สิริจรรยา ธงชัยไตรวัฒน์ : ผลของอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงต่อเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและการเปลี่ยนแปลงอีพิเจเนติกส์ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) EFFECTS OF HIGH CARBOHYDRATE DIET ON CARBOHYDRATE METABOLISM AND EPIGENETIC MODIFICATIONS IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.สุรินทร บุญอนันธนสาร, 149 หน้า.

คำสำคัญ: ปลานิล/เมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต/การให้อาหารซ้ำ/โภชนาการของพ่อแม่พันธุ์/อีพิเจเนติกส์

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่มีความสามารถในการใช้อาหารคาร์โบไฮเดรตได้ดี ในการเลี้ยงปลานิลปลามักประสบกับสภาวะอดอาหาร โดยเกษตรกรพยายามที่จะให้ปลานิลกลับมากินอาหารหลังจากได้อดอาหาร (refeeding) เพื่อชดเชยการเจริญเติบโตที่สูญเสียไปในระหว่างการอดอาหาร จึงเป็นที่น่าสนใจว่าปลานิลจะมีการตอบสนองต่ออาหารที่มีระดับคาร์โบไฮเดรตที่แตกต่างกันอย่างไร และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอีพิเจเนติกส์อย่างไร (epigenetics) เมื่อกลับมากินอาหารหลังจากอดอาหาร ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา ผลของการอดอาหารและการกลับมากินอาหารคาร์โบไฮเดรตสูง/โปรตีนต่ำ (HC/LP) และอาหารคาร์โบไฮเดรตต่ำ/โปรตีนสูง (LC/HP) ในปลานิลวัยรุ่นและปลานิลโตเต็มวัย ต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (การทดลองที่ 1) และผลของอาหารดังกล่าวต่อการเปลี่ยนแปลงอีพิเจเนติกส์ (การทดลองที่ 2) รวมทั้งผลของอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงต่อต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและการเปลี่ยนแปลงอีพิเจเนติกส์ในปลานิลพ่อแม่พันธุ์ (การทดลองที่ 3)

การทดลองที่ 1 ปลาได้ถูกอดอาหารเป็นระยะเวลา 4 วัน และกลับมาให้อาหารอีกครั้งเป็นระยะเวลา 4 วัน ด้วยอาหาร HC/LP หรือ LC/HP ผลการศึกษาพบว่า หลังจากอดอาหาร เมื่อปลากลับมากินอาหารอีกครั้ง การกินอาหาร HC/LP และ LC/HP สามารถชดเชยน้ำหนักตัวที่สูญเสียไปจากการอดอาหาร เพิ่มระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา เพิ่มการสะสมของไกลโคเจน และไตรกลีเซอไรด์ในตับ เพิ่มระดับไตรกลีเซอไรด์ในกล้ามเนื้อในปลาระยะวัยรุ่นและโตเต็มวัย พบการเพิ่มโปรตีนในพลาสมาและการเพิ่มลิพิดในตับของปลานิลระยะวัยรุ่น และพบการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลในพลาสมาของปลานิลระยะโตเต็มวัย เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง HC/LP และ LC/HP ผลการศึกษาพบว่าอาหาร HC/LP ส่งผลต่อการเพิ่มระดับกลูโคสในพลาสมา เพิ่มการสะสมของไกลโคเจน ไตรกลีเซอไรด์ และลิพิดในเนื้อเยื่อ รวมทั้งไตรกลีเซอไรด์ในกล้ามเนื้อ นอกจากนี้อาหาร HC/LP สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิสในตับและกล้ามเนื้อ รวมไปถึงการกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างไขมันและการขนส่งกลูโคสในกล้ามเนื้อ อาหาร HC/LP ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซิสและการสลายกรดอะมิโนในตับและกล้ามเนื้อ

ผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าปลานิลมีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ตอบสนองต่อการ refeeding ระยะสั้นด้วยอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงคล้ายคลึงกับการได้กินอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงในระยะยาว

การทดลองที่ 2 พบว่าการ refeeding ด้วยอาหาร HC/LP และ LC/HP ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงอีพิเจเนติกส์ การ refeeding ด้วยอาหาร HC/LP และ LC/HP ส่งผลต่อการลดปริมาณ 5-hmdC ในตับของปลาระยะวัยรุ่น และปริมาณ 5-hmdC และ 5-cadC ของปลาระยะโตเต็มวัย อีกทั้งยังเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะไฮเปอร์เมทิลเลชัน (hypermethylation) ไฮเปอร์อะเซทิลเลชัน (hyperacetylation) ของฮิสโตนในตับและกล้ามเนื้อ และพบว่าการ refeeding ด้วยอาหารทั้งสองสูตรกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่ควบคุมกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน และโปรตีนฮิสโตน นอกจากนี้การ refeeding ด้วยอาหาร HC/LP ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางอีพิเจเนติกส์ที่มีความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อ ได้แก่ ไฮโปเมทิลเลชันของ H3K36 และไฮโปอะเซทิลเลชันของ H3K9 ในตับของปลานิลระยะวัยรุ่น และพบว่าการ refeeding ด้วยอาหาร HC/LP ส่งผลต่อการเกิดไฮโปเมทิลเลชันของดีเอ็นเอ และไฮโปอะเซทิลเลชันของ H3K9 ในกล้ามเนื้อของปลานิลระยะโตเต็มวัย

การทดลองที่ 3 พบว่าอาหาร HC/LP กระตุ้นการแสดงออกของยีน *glut4* ในกล้ามเนื้อ และส่งผลให้แม่พันธุ์ปลามีอัตราความดกไข่เพิ่มขึ้น แต่น้ำหนักไข่และดัชนีสืบพันธุ์ลดลง สำหรับพ่อแม่พันธุ์ปลานิลพบว่า อาหาร HC/LP ส่งผลให้ระดับกลูโคสและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาเพิ่มขึ้น ระดับโปรตีนในพลาสมาลดลง และองค์ประกอบทางเคมีของตับและกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลง และพบว่าอาหาร HC/LP กระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิส (ตับและกล้ามเนื้อ) และการสร้างไขมันในตับ และลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซิสและการสลายกรดอะมิโนในตับ ผลการศึกษาพบว่าลูกปลาอายุ 7 วันหลังฟัก และ 7 วันหลังเริ่มกินอาหารมีการตอบสนองทางเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในทิศทางเดียวกันกับพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งแสดงถึงความเป็นไปได้ของการถ่ายทอดผลของการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมจากพ่อแม่พันธุ์สู่ลูก อาหาร HC/LP ส่งผลต่อการเพิ่มการแสดงออกของยีน *tet* ที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการขจัดหมู่เมทิลบนดีเอ็นเอ และยีน *kdm4* ที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการขจัดหมู่เมทิลบนโปรตีนฮิสโตน ร่วมกับการลดการแสดงออกของยีน *dnmt* ที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการเติมหมู่เมทิลบนดีเอ็นเอ

โดยสรุปหลังจากอดอาหาร การ refeeding ปลานิลด้วยอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงระยะสั้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต และอีพิเจเนติกส์ และการให้อาหารคาร์โบไฮเดรตสูงในพ่อแม่พันธุ์เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางอีพิเจเนติกส์ และปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในทั้งพ่อแม่พันธุ์และลูกปลา ซึ่งบ่งชี้ถึงอิทธิพลข้ามรุ่นของเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตของพ่อแม่พันธุ์ในปลานิล

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2568 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

Sirijanya Thongchaitriwat : EFFECTS OF HIGH CARBOHYDRATE DIET ON CARBOHYDRATE METABOLISM AND EPIGENETIC MODIFICATIONS IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*). THESIS ADVISOR : PROF. SURINTORN BOONANUNTANASARN, Ph. D.,149 PP.

Keyword: NILE TILAPIA/CARBOHYDRATE METABOLISM/REFEEDING/BROODSTOCK NUTRITION/EPIGENETICS

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) efficiently utilize dietary carbohydrates (CHO). In tilapia farming, fish often experience fasting; therefore, farmers try to refeed them to compensate for growth reduction. It is important to investigate how fish respond to refeeding with different dietary CHO levels. In addition, it is necessary to examine how epigenetic modulation is affected by different dietary CHO levels during refeeding. Therefore, this study aimed to investigate the effects of fasting and short-term refeeding with high-CHO/low-protein (HC/LP) and low-CHO/high-protein (LC/HP) diets in juvenile and adult Nile tilapia on carbohydrate metabolism (Experiment I) and epigenetic modification (Experiment II). Additionally, this study examined the effects of HC feeding in broodstock on CHO metabolism and epigenetic modification (Experiment III).

In Experiment I, fish were subjected to a four-day fasting period and subsequently refed for four days with either the HC/LP or LC/HP diet. Refeeding with both diets effectively compensated for weight loss caused by fasting, increased plasma triglycerides, hepatic glycogen and triglyceride contents, and muscular triglycerides. It also elevated plasma protein and hepatic lipid contents in juveniles, and plasma cholesterol in adults. When comparing HC/LP and LC/HP diets, the HC/LP diet increased plasma glucose and promoted the accumulation of glycogen, triglycerides, and lipids in the liver, as well as muscular triglycerides. Additionally, HC/LP refeeding upregulated hepatic and muscular glycolytic genes and hepatic lipogenic and glucose transporter genes. HC/LP downregulated gluconeogenic and amino acid catabolism genes in the liver and muscle. Collectively, Nile tilapia showed clear responses to short-term refeeding with a high-carbohydrate diet on intermediary metabolism, which resembled those of long-term HC feeding.

In Experiment II, refeeding with both HC/LP and LC/HP diets altered epigenetic markers. Compared to the fasted state, both HC/LP and LC/HP refeeding reduced hepatic global DNA 5-mC oxidative derivatives in juveniles (5-hmdC) and adults (5-hmdC and 5-cadC). Both HC/LP and LC/HP refeeding induced hypermethylation and/or hyperacetylation in hepatic and muscular tissues. These refeeding conditions promoted the expression of genes encoding DNA- and histone-modifying enzymes. Notably, the HC/LP refeeding diet led to tissue-specific epigenetic regulation patterns, including hepatic H3K36 hypomethylation and H3K9 hypoacetylation in juveniles. The HC/LP refeeding diet influenced muscular DNA hypomethylation and H3K9 hypoacetylation in adults.

In Experiment III, the HC/LP diet induced muscular *glut4* expression, increased fecundity, but reduced egg weight and gonadosomatic index in female broodstock. In both male and female broodstock, the HC/LP diet elevated plasma glucose and triglycerides, decreased plasma protein, and altered nutrient composition in the liver and muscle. It upregulated genes associated with glycolysis (in the liver and muscle) and hepatic lipogenesis, and downregulated those involved in gluconeogenesis and amino acid catabolism in the liver. In addition, similar metabolic response trends were observed in offspring at seven days post-hatching and seven days after first feeding, suggesting a potential transgenerational effect of parental CHO metabolism. Moreover, feeding broodstock an HC/LP diet induced upregulation of *tet* (encoding a DNA demethylation enzyme) and *kdm4* (encoding the histone demethylase), but downregulated *dnmt* (encoding the DNA methylation enzyme).

In conclusion, the short-term refeeding with the HC diet modulated intermediary metabolism and epigenetic instability in Nile tilapia. Moreover, HC feeding in broodstock also induced epigenetic modification and modulated CHO metabolic responses in both parents and offspring, suggesting transgenerational effects of parental CHO metabolism in Nile tilapia

School of Animal Technology and Innovation Student's Signature Sirijanya
Academic Year 2025 Advisor's Signature