



การประมาณค่าอัตราพันธุกรรมและค่าศักยภาพทางพันธุกรรมลักษณะการรอดตายในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่ได้รับเชื้อ Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)

ปัญญา แซ่ลิ้ม^{1,2*} จำริญศรี ถาวรสุวรรณ³, อีร์ยธิตย หอมสมบัติ³, จิราภรณ์ จรุงศรีอภิสิทธิ์⁴, ศรัณย์สิริ นวลมณี³, วรสิทธิ์ จินพันธุ์⁵ จุฑาพร ไชยมงคล⁵ อัครา ไชยมงคล⁵

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช

²MOWI Genetics AS, Norway

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา 130/2 ต. พะวง อ.เมือง จ. สงขลา 90100

⁴กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ 50 เกษตรกลาง แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

⁵ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา

บทคัดย่อ

ปลากะพงขาวเป็นสัตว์น้ำชายฝั่งที่มีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจของประเทศไทย อย่างไรก็ตาม ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังประสบปัญหาการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในระหว่างการเกิดโรคระบาดที่ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งในด้านต้นทุนการผลิตและผลผลิตปลากะพงขาว หนึ่งในโรคระบาดที่กำลังมีความสำคัญในปลากะพงขาว คือโรคที่เกิดจากเชื้อ infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) สามารถก่อให้เกิดการตายสูงอยู่ในช่วงระหว่าง 40 ถึง 50% วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการประเมินความเป็นไปได้ในการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำผ่านการใช้ประโยชน์จากอติพลทางพันธุกรรมที่อธิบายการรอดตายหลังการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากะพงขาวที่มีการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมพื้นถิ่นภายใต้โครงการความร่วมมือไทยญี่ปุ่น (Thai Fish Project) และหัวข้อวิจัยนี้ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนทั้งในระดับชาติและระดับนานาชาติ จากการแยกองค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยวิธี restricted maximum likelihood (REML) ในปลากะพงขาว 39 ครอบครัวที่มีการรับเชื้อ ISKNV ด้วยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องจำนวน 1,035 ตัว เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าอัตราพันธุกรรม (h^2) ลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) มีค่าเท่ากับ 0.285 (SE = 0.12) และอติพลสิ่งแวดล้อมร่วม (c^2) มีค่าเท่ากับ 0.01 (SE = 0.04) และอัตราพันธุกรรมในลักษณะระยะเวลาการรอดตาย (survival days) มีค่าเท่ากับ 0.238 (SE = 0.10) และอติพลสิ่งแวดล้อมร่วมมีค่าเท่ากับ 0.01 (SE = 0.03) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานทางพันธุกรรมลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) มีค่าเท่ากับ 26.8% คิดเป็น 50.6% ของค่าเฉลี่ย ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่สูงมากในปลากะพงขาว จากการประมาณค่าและการคัดเลือกอ้างอิงค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (BLUP-estimated breeding values) ของลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) และลักษณะระยะเวลาการรอดตายนั้น แสดงให้เห็นถึงอัตรารอดตายเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 25.4% ต่อรุ่น ถือได้ว่าเป็นระดับการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่สูง โดยสรุป ผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ปลากะพงขาวเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการรอดตายจากโรค ISKNV และสามารถลดการสูญเสียในระหว่างการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว หากเกษตรกรไทยสามารถเข้าถึงลูกพันธุ์ปลากะพงขาวที่กำลังมีการพัฒนาพันธุ์โดยกรมประมงจะสามารถลดความสูญเสียได้ประมาณ 155 ล้านบาทต่อปี และสามารถยกระดับความสามารถในการแข่งขันของเกษตรกรไทย

คำสำคัญ : การรอดตายจากเชื้อ ISKNV ปลากะพงขาว ผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์ อัตราพันธุกรรม

ผู้รับผิดชอบ 133 หมู่ 5 ต.ทุ่งใหญ่ อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช 80240 E-mail: panya.sae@gmail.com



Estimation of Heritability and Breeding Values for Survival to Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus (ISKNV) Challenge Test in Asian Seabass (*Lates calcarifer*)

Panya Sae-Lim^{1,2*}, Jumroensri Thawonsuwan³, Theeyathart Homsombat³, Jiraporn Jaroongsriapisit⁴, Saransiri Nuanmanee³, Waritthon Jinuphun⁵, Jutaporn Chaimongkol⁵, and Atra Chaimongkol⁵

¹ Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Srivijaya

² MOWI Genetics AS, Norway

³ Coastal Aquaculture Technology and Innovation Research and Development Center

⁴ Songkhla Aquatic Animal Health Research and Development Center 130/2 Pawong, Muang, Songkhla 90100

⁵ Aquatic Animal Health Research and Development Division 50 Kasert Klang, Jatujak, Bangkok 10900

Abstract

Asian seabass (*Lates calcarifer*) is a coastal aquatic species, and it is economically important species in Thailand. To date, Asian seabass farming in Thailand is facing several challenges including disease outbreaks. One of the increasingly important diseases in Asian seabass is infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) which can cause substantial mortality up to 50%, leading to significant production and economic losses. So far there has not been a study on the possibility of selective breeding for higher survival to ISKNV outbreak. The objectives of this study were to estimate additive genetic variance using REML, heritability for binary survival and survival days to ISKNV IP challenge test for 45 days, as well as estimated breeding values in 1,035 Asian seabass from 39 families. The heritability estimate for binary survival (alive = 1 | dead = 0) was 0.285 (SE = 0.12) and for survival days was 0.238 (SE = 0.10). The common effects to full-sib families (c^2) were low for both traits (0.10). The additive genetic standard deviation of binary survival was 26.8% which was 50.6% of the trait mean, indicating high genetic potential for selective breeding in this population. Selection on BLUP-EBVs for binary survival resulted in higher average survival by 25.4% per generation. In conclusion, this study demonstrates, for the first time, the possibility to improve survival ISKNV and reduce production and economic loss by genetic selection based on BLUP-EBVs. The economic impact of using genetic seeds from this breeding programme run by Department of Fisheries, Thailand is estimated to be 155 million per production year.

Key words: Asian seabass, economic impact, heritability, survival to ISKNV, variance components

*Corresponding author: 133 Mu 5 Thung Yai, Nakhon Si Thammarat, Thailand, 80240 E-mail: panya.sae@gmail.com



คำนำ

ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) เป็นหนึ่งในสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคอย่างแพร่หลาย ทั้งการเพาะเลี้ยงในบริเวณชายฝั่ง การเพาะเลี้ยงในน้ำกร่อย ตลอดจนการเพาะเลี้ยงในน้ำจืด จากสถิติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการรายงานโดยกรมประมงที่มีการรายงานในปี 2565 พบว่า การผลิตปลากระพงขาวจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีปริมาณรวม 45,415 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,560 ล้านบาท แม้ข้อมูลสถิติการประมงบ่งชี้ถึงผลผลิตปลากระพงขาวและมูลค่าทางเศรษฐกิจที่สูง การเพิ่มผลผลิตปลากระพงขาวจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังคงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องมีการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง หนึ่งในปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ ลูกพันธุ์ที่มีคุณภาพจากกระบวนการปรับปรุงพันธุ์และมีการจัดการหรือการควบคุมการผสมเลือดชิดอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งศักยภาพด้านการเพาะเลี้ยงของปลากระพงขาวประกอบด้วย ลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะการรอดตายต่อโรคระบาดที่เกิดขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยง ดังนั้นการพัฒนาพันธุ์ปลากระพงขาวจำเป็นต้องมีการพิจารณาถึงลักษณะทั้งการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในระหว่างการเลี้ยง

หนึ่งในโรคระบาดที่กำลังมีความสำคัญในปลากระพงขาวที่มีการเพาะเลี้ยงในบริเวณชายฝั่ง หรือในพื้นที่ที่มีน้ำกร่อย คือโรคที่เกิดจากเชื้อ Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) โดยปลากระพงขาวที่มีการติดเชื้อ ISKNV จะมีลักษณะอาการภายนอก ได้แก่ ตัวมีสีคล้ำ เหงือกซีด ตามีสีแดง และลักษณะอาการภายในคือ ม้ามบวมโต (splenomegaly) ปี (Dong et al., 2017) จากการเก็บข้อมูลการตายที่เกิดจากการระบาดของเชื้อ ISKNV ในฟาร์มเกษตรกรหลายแห่งโดยกรมประมงพบว่าสามารถก่อให้เกิดการตายสูงอยู่ในช่วงระหว่าง 40 ถึง 50% (จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ, ติดต่อส่วนตัว) จากข้อมูลการสูญเสียผลผลิตปลากระพงขาวที่มีการรายงานในประเทศไทยในระหว่างปี 2012 ถึง 2014 มีมูลค่าสูงถึง \$435,810 ต่อปี (Dong et al., 2017) ถือเป็นความสูญเสียต่ออุตสาหกรรมการผลิตปลากระพงขาวอย่างมาก

การพัฒนาพันธุ์ปลากระพงขาวที่มีศักยภาพทางพันธุกรรมในการทนทานหรือรอดตายเมื่อมีการระบาดของ ISKNV ขึ้น เป็นแนวทางการจัดการและใช้ประโยชน์ทางพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากการกระจายพันธุ์ที่ดีไปยังทั่วทุกภูมิภาคของประเทศมีต้นทุนในการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำรูปแบบอื่น เช่น การให้วัคซีนกับสัตว์น้ำ หรือการให้อาหารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีการศึกษาทางพันธุกรรมลักษณะการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากระพงขาวของไทย จึงทำให้ยังขาดข้อมูลที่สำคัญ เช่น ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (additive genetic variance) การประมาณค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) การประมาณค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (estimated breeding values) และการประเมินความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์ (response to selection) ซึ่งการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่มีการริเริ่มการทดสอบการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากระพงขาวที่สร้างขึ้นโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่ง ภายใต้โครงการ Utilization of Thailand Local Genetic Resources to Develop Novel Farmed Fish for Global Market ซึ่งเป็นความร่วมมือระหว่างกรมประมงกับรัฐบาลญี่ปุ่นผ่านองค์กรความร่วมมือระหว่างประเทศแห่งญี่ปุ่น (Japan International Cooperation Agency หรือ JICA) ซึ่งการพัฒนาพันธุ์ปลากระพงขาวในระยะนี้ มีการดำเนินงานตามแผนการปรับปรุงพันธุ์ (breeding programme) โดยมีการตั้งวัตถุประสงค์การปรับปรุงพันธุ์ (breeding objective) ที่ครอบคลุมทั้งลักษณะการเจริญเติบโต ลักษณะต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อ Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) และลักษณะทนทานต่อการลดลงของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ด้วยวัตถุประสงค์การปรับปรุงพันธุ์ดังกล่าว ส่งผลให้พันธุ์ปลากระพงขาวมีทั้งลักษณะการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำหรือการเกิดโรคระบาด

รายงานผลการวิจัยฉบับนี้มุ่งเน้นการศึกษาความเป็นไปได้ของการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำผ่านการใช้ประโยชน์จากอิทธิพลทางพันธุกรรมที่อธิบายการรอดตายหลังการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากระพงขาว การศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ด้วยกระบวนการคัดเลือกอ้างอิง best linear unbiased prediction (BLUP) EBVs เพื่อให้ได้สายพันธุ์ปลากระพงขาวที่มีความสามารถในการรอดตายจากโรค ISKNV ในระหว่างการเพาะเลี้ยงปลากระพงขาว



หากเกษตรกรไทยสามารถเข้าถึงลูกพันธุ์ปลากะพงขาวที่ดีมีคุณภาพ และมีอัตราการรอดตายจากการระบาดของ ISKNV สูงขึ้น ควบคู่กับการจัดการการเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพ ย่อมส่งผลกระทบเชิงบวกต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวอย่างกว้างขวาง และเป็นการสนับสนุนให้เกษตรกรไทยมีความสามารถในการแข่งขันในเวทีระดับชาติและระดับนานาชาติ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาองค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยวิธีการประมาณค่าแบบ restricted maximum likelihood (REML) สำหรับใช้ในการประมาณค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) และเพื่อประมาณค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (estimated breeding values หรือ EBVs) ลักษณะการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากะพงขาวที่มีการสร้างขึ้นเพื่อการปรับปรุงพันธุ์โดยกรมประมง

วิธีดำเนินการ

การศึกษานี้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่ง และศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา โดยใช้ระยะเวลาในการดำเนินการ 2 ปี 6 เดือน (เมษายน 2563 ถึง ธันวาคม 2565)

1. ประชากรปรับปรุงพันธุ์

รวบรวมปลากะพงขาวในช่วงปี 2562- 2563 จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งภายใต้สังกัดกองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ฟาร์มเลี้ยงปลาเอกชน และแหล่งน้ำธรรมชาติ จากจังหวัดฉะเชิงเทรา สงขลา ภูเก็ต กระบี่ และตรัง สัตว์น้ำทุกตัวมีการเก็บไว้ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่งเพื่อปรับสภาพสิ่งแวดล้อมให้คุ้นชินกับรูปแบบการเลี้ยงแบบกักขัง (domestication) และนำมาใช้ในการสร้างประชากรพื้นฐานที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยดำเนินการผลิตลูกปลาประชากร P_0 (Parental population) ด้วยวิธีการผสมเทียมพ่อพันธุ์จำนวน 26 ตัว กับแม่พันธุ์จำนวน 22 ตัว ถูกฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน LHRHa เพื่อกระตุ้นให้ปลาตกไข่ และปล่อยน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียม 15 กลุ่มการผสมพันธุ์ ได้ครอบคลุมปลากะพงขาวจำนวน 51 ครอบครัว หลังจากไข่ปลาที่ได้รับการผสมและฟักเป็นตัวแล้ว ปลาแรกฟักจะถูกนำไปอนุบาลแยกครอบครัว ในถังพลาสติกขนาด 1,000 ลิตร เป็นระยะเวลา 150 วัน โดยมีการคัดขนาดเพื่อป้องกันการกินกันเอง ทุกสัปดาห์ สำหรับการอนุบาลจะดัดแปลงจากวิธีการของ Maneewong (1987) อนุบาลปลา และเลี้ยงในถังจนได้ปลาที่มีขนาดที่สามารถติดเครื่องหมายติดตามตัวสัตว์ (Passive Integrated Transponder, PIT tag) ได้ สุ่มปลากะพงขาวจำนวน 26.54 ตัวโดยเฉลี่ยจาก 39 ครอบครัว ได้ปลากะพงขาวจำนวน 1,035 ตัวเพื่อใช้ในการทดสอบการรับเชื้อ ISKNV

2. การแยกและการเตรียมเชื้อ ISKNV

2.1 ที่มาของเชื้อ ISKNV

เชื้อไวรัสไอเอสเคเอ็นวี (ISKNV) ที่ใช้สำหรับการทดสอบการรับเชื้อไวรัสครั้งนี้ แยกมาจากปลากะพงขาวฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา ผ่านการทดสอบยืนยันชนิดเชื้อโดยส่งหาลำดับเบสและยืนยันว่าเป็นเชื้อ Infectious spleen and kidney necrosis virus isolated NBFGR:ISKNV:C5 laminin like protein gene Accession Number MT224134

2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบ

ดำเนินการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส ISKNV ที่แยกได้จากปลาป่วยโดยใช้เซลล์ไลน์จากสมองปลากะพงขาว (DOF-LCBFC) ที่จัดตั้งขึ้น (จิราภรณ์, 2020) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของ L-15 และ 2% FBS เก็บไวรัสในวันที่ 5 หลัง



การเพาะซึ่งพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หรือ cytopathic effect (CPE) โดยปั่นเหวี่ยง supernatant ที่ 2000 x g เป็นเวลา 10 นาที และทำการวัดค่า infective titer ของเชื้อไวรัสโนดาที่ได้ โดยคำนวณ 50% tissue culture infectious dose (TCID50) ตามวิธีของ Reed and Muench (1983) และเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการฉีดให้ปลาด้วย L-15

การเก็บเกี่ยวเชื้อไวรัส ISKNV ดำเนินการโดย นำ plate เพาะเลี้ยงเซลล์ที่เกิดพยาธิสภาพ 50-70% แข็งแข็ง ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 30 นาที การเกิดผลึกน้ำแข็งจะทำให้เซลล์ทั้งหมดแตก แล้วไวรัสจะ leak ออกมาจากเซลล์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งละลาย นำสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวปริมาตร 15 มิลลิลิตร บั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที เก็บสารละลายส่วนใสด้านบน (supernatant) ใส่ในหลอดทดลองหลอดใหม่ เพื่อใช้สำหรับฉีดเชื้อไวรัสในปลากระพงขาว โดยเก็บรักษาที่ -80 °C จนกว่าจะใช้งาน

3. การทดสอบการยอมรับเชื้อ ISKNV

3.1 การเตรียมบ่อทดลอง

ใช้ระบบน้ำหมุนเวียนในการเลี้ยงปลากระพงขาวหลังการฉีดเชื้อ โดยเตรียมบ่อคอนกรีต ขนาด 15 ตัน จำนวน 6 บ่อ บรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อความเค็ม 8 พีพีที บ่อละ 13 ตัน หลังนำน้ำเข้าบ่อ รันระบบน้ำหมุนเวียนนาน 7 วัน เพื่อปรับระบบการหมุนเวียนน้ำให้มีความคงตัวของระบบกรองชีวภาพ และปรับอัตราการหมุนเวียนน้ำให้เหมาะสมกับระบบการเลี้ยง

3.2 การเตรียมปลาทดลอง การฉีดเชื้อและเลี้ยงปลาทดลอง

ลำเลี้ยงปลากระพงขาวจำนวน 39 ครอบครั้ว น้ำหนักเฉลี่ย 199.8 ± 83.9 กรัม ที่มีการติดเครื่องหมายแยกครอบครั้ว จากศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่ง มาয়สถานเลี้ยงสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา ทำการสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ซึ่งน้ำหนัก วัดความยาว และฉีดเชื้อ ISKNV เข้าช่องท้อง (Intraperitoneal injection) โดยฉีดตามน้ำหนักตัว 0.1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม น้ำหนักปลา ให้ได้ระดับเชื้อ 10^6 copies ต่อตัว และนำปลาแต่ละครอบครั้วกระจายลงเลี้ยงในบ่อเลี้ยง 6 บ่อ กำหนดน้ำหนักปลาต่อปริมาตรน้ำที่ 2.4-2.6 กิโลกรัม ต่อ น้ำ 1 ตัน แต่ละบ่อมีปลาทุกครอบครั้วเลี้ยงรวมกัน

3.3 การเลี้ยงปลาทดลองหลังการฉีดเชื้อ และการเก็บข้อมูล

เลี้ยงปลาหลังฉีดเชื้อด้วยอาหารสำเร็จรูป วันละ 2 ครั้ง เช้า - เย็น เป็นระยะเวลา 43 วัน ระหว่างการเลี้ยงปลาในช่วงวันที่ 20 -27 หลังฉีดเชื้อ ปรับลดระดับออกซิเจนให้อยู่ในระดับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร วันละ 4 ชั่วโมง เพื่อให้ปลาเกิดความเครียดเป็นการกระตุ้นความรุนแรงของเชื้อ บันทึกข้อมูลปลาตายทุกวัน นำปลาที่แสดงอาการป่วยตายตรวจยืนยันการติดเชื้อด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยเก็บตัวอย่างม้ามสกัดสารพันธุกรรมด้วยเครื่องสกัดอัตโนมัติ TACO นำไปตรวจเชื้อ ISKNV ด้วยวิธีการตรวจตามคู่มือการตรวจของกรมประมง (กรมประมง, 2563) ซึ่งอ้างอิงมาจากวิธีการที่แนะนำโดยองค์การสุขภาพสัตว์โลก (WOAH, 2021) ระหว่างการเลี้ยงปลาทดลอง ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงทุกบ่อโดยตรวจปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิทุกวัน และตรวจค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ค่าอัลคาไลน์ (Alkalinity) ความเค็ม (Salinity) แอมโมเนีย (Ammonia) ไนไตรท์ (Nitrite) ไนเตรท (Nitrate) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 การเปรียบเทียบความน่าจะเป็นของการรอดตายในระดับครอบครั้วที่ต่างกัน

การประมาณค่าความน่าจะเป็นของการรอดตายระดับครอบครั้วโดยใช้ตัวประมาณค่า Kaplan-Meier ซึ่งมีสมการที่ใช้ในการประมาณค่า:



$$\hat{S}(t_f) = \hat{S}(t_{f-1}) \times \hat{P}(T > t_f | T \geq t_{f-1})$$

โดยที่ค่า $\hat{S}(t_f)$ คือ ความน่าจะเป็นของการรอด ณ จุดเวลาที่เกิดเหตุการณ์ตาย (Failure time $t_{(f)}$) $\hat{S}(t_{f-1})$ คือ ความน่าจะเป็นของการรอด ณ จุดเวลาก่อนเกิดเหตุการณ์ตาย (Failure time $t_{(f-1)}$) และ $\hat{P}(T > t_f | T \geq t_{f-1})$ คือ ความน่าจะเป็นแบบมีเงื่อนไข (Conditional probability) ของการรอดตาย ณ จุดเวลา $t_{(f)}$ โดยมีเงื่อนไขต้องรอดตายผ่านช่วงเวลาทั้งหมดจนมาถึงจุดเวลา $t_{(f)}$ ดำเนินการประมาณค่าความน่าจะเป็นในการรอดตายของแต่ละครอบครัวใน R program พร้อมทั้งนำค่าความน่าจะเป็นของแต่ละครอบครัวมานำเสนอในรูปแบบ Kaplan-Meier curve ทั้งนี้ตัวประมาณค่าความน่าจะเป็นของการรอดตายเป็น non-parametric การดำเนินการทดสอบเพื่อเปรียบเทียบ Kaplan-Meier curve ของแต่ละครอบครัวว่ามีลักษณะของ curve ที่เหมือนกันในทางสถิติหรือไม่ จึงใช้วิธีการ Log-rank statistic ในรูปแบบการเปรียบเทียบหลายครอบครัว โดยตัวทดสอบทางสถิติจะมีการกระจายตัวตาม chi-square distribution โดยมีระดับความเป็นอิสระ (Degree of freedom) เท่ากับจำนวนครอบครัวทั้งหมดลบด้วย 1

4.2 การแยกองค์ประกอบความแปรปรวน

ข้อมูลการรอดตายของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ ISKNV มีการบันทึกในรูปแบบรหัสสองหลัก (binary) กำหนดให้รหัสข้อมูล 1 เป็นตัวระบุสถานะปลาที่ยังมีชีวิต และ 0 เป็นตัวระบุสถานะปลาที่ตาย ที่เวลาการบันทึกข้อมูล ณ จุดนั้น จากการวิเคราะห์ Kaplan-Meier curve สามารถระบุได้ว่าวันที่ 35 หลังการรับเชื้อ ISKNV เป็นจุดที่ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏมีค่าเข้าใกล้ค่าสูงที่สุด เนื่องจากอัตราการรอดตาย (52.9%) ของประชากรมีค่าใกล้เคียง 50% ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงใช้ข้อมูล ณ จุดเวลาที่ 35 วันหลังการฉีดเชื้อในการแยกองค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมออกจากความแปรปรวนของอัตราการรอดตาย นอกจากนี้ ระยะเวลาที่ปลารอดตาย (survival time) โดยพิจารณาจากจำนวนวันที่ปลารอดตายหลังได้รับเชื้อ เป็นลักษณะปรากฏที่มีการนำมาแยกองค์ประกอบความแปรปรวนเปรียบเทียบกับลักษณะที่เป็น binary survival ด้วย การวิเคราะห์การแยกองค์ประกอบความแปรปรวนใช้โมเดลทางคณิตศาสตร์ animal linear mixed model ซึ่งเป็นสมการที่มีองค์ประกอบของปัจจัยกำหนด (Fixed effects) และอิทธิพลแบบสุ่ม (Random effects) ในสมการเดียวกัน

$$y_{ijk} = \mu + tank_j + a_{ijk} + f_k + e_{ijk}$$

โดยที่ y_{ijk}	คือ ลักษณะปรากฏในรูปแบบ binary (รอดหรือตาย) หรือระยะเวลาการรอดตาย (survival day) ของสิ่งมีชีวิตในลำดับที่ j^{th} ที่ได้รับการสุ่มให้อยู่ในถังทดสอบเชื้อที่ j^{th} มาจากครอบครัวที่ k^{th}
μ	คือ ค่าเฉลี่ยของประชากร
$tank$	คือ ปัจจัยกำหนดของถังที่ใช้ในการทดสอบการรับเชื้อ ISKNV
a_{ijk}	คือ อิทธิพลของปัจจัยสุ่ม (random effect) ของสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวหรือ animal effect และมีการกระจายตัวตาม $N(0, A\sigma_a^2)$ โดย A คือ numerator additive relationship matrix
f_j	คือ อิทธิพลของปัจจัยสุ่ม (random effect) ของสิ่งแวดล้อมร่วมในระดับ full-sib family และมีการกระจายตัวตาม $N(0, I\sigma_f^2)$ โดย I คือ Identity matrix
e_{ijk}	คือ อิทธิพลของปัจจัยสุ่ม (random effect) ของส่วนที่สมการไม่สามารถอธิบายได้ (residual) และมีการกระจายตัวตาม $N(0, I\sigma_e^2)$

การแยกองค์ประกอบแปรปรวนใช้วิธีการประมาณค่าแบบ restricted maximum likelihood (REML) ใน ASReml v4.1 โดยการประมาณค่าจะสิ้นสุดลงเมื่อ log likelihood มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า 10^{-5} นำองค์ประกอบความ

แปรปรวนที่ได้มาคำนวณอัตราพันธุกรรม (heritability หรือ h^2) ตามสมการ $h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_f^2 + \sigma_e^2}$ โดย σ_a^2 คือ ตัวประมาณค่าความแปรปรวนของ additive genetic effect (อิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม) σ_f^2 คือ ตัวประมาณค่าความแปรปรวนของอิทธิพลสิ่งแวดล้อมร่วมภายในครอบครัว และ σ_e^2 คือ ตัวประมาณค่าความแปรปรวนของ residuals โดยความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ (σ_p^2) หลังมีการปรับอิทธิพลของปัจจัยกำหนดมีค่าเท่ากับ $\sigma_a^2 + \sigma_f^2 + \sigma_e^2$ และประมาณค่าอิทธิพลสิ่งแวดล้อมร่วม common effects to full-sib (c^2) = $\frac{\sigma_f^2}{\sigma_a^2 + \sigma_f^2 + \sigma_e^2}$ และการประมาณค่า SE สามารถดำเนินการโดยใช้วิธี Fisher's approximation ใน ASReml v4.1

4.3. การประมาณค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (EBVs)

ค่า EBVs ลักษณะการเจริญเติบโตถูกประมาณค่าโดยใช้สมการ mixed model equation ซึ่งมีคุณสมบัติตาม best linear unbiased prediction (BLUP) (Henderson, 1975):

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda\mathbf{A}^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\boldsymbol{\beta}} \\ \hat{\mathbf{u}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

โดยที่ $\mathbf{X}(\mathbf{X}')$ คือ incidence matrix (transpose matrix) ของปัจจัยกำหนด (fixed effects)

$\mathbf{Z}(\mathbf{Z}')$ คือ incidence matrix (transpose matrix) ของปัจจัยสุ่ม (random effect)

$\mathbf{y}$ คือ vector ของน้ำหนักตัวปลาเพศผู้

$\hat{\boldsymbol{\beta}}$ คือ vector ของตัวประมาณค่าอิทธิพลปัจจัยกำหนด

$\hat{\mathbf{u}}$ คือ vector ของตัวประมาณค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (BLUP-EBVs)

$\mathbf{A}^{-1}$ คือ inverse matrix ของ numerator additive genetic relationship matrix ของสิ่งมีชีวิตทุกตัวในประชากร

λ คือ shrinkage parameter มีค่าเท่ากับ $\frac{\sigma_e^2}{\sigma_a^2}$ หรือ $\frac{1-h^2}{h^2}$

ผลการศึกษา

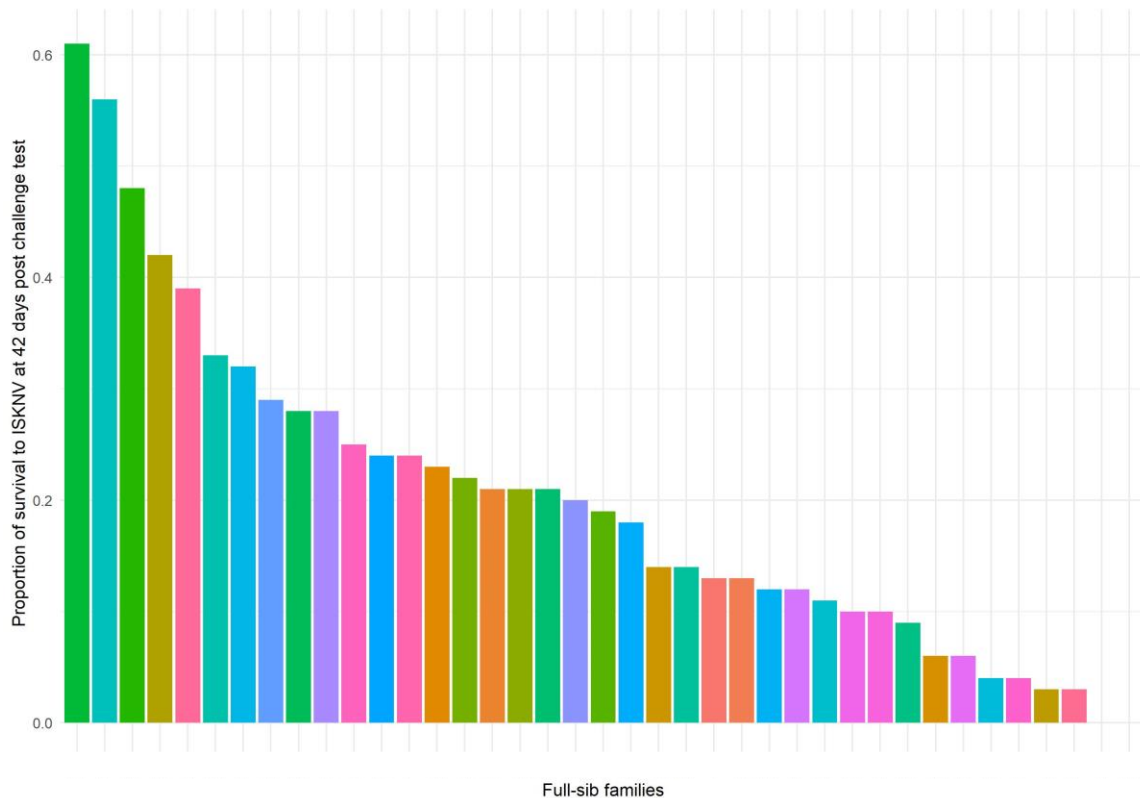
1. ความแปรปรวนของการรอดตายในครอบครัวปลาเพศผู้

ในส่วนของ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) ปลาเพศผู้ 39 ครอบครัว มีค่าเฉลี่ยของการรอดตาย (52.9%) ไกล่เคียง 50 % ในวันที่ 35 หลังจากได้รับเชื้อ ISKNV และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 49.9% หากพิจารณาลักษณะระยะเวลาการรอดตาย (survival days) พบว่าค่าเฉลี่ยระยะเวลาการรอดตายมีค่าเท่ากับ 34.4 วัน และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 7.04 วัน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ของระยะเวลาการรอดตายมีค่าเท่ากับ 20.48%

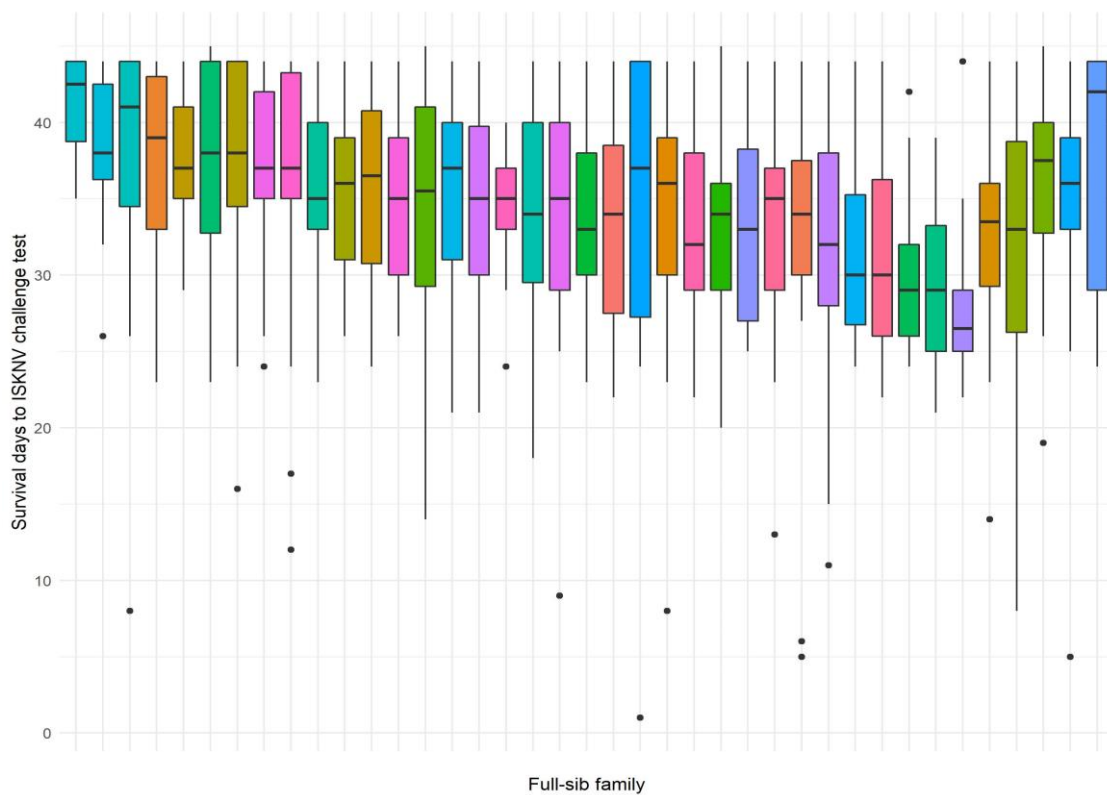
การทดสอบการยอมรับการติดเชื้อ 45 วัน ส่งผลให้ปลาเพศผู้มีอัตราการรอดตายเหลือเพียง 0.48% ในขณะที่อัตราการรอดตายในวันที่ 42 หลังการยอมรับเชื้อมีค่าเฉลี่ย 19.0% และมีความแปรปรวนในระดับครอบครัวซึ่งมีพันธุกรรมที่ต่างกัน โดยครอบครัวที่มีอัตราการรอดสูงสุดที่ 61.0% และมีอัตราการรอดต่ำสุด 0% บ่งชี้ถึงศักยภาพในการรอดตายต่อการติดเชื้อ ISKNV ในบางครอบครัวที่สูงกว่าครอบครัวอื่น (ภาพที่ 1) สำหรับลักษณะระยะเวลาการรอดตายมี



ความแปรปรวนในระดับครอบครัวและครอบครัวที่มีระยะเวลาการรอดตายสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.1 วัน และมีค่าเฉลี่ยครอบครัวต่ำสุด 27.5 วัน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 แผนภูมิแท่งของสัดส่วนการรอดตายที่ 42 วันหลังการรับเชื้อ ISKNV ในปลากระพงขาว 39 ครอบครัว

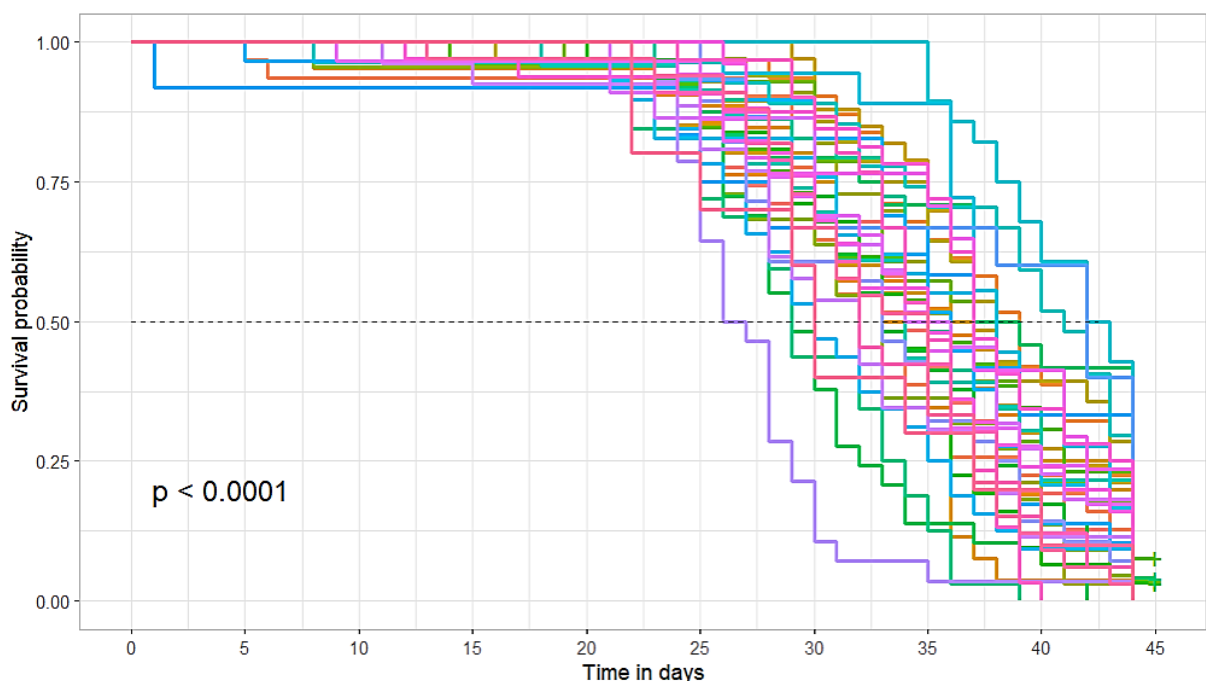


ภาพที่ 2 Box plot แสดงการกระจายตัวของระยะเวลาการรอดตาย (survival days) ของปลากระพงขาว 39 ครอบครัว

2. ความน่าจะเป็นของการรอดตายจากการติดเชื้อ ISKNV

ผลการทดสอบการรับเชื้อ ISKNV ในประชากรปลากะพงขาวจำนวน 39 ครอบครัวพบว่าความน่าจะเป็นของการรอดตายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ความน่าจะเป็นของการรอดตายมีรูปแบบค่อนข้างคงที่และอยู่ในระดับสูงกว่า 0.80 จนถึงวันที่ 21 หลังการรับเชื้อ ครอบครัวปลากะพงขาวแต่ละครอบครัวมีอัตราการรอดตายลดลงจนถึงระดับ 50% ที่แตกต่างกัน จากการพิจารณาเปรียบเทียบลักษณะของ Kaplan-Meier plot พบว่า ความน่าจะเป็นของการรอดตายในบางครอบครัวมีอัตราการลดลงที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับครอบครัวอื่น โดยระยะเวลาที่สั้นที่สุดไปถึงความน่าจะเป็นของการรอดตายที่ 50 % มีค่าเท่ากับ 26 วัน และระยะเวลายาวนานที่สุดมีค่าเท่ากับ 42 วัน (ภาพที่ 3)

ผลการศึกษาการรับเชื้อ ISKNV โดยใช้รูปแบบการทดสอบที่พัฒนาขึ้นสำหรับประชากรปลากะพงขาว บ่งชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างของความสามารถในการทนทานต่อการติดเชื้อ ISKNV ซึ่งความแตกต่างนี้อาจมาจากความแปรปรวนของอิทธิพลทางพันธุกรรมเป็นหลัก เนื่องจากเป็นความแตกต่างของครอบครัวที่มาจากคู่ผสมที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 3 แสดง Kaplan-Meier curve ของครอบครัวปลากะพงขาว 39 ครอบครัวในการทดสอบการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV ด้วยวิธีการฉีดเชื้อ กราฟแต่ละเส้นแทนความน่าจะเป็นของครอบครัวที่แตกต่างกัน

3. องค์ประกอบความแปรปรวนและค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม

ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (additive genetic variance) ของ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) ที่ประมาณค่าด้วยวิธี REML มีค่าเท่ากับ 0.072 หรือ 7.2% ในหน่วยกำลังสอง ดังนั้นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานทางพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 26.8% คิดเป็น 50.6% ของค่าเฉลี่ย ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่สูงมากในปลากะพงขาว (ตารางที่ 1) ในส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมของระยะเวลาการรอดตายมีค่าเท่ากับ 11.79 วันในหน่วยกำลังสอง ดังนั้นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานทางพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 3.43 วัน คิดเป็น 9.98% ของค่าเฉลี่ย ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่น้อยกว่าลักษณะ binary survival (ตารางที่ 1)

สำหรับค่าอัตราพันธุกรรม (h^2) ลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) มีค่าเท่ากับ 0.285 (SE = 0.12) และอิทธิพลสิ่งแวดล้อมร่วม common effects to full-sib (c^2) มีค่าเท่ากับ 0.01 (SE = 0.04) ในส่วนของลักษณะระยะเวลาการรอดตาย อัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0.238 (SE = 0.10) และอิทธิพลสิ่งแวดล้อมร่วมมีค่าเท่ากับ 0.01 (SE = 0.03)



ตารางที่ 1 องค์ประกอบความแปรปรวนและอัตราพันธุกรรมลักษณะ binary survival (รอดหรือตาย) และระยะเวลาการรอดตาย (survival days) จากการรับเชื้อ ISKNV ในปลากะพงขาว

ลักษณะ	σ_a^2	σ_e^2	σ_c^2	σ_p^2	h^2	SE	c^2	SE
Binary (รอด = 1 ตาย = 0)	0.072	0.178	0.002	0.252	0.285	0.12	0.01	0.04
ระยะเวลาการรอดตาย (วัน)	11.79	37.31	0.522	49.63	0.238	0.10	0.01	0.03

4. ค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (BLUP-EBVs)

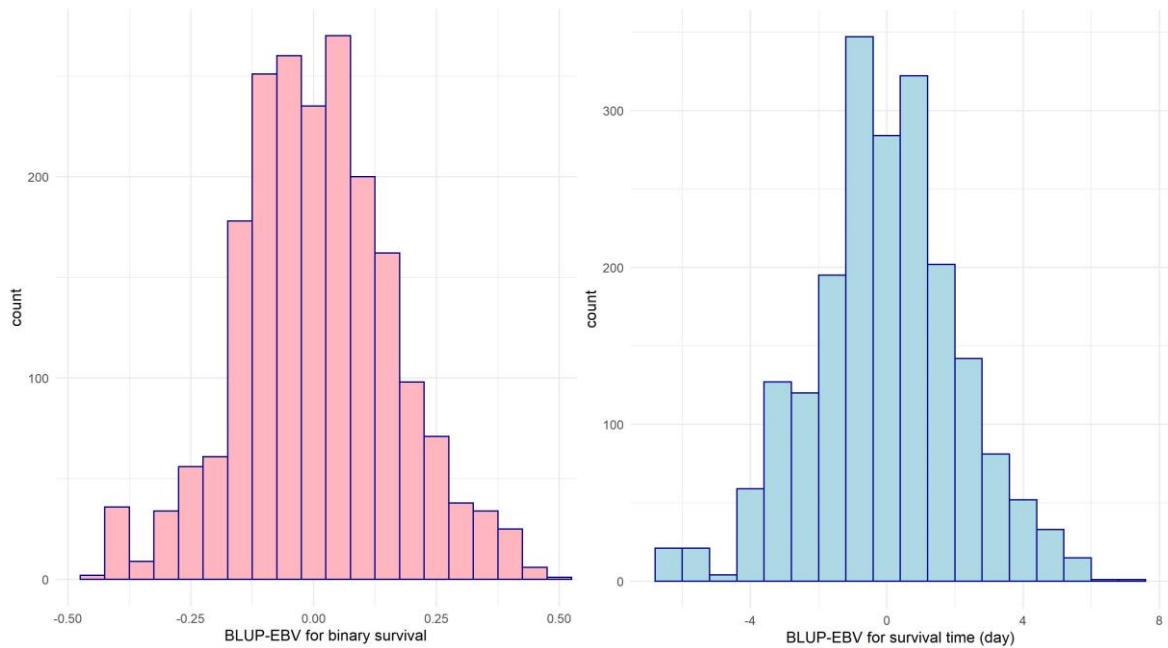
ค่า BLUP-EBVs ของลักษณะ binary (รอด = 1 | ตาย = 0) มีการกระจายตัวในรูปแบบปกติ (normal distribution) ดังแสดงในภาพที่ 4 (ซ้าย) ค่า BLUP-EBVs สูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.5015 (50.15%) มีค่าต่ำสุดเท่ากับ -0.4344 (-43.44%) และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0 ค่า BLUP-EBVs มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.157 (15.7%) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ BLUP-EBVs ที่สูงบ่งชี้ศักยภาพการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมผ่านกระบวนการคัดเลือก โดยจากการคัดเลือกสิ่งมีชีวิตที่มีค่า BLUP-EBVs ที่มีค่าสูงกว่า 1SD พบว่าส่งผลให้อัตราการรอดตายสูงเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 25.4% ต่อรุ่น ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่สูงถึง 48.03% ของค่าเฉลี่ยการรอดตายหลังการรับเชื้อ 35 วัน

ค่า BLUP-EBVs ของลักษณะระยะเวลาการรอดตายมีการกระจายตัวในรูปแบบปกติ (normal distribution) ดังแสดงในภาพที่ 4 (ขวา) ค่า BLUP-EBVs สูงสุดมีค่าเท่ากับ 7.36 วัน มีค่าต่ำสุดเท่ากับ -6.44 วัน และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0 ค่า BLUP-EBVs มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.18 วัน โดยจากการคัดเลือกสิ่งมีชีวิตที่มีค่า BLUP-EBVs ที่มีค่าสูงกว่า 1SD พบว่าส่งผลให้ระยะเวลาการรอดตายเพิ่มสูงขึ้น 3.37 วันโดยเฉลี่ย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม 9.8% ของค่าเฉลี่ยระยะเวลาการรอดตายในปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อตลอด 45 วัน

สรุปและวิจารณ์ผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกของประเทศไทยที่มีการประมาณค่าอัตราพันธุกรรมและค่าศักยภาพทางพันธุกรรมลักษณะการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV ในปลากะพงขาว จากการค้นเอกสารวิชาการระดับนานาชาติทั่วโลก พบว่ายังไม่มีการศึกษาใดรายงานการประมาณค่าอัตราพันธุกรรมหรือการปรับปรุงพันธุ์ลักษณะนี้ในปลากะพงขาวมาก่อน

ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ การรอดตาย (survival) เป็นลักษณะที่ถูกอธิบายด้วย ความต้านทานโรค (resistance) ความทนทานต่อโรค (tolerance) โอกาสในการรับเชื้อ (susceptibility) และการแพร่กระจายของเชื้อ (infectivity) ซึ่งเป็นไปตามหลักของการระบาดวิทยา (epidemiology) ของสัตว์น้ำที่มีการอยู่ร่วมกันระหว่าง host ที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อ (pathogen) ภายใต้สภาวะหรือสิ่งแวดล้อมหนึ่ง (environment) ดังนั้น การให้นิยามของลักษณะ (traits) ที่มีการศึกษาในครั้งนี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ลักษณะที่มีการศึกษาทั้งสองลักษณะ ได้แก่ binary (รอด = 1 | ตาย = 0) และลักษณะระยะเวลาการรอดตายล้วนเป็นข้อมูลจากการรับเชื้อ ISKNV ของปลากะพงขาวผ่านการฉีดแบบ IP injection ซึ่งถือได้ว่าการข้ามขั้นตอนการระบาดในส่วนของ susceptibility (และ prevalence) เนื่องจากเชื้อเข้าสู่ร่างกายโดยตรง ดังนั้น ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจึงขึ้นอยู่กับความแตกต่างของ resistance ซึ่งเป็นความสามารถของ host ในการลดจำนวน pathogen load ในขณะที่ tolerance เป็นความสามารถของ host ในการลดผลกระทบของ pathogen ที่มีต่อ host ดังนั้น ปลากะพงขาวที่มีการรอดตายแตกต่างกันอาจเกิดได้จากความแตกต่างของ resistance และ/หรือ tolerance ของ host แต่ละตัว ในการศึกษาครั้งนี้จึงนิยามลักษณะการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV เนื่องจากไม่สามารถระบุหรือแยกได้ว่าอัตราการรอดตายนั้นเกิดจาก resistance หรือ tolerance เพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 4 (ซ้าย) การกระจายตัวของ BLUP-EBVs ลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) และ (ขวา) การกระจายตัวของ BLUP-EBVs ลักษณะระยะเวลาการรอดตายของปลากะพงขาวจำนวน 39 ครอบครัว

เนื่องจากยังไม่เคยมีการรายงานการศึกษาอัตราพันธุกรรมหรือศักยภาพทางพันธุกรรมลักษณะการรอดตาย หลังการรับเชื้อ ISKNV ปลากะพงขาวมาก่อน ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบอัตราพันธุกรรมกับการศึกษาก่อนหน้านี้ได้ อย่างไรก็ตาม อัตราพันธุกรรมที่มีการรายงานในการศึกษาครั้งนี้ ($h^2 = 0.238$ ถึง 0.285) มีค่าใกล้เคียงกับอัตราพันธุกรรม (0.15 ถึง 0.23) ลักษณะการตายหลังการรับเชื้อ viral nervous necrosis (VNN) ใน European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) (Faggion *et al.*, 2021) ทั้งการศึกษาใน VNN และการศึกษาใน ISKNV แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการปรับปรุงพันธุ์ ปลากะพงขาวของไทยให้มีอัตราการรอดจากการติดเชื้อ ISKNV ได้

การอธิบายความเป็นไปได้ของการปรับปรุงพันธุ์ สามารถพิจารณาค่าศักยภาพทางพันธุกรรม (BLUP-EBVs) ของลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) และลักษณะระยะเวลาการรอดตาย (survival days) ซึ่งทั้งสองลักษณะ นั้นมีการแสดงให้เห็นถึงผลตอบแทนการคัดพันธุ์ โดยอัตราการรอดตายสามารถเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 25.4% ต่อรุ่น (48.03% ของ ค่าเฉลี่ยการรอดตาย 35 วัน) และระยะเวลาการรอดตายเพิ่มสูงขึ้น 3.37 วันต่อรุ่น (9.8% ของค่าเฉลี่ยระยะเวลาการรอดตาย ในปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อตลอด 45 วัน) ถือได้ว่าเป็นระดับการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่สูง นอกจากนี้ ความสัมพันธ์ของ BLUP-EBV ของลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) และลักษณะระยะเวลาการรอดตาย (survival days) อยู่ในรูปแบบเชิงเส้นตรง โดยค่า Pearson correlation เข้าใกล้ 1 (0.963) บ่งชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการคัดเลือกลักษณะ binary survival (รอด = 1 | ตาย = 0) และอาจส่งผลต่อการคัดเลือกทางอ้อม (indirect selection) ลักษณะระยะเวลาการรอดตาย ทั้งนี้การทดสอบการรับเชื้ออาจใช้ระยะเวลาสั้นลง (ประมาณ 10 วัน) ซึ่งเป็นการประหยัดงบประมาณในการทดสอบการรับเชื้อ ทั้งนี้ ควรมีการทดสอบซ้ำเพื่อเป็นการยืนยันความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะ ทั้งสองในประชากรปลากะพงขาว

การประเมินผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์ของการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวโดยใช้ลูกพันธุ์จำหน่ายที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต สามารถใช้ข้อมูลสถิติกรมประมงที่มีการรายงานในปี 2565 หากขนาดตลาดปลากะพงขาวอยู่ที่ ประมาณ 1 กิโลกรัม จำนวนปลาที่มีการผลิตเข้าสู่ตลาดจะมีประมาณ 45.4 ล้านตัว ตามรายงานของสถานการณ์สินค้า ปลากะพงขาวและผลิตภัณฑ์ในช่วง 3 เดือนแรกของปี 2565 โดย จูติมา เอียดแก้ว พบว่าราคาตลาดปลากะพงขาวโดยเฉลี่ย



ประมาณ 136 บาทต่อกิโลกรัม เมื่อมีการใช้ลูกพันธุ์จากกรมประมงในขนาดในการผลิตปลากะพงขาว 4.5 ล้านตัว ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของเชื้อ ISKNV ที่ส่งผลให้เกิดการตาย 50% สามารถลดการสูญเสียจาก 2.25 ล้านตัว เป็นสูญเสียประมาณ 1.11 ล้านตัว หรือสามารถลดการสูญเสียได้ 155.45 ล้านบาท ผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์มีการผันแปรตามจำนวนลูกพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงโดยเกษตรกร อีกทั้งการประเมินผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์นี้เป็นการประเมินแบบหยาบ การศึกษาผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์จึงควรมีการดำเนินการคู่ขนานกับการทดสอบพ่อแม่พันธุ์ขยาย หรือลูกพันธุ์จำหน่ายของกรมประมงในอนาคตต่อไป

โดยสรุป การศึกษาครั้งนี้พบว่าประชากรปลากะพงขาวที่สร้างขึ้นโดยกรมประมงมีศักยภาพทางพันธุกรรม ลักษณะการรอดตายจากการรับเชื้อ ISKNV และมีค่าอัตราพันธุกรรม 0.238 ถึง 0.285 การคัดเลือกอ้างอิงค่า BLUP-EBVs อาจส่งผลให้การรอดตายเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 25.4% ต่อรุ่น การจัดการสุขภาพสัตว์น้ำผ่านกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ในปลากะพงขาวสามารถส่งผลกระทบเชิงเศรษฐกิจในวงกว้างเมื่อมีการกระจายพันธุ์ไปยังเกษตรกร และลดอัตราการสูญเสียในระหว่างการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวได้

คำขอบคุณ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก Utilization of Thailand Local Genetic Resources to Develop Novel Farmed Fish for Global Market คณะผู้วิจัยฯ ขอขอบคุณมายัง ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2563. คู่มือการตรวจโรคสัตว์น้ำด้วยเทคนิค PCR ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง ปี 2563. 100 หน้า.
- จิราภรณ์ จรุงศรีอภิสิทธิ์. 2563. การจัดตั้งเซลล์ไลน์และการศึกษาคุณลักษณะของเซลล์ไลน์จากสมองปลากะพงขาว. รายงานการประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2563. 219-232.
- Dong, H.T., S Jitrakorn, P Kayansamruaj, N Pirarat, C Rodkhum, T Rattanarojpong, S Senapin, and V Saksmerprome. 2017. Infectious spleen and kidney necrosis disease (ISKND) outbreaks in farmed barramundi (*Lates calcarifer*) in Vietnam. *Fish Shellfish Immunology*. 68:65-73.
- Faggion, S., D. Bertotto, M. Babbucci, G.D. Rovere, R. Franch, M. Bovolenta, S. Laureau, F. Pascoli, A. Toffan, L. Bargelloni, and P. Carnier. 2021. Resistance to viral nervous necrosis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): heritability and relationships with body weight, cortisol concentration, and antibody titer. *Genetics Selection Evolution*. 53: 32.
- Henderson, C. R. 1975. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics* 31(2): 423-447.
- Maneewong, S. 1987. Research on the nursery stages of Sea Bass (*Lates calcarifer*) in Thailand. In: Copland, J.W. and D. L. Grey. (eds.). Management of wild and cultured sea bass/barramundi (*Lates calcarifer*). Australia. pp. 138-141.
- Reed, L.J., and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*. 27 (3): 493-497.
- WOAH. 2021. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Chapter 2.3.7. Red sea bream iridoviral disease. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/2.3.07_RSIVD.pdf