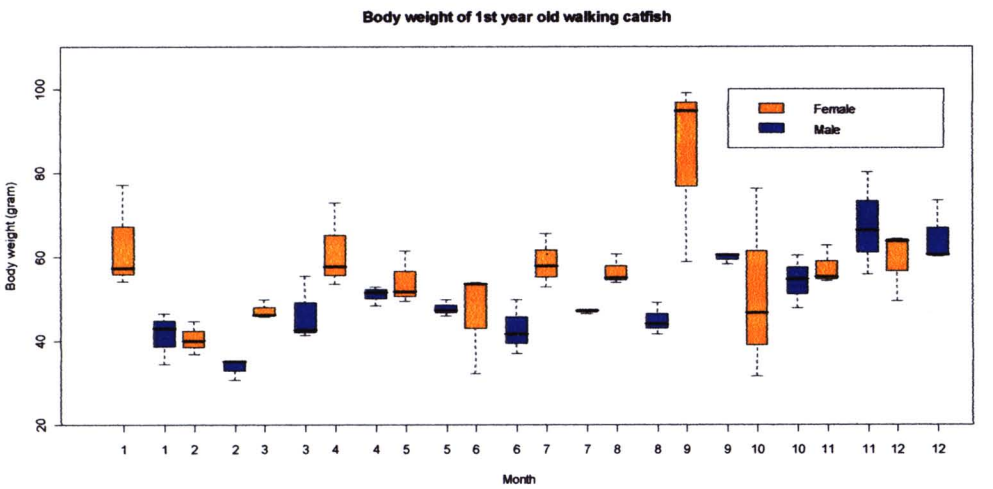
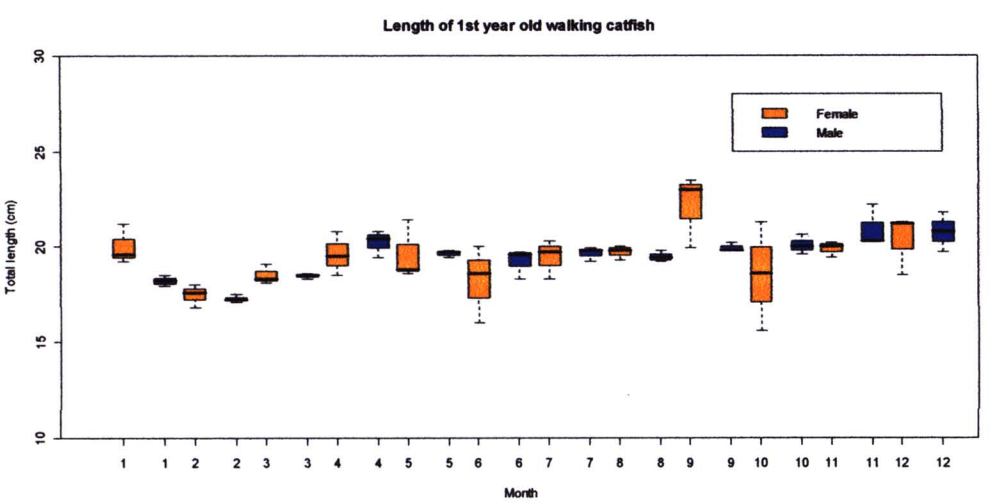
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

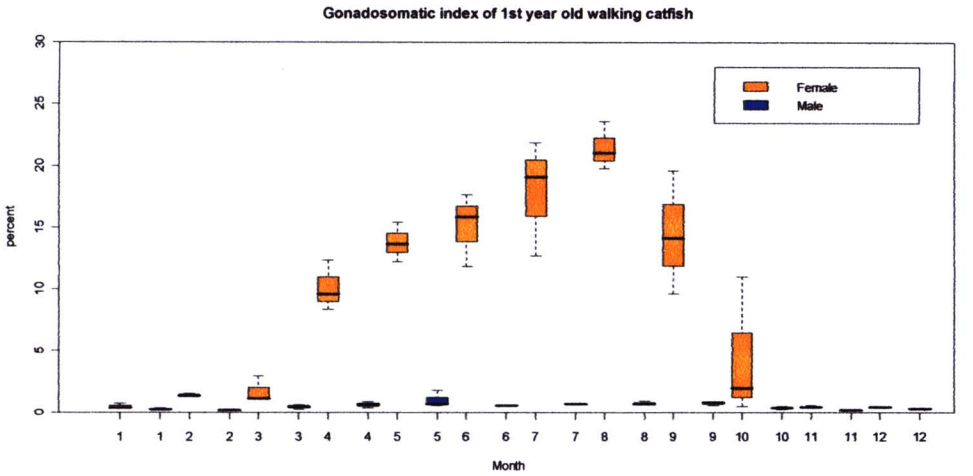
จากการวิเคราะห์น้ำหนัก ความยาว และ ดัชนีความสมบูรณ์เพศในรอบปีของปลาดุกอุย พบว่า ความยาวของเพศเมียไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่น้ำหนักของเพศเมีย น้ำหนักและความยาวของเพศผู้ และ ดัชนีความสมบูรณ์เพศของเพศเมียจะมีความแตกต่างทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ภาพที่ 5-7)



ภาพที่ 5 น้ำหนักของปลาดุกอุยเพศเมียและเพศผู้ในรอบปี ($P<0.05$)
(1=มกราคม 2=กุมภาพันธ์ 3=มีนาคม 4=เมษายน 5=พฤษภาคม 6=มิถุนายน 7=กรกฎาคม 8=สิงหาคม 9=กันยายน 10=ตุลาคม 11=พฤศจิกายน 12=ธันวาคม)

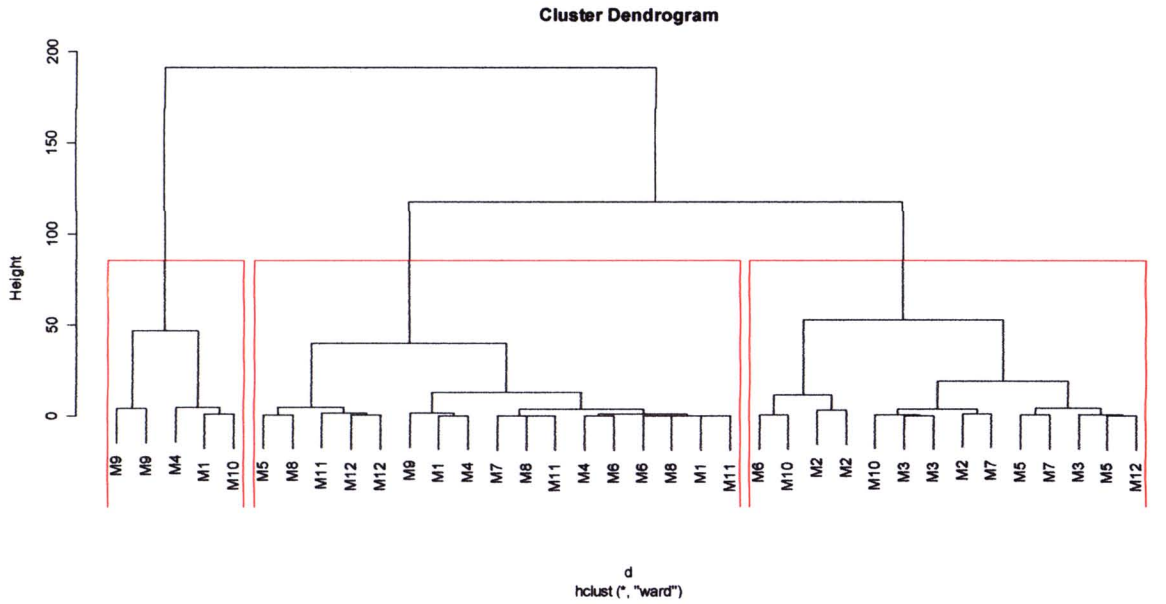


ภาพที่ 6 ความยาวของปลาดุกอุยเพศเมีย ($P>0.05$) และเพศผู้ ($P<0.05$) ในรอบปี
(1=มกราคม 2=กุมภาพันธ์ 3=มีนาคม 4=เมษายน 5=พฤษภาคม 6=มิถุนายน 7=กรกฎาคม 8=สิงหาคม 9=กันยายน 10=ตุลาคม 11=พฤศจิกายน 12=ธันวาคม)

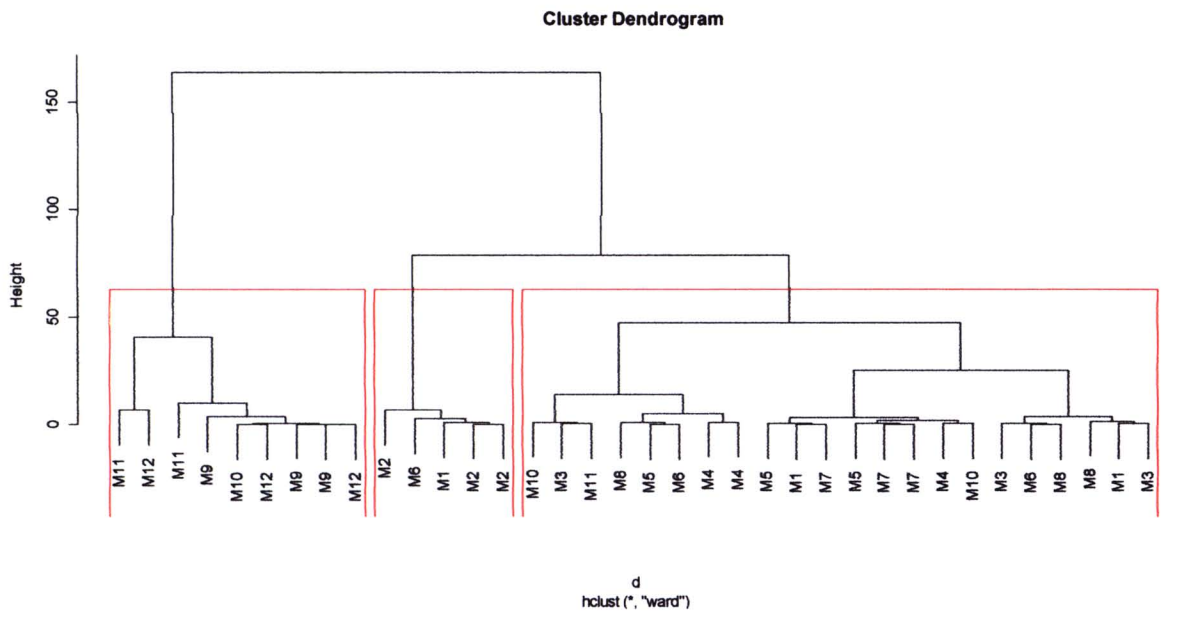


ภาพที่ 7 ดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลาดุกอุยเพศเมียและเพศผู้ในรอบปี ($P<0.05$)
(1=มกราคม 2=กุมภาพันธ์ 3=มีนาคม 4=เมษายน 5=พฤษภาคม 6=มิถุนายน 7=กรกฎาคม 8=สิงหาคม 9=กันยายน 10=ตุลาคม 11=พฤศจิกายน 12=ธันวาคม)

การจัดกลุ่มน้ำหนักเพศเมียของปลาดุกอุยในรอบปีไม่ชัดเจน ในขณะที่น้ำหนักเพศผู้มีการแบ่งกลุ่มที่ค่อนข้างชัดเจน โดยสามารถแยกได้เป็น 1) เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2) เดือนมีนาคม-สิงหาคม และ 3) เดือนกันยายน-ธันวาคม (ภาพที่ 8) เช่นเดียวกันกับการจัดกลุ่มความยาวเพศเมียที่ไม่ชัดเจน ในขณะที่ความยาวของเพศผู้จะค่อนข้างชัดเจน โดยสามารถแยกได้เป็น 1) เดือนมกราคม-มีนาคม 2) เดือน พฤษภาคม-ตุลาคม และ 3) เดือนเมษายน พฤศจิกายน และ ธันวาคม (ภาพที่ 9) และเมื่อพิจารณาการจัดกลุ่มดัชนีความสมบูรณ์เพศ พบว่า ปลาดุกอุยเพศเมียมีการแบ่งกลุ่มอย่างชัดเจน โดยแยกได้เป็น 1)เดือนมกราคม-มีนาคม และ เดือนตุลาคม-ธันวาคม (ช่วงก่อนและหลังฤดูผสมพันธุ์) 2) เดือนเมษายน พฤษภาคม มิถุนายน และ กันยายน (ช่วงเริ่มและช่วงปลายฤดูผสมพันธุ์) และ 3) เดือนกรกฎาคม และ สิงหาคม (ช่วงสูงสุดของฤดูผสมพันธุ์) และ ปลาดุกอุยเพศผู้มีการแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ 1) เดือนมกราคม กุมภาพันธ์ ตุลาคม พฤศจิกายน และ ธันวาคม (ช่วงก่อนและหนังฤดูผสมพันธุ์) และ 2) เดือนมีนาคม-กันยายน (ช่วงฤดูผสมพันธุ์) (ภาพที่ 10)

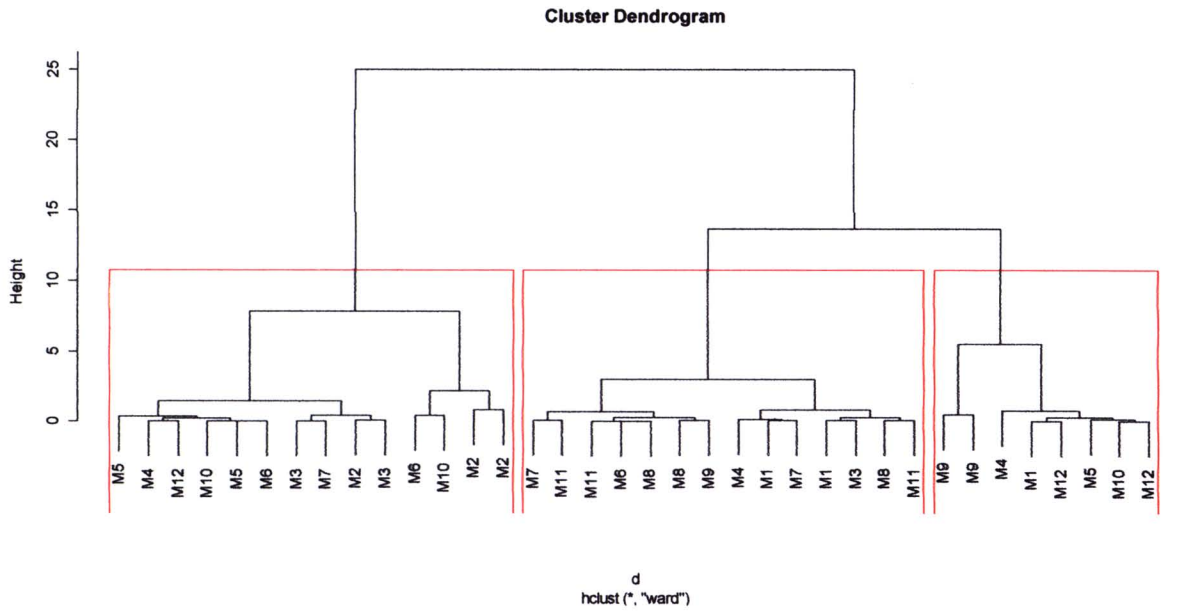


a

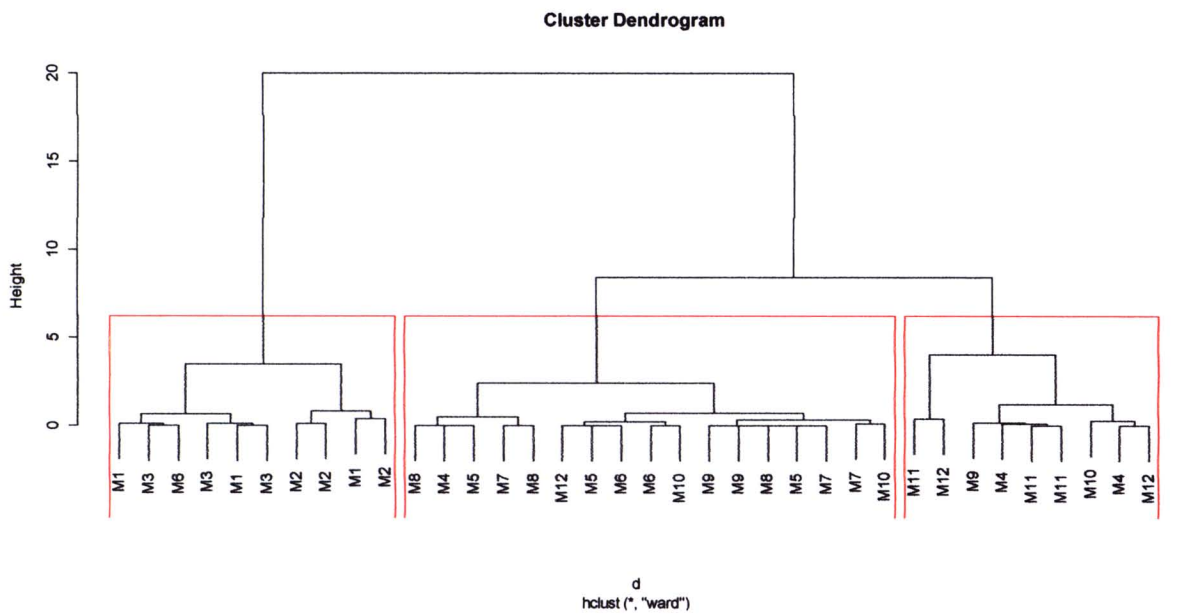


b

ภาพที่ 8 การจัดกลุ่มน้ำหนักปลาดุกอุยเพศเมีย (a) และเพศผู้ (b)

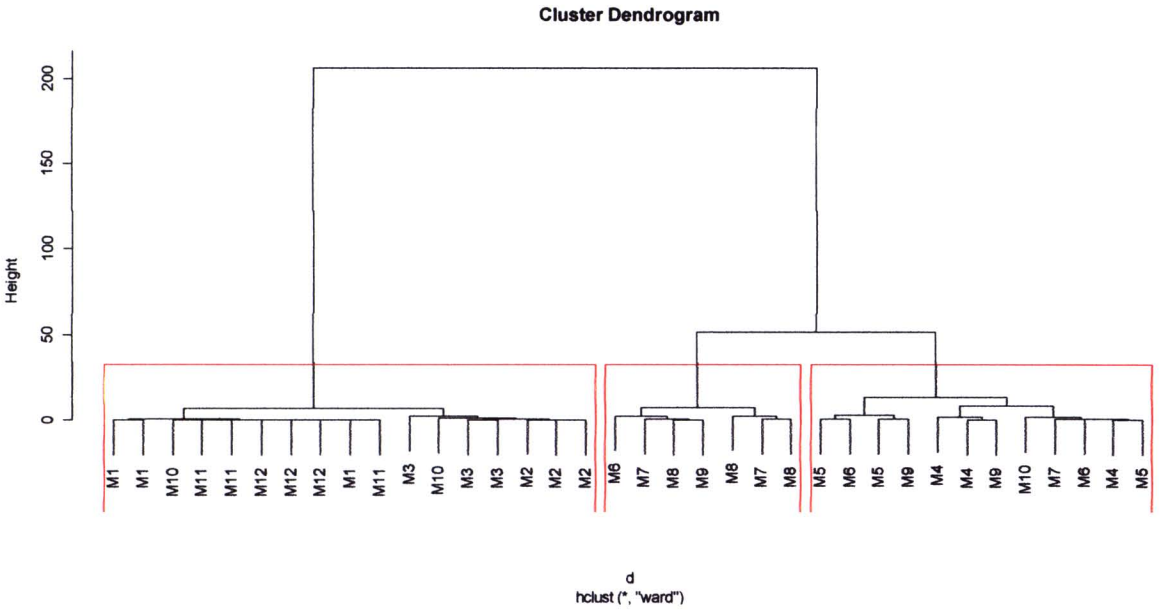


a

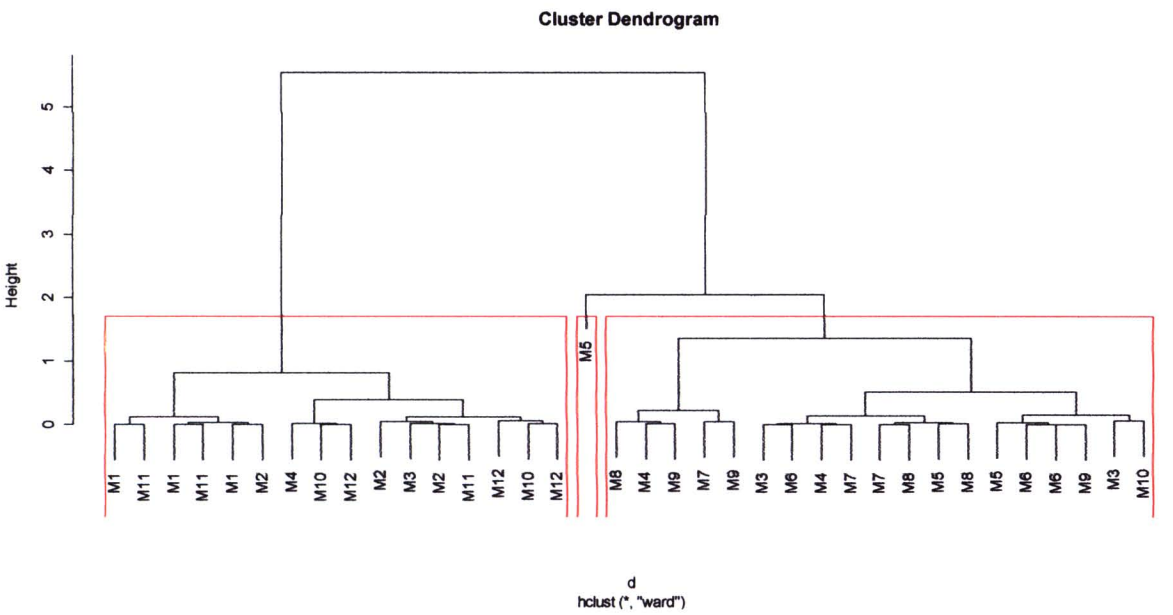


b

ภาพที่ 9 การจัดกลุ่มความยาวปลาดุกอุยเพศเมีย (a) และเพศผู้ (b)



a



b

ภาพที่ 10 การจัดกลุ่มดัชนีความสมบูรณ์เพศปลาดุกอุยเพศเมีย (a) และเพศผู้ (b)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

จากการจัดกลุ่มน้ำหนักและความยาวของปลาดุกอุยเพศเมียในรอบปีที่ไม่ชัดเจน อาจเนื่องมาจากน้ำหนักและขนาดของรังไข่ที่แตกต่างกัน และ ปลาจะต้องมีการใช้พลังงานไปเพื่อการสร้างและพัฒนาเซลล์ไข่ (oocytes) จึงทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลา สำหรับการจัดกลุ่มดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลาเพศเมีย จะมีความแตกต่างอย่างชัดเจน และสามารถแบ่งได้เป็นช่วงก่อนและหลังฤดูผสมพันธุ์ ช่วงเริ่มและช่วงปลายฤดูผสมพันธุ์ และ ช่วงสูงสุดของฤดูผสมพันธุ์ อาจเนื่องมาจากระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียถูกควบคุมด้วยปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมากกว่าเพศผู้ ตัวอย่างเช่น ในปลา grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) จะมีอัตราการตกไข่สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส (Glasser และคณะ, 2004) ในขณะที่ปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) จะมีอัตราการตกไข่สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (Phelps และคณะ, 2007) การพัฒนาความสมบูรณ์เพศขั้นสุดท้ายของเซลล์ไข่ปลา common carp (*Cyprinus carpio*) และ Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) จะถูกยับยั้งได้ในสภาวะที่ขาดก๊าซออกซิเจน (Wang และคณะ, 2008; Thomas and Rahman, 2009)

ความสัมพันธ์ของยีน *CH-GnRH* ในรูปแบบกรดอะมิโนกับปลาชนิดอื่น ได้แก่ ปลา African catfish (*Clarias gariepinus*) blue catfish (*I. punctatus*) blue catfish (*I. furcatus*) goldfish (*Carassius auratus*) common carp (*Cyprinus carpio*) และ Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) ดังภาพที่ 11

```
Thai       HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNILKSILIDALAREFQKRK-P 59
African    HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNILKSILIDTLARKFQKRK-P 59
Channel    HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNVLKSILLDALVKEFQKKK-K 59
Blue       HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNVLKSILLDALAREFQKRK-K 59
Goldfish   HGWYPGGKREIDVYDSSEVSGEIKLCEAGKCSYLRPQGRNILKTILLDAIIRDSQKRK-H 59
Carp       HGWYPGGKREIDVYDTSEVSEEIKLCEAGKCSYLRPQGRNILKTILLDALIRDFQKRK-H 59
Nile       HGWYPGGKRELDSFGTSEISEEIKLCEAGECSYLRPQRRSILRNILLDALARELQKRK-H 59
           **********:* :.:.*:* ********:******   .:*:.**:*:: :. **:*

Thai       HQNIPWRHS---YFIRSSHWCGRMPRLINPWV-ACVFTFM-V---H-VICV--SSSVKCI 108
African    HQNISWHHT-LLYSFFPLVWTNASANQPVGVS-MCVYFYVGLALSFFVICV--SSSVKCI 115
Channel    QFNHAPASS--SLFLR--HLSEHTHTHLLIRG-VCLFLFMWF-RQAFCHLCI-SSEVKCI 112
Blue       QSNPAPASY--SLFLR--H-SEHTHTSAHPCS-VSISVYVVL-ASSFLSSVI-SSEVKCI 111
Goldfish   QDDATACVQ--RKIISSKHIRSAFPSKLYIYNYFVNL-ILCFFFFLYMFCKSFCSQIHCE 116
Carp       QDDATACVQ--RKILSSKHIRPAFPSKLYI-LFCYSVICFCFLYVLYLFF----SHIHCE 112
Nile       LSRDGFSIV--THFLSISALT--FCDHLAL-LFVMFVSKFVLFFSMWK------------ 102
                       :                          . .

Thai       M------------FNKIFILV--- 117
African    V------------FNKIFIL---- 123
Channel    M-----------SFNKTFILE--- 122
Blue       M-----------SYNKTFILV--- 121
Goldfish   -TYTASTM-QFAAVPTIKALFWYF 138
Carp       -TYTASTM-PFAAVPTIKALFC-- 132
Nile       -------------CPRIKYLF-Y- 111
                        *
```

ภาพที่ 11 ลำดับกรดอะมิโนของยีน *CH-GnRH* ในปลาดุกอุย (Thai) เทียบกับปลาชนิดอื่น (African catfish=CAA54970; Channel and Blue=Lamkom (2008); Goldfish=AAC59858; Carp=AY189961.1; Nile tilapia=AB101666.1)

องค์ประกอบของยีน *CH-GnRH* จะมีความคล้ายคลึงกันในปลาแต่ละชนิด ซึ่งประกอบด้วย 1) ส่วนปลายทางด้าน 5' (5' untranslated region) 2) ส่วนของ signal peptide ประมาณ 21-23 กรดอะมิโน โดยในส่วนนี้จะมีเปปไทด์ของยีน จำนวน 10 กรดอะมิโน ส่วนของ cleavage และ processing site (Gly-Lys-Arg) และ ส่วนของ GnRH-associated peptide (GAP) 3) ส่วนของ GAP ประมาณ 12-43 กรดอะมิโน และ 4) ส่วนปลายทางด้าน 3' (3'untranslated region) (King and Millar, 1992; Lethimonier และคณะ, 2004; Zmora และคณะ, 2002; Clarke and Pompolo, 2005) แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบเพียงชิ้นส่วนของเปปไทด์ของยีน จำนวน 6 กรดอะมิโน ส่วนของ GAP และ ส่วนปลายทางด้าน 3'

โดยปกติ ปลาจะมียีน *GnRH* อย่างน้อยจำนวน 2 ชนิด ที่ถูกสร้างขึ้นที่สมองในตำแหน่งที่แตกต่างกัน โดยปลาที่พบยีน *GnRH* จำนวน 2 รูปแบบ ได้แก่ goldfish (Klausen และคณะ, 2001) zebrafish (Powell และคณะ, 1996) และ common carp (Li และคณะ, 2004a) African catfish (Bogerd และคณะ, 1992) ในขณะที่ปลาที่พบยีน *GnRH* จำนวน 3 รูปแบบ ได้แก่ Nile tilapia (Parhar และคณะ, 1996) sockeye (Andersson และคณะ, 2001) Pacific herring (Carolsfeld และคณะ, 2000) ถึงแม้ว่าปลาจะมีจำนวนยีน *GnRH* 2-3 รูปแบบ แต่จะพบว่า หนึ่งในรูปแบบของยีนที่จะพบได้ในปลาทุกชนิด คือ *CH-GnRH* (Miranda และคณะ, 2003)

ในการแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่อสมองในรอบปี จะมีความชัดเจนมากกว่าบริเวณต่อมใต้สมอง และ อวัยวะสืบพันธุ์ เนื่องจากสมองเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่สร้างยีน *GnRH* โดยจะพบการสร้างยีน *CH-GnRH* ที่บริเวณสมองส่วนกลาง (midbrain) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่แตกต่างไปจากต้นกำเนิดของยีน *GnRH* ในรูปแบบอื่น (Dellovade และคณะ, 1993; Vickers และคณะ, 2004; Gopinath และคณะ, 2004) ในขณะที่การแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองและอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปีพบว่า มีความคล้ายคลึงกันในปลาเพศเมียและเพศผู้ จึงมีความเป็นไปได้ว่า รูปแบบของยีน *CH-GnRH* อาจจะไม่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ แต่มีหน้าที่เป็น neurotransmitter และ/หรือ neuromodulator (Somoza และคณะ, 2002) และมีงานวิจัยจำนวนมากที่พบการแสดงออกของยีนนี้ในอวัยวะอื่นๆ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เนื้อเยื่อที่มีการแสดงออกของยีน *CH-GnRH*

ชนิดปลา	เนื้อเยื่อ			อ้างอิง
	Brain	**pituitary**	**gonad**	
Barfin flounder	sGnRH	-	-	Amano และคณะ (2004)
	sbGnRH	sbGnRH	-	
	CH-GnRH	-	-	
Zebrafish	sGnRH	-	-	Gopinath และคณะ
	CH-GnRH	-	-	(2004)
Red seabream	sGnRH	-	-	Okuzawa และคณะ
	CH-GnRH	-	-	(2003)
	sbGnRH	sbGnRH	-	
Rainbow trout	sGnRH-1	CH-GnRH	sGnRH-1	Uzbekova และคณะ
	sGnRH-2	-	sGnRH-2	(2001)
Goldfish	sGnRH	CH-GnRH	-	Klausen และคณะ (2001)
Turbot	sGnRH	sGnRH	-	Andersson และคณะ
	CH-GnRH	sbGnRH	-	(2001)
Gilthead seabream	sGnRH	CH-GnRH	-	Holland และคณะ (1998)
	CH-GnRH	sbGnRH	-	
	sbGnRH	-	-	

(sGnRH=salmon GnRH; CH-GnRH=chicken type II GnRH; sbGnRH=seabream GnRH)

หน้าที่หลักของยีน *GnRH* จะมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ โดยจะถูกสร้างที่สมอง ได้แก่ *cfGnRH* (catfish GnRH) และ *sbGnRH* จากนั้นจะถูกส่งต่อไปยังต่อมใต้สมอง (pituitary gland) เพื่อที่กระตุ้นให้มีการสร้างและปล่อยฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน (gonadotropin hormone) ซึ่งฮอร์โมนชนิดนี้จะทำหน้าที่ควบคุมขบวนการต่างๆ ของอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ การสร้างและพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ การสร้างและสะสมไข่แดง การตกไข่ และ การปล่อยน้ำเชื้อ เป็นต้น (Yaron and Sivan, 2006) ส่วนใหญ่ในการศึกษาการแสดงออกของยีนในรูปแบบนี้จะพบมากช่วงวัยเจริญพันธุ์ โดยพบว่า ยีน *sbGnRH* ในสมองและต่อมใต้สมองของปลา red seabream จะมีระดับที่ต่ำในช่วงวัยอ่อน และ เพิ่มขึ้นเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ ในขณะที่ *CH-GnRH* จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Okuzawa และคณะ, 1999) ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ ยีน *sbGnRH* จะแสดงออกมากขึ้นในปลา European seabass (Rodriguez และคณะ, 2000) ในปลา gilthead seabream ที่เจริญพันธุ์แล้ว จะมีระดับการแสดงออกของยีน *sbGnRH* สูงกว่า *CH-GnRH* ถึง 3-17 เท่า (Holland และคณะ, 1998)

ข้อเสนอแนะ

1.ควรมีการศึกษารูปแบบของยีน *GnRH* ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในปลาดุกอุย เพื่อที่จะนำไปดำเนินการศึกษาการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อสมอง ต่อมใต้สมอง และ อวัยวะสืบพันธุ์ ซึ่งจะสามารถนำมาเปรียบเทียบกับการแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ได้

2.ควรมีการศึกษาการแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ กล้ามเนื้อ ตับ และทางเดินอาหาร เพื่อตรวจสอบถึงอวัยวะเป้าหมายของยีนชนิดนี้

กิตติกรรมประกาศ

1.คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

2.โครงการจัดตั้งงานส่งเสริมการวิจัย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี