange(GEF)3
- Hyaluronan-bindingprotein2
- Lipoproteinlipase

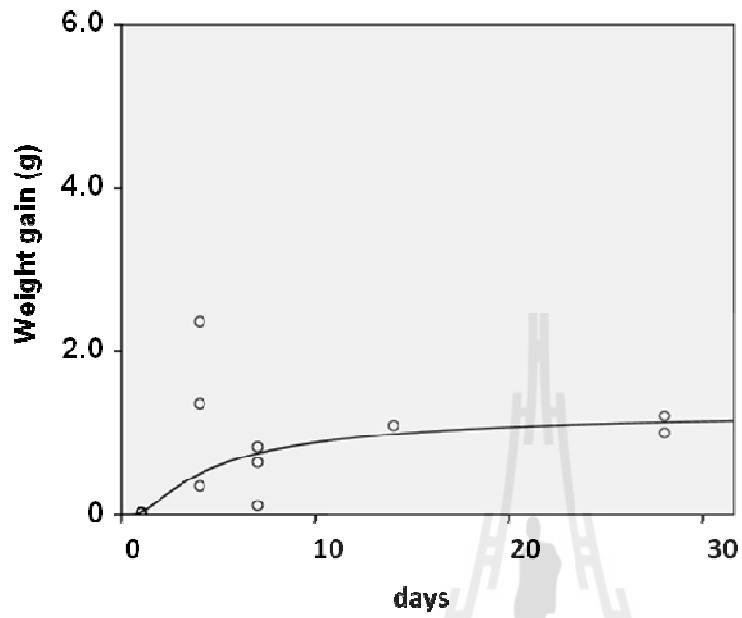
- IQmotifandSEC7domain-containingprotein
- Alpha-1-microglobulin
- Alpha-2-macroglobulin
- NADHdehydrogenase(ubiquinone)1alpha
- Nattectin
- Obscurin,cytoskeletalcalmodulinandtitin-interactingRhoGEF(OBSCN)
- Rhamnose-bindinglectin
- SerpinA3-5-like
- TroponinC
- Zincfinger

นอกจากนี้พบยีนที่มีการแสดงออกในระดับปลาบุุทรายที่อดอาหาร ได้แก่ Arachidonate 5-lipo-oxygenase, Bonemorphogenetic protein receptor type-1A-like, Catenin (Cadherin-associated protein), delta 2, และGTPase และมีข้อมูลลับเบสดังแสดงในภาคผนวก ข

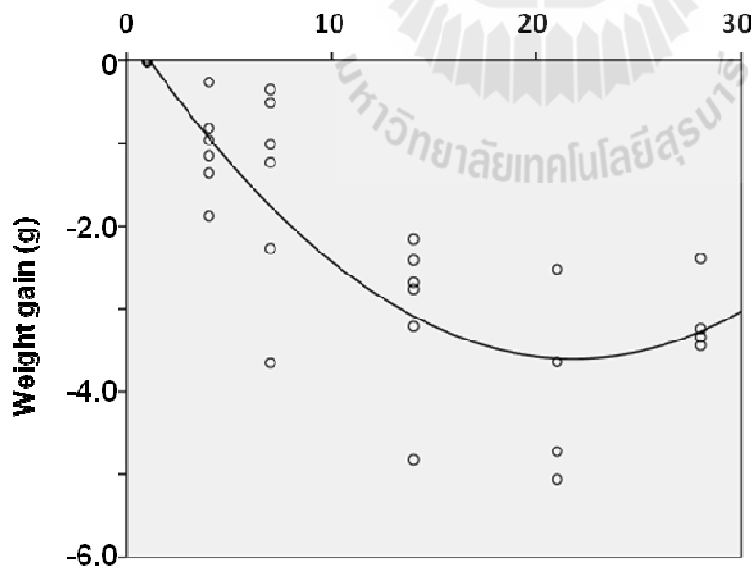
2. การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว

ปลาบุุทรายได้ได้รับอาหารปกติ (กลุ่มควบคุม) จะมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว(weight gain; WG) (ภาพที่ 3.1ก) การวิเคราะห์การถดถอยด้วยแบบจำลองหลายชนิดด้วยการประมาณเส้นโค้ง พบว่าความสัมพันธ์ ระหว่างจำนวนวัน (x) และการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวปลาบุุทราย (y) เป็นแบบ sigmoid curve model [$\ln(Y) = 0.257 - 3.808(1/x); R^2=0.768, P<0.01$] ในกลุ่มปลาบุุทรายที่อดอาหาร พบว่ามีการลดลงของน้ำหนักตัวอย่างต่อเนื่องตามวันที่ไม่ได้รับอาหาร (ภาพที่ 3.1ข) โดยค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวัน (x) และการลดลงของน้ำหนักตัว (Y) จะเป็นแบบquadratic model [$Y = 0.008x^2 - 0.367x + 0.4; R^2=0.738, P<0.01$]

ก



ข



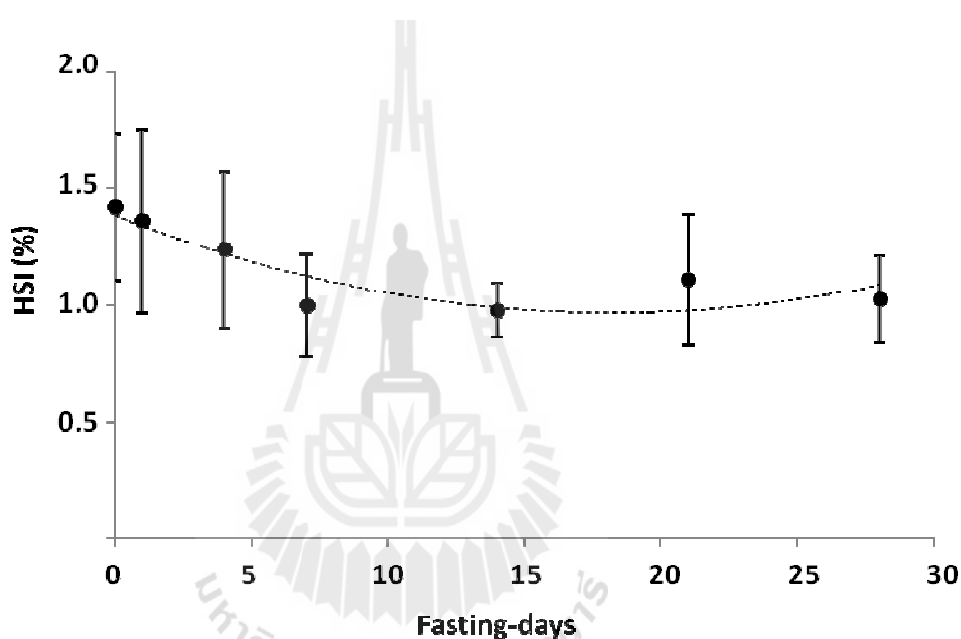
ภาพที่ 3.1 การประมาณกราฟการเจริญเติบโตของปลาน้ำจืดที่ได้รับอาหาร(ก)
และปลาน้ำจืดที่อดอาหาร(ข)

3. การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีตับ องค์กรประกอบเคมีในกล้ามเนื้อ ค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีในเลือดปลาบู่ทราย

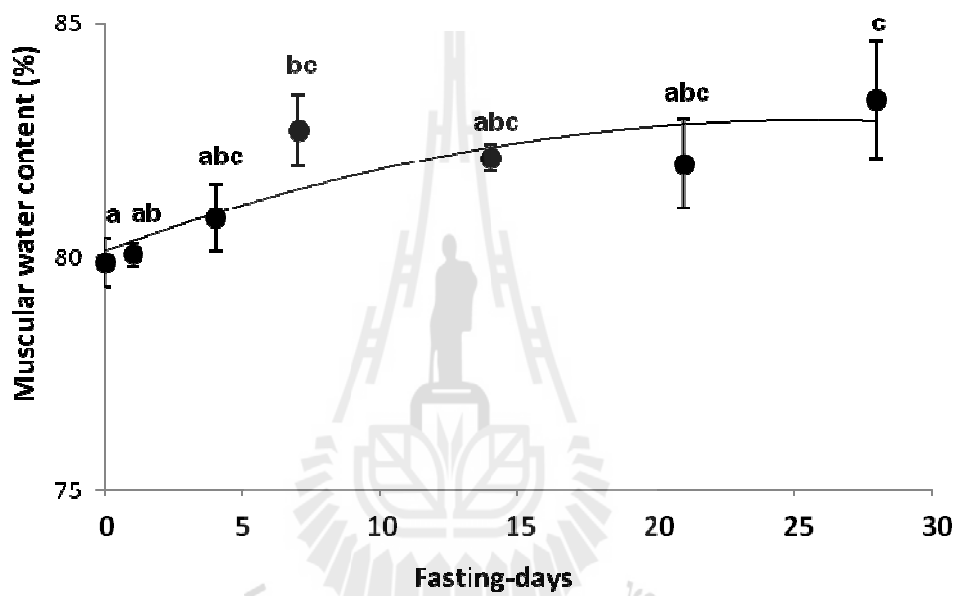
ตับของปลาเป็นอวัยวะที่สะสมสารอาหารให้กับปลา เป็นอวัยวะที่มีกลไกและเมตาบอลิซึมต่างๆ ทั้งทางด้านโภชนาการและภูมิคุ้มกัน ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาบู่ทรายที่อดอาหารจะมีค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) ลดลงตามจำนวนวันที่ปลาไม่ได้รับอาหาร แต่อย่างไรก็ตามค่าการลดลงนั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3.2) จากการวิเคราะห์สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าดัชนีตับ (Y) พบค่าความสัมพันธ์เป็นดังสมการ $[Y = 0.0012x^2 - 0.0456x + 1.3827; R^2 = 0.795]$ การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อปลา ได้แก่ ค่าปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อ ค่าโปรตีนไขมันและเถ้าในกล้ามเนื้อ พบว่าการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 3.3) ปริมาณน้ำในเนื้อปลามีการเพิ่มขึ้นตามเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น โดยมีการเปลี่ยนแปลงดังสมการ $[Y = 0.0042x^2 - 0.2166x + 80.145; R^2 = 0.744]$ การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3.4) แต่พบแนวโน้มความสัมพันธ์ของการลดลงของค่าเฉลี่ยโปรตีนในกล้ามเนื้อตามจำนวนวันที่อดอาหารที่เพิ่มขึ้น $[Y = 0.0051x^2 - 0.1485x + 19.59; R^2 = 0.8042]$ จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อและปริมาณโปรตีนในเนื้อพบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.565 ($P < 0.01$) การอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าไขมันในเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 3.5) และค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหารต่อการลดลงของค่าไขมันในกล้ามเนื้อมีค่าดังสมการ $Y = 0.0005x^2 - 0.0129x + 0.2643$ ($R^2 = 0.774$) อย่างไรก็ตามการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเถ้าในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3.6) และไม่พบรูปแบบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนสำหรับจำนวนวันที่อดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเถ้าในกล้ามเนื้อ

การอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cells number ; RBC) ปริมาณฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระยะเวลาการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง (ภาพที่ 3.7) และปริมาณฮีโมโกลบิน (ภาพที่ 3.8) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบแนวโน้มการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินตามระยะเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น [จำนวนเม็ดเลือดแดง: $Y = 0.0018x^2 - 0.0366x + 1.2611$ ($R^2 = 0.822$)],

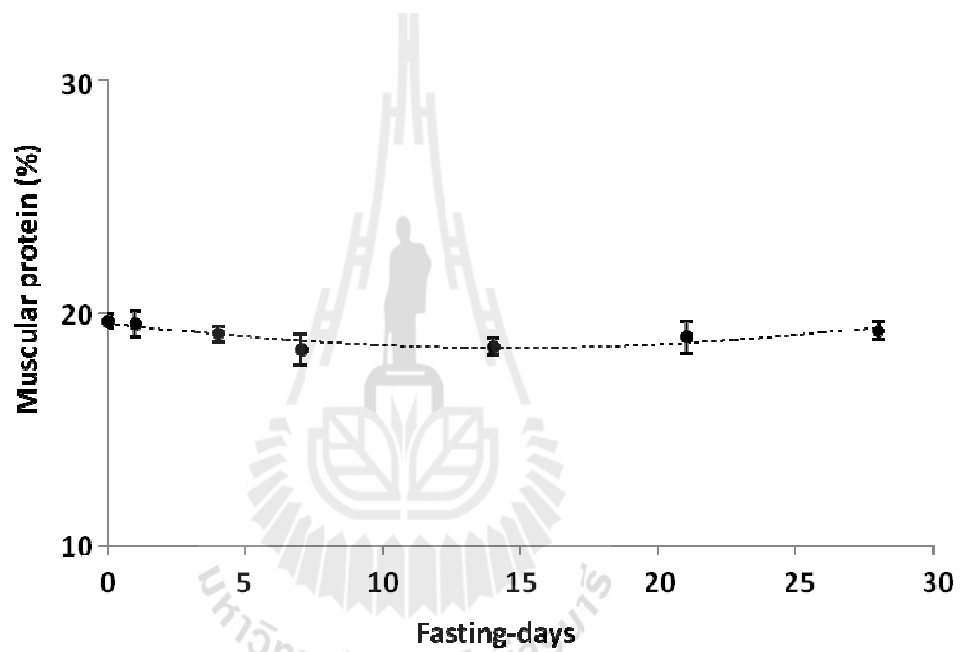
ปริมาณฮีโมโกลบิน: $Y = 0.0012x^2 - 0.0185x + 3.5397$ ($R^2 = 0.4337$) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินมีค่าเท่ากับ 0.557 ($P < 0.01$) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 3.9) ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นจะลดลงในช่วงแรกของการอดอาหาร แล้วจึงค่อยเพิ่มขึ้นเมื่อปลาอดอาหารนาน 1-2 สัปดาห์ แล้วจึงค่อยลดลงอีกครั้งเมื่อปลาอดอาหารนานถึง 3-4 สัปดาห์



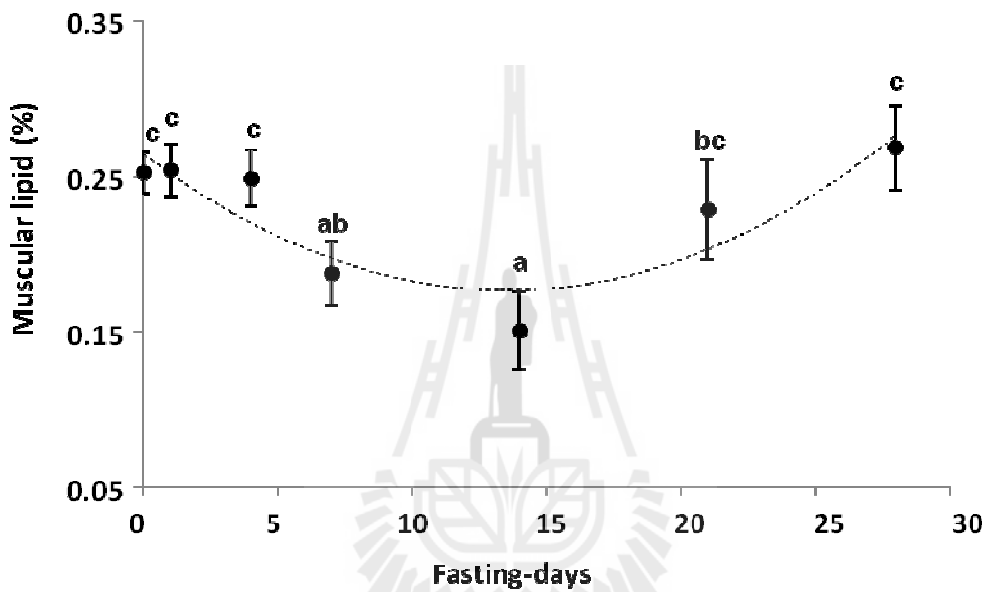
ภาพที่ 3.2 ผลของการอดอาหารต่อค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index) ในปลาปูทราย ระยะเวลาที่อดอาหาร ไม่มีผลต่อค่าดัชนีตับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าดัชนีตับ (Y) [$Y = 0.0012x^2 - 0.0456x + 1.3827$; $R^2 = 0.795$]



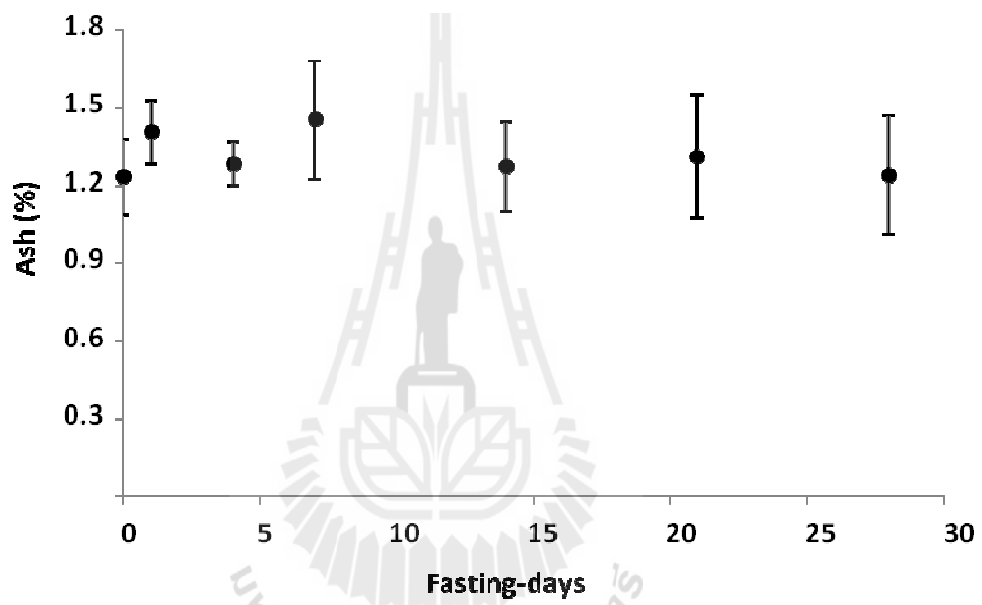
ภาพที่ 3.3 ผลของการอดอาหารต่อปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อ(muscular water content)ในปลานู๋ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเพิ่มค่าปริมาณน้ำในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า
 ปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อ (Y) [$Y = 0.0042x^2 - 0.2166x + 80.145$; $R^2 = 0.744$]



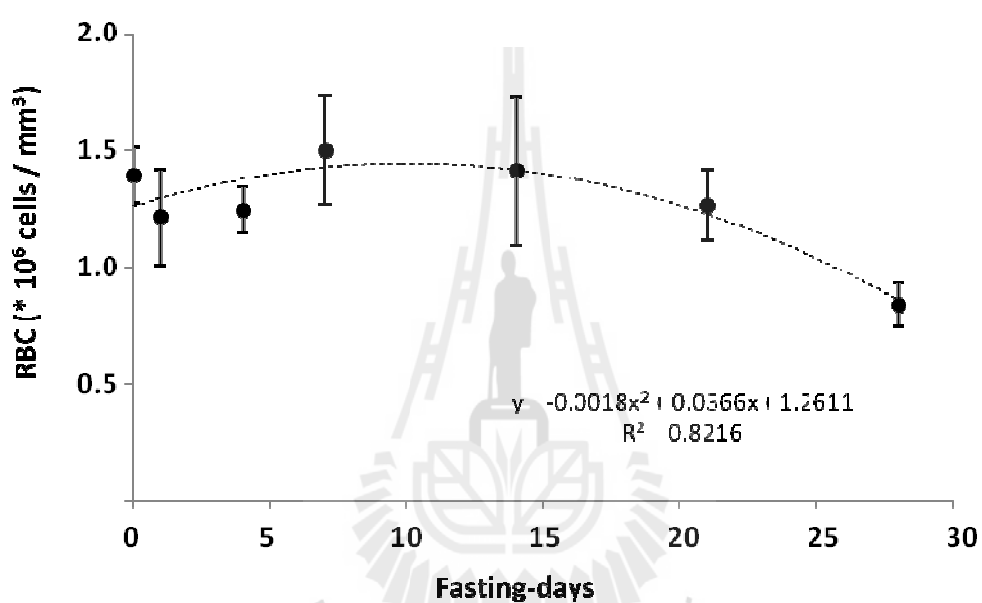
ภาพที่ 3.4 ผลของการอดอาหารต่อค่าโปรตีนในกล้ามเนื้อ (Muscular protein) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารไม่มีผลต่อค่าดัชนีดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
 สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า
 โปรตีนในกล้ามเนื้อ (Y) [$Y = 0.0051x^2 - 0.1485x + 19.59$; $R^2 = 0.8042$]



ภาพที่ 3.5 ผลของการอดอาหารต่อปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อ (muscular lipid) ในปลาน้ำจืด
 ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่าปริมาณไขมันในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า
 ปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อ (Y) [$Y = 0.0005x^2 - 0.0129x + 0.2643$; $R^2 = 0.774$]

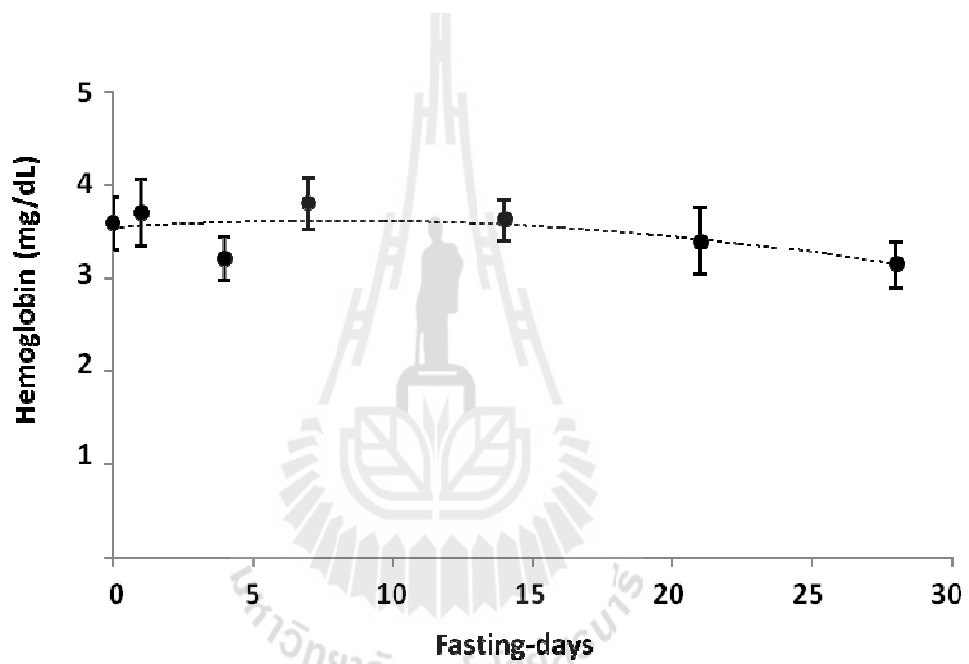


ภาพที่ 3.6 ผลของการอดอาหารต่อค่าเถ้าในก้ามเนื้อ (Ash) ในปลาน้ำจืด
ระยะเวลาที่อดอาหารไม่มีผลต่อค่าเถ้าในก้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($P > 0.05$)

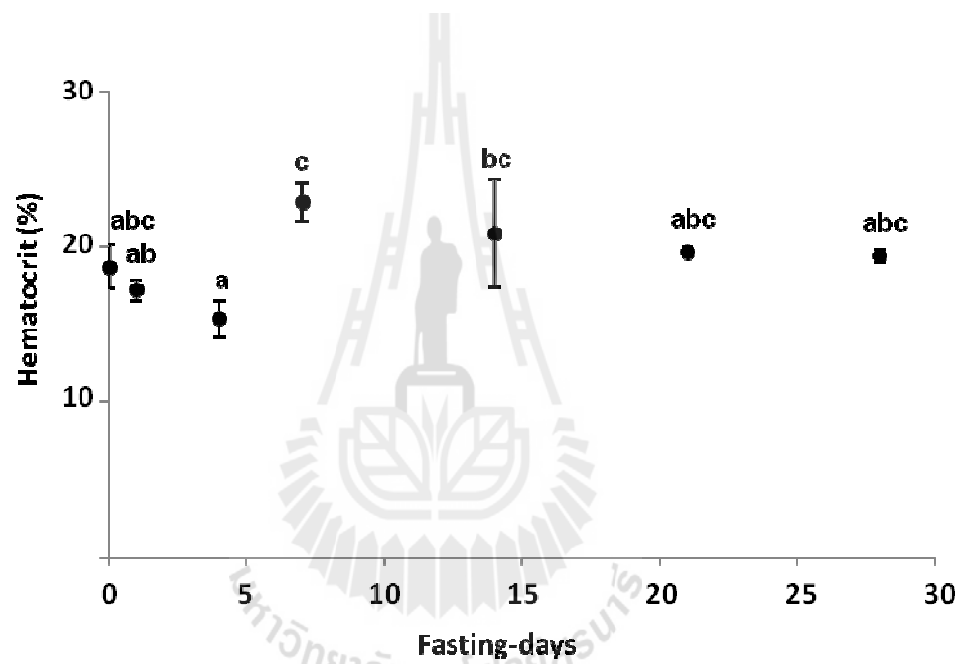


ภาพที่ 3.7 ผลของการอดอาหารต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red blood cell number; RBC) ในปลาบู๋ทรายร ระยะเวลาที่อดอาหาร ไม่มีผลต่อค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (Y)

$$[Y = 0.0018x^2 - 0.0366x + 1.2611; R^2 = 0.822]$$



ภาพที่ 3.8 ผลของการอดอาหารต่อค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
 สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า
 ฮีโมโกลบิน (Y) [$Y = 0.0012x^2 - 0.0185x + 3.5397$; $R^2 = 0.4337$]

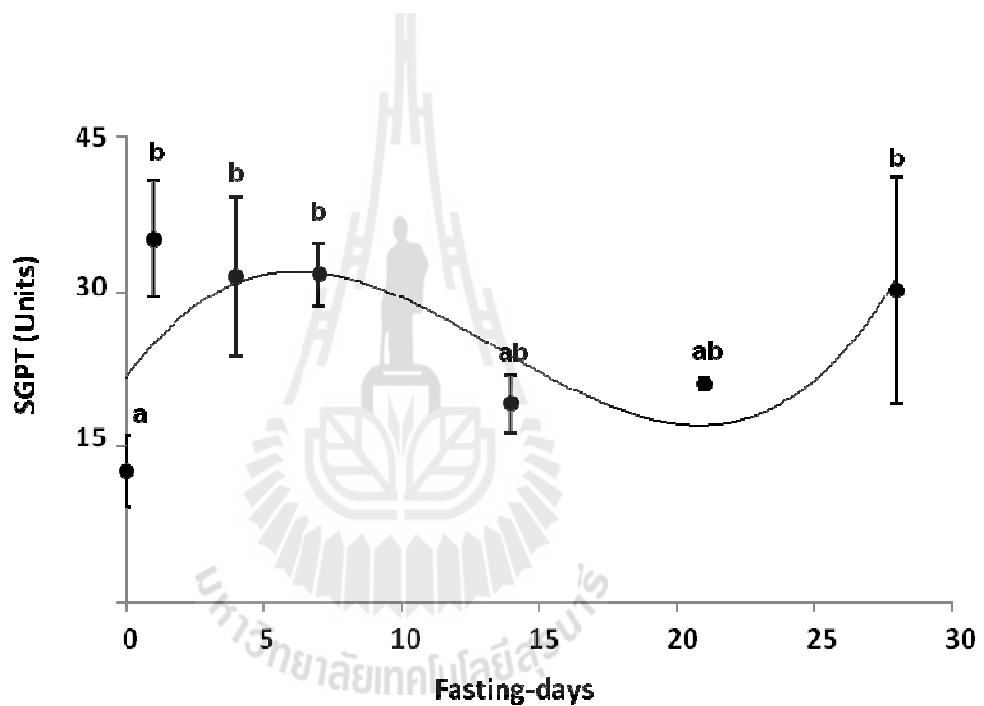


ภาพที่ 3.9 ผลของการอดอาหารต่อค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอย่างมี
 นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

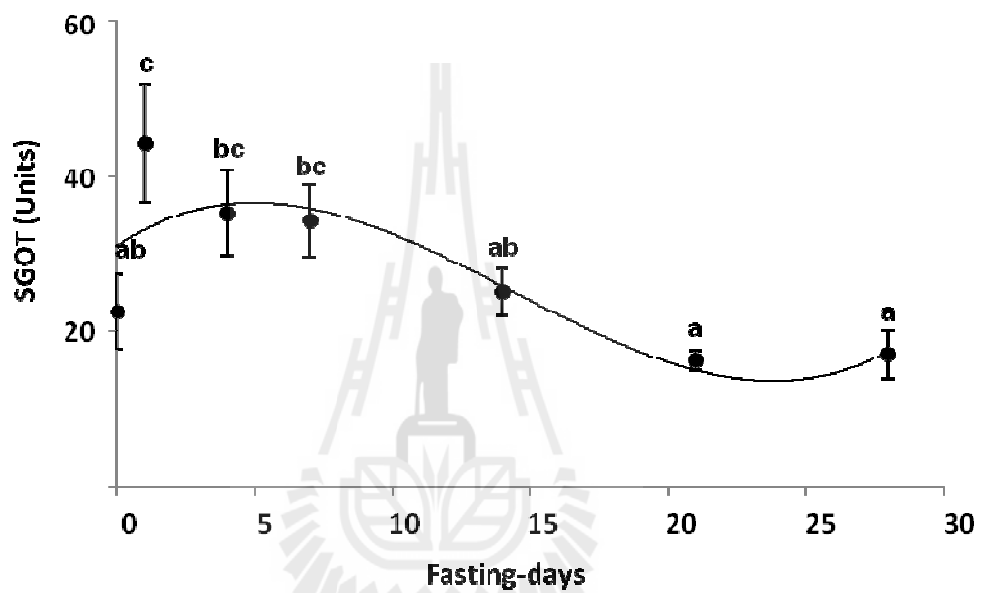
การศึกษาผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับ ได้แก่ค่าSGPT (Serum glutamate pyrophosphate transaminase),SGOT (Serum glutamate oxalolactate transaminase), alkaline phosphatase พบว่าระยะเวลาการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเอ็นไซม์ทั้ง 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าในช่วงแรกของการอดอาหารนั้นค่า SGPT (ภาพที่ 3.10) มีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าลดลงในเวลาต่อมาของการอดอาหารของปลา คือที่ช่วงสัปดาห์ที่ 2-3 ของการอดอาหาร จากนั้นค่าของเอ็นไซม์ SGPT จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งที่สัปดาห์ที่ 4 ของการอดอาหาร สามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหารต่อค่า SGPT ได้ดังนี้ $Y = 0.0095x^3 - 0.3835x^2 + 3.6994x + 21.649$ ($R^2 = 0.4575$) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าค่า SGOT มีการเปลี่ยนแปลงตอบสนองต่อการอดอาหารของปลาลดลงกับการเปลี่ยนแปลงของค่า SGPT (ภาพที่ 3.11) แต่มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยพบว่าค่า SGPT ยังคงมีค่าในสัปดาห์ที่ 4 ของการอดอาหาร โดยค่า SGOT มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการอดอาหารดังนี้ $Y = 0.0068x^3 - 0.2945x^2 + 2.4216x + 30.984$ ($R^2 = 0.6925$) และจากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่า SGOT และ SGPT พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.598 ($P < 0.01$) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอ็นไซม์ alkaline phosphatase (ภาพที่ 3.12) โดยพบว่าระดับของเอ็นไซม์ alkaline phosphatase ลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารที่ยาวนานขึ้น และพบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหารต่อระดับเอ็นไซม์ alkaline phosphatase ดังนี้ $Y = 0.0263x^2 - 0.959x + 12.53$ ($R^2 = 0.713$) การศึกษาครั้งนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์ระดับของเอ็นไซม์อะไมเลส ในเลือดที่ระยะเวลาต่างของการอดอาหารของปลาบู่ทราย โดยพบว่าระยะเวลาการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์อะไมเลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 3.13) โดยรูปแบบการลดลงของเอ็นไซม์อะไมเลสตามระยะเวลาการอดอาหารมีความสัมพันธ์กันดังสมการ $Y = 0.005x^3 + 0.286x^2 - 4.7323x + 34.104$ ($R^2 = 0.601$) และจากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าเอ็นไซม์ alkaline phosphatase และเอ็นไซม์อะไมเลสพบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.404 ($P < 0.05$)

ภาวะการอดอาหารมีผลต่อค่าโปรตีน (plasma protein) (ภาพที่ 3.14)และอัลบูมิน (albumin) ในเลือด (ภาพที่ 3.15) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้นส่งผลให้ปลาบู่ทรายมีค่าโปรตีนและอัลบูมินในเลือดลดลง โดยค่าความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหารต่อค่าโปรตีนในเลือดเป็นดังสมการ $Y = 0.0048x^2 - 0.1971x + 4.0842$ ($R^2 = 0.942$) และอัลบูมินในเลือดเป็นดังสมการ $Y = 0.0003x^2 - 0.0149x + 1.0957$ ($R^2 = 0.5719$) ในทางตรงกันข้ามกับค่าโปรตีนและค่าอัลบูมินในเลือดนั้น ผลการศึกษานี้พบว่าภาวะการอดอาหารมีผลต่อค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดในทางตรงกันข้าม โดยพบว่าระยะเวลาการอดอาหารยาวนานขึ้นทำให้ค่ายูเรีย-

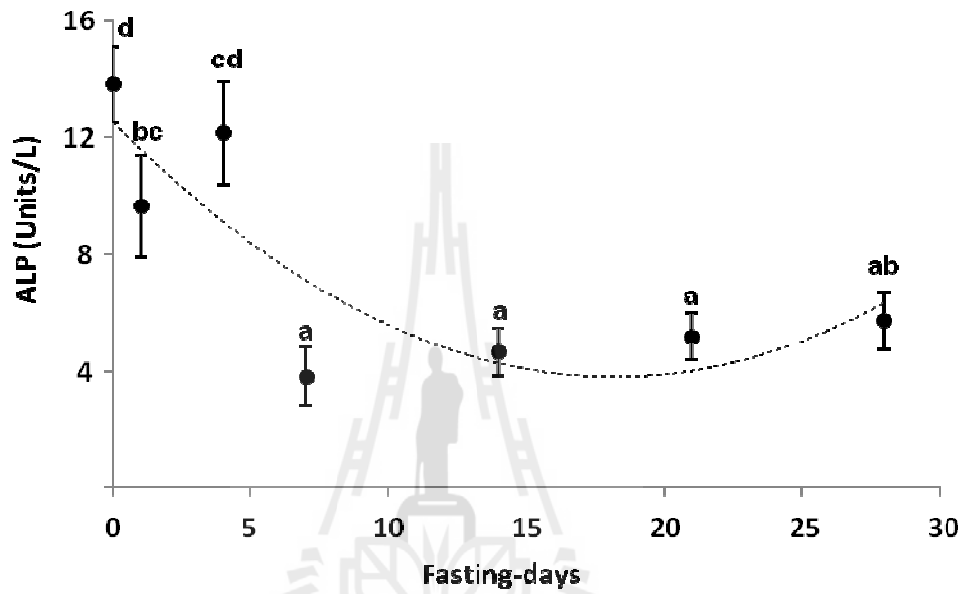
ไนโตรเจนในเลือดมีค่าเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 3.16) และสามารถสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหารและค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดได้เป็น $Y = 0.0006x^3 - 0.0253x^2 + 0.6996x + 2.8637$ ($R^2 = 0.816$) ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรตีนในพลาสมาอัลบูมินและค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด พบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าพลาสมาโปรตีนและค่าอัลบูมินมีค่าเท่ากับ 0.526 ($P < 0.01$) และพบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าพลาสมาโปรตีนและค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดมีค่าเป็นลบเท่ากับ -0.598 ($P < 0.01$)



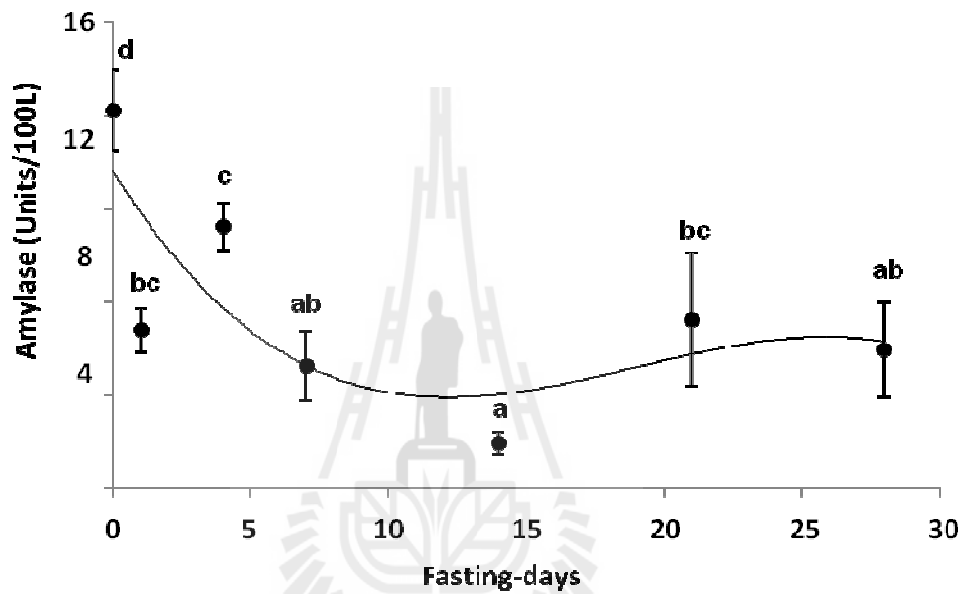
ภาพที่ 3.10 ผลของการอดอาหารต่อค่า SGPT (Serum glutamate pyrophosphate transaminase) ในปลาบู่ทรายระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า SGPT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า SGPT (Y) [$Y = 0.0095x^3 - 0.3835x^2 + 3.6994x + 21.649$; $R^2 = 0.4575$]



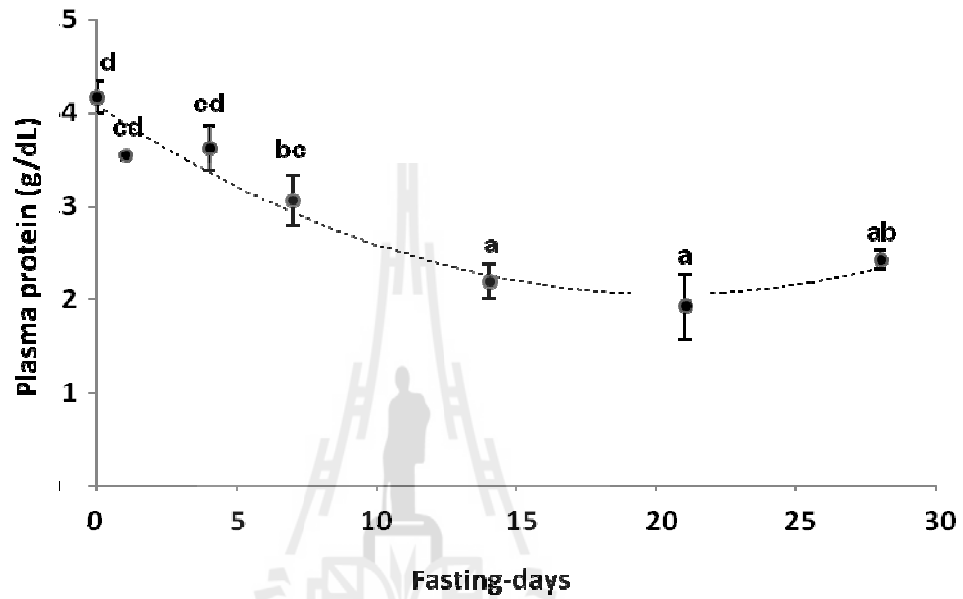
ภาพที่ 3.11 ผลของการอดอาหารต่อค่า SGOT (Serum glutamate oxalolactate transaminase) ในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า SGOT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่า SGOT (Y) [$Y = 0.0068x^3 - 0.2945x^2 + 2.4216x + 30.984$; $R^2 = 0.6925$]



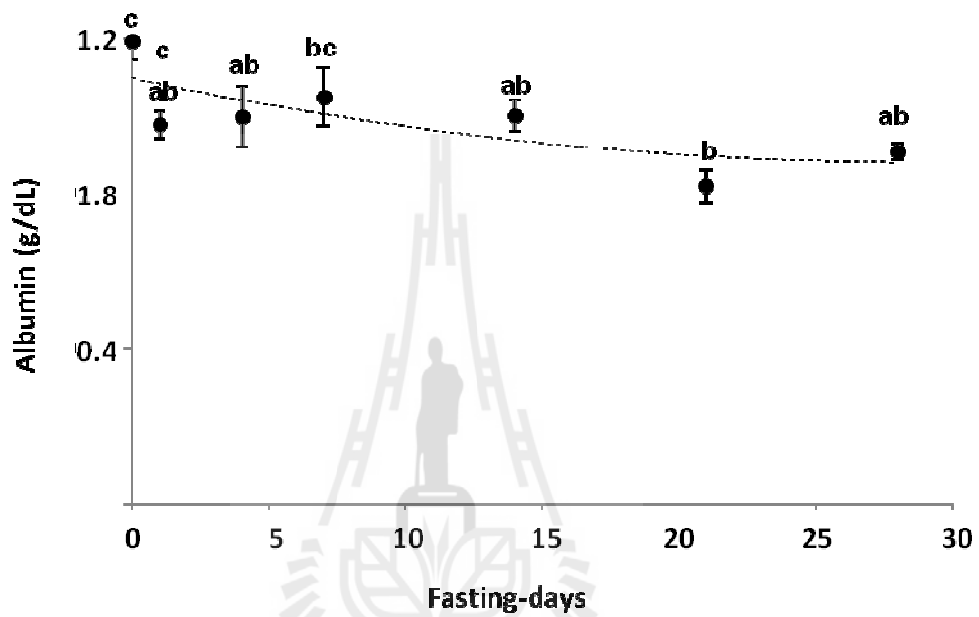
ภาพที่ 3.12 ผลของการอดอาหารต่อค่า Alkaline phosphatase (ALP) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่า Alkaline phosphatase อย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร
 (x) และค่า Alkaline phosphatase (Y) [$Y = 0.0263x^2 - 0.959x + 12.53$; $R^2 = 0.713$]



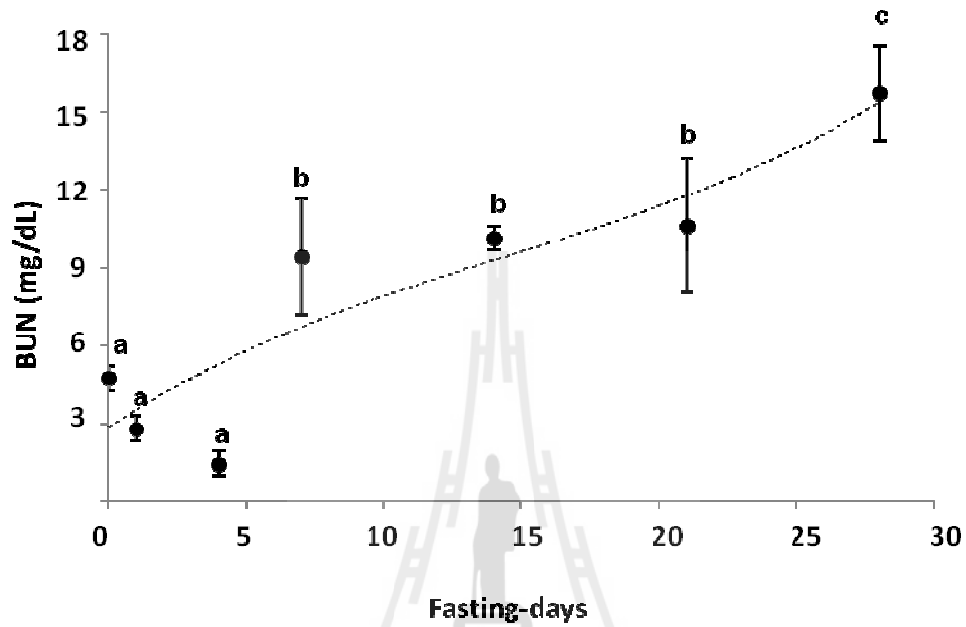
ภาพที่ 3.13 ผลของการอดอาหารต่อค่าเอ็นไซม์อะไมเลส (Amylase) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่าเอ็นไซม์อะไมเลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x)
 และเอ็นไซม์อะไมเลส (Y) [$Y = 0.005x^3 + 0.286x^2 - 4.7323x + 34.104$; $R^2 =$
 0.601]



ภาพที่ 3.14 ผลของการอดอาหารต่อค่าโปรตีนในพลาสมา (plasma protein) ในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่าโปรตีนในพลาสมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และ โปรตีนในพลาสมา (Y) [$Y = 0.0048x^2 - 0.1971x + 4.0842$; $R^2 = 0.942$]

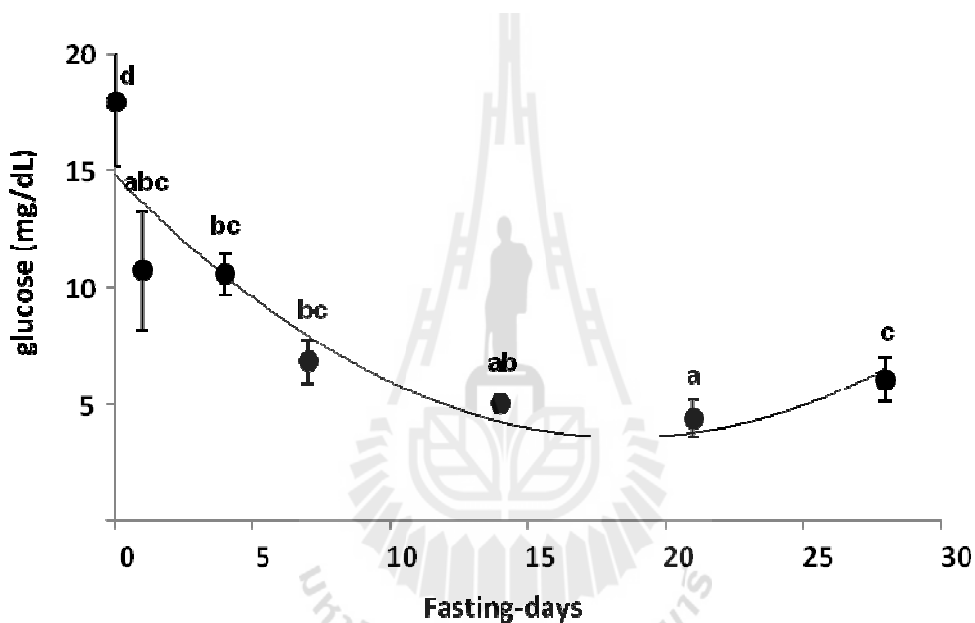


ภาพที่ 3.15 ผลของการอดอาหารต่อค่าอัลบูมิน (albumin) ในปลานู๋ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่าอัลบูมินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าอัลบูมิน(Y) [$Y = 0.0003x^2 - 0.0149x + 1.0957; R^2 = 0.5719$]

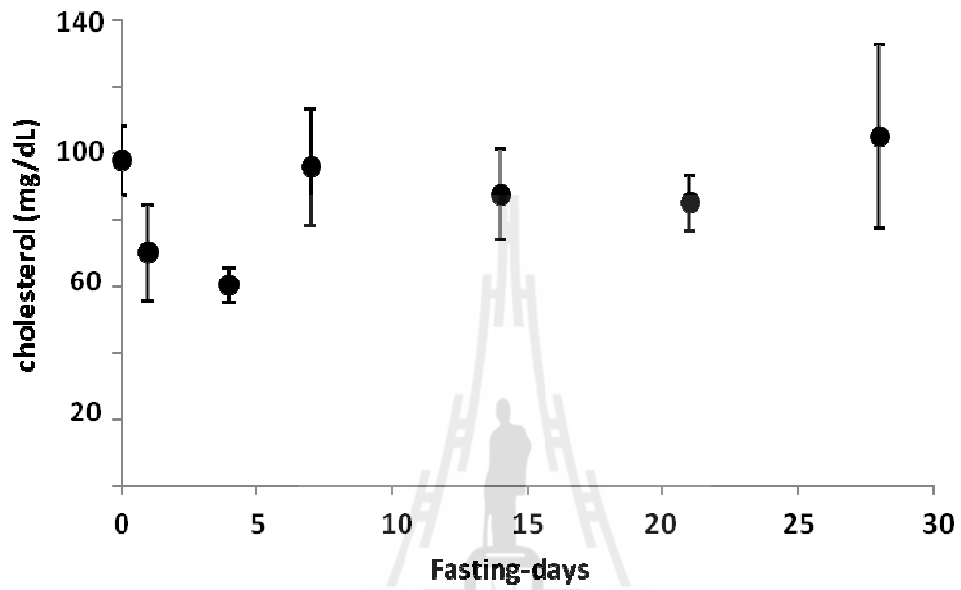


ภาพที่ 3.16 ผลของการอดอาหารต่อค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด (Blood Urea Nitrogen) ในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเพิ่มค่า ยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด (Y) [$Y = 0.0006x^3 - 0.0253x^2 + 0.6996x + 2.8637$ ($R^2 = 0.816$)]

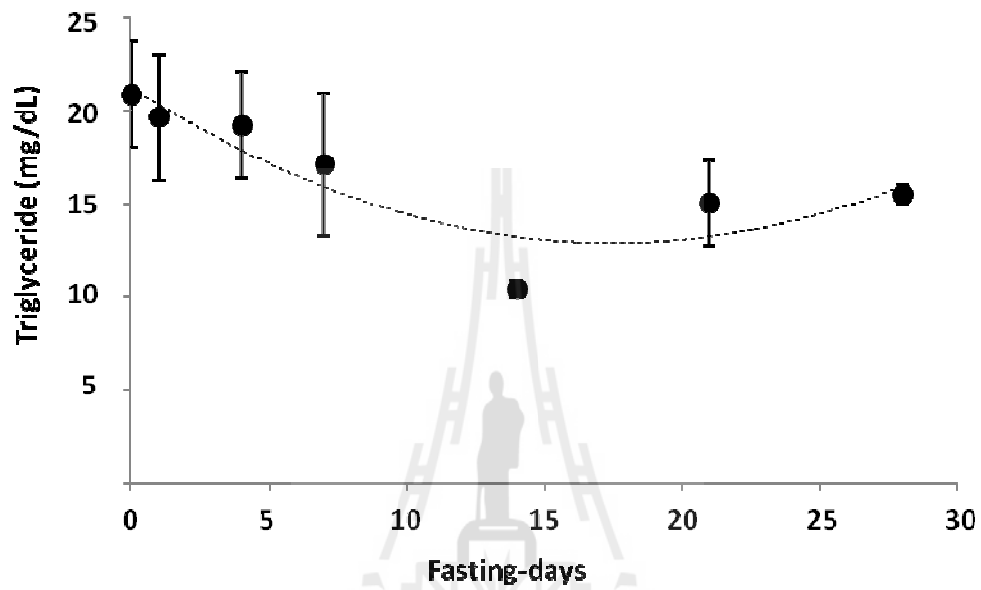
ค่ากลูโคสในเลือดมีค่าลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น ($P < 0.01$) (ภาพที่ 3.17) การลดลงของค่ากลูโคสตามระยะเวลาการอดอาหารเป็นดังสมการ $Y = 0.0328x^2 - 1.2143x + 14.822$ ($R^2 = 0.847$) การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าคอเลสเตอรอล (cholesterol) และค่าไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3.18-3.19) แต่พบแนวโน้มของการลดลงของค่าไตรกลีเซอไรด์ (ภาพที่ 3.19) $Y = 0.0274x^2 - 0.956x + 21.23$ ($R^2 = 0.801$)



ภาพที่ 3.17 ผลของการอดอาหารต่อค่ากลูโคสในเลือดในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่ากลูโคสในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และกลูโคสในเลือด (Y) [$Y = 0.0328x^2 - 1.2143x + 14.822$ ($R^2 = 0.847$)]

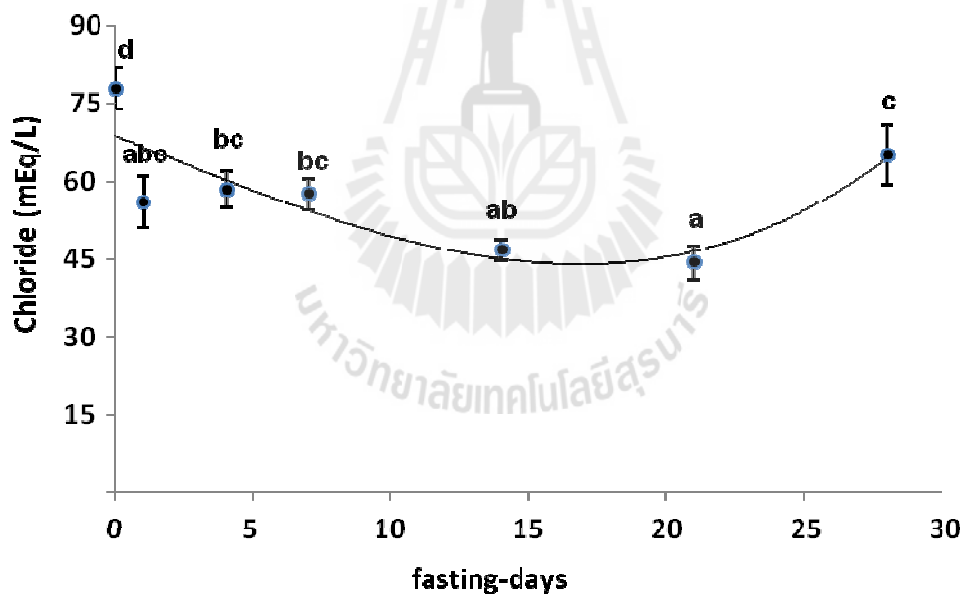


ภาพที่ 3.18 ผลของการอดอาหารต่อค่าคลอเลสเตอรอล (cholesterol) ในปลาบู่ทราย
ระยะเวลาที่อดอาหาร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคลอเลสเตอรอลในเลือดอย่าง
มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

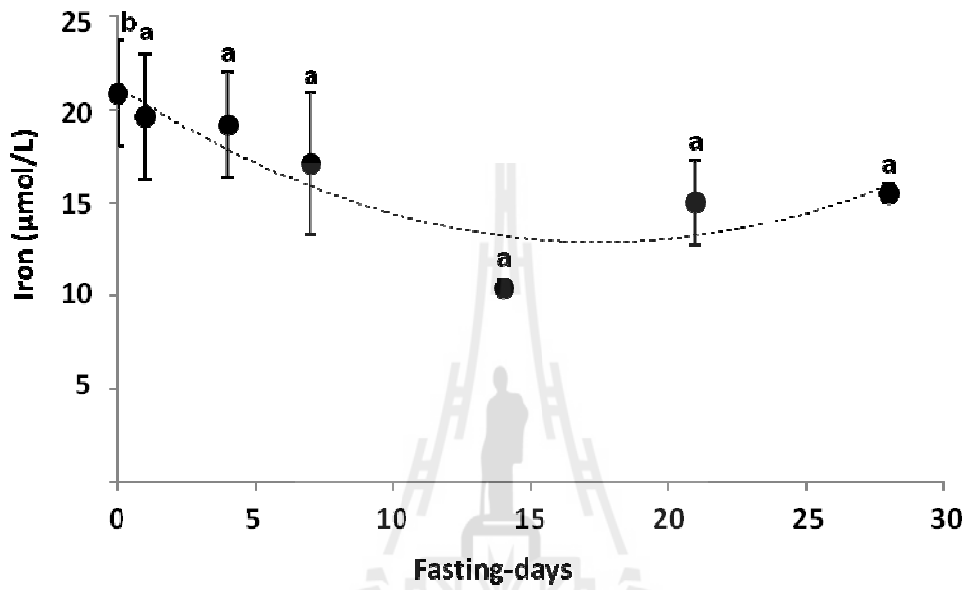


ภาพที่ 3.19 ผลของการอดอาหารต่อค่าไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในปลาบู่ทราย
 ระยะเวลาที่อดอาหาร ไม่มีผลต่อการลดค่าไตรกลีเซอไรด์อย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติ ($P > 0.05$) แต่พบแนวโน้มของการลดลงของค่าไตรกลีเซอไรด์ [$Y =$
 $0.0274x^2 - 0.956x + 21.23$ ($R^2 = 0.801$)]

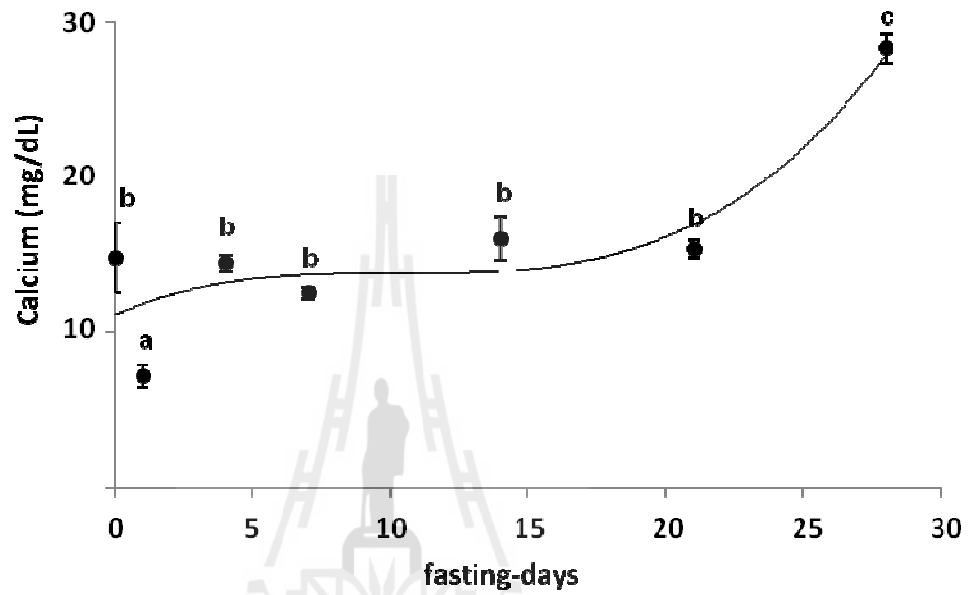
การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าคลอไรด์ในซีรัม พบว่าการอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าคลอไรด์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 3.20) โดยค่าคลอไรด์ในซีรัมมีค่าลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารดังสมการ $Y = 0.0028x^3 - 0.0067x^2 - 2.1405x + 68.733$ ($R^2 = 0.717$) และจากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่ากลูโคสในเลือดและค่าคลอไรด์ในซีรัม พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 1 ($P < 0.01$) ค่าปริมาณเหล็กในเลือดก็มีผลไปในทางเดียวกับค่าคลอไรด์ในเลือด คือค่าปริมาณเหล็กในเลือดมีค่าลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น (ภาพที่ 3.21) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าปริมาณเหล็กในเลือดมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการอดอาหารเป็นแบบ quadratic [$Y = 0.0274x^2 - 0.956x + 21.23$; $R^2 = 0.801$] ในทางตรงกันข้ามค่าแคลเซียมในซีรัมมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการอดอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 3.22) โดยค่าแคลเซียมในเลือดมีเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้นดังสมการ $Y = 0.0025x^3 - 0.0759x^2 + 0.7739x + 11.155$ ($R^2 = 0.814$)



ภาพที่ 3.20 ผลของการอดอาหารต่อค่าคลอไรด์ในซีรัม ในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการลดค่าคลอไรด์ในซีรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าคลอไรด์ในซีรัม (Y) [$Y = 0.0028x^3 - 0.0067x^2 - 2.1405x + 68.733$ ($R^2 = 0.717$)]



ภาพที่ 3.21 ผลของการอดอาหารต่อค่าปริมาณเหล็กในเลือดในปลาบู่ทราย ระยะเวลาที่อดอาหารไม่มีผลต่อการลดค่าปริมาณเหล็กในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบแนวโน้มของการลดลงของค่าปริมาณเหล็กในเลือด [$Y = 0.0274x^2 - 0.956x + 21.23$; $R^2 = 0.801$]



ภาพที่ 3.22 ผลของการอดอาหารต่อค่าแคลเซียมในเลือดในปลาน้ำจืด ระยะเวลาที่อดอาหารมีผลต่อการเพิ่มแคลเซียมในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าแคลเซียมในเลือด (Y) [$Y = 0.0025x^3 - 0.0759x^2 + 0.7739x + 11.155$ ($R^2 = 0.814$)]

อภิปรายผลการทดลอง

ภาวะการอดอาหารคือภาวะที่ร่างกายสัตว์บกไม่ได้รับสารอาหารพลังงานและน้ำจากอาหาร ภาวะการอดอาหารของปลาคือภาวะที่ปลาไม่ได้รับสารอาหารและพลังงานจากอาหาร ร่างกายปลาจึงจะต้องปรับสภาวะในร่างกายให้อยู่รอดได้ในภาวะการอดอาหาร ร่างกายจะต้องปรับตัวเพื่อให้มีสารอาหารที่ให้พลังงานซึ่งก็คือกลูโคส แก่ สมอง และเม็ดเลือดแดง ดับเป็นอวัยวะที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตกลูโคสให้กับร่างกาย ในสภาวะที่ร่างกายขาดสารอาหารจากอาหารที่รับจากภายนอกจะเป็นแหล่งการแสดงออกของยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม ได้มีรายงานการศึกษาในปลาหลาย พบว่าภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน โดยเฉพาะภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับlipid metabolism, protein biosynthesis, proteolysis, cellular respiration และเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis (Drew et al., 2008) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงออกของยีนในปลาที่ได้รับอาหารปกติและปลาที่อยู่ในภาวะที่อดอาหาร โดยมีรายละเอียดของยีนและบทบาทหน้าที่ของยีนดังแสดงในตารางที่ 3.1

ยีนหลายชนิดที่ได้จากผลการศึกษาครั้งนี้เป็นยีนที่มีบทบาทหน้าที่สำคัญสำหรับสรีรวิทยาของปลาและสัตว์อื่นๆ เช่น ภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของยีนในตับของหนู ได้แก่ ยีน Rat major alpha-globin, Rat apolipoprotein, Rat ribosomal protein (Iida et al., 2006) ผลของภาวะความเครียด (oxidative stress) อาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของไมโทครอนเดรีย ได้แก่ NADH dehydrogenase (ubiquinone)1 alpha และ Cytochrome C oxidase subunits อย่างไรก็ตามพบว่าภาวะความเครียด oxidative stress ที่เกิดจากสาร perfluorododecanoic acid ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญในปลาหลาย (Liu et al., 2008) ยีน Apolipoprotein สร้างโปรตีนเกี่ยวข้องกับการขนส่งกรดไขมัน ได้มีการรายงานว่า ยีนApolipoprotein มีบทบาทหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินและฮอร์โมนกลูคาγον (Mangeny et al., 1989) และภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของยีน Apolipoprotein ในหนู (Bauer et al., 2004) เนื่องจากปลาซาลมอนเป็นปลาที่มีการอพยพจากน้ำจืดไปสู่ทะเล พันธุ์ปลาซาลมอนที่ผลิตจากโรงเพาะฟักจะมีการย้ายไปเลี้ยงต่อในกระชังในทะเล ซึ่งการเคลื่อนย้ายนี้อาจก่อให้เกิดความเครียดด้านกระบวนการรักษาสมดุลของน้ำต่อปลาซาลมอนได้ (hyperosmotic stress) ได้มีการรายงานว่าความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำส่งผลต่อการ

เปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ ยีน Ubiquitin protein ligase ดังนั้นจึงสรุปว่า E3ubiquitinligase เป็นโปรตีนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวของปลาชาลมอนในการอพยพลงสู่ทะเล (Pan et al., 2002) Janovick-Guretzky และคณะ (2007) ได้รายงานว่ายีนอัตราและปริมาณการกินได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ribosomal protein ซึ่งจัดเป็น housekeeping gene ชนิดหนึ่ง ยีน Fatty acid binding protein เกี่ยวข้องกับการขนส่งกรดไขมันในระบบหมุนเวียนโลหิต จึงเกี่ยวข้องกับสมดุลของไขมันและเกี่ยวข้องกับกลไกเมตาบอลิซึมในร่างกายในสภาวะโภชนาการต่างๆของสัตว์ (Makowski and Hotamisligil, 2004) รายงานการศึกษาในหนูพบว่ากรดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนหลายยีน โดยมียีนที่สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ Apolipoprotein, Enoyl-Co A hydratase I, Serine proteinase inhibitor (Bauer et al., 2004) การศึกษาในลูกปลาที่ศึกษาพบว่าการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนความเครียด (heat shock protein) เนื่องจากภาวะการขาดสารอาหารส่งผลต่อความเครียด ซึ่งจะมีผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของปลา (Yengkokpam et al., 2008) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาในโคที่ได้รายงานว่าโคที่ได้รับสารอาหารน้อยจะมีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน lipoprotein lipase โดยโคที่ได้รับอาหารน้อยกว่าปกติจะมีการแสดงออกของยีน lipoprotein lipase ลดลง (Lehnert et al., 2006)



ตารางที่ 3.1 ยีนที่ทราบหน้าที่ที่พบในการศึกษาครั้งนี้และหน้าที่ของ

ยีน	หน้าที่ของยีน
Alpha-1-microglobulin	โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของกลอบูลิน
Alpha-2-macroglobulin	โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของกลอบูลิน
Antifreeze protein precursor	โปรตีนป้องกันการเยือกแข็งของเลือดปลา
Apolipoprotein	เอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของไขมัน
Arachidonate 5-lipo-oxygenase	เอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการLipoxygenationของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวชนิดArachidonic acid
Bone morphogenetic protein receptor type-1A-like	โปรตีนตัวรับ(receptor)ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการSerine/Threonine protein kinase เป็นเอ็นไซม์ทำหน้าที่ในกระบวนการphosphorylationของหมู่OHของSerine และ Threonine
C-type lectin	โปรตีนที่มีโครงสร้างเหมือนlectinที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการระบบภูมิคุ้มกัน, cell-cell adhesion, และ apoptosis
Catenin	โปรตีนที่อยู่ในcadherin cell adhesion ทำหน้าที่เชื่อมcadherins ในcytoskeleton
CI inhibitor	ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โปรตีเอส(protease inhibitor)
Cystathionine-beta-synthase	เป็นเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา $L\text{-serine} + L\text{-homocysteine} \leftrightarrow L\text{-cystathionine} + H_2O$ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาขั้นต้นของกระบวนการtranssulfuration
Cytochrome C oxidase subunits (COX3)	Transmembrane protein ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของไมโทคอนเดรีย
Enoyl Coenzyme A hydratase domain containing 3 (EDHDC3)	เอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการbeta-oxidationของกรดไขมันสายยาว

ตารางที่ 3.1(ต่อ)

ยีน	หน้าที่ของยีน
Fattyacidbindingprotein	โปรตีนที่ทำหน้าขนส่งกรดไขมัน
Ferritin	โปรตีนที่จับกับธาตุเหล็กทำหน้าที่เก็บกักธาตุเหล็กในร่างกาย
Fructose-1,6-biphosphatase	เอนไซม์ที่เปลี่ยนfructose-1,6-biphosphateเป็นfructose6-phosphateในกระบวนการgluconeogenesis
GTPase	เอนไซม์ที่ย่อยGuanosinetriphosphate(GTP)เป็นGuanosinediphosphate(GDP)
Guaninenucleotideexchangefactor(GEF)3	โปรตีนที่ควบคุมการทำงานของGTPase
Heatshockprotein	โปรตีนต่อต้านความเครียด(stressprotein)
Hyaluronan-bindingprotein2	เป็นextracellularserineproteaseซึ่งจะจับกับ
IQmotifandSEC7domain-containingprotein	โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของGuaninenucleotideexchangefactor(GEF)
LipoproteinLipase	โปรตีนทำหน้าที่ย่อยไตรกลีเซอไรด์ในไลโปโปรตีน
NADHdehydrogenase(ubiquinone)1alpha	เอนไซม์ที่อยู่ในไมโทครอนเดรียเร่งการขนส่งอิเล็กตรอนจากNADHไปที่Co-enzymeQในกระบวนการหายใจของไมโทครอนเดรีย
Natlectin	โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมhemagglutinationในระบบภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะของปลา
Obscurin,cytoskeletalcalmodulinandtitin-interactingRhoGEF(OBSCN)	โปรตีนเกี่ยวข้องกับโครงสร้างmyofibrilและอาจเกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันระหว่างsarcoplasmicreticulumและmyofibril
Rhamnose-bindinglectin	โปรตีนที่สามารถจับกับglycoconjugatesที่ผนังเซลล์ของเชื้อโรคซึ่งเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องระบบภูมิคุ้มกันของปลา

ตารางที่ 3.1(ต่อ)

ยีน	หน้าที่ของยีน
Ribosomalprotein(60,40,16,12S)	โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของไรโบโซม
Serpin(Serineproteaseinhibitor)	ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส(proteaseinhibitor)
Skinmucuslectin	โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย
Sodium/Calciumexchanger	โปรตีนที่ทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนแคลเซียมและโซเดียมที่ผนังเซลล์
Testisenhancedgenetranscript	โปรตีนที่ยับยั้งการเกิดapoptosisที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยpro-apoptotic(BcL-2)
Transferrin	โปรตีนที่จับกับธาตุเหล็กทำหน้าที่ควบคุมปริมาณธาตุเหล็กในร่างกาย
TroponinC	โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (musclecontraction)
Ubiquitinproteinligase	เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา $ATP+ubiquitin+lysine \leftrightarrow AMP+diphosphate+N-ubiquityllysine$ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาหนึ่งของกระบวนการubiquitin-mediatedในการย่อยสลายโปรตีน(proteolysis)
Zincfinger	โปรตีนที่จับกับสังกะสีและทำให้โครงสร้างของโปรตีนเสถียร

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักตัวลดลงเมื่ออยู่ในภาวะอดอาหาร (Hikita et al., 1998; Huang et al., 2006) แต่ในปลากระดูกแข็งอาจจะมีผลที่แตกต่าง ดังที่ทราบกันว่าปลาหลายชนิดเช่นปลาซาลมอลและปลาไหลมีการอพยพเป็นระยะทางไกล เพื่อไปสืบพันธุ์โดยในระหว่างการอพยพไม่มีการกินอาหาร ดังนั้นผลของการอดอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวในปลาแต่ละชนิดอาจจะมีผลที่แตกต่างกันไป ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลานูทรายที่อดอาหารจะมีน้ำหนักตัวลดลงและลดลงตามจำนวนวันที่เพิ่มมากขึ้น ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลา *Destex dentex*, Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*), Japanese seabass (*Lateolabrax japonicas*), ปลา largemouth bass (*Micropterus salmoides*) และปลาทิลapiaเป็ยลูกผสม (*Oreochromis mossambicus x O. niloticus*) (Winberg et al., 1992; Wang et al., 2000; Morales et al., 2004; Gingerich et al., 2010) อย่างไรก็ตามพบว่าภาวะการอดอาหารไม่ส่งผลต่อการลดลงของน้ำหนักตัวของปลา red porgy (*Pagrus pagrus*) ที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูงหรือต่ำตลอดการทดลอง (3 สัปดาห์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Laiz-Carrion et al., 2011)

ในภาวะที่ปลาอดอาหารเป็นภาวะที่ปลาไม่ได้รับพลังงานจากอาหารที่ได้รับจากภายนอก ตับเป็นอวัยวะที่สำคัญที่มีการผลิตกลูโคสเพื่อเป็นพลังงานให้ร่างกาย ตับจะผลิตกลูโคสด้วยการสลายไกลโคเจน (glycolysis) เพื่อให้รักษาระดับของกลูโคสในร่างกาย เพื่อให้มีกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับสมองและเม็ดเลือดแดง ในการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) ตามระยะเวลาการอดอาหารจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าของค่าดัชนีตับมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารที่ยาวนานขึ้น การเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีตับตามระยะเวลาการอดอาหารแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด เช่น ในหนูพบว่าการอดอาหารมีผลต่อการลดค่าดัชนีตับ (Hikita et al., 1998) ค่าน้ำหนักตับของปลา largemouth bass (*Micropterus salmoides*) ลดลงเมื่อปลาไม่ได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 16 วัน (Gingerich et al., 2010) ค่าดัชนีตับของปลา red porgy (*Pagrus pagrus*) ที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูงหรือต่ำก็ตามมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเป็นปกติ ทั้งที่การวิเคราะห์ผลที่ 2 และ 3 สัปดาห์ (Laiz-Carrion et al., 2011) ค่าดัชนีตับของปลา gilthead seabream (*Sparus auratus*) ที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่ระดับความเค็มแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ (น้ำทะเลความเค็มต่ำกว่ามาตรฐาน น้ำทะเลปกติ (30-35 ส่วนในพันส่วน) น้ำทะเลความเค็มสูงกว่าปกติ) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารเป็นปกติในแต่ละกลุ่มความเค็มน้ำ (Polakof et al., 2006) ปลา tench (*Tinca tinca*) มีค่าดัชนีตับลดลงเมื่ออยู่ในภาวะอดอาหารนาน 7 วัน แต่กลับมามีค่าดัชนีตับสูงขึ้นเมื่อปลากลับมาได้รับอาหารเป็นปกติเป็น

ระยะเวลา 2 วัน (De Pedro et al., 2003) และผลการศึกษาในปลากัด channel catfish (*Ictalurus punctatus*) พบว่าค่าดัชนีตัวมีค่าลดลงเมื่อปลาได้รับอาหารน้อยลงและในกลุ่มปลาที่อดอาหาร (Shoemaker et al., 2003) แต่กลับมีรายงานการศึกษาในปลา *Dentex dentex* ที่พบว่าการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีตัว (Morales et al., 2004)

เมื่อปลามีการอดอาหารปลาจะนำเอาแหล่งพลังงานสำรองมาใช้ ซึ่งพลังงานสำรองแหล่งแรกที่นำมาใช้คือการเผาผลาญไกลโคเจน ต่อมาจะมีการนำเอาสารอาหารที่กักเก็บเนื้อมาใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน การศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบว่าสัตว์จะมีการนำเอาแหล่งไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในช่วงอดอาหาร ต่อจากนั้นจึงจะนำเอาโปรตีนมาเป็นแหล่งพลังงานในลำดับสุดท้าย ถ้าสัตว์ยังไม่ได้รับอาหารอีกสัตว์อาจจะตายได้ในเวลาอันรวดเร็ว ในขณะที่ปลาอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดปลาในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาบู่ทรายที่อดอาหารมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ ถึงแม้ว่าโปรตีนมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ไขมันมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งน่าจะแสดงให้เห็นว่าปลาบู่ทรายมีการนำเอาไขมันในเนื้อมาใช้เป็นแหล่งพลังงานผลของการอดอาหารต่อการลดลงของไขมันแต่ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในกล้ามเนื้อร่างกายพบในปลากัด channel catfish (*Ictalurus punctatus*) (Shoemaker et al., 2003) และ ในปลาชี่สก (*Labeo rohita*) (Ali et al., 2005) ในขณะที่ผลการศึกษาในปลาทิลapiaเป็ยลูกผสมพบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันและเปอร์เซ็นต์โปรตีนในร่างกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปลาอยู่ในภาวะอดอาหาร (Wang et al., 2000) แต่ทว่าการศึกษาในปลาในพบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันและเปอร์เซ็นต์โปรตีนของร่างกายไม่แตกต่างกันระหว่างก่อนอดอาหารและหลังอดอาหาร (Yamamoto et al., 2003) ในการศึกษาพบว่าปลาบู่ทรายที่อดอาหารจะมีปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อสูงขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในปลาทิลapiaเป็ยลูกผสมและปลาชี่สก (Wang et al., 2000; Ali et al., 2005) ในทางตรงกันข้ามผลของการอดอาหารไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในร่างกายในปลากัด channel catfish ปลา largemouth bass (*Micropterus salmoides*) และปลาไน (Yamamoto et al., 2003; Shoemaker et al., 2003; Gingerich et al., 2011) ในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณน้ำในร่างกายไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญตามระยะเวลาการอดอาหารที่ยาวนานขึ้น ผลการศึกษาในปลาแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น ผลการศึกษาในปลาไน และปลากัด channel catfish (2สัปดาห์) ให้ผลเป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาในปลาบู่ทรายครั้งนี้ คือภาวะการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อ แต่ทว่าเมื่อเวลาอดอาหารนานขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำในร่างกายปลากัด channel catfish (4สัปดาห์) และปลาชี่สกสูงขึ้น (Yamamoto et al., 2003; Shoemaker et al., 2003; Ali et al., 2005)

ค่าทางโลหิตวิทยาเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่น่าจะใช้เป็นตัวชี้วัดสุขภาพของปลา ผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดแดงและค่าฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าจากการสร้างกราฟทำนายจะเห็นได้ว่าค่าทั้งสองมีแนวโน้มที่จะลดลงในระหว่างการอดอาหารที่นานขึ้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลากัด channel catfish ซึ่งพบว่า การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงตลอดการทดลอง (4 สัปดาห์) และค่าปริมาณฮีโมโกลบินที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ส่งผลให้ค่าฮีโมโกลบินที่ภาวะการอดอาหารที่ 4 สัปดาห์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสำคัญ (Shoemaker et al., 2003) และยังพบว่า ภาวะการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าฮีโมโกลบินในเลือดอย่างมีนัยสำคัญในปลา largemouth bass (Gingerich et al., 2010) ในขณะที่รายงานการศึกษาในปลา *Prochilodus lineatus* พบว่าการอดอาหารจะส่งผลให้ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงและค่าปริมาณฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นในช่วงแรก แล้วจึงลดลงเมื่อเวลาการอดอาหารยาวนานขึ้น โดยจะลดลงจนมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่สัปดาห์ที่ 5 (Sant'Anna Rios et al., 2011) ภาวะการอดอาหารอาจจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น โดยค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอาจเป็นผลสุทธิตามจากสองปัจจัย คือค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอาจมีค่าต่ำลงอันเนื่องมาจากการลดลงของการสร้างเม็ดเลือดแดงเนื่องจากขาดสารอาหารและอาจมีค่าเพิ่มมากขึ้นอันเนื่องมาจากการที่เม็ดเลือดแดงบวมน้ำ (swelling) เนื่องจากมีน้ำในร่างกายสูงขึ้น ผลการศึกษาพบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในปลาบูทรายมีค่าลดลงในช่วงแรก จากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงมีค่าสูงขึ้นกว่าปลาที่ได้รับอาหารเป็นปกติ ในสัปดาห์ที่ 1-2 จากนั้นจึงมีค่าลดลงอีกครั้งที่สัปดาห์ที่ 3-4 โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นนี้คล้ายคลึงกับผลการศึกษาในปลา *Prochilodus lineatus* (Sant'Anna Rios et al., 2011) อย่างไรก็ตามรายงานการศึกษาในปลากัด channel catfish และ ปลา largemouth bass กลับแสดงให้เห็นว่าการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญ (Shoemaker et al., 2003; Gingerich et al., 2010)

นอกจากการวิเคราะห์ค่าดัชนีตับแล้วในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับ เป็นดัชนีที่สำคัญที่แสดงถึงการทำงานของตับ ได้แก่ค่า AST หรือ SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase) ALT หรือ SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase) และค่า alkaline phosphatase ในการศึกษานี้พบว่าค่า SGOT และ SGPT มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาอดอาหารนานขึ้น ค่าเอ็นไซม์ทั้งสองสูงขึ้นในช่วงแรกอาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาการย้ายหมู่อะมิโนในกรดอะมิโนในช่วงแรกของการอดอาหารของปลาบูทราย และปฏิกิริยาดังกล่าวลดลงเมื่อปลาอดอาหารนานขึ้น ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาในสัตว์ป่าและในปลาซาลมอน พบว่าภาวะการอดอาหาร

ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเอนไซม์ทั้งสองในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหมาป่า (Delgiudice et al., 1987) เช่นเดียวกับการศึกษาในปลาแอตแลนติกซาลมอน พบว่าค่าเอนไซม์ทั้งสองไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปลาอดอาหาร อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในค่าเอนไซม์ทั้งสองกับสถานะการอดอาหารมีน้อย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อสรุปถึงภาวะการอดอาหารต่อค่าเอนไซม์ทั้งสองนี้ดียิ่งขึ้น การศึกษาในหมาป่านั้นก็พบว่าค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อสัตว์อยู่ในภาวะการอดอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่แสดงให้เห็นว่าค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase ลดลงตามภาวะการอดอาหารที่นานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลาเรนโบว์เทรา ปลา Chinook salmon ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และ ปลา Chinook salmon ที่ได้ผ่านการอพยพและนำกลับมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการ (Congleton and Wagner, 2006) ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าเอนไซม์อะไมเลสค่าเอนไซม์ พบว่าอะไมเลสก็มีค่าลดลงตามระยะเวลาอดอาหารที่ยาวนานขึ้น ซึ่งการลดลงของค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase และเอนไซม์อะไมเลสสอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าเอนไซม์ทั้งสองในอวัยวะที่ผลิตเอนไซม์ ได้แก่ผลการศึกษากาการวิเคราะห์ค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase ในลำไส้ และเอนไซม์อะไมเลสในตับอ่อนของปลาไหลยุโรป (*Anguilla Anguilla*) ก็พบว่าเอนไซม์ทั้งสองมีการทำงานลดลงอันเป็นผลเนื่องมาจากการอดอาหาร (Gisbert et al., 2011) และยังพบว่าการที่ลูกปลา yellowtail king fish ได้รับอาหารมื้อแรกลดลง จะมีค่าเอนไซม์อะไมเลสในร่างกายลดลง แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase อย่างมีนัยสำคัญ และการอดอาหารของปลาดังกล่าวนี้ก็มีผลต่อการลดลงของการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์ alkaline phosphatase

แม้ว่าภาวะการอดอาหารของปลาบู่ทรายจะไม่ส่งผลต่อปริมาณ โปรตีนในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ภาวะการอดอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง โปรตีนในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าโปรตีนในพลาสมาลดลงตามระยะเวลาที่การอดอาหารยาวนานมากขึ้น จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรตีนในพลาสมาและค่าอัลบูมิน พบว่าทั้งสองพารามิเตอร์มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นค่าอัลบูมินของปลาบู่ทรายมีแนวโน้มลดลง การลดลงของค่าอัลบูมินอาจจะอธิบายได้ว่าเนื่องจากอัลบูมินจะถูกสร้างขึ้นจากตับเป็นหลักในภาวะการอดอาหารนี้จึงมีการสร้างอัลบูมินลดลงหรืออาจจะไม่มีการสร้างอัลบูมินเพิ่มขึ้นก็เป็นได้ นอกจากนี้ค่าโปรตีนในเลือดยังมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าค่าโปรตีนในเลือดถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานโดยกระบวนการ gluconeogenesis ส่งผลให้มีค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดสูงขึ้น การลดลงของค่าโปรตีนในปลาบู่ทรายที่พบในครั้งนี้นี้สอดคล้องกับผลการศึกษา

ในปลาอื่นๆ ได้แก่ ปลา gilthead seabream, ปลา red porgy, channel catfish, ปลาไน, ปลา Senegalesesole (*Soleasene galensis*), ปลาเรนโบว์เทร้า, ปลา Chinook salmon, ปลาแอตแลนติกซาลมอน (Yamamoto et al., 2003; Shoemaker et al., 2003; Polakof et al., 2006; Congleton and Wagner, 2006; Laiz-Carrion et al., 2011; Hevroy et al., 2011; Costas et al., 2011) นอกจากนี้การศึกษาปลาในธรรมชาติเช่นปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) พบว่ามีค่าโปรตีนในเลือดลดลงเมื่อปลาอยู่ในแหล่งน้ำที่มีอาหารหรือเหยื่อน้อยกว่าปลาที่อยู่ในแหล่งที่มีอาหารหรือเหยื่ออุดมสมบูรณ์ (Islam and Tanaka, 2005) อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในหมาป่าที่อดอาหารพบว่าค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในซีรัมกลับลดลง เมื่อหมาป่าอยู่ในภาวะอดอาหารเมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับอาหารปกติ (Delgiudice et al., 1987)

ดังที่กล่าวมาแล้วว่ากลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับปลา ร่างกายจะต้องรักษา ระดับกลูโคสให้มีพอเพียงต่อการใช้ในระดับเซลล์ โดยเฉพาะสมองและเม็ดเลือดแดง เมื่อปลาไม่ได้รับอาหารจากภายนอก ตัวจะทำหน้าเป็นอวัยวะที่จะรักษาระดับกลูโคส ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาบุ๋มทราย ที่อดอาหารจะมีการลดลงของกลูโคสอย่างมากในช่วงแรกของการอดอาหาร ต่อจากนั้นกลูโคสจะมีการลดลงแต่ไม่มากนัก จากนั้นระดับกลูโคสจะสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อปลาอดอาหารนานขึ้น รูปแบบการลดลงของกลูโคสในปลาบุ๋มทรายสามารถอธิบายได้ว่า การลดลงของกลูโคสอย่างมากในช่วงแรกเป็นผลมาจากการไม่ได้รับกลูโคสจากอาหาร และการที่ร่างกายยังมีการใช้กลูโคสอย่างต่อเนื่อง ต่อมาร่างกายปลามีการปรับตัวเพื่อรักษาระดับของกลูโคสให้เพียงพอต่อการใช้พลังงานในระดับเซลล์ จึงมีการสร้างกลูโคสโดยกระบวนการ gluconeogenesis เพื่อให้ระดับกลูโคสเพียงพอต่อการอยู่รอด การศึกษาในปลานั้นพบว่าระดับกลูโคสเปลี่ยนแปลงตามภาวะการอดอาหารนั้นมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ยกตัวอย่างเช่น การลดลงของกลูโคสเมื่อปลาอดอาหารนั้นพบใน ปลากัด channel catfish (Shoemaker et al., 2003) ในปลาเรนโบว์เทร้า และปลา Chinook salmon โดยพบว่าค่ากลูโคสในเลือดลดลงในช่วงแรกและจากนั้นจะรักษาระดับคงที่ค่าหนึ่ง (Congleton and Wagner, 2006) การศึกษาในปลา tench พบว่าปลาที่อดอาหารจะมีค่ากลูโคสลดลง และหลังจากที่ปลากลับมาได้กินอาหารจะมีค่ากลูโคสสูงขึ้น (De Pedro et al., 2003) แต่ทว่าผลการศึกษาในปลาแอตแลนติกซาลมอนกลับพบว่าปลามีค่ากลูโคสในเลือดสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารในช่วง 2 วันแรกของการอดอาหาร แต่มีค่าระดับกลูโคสไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารเมื่อปลาอดอาหารเป็นเวลา 14 วัน (Hevroy et al., 2011) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในปลาหลายชนิด ได้แก่ ปลา gilthead seabream, ปลา red porgy, ปลาไน, ปลา Senegalesesole (*Soleasene galensis*), ปลา largemouth bass (Yamamoto et al., 2003; Polakof et al., 2006; Gingerich et al., 2010; Laiz-Carrion et al., 2011; Costas et al., 2011) พบว่าระดับกลูโคสในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการอดอาหาร

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในเนื้อปลา พบว่าปริมาณไขมันในเนื้อลดลง อย่างไรก็ตามระดับไตรกลีเซอไรด์และคลอเรสเตอรอลในเลือดปลากลับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าค่าทั้งสองจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อปลาอดอาหารยาวนานมากขึ้น การที่ค่าไตรกลีเซอไรด์และคลอเรสเตอรอลไม่เปลี่ยนแปลงอาจเป็นผลสุทธิมาจากกระบวนการ lipid mobilization มีผลให้ค่าทั้งสองเพิ่มขึ้น และ lipid catabolism ส่งผลให้ค่าทั้งสองลดลง การศึกษาในปลาน้ำจืดมีผลที่หลากหลายในปลาแต่ละชนิด ยกตัวอย่างเช่น ในปลาแอตแลนติกซาลมอน พบว่าค่าไตรกลีเซอไรด์และค่าคลอเรสเตอรอลในกลุ่มปลาที่อดอาหาร 2 และ 14 วัน ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารอย่างมีนัยสำคัญ (Hevroy et al., 2011) ในขณะการศึกษาในปลา gilthead seabream พบว่าการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าไตรกลีเซอไรด์แตกต่างกันไปเมื่อปลาถูกเลี้ยงอยู่ในน้ำที่มีความเค็มแตกต่างกัน โดยพบว่าปลาที่อดอาหารที่เลี้ยงในน้ำทะเลปกติและน้ำที่มีความเค็มต่ำกว่าปกติจะมีค่าไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้น แต่การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าไตรกลีเซอไรด์เมื่อปลาเลี้ยงอยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูงกว่าปกติ (Polakof et al., 2006) ในปลาเรนโบว์เทรา ปลา Senegalese sole และ ปลา red porgy พบว่าการอดอาหารทำให้ปลาเหล่านี้มีค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลง (Congleton and Wagner, 2006; Laiz-Carrión et al., 2011; Costas et al., 2011) ผลการศึกษาในปลาในพบว่าภาวะการอดอาหารทำให้ปลามีค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลง แต่มีค่าคลอเรสเตอรอลสูงขึ้น (Yamamoto et al., 2003) ในทางกลับกันพบว่าภาวะการอดอาหารส่งผลให้ปลาเรนโบว์เทราและปลา Chinook salmon ที่กำลังอพยพมีค่าคลอเรสเตอรอลลดลง (Congleton and Wagner, 2006)

จากระบบการรักษาสมดุลของน้ำ (osmoregulation) จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงค่าแร่ธาตุในเลือดของปลาเกิดจากปัจจัยหลายปัจจัย ปกติปลาน้ำจืดจะได้รับแร่ธาตุจากอาหารเป็นหลัก และมีแนวโน้มที่จะสูญเสียแร่ธาตุออกสู่น้ำ เนื่องจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างของเหลวในร่างกายและน้ำตัวกลางที่ปลาอาศัยอยู่ ผลการศึกษาค้างนี้จะเห็นได้ว่าปลามีระดับเหล็กในเลือดลดลง ซึ่งผลการศึกษาค้างนี้เป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาในหมาป่าที่รายงานไว้โดย (Delgiudice et al., 1987) ระดับคลอไรด์ในเลือดมีค่าลดลงในระยะแรกของการอดอาหาร จากนั้นจึงค่อยๆเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น คลอไรด์ในเลือดมีค่าสัมพันธ์กับค่ากลูโคสในเลือดเท่ากับ 1 ดังนั้นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าคลอไรด์ในเลือด จึงมีแนวทางเดียวกับค่ากลูโคสในเลือด ซึ่งสามารถอธิบายถึงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าคลอไรด์ในเลือดครั้งนี้ โดยปกติค่าคลอไรด์ในเลือดปลาจะสูญเสียไปทางเหงือก เมื่อปลาอยู่ในภาวะความเครียดปลาจะไม่สามารถรักษาระดับคลอไรด์ในเลือด ส่งผลให้ค่าคลอไรด์ในเลือดลดต่ำลง แต่เมื่อปลาสามารถปรับตัวได้ปลาสามารถดูดซึมคลอไรด์จากน้ำได้ จึงทำให้มีค่าคลอไรด์ค่อยๆสูงขึ้น การศึกษาผลของการอดอาหารต่อค่าคลอไรด์ในเลือดมีการศึกษาค่อนข้างน้อย

เช่น ในปลา largemouth bass พบว่าค่าคลอไรด์ในเลือดไม่เปลี่ยนแปลง (อดอาหารเป็นระยะเวลา 16 วัน) อันเนื่องมาจากภาวะการอดอาหาร แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นที่ปลาต้องได้รับจากอาหาร ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าแคลเซียมในเลือดจะลดลงในช่วงแรกของการอดอาหาร จากนั้นจึงค่อยเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่ยาวนานขึ้น การศึกษาในปลาไนพบว่า ปลาไนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 17 °C นั้น ปริมาณแคลเซียมไม่เปลี่ยนแปลงอันเป็นผลเนื่องมาจากการอดอาหาร แต่ปลาไนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C นั้นการอดอาหารจะทำให้ค่าแคลเซียมลดลง (Yamamoto et al., 2003) และการศึกษาในปลา Chinook salmon ที่อยู่ระหว่างการอพยพ พบว่าภาวะการอดอาหารทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดลดลง (Congleton and Wagner, 2006) อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลาอีสกพบวาระดับแคลเซียมในร่างกายมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น และมีค่าความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Ali et al., 2005)

บทที่ 4

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าภาวะการอดอาหารมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของโปรตีนไขมันและคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้พบยีนในกลุ่มเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันต้านทานโรค การสร้างเม็ดเลือดและยีนที่ทำงานในไมโทครอยเดรีย
2. ปลาบู่ทรายใต้ได้รับอาหารปกติ (กลุ่มควบคุม) จะมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว เป็นแบบ sigmoid curve model [$\ln(Y) = 0.257 - 3.808(1/x)$; $R^2 = 0.768$, $P < 0.01$] ในขณะที่กลุ่มปลาบู่ทรายที่อดอาหารพบว่ามีการลดลงของน้ำหนักตัวอย่างต่อเนื่องตามวันที่ไม่ได้รับอาหารเป็นแบบ quadratic model [$Y = 0.008x^2 - 0.367x + 0.4$; $R^2 = 0.738$, $P < 0.01$] โดยที่ค่า x คือ จำนวนวัน และ Y คือการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว
3. ค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) ลดลงตามจำนวนวันที่ปลาไม่ได้รับอาหารแต่อย่างไรก็ตามค่าการลดลงนั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จากการวิเคราะห์สมการถดถอยของค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหาร (x) และค่าดัชนีตับ (Y) พบค่าความสัมพันธ์เป็นดังสมการ [$Y = 0.0012x^2 - 0.0456x + 1.3827$; $R^2 = 0.795$]
4. การอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ปริมาณน้ำในเนื้อปลามีการเพิ่มขึ้นตามเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น โดยมีการเปลี่ยนแปลงดังสมการ [$Y = 0.0042x^2 - 0.2166x + 80.145$; $R^2 = 0.744$] การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่พบแนวโน้มความสัมพันธ์ของการลดลงของค่าเฉลี่ยโปรตีนในกล้ามเนื้อตามจำนวนวันอดอาหารที่เพิ่มขึ้น [$Y = 0.0051x^2 - 0.1485x + 19.59$; $R^2 = 0.8042$] จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อและปริมาณโปรตีนในเนื้อ พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.565 ($P < 0.01$) การอดอาหารมีผลต่อการ

ลดลงของค่าไขมันในเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) และค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่อดอาหารต่อการลดลงของค่าไขมันในกล้ามเนื้อมีค่าดังสมการ $Y = 0.0005x^2 - 0.0129x + 0.2643$ ($R^2 = 0.774$) อย่างไรก็ตามการอดอาหาร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเถ้าในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

5. ระยะเวลาการอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบแนวโน้มการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินตามระยะเวลาการอดอาหารที่เพิ่มขึ้น [จำนวนเม็ดเลือดแดง: $Y = 0.0018x^2 - 0.0366x + 1.2611$ ($R^2 = 0.822$), ปริมาณฮีโมโกลบิน $Y = 0.0012x^2 - 0.0185x + 3.5397$ ($R^2 = 0.4337$)] นอกจากนี้ยังพบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเม็ดเลือดแดงและปริมาณฮีโมโกลบินมีค่าเท่ากับ 0.557 ($P < 0.01$)
6. ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า การอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
7. ระยะเวลาการอดอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเอ็นไซม์ SGPT [$Y = 0.0095x^3 - 0.3835x^2 + 3.6994x + 21.649$ ($R^2 = 0.4575$)], SGOT [$Y = 0.0068x^3 - 0.2945x^2 + 2.4216x + 30.984$ ($R^2 = 0.6925$)], alkaline phosphatase [$Y = 0.0263x^2 - 0.959x + 12.53$ ($R^2 = 0.713$)] และ amylase [$Y = 0.005x^3 + 0.286x^2 - 4.7323x + 34.104$ ($R^2 = 0.601$)] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่า SGOT และ SGPT มีค่าเท่ากับ 0.598 ($P < 0.01$) และค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าเอ็นไซม์ alkaline phosphatase และเอ็นไซม์อะไมเลสพบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.404 ($P < 0.05$)
8. ภาวะการอดอาหารมีผลต่อค่าโปรตีน (plasma protein) และอัลบูมิน (albumin) ในเลือด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยค่าความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการอดอาหารต่อค่าโปรตีนในเลือดเป็นดังสมการ $Y = 0.0048x^2 - 0.1971x + 4.0842$ ($R^2 = 0.942$) และอัลบูมินในเลือดเป็นดังสมการ $Y = 0.0003x^2 - 0.0149x + 1.0957$ ($R^2 = 0.5719$) แต่ภาวะการอดอาหารมีผลต่อค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดในทางตรงกันข้าม [$Y = 0.0006x^3 - 0.0253x^2 + 0.6996x + 2.8637$ ($R^2 = 0.816$)] พบว่าค่า

สหสัมพันธ์ระหว่างค่าพลาสมาโปรตีนและค่าอัลบูมินมีค่าเท่ากับ 0.526 ($P < 0.01$) และพบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าพลาสมาโปรตีนและค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในเลือดมีค่าเป็นลบเท่ากับ -0.598 ($P < 0.01$)

9. ค่ากลูโคสในเลือดมีค่าลดลงตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้น ($P < 0.01$) [$Y = 0.0328x^2 - 1.2143x + 14.822$ ($R^2 = 0.847$)] การอดอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าคลอเลสเทอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
10. การอดอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าคลอไรด์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) [$Y = 0.0028x^3 - 0.0067x^2 - 2.1405x + 68.733$ ($R^2 = 0.717$)] และจากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่ากลูโคสในเลือดและค่าคลอไรด์ในซีรัมพบว่ามีความสัมพันธ์เท่ากับ 1 ($P < 0.01$) ค่าปริมาณเหล็กในเลือดก็มีผลไปในทางเดียวกับค่าคลอไรด์ในเลือด แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่าเหล็กในเลือดตามระยะเวลาการอดอาหารที่ยาวนานขึ้น ($P > 0.05$)
11. ค่าแคลเซียมในซีรัมมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการอดอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยค่าแคลเซียมในเลือดมีเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการอดอาหารที่นานขึ้นดังสมการ $Y = 0.0025x^3 - 0.0759x^2 + 0.7739x + 11.155$ ($R^2 = 0.814$)
12. โดยรวมสามารถสรุปได้ว่าการอดอาหารของปลาบู่ทรายในการวิจัยครั้งนี้ที่ระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ส่งผลให้ปลาบู่ทรายเข้าสู่ระยะที่ 2 คือระยะที่ปลาบู่ทรายมีการนำเอาไขมันที่สะสมในร่างกายมาเผาผลาญให้พลังงานแก่การดำรงชีวิต

ข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการสร้างองค์ความรู้พื้นฐานในแง่ของการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของปลาน้ำจืดในขณะที่ยอดอาหาร ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเชิงลึกถึงการเปลี่ยนแปลงในการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของปลาน้ำจืด และการศึกษาในการพัฒนาสูตรอาหารที่ของปลาน้ำจืดเพื่อให้ปลาน้ำจืดสามารถอดทนอยู่ในภาวะความเครียดอันเนื่องมาจากการอดอาหารได้ดีขึ้น



บรรณานุกรม

- Ali, M., Salam, A., Razaq, S. and Ansari, T. M. (2005). Dynamics of body composition, RNA:DNA ratio and elemental concentration of Rohu *Labeo rohita* (Ham.) in relation to stress induced by fasting. *Asian fisheries science*. 18: 15-23.
- Alonso-Alvarez, C., Ferrer, M. (2001). A biochemical study of fasting, subfeeding, and recovery processes in yellow-legged gulls. *Physiological and Biochemical Zoology*. 74: 703–713.
- Bauer, M., Hamm, A. C., Bonaus, M., Jacob, A., Jaekel, J., Schorle, H., Pankratz, M. J. and Katzenberger, J. D. (2004). Starvation response in mouse liver shows strong correlation with life-span-prolonging processes. *Physiological genomics*. 17: 230-244.
- Bertile, F., Oudart, H., Criscuolo, F., Le Maho, Y., Raclot, T. (2003). Hypothalamic gene expression in long-term fasted rats: relationship with body fat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 303: 1106-1113.
- Comoglio, L.I., Gaxiola, G., Roque, A., Cuzon, G., Amin, O. (2004). The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*. 23: 243–249.
- Congleton, J. L. and Wagner, T. (2006). Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *Journal of fish biology*. 69: 473-490.
- Costas, B., Aragao, C., Ruiz-Jarabo, I., Vargas-Chacoff, L., Arjona, F. J., Dinis, M. T., Mancera, M. J. and Conceicao, L. E. C. (2011). Feed deprivation in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles: effects on blood plasma metabolites and free amino acid levels. *Fish physiology and biochemistry*. 37: 495-504.
- Czesny, S., Richard, J., Garcia Abiado, M.A., Dabowski, K. (2003). The effect of fasting, prolonged swimming, and predator presence on energy utilization and stress in juvenile walleye (*Stizostedion vitreum*). *Physiology & Behavior*. 79 : 597–603.
- De Pedro, N., Delgado, M. J., Gancedo, B. and Alonso-Bedate, M. (2003). Changes in glucose, glycogen, thyroid activity and hypothalamic catecholamines in tench by starvation and

- refeeding. *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology.* 173: 475-481.
- Delgiudice, G. D. (1987). Effects of feeding and fasting on wolf blood and urine characteristics. *The journal of wildlife management.* 51: 1-10.
- Drew, R. E., Rodnick, K. J., Settles, M., Wacyk, J., Churchill, E., Powell, M. S., Hardy, R. W., Murdoch, G. K., Hill, R. A. and Robison, B. D. (2008). Effect of starvation on transcriptomes of brain and liver in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Physiological genomics.* 35: 283-295.
- French, C.J., Hochachika, P.W., Mommsen, T.P. (1983). Metabolic organization of liver during spawnin migration pf sockeye salmon. *American Journal of Physilogy-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 245: R827-830.
- Frick, N.T., Bystriansky, J.S. Ip, Y.K., Chew, S.F., Ballantyne, J.S. (2008). Carbohydrate and amino acid metabolism in fasting and aestivating African lungfish (*Protopterus dolloi*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 151: 85–92.
- Gingerich, A. J., Philipp, D. P. and Suski, C. D. (2010). Effects of nutritional status on metabolic rate, exercise and recovery in a freshwater fish. *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology.* 180: 371-384.
- Gisbert, E., Fernandez, I. and Alvarez-Gonzalez, C. A. (2011). Prolonged feed deprivation does not permanently compromise digestive function in migrating European glass eels *Anguilla anguilla*. *Journal of fish biology.* 78: 580-592.
- Hervant, F., Meathieu, J., Durand, J. (2001). Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander. *Journal of Experimental Biology.* 204 : 269–281.
- Hervant, F., Renault, D. (2002). Long-term fasting and realimentation in hypogean and epigean isopods: a proposed adaptive strategy for groundwater organisms. *Journal of Experimental Biology.* 205 : 2079–2087.

- Hevroy, E. M., Azpeleta, C., Shimizu, M., Lanzen, A., Kaiya, H., Espe, M. and Olsvik, P. A. (2011). Effects of short-term starvation on ghrelin, GH-IGF system, and IGF-binding proteins in Atlantic salmon. *Fish physiology and biochemistry*. 37: 217-232.
- Hikita, H., Nuwaysir, E. F., Vaughan, J., Babcock, K., Haas, M. J., Dragan, Y. P. and Pitot, H. C. (1998). The effect of short-term fasting, phenobarbital and refeeding on apoptotic loss, cell replication and gene expression in rat liver during the promotion stage. *Carcinogenesis*. 19: 1417-1425.
- Hoffer, L.J., 1999. Metabolic consequences of starvation. *Modern Nutrition in Health and Disease*. In: M.E. Shils, J.A. Olson, M. Shike, A.C. Ross. Philadelphia, Williams & Wilkins, pp. 645–665.
- Huang, J., Pashkov, V., Kurrasch, D. M., Yu, K., Gold, S. J. and Wilkie, T. M. (2006). Feeding and fasting controls liver expression of a regulator of G protein signaling (Rgs16) in periportal hepatocytes. *Comparative hepatology*. 5: 1-11.
- Hulbert, A.J., Else, P.L. (2000). Mechanism underlying the cost of living in animals. *Annual Review Physiology*. 62: 207-235.
- Iida, S., Sato, Y., Nakaya, A., Shinohara, Y., Hayashi, Y., Sawada, A., Nagata, H., Kaji, N., Kamiya, H., Baba, Y. and Harashima, H. (2006). Genome wide expression analysis of white blood cells and liver of pre-diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats using a cDNA microarray. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 29: 2451-2459.
- Islam, Md. S. and Tanaka, M. (2005). Nutritional condition, starvation status and growth of early juvenile Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) related to prey distribution and feeding in the nursery ground. *Journal of experimental marine biology and ecology*. 323: 172-183.
- Janovick-Guretzky, N. A., Dann, H. M., Carlson, D. B., Murphy, M. R., Loor, J. J. and Drackley, J. K. (2007). Housekeeping gene expression in bovine liver is affected by physiological state, feed intake, and dietary treatment. *Journal of dairy science*. 90: 2246-2252.
- Laiz-Carrión, R., Viana, I. R., Cejas, J. R., Ruiz-Jarabo, I., Jerez, S., Martos, J. A., Eduardo, A. B. and Mancera, J. M. (2011). Influence of food deprivation and high stocking density on energetic metabolism and stress response in red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquaculture international*. 1-15.

- Lamosova, D., Macajova, M., Zeman, M. (2004). Effects of short-term fasting on selected physiological functions in Adult male and female Japanese quail. *Acta. Verterinary Brno.* 73: 9-16.
- Lehnert, S. A., Byrne, K. A., Reverter, A., Natrass, G. S., Greenwood, P. L., Wang, Y. H. , Hudson, N. J., Harper, G. S. (2006). Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. *Journal of animal science.* 84: 3239-3250.
- Liu, Y., Wang, J., Wei, Y., Zhang, H., Xu, M. and Dai, J. (2008). Induction of time-dependent oxidative stress and related transcriptional effects of perfluorododecanoic acid in zebrafish liver. *Aquatic toxicology.* 89: 242-250.
- McWilliams, S.R., Guglielmo, C.G., Pierce, B.J., Klaasen, M. (2004). Flying, fasting, and feeding in birds during migration: a nutritional and physiological ecology perspective. *Journal of Avian Biology.* 35; 377–393.
- Makowski, L. and Hotamisligil, G. S. (2004). Fatty acid binding proteins-the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. *The journal of nutrition.* 134: 2464S-2468S.
- Mangeney, M., Cardot, P., Lyonnet, S., Coupe, C., Benarous, R., Munnich, A., Girard, J., Chambaz, J. and Bereziat, G. (1989). Apolipoprotein-E-gene expression in rat liver during development in relation to insulin and glucagon. *European journal of biochemistry.* 181: 225-230.
- Matthews, D.E. (2005). Observations of branched-chain amino acid administration in humans. *The Journal of Nutrition.* 1580S–1584S.
- McCue, M. D. (2010). Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative biochemistry and physiology.* 156: 1-18.
- Morales, A. E., Perez-Jimenez, A., Hidalgo, M. C., Abellan, E. and Cardenete, G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative biochemistry and physiology.* 139: 153-161.
- Mosin, A.F. (1984). On the energy fuel in voles during their starvation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 77: 563–565.

- Munoz-Garcia, A., Williams, J.B. (2005). Basal metabolic rate in carnivores is associated with diet after controlling for phylogeny. *Physiological and Biochemical Zoology*. 78:1039–1056.
- Pan, F., Zarate, J. and Bradley, T. M. (2002). A homolog of the E3 ubiquitin ligase Rbx1 is induced during hyperosmotic stress of salmon. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 282: R1643-R1653.
- Polakof, S., Arjona, F. J., Sangiao-Alvarellos, S., Martin del Rio, M. P., Mancera, J. M., Soengas, J. L. (2006). Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology*. 176: 441-452.
- Rios, F. S., Carvalho, C. S., Pinheiro, G. H. D., Donatti, L., Fernandes, M. N. and Rantin, F. T. (2011). Utilization of endogenous reserves and effects of starvation on the health of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Environmental biology of fishes*. 91: 87-94.
- Shoemaker, C. A., Klesius, P. H., Lim, C. and Yildirim, M. (2003). Feed deprivation of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), influences organosomatic indices, chemical composition and susceptibility to *Flavobacterium columnare*. *Journal of fish diseases*. 26: 553-561.
- Simpkins, D.G., Hubert, W.A. (2003). Physiological responses of juvenile rainbow trout to fasting and swimming activity: effects on body composition and condition indices. *Transaction of the American Fisheries Society*. 132: 576-689.
- Wang, Y., Cui, Y., Yang, Y. and Cai, F. (2000). Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, reared in seawater. *Aquaculture*. 189: 101-108.
- Wang, T., Hung, C.C.Y., Randall, D.J. (2006). The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine. *Annual Review Physiology*. 68: 223-251.
- Winberg, S., Nilsson, G. E. and Olsen, K. H. (1992). The effect of stress and starvation on brain serotonin utilization in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *The Journal of experimental biology*. 165: 229-239.
- Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H. and Suzuki, N. (2003). Effect of water temperature and short-term fasting on macronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. 220: 655-666.

Yengkokpam, S., Pal, A. K., Sahu, N. P., Jain, K. K., Dalvi, R., Misra, S. and Debnath, D. (2008).
Metabolic modulation in *Labeo rohita* fingerlings during starvation: Hsp70 expression and
oxygen consumption. *Aquaculture*. 285: 234-237.



ภาคผนวก ก

ลำดับเบสของไพรเมอร์

Oligo (dT) linker-primer

Xho I

5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAACTAGTCTCGAGTTTTTTTTTTTTTTTTT-3'

Adapter

5'-OH-AATTCGGCACGAGG-3'

3'-GCCGTGCTCCp-5'



ภาคผนวก ข

Fattyacidbindingprotein

GGCACGAGGCCTCGTGCCGAATTCGGCACGAGGTAAAGATAGCAAAGGACATCAAGCCT
 ATTACTGAAATCAAGCAGAGTGGTAATGACTTTGTTATCACCTCCAAAACCCCTGGGAAG
 ACCGTCACCAACTGCTTTACCATCGGCAAGGAGGCTGACATCACCACCATGGATGGCAAG
 AAGCTCAAGTCACTGTCAACCTGGAGGGTGGCAAACCTGGTGTGCAACACTGGAAAATTC
 TGTCACGTCCAGGAGCTCAAAGGAGGAGAGATGGTTGAGACTTTGACCATGGGCTCAACA
 ACGCTCATCAGAAAGAGCAAAAAGATGTAATTTGTA AAAAGGTTATTTAAATAAAAAGAAAG
 TAAGAGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Antifreeze protein precursor

GGCACGAGGCCAGATGCAGCCCCTCCTGGAGAACTTCCAGAAGGAAATGGAGACGTTCT
 TACAGAAGCTGACGGAGCAGGCCAAGGCTATCGCTAACTAAGAGTTTGTATGTGCTAGTA
 TGTGAATGTACCACCAGCAGCCACTGTGATGTGATTCTTCATGGTCTGAAGAGCAGGCTCA
 AGTGTTCAGTGCTATTTAACATTGGTATCAATTATCTCTGTCACAAAGCACAATAAAACC
 TGAAGCACATTGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Gillichthys mirabilis cystathionine-beta-Synthase mRNA

CGGCACGAGGTGTAAGTAGTAGAAGATTTATAAAAGGCAATCAAAATTTAAGTTTCATTT
 TTTGGAGCATAGCTGAATTCTGATTGCTTTTACTGTTGAGTATGTACATTATAAACTTGCAA
 GGCTTAAAGTATAGTAAGAGTGAATTTTTTTTTATGCCACTCAGACATCCTGTGGAAAAGTA
 GGGCATTGTTTAAAGATTGCTTGTACTCATTTTATTGCTTCAGGTATCCAGAAAATCAA
 GTTGTGTTGGAAAGTACATGATTGTTCACTGGGGCCTTGGGTATCCATAAAAACATTACAGAA
 TATGTTTTATTTTGTACATTAGATATGTGGACCTTTGCTGTATATAAGCATATTATTTTCCT
 GGATTATTATTTTTGCATTTCTGTTTCTATTTACGTGAGATAATCAATATTGGGGGGCATG
 AACTACTGTTTTTCATAAAAGTGCAAGGGAAGTGATTAAGTTTTTTTTTTACTATTTAATTTT
 TGATGTGTATTTTTTAATGCATTGTTTTTGCTTTAATTAATGTATTGAATAAAATTAACA
 TAAGTCATAA

Liver-basic fatty acid binding protein

GGCACGAGGTAAAGATAGCAAAGGACATCAAGCCTATTACTGAAATCAAGCAGAGTGGT
 AATGACTTTGTTATCACCTCCAAAACCCCTGGGAAGACCGTCACCAACTGCTTTACCATCG
 GCAAGGAGGCTGACATCACCACCATGGATGGCAAGAAGCTCAAGTGC ACTGTCAACCTGG
 AGGGTGGCAA ACTGGTGTGCAACACTGGAAAATTCTGTCACGTCCAGGAGCTCAAAGGAG
 GAGAGATGGTTGAGACTTTGACCATGGGCTCAACAACGCTCATCAGAAAGAGCAAAAAG
 ATGTAATTTGTAAAAGGTTATTTAAATAAAAGAAAGTAAGAGTTAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAA

Ubiquitin protein ligase

ACCGGATTTAGGTCTCCAGGTCCAAGTAAGTTCCCTTCTCCCATGAGCTTCC
 TGTACACCACCATGGGGAAGTGGACGTCCAGGATGCAGTTGTTGTAAATG
 GCCAGGCCAGGACAAGCCCAATGAGAGTGAAGTGAAGTGCAGTCCAGTTCCTCCAG

Heatshockprotein90beta(Hsp90beta)

CCCCACTTTCCAATTGTTTCATCCCTGAAACTGCAGTCTTTGAAACCCTAAGTAATTCATGTT
 TGGGGGGGACCAATGTTGCTCTCGTGTTCCGAGCGTTTCTCTGAAAATCTCCC GCAATTTG
 GTTTTGCTGTATAGTTCACATTTGTTTTATAGTTCCTGTTGCCCTGAGTTTTAAAGTCCGG
 ACCTGAGTGGAAACGGAGTGGTACATTCCAGGTGTGAGGGTCATGTTGAGGTCCCGTTGA
 GGTCTGCTCGTGTGCAACGCTGCACGCTGCATGAAAGGACTACAATTCATTTGCCTGAATC
 CAGGCTCTGTCTGTATTCAATCTTTGTTTTGCAGAAAAATTAAGATGTAATACCCTTAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Testisenhancedgenetranscript(BAXinhibitor1)

GGCACGAGGGTCATCTTTATTTGCTTCACACTCAGTGCCCTCTATGCCAGACGCCGAGCT
 ATCTGTTCCCTCGGGGGCACACTGATGTCCGGCCTTCCCTCCTGTTTCTGATGTCTCTGATG
 AACCTGTTCTTTGGCTCGGTCTTGCTCTTTAAGGTGCACATGTACCTAGGACTGCTTATTAT
 GTGCGGTTTTGTCCTGTTGACACTCAGCTCATCATCGAGAAAGCCGAGAATGGAGACAA
 GGACTATGTTTGGCACTGTGTGGACCTGTTCCCTGGATTTTCATTACCATCTTCAGGAAACTG
 ATGGTCATTCTTGCCATGAACGATAAGGACAAGAGAAAGGAGAAGAAGTAGACATCATT
 TGAAAAGCTTAACATTGAAAATCTCATAAGGCACAATTTGCAACTTCACTTTTTGTCTTCA
 TTTTCTTGGATTAACTCAATGCGGTCTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Skinmucuslectin

GGCACGAGGCTCTGGGTATTCTCTCAAACCCTGCCCTGAAAACCTCAGCATCCTGTGTTTCA
 CTGAGACCTACCCTAACCTTGACTTCCCTGGAGCCGACTATCGTTCTTTGTTACGTCTGAC
 TATGAGGAGTGTGAAAGAGCCTGCACACTTGACCCTGGCTGACAGTTCTTCACTTGGGTAA
 ATGGCCTATTTTCCACTGACACGATCACATACAAATGCCCCCTAATTTTCATTGGACTGTC
 CCAAGGACGCCTGTTATACATAAAAAAGGGGGATTCTATCTGGCTTTTCTCCCCACGCGCT
 GATTACCAGGCAGAGCTTCCCTTTACAATGTCTCAAATAATATTTTCCAAGTTCTGGCATC
 CCTGGCAAGAACCGCTCAATGATGCCTGTTGGCTCCCCTGAACACCGCCAAACACTGTGG
 GCTGCTCACCCGTCCTGTTCTTCTTCCCTTTTGAAAGAACCACTTGTTTTCTTCCCAAAA
 TTCCCCTGAAATGTGGTGGTATCTATGGGAGGAACTACATTTTGGATTTACTTCTTACCCTC
 TGGCGAAAGGACAACCACTGGTATTACGGTGGCCCATGACTCGATAAATTTCTGGGGGTC
 TGACTTGCATTTTGTGCGAGCGGCTAACGGTAAAGAGCTTCCCCTGAAACTGTCCCCGTG
 GATTCTTACCGCCAGTTTTTTGGATGATTGAATGAAAG

CytochromeCoxidasesubunit3(COX3)

AACCTAACCAACCTATCATAACATACAGATAAAGACAAGACAGCCCTCAACATCACCTG

Fructose-1,6-biphosphatase1

TTTGTATCCTGCCAACCTTAAGAGTCCTAAAGGAAAGCTGAGGCTGCTGTATGAATGCAAC
 CCTATGGCCTTCATTATGGAGCAGGCAGGAGGTATGGCAACTACAGGCTCTATGAATGTTT
 TCGATATCCAGCCCACCTCCATCCACCAAAGGGACCCTGAAGTCCTGGGCTCTCCGGAAG
 ATGTTAAAAAGAATATTGCCTTCTACCAGAAACATGTTAAATGA

Sodium/Calcium exchanger

GAATCCCGCCGCGGACACGAGGCAGGTCTACCGTTGAACAAAATGTTTCAGTTCACACGA
 TTACCTACCTGTTCTATGGGCTGTCGTCGTGTTAAGGGGTGTGGCTCTTTATACTCCCAGT
 ATGGACCTTAGTGAGAGCAGAGACCCCAACCGGAGAGGAGATTATCATCACCAACACCAT
 CACTAGCATCACCATCAGCATCAAGATCTTGAAAACGGTGAGTGTACCGCCTCATGATACT
 GTAAGAAGGGGGTGACTTCACCCATTTGGGAGCCCCGAGACGCTTCCCTTGGAGACAGAA
 TTGGCACATCTACGTGTCTATTTTGGGCGCCCTGGTCTACTTGTTTCTCGGAGTCTCTATCA
 TTGTTGACCGGTTTCTGTTCTCTATATAAGTCGTACATCGCAAGAAAAATAAGTAACCGC
 AAAGAAACCCCATGGAGAGACCACCCATGACCACTGGGAGGATCCGGAATGAGACTGTTT
 CCAAATAACCTTTATGGCCCTGGGATGTTCTGCTCCATATAATTCTCCTTCCGCAATTGAT
 TCTGGTGGCCAAACTACACTGCAGGAGACCTATGTCCCAGCACCATTGCGGGAAGTGCT
 GCATTCAATATGTTCTTCATCTTGCGCCCTTTGCGTCTAAGTATGACCCGGATGGAGAGAC
 AATGAAAGATTAATCATTAGCGTGTGATCTTCATGACAACACTGACTGGTATCTTCCTCTGCC
 TATTAAGTGGCCTATACTTAATATTGGTCTGTTAATCTCTCCTGGGCGTCGTAGGAAAGTCT
 GGGGAAAGGCTTGG

Transferrin

CGGCACGAGGCGGCACGAGGGTCAGAAGGAGGAAAGAACCTTCTCTTTAAAGACTCCACT
 AAGTGTCTACAGGAGGTACAGGCAGATACATATGACAAATTTTTGGGAGCAAACACTACATT
 ACCTCCATGGAATCACTCAGGCAATGCAGTGCTACTGCCCCAGATCTGGAGAAATCTTGC
 ACTTTCCAAACCTGTCAATAAAACTACTATTGAACAAGATCCAAAACATATTTTATTCTGT
 CCGCAGCCACTGATGCGCTTCTGCAATAGATCTCACACTTCATTTTTATTTGTCATCTAACA
 AAACATCTGCAGCAGATATACTGACTGTGTTGCTGTTTTTCTAGCATGCCATTTACAAAT
 TAAACATTGTGTTTAAATCCTAAAAAAAAAAAAAAAAA

60SRibosomalproteinL24

GGCACGAGGTGACAAAGAAGCGTACCCGTCGTGCAGTTAAATTCCAGAGAGCCATCACTG
 GAGCCTCTCTGGCTGAGATTATGGCCAAGAGGAACCAGAAGCCCGAGGTCCGCAAAGCCC
 AGAGGGAGCAGGCCATCAGAGCTGCCAAGGAGGCCAAGAAGGCGAAGCAGGCAGCCAA
 GAAGCCAGCTGCTCCTAGCGCAAAGACCTCTGCAAAGGCTGCACAGAAACCCAAGATCGC
 GAAGCCCATGAAAGTCAGCGCACCCCGTGTGGTGGAAAACGCTAAACCTAATGTTTGTC
 GTTATAAATAAACTTCTGCGGTTTATCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

16SRibosomalRBAgene;mitochondria

CCTAAGTTATGGGGAGACAGAAAAGGACATTCTGGCGCTTATAGATAAAGTACCGCAAG
 GGAAAGCTGAAAGAGCAAATGAAACAACCCAGTAAAGAAAAAAAAAAGCAGAGATCAGT
 ACTCGTACCTTTTGCATCATGACTTAGCCAGTAACTTTCAAGCAAAGCGTACTTTAGTTTG
 AGCCCCGAAACTAAGCGAGCTACTCCAAGACAGCCTATTATAGGGCGAACCCATCTCTG
 TGGCAAAGAGTGGGAAGAGCTTTGAGTAGAGGTGACAGACCTACCGAGCCTAGTTATAG
 CTGGTTGCCTAAGAAATGAATAGAAGTTCAGCCTTTTAACTTTTCCCTCCAACAAGGACA
 CCCTCTCCCCGACACAGAGAAGCTAAAAGAGTTATTCAAAAGGGGTACAGCCCTTTTGAA
 AAAAGACACAACCTTTAATAAGCAGGCAAAAGATCAAAAGACTTAAAGGCACAATATTCTA
 GTGGGCCTAAAAGCAGCCATCCATGCAAAAAGCGTTAAAGCTTAAATATTAGCCACCCCC
 AATCCCGACAACAACATCTTAAGCCCCTAAAACACTAGGCCATTCCATGCAAACATGGA
 AGAGACCATGCTAACATGAGTATATAAGAGGACCCAGCCCCTCTCCCCGCACCCGTGTAA
 ATCAGAACGAACCCCCACTGAAAATTAACGTCCCCAACAGAAGAGGGCATTGAACAACAC
 CCCCCATTTAAACCAGAAAACCTCTCAACAAAATAACGTTAACCCCTACACAGGCATGCTT
 AAGGAAAGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Liver-type fatty acid-binding protein

GGCACGAGGGGACATCAAGCCTATTACTGAAATCAAGCAGAGTGGTAATGACTTTGTTAT
 CACCTCCAAAACCCCTGGGAAGACCGTCACCAACTGCTTTACCATCGGCAAGGAGGCTGA
 CATCACCACCATGGATGGCAAGAAGCTCAAGTGCACCTGTCAACCTGGAGGGTGGCAA
 AACTGGTGTGCAACACTGGAAAATTCTGTACGTCCAGGAGCTCAAAGGAGGAGAGATGGTTGA
 GACTTTGACCATGGGCTCAACAACGCTCATCAGAAAGAGCAAAAAGATGTAATTTGTAAA
 AGGTTATTTAAATAAAAGAAAGTAAGAGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Arachidonate 5-lipo-oxygenase

GGTAACATCTACATAGTGGACTACGAGGTTTTGGACGGCGTCACTGCTAACGCCACAGAC
 CCATGCACTCTGCAGTACTTAGCTGCTCCCATCTGCCTGCTCTACAAAACCTTCAGAATA
 AAATCCT

Bone morphogenetic protein receptor type-1A-like

TCCTCCAGGTTTCATCGCAGCCGACATCAAAGCTCGGGAGCCTACATGCAGCTCTTCCTC
 ATCACGGACTTCCACGAGAACGGCTCCCTGTACGACTACCTGAAGCAGACCACGCTGGAC
 ACGCAGGCTCTGCTCCGGCTGGCCTACTCCGCCGCTGCGGCCTCTGCCACCTCCACACCG
 AGATCTACGGCACGCAGGGCAAGCCGGCCATCGCTCACCGGGACCTGAAGAGCAAAAAC
 ATCCTGGTGAAGAAGAACGGCACCTGCTGCATCGCCGACCTGGGCCTCGCCGTCAAGTTC
 AACAGGTGGGCTTCATGTTTCATTATTTTATCTCAAGTTTCGCTTTTATAATGGCTCAAAAC
 TCGACTGTTCTTATCGTTTTAGCGACACGAACGACGTGGACATCCCTCTGAGTAACCGCGT
 GGGCACGAGGCGGTACATGGCTCCTGAAGTCCTAGACGAGAGCCTCAACAAGAACCACTT
 CCAGGCCTACATCATGGCCGACATGTACAGCTACGGCCTGGTGATCTGGGAGATGGCCAG
 ACGCTGTGTCACCGGAGGTA

C1inhibitor(C1INH)

CAGTCGGTTGAGTTTTATGACTCAGAGCCTGTCAGACTGAAGAATAGCAGTGAGGAAAAC
 ACTCATATGATCAACAGCTGGGTGGCAAATAAGACCAAAAATAAAAATCACACAACCTGGTG
 AAGTCTGTCTCAGACTTTACTCAGTTGATGCTGCTCAATGCTGTCTCCTTTAGCGGCATGTG
 GACTGTAAAGTTTGATGAAAAGCCCAAGAAAGCACACTTTACCAAACCTGAATGGTGATAT
 GATCAGAGTGCCTGTTCTTCACAATGAAAAGTTTCAAGGATCTATGATTTACTTTAGTGAG
 CTGAAAGCACAGGTGATGAAGTTTGGTCTGACAGGGAACAGCAGCCTCTACATCCTGCTG
 CCTCAGTCTACCAACCCAGTGACCTGCTACAGGTTGAGTTAAGGCTGACAGATGCAGCT
 GTGCATCAGATGATAGACGAAGTGAACAAAGCAGTAGTGCAGCGGATCGAGGTCACTCTG
 CCCCAAATCAAGCTGAATGTCGAGCCAGACATGAACGTCTTGATGAAGAAATTAGGACTG
 TCCACACTCTATGAAGATGCCAACCTTTGTGGCATGTATGCTGATGACCCACTGCTTTTGG
 ATGAGGCCAAACACAAAGCCTATCTAGAACTTACAGAAAAGGGAGTGGAGGCTGGAGCT
 GTCACTGCTCTGGGCTATTCCGCTCCCTTCTGTCTTTCTCTGCTCTGCGCCCATTCATCTTGT
 TACTGTGGAGTGACCA

Catenin(cadherin-associatedprotein,delta2

ACCTGTGACCAGCTCCCTGATTTCACATCTCCTGTCTTCCTTAGGAGGCGAACCAAAGCC
 GGGATCCCTCCACAGTTCTTCAGCGCCACCTTGTTTTTCGTCGTTGCGCTTGCCGTAAACCAG
 ATTTCTCAATGCTCCACAAGCGCTGCGGTGGACTTCAGTCATCCTGTGGTCTAGCAGGTCC
 ACGAGAAGCTGGATTCCACCTTGTCGGCGAATCTAGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

C-typelectin1

TTGGATCGGAGGCCACGATGGTGTACAGGAGGGCTCGTGGATGTGGAGTGATGGCTCAA
 GTTTGA CTACACACTGGCGTGTGGGGAGCCTAATAATTCGGGTTTCAGTTGAGAACTGC
 CTAGTGGTGA ACTACGAAGGAGACCTCTGGAACGATGCTCCATGCAGAAGGTTTTATGAA
 TATGTGTGTTCCAGAGACCCGTCACAGACTACCTAACGGTGTGATCCCTGCCTCTTCATA
 CTGTACTTTTACCATGCTATAAACTTTCTAATCATTACTTACCAAACAAAAAGACTTCACA
 ATGGTGTGGTTTTATTCTTATGGGTTATTATATACATGTATAAACCAAATAAAACTAAAGC
 ATAAACTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

EnoylCoenzymeAhydratasedomaincontaining3(ECHDC3)

GCTATTGGAAGAGCTGTTCCAAGGAAGGTTGCAATGGAGATGTTGTTACAGGAACTCCC
 ATCTCTGCCATGATGCTTTGCTGCATGGTCTGGTGAGTAAAGTGGTGCCAGAAAAGCAAC
 TGGAGGAGGAGACTGGCCATTGCCAGCGCATATGTCAGGCTAGTCAACCTGTTGTTG
 CTCTCGGCAAAGCCACCTTCTACAGACAAATGGCTCAAGGTCGAGATGCAGCATATGCCA
 CTGCCTCCAAGGTGATGGTTGATAACCTGGCATTAAAGAGATGGCCAAGAAGGAATCAGGG
 CATTATAGAAAAACGCAAACCAGTGTGGAGTCATAACGAAGAAAAGTCTCATGACTGAC
 TACAACCATATGCAACATTTCATTTTTCATGTTTAGTCAGTTTGTATGGCTGAAACATAAA
 AAAGGAGTAATCATTGTGTGCCGTAATGCCACAAGGTATATGTTTATAGATTTATCCAAT
 GAGAGATACTAATGATACTGTAATTA ACTGTGTGTGGTGTGGAAAGTGATTCACAGCGGT
 CCACAGTAGGATGATTTCTTAAGTTATACTGTATAATACAAATGTATATTTTTTTAACATGC
 AGATTATTATTTTATACATGAGCTTTGTCTATTGGACAAATATTGTGTTAAAATAAAAATA
 TAATTTGATAGCTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Fattyacidbindingprotein

GGACATCAAGCCTATTACTGAAATCAAGCAGAGTGGTAATGACTTTGTTATCACCTCCAAA
 ACCCCTGGGAAGACCGTCACCAACTGCTTTACCATCGGCAAGGAGGCTGACATCACCACC
 ATGGATGGCAAGAAGCTCAAGTGCCTGTCAACCTGGAGGGTGGCAAACCTGGTGTGCAAC
 ACTGGAAAATTCTGTACGTCCAGGAGCTCAAAGGAGGAGAGATGGTTGAGACTTTGACC
 ATGGGCTCAACAACGCTCATCAGAAAGAGCAAAAAGATGTAATTTGTAAAAGGTTATTTA
 AATAAAAGAAAGTAAGAGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Ferritin(heavysubunit)

GAGCAGGTGAAGTCCATCAAGGAGTTGGCAGACTGGGTGACCAACCTGCGTCCGATGGGC
 GCACCTCAGAATGGAATGGCAGAGTACTTGTTGACAAACATACTCTGGGCAAAGAAAGC
 AGCTAAATCATATCAGATATGAGTTATATGTATATCTGTATTAGCTTCTAAAAGTTTTAAG
 CCATCTGCATGATACTGGCTAGTCAATCACAAGCCATATGACTCATATTCCTGCTCTGCTC
 ATAAAAACACAAAAAAAAAAAAATACATAAAATAAGCATGACATTTAGCATTGTAATCTGCT
 CTACGTGTTAGCATCTGATATTTTTTCGGCTGTCATTTTTTCTGTTTGCTGTGTTTCAAGCC
 TCGAGAAGTAACCAAATAAACTCCACTCTCTGGATTCCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AA

GTPase

GCTGTGGTTGACACACCAGGGATTTACGACACCAAGTACAAGGAGGAAGATGTGGTTACT
 AAGATCAAACTTGCATCTCATTGGCTGCCCCGGACCCACGCCTTCTTGATTGTGATAA
 AGTTGGACCGATTCACAGACGAGGAACAAAAACCGTGGAGCTACTACAGCAGGTGTTTCG
 GCGAGAAAGTTTCCGATTACGCCTTGGTTCTTTTCACTTATGGTGACCACCTTGAGTGCCT
 ACAGTTGAAGATTTCAATTTCTCAGTGTCCAAAATAACCAGTTTGGTTCAAAGTTGCAATG
 GCCGCACGCACGTCTTCAACAACAAAAAGCGCAATAATACCCAGGTGCCTCGGCTTCTGG
 AAAAGATAGAAGGGATGGTTGTAAACAATGGCGGAAGCTATTACACCAATGAAATGTTTG
 AGGAGGCTGAGA

Fructose-1,6-biphosphatase1

TTTGTATCCTGCCAACGTTAAGAGTCCTAAAGGAAAGCTGAGGCTGCTGTATGAATGCAA
 CCCTATGGCCTTCATTATGGAGCAGGCAGGAGGTATGGCAACTACAGGCTCTATGAATGTT
 CTCGATATCCAGCCCACCTCCATCCACCAAAGGGTCCCTGTCGTCCTGGGCTCTCCGGACG
 ATGTCAAAGAGTATATTGCCATCTACCAAAAACATGCTAAATGAGGTCAAGTCTGATGAA
 GGGTGACAAAACCCGTCCCGCAATGACCAGGCCACATTGACAGTATTCCAGCTGTTTTT
 TGTTTTTTTTTTCATCTGAAGCGATGGGAAATCTTCCAAATCTGGCCCACACCATGTGAACT
 CAGCTATCATGTGGTGTGGTGCGTGTTTTTTTTTTTTTTTGAAGAATCCCCCTGTACCGTAAA
 AAAAAAAAAACTTTTTTTGGGATTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Guaninenucleotideexchange factor(GEF)3

TG TTCAGTCAGGGAGACAAGGGCACCTCATGGTACATCATCTGGAAAGGCTCTGTCAACG
 TCATCACACACGGAAAGGGTGTGGTCACTACGTTGCATGAAGGAGAAGATTTTGGGCAGT
 TAGCTTTGCTGAATGATGCTCCTCGCGCTGCTACCATCATCCTGAGAGAAGACAACCTGTCA
 TTTCTACGAGTGGACAAACACGACTTCA

Hyaluronan-binding protein2

TGCTGATCAACCACGAAAAGTGCTCCACTCCTGAGGTCTACGGGACTGTCCTGGACAACG
 GCATGCTGTGTGCTGGGTACCTGCAGGGAGGAGTGGACTCGTGCCAGGGTACTCTGGAG
 GCCCTCTGACCTGTCAACAGAACAACGCTCATGTGGTCTACGGTGTGGTGAGCTGGGGGG
 ACCAGTGTGGGAAGAAGAACAAGCCGGGGTCTACACAAGTATCAATAACTACCTGGACT
 GGATCAGGTCAAAGATCTCAGCAGCACCTGCATAAGCTTCATAAGTCACTATGGGCTCAG
 CCATAAAATAAACATCTATGACATATTGAAATGTGGACGATTTGAGCTGTACCACACTGG
 ACCTGCCGTTTGTTCAGCTGATCTTTTAAATAAATTAATAAAAAACACAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Lipoproteinlipase

AGAGCAACCTCTGAAGATTTCCCTGTATGGTACCCATGGAGAGAAGGAGGACATCCCCTT
 TGCCTGCCTATCCTAAATTCAAATGCCACCCAGTCATTCTCATCACCCTGACGCAGAC
 ATTGGTGACCTGATGATTGTCAAGTTGCGCTGGGAGAAGGACTCCATCATCAGCTGGTCA
 AACTGGTGGGGCAGCAGCCAGTTTCACATCCGCAAACCTGCGCATCAAGTCTGGGGAACT
 CAGTCAAAAGTGATCTTTAGTGCAAAAGATGGAGAGTTTGCATATCTGGTCAGGGGAGGA
 CAAGATGCAGAGTTTGTTAAGTCAAAAGAAGATAACATGAGCCGTAAAGAGAACTGAT
 GCACAACTGAAAATGGAGGGCAGTCTTTTTGGGAAAGACGCTGCGTAAAGTTGCACTTG
 AATAAACGCTGATGCACATCATCCACCTCTTTTCACATGACCAAAGATGGGCCAAAAATC
 ACTGTTTGTGGGAATCTGGACACAAACGTACTGTTTAGAGACTCTCATGCATTGCTGCCTA
 ACAATGAAACCAGCTCAACCTCGCCACTACCAATCACCATCAAAAACCTGTCAAAACCTC
 TGCTGCTGGAAATAGATAATGGTTATCTTTAGTGAGGATGTGCTTCTGTCAAATTGTATAC
 TTTTATAGCTTTTGCTGCATATATTTGTAATTTCTTTATGCTTTTATAGTCTTATATCTACTG
 TTA

Sodium-calciumexchangergene

GGGGAGGACTTTGAGGACACTTGTGGAGAGCTCGAATTTTCAGATCGATGAAATTGTCAA
 ACAATATCAGTCAAGGTAATTGATGATGAGGAGTATGAGAAAAACAAGACCTTCTTCCTT
 GAGAATGGAGAGCCCCGCCTGGTGGAGATGAGTGAGAAGAAAGCCCTGTTATTGAATGA
 GCTTGGTGGCTTCACAATAACAGGAAAATACCTGTATGGCCAACCTGTCTTCCGAAAGTT
 CATGCTAGAGAACATCCGATTCCCTCTACTGTAATCACCATTGCAGAGGAATATGATGACA
 ATCATCCGCTGACCAGCAAAGAGGAGGAGGAGGCGCATTGCAGAAATGGGGCGGCC
 ATTCTGGGAGAACACACCAAGCTGGAAGTGATCATTGAAGACTCCTATGAATTCAAGAGC
 ACCGTGGACAACTTCTTAAGAAGGTCCCCAGTGCTGTGGGCCAACTTATTAAGAAGACA
 AACCTAGCCCTAGTGGTTGGGACAAACAGAAAGAGCGATCAGTTTATCGAAGCCATCACA
 GTCACTGGTGGGGACAGATGACGATGAAGAAGAATGTGGAGAGGAGAAGCTGCCCTCTG
 TCTTCGACTATGTGCTGCATTTTGCCTTTGTGATCTGGAAAGTCATCTACGCCTTCGTCCCC
 CAAACAGTACACTGAAATGGCAGGGC

Sodium-calcium exchanger gene

AGGTCTACCGTTGAACAAAATGTTTCAGTTCACACGATTACCTACCTGTTCTATGGGCTGT
 CGTCGTGTTAAGGGGTGTGGCTCTCTTATACTCCCAGTATGGACCTTAGTGAGAGCAGAGA
 CCCCAACCGGAGAGGAGATTATCATCACCAACACCATCACTAGCATCACCATCAGCATCA
 AGATCTTGAAAACGGTGAGTGTACCGCCTCATGATACTGTAAGAAGGGGGTGACTTCACC
 CATTGTTGGGAGCCCCGAGACGCTTCCCTTGGAGACAGAATTGGCACATCTACGTGTCTATTT
 TGGGCGCCCTGGTCTACTTGTTCCTCGGAGTCTCTATCATTGTTGACCGGTTCTGTCTCT
 ATATAAGTCGTACATCGCAAGAAAATAAGTAACCGCAAAGAAACCCCATGGAGAGAC
 CACCCATGACCACTGGGAGGATCCGGAATGAGACTGTTTCCAAACTAACCTTTATGGCCCT
 GGGATGTTCTGCTCCATATATTCTCCTTTCCGCAATTGATTCTGGTGGCCAAAACACTG
 CAGGAGACCTATGTCCCAGCACCATTGCGGGAAGTGCTGCATTCAATATGTTCTTCATCTT
 GCGCCCTTTGCGTCTAAGTATGACCCGGATGGAGAGACAATGAAAGATTAATCATTAGCG
 TGTGATCTTCATGACAACTGACTGGTATCTTCTCTGCCTATTAACCTGGCCTATACTTAATA
 TTGGTCTGTTAATCTCTCCTGGGCGTCGTAGGAAAGTCTGGGGAAAGGCTTG

IQ motif and SEC7 domain-containing protein 1

GGGCCGCAGAGACCCCGCCGGCAAAGCTCCAGCACTCGCAATCCATCCTCCGAAAACAGG
 CCGAGGAGGAGGCCATCAAGCGCTCACGATCACTGTCCGAGAGCTATGAGCTGTCCTCAG
 ACCTCCAGGACAAACAGGT

Nattectin

GCATGGATTGGCCTCTCAGATGCACAGACAGAAGGGTACTGGTTCTGGATAAACAGTAAA
 CCTCTGGCGTACACAACTGGTGTCTGGAGAACCTAACAAATGGTGCTGGTGGACAGCAA
 CACTGTGGCCGCATCAATTATTCAGATAACAAGTGCTGGGATGAT

NADHdehydrogenase(ubiquinone)1alpha

CCATTTCCCCGTCCGCTTTATCATCTTGCAGCTAAGATGTTCTCCTTGAACCCATTCGAGCC
 CTGGACAACCCCAGACAAAGTTGACAGATTTACATAACAGACATGAAGTACCCAGGCCT
 TCCAGGTCTAGAGGACCTTGGCATTACTCCCACCACAGTAGAACAAAAGGCAATTGAGAT
 TCTGCGCCGCCATCGCCGCTTCCGTTATCTTGAAGCCGAATTGGATGAGACAAAGCCAGCC
 AAGACAGTCAGCTATTAAGTGACTGATAAAAAATTTCCAACATTAAGTGTGCTGCAGG
 AAGACGGCAGCCCTCGTCAATGCTTTGTCTTTAACTGTATTGTGTAAATAAAATAAAAAGAT
 TTATTGCCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Alpha-1-microglobulin/bikuninprecursor

CGGCACGAGGCAGACCTCAAGTACGGAGGCTGTATGGGCAACCAAACAACCTTGAGAA
 CGAGAGAGATTGTCTGCAGAGGTGTCGCACTGAGGCTGTGTGCCGTCTCCCCATGGTGGC
 CGTGCCCTGCACAGGACACCCATCCACCTGGGCCTTCGACTCCACCATCGGTTCGGTGTGTG
 CCCTACAAGCAGGACTTCTGTGACACCAATGGCAACAGGTTCTACACCAAGGCCGAGTGC
 GAGGAGTACTGCGGGTGTCAAAGACGATGAGGACTTTCTGAAGGCAAATAAATAAAC
 CTATAAGCTTGTTGCACAGAAGACGCCAAGTACTACAATACAAGAAATATACGCCATGA
 CAAGCAAATAAGTAACACAATAAAAGTCTACATTTTTGTGGTGACACTTCATCATTAGTAT
 CAGAAGTGGTTCTGTATTCTTTGGTCAATAAACCACAATTAATCAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAA

Antifreeze proteintype2

TGGTCTGGATAAACAGTAAACCTCTGGCGTACACAACTGGTGTCTGGAGAACCTAAC
 AATGGTGCTGGTGGACAGCAACACTGTGGCCGCATCAATTATTCAGATAACAAGTGCTGG
 GATGATTACCAATGCTATGAAGGTCACCCTTTCGTCTGTGAGAGAACTAGCATCAGACTC
 CTGAGC

40Sribosomalprotein

GGCACGAGGCGTACACGACGACCCCCTGTACAACTACAGACATGCAGAACGACGCTGGT
 GAATTCGTGGACCTTTACGTCCCACGTAAATGCTCTGCAAGCAACAGAATTATTGGAGCTA
 AGGACCATGCCTCCATCCAGATCAACATCGCTGAGGTGGACAAGGTGACTGGTCGTTTCA
 ATGGTCAATTCAAGATCTACGCCATCTGTGGATCCATCCGCAGAATGGGAGAGTCCGATG
 ACTCCATCCTGAGGCTGTCCAAGACTGACGGCGTCATTCCCAAGAATTTCTGAAGATCTCC
 ATGGAGCTGTGGAAATTTGTAAAATAAAAAAACTAAAAAATTCTAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAA

Obscurin,cytoskeletalcalmodulinandtitin-interactingRhoGEF(OBSCN)

GCTACAAAGAGAAATCGGCGGTTCTCGGTGGGACAGCCCGTGCTTCTGAACGTGGGCCG
 TCCCGTCGTTTCCCAAAGACAGCGCAGTGGCATCTTCAGTCGATTCAGAGAGCATTGCGC
 GGCACCTTCTTCTCCTCCTCCGCTAACCCACAAGCTAGCACTTCCCGGGCCAGGACGGTGA
 GGCACATCCCGATCCAAGTGACCCAGACCAAGCTGGAGGTGAAGCCGTCGTAAGTCTCCG
 AGGTGCAGAGAGTGGAGGGAGGGCAGCAGAGTTTTAAACTAAAGTCTCAACTCAGACCT
 ATGGATACACTTCAGTGGGGAAGCCGGTTACTCTTCAAATAAGCGA

RibosomalproteinS12

TCTGTGTGTCCTTGCCGCCAACTGCGATGAGCCCATGTATGTGAAGCTGGTGGAGGCCCTC
 TGCCTGAGCATCAAATCAACCTGATCAAGGTTGACGACAACAAGAAGCTCGGTGAGTGG
 GTTGGTCTTTGCAAGATCGACCGTGAGGGCAAACCCCGCAAGGTGGTGGGTTGCAGCTGT
 GTCGTTGTCAAGGACTATGGCAAAGAGTCTCAAGCCAAGGATGTCATCGAGGAATACTTC
 AAATCCAAGAAATGAAGCACCAATAAAATCCAGAAATCCGAAAAAAAAAAGAAAAATAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCGAAAAA

Alpha-2-macroglobulin

CAGACCCAAGATGATTTTGAAGATCAGGTCATTATCCAGTGGAGAGCAGGCTGTCACCAA
 CATGGCCTTCATGGCCATTAAAGTGCTGTTTGGATTCTTGGTAGACCCTGAGTTTTTGAGG
 GCGTTCAGAGGTCCATTGTTGGTGCAGGGTGTGAGGAAACAAAAAATCCCATCTGGGTT
 TTTTGGAGGGAGTTTTCAAAGGGCATACCCATCAATCACGAATTACAGTTGATCCAGGAGC
 TCCCAGTGGGTAACCTGAAGCCCGCTGTGGTCAAGCTTTATGATTATTATGACCCAAGTGA
 CAAAGATGGGACTGAATCCACTTTTCCCTGTCCCAGAGGTTGAAGAATGAAGTTTAACCCT
 CACCCCTTTAGAGTTTAAATTTTAAATAAAAAGTGTTATTTGGGATACTTTTTTCATGGGCT
 GGGGGTTATTCTGTGGAAACAATGTTACACAAAATCCAGTTTTTTTTGTAATTTGGGGAAAG
 AAGTGTTTTTGACCAATAAACGGGTTTCATGACTCCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Rhamnose-bindinglectin

GGCAGCAGCCTGCCTGCTTCTTGATGCAGGTGCTTTTGCAGATGAAATGATCACCTGCGGG
 GCCCATGTCCACCGCCTGAGCTGTGAGAGCGGAGTGATCAGCGTTGACAAGGCTTTCTAT
 GGACGTGCAGACACCAACACCTGCGCTGGTGGAAAACTCCAGAGGAAGTCGCCAATAC
 GGCATGCTCTCTGGACGGAGCTTTAGATGTCCTCAAGAAAAGGTGCAATGGAAAGAAATG
 GTGTGAGATGAATGCCAATGTCTTTGAAAGCGACCCCTGCAGTGACACCTTTAAATACATG
 GAGACCACATACAGCTGCATCCCTGCGACTCATCGTATCATATGTGAGCACTCTTTGGCCC
 TTCTGAAGTGCGATCAAGGAAAGGTGCTCAGCATTATCGGTGCGGACTTTGGGCGCCGGG
 ACCACACCACTTGTGCCTTCAGACGAGATCCAAATCTGCTCCTAAAAATCGACTGCACAA
 ATCCAACCTGATGTCGTGGCTAACAAGTGCAACGGGCTCAATAGCTGTTTCAGTGAGGGCGG
 CAGAGCTAGTTATTGATGAATCCTGTGTAGACACCTCCCTCTATCTGGAGCTGTCCTACAC
 CTGCAACGCTGCAAAGTAAATCTGCTAAAACTCAAACATGAAATAAAATCTTTTCAACGTT
 NAAAAAAAAATAAAAATAAAATAA

12SribosomalRNA(mitochondria)

TGAAAAAGACACAACCTTTAATAAGCAGGCAAAAGATCAAAAGACTTAAAGGCACAATA
 TTCTAGTGGGCCTAAAAGCAGCCATCCATGCAAAAAGCGTTAAAGCTTAAATATTAGCCA
 CCCCCAATCCCGACAACAACATCTTAAGCCCCTAAA ACTACTAGGCCATTCCATGCAAAC
 ATGGAAGAGACCATGCTAACATGAGTATATAAGAGGACCCAGCCCCTCTCCCCGCACCCG
 TGTAATCAGAACGAACCCCCACTGAAAATTAACGTCCCCAACAGAAGAGGGCATTGAAC
 AACACCCCCCATTTAAACCAGAAA ACTCCTCAACAAAATAACGTTAACCTACACAGGCA
 TGCTTAAGGAAAGACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

12SribosomalRNA(mitochondria)

AACAACAAACACAATCAATACCCCCTCAAATACAACACAACCATATAAATAAATCATTCT
 CCCTCCTAAGTATGGGAGACAGAAAAGGACATTCCTGGCGCTATAGATAAAGTACCGCAA
 GGGAAAGCTGAAAGAGCAAATGAAACAACCCAGTAAAGAAAAAAAAAAGCAGAGATCAG
 TACTCGTACCTTTTGCATCATGACTTAGCCAGTAACTTTCAAGCAAAGCGTACTTTAGTTG
 AGCCCCGAAACTAAGCGAGCTACTCCAAGACAGCCTATTATAGGGCGAACCCATCTCTG
 TGGCAAAGAGTGGGAAGAGCTTTGAGTAGAGGTGACAGACCTACCGAGCCTAGTTATAG
 CTGGTTGCCTAAGAAATGAATAGAAGTTCAGCCTTTTAACTTTTTCCCTCCAACAAGGACA
 CCCTCTCCCCGACACAGAGAAGCTAAAAGAGTTATTCAAAGGGGTACAGCCCTTTTGAA
 AAAAGACACAACCTTTAATAAGCAGGCAAAAGATCAAAAGACTTAAAGGCACAATATTCTA
 GTGGGCCTAAAAGCAGCCATCCATGCAAAAAGCGTTAAAGCTTAAATATTAGCCACCCCC
 AATCCCGACAACAACATCTTAAGCCCCTAAA ACTACTAGGCCATTCCATGCAAACATGGA
 AGAGACCATGCTAACATGAGTATATAAGAGGACCCAGCCCCTCTCCCCGCACCCGTGTAA
 ATCAGAACGAACCCCCACTTGAAAATAACGTCC

60Sribosomalprotein

ATCGGGTCGCAACCATGGTGAACGTCCCGAAGACCCGCAGGACCTACTGCAAAAAGTGCA
 AGAAGCACCAACCTCACAAAGTCACCCAGTACAAGAAGGGAAAGGATTCCCTCTATGCAC
 AGGGTAAAAGGAGATACGACAGAAAGCAGAGCGGGTATGGTGGTCAAACGAAGCCTATT
 TTCAGGAAAAAGGCTAAGACAACGAAGAAGATTGTGTTGAGGCTCGAATGTGTGGAGCCC
 AACTGCAGATCAAAGAGAATGCTGGCCATCAAGAGATGCAAGCACTTCGAGTTGGGAGGT
 GACAAGAAGAGAAAGGGCCAGGTCATCCAGTTCTAAACTGTGGGCCAGTCTTCTGGAGTC
 AGCTGTCACAATTTTCAATAAACATATAAAAAAAAAACTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Serpina3-5-like

ACCAGAGAAGACCATGTTTAATGTCAATGAGAACACCCAGGGTCCCGCTTCAGATGATG
 AATAATGAGGCCGACTATGACATTTATCGAGACGAAGGTCTTAAACATCAGTCCTGCAC
 CTTCCCTTCAACAGCTCCTACTCCATGCTCCTGTTGCTTCCTGATGACATGGCTACACTGGA
 GAAAGGGATTTGCGCCAATCATGTCAGCATATGGCTCAAGAGTGTACATTCTAGTACATA
 CAGGATATATGTTCCAAAGTTTTCAATCAAGACGTCTAACTCCTTGAATGACATTTTGCGC
 GAAATGGGAATGTCTGACATGTTTGGTGACCATGCAGACTTGAGTGGAATTGGGGATGGG
 AAGTTGGCTGTATCAAAGGTTGTGCACAAAGCTGCTCTAGATGTTGATGAGGAAGGAGCC
 ACTGCTGCAGCTGCGACAGGCATTGAAATAGTTCTTACCTCCTTCATGGAAGTCCCCGTCC
 TAAAGTACAAACCGTCCATTTATGGTCCTTATCACTGAACGCAACATGCACGACATCCTGT
 TTACGGGCAAGATCAATCAACCCCAACATCTGATGGAGAAAAGACAATATCATAAGACAC
 TAAATAAAAGTTAATACTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Mucuslectin

CTCTGGGTATTCTCTCAAACCCTGCCCTGAAACTCAGCTCCTTGTTTCACTGAGACCTACC
 CTAACCTTGACTTCCCTGGAGCCGACTATCGTTCTTGTTCACGTCTGACTATGAGGAGTGT
 CAAAGAGTCTGCACACGTGACCCTGGCTGCCAGTTCTTCACTTGGGTAAATGGTCTATTTT
 CAACTGAAAAGATTAGATACAAATGCCACCTAAAATTCAGCTGGACTGTCCCAGTGACAC
 CTGTTATACAGAAAACAAGTGGCATAATATCTGGCTTTTCTCACAAAGCACTGATAAGCA
 GGCAGAGCTTCTTCAAAGAATGTCAGAACAAATATTTTCCAAGTACTGACATCCCTGGGA
 ATAACCTTTTGTAGTATGCCTGCTGGCTCCCCTGAACACTGCCAGACACTGTGCACTGCTCA
 CCCGTCCTGTACGTACTTCACTTATGAAAGCACCACATGTCACCTTAAGAATAATCCAAAT
 GAAATGGTGACCGTAACTAAGGGAGGAGCGACATCTGGATTACCTTACGCCTCTGTCAG
 CAGGACAACAACCTGGCTTACTGTGGCTCATGATGGGACAGATTTCTGGGGCTCTGACTTGC
 GTTTTGTGCTGCTGGACAACGTAGAGAGCTGCCAACGAACCTGCACCGAGGACCCTTACT
 GCCAGTTTTATGCATATTTAACTGAGGCCTTCTCCACAAGGATTACTGGCGGCGTTGTTAT
 CTGAAGCGCGTCATCTCCATTCCTGCTC

serotransferrin

GTGGCTTTCATCAAACACACAATTGTTGGGGAAAACACCAATGGAAATGGTCCAGACTGG
 GCAAAGAGTTTGTAGGAGTGAAGACTTTATGCTGATCTGCCCTGGGAAGCCTCCAATGCCA
 ATTAGTGAGTATGAATCATGCCACTTGGCTCTAGTGCCTGCACATGCTGTGATGACACGGC
 CAGAAATCCGCAGTGAAGTAGTCCGCGTTCTCCAGGTTCAACAGGCCAAGTTTGGACCAA
 ATGGCAGTGATGACAAATTCAGGATGTTCCAGTCAGAAGGAGGAAAGAACCTTCTCTTTA
 AAGACTCCACTAAGTGTCTACAGGAGGTACAGGCAGATACATATGACAAATTTTTGGGAG
 CAAACTACATTACCTCCATGGAATCACTCAGGCAATGCAGTGCTACTGCCCCAGATCTGGA
 GAAATCTTGCACTTTCCAAACCTGTCAATAAACTACTATTGAACAAGATCCAAAACATAT
 TTCATTCTGTCCGCAGCCACTGATGCGCTTCTGCAATAGATCTCACACTTCATTTTTATTG
 TCATCTAACAAAACATCTGCAGCAGATATACTGACTGTGTTGCTGTTTTTCTAGCATGCCA
 TTTTCCCAATTAACATTGTGTTTAAATCCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

TroponinC

GGTTGAGCAGCTGACAGACGAACAAAAAATGAGTTCAAGGCAGCCTTTGACATCTTTGT
 ACAAGATGCAGAAGACGGCTGCATCAGCACCAAAGAACTGGGGAAGGTAATGAGGATGC
 TGGGCCAGAATCCAACACCTGAGGAGCTGCAGGAGATGATCGACGAGGTGGATGAAGAC
 GG

Zincfinger

TCTCTCGAACTCGGATCCTGGGATTCTGCCTAATCTGTGTGACCCCCCTCAGGCCGAAGTC
 TGCTATCTCCATCACCAGAACTCGCCAGTGTCCCGAAGCATGGCCATCTCGAGACTTC
 CAGGTCAGAATGTACCATCTAGCCATCTGTCGAAAG

Unknown gene

GGCACGAGGCAAATCCTATCAGCAAACCTGAAGTACAGACCTGGCCCCTGTCTCATTATG
 GTTAAAAAACAACACATACGTACTGTATATGCTCAAACATGGATTTAATTGTATATTTA
 TCACAATAGTAAAAACAGATCAGGTCTGCACAAAAAATCTTTCAAAAAAT
 CCAATCATAAATTTTTGTGTTGTTTTTTAACACAAACCTTGGTGATAACTTTGAAGATAGA
 GAATTATACTGTTATTAACGGTATTACTGTTGTTGAATGGCACTTCAGTGACTAAGAACA
 GCCTGTAGATTCAGGGACACACCCTTGATAGATTAACGCTGGTTACTGAAAATTCAGTAT
 AGAAAATGCTGTTGATATAAAATTAACCTGAACTTGTGCCTGGTCTTTCTGGTAATAATGC
 AAACAGATTTGTGTGAATTCACAGGTGCCCTATCCTGATCCCTCACTGTGAGTTTAGGGG
 AAAGGTGAAGTATCTGCATAATGTTGGTGTATTGAAAATGTGTGAAAACCTATGAGCTGG
 GGGGAAACGAACTAAATACTCATATTAACATGACATTTTCAGCAGTTTTATATTTAGCAGAC
 TCTCATGTCATGCGCCATTCCCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGGTCTTACCACTTTCCACTCGTGAAGAAGCTGTTTTTTATTAAGACCCATGA
 TTAAACACGCAATATTTGATCGCGTGACTCCCGAGCATGTTCCAAAAGCGCTCACATGC
 GCGTAATGTCTGGTTCACACGGCAAGATTTTAAAATTGTTCGGAAAATTTTCAAACCATT
 ACGATAATCGGGGCGAGAATCGGGTCAAAAATCTGCATAATTATTTGGCGTGTGAACCA
 GGCATTAGCAGGACACTCGGCTTTGCTTCAGAGAGGCCGACTCCAGAGGAAGGATCCTGG
 CAAATGAGAAACGCCCACTGCTCACACCACAAAACAGCAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGGCTTTGAGCTGATAATATCCATTTTTGTATCTTTGAAGACACACATGGTTG
 AGTATAACCTACTGGATCTTATTACTTAACCCATGTGTTACTGAAAATAACAACAAAATTG
 TGAGAGAAATGTAAAAGTGACTTTGGTAATTCCTCCTACAACCACTCTGCTGCTGACTTG
 AGCTGGGGACACACTATGCGATGTTTTGCCCGATTTTACAATGATTTACAGTTGTGCCGAG
 TCTGTCCCACTCAACACTAGTTTCAGGGAGTTGTCAGCTCAAAAATTGGTTATTGTGGGAG
 GTTAAAGACCCAAATCAGCGGCGCAGATACTCAACAAGACCTCAGTTGCAGTCAATCAA
 ACATGTTTAAATTTCAAAGCAGACTCGCCATTGATCACATGATTTTGCCGTACGTGTA
 AAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGAATTCGGCACGAGGATTTTTTTTTATTAATAAATACTGTAAAAATCAAACGTAAGC
 CCTAGCGTAACATACTGGTCAAATACACCAGCATTAAAATCTGGTCACCTTATGGTTTAG
 TTTTACAAAATAATAATGATAACTTGATGTTCTGCAGTTTGTTTTTTGGTTTTATTACTTAA
 AAAAGCTGTTTGGAACTAACTGTCTGACTCTTGGTCACAAAGTCTGAAAAAAAAATTTAAT
 GTTTGTGTAATAATGGTTCTCTGCCCTGTAACCGATCGATCTCTGTGTTTGCTCTGGAAC
 TAAACCTGGACTGGATCAATAAAGACTCACTGTTCACTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGGAGCAATTCTTAGTTGTTCTAGCTATAAATATGTGCAAATAATAACATAA
 GTAATTTTCTATTATTAAGTATTATCTTGCTATCTTCATACAAGTGAGTTGCCAGGATAAAC
 GGTGACTCATGCATTTTGTCTGTTTAGGCTGATCACCTCAAACATATCTGAGATTTACCGC
 CAAGAACTAAAAGAACTACAACTTTGCATCTTGGTGGGCCCCTATGATTCCTTGATCAATA
 TCTCTCACGCATACTCCAAGCTTTTTGAGGGACCCTCCCTGCAGTGGGGCTTGGGTAAACT
 GCACTGGGGCCCAGGAGGTTTAGGGGCCATTAGGGTGGTCCTTTGTTTCATCCATGGTCAA
 GTCTGTGTTAAAAATATTCATAACAATAAGGACCAGCACAAAACCTCTGTTAGAGGACAGA
 GTTTTCTTTAACATAAATTCAGTTTTAAATTCTGTTAAATTAGTAAACTCACAAACAAAAT
 AACAGAAAAAAATCATGTTTTTTTCTTAAGATAAATACACAAATTTTAATAAAAAACA
 AATATAGTTTCACAAAATGATTCCTAAATATTAATGAATAAGCACCTGCTTTTGTATCAA
 TTCCAGTAAAACAGCAGCATTTTATAAATTAAGCTCACTACATGAACCTGAAATACTG
 AGTGCGCTTCATAACTAGGGCCATTCTGAAATCCTGCACTGGGCCCCCATCACCAAGTT
 ACGCCACTGGGTAAACGGTACTTTTTAATGTACCCTGTAATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

CCATTAGTTAACAAGTAATTTCAAGAGTTATCCATTGATAAACGCATAACCGTATACGTCG
 CTGATTCATAAGATCACGCTCCCCGCAGCTTTTCCCCCGAGGAAAGCGGGTCTGTGACGCA
 GGAAAATTAAGAGGGGTCAATTCACAACTGGCTCTCCAGGGTTTTGACTGATTCTTCCG
 GCTGGTGGCTTGTCGGGTTTTGTGAGCGGATAACATTTTCCAGCGGAAACGCATTTTGAC
 CGAGTTTACTCCAAGCTTAAAATTAACCCTCTTTAAAGGGAAAAAAGCGGGAGTTCCCC
 CGGGGGGGGGGGCGATCGGATAACAGTGGATCCCCGGGAACGCAGGAATTCGGCATTAG
 GGCTTCTTCGAATGACCCCCCTATATCCAACAAAGATTGGAGGTCCCCTTTTGTGGCG
 ACCTCTAGAGAGGTGGTGTTCGGGAGGGCCCCAGGAATTCGGCCTGATTTTTTTTTTTTTC
 CCAATAAAACCCACAAAAAATATCAGTTTAAGCCCTATAATAACATTTTTTTTTTGCCAACA
 AAGATTAATAAACCCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

TCAGAACAACTTAGCACGATGTTTCATGTGCTCTTTCATGTTCGGAACTAGTAAATACGATT
AACCTGACATCACTTGAAAGTAAGGTGAGATCATGGATGTATACCAAGATCCCCAATTGG
CAATTCCTCCAGGAAAGTTGTGGTACTGCAGTGCTGCTGACAGTTCCACCTACGACTTCCA
AATTGAAATCTAAAACACAACAACATGCAAGGTCATTGATCCGAACTGACAGTGTGGAAC
ATGTGGGCAGGTATAACGCCAATTCATATTGAATGCGCGTCTTGTACAACCTCCATAACA
AATAGACGCCATGCAAGTTAATGCATAAGTTTACACTGGCTGTGTTGCAGTGAGTGTCCGG
CGCTCTGTCCTAAATACGCAAGGAGTCTATTTTTGACGGATGCCGCAGCCCTCATGCATAA
CGTTGAACAAAGCAGATCCACCCAGACAGGAATTCAGACACAGGACTAGTGAAGAGGAG
TCCGCAAGAGTGTTGGAGACCTACTGCACAATGCATTCAGTGTGAATTAGGCATAAGACA
AAACCTGCACATGCAAAGGGCCACTGTGCTTCTGGAAGATTGCTAGAAAGAAAATCTTTT
TGGAATATGCATTAGCCACTGAGATTAATCAGTATTCTGGTCTGATAATACATCCATGAGT
TAGCCTGTCAAAGACACGAGGCAGCAACTGTTACATTTAGTTCAGAATAATTTGATGGGA
TTTAACTTAAAAATTCAGTGGGTATGGCTAGCCAGGCTACCCCTAACCAACTCTACAAG
TAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

ACGATCCGCGGTGGGGCGCTCTGAACAGTGGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGGCACGA
GGTATCAACACAATTGGTTTTTCGCTGAACAAAATATGAAGACACAACCAAGTTTAAGACT
TTTTAACTCTAACAATCGACAGGGAGACAAACTGAAAACAGCTCACCTAAATCCTTTGTG
ATGATGTTTCAGTGGGACGTGAGGCAGCACATCCTTCACCTGCTGCGCCATTTTAGCCAATC
TACGATCGTCTGTACCCAGGCTCTGGATAAAACCGAGACCAATGGAGCCTGGTCTGACAC
CTACGAACCACAAACAAACAGTTTCTCACCCAGACTGCGACAGTCTGAAGATCCACAGAT
AACACGGATGGAAATTAGCAATGTGCTATAATCTGGCGTATTTACAGGCACCTGTTGCCTG
TTCATTAATGCGCACTGTCCCATTCAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GCAGATGCAGATTGTTTTGCTAGCTGTGACCAGGTCCAAAAGTCACAGACAAACTAGTCT
 AGCAGGATGGGAGGAGTTACCTTTTGCTAATGGGGAAATGCTAACTGTTAATGTCAAAAA
 TAAGAAAAGCAAGATGCAGAGAAGGCTAGAAAAAGTAAGGGGAACAAAATTAAGGAG
 AAAATCTTAAAACCATGTGAGCCCAAATGCCTTTTATTTGTAGTGATGTAGGTAAGCTAC
 AAAAAGAGGACCCTACACTTACTCCTTTATTTACTAAATGTGTGTCAGAATCAACTAAAGT
 AACAGGACGGGGAAAAGAAGCTTTTGTGTTAAGGGGGATAAGTTGTACAGGCGCAGCG
 AGATTGGTGACCAATTAGTCGTCCACAACTTTGAGGTCTACTATACTTCATCTCAGTCA
 CTCTGTACCATGGGCAGGGCCTCGTGCCGAATTCGGCACGAGGCCTCGTGCCGAATTCGG
 CACGAGGATTATGCATGGCGTCAATACGGTTTACTGGTTGTGTGTTTCGAAATATTTTACG
 TATGACGAAATGGACACTTCTGATAAATATTTTGTTTTTCTCTTGCTAGATGTTCTCCCAGC
 TCAATCTTTTTAACTTTCTTGCCTTTTCAGCCATTTGTTGCCCTGTCCCAACTATTTATTG
 TGAGACCTGTAGCAGGCATTGAATTTAAAATGAGCTTAGCATAAAAAGTGTAATAATTTGTC
 AGTGTA AAAACATTTGTTATGTTATCTATATTCTATTGTGAATAAAAATATTGGCTCGTGATT
 TGAAAGTCTTTTAGTTTTTATTACATTA AAAAAAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGTAAAAGAGACGCTGCCTGCTGGTGCTGATCAACACACATTTTGTTTTGTGCA
 AGATATAAACTGAAATCTGACAATTTAATTCCACATGAAAACAGATGGATAATGTTAAAA
 TACTAAAAATACAAAATGATCTTAAGGGAGCACTTCATAGTATTGGTCTAACATCATATGC
 ATTTAAGGGTAACGCTGATTCAGATGAAGGACAAACCAGCACTCTTTTGGACAATGTTCA
 AGTTTTATCCACTCAAAAAAATTACCTTCTGGAAAAGTAAGTCATTTAAATGGTTTACTTG
 TGTTAATACTTCAGAGGTCCAGCTCTGCCTATTGAAGGATGAAAATAATCCAGTTGTCAT
 GTTAATATTTTTTACCAGGAGATAAACAGTAAGCCTTTATTACATGAAAAAAGCAGCAGA
 CCTAATCACTCCCTGTATAAAAATGTGGTATTAAATCTGCCCAAATAAAAATCCTTTGATGC
 TAAAAAAAAAAAAATAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGGGAGACCGCCTGGGAATACCAGGTGCTGTAAGCCTTTTTTGACACTCAAC
 TCACAAACATTTAGCCAGTACAGTCAAATGAATTCGCCCTATCCTAATACAGTATTACTGT
 ATTGGCTATGCTATAACAGTCAATACATGAATACTGGCTCCCGCGCACCCATCCTTGTGAC
 AGCATTACATTCTAGAACCTGAGCATGTACATCAATCCATTGTAGATTCTGAGTGTGTGA
 CATCATCACATTATAAAATCAAAAACTAATTAACAAAACAAAACAAAAAAAAAAAAAAG
 AAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAA

Unknown gene

GGCACGAGGACAATATTAATGTTTCACACAGCCTTTTCCACTTGTGTCATGCCGGTCTC
 TGTGGCCCGTGCCCTTATGAAATTATGAATTCAATGAGCTTCTGAGAAAACGCTGTCCTTC
 ATGCTTTATATACTACTGCAGCCCATTCATGTATCAGCAAATGTTTGATCACACATGTTT
 GAAACATTATAACAAGCCTCAATGTTTTTTCTTTAGAGTCATCTTTATAAAGCAATGGTAT
 GGAAGTTTTTACCATGAAATAGAAAAGAAAAAGCCTCTAACTTATCTACCGCAAAGAAA
 ACCCTTTCCTGGGCATGCTATTATTCAGAGGAGCTCATTCACTCAAACCAGCTTTCCA
 AAAAAAATTTCAAATGCAAAAAAGGTGTCACCCACTCTTATTTATCCAGGCTTGGGACC
 AGCACAGATGGCAGTTACTGTACAAGGTGCAAATAATAAAAAGTTCAGTGTGCTCTGAA
 ACTTACAAATCACATTTCAAAGGATTAAGGTGACAGCTACTGTATAGCTAAATCTTGTCT
 CGATACAGTACTACTGCTACA ACTACTATACTACTATTACTACTGCTACTGACTTGCCACTT
 TGCCACCAA ACTTAAAAATACTAAATACAAAATAAAAATTAATAAAAAAAAAAAAAA
 AA

Unknown gene

GGCCCGAGGTTTTGCCTACTTATGTGCCTAAGTGGACAGCACAGCTTTTCAACCCCGGGTT
AAACAGAAAAGTGGCATTATGAACAGGGCTTGACCTTAACCCTTTCCAACCGCCAAA
TGCAGGTAGATTTTAATTTTGGCAAGGGACACAAATATTCCCACTGCCCTTTGGCTGGTT
AAATTTTATGCAAACCTGGGCCTATAACAATAAGTTTTAAAGTTAGGTTTGAATTTATGCT
GCTTTGCTCAAGTGTACCCCTTTATTTATAGTAATTCCTCCCAAAGTAGGGGTGCAACTA
ACGAAAATTTTGAATTTGGATTAATTTTGGATTACTGTTTGGTTTAATCGATTAATAATCG
GATAGGGAACCCTGAGTAGTAGTAAAAAATTTGGGGGGTTTTATAGTTCCCGTTTTTAAAA
AAAAAAAAAAGAAA



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาว สุรินทร์ นามสกุล บุญอนันตสาร
(ภาษาอังกฤษ) Miss Surintorn Boonanuntasarn

เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2097 00017 95 1

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้ สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 044-224371, 224378
โทรสาร 044-224150
Email : surinton@sut.ac.th

ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา
ปริญญาเอก	Ph.D.	Aquatic	Tokyo University of
ปริญญาโท	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	Biosciences	Fisheries
ปริญญาตรี	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ วาริชศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

อนุพันธุศาสตร์ในสัตว์น้ำการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ผลงานตีพิมพ์

- Vechklang, K., Boonanuntasarn, S., Ponchunchoovong, S., Pirarat, N., and Wanapu, C. 2011. The potential for rice wine residual as an alternative protein source in a practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the juvenile stage. *Aquac Nutri*. In press.
- Boonanuntasarn, S., Panyim, S. and Yoshizaki, G. 2009. Usage of putative zebrafish U6 promoters to express shRNA in Nile tilapia and shrimp cell extracts. *Transgenic Research*. 18:323-325.
- Boonanuntasarn, S., Panyim, S. and Yoshizaki, G. 2009. Characterization and organization of the U6 snRNA gene in the zebrafish and usage of their promoters to express short hairpin RNA. *Marine Genomics*. 1:115-121.
- Boonanuntasarn, S. 2008. Gene knockdown: a powerful tool for gene function study in fish. *J. World Aquac. Soc.* 39: 311-323.
- Boonanuntasarn, S., Takeuchi, T. and Yoshizaki, G. 2005. High-efficiency gene knockdown using chimeric ribozymes in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 336: 438-443.
- Boonanuntasarn, S., Yoshizaki, G., Iwai, K. and Takeuchi, T. 2004. Molecular cloning, expression in albino mutants, and gene knockdown studies of two types of tyrosinase mRNA in rainbow trout embryos. *Pigment Cell Res.* 17: 413-421.
- Boonanuntasarn, S., Yoshizaki, G. and Takeuchi, T. 2003. Specific gene silencing using small interfering RNAs in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 310: 1089-1095.
- Boonanuntasarn, S., Yoshizaki, G., Takeuchi, Y., Morita, T. and Takeuchi, T. 2002. Gene knock-down in rainbow trout embryos using antisense morpholino phosphorodiamidate oligonucleotides. *Mar. Biotechnol.* 4: 256-266.