



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12
The 12th STOU National Research Conference

การศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลากราย (*Chitala ornata*)

ด้วยเทคนิคการย้อมสีจีมีซ่า

Standardized Karyotype and Idiogram Study of Clown featherback (*Chitala ornata*) by
Giemsa's Staining Technique

นันทพร เกตุเลขา (Nuntaporn Getlekha)¹

บทคัดย่อ

การศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลากราย (*Chitala ornata*) จากบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำลำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้ 8 ตัว และเพศเมีย 8 ตัว เตรียมโครโมโซมด้วยวิธีตรงจากเนื้อเยื่อไต ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาโดยใช้สีจีมีซ่า ผลการศึกษาพบว่าปลากราย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 42 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 44 แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 16 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง และ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 18 แห่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมในปลาทั้ง 2 เพศ การศึกษานี้เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลากรายในพื้นที่ ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้สนับสนุนในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานของปลากรายได้ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมของปลากรายในธรรมชาติ และการศึกษาด้านวิวัฒนาการของโครโมโซมต่อไป ปลากรายมีสูตรแคโรไทป์ ดังนี้ $2n (42) = L^t_{6} + M^t_{16} + S^a_2 + S^t_{18}$

คำสำคัญ ปลากราย โครโมโซม แคโรไทป์

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประจักษ์สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง nanthaphonket@mcruc.ac.th



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12

The 12th STOU National Research Conference

Abstract

The standardized karyotype and idiogram of Clown featherback (*Chitala ornata*) were using samples of eight male and eight female fishes from Lumphachi River Basin, Suan Phueng district, Ratchaburi province. Chromosomes were prepared directly from kidney tissue and then stained with the conventional dyeing technique (Giemsa's stain). The result showed that a diploid chromosome number of *C. ornata* was 42 and the fundamental number (NF) was 44. Karyotype consists of 6 large telocentric, 16 medium telocentric, 2 small acrocentric and 18 small telocentric chromosomes. There was no significant difference in sex chromosome. Based on the data, this is the first report of cytogenetic study in *C. ornata* in this area which can be use the information obtained to support the taxonomic classification of Clown featherback. In addition, the data obtained can be used as basic information on the conservation of genetic resources of Clown featherback in nature and study of the evolution of chromosomes in the further.

The karyotype formulas of *C. ornata* is $2n (42) = L_6^t + M_{16}^t + S_2^a + S_{18}^t$

Keywords: *Chitala ornata*, Chromosome, Karyotype



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12 The 12th STOU National Research Conference

บทนำ

ลุ่มน้ำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เป็นแม่น้ำสายหนึ่งทางตะวันตกของประเทศไทย มีต้นกำเนิดมาจากเทือกเขาตะนาวศรี ประกอบด้วยลำธารหลายสาย ไหลผ่านเขตอำเภอสวนผึ้ง และอำเภอบึง จังหวัดราชบุรี แล้วไปบรรจบลำน้ำแควน้อยที่อำเภอเมืองกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี แม่น้ำสายนี้ก่อให้เกิดประโยชน์ในการกสิกรรม การอุปโภค และบริโภค แก่ประชากรที่อาศัยอยู่สองฝั่งน้ำอย่างมาก แต่ไม่สามารถใช้เป็นเส้นทางคมนาคมทางน้ำได้ เนื่องจากมีความคดเคี้ยวและตื้นเขินไปด้วยแก่งหิน ส่งผลให้แม่น้ำภาชีมีความหลากหลายทางชีวภาพของปลาค่อนข้างสูง และเนื่องจากภูมิประเทศที่มีความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะซึ่งแตกต่างจากพื้นที่ชุ่มน้ำอื่นๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสนับสนุนในการปรากฏและดำรงประชากรของปลาบางชนิด ทำให้อาจพบปลาที่มีความเฉพาะเจาะจงสูง และแตกต่างไปจากปลาที่พบที่บริเวณอื่น โดยปลาจะต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับลักษณะสภาพแวดล้อมที่มีความเฉพาะดังกล่าว

ปลารายจัดอยู่ในสกุลปลาราย (Genus *Chitala*) เป็นปลาที่มีลำตัวแบนด้านข้างมาก เกล็ดมีขนาดเล็กสีเงินหรือสีเทา ที่บริเวณเหนือครีบกัน มีจุดสีดำที่ล้อมรอบด้วยวงแหวนสีขาว ขนาดค่อนข้างใหญ่ จำนวนมากบ้างน้อยบ้างตามแต่ละตัว อาศัยอยู่ได้ทั้งในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลไม่แรง ซึ่งพบชุกชุมมากในลุ่มน้ำภาชี ปลาในสกุลนี้จัดเป็นปลาเนื้อที่มีรสชาดี นิยมรับประทานกันทั่วไป ส่วนใหญ่ใช้แปรรูปเป็นทอดมัน หรือนำเนื้อมาปรุงเป็นอาหาร จัดเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากกลุ่มหนึ่ง นอกจากนี้ยังนิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามกันทั่วไป โดยมีการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีความแตกต่างจากเดิม เช่น ปลารายสีน้ำตาลทอง ปลารายเสือดาว ปลารายครีบยาว และปลารายเผือก (นณณ์ ผาณิตวงศ์, 2563)

การศึกษาโครโมโซมเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากโครโมโซมเป็นโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต หากโครงสร้างหรือจำนวนของโครโมโซมเกิดการเปลี่ยนแปลงย่อมส่งผลต่อการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ทำให้เกิดการแสดงออกของสิ่งมีชีวิตในรูปแบบที่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อการเจริญพัฒนาและวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต (อมรา คัมภีรานนท์, 2546)

จากที่กล่าวมาผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลารายในพื้นที่ลุ่มน้ำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี โดยการวิเคราะห์แคริโอไทป์และจัดทำอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลารายในพื้นที่ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มข้อมูลพื้นฐานของสิ่งมีชีวิตในระบบที่มีความจำเพาะ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยในพื้นที่ลุ่มน้ำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรียังค่อนข้างเป็นพื้นที่ที่ยังไม่ค่อยมีนักวิจัยเข้าไปศึกษาบริเวณดังกล่าว ทำให้มีข้อมูลการศึกษาวิจัยน้อย ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถใช้ในการสนับสนุนการจัดจำแนกทางอนุกรม และเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมของปลารายในธรรมชาติ และการศึกษาด้านวิวัฒนาการของโครโมโซมต่อไป

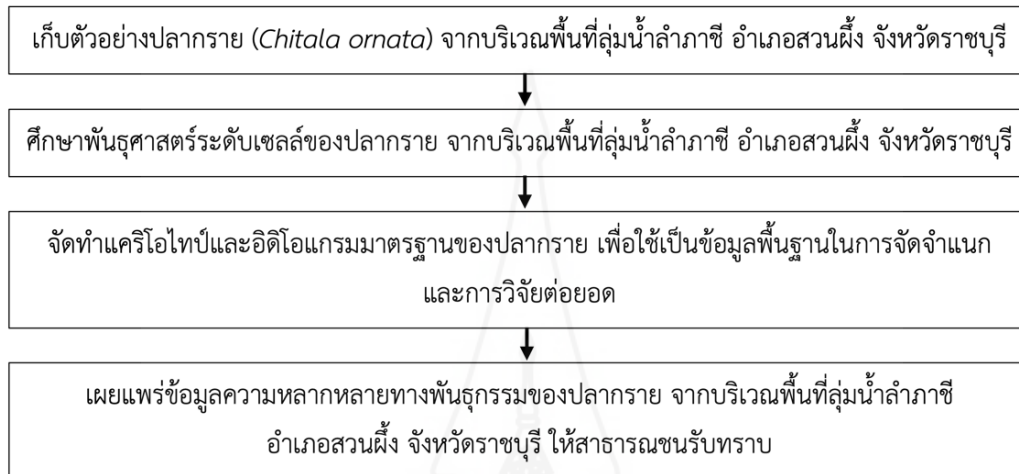
วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อวิเคราะห์แคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาราย (*Chitala ornata*) จากบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12
The 12th STOU National Research Conference

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลากลาย (ภาพที่ 1) จากบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำลำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี โดยใช้อุปกรณ์ในการจับปลา ได้แก่ ข่ายดักปลา ลอบดักปลา เบ็ดตกปลา และสวิง ใส่ตัวอย่างลงในถุงพลาสติกที่มีการอัดแก๊สออกซิเจนลงจนเต็มถุง มัดถุงให้แน่นด้วยยาง นำกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ 946 ตึกศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง เพื่อจำแนกชนิดปลาตามหลักอนุกรมวิธานของ Nelson (2006) โดยใช้เอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ภาสกร แสนจินแดง (2557) และ นณณ์ ผาณิตวงศ์ (2563)



ภาพที่ 1 สัตว์น้ำภายนอกของปลากลาย (*Chitala ornata*) สเกลบาร์ 2 เซนติเมตร



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12

The 12th STOU National Research Conference

2. การเตรียมโครโมโซม

เตรียมโครโมโซมด้วยวิธีตรง ดัดแปลงจากวิธีการของ Sumner (1990) โดยนำปลายกรวยเพศผู้ จำนวน 8 ตัว และเพศเมีย จำนวน 8 ตัว มาฉีดสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.02% (1 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว) เข้าบริเวณช่องท้องของปลา ทั้งไว้ 1 ชั่วโมง ในน้ำที่ให้ออกซิเจนตลอดเวลา ผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อไตไปแช่ในสารละลายไฮโปโทนิก (0.075 KCl M) ใช้กรรไกรตัดให้ละเอียด ย้ายตะกอนเซลล์ที่ตัดละเอียดเข้าบ่มในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิตร ที่มีสารละลายไฮโปโทนิกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำผ่านการตรึงเซลล์ขั้นแรก (prefixation) โดยค่อยๆ หยดน้ำยาตรึงเซลล์ (fixative) เมทานอล : กรดอะซิติกเข้มข้น อัตราส่วน 3 : 1 ที่เย็นจัด ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงช้าๆ พร้อมกับเขย่าหลอดจนได้ปริมาตรในหลอด 7 มิลลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง (supernatance) ตรึงเซลล์อีกครั้ง โดยค่อยๆ หยดน้ำยาตรึงเซลล์ ที่เย็นลงในหลอดปั่นเหวี่ยงช้าๆ เขย่าให้ตะกอนเซลล์และน้ำยาตรึงเซลล์ผสมกัน เติมน้ำยาตรึงเซลล์จนได้ปริมาตร ในหลอดเป็น 7 มิลลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง ทำซ้ำจนได้ตะกอนเซลล์สีขาวขุ่น ดูดน้ำยาตรึงเซลล์ทิ้งให้เหลือไว้ประมาณ 3-4 มิลลิตร เขย่าตะกอนเซลล์กับสารละลายที่เหลือให้เข้ากัน ดูดตะกอนเซลล์ประมาณ 0.2 มิลลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์ที่แห้งและสะอาด ซึ่งวางอยู่บนเครื่องให้ความร้อนอุณหภูมิ 80 °C จำนวน 2 หยดต่อสไลด์ 1 แผ่น ทิ้งสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปย้อมด้วยสารละลายสีจิมซ่า 20% จากนั้นตรวจสอบสไลด์และถ่ายภาพ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้งอุปกรณ์ถ่ายภาพ ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

3. จัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรม

การจัดทำแคโรไทป์ (karyotype) และอิดิโอแกรม (idiogram) ดัดแปลงจากวิธีการของ กันยารัตน์ ไชยสุต (2532) โดยเลือกภาพถ่ายโครโมโซมระยะเมทาเฟส ที่กระจายตัวดีไม่หดรัดเกินไป มีจำนวน โครโมโซมครบ และสังเกตรูปร่างได้ชัดเจน วัดความยาวของโครโมโซมจากปลายเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 20 เซลล์ วัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (short arm; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (long arm; Ll) นำค่า Ls และ Ll มาคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (total length; LT = Ls+Ll) คำนวณหาค่า relative length (RL) โดยคำนวณจากสูตร $LT/\Sigma LT$ และคำนวณหาค่า centromeric index (CI) จากสูตร Ll/LT จากนั้นนำค่า CI มาใช้กำหนดชนิดของโครโมโซม ดังนี้ โครโมโซมที่มีค่า CI อยู่ระหว่าง 0.500-0.599 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.600-0.699 จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทา-เซนตริก ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.700-0.899 จัดเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก และ ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.900-1.00 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก แล้วจัดขนาดของโครโมโซม โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซมคู่ที่เล็กที่สุดเป็นคู่สุดท้าย แบ่งออกเป็น 3 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่มีขนาดความยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของผลบวกความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่ที่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด $L > \frac{1}{2} (LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย})$ โครโมโซมขนาดกลาง (Medium) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่มีขนาดความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของผลบวกความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่ที่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด $M < \frac{1}{2} (LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย})$ โครโมโซมขนาดเล็ก (Small) ได้แก่ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด $S < \frac{1}{2} (LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1)$ แล้วสรุปสูตรแคโรไทป์ของปลา จากนั้นนำค่าความยาวเฉลี่ยที่วัดได้มาใช้ในการจัดทำอิดิโอแกรมมาตรฐานโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป เพื่อจำแนกรูปร่างและขนาดของโครโมโซม



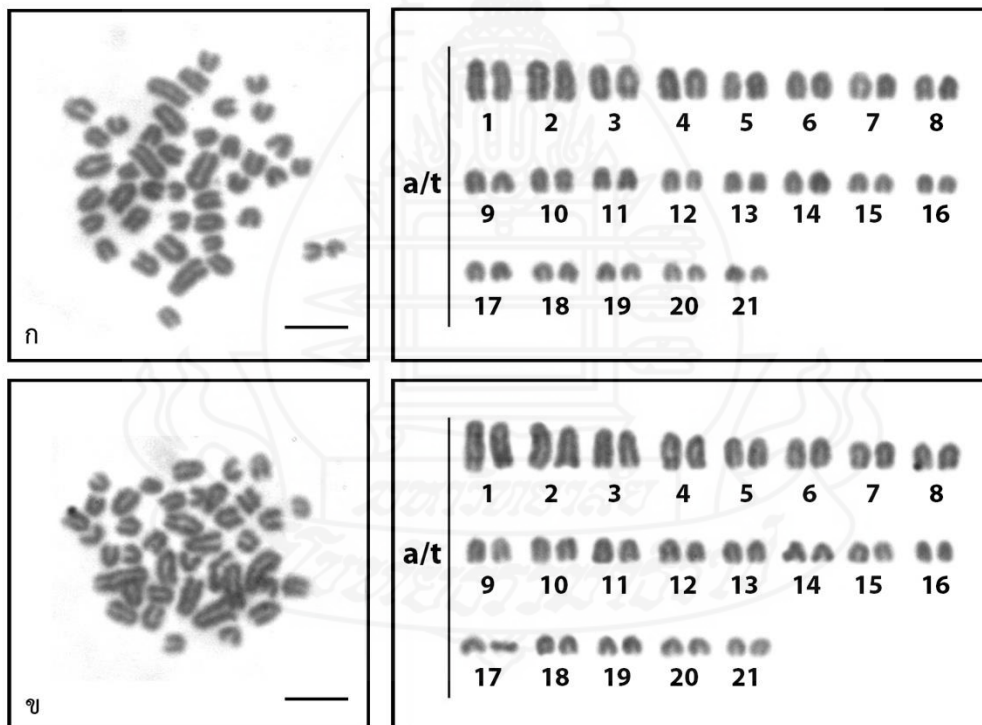
การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12
The 12th STOU National Research Conference

ผลการวิจัย

จากการศึกษาแคโรไโทป์ของปลากray (*Chitala ornata*) บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำลำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี พบว่าปลากray มีโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 42 แท่ง เป็นโครโมโซมที่มีสองแขน (bi-arm) จำนวน 2 แท่ง และโครโมโซมที่มีแขนเดียว (mono-arm) จำนวน 40 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 44 (ภาพที่ 2)

จากการจัดทำแคโรไโทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน สามารถจำแนกโครโมโซม ได้ 3 ขนาด ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งมากกว่า 1.386 ไมโครเมตร พบทั้งหมด 6 แท่ง ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1-3 โครโมโซมขนาดกลาง มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งอยู่ระหว่าง 1.060-1.386 ไมโครเมตร พบทั้งหมด 16 แท่ง ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 4-11 และ โครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งน้อยกว่า 1.060 ไมโครเมตร พบทั้งหมด 20 แท่ง ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 12-21 (ภาพที่ 3) โดยพบว่าแคโรไโทป์ของปลากray ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 16 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 18 แท่ง (ภาพที่ 2)

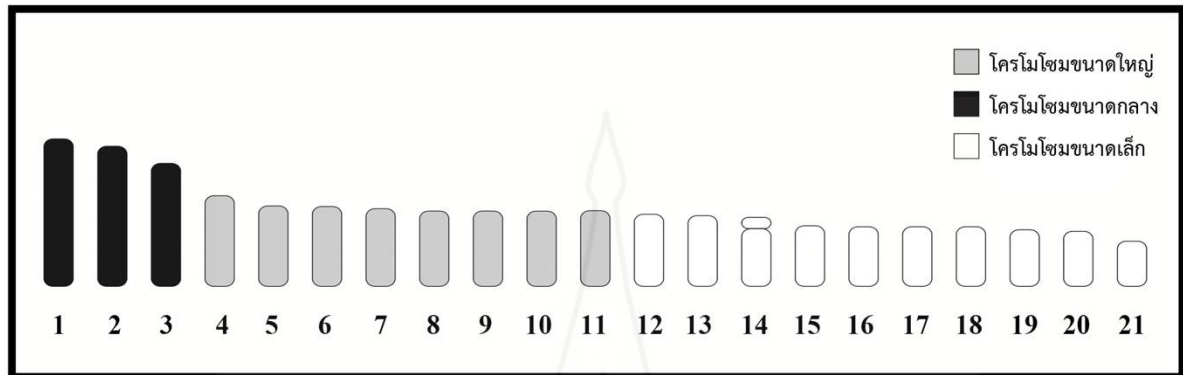
สามารถเขียนสูตรแคโรไโทป์ของปลากray (*C. ornata*) ได้ดังนี้ $L_6^t + M_{16}^t + S_2^a + S_{18}^t$



ภาพที่ 2 เซลล์ระยะเมทาเฟสและแคโรไโทป์ของปลากray (*Chitala ornata*, $2n=42$) เพศผู้ (ก) และ เพศเมีย (ข) ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา สเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12
The 12th STOU National Research Conference



ภาพที่ 3 อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลากราย (*Chitala ornata*, 2n=42)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LL) ความยาวของโครโมโซมทั้งแท่ง (LT) ในหน่วยไมโครเมตร ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของค่า RL และ CI ของปลากราย (*Chitala ornata*)

คู่ที่	Ls	LL	LT	CI±SD	RL±SD	ชนิด	ขนาด
1	0.000	2.121	2.121	0.088±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	ใหญ่
2	0.000	2.015	2.015	0.085±0.006	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	ใหญ่
3	0.000	1.769	1.769	0.074±0.006	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	ใหญ่
4	0.000	1.304	1.304	0.054±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
5	0.000	1.157	1.157	0.048±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
6	0.000	1.149	1.149	0.048±0.004	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
7	0.000	1.118	1.118	0.047±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
8	0.000	1.084	1.084	0.046±0.007	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
9	0.000	1.084	1.084	0.045±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
10	0.000	1.083	1.083	0.045±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
11	0.000	1.089	1.089	0.046±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	กลาง
12	0.000	1.038	1.038	0.043±0.004	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	เล็ก
13	0.000	1.018	1.018	0.042±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	เล็ก
14	0.163	0.830	0.992	0.041±0.004	0.836±0.072	อะโครเซนตริก	เล็ก
15	0.000	0.872	0.872	0.036±0.003	1.000±0.000	เทโลเซนตริก	เล็ก



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12
The 12th STOU National Research Conference

คู่ที่	Ls	LL	LT	CI±SD	RL±SD	ชนิด	ขนาด
16	0.000	0.858	0.858	0.038±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก
17	0.000	0.858	0.858	0.042±0.003	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก
18	0.000	0.858	0.858	0.036±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก
19	0.000	0.815	0.815	0.034±0.006	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก
20	0.000	0.793	0.793	0.033±0.003	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก
21	0.000	0.651	0.651	0.027±0.005	1.000±0.000	เทโลเซนทริก	เล็ก

อภิปรายผลการวิจัย

จากการรวบรวมข้อมูลโครโมโซมของปลาในวงศ์ Notopteridae พบว่าโครโมโซมดิพลอยด์มีค่าอยู่ระหว่าง 42-48 แห่ง โดยส่วนใหญ่มีโครโมโซมเท่ากับ 42 แห่ง (Supiwong et al., 2012) จากการวิเคราะห์แคโรไทป์ของปลากลาย (C. ornata) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 42 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 44 โดยโครโมโซมส่วนใหญ่เป็นชนิด เทโลเซนทริก และพบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็ก 1 คู่ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาของ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2533) และ Supiwong et al. (2012) โดยจำนวนโครโมโซมพื้นฐานที่เพิ่มขึ้นนี้ อาจเกิดเนื่องจากกระบวนการหักแล้วต่อสลับโดยมีเซนโทเมียร์ร่วมด้วย (pericentric inversion) ของโครโมโซม ทำให้ชนิดของโครโมโซมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงจากโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก (NF=1) ไปเป็นโครโมโซมชนิด เมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก หรืออะโครเซนทริก (NF=2) ส่งผลให้จำนวนโครโมโซมยังคงเท่าเดิม แต่มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเพิ่มขึ้น (Getlekh et al., 2018) ซึ่งการเกิดวิวัฒนาการของโครโมโซมเช่นนี้สามารถพบได้ทั่วไปในปลาแต่ละแหล่งที่อยู่ (Getlekh et al., 2016) ดังนั้นแคโรไทป์ที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลที่จะช่วยสนับสนุนการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานของปลากลายได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้มีการรายงานการศึกษาโครโมโซมปลากลายจากประเทศอินเดีย พบว่าปลากลายจากประเทศอินเดียมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 48 แห่ง แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แห่ง และ อะโครเซนทริก 36 แห่ง (Nayyar, 1965)

จากการศึกษาในครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมในปลาทั้ง 2 เพศ สอดคล้องกับรายงานของ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2533) และ Supiwong et al. (2012) ซึ่งเป็นไปได้ว่า ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มแรกๆ ที่เริ่มวิวัฒนาการ ทำให้โครโมโซมเพศของปลาอยู่ในขั้นเริ่มต้นของการสร้างความแตกต่าง ยีนที่ใช้ในการกำหนดเพศอาจกระจายอยู่ ดังนั้นโครโมโซมที่มียีนกำหนดเพศจึงไม่สามารถพบได้จากการวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ โดยมีรายงานการกำเนิดและพัฒนาการของโครโมโซมเพศในปลากลุ่ม Neotropical ในประเทศบราซิล (Bertollo et al., 2004)

ปลาในวงศ์ Notopteridae มีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 2n=42-48 แห่ง พบว่าเป็นกลุ่มปลาที่ยังคงมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ใกล้เคียงกับของบรรพบุรุษของปลาน้ำจืด คือ 2n=50 แห่ง จัดเป็นปลาที่มีวิวัฒนาการอย่างช้าๆ ลักษณะนี้ถือเป็นลักษณะโบราณ (primitive stage) และพบว่าปลากลุ่มนี้มักเป็นปลาที่พบกระจายได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่างๆ ที่เชื่อมถึงกัน เปรียบได้กับการไม่มีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ ปลากลุ่มนี้จึงมีการโยกย้ายถ่ายเทยีนได้สูง จึงมีวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมที่ต่ำ โครโมโซมจึงยังคงมีจำนวนใกล้เคียงกับบรรพบุรุษของปลาน้ำจืด (Maneechot et al., 2016)



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12 The 12th STOU National Research Conference

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาแคโรไทป์ของปลากราย (*C. ornata*) ในครั้งนี้ พบว่าปลากรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 42 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 44 ประกอบด้วยโครโมโซมที่มีสองแขน มีจำนวน 2 แท่ง และโครโมโซมที่มีแขนเดียว มีจำนวน 40 แท่ง ซึ่งเป็นโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 แท่ง โครโมโซมขนาดกลาง 16 แท่ง และโครโมโซมขนาดเล็ก 20 แท่ง แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซม 2 ชนิด ได้แก่ อะโครเซนทริก 2 แท่ง และเทโลเซนทริก 40 แท่ง งานวิจัยนี้เป็นรายงานการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลากรายครั้งแรกในพื้นที่ลุ่มน้ำลำภาชี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ซึ่งข้อมูลด้านพันธุกรรมของปลากรายในประเทศไทยยังมีการศึกษาเพียงเล็กน้อยในบางพื้นที่ โดยโครโมโซมจัดว่าเป็นหน่วยที่แสดงออกถึงการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมและเป็นตัวกำหนดลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ให้มีลักษณะที่แตกต่างจำเพาะเจาะจง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านเซลล์อนุกรมวิธาน เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนงานทางด้านอนุกรมวิธานของปลากราย การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลากราย และประยุกต์ใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลต่อไป

ข้อเสนอแนะ

จะต้องมีการศึกษาปลากรายในพื้นที่อื่นเพิ่มเติม โดยนำข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นพื้นฐานสำหรับการศึกษาต่อยอดในด้านอื่นๆ เพื่อช่วยในการสนับสนุนและยืนยันงานด้านอนุกรมวิธานของปลากรายต่อไป เช่น การศึกษาในระดับดีเอ็นเอ และโมเลกุล หรือนำข้อมูลที่ได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และการศึกษาเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมปลาในท้องถิ่นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กันยารัตน์ ไชยสุต. (2532). เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์ อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. (2533). การศึกษาโครโมโซมของปลากราย ปลาตองลาย และปลาตลาด ที่พบในประเทศไทย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 29-31 มกราคม 2533 รายงานผลการวิจัย สาขาสัตว สัตวแพทย์ และประมง. กรุงเทพฯ. หน้า 459-466.
- นณณ์ ผาณิตวงศ์. (2563). ปลาน้ำจืดไทย. กรุงเทพฯ : ภาพพิมพ์.
- ภาสกร แสนจันแดง. (2557). สารานุกรมปลาน้ำจืดของไทย. ขอนแก่น : คลังน่านวิทยา.
- อมรา คัมภีรานนท์. (2546). พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bertollo, L.A.C., Oliveira, C., Molina, W.F., Margarido, V.P., Fontes, M.S.M., Pastori, C., Falcão, J.N. and Fenocchio, A.S. (2004). Chromosome evolution in the erythrinid fish, *Erythrinus erythrinus* (Teleostei: Characiformes). *Heredity* 93: 228-233.
- Maneechot, N., Yano, C.F., Bertollo, L.A.C., Getlekh, N., Molina, W.F., Ditcharoen, S., Tengjaroenkul, B., Supiwong, W., Tanomtong, A. and Cioffi, M.B. (2016). Genomic organization of repetitive DNAs



การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 12

The 12th STOU National Research Conference

highlights chromosomal evolution in the genus *Clarias* (Clariidae, Siluriformes). Molecular Cytogenetics 9:4 DOI 10.1186/s13039-016-0215-2.

Nayyar, R.P. (1965). Karyotype studies in the genus *Notopterus*. Genetica, 36(1): 398–406.

Nelson, J.S. (2006). Fishes of the World. (4th Edition), John Wiley & Sons, Hoboken

Getlekha, N., Molina, W.F., Cioffi, M.B., Yano, C.F., Maneechot, N., Bertollo, L.A.C., Supiwong, W. and Tanomtong, A. (2016). Repetitive DNAs highlight the role of chromosomal fusions in the karyotype evolution of *Dascyllus* species (Pomacentridae, Perciformes). Genetica 144: 203-211.

Getlekha, N., Cioffi, M.B., Maneechot, N., Bertollo, L.A.C., Supiwong, W., Tanomtong, A. and Molina, W.F. (2018). Contrasting Evolutionary Paths Among Indo-Pacific *Pomacentrus* Species Promoted by Extensive Pericentric Inversions and Genome Organization of Repetitive Sequences. Zebrafish. 15(1): 45-54.

Sumner, A.T. (1990) Chromosome Banding. Unwin Hyman, London.

Supiwong, W., Tanomtong, A., Khakhong, S., Silawong, K., Aoki, S. and Sanoamuang, L. (2012). The First Chromosomal Characteristics of Nucleolar Organizer Regions and Karyological Analysis of Clown Knife Fish, *Chitala ornata* (Osteoglossiformes, Notopteridae) by T-Lymphocyte Cell Culture. Cytologia 77(3): 393–399.

