

Thesis Title Development of Sex Reversal Method for Thai Red Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) by Using 17 α - Methyltestosterone, Fluoxymesterone and Mesterolone Hormones

Author Mr. Keravit Petchjul

Degree Doctor of Philosophy (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Jiradej Manosroi Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Duang Buddhasukh Member

Dr. Supattra Uraiwan Member

ABSTRACT

The objective of this study was to develop the sex reversal method for Thai Red Tilapia by Using 17 α - Methyltestosterone, Fluoxymesterone and Mesterolone Hormones. The fry of Thai Red Tilapias, the hybrid fish between *Oreochromis niloticus* Linn. and *O. mossambicus* Linn were all male sex reversed using fish feeds containing different concentrations of male sex hormones. The chromosomal constitution of this hybrid were also investigated using high quality metaphase preparations obtained from their bone marrow. The diploid chromosome of the hybrid and its parents consisted of 22 chromosome pairs ($2n = 44$). However, the morphology of their chromosome types were different. The karyotypes of *O. niloticus* consisting of 18 subtelocentric (st), 26

acrocentric (a) whereas 6 submetacentric (sm), 10 st, 28 a and 2 sm 6 st, 36 a were observed in *O. mossambicus* and Thai Red Tilapia respectively. The arm numbers of *O. niloticus*, *O. mossambicus* and Thai Red Tilapia were 62, 60 and 52 respectively. The heterochromatic of the short arms of all Tilapias were also observed. The effects of the synthetic androgen, 17 α -methyltestosterone (17MT) on the sex reversal and gonadal development of Thai Red Tilapia were investigated. The fish feeds containing three different concentrations of 17MT (40, 60 and 80 mg/ kg fish feed) were formulated. The fry of 4 days old was fed with the hormone feeds for 21 days. All fish feed formulae containing 17MT showed higher growth rate and sex reversal than the control groups with the maximum growth rate of 1.55 g /d and 95.24% males at 60 mg of 17MT /kg fish feed. There were no significant differences in survival rate between the 17MT treated fish and the control group ($P < 0.05$). The morphological and histological studies demonstrated that 17MT affected sex differentiation. At higher hormonal doses (80 mg/ kg fish feed), the higher percentage of intersex and sterile fish was increased. For the effects of fluoxymesterone on sex reversal and gonadal development of Thai Red Tilapia, the fry of 4 days old was fed with feeds containing three different concentrations of fluoxymesterone (40, 60 and 80 mg/ kg fish feed) for 21 days. Fry fed with 40 mg/ kg fish feed of fluoxymesterone showed the highest growth rate of 1.53 g/ d and 96.10% of males reversal. Higher dose of fluoxymesterone at 60 and 80 mg/ kg fish feed increased the percentage of intersex and sterile fish. Higher growth rate of fish treated with fluoxymesterone in comparison to the control groups was observed. However, no

significant differences in survival rate between the fluoxymesterone treated and the control groups were seen ($P < 0.05$). For mesterolone, the fry of 4 days old was fed with the hormone feeds contained three different concentrations of mesterolone (40, 60 and 80 mg/ kg fish feed) for 21 days. Different concentrations of mesterolone have different effects on growth rate and sex reversal of the Thai Red Tilapia. The morphological and histological studies demonstrated that mesterolone affects sex differentiation and can be used to control the phenotypic sex of the Thai Red Tilapia. Fish feed containing mesterolone 60 mg/ kg fish feed gave the maximum growth rate of 1.52 g/ d and the highest percentage of males of 94.60%. An increase in the hormonal doses (80 mg/ kg fish feed) increased the percentage of intersex and sterile fish. Higher growth rate of all the fish treated with mesterolone in comparison to the control groups was demonstrated. However, no significant differences in survival rate between the mesterolone treated fish and controls were observed ($P < 0.05$). No residual of 17α -methyltestosterone, fluoxymesterone and mesterolone in 5 months old fish was detected.

This study suggested that, 17α -methyltestosterone, fluoxymesterone and mesterolone can be efficiently used for sex reversal in the hybrid, Thai Red Tilapia with the maximum sex reversion of 96.10 % in fluoxymesterone with no residual hormones detected in 5 months old fish.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาวิธีการเปลี่ยนเพศปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทยโดยใช้ ฮอร์โมน 17 อัลฟ่าเมทิลเทสโทสเตอโรน ฟลูออกซีเมสเทอโรน และเมสเทอโรโลน	
ผู้เขียน	นายกีรวิชญ์ เพชรจุล	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. จีระเดช มโนสร้อย	ประธานกรรมการ
	รองศาสตราจารย์ ดร. คัง พุทธศุภร์	กรรมการ
	ดร. สุภัทรา อุไรวรรณ	กรรมการ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ การพัฒนาวิธีการผลิตปลานิลสีแดงเปลี่ยนเพศด้วย
ฮอร์โมน 17 อัลฟ่าเมทิลเทสโทสเตอโรน ฟลูออกซีเมสเทอโรนและเมสเทอโรโลน ปลานิล
สีแดงเกิดจากลูกผสมระหว่างปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.) และปลาหมอเทศ
(*O. mossambicus* Linn.) สามารถเปลี่ยนเพศให้เป็นเพศผู้ทั้งหมดโดยใช้อาหารผสม
ฮอร์โมนเพศชายผสมอาหารปลาในระดับความเข้มข้นต่างกัน การศึกษาลักษณะโครโมโซม
ของปลานิลสีแดงลูกผสมและปลาในกลุ่มของปลานิล ทำให้ได้โดยการเตรียมเมตาเฟสที่มี
คุณภาพสูงจากไจกระดูกของปลา จากการศึกษพบว่า จำนวนโครโมโซมมี 22 คู่ ($2n = 44$)
อย่างไรก็ตาม ลักษณะของโครโมโซมจะแตกต่างกัน ลักษณะของโครโมโซมเป็นแท่งสั้น ๆ
โดยคาร์ิโอไทป์ของปลานิลพบซับริโละเซนตริก 18 อัน และอะโครเซนตริก 26 อัน ต่างจาก
ปลาหมอเทศพบ ซับริโละเซนตริก 6 อัน ซับริโละเซนตริก 10 อัน และ อะโครเซนตริก 8
อัน และในปลานิลสีแดงลูกผสมพบว่ามี ซับริโละเซนตริก 2 อัน ซับริโละเซนตริก 6 อัน และ
อะโครเซนตริก 36 อัน การศึกษาจำนวนแขน พบว่า โครโมโซมของปลานิลมี 62 อัน
ปลาหมอเทศ 60 อัน และปลานิลสีแดงลูกผสม 52 อัน ตามลำดับ พบว่า การศึกษาถึง
ฮอร์โมนเพศชายสังเคราะห์ชนิด 17 อัลฟ่าเมทิลเทสโทสเตอโรน มีผลต่อการเปลี่ยนเพศและ
การพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ของปลานิลสีแดงลูกผสม โดยการเตรียมอาหารผสมฮอร์โมน 17
อัลฟ่าเมทิลเทสโทสเตอโรน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 40 60 และ 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1

กิโลกรัม โดยให้ลูกปลาอายุ 4 วัน กินเป็นระยะเวลา 21 วัน โดยจากการทดลองปลาที่ได้รับฮอร์โมนทั้ง 3 ระดับจะมีอัตราการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงเพศมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ปลาที่ได้รับฮอร์โมน 17 อัลฟาเมธิลเทสโทสเตอโรนในระดับความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการเจริญเติบโต 1.55 กรัมต่อวัน และมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศผู้ 95.24 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างระหว่างอัตราการรอดตายระหว่างกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($P < 0.05$) และลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นสูง (80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) จะพบลักษณะเพศกระเทยและการเป็นหมันในเปอร์เซ็นต์ที่สูงขึ้นด้วย จากการศึกษาฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเพศ และการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ของปลานิลสีแดงลูกผสม โดยให้อาหารผสมฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรน 3 ระดับ คือ 40 60 และ 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้ลูกปลาอายุ 4 วัน เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ลูกปลาที่ได้รับฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรนในระดับ 40 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการเจริญเติบโต 1.53 กรัมต่อวัน และมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศผู้สูง 96.10 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นของฮอร์โมนสูง 60 และ 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะเพิ่มเปอร์เซ็นต์ลักษณะเพศกระเทยและการเป็นหมันสูงตามไปด้วย อัตราการเจริญเติบโตของปลากลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรน จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างระหว่างอัตราการรอดตายของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรนและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($P < 0.05$) และการศึกษาฮอร์โมนเมสเตอโรโลนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเพศและการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ของปลานิลสีแดงลูกผสม โดยให้อาหารผสมฮอร์โมนเมสเตอโรโลน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 40 60 และ 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยให้ลูกปลาอายุ 4 วัน เป็นระยะเวลา 21 วันเท่ากัน พบว่า ลูกปลาที่ได้รับฮอร์โมนเมสเตอโรโลนในระดับความเข้มข้นต่างกัน จะมีอัตราการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงเพศต่างกัน ปลาที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมนเมสเตอโรโลน 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการเจริญเติบโต 1.52 กรัมต่อวัน และมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศผู้สูง 94.60 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของฮอร์โมนเป็น 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะเพิ่มลักษณะเพศกระเทยและการเป็นหมันสูงขึ้นไป อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างระหว่างอัตราการรอดตายระหว่างกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเมสเตอโรโลนและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ($P < 0.05$) จากการศึกษาฮอร์โมนดังกล่าวทั้ง 3 ชนิด

ไม่พบฮอร์โมน 17 อัลฟาเมธิลเทสโทสเตอโรน ฟลูออกซีเมสเตอโรนและเมสเตอโรโลน
ตกค้างอยู่ในเนื้อปลาหลังจากเลี้ยงนาน 5 เดือน

การศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ฮอร์โมน 17 อัลฟาเมธิลเทสโทสเตอโรน ฟลูออกซี
เมสเตอโรนและเมสเตอโรโลน สามารถใช้เปลี่ยนเพศปลานิลสีแดงลูกผสมให้เป็นเพศผู้ได้
โดยฮอร์โมน 17 อัลฟาเมธิลเทสโทสเตอโรนให้อัตรากาการเปลี่ยนเพศ 95.24 เปอร์เซ็นต์
ฮอร์โมนฟลูออกซีเมสเตอโรนให้อัตรากาการเปลี่ยนเพศ 96.10 เปอร์เซ็นต์ และฮอร์โมนเมสเตอ
โรโลนให้อัตรากาการเปลี่ยนเพศ 94.60 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบฮอร์โมนตกค้างในปลาหลังจาก
ใช้ระยะเวลาเลี้ยงนาน 5 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved