

หมิงหัว จาง : การพัฒนายีนเครื่องหมายที่จำเพาะต่อเพศในปลาสลิด (*Trichopodus pectoralis*) และการประยุกต์ใช้ในการจำแนกปลานีโอเมล (DEVELOPMENT OF SEX-SPECIFIC DNA MARKERS IN SNAKESKIN GOURAMI (*Trichopodus pectoralis*) AND THEIR APPLICATION FOR IDENTIFICATION OF NEOMALES). อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ บุญอนันตสร, 146 หน้า.

คำสำคัญ: ปลาสลิด (*Trichopodus pectoralis*)/การกำหนดเพศ/เครื่องหมาย SNP ที่จำเพาะต่อเพศ/RNA editing/นีโอเมล และนีโอพีเมล/การผลิตปลาเพศเดียว

ความแตกต่างเพศที่มีผลต่อลักษณะการเจริญเติบโตพบในปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด ปลาสลิด (*Trichopodus pectoralis*) เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีการเพาะเลี้ยงมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเป็นปลาที่เพศเมียเจริญเติบโตสูงกว่า ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการแปลงเพศปลาสลิดด้วยฮอร์โมนเอสตราไดโอดเพื่อผลิตปลาสลิดเพศเมียล้วนทางการค้า ยังมีทางเลือกของการผลิตปลาสลิดเพศเมียล้วนโดยวิธีทางอ้อมโดยใช้ปลานีโอเมลและการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกเพศปลาสลิด จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตปลาสลิดนีโอเมล ซึ่งยังขาดข้อมูลด้านเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อเพศปลา ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมุ่งพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาและประยุกต์ใช้ในการตรวจจีโนไทป์ของปลานีโอเมล

ในการทดลองที่ 1 การวิเคราะห์ทรานสคริปโตมด้วยเทคนิค RNA sequencing ในรังไข่และอวัยวะ พบ RNA SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลา 21 SNPs ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเทคนิค Sanger และ PACE assays สามารถยืนยัน RNA SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาจำนวน 9 SNPs โดย SNPs เป็นเฮเทอโรไซโกตชนิดในปลาเพศผู้ และเป็นโฮโมไซโกตชนิดในปลาเพศเมีย ผลการศึกษาพบว่า SNP_2, SNP_3, SNP_4, SNP_5, SNP_12, และ SNP_15 อยู่ในยีน *ift172*, *man2a1*, *crk*, *ezh2*, *cs*, และ *cast* ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม SNPs เหล่านี้ไม่มีความจำเพาะต่อเพศปลาเมื่อตรวจวิเคราะห์ในจีโนม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากกระบวนการ RNA editing ที่มีผลต่อการกำหนดเพศปลา และพบว่ายีน *adar* ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ RNA editing มีการแสดงออกสูงในปลาเพศผู้ ซึ่งน่าจะอธิบายได้ว่ากระบวนการ RNA editing เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการของเพศปลา นอกจากนี้ SNPs อีก 3 SNPs ได้แก่ SNP_19, SNP_20, และ SNP_21 อยู่บนยีน *kap3l* โดย SNPs ทั้ง 3 มีความจำเพาะต่อเพศปลาทั้งในระดับอาร์เอ็นเอและในจีโนม จึงสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เพศปลาในระดับจีโนไทป์ได้ โดยสรุปการศึกษานี้ได้พบ SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาและสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกเพศปลาได้

ในการทดลองที่ 2 การผลิตปลานีโอเมลโดยการเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (MT) ปลาในกลุ่มควบคุมเป็นปลาเพศผู้โดยธรรมชาติ การศึกษานี้ได้ใช้

SNP_19, SNP_20, และ SNP_21 ในการจำแนกเพศปลาด้วยเทคนิค Sanger และ PACE assays ผลการศึกษาพบว่า SNPs ทั้ง 3 ให้ผลไปในทางเดียวกันคือ ปลาเพศผู้และปลาเพศผู้ที่ได้รับฮอร์โมน MT มีจิโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัส ในขณะที่ปลานีโอเมลและปลาเพศเมียมีจิโนไทป์เป็นโฮโมไซกัส ผลการทดสอบ Progeny testing พบว่าการผสมพันธุ์ระหว่างปลานีโอเมลและปลาเพศเมียให้ลูกปลาเพศเมียทั้งหมด โดยผลการศึกษาครั้งนี้ยืนยันระบบกำหนดเพศ XX/XY ในปลาชนิดนี้ ดังนั้น SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาสามารถนำไปใช้ในการจำแนกปลานีโอเมลได้

ในการทดลองที่ 3 การผลิตปลานีโอฟีเมลโดยการเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมฮอร์โมน 17β -estradiol (E2) โดยการยืนยันผลจิโนไทป์ด้วย SNP_19, SNP_20, และ SNP_21

ผลการศึกษาพบว่าปลาเพศเมียที่ได้รับฮอร์โมน E2 มีจิโนไทป์เป็นโฮโมไซกัส ผลการทดสอบ Progeny testing พบว่าการผสมพันธุ์ระหว่างปลานีโอฟีเมลและปลาเพศผู้ให้ลูกปลาเพศผู้ $73.34 \pm 3.16\%$ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ยืนยันระบบกำหนดเพศ XX/XY ในปลาชนิดนี้ ดังนั้น SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาสามารถนำไปใช้ในการจำแนกปลานีโอฟีเมลได้เช่นกัน

โดยสรุป ดุษฎีนิพนธ์ฉบับนี้ได้พัฒนา SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศ ที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกเพศปลา การที่ปลาเพศผู้แสดงเฮเทอโรไซกัสของ SNPs สามารถยืนยันระบบกำหนดเพศในปลาชนิดนี้เป็นระบบ XX/XY และ SNPs ที่มีความจำเพาะต่อเพศปลาสามารถนำไปใช้ในการจำแนกปลานีโอเมลและนีโอฟีเมล

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2568

ลายมือชื่อนักศึกษา Minghua Zhang
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อภิรักษ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Satoshi Kubota