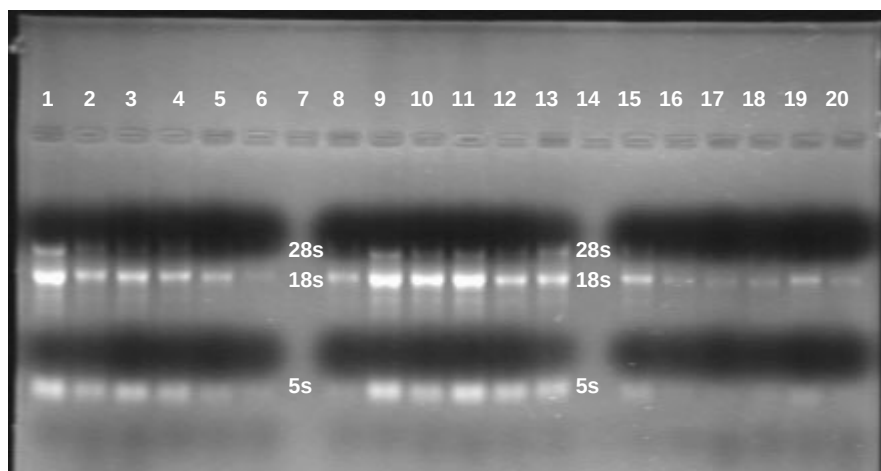


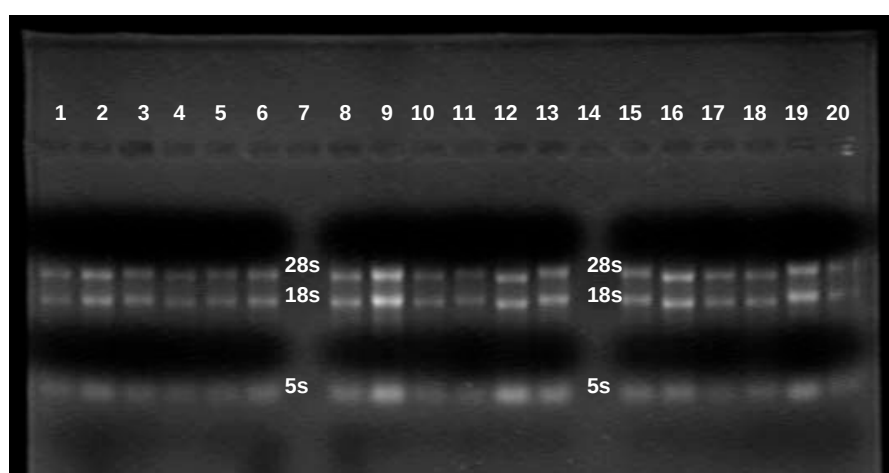
2.2.การตรวจสอบคุณภาพของ total RNA

1.Total RNA จากเนื้อเยื่อสมองในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม



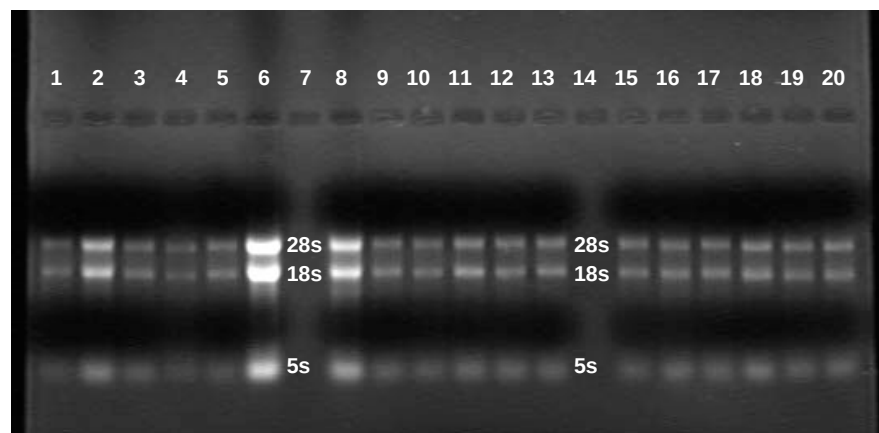
แถวที่	เดือนมกราคม	แถวที่	เดือนกุมภาพันธ์	แถวที่	เดือนมีนาคม
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

2.Total RNA จากเนื้อเยื่อสมองในเดือนเมษายน พฤษภาคม และ มิถุนายน



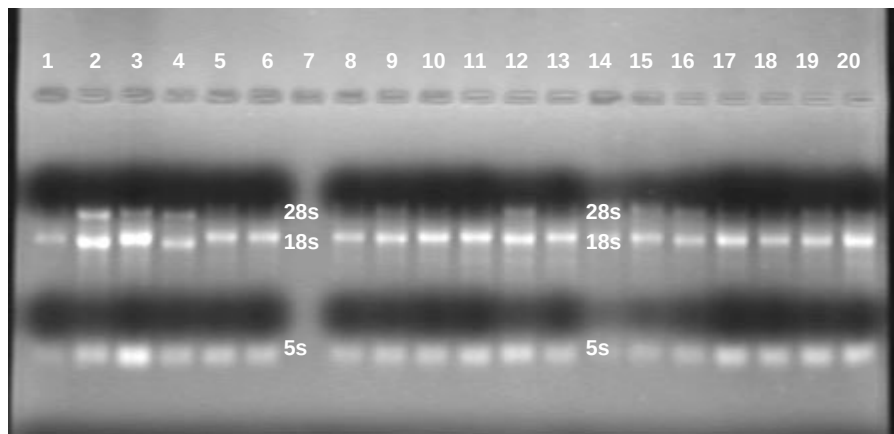
แถวที่	เดือนเมษายน	แถวที่	เดือนพฤษภาคม	แถวที่	เดือนมิถุนายน
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

3.Total RNA จากเนื้อเยื่อสมองในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน



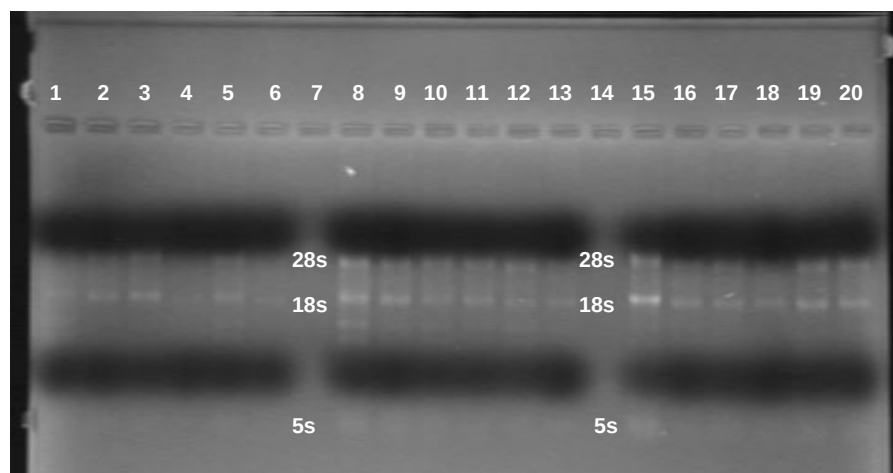
แถวที่	เดือนกรกฎาคม	แถวที่	เดือนสิงหาคม	แถวที่	เดือนกันยายน
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

4.Total RNA จากเนื้อเยื่อสมองในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และ ธันวาคม



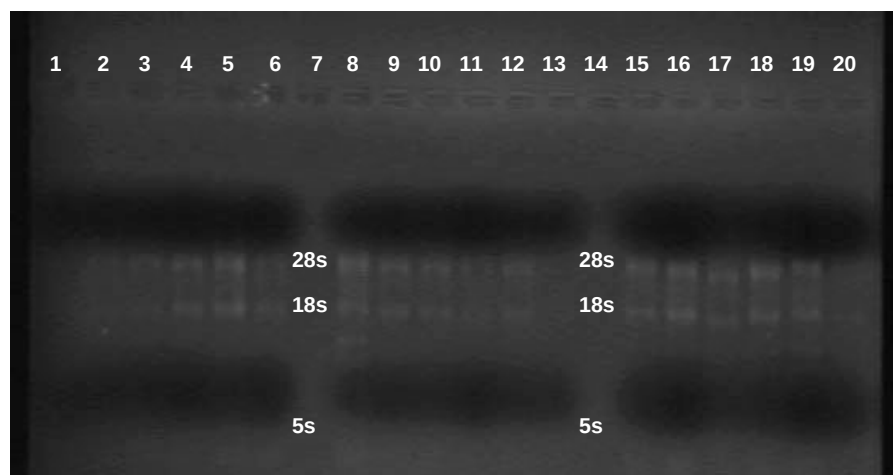
แถวที่	เดือนตุลาคม	แถวที่	เดือนพฤศจิกายน	แถวที่	เดือนธันวาคม
1	♀ 1	8	♀ 1	15	♀ 1
2	♀ 2	9	♀ 2	16	♀ 2
3	♀ 3	10	♀ 3	17	♀ 3
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 1
5	♂ 2	12	♂ 2	19	♂ 2
6	♂ 3	13	♂ 3	20	♂ 3

5.Total RNA จากเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และ มีนาคม



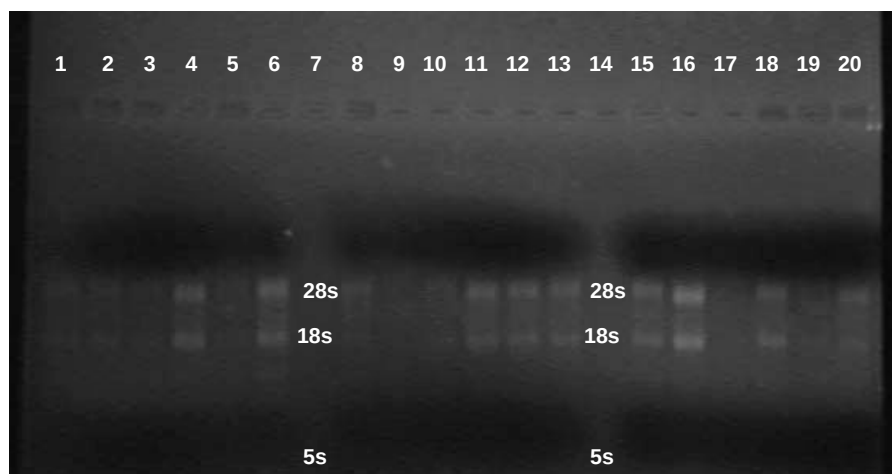
แถวที่	เดือนมกราคม	แถวที่	เดือนกุมภาพันธ์	แถวที่	เดือนมีนาคม
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

6.Total RNA จากเนื้อเยื่อต่อมได้สมองในเดือนเมษายน พฤษภาคม และ มิถุนายน



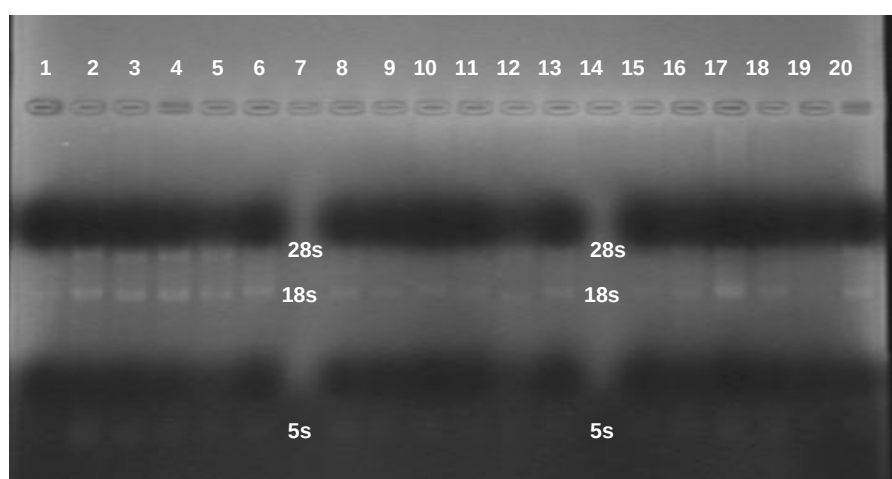
แถวที่	เดือนเมษายน	แถวที่	เดือนพฤษภาคม	แถวที่	เดือนมิถุนายน
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

7.Total RNA จากเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน



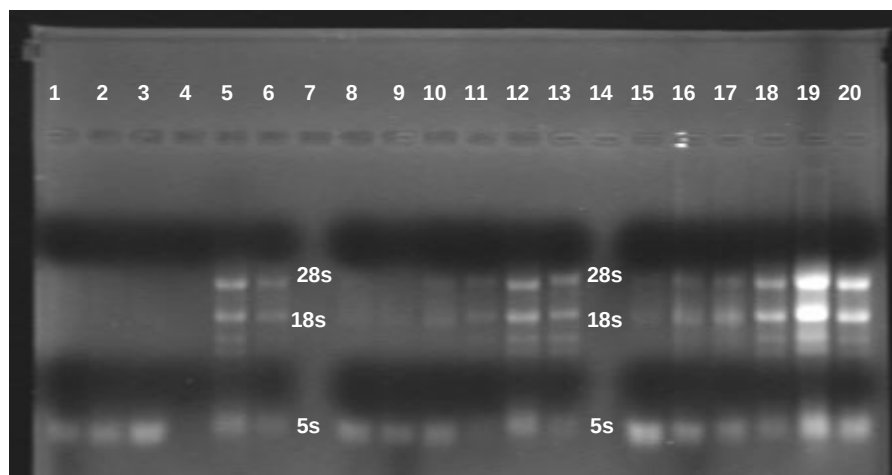
แถวที่	เดือนกรกฎาคม	แถวที่	เดือนสิงหาคม	แถวที่	เดือนกันยายน
1	♀ 1	8	♀ 1	15	♀ 1
2	♀ 2	9	♀ 2	16	♀ 3
3	♀ 3	10	♀ 3	17	
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 1
5	♂ 2	12	♂ 2	19	♂ 2
6	♂ 3	13	♂ 3	20	♂ 3

8.Total RNA จากเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และ ธันวาคม



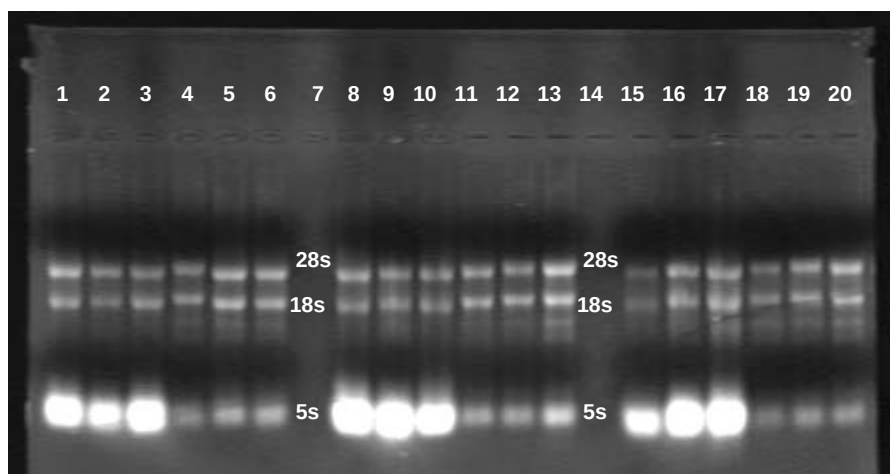
แถวที่	เดือนตุลาคม	แถวที่	เดือนพฤศจิกายน	แถวที่	เดือนธันวาคม
1	♀ 1	8	♀ 1	15	♀ 1
2	♀ 2	9	♀ 2	16	♀ 2
3	♀ 3	10	♀ 3	17	♀ 3
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 1
5	♂ 2	12	♂ 2	19	♂ 2
6	♂ 3	13	♂ 3	20	♂ 3

9.Total RNA จากเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และ มีนาคม



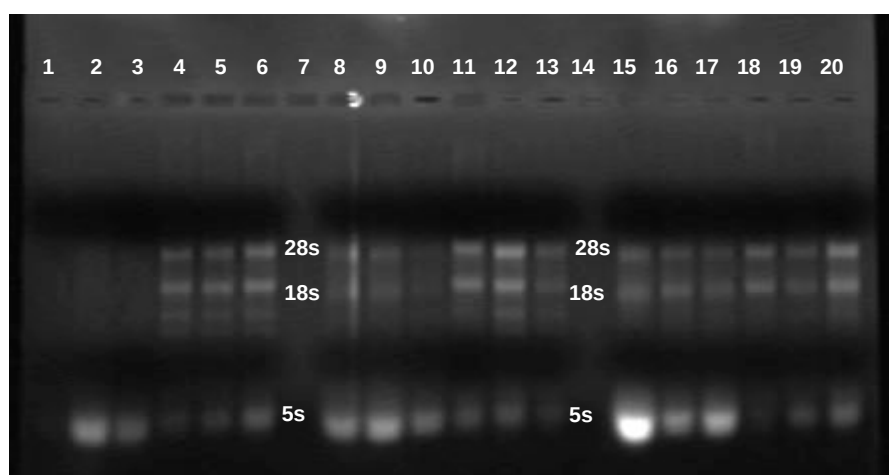
แถวที่	เดือนมกราคม	แถวที่	เดือนกุมภาพันธ์	แถวที่	เดือนมีนาคม
1	♀ 1	8	♀ 1	15	♀ 1
2	♀ 2	9	♀ 2	16	♀ 2
3	♀ 3	10	♀ 3	17	♀ 3
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 1
5	♂ 2	12	♂ 2	19	♂ 2
6	♂ 3	13	♂ 3	20	♂ 3

10.Total RNA จากอวัยวะสืบพันธุ์ในเดือนเมษายน พฤษภาคม และมิถุนายน



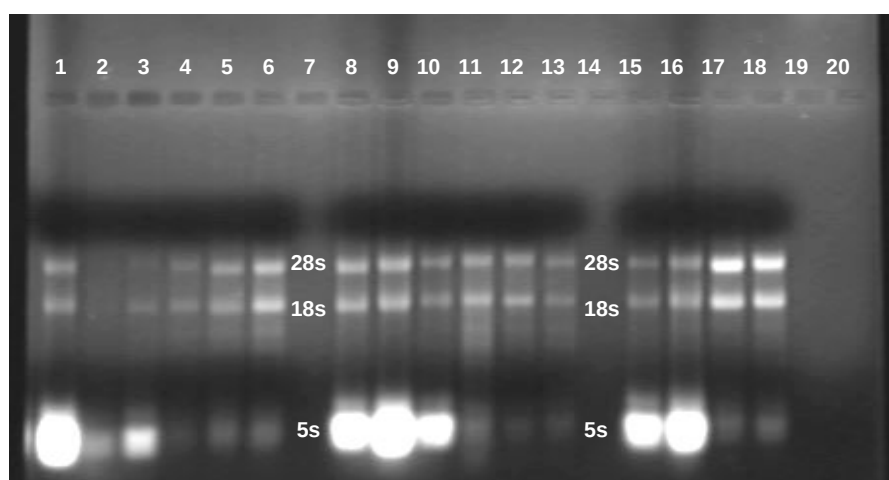
แถวที่	เดือนเมษายน	แถวที่	เดือนพฤษภาคม	แถวที่	เดือนมิถุนายน
1	♀1	8	♀1	15	♀1
2	♀2	9	♀2	16	♀2
3	♀3	10	♀3	17	♀3
4	♂1	11	♂1	18	♂1
5	♂2	12	♂2	19	♂2
6	♂3	13	♂3	20	♂3

11.Total RNA จากอวัยวะสืบพันธุ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน



แถวที่	เดือนเมษายน	แถวที่	เดือนพฤษภาคม	แถวที่	เดือนมิถุนายน
1	♀ 1	8	♀ 1	15	♀ 1
2	♀ 2	9	♀ 2	16	♀ 2
3	♀ 3	10	♀ 3	17	♀ 3
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 1
5	♂ 2	12	♂ 2	19	♂ 2
6	♂ 3	13	♂ 3	20	♂ 3

12.Total RNA จากอวัยวะสืบพันธุ์ในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และ ธันวาคม



แถวที่	เดือนตุลาคม	แถวที่	เดือนพฤศจิกายน	แถวที่	เดือนธันวาคม
1	♀ 2	8	♀ 1	15	♀ 1
2		9	♀ 2	16	♀ 2
3	♀ 3	10	♀ 3	17	♂ 1
4	♂ 1	11	♂ 1	18	♂ 2
5	♂ 2	12	♂ 2	19	
6	♂ 3	13	♂ 3	20	

2.3.การศึกษาองค์ประกอบของยีน *GnRH* โดยวิธีการ 3'-RACE PCR และ 5'-RACE PCR

จากการทำ 3'-RACE-PCR จะพบตำแหน่งของยีน *chicken type II GnRH (CH-GnRH)* บนอะกาโรสเจล ประมาณ 400 คู่เบส (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ตำแหน่งของยีน *CH-GnRH* ของปลาดุกอุย
(แถวที่ 2= 100 bp ladder และ แถวที่ 3=*CH-GnRH*)

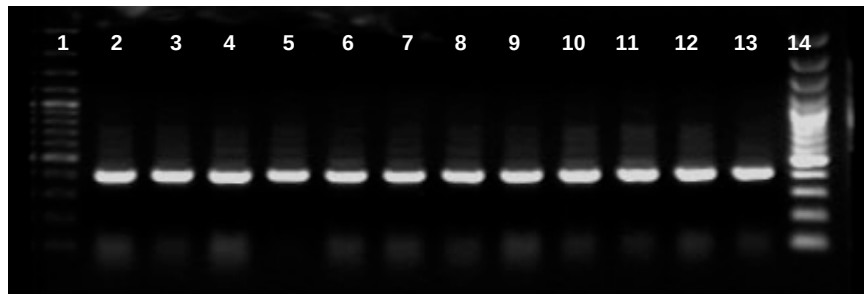
เมื่อผ่านขั้นตอนการทำไลเกชัน โคลนนิ่ง และการเทียบลำดับเบสแล้ว พบว่า มีความคล้ายคลึงกับยีน *CH-GnRH* ของปลาชนิดอื่น ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับเบสยีน *CH-GnRH*

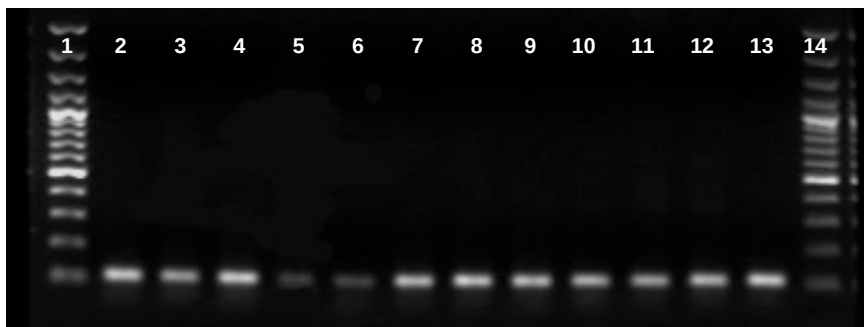
ชนิดปลา	ยีนที่คล้ายคลึง	เปอร์เซ็นต์ของความคล้ายคลึง
North African catfish (<i>Clarias gariepinus</i>)	<i>Chicken type II GnRH</i>	96
Lake whitefish (<i>Coregonus clupeaformis</i>)	<i>Chicken type II GnRH</i>	81
Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Chicken type II GnRH</i>	79
Barramundi perch (<i>Lates calcarifer</i>)	<i>Chicken type II GnRH</i>	79
Fire clownfish (<i>Amphiprion melanopus</i>)	<i>Chicken type II GnRH</i>	77

3.การแสดงออกของยีน *GnRH*

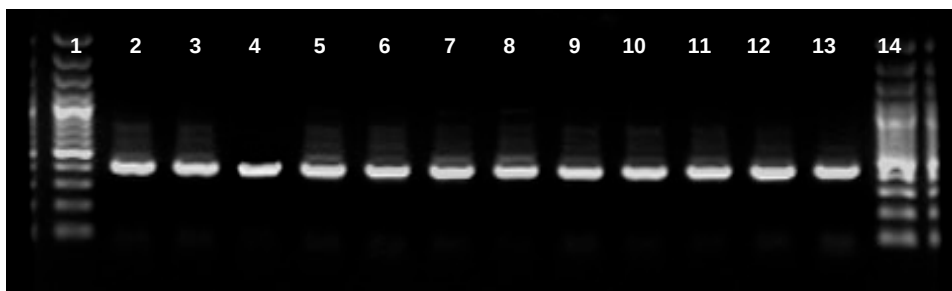
เมื่อนำลำดับเบสของยีน *CH-GnRH* ไปทำการออกแบบไพรเมอร์สำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อสมอง ต่อมใต้สมอง และ อวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปี ดังนี้



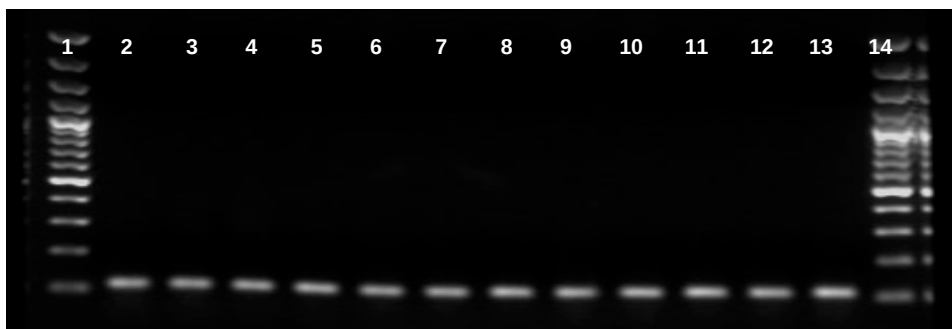
a



b



c

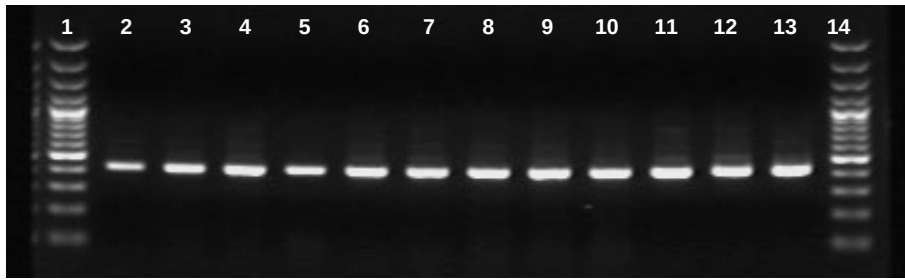


d

ภาพที่ 2 การแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่อสมองของปลาคูอุย

(เฟสเมีย a=beta actin และ b= *CH-GnRH*) (เฟสผู้ c=beta actin และ d= *CH-GnRH*)

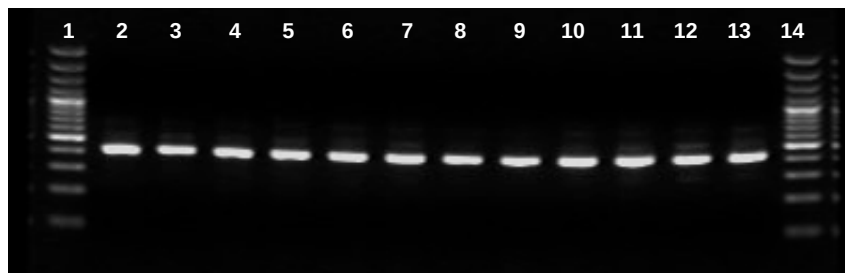
(แถวที่ 2=เดือนมกราคม 3=กุมภาพันธ์ 4=มีนาคม 5=เมษายน 6=พฤษภาคม 7=มิถุนายน 8=กรกฎาคม 9=สิงหาคม 10=กันยายน 11=ตุลาคม 12=พฤศจิกายน 13=ธันวาคม)



a



b

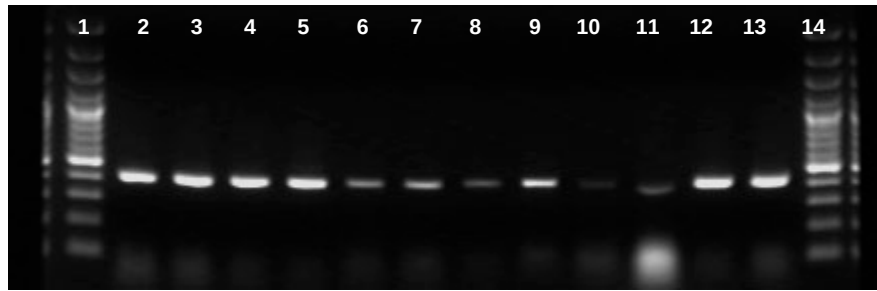


c

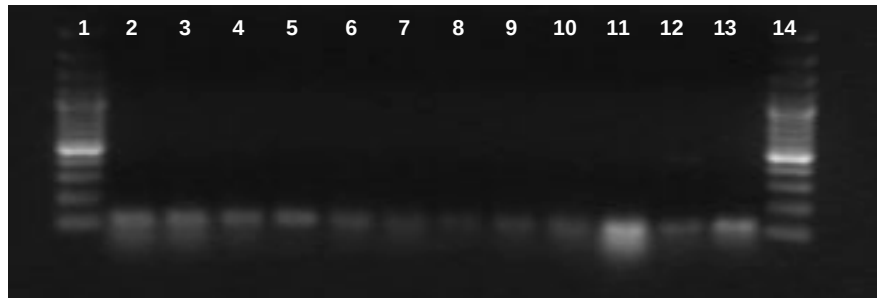


d

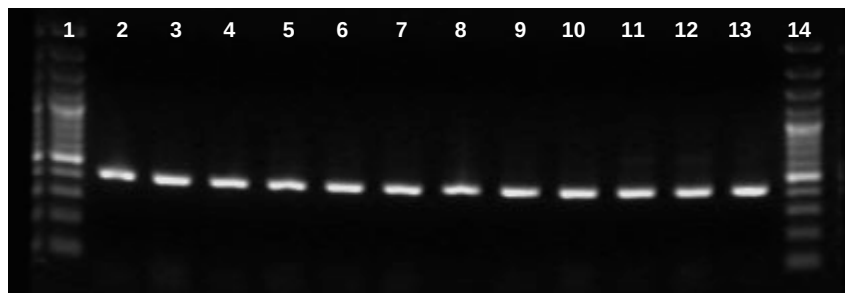
ภาพที่ 3 การแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองของปลาดุกอุย
(เฟสเมีย a=beta actin และ b= *CH-GnRH*) (เฟสผู้ c=beta actin และ d= *CH-GnRH*)
(แถวที่ 2=เดือนมกราคม 3=กุมภาพันธ์ 4=มีนาคม 5=เมษายน 6=พฤษภาคม 7=มิถุนายน
8=กรกฎาคม 9=สิงหาคม 10=กันยายน 11=ตุลาคม 12=พฤศจิกายน 13=ธันวาคม)



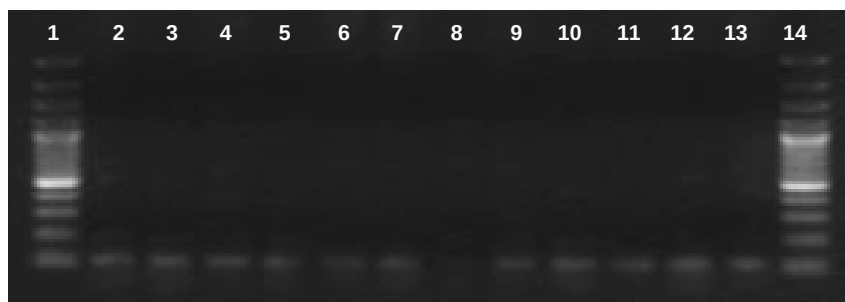
a



b



c

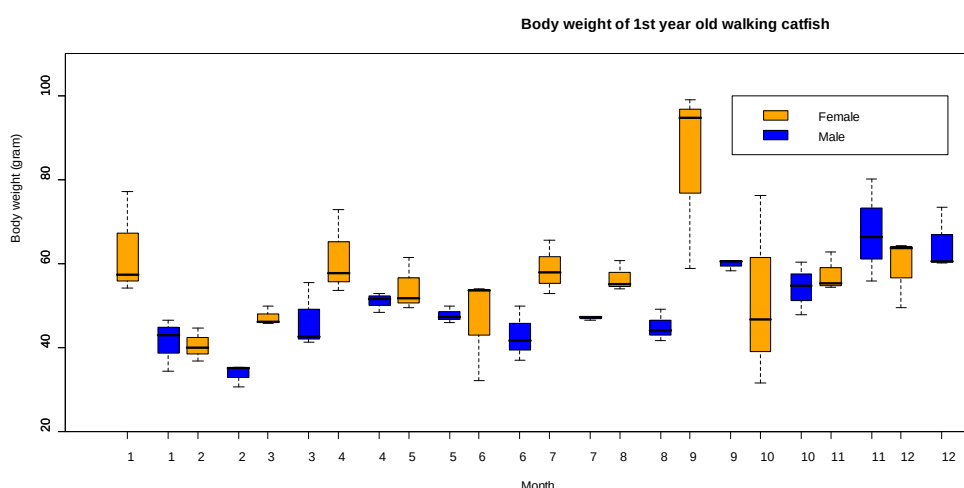


d

ภาพที่ 4 การแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ของปลาคูอุย
(เพศเมีย a=beta actin และ b= *CH-GnRH*) (เพศผู้ c=beta actin และ d= *CH-GnRH*)
(แถวที่ 2=เดือนมกราคม 3=กุมภาพันธ์ 4=มีนาคม 5=เมษายน 6=พฤษภาคม 7=มิถุนายน
8=กรกฎาคม 9=สิงหาคม 10=กันยายน 11=ตุลาคม 12=พฤศจิกายน 13=ธันวาคม)

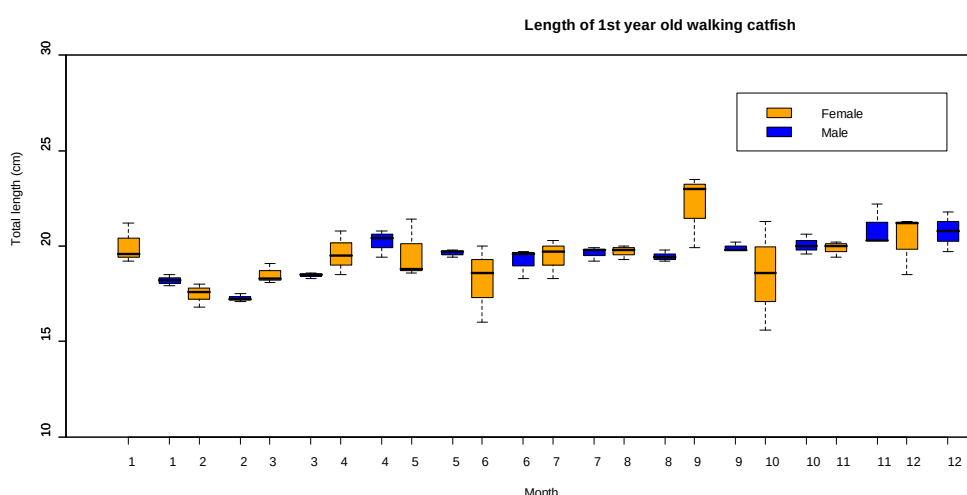
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการวิเคราะห์น้ำหนัก ความยาว และ ดัชนีความสมบูรณ์เพศในรอบปีของปลาดุกอุย พบว่า ความยาวของเพศเมียไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่น้ำหนักของเพศเมียน้ำหนักและความยาวของเพศผู้ และ ดัชนีความสมบูรณ์เพศของเพศเมียจะมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 5-7)



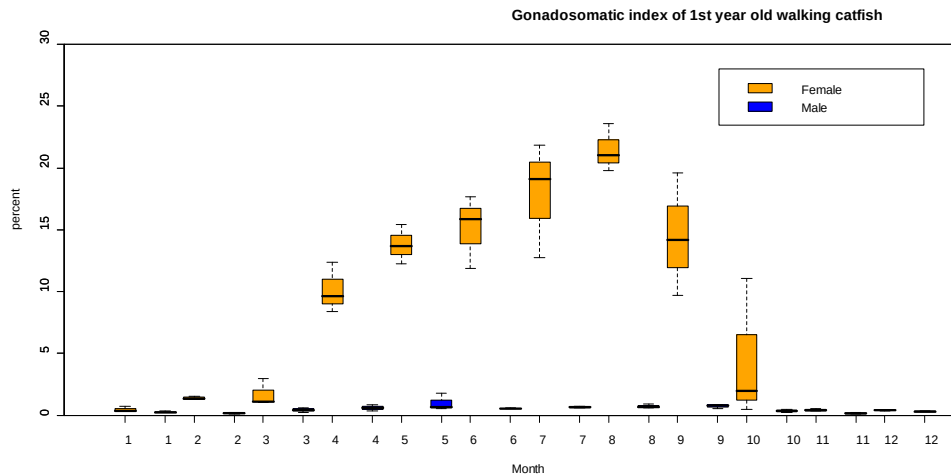
ภาพที่ 5 น้ำหนักของปลาดุกอุยเพศเมียและเพศผู้ในรอบปี ($P < 0.05$)

(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

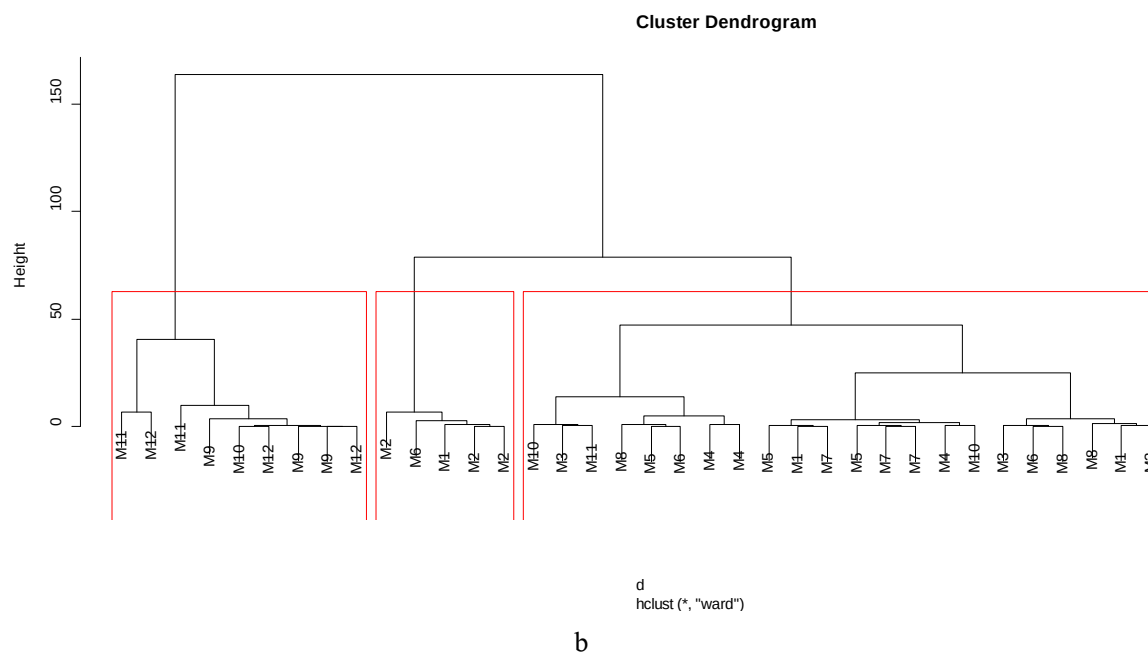
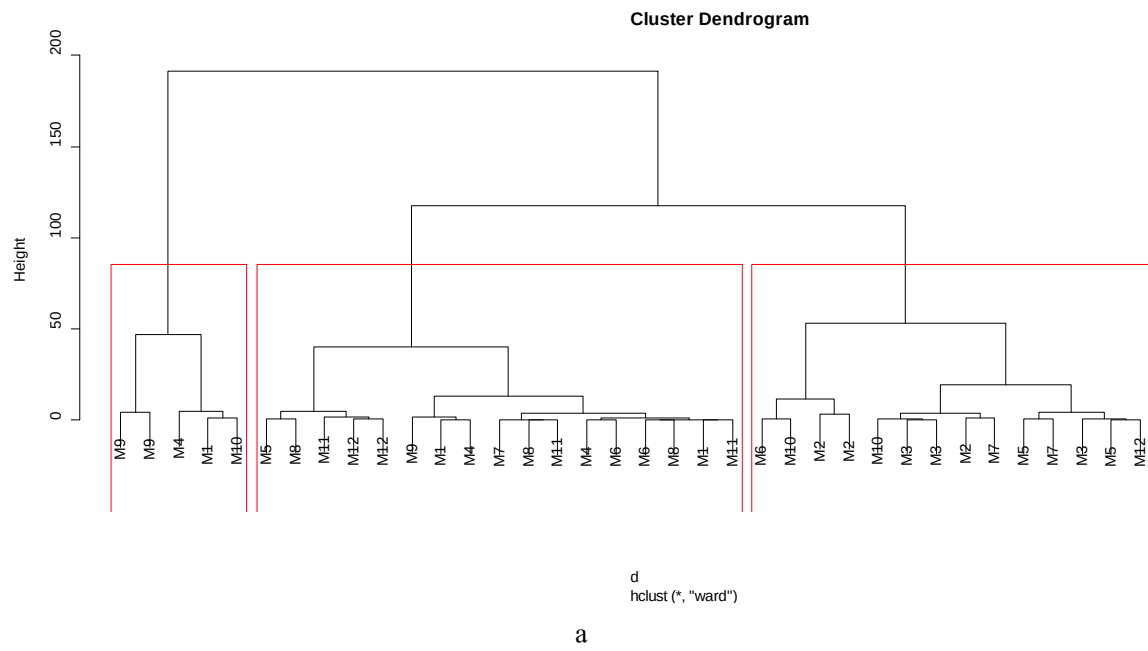
(1=มกราคม 2=กุมภาพันธ์ 3=มีนาคม 4=เมษายน 5=พฤษภาคม 6=มิถุนายน 7=กรกฎาคม 8=สิงหาคม 9=กันยายน 10=ตุลาคม 11=พฤศจิกายน 12=ธันวาคม)



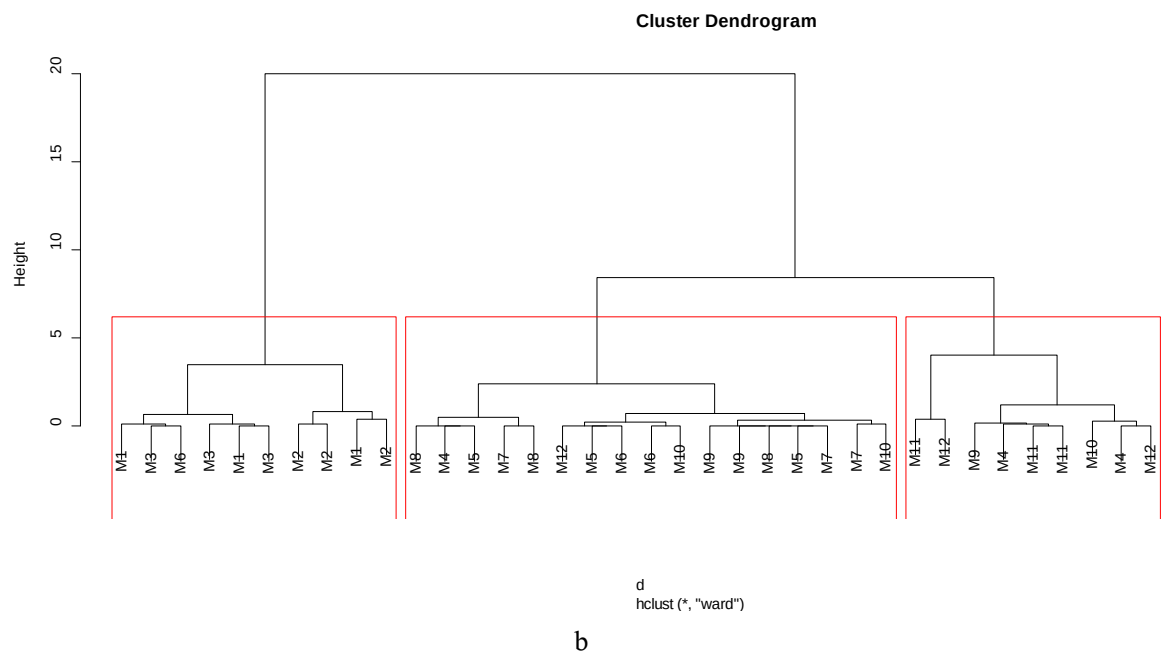
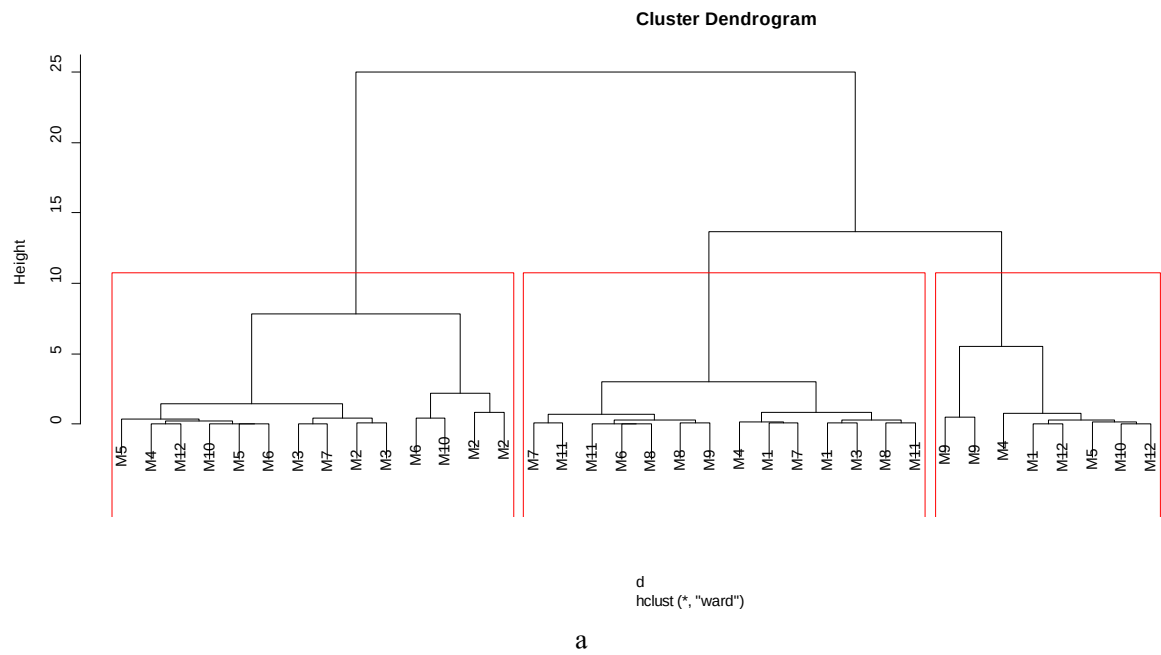
ภาพที่ 7 ดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลาดุกอุยเพศเมียและเพศผู้ในรอบปี ($P < 0.05$)

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

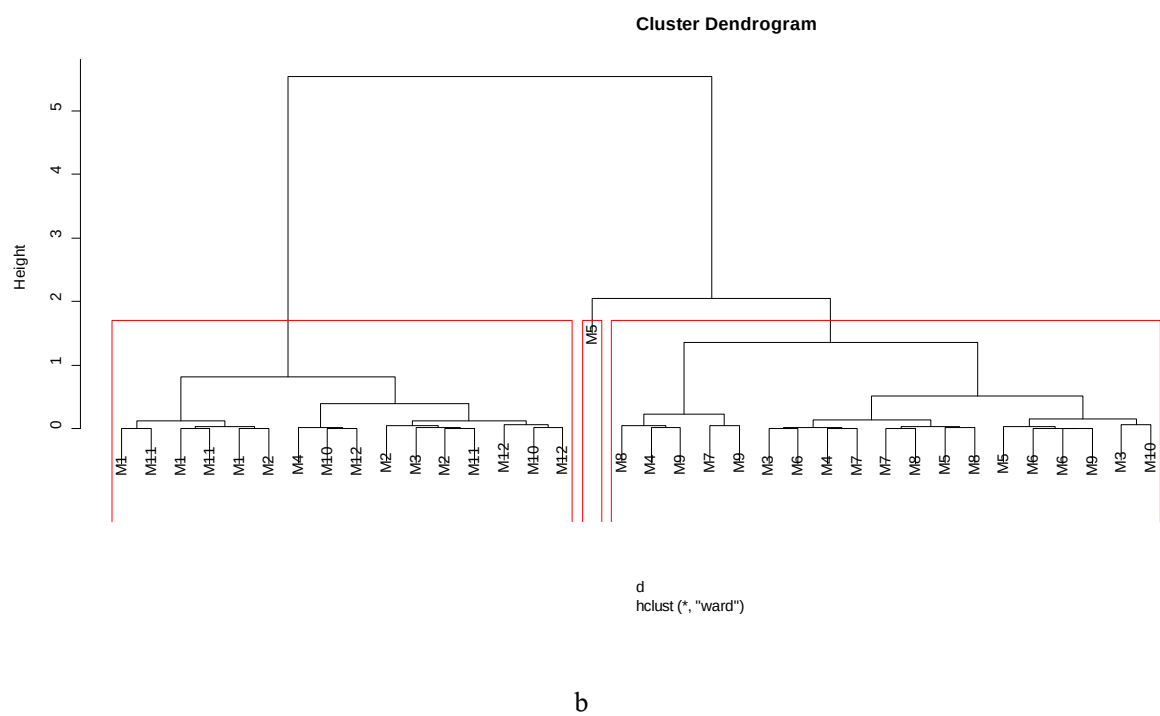
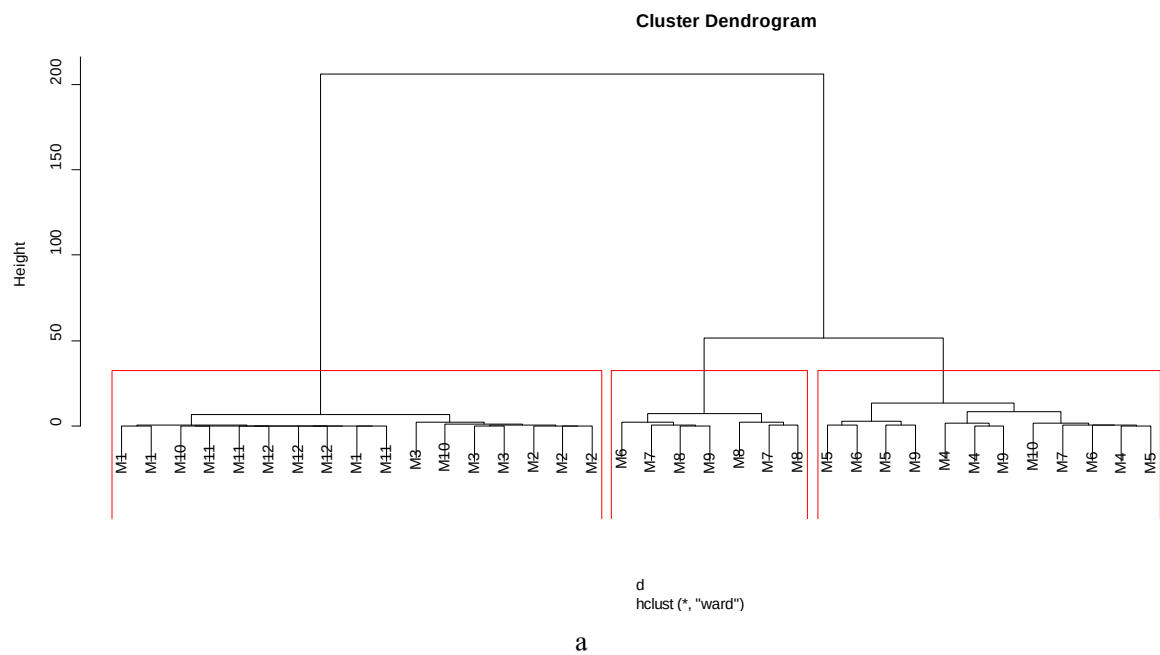
การจัดกลุ่มน้ำหนักเพศเมียของปลาดุกอุยในรอบปีไม่ชัดเจน ในขณะที่น้ำหนักเพศผู้มีการแบ่งกลุ่มที่ค่อนข้างชัดเจน โดยสามารถแยกได้เป็น 1) เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2) เดือนมีนาคม-สิงหาคม และ 3) เดือนกันยายน-ธันวาคม (ภาพที่ 8) เช่นเดียวกันกับการจัดกลุ่มความยาวเพศเมียที่ไม่ชัดเจน ในขณะที่ความยาวของเพศผู้จะค่อนข้างชัดเจน 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 (ช่วงก่อนและหลังฤดูผสมพันธุ์) และ 2) เดือนมีนาคม-กันยายน (ช่วงฤดูผสมพันธุ์) (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 8 การจัดกลุ่มน้ำหนักรักปลาอุกอุยเทศเมีย (a) และเทศผู้ (b)



ภาพที่ 9 การจัดกลุ่มความยาวปลาดุกอุยเพศเมีย (a) และเพศผู้ (b)



ภาพที่ 10 การจัดกลุ่มดัชนีความสมบูรณ์เพศปลาอุกอุยเพชเมีย (a) และเพชผู้ (b)

จากการจัดกลุ่มน้ำหนักและความยาวของปลาอุกอุยเทศเมียในรอบปีที่ไม่ชัดเจน อาจเนื่องมาจากน้ำหนักและขนาดของรังไข่ที่แตกต่างกัน และ ปลาจะต้องมีการใช้พลังงานไปเพื่อการสร้างและพัฒนาเซลล์ไข่ (oocytes) จึงทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลา สำหรับการจัดกลุ่มดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลาเทศเมีย จะมีความแตกต่างอย่างชัดเจน และสามารถแบ่งได้เป็นช่วงก่อนและหลังฤดูผสมพันธุ์ ช่วงเริ่มและช่วงปลายฤดูผสมพันธุ์ และ ช่วงสูงสุดของฤดูผสมพันธุ์ อาจเนื่องมาจากระบบสืบพันธุ์ของเทศเมียถูกควบคุมด้วยปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมากกว่าเพศผู้ 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	HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNLIKSI	LIDALAREFQKRK-P	59
African	HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNLIKSI	LIDTLARKFQKRK-P	59
Channel	HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNVLKS	ILLDALVKEFQKKK-K	59
Blue	HGWYPGGKREIDSYSSPEISGEIKLCEAGECSYLRPLRTNVLKS	ILLDALAREFQKRK-K	59
Goldfish	HGWYPGGKREIDVYDSSEVS	GEIKLCEAGKCSYLRPQGRNLIKTI	LLDAIRDSQKRK-H
Carp	HGWYPGGKREIDVYDTSEVSEEIKLCEAGKCSYLRPQGRNLIKTI	LLDALIRDFQKRK-H	59
Nile	HGWYPGGKRELD	SFGTSEISEEIKLCEAGECSYLRPQRRSILRNILLDALARELQKRK-H	59
	*****:* :.:*: *****:***** :.:*.*:.: :. **.*		
Thai	HQNIPWRHS--YFIRSSHWCGRMPLINPWV-ACVFTFM-V--H-VICV--SSSVKCI		108
African	HQNISWHHT--LLYSFFPLVWTNASANQPVGVS-MCVYFYVGLALSFFVICV--SSSVKCI		115
Channel	QFNHAPASS--SLFLR--HLSEHTHTLLIRG-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-----SYNKTFILE---		121
Goldfish	-TYTASTM-QFAAVPTIKALFWYF		138
Carp	-TYTASTM-PFAAVPTIKALFC--		132
Nile	-----CPRIKYL-F-Y-		111

ภาพที่ 11 ลำดับกรดอะมิโนของยีน *CH-GnRH* ในปลาอุกอุย (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 หนึ่งในรูปแบบของยีนที่จะพบได้ในปลาทุกชนิดคือ *CH-GnRH* (Miranda และคณะ, 2003)

ในการแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ในเนื้อเยื่อสมองในรอบปี จะมีความชัดเจนมากกว่าบริเวณต่อมใต้สมอง และ อวัยวะสืบพันธุ์ เนื่องจากสมองเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่สร้างยีน *GnRH* โดยจะพบการสร้างยีน *CH-GnRH* ที่บริเวณสมองส่วนกลาง (midbrain) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่แตกต่างไปจากตำแหน่งกำเนิดของยีน *GnRH* ในรูปแบบอื่น (Dellovade และคณะ, 1993; Vickers และคณะ, 2004; Gopinath และคณะ, 2004) ในขณะที่การแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองและอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปีพบว่า มีความคล้ายคลึงกันในปลาเพศเมียและเพศผู้ จึงมีความเป็นไปได้ว่า รูปแบบของยีน *CH-GnRH* อาจจะไม่ใช่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ 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 (2004)
	CH-GnRH	-	-	
Red seabream	sGnRH	-	-	Okuzawa และคณะ (2003)
	CH-GnRH	-	-	
	sbGnRH	sbGnRH	-	
Rainbow trout	sGnRH-1	CH-GnRH	sGnRH-1	Uzbekova และคณะ (2001)
	sGnRH-2	-	sGnRH-2	
Goldfish	sGnRH	CH-GnRH	-	Klausen และคณะ (2001)
Turbot	sGnRH	sGnRH	-	Andersson และคณะ (2001)
	CH-GnRH	sbGnRH	-	
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 และการปล่อยน้ำเชื้อ 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* ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในปลาตุกอย เพื่อที่จะนำไปดำเนินการศึกษาการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อสมอง ต่อมใต้สมอง และ อวัยวะสืบพันธุ์ ซึ่งจะสามารถนำมาเปรียบเทียบกับแสดงออกของยีน *CH-GnRH* ได้

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

กิตติกรรมประกาศ

- 1.คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- 2.โครงการจัดตั้งงานส่งเสริมการวิจัย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

เอกสารอ้างอิง

- สุจินต์ หนูขวัญ, มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ ปรัชชัย วีรสิทธิ์. 2533. การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาคูกอุยและปลาคูกเทศ ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 วันที่ 29-31 มกราคม 2533. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตวสัตวแพทย์ และประมง, กรุงเทพฯ, หน้า 553-567.
- Amano, A., Takahashi, A., Yamanome, T., Okubo, K., Aida, K., Yamamori, K., 2002. Molecular cloning of three cDNAs encoding different GnRHs in the brain of barfin flounder. *General and Comparative Endocrinology* 126: 325-333.
- Amano, M., Okubo, K., Yamanome, T., Yamada, H., Aida, K., Yamamori, K., 2004. Change in brain GnRH mRNA and pituitary GnRH peptide during testicular maturation in barfin flounder. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 138: 435-443.
- Andersson, E., Fjellidal, P.G., Klenke, U., Vikingstad, E., Taranger, G.L., Zohar, Y., Stefansson, S.O., 2001. Three forms of GnRH in the brain and pituitary of the turbot, *Scophthalmus maximus*: immunological characterization and seasonal variation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 129: 551-558.
- Bogerd, J., Zandbergen, T., Andersson, E., Goos, H., 1994. Isolation, characterization and expression of cDNAs encoding the catfish-type and chicken-II-type gonadotropin-releasing-hormone precursors in the African catfish. *European Journal of Biochemistry* 222: 541-549.
- Chong, A.S.C., Ishak, S.D., Osman, Z., Hashim, R., 2004. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture* 234: 381-392.
- Drori, S., Ofir, M., Sivan, B.L., Yaron, X., 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with methoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture* 119: 393-407.
- Dubois, E.R., Zandbergen, M.A., Peute, J., Goos, H.J.Th., 2002. Evolutionary development of three gonadotropin releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. *Brain Research Bulletin* 57: 413-418.
- Gopinath, A., Tseng, L.A., Whitlock, K.E., 2004. Temporal and spatial expression of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the brain of developing zebrafish (*Danio rerio*). *Gene Expression Patterns* 4: 65-70.

- Hassin, S., de Monbrison, D., Hanin, Y., Elizur, E., Zohar, Y., Popper, D.M., 1997. Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus* 1. Growth and reproduction. *Aquaculture* 156: 305-316.
- Heyrati, F.P., Mostafavi, H., Toloei, H., Dorafshan, S., 2007. Induced spawning of katum, *Rutilus frisii katum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala⁶, Pro⁹-NEt) GnRH α combined with domperidone. *Aquaculture* 265: 288-293.
- Kim, J., Hayton, W.L., Schultz, I.R., 2006. Modeling the brain-pituitary-gonad axis in salmon. *Marine Environmental Research* 62: S426-432.
- Klausen, C., Chang, J.P., Habibi, H.R., 2001. The effect of gonadotropin-releasing hormone on growth hormone and gonadotropin subunit gene expression in the pituitary of goldfish, *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 129: 511-516.
- Kudo, H., Hyodo, S., Ueda, H., Hiroi, O., Aida, K., Hany, I., Hasegawa, Y., Miyamoto, K., 1996. Cytophysiology of gonadotropin-releasing hormone neurons in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) forebrain before and after upstream migration. *Cell Tissue Research* 284: 261-267.
- Kumakura, N., Okuzawa, K., Gen, K., Yamakuchi, S., Lim, B-S., Kagawa, H., 2004. Effects of gonadotropin-releasing hormone on pituitary-ovarian axis of one-year old pre-pubertal red-seabream. *General and Comparative Endocrinology* 138: 105-112.
- Lethimonier, C., Madigou, T., Munoz-Cueto, J-A., Lareyre, J-J., Kah, O., 2004. Evolutionary aspects of GnRHs, GnRH neuronal systems and GnRH receptors in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology* 135: 1-16.
- Millar, R.P., 2003. GnRH II and type II GnRH receptors. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 14: 35-43.
- Na-Nakorn, U., 1999. Genetic factors in fish production: a case study of the catfish *Clarias*. In: Mustafa, S. (Ed.), *Genetic in Sustainable Fisheries Management*. Fishing News Books, London, pp. 175-187.
- Parhar, I.S., Koibuchi, N., Saki, M., Iwata, M., Yamoaka, S., 1994. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH): Expression during salmon migration. *Neuroscience Letters* 172: 15-18.
- Parhar, I.S., Pfaff, D.W., Fukuda, M.S., 1996. Gonadotropin-releasing hormone gene expression in teleosts. *Molecular Brain Research* 41: 216-227.

- Samoza, G.M., Miranda, L.A., Strobl-Mazzulla, P., Guilgur, L.G., 2002. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH): from fish to mammalian brains. *Cellular and Molecular Neurobiology* 22: 589-609.
- Suzuki, K., Gamble, R., Sower, S., 2000. Multiple transcripts encoding lamprey gonadotropin-releasing hormone-I precursors. *Journal of Molecular Endocrinology* 24: 365-376.
- Tan-Fermin, J.D., 1992. Induction of oocyte maturation and ovulation in the freshwater Asian catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther). *Journal of Applied Ichthyology* 8: 90-98.
- Tan-Fermin, J.D. 1997. LHRHa and pimozone-induced spawning of Asian catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther) at different times during an annual reproductive cycle. *Aquaculture* 148: 323-331.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulation of spawning induction in cultured fish from hormone to gene. *Aquaculture* 197: 99-139.