



รายงานการวิจัย

เซลล์พันธุศาสตร์และสัณฐานวิทยาของปลาก้าง
ในพื้นที่ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์

Cytogenetic and Morphological of Red-tailed Snakehead
in Khao Kho District, Phetchabun Province

สุมาลี พิมพันธุ์
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2562

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เซลล์พันธุศาสตร์และสัณฐานวิทยาของปลาก้าง
ในพื้นที่ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์

Cytogenetic and Morphological of Red-tailed Snakehead
in Khao Kho Distric, Phetchabun Province

สุมาลี พิมพันธุ์

สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนงานวิจัยงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
ประเภทโครงการวิจัยสนับสนุนนักวิจัยรุ่นใหม่
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

(ก)

ชื่อโครงการวิจัย	เซลล์พันธุศาสตร์และสัณฐานวิทยาของปลาก้างในพื้นที่ อ.เขาค้อ
	จ.เพชรบูรณ์
ผู้วิจัย	สุมาลี พิมพันธุ์
สาขาวิชา	ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 2562

บทคัดย่อ

วิเคราะห์แครีโอไทป์และสัณฐานวิทยาของ (*Channa gachua*) จากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 40 ตัว เตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรงจากไต ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์ ผลการศึกษาพบว่าปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 76 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 114 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ตรวจไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศในปลาเพศผู้และเพศเมีย แครีโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 14 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 36 แห่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ตำแหน่งโครโมโซมเครื่องหมายนอร์บนแซนข้างสั้นบริเวณปลายเทโลเมียร์ของโครโมโซมจำนวน 2 ตำแหน่ง ปลาก้างมีสูตรแครีโอไทป์ ดังนี้ $2n(76) = L^m_{14} + M^m_4 + L^{sm}_8 + M^{sm}_2 + L^a_8 + M^a_2 + M^t_{36} + S^t_2$

คำสำคัญ: ปลาก้าง แครีโอไทป์ โครโมโซม

Title Cytogenetic and Morphological in the *Channa gachua* (Channidae, Pisces) in Khao Kho District, Phetchabun Province

Author Sumalee Phimphan

Department Biology program, Department of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University.

Date 2019

ABSTRACT

Cytogenetic and morphological analysis of dwarf snakehead (*Channa gachua*) were studied from Khao Kho District, Phetchabun Province. Kidney cell samples were taken from ten male and ten female fishes. Mitotic chromosome preparations were conducted using standard protocol. Conventional staining and Ag-NORs banding techniques were applied to stain the chromosomes. The results showed that the diploid chromosome number of *C. gachua* was $2n = 76$ and the fundamental number (NF) was 114 in both males and females. No heteromorphic sex chromosomes were found between male and female. Their karyotypes consisted of 14 large metacentric, 4 medium metacentric, 8 large submetacentric, 2 medium submetacentric, 8 large acrocentric, 2 medium acrocentric, 36 medium telocentric and 2 small telocentric chromosomes. The present study of NOR-bearing chromosome as 2 regions, which showed clearly observable NOR. The karyotype formula is as follows: $2n (76) = L^m_{14} + M^m_4 + L^{sm}_8 + M^{sm}_2 + L^a_8 + M^a_2 + M^t_{36} + S^t_2$

Keywords: *Channa gachua*, karyotype, chromosome

(ค)

กิตติกรรมประกาศ

วิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือ ความกรุณา และคำปรึกษาจากบุคคลหลายฝ่าย ดังต่อไปนี้คือ ขอกราบขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่เอื้อเฟื้อวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา และมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สุมาลี พิมพันธ์

1 สิงหาคม 2562

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ	ข
ภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1	บทนำ
	1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
	2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
	3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
	4. ขอบเขตของการวิจัย 2
	5. ขอบเขตระยะเวลา 2
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
	1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาปลาวงศ์ปลาช่อน 4
	2. ลักษณะทั่วไป และอนุกรมวิธานของปลาวงศ์ปลาช่อนในประเทศไทย 6
	3. การเตรียมโครโมโซม 6
	4. การย้อมสีโครโมโซม 7
	5. การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ปลาช่อน 8
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย 11
	1. การเก็บตัวอย่าง 11
	2. การเตรียมโครโมโซม 11
	3. การเตรียมสไลด์โครโมโซม และการย้อมสีโครโมโซม 11
	4. การตรวจสอบโครโมโซม การจัดแครีโอไทป์ 12
	5. การทำอิดิโอแกรมมาตรฐาน 14
	6. การศึกษาทางสัณฐานวิทยา 15
บทที่ 4	ผลการวิจัย 16
	1. จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 16
	2. ชนิดและขนาดของโครโมโซม 16

(จ)

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
	3. โครโมโซมเครื่องหมาย 16
	4. แคริโอไทป์ และอัติโอแกรมมาตรฐานของปลาก้าง 16
	5. สันฐานวิทยาปลาก้าง 23
บทที่ 5	วิจารณ์ผลการวิจัย 25
	1. จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 25
	2. ชนิดและขนาดของโครโมโซม 25
	3. โครโมโซมเครื่องหมาย 27
	4. แคริโอไทป์และอัติโอแกรมของปลาก้าง 27
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	33
	ภาคผนวก ก วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ 34
	ภาคผนวก ข ผลงานวิจัยที่เผยแพร่ 38
ประวัตินักวิจัย	51

(ฉ)

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 4.1	จำนวนโครโมโซมของปลาก้างนับจาก 100 เมทาเฟส	17
ตารางที่ 3.2	ค่าเฉลี่ยของความยาวของแขนโครโมโซม	22
ตารางที่ 5.1	เปรียบเทียบการศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>)	26

(ช)

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาสกุลปลาช่อน 4
ภาพที่ 4.1	เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแคริโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศผู้ ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา 18
ภาพที่ 4.2	เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแคริโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศเมีย ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา 19
ภาพที่ 4.3	เมทาเฟสโครโมโซมของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ด้วยการย้อมแถบสีแบบนอร์ 20
ภาพที่ 4.4	อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) จากการย้อมสีแบบธรรมดา 21
ภาพที่ 4.5	ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) 24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน มีภูมิอากาศและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำสวยงาม และพรรณไม้น้ำที่สำคัญ ปัจจุบันประเทศไทยส่งออกสัตว์น้ำสวยงาม และพรรณไม้น้ำปีละกว่า 1,000 ล้านบาท ในขณะที่มูลค่าการซื้อขายทั่วโลกประมาณ 35,000 ล้านบาท (สถาบันพัฒนาปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ, 2540) และนอกจากนั้นประเทศไทยยังเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) มากแหล่งหนึ่งของโลกรองจากทวีปอเมริกาใต้ โดยเฉพาะปลาน้ำจืดเนื่องจากมีลักษณะภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ และปลาส่วนใหญ่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีความหลากหลายของแหล่งน้ำจืดสูง ได้แก่ ลำธาร น้ำตก ห้วย หนอง คลอง บึง แม่น้ำ ถ้ำ หรือลำธารใต้ดิน จากการตรวจสอบข้อมูลพบว่าประเทศไทยมีปลามากมายหลายชนิด หลากหลายสายพันธุ์ โดยรวมแล้วมีชนิดปลาไม่น้อยกว่า 700 ชนิด (ขวลิต วิทยานนท์, 2544) นอกจากนี้ยังมีปลาต่างถิ่นที่เข้ามาแพร่ขยายพันธุ์ในแหล่งน้ำของประเทศไทยอีกมาก จึงเป็นข้อได้เปรียบของประเทศไทยในการที่จะพัฒนาสายพันธุ์ของปลาสวยงามที่พบตามแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น ปลาชีวิหางแดง (*Rasbora borapetensis*) ปลาแป้นแก้ว (*Parambassis siamensis*) ปลาปักเป้าเขียว (*Tetraodon fluviatilis*) ปลาทรงเครื่อง (*Epalzeorhynchos bicolor*) รวมถึงปลาก้าง ให้เป็นธุรกิจเพาะเลี้ยงปลาสวยงามชนิดใหม่ โดยยกระดับไปอีกขั้นจากปัจจุบันที่มีการเพาะเลี้ยงชนิดปลาดังเดิมอยู่แล้ว และทำให้กลุ่มเกษตรกรได้มีทางเลือกการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น แต่ในกลุ่มของปลาก้างยังมีความสับสนเรื่องชนิด (species) ซึ่งถือว่ามีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาเพื่อระบุชนิดให้ชัดเจน โดยเฉพาะในแหล่งน้ำ ของ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ยังไม่มีรายงานการศึกษาข้อมูลด้านต่าง ๆ ของปลาก้างมาก่อน ดังนั้นเพื่อที่จะจำแนกชนิดของปลาก้างจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์ ซึ่งข้อมูลด้านลักษณะของโครโมโซม เป็นข้อมูลพื้นฐานอย่างหนึ่งที่เป็นต่อการนำไปใช้ประโยชน์ด้านสนับสนุนการจำแนกชนิด การปรับปรุงพันธุ์ และการอนุรักษ์ (วีรยุทธ์ เลาหะจินดา, 2552) โครโมโซมเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ใช้อธิบายถึงรูปแบบการเจริญพัฒนารวมถึงวิวัฒนาการได้ แม้แต่ในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานก็จำเป็นต้องใช้ข้อมูลหลาย ๆ อย่างประกอบการพิจารณาความถูกต้อง ข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมถือว่าเป็นข้อมูลที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการพิจารณา ร่วมกับข้อมูลอื่น ๆ เพื่อการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานในสิ่งมีชีวิต (อมรา คัมภีรานนท์, 2546) โดยข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางอนุกรมวิธาน 2 ระดับ ได้แก่ ในลำดับขั้นต่ำ เพื่อจำแนกชนิดที่ใกล้เคียงกันเพราะชนิดต่างกันที่มีรูปร่างและลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน จะปรากฏว่ามีลักษณะ

โครโมโซมแตกต่างกันบางประการ และในลำดับขั้นสูงโดยใช้แบบแผนการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมสำหรับสร้างสายวิวัฒนาการ (dendrogram) เพราะการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมมักมีแบบอย่างเฉพาะ ข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมจึงเป็นข้อมูลหนึ่งที่ใช้ระบุความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสัตว์ได้ (วีรยุทธ์ เล่าหะจินดา และวุฒิ ทักษิณธรรม, 2549)

1.2 วัตถุประสงค์หลักของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ และลักษณะทางพันธุกรรม บนพื้นฐานข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาก้าง ใน อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
2. เพื่อระบุชนิดของปลาก้าง โดยใช้ข้อมูลทางทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางด้าน จำนวน ขนาด และรูปร่างของโครโมโซมของปลาก้างที่ศึกษาเปรียบเทียบกับปลาก้างที่มีรายงานการศึกษามาก่อนหน้านี้จากพื้นที่อื่น
3. เพื่อสร้างข้อมูลพันธุกรรมของปลาก้างในแหล่งน้ำ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ซึ่งนำไปสู่การยกระดับเป็นปลาสวยงามในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของปลาก้าง ใน อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
2. ทราบชนิดของปลาก้าง จากการใช้ข้อมูลทางทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางด้าน
3. ได้ข้อมูลพันธุกรรมของปลาก้างในแหล่งน้ำ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ซึ่งนำไปสู่การยกระดับเป็นปลาสวยงามในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาเอกลักษณ์ และลักษณะทางพันธุกรรม บนพื้นฐานข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาก้าง ใน อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
2. ระบุชนิดของปลาก้าง โดยใช้ข้อมูลทางทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางด้าน จำนวน ขนาด และรูปร่างของโครโมโซมของปลาก้าง ใน อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์

1.5 ขอบเขตระยะเวลา

ระยะเวลาในการทำงานวิจัย เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึง เดือน กันยายน พ.ศ. 2562

บทที่ 2

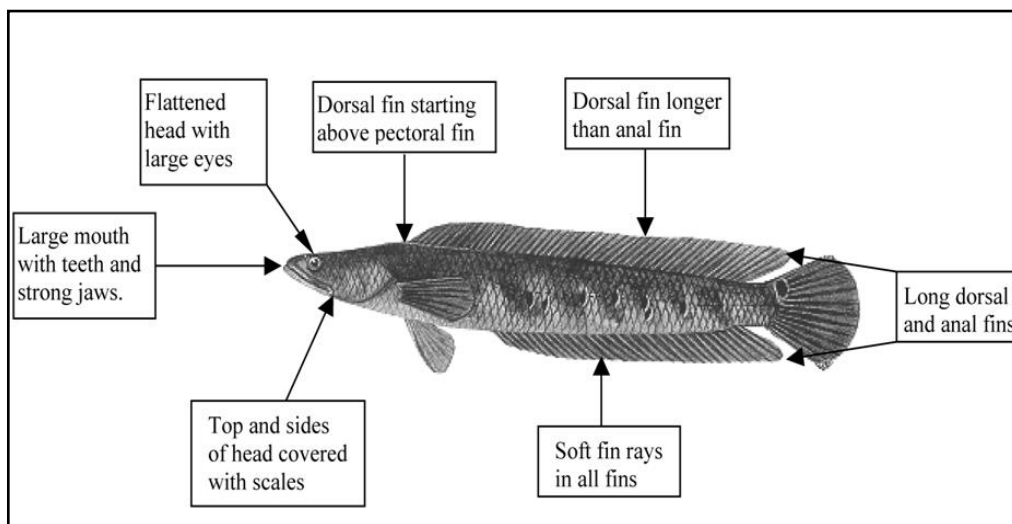
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาปลาวงศ์ปลาช่อน

ปลาวงศ์ปลาช่อนจัดเป็นปลากระดูกแข็ง ชั้น (class) ปลากระดูกแข็ง (Actinopterygii) ชั้นย่อย (subclass) Neopterygii อันดับ (order) Perciformes อันดับย่อย (suborder) Channoidei และวงศ์ปลาช่อน (Nelson, 2006) ปลาในวงศ์นี้เป็นปลาน้ำจืดที่มีลักษณะลำตัวยาวเป็นรูปทรงกระบอกในตอนหน้า และแบนข้างในตอนท้าย มีฟันบนกระดูกขากรรไกร (mandible) กระดูกโวเมอร์ (vomer) และกระดูกเพดานปาก (palatine) กระดูกค้ำจุนกระพุ้งแก้มมีจำนวน 5 ก้าน แผ่นเหงือก (gill membrane) เชื่อมต่อกับคอคอด มีอวัยวะช่วยหายใจ (accessory respiratory organ) ครีบหลังมีตอนเดียวไม่เชื่อมต่อกับครีบหาง และไม่มีก้านครีบแข็ง เส้นข้างตัวขาดตอนหรือหักมุมโค้งลง กระเพาะลมยวดยาวตอนท้ายไม่แบ่งออกเป็น 2 ช่อง มีไส้ติ่งจำนวน 1-2 อัน (คณะเทคโนโลยีประมงและทรัพยากรสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, ม.ป.ป.) สำหรับปลาในสกุล (genus) *Channa* มีลักษณะอื่นที่ต่างจากปลาสกุลอื่นคือ มีลำตัวยาวเป็นรูปทรงกระบอกในตอนหน้า สันท้องกลม หัวใหญ่และแบนจากบนลงล่าง มีแผ่นกระดูกคล้ายเกล็ดมองคล้ายเกล็ดจริง จะงอยปากสั้นหุ้ม ปากมีขนาดใหญ่ มุมปากอาจยาวเกินขอบหน้าของตา ตาอยู่ทางด้านข้างมีขนาดปานกลางค่อนข้างยาวกว่าขากรรไกรบนเล็กน้อย มีฟันที่กระดูกขากรรไกร และเพดานปาก ช่องเปิดเหงือกกว้าง แผ่นหนังคลุมกระพุ้งแก้มเชื่อมต่อกับคอคอด มีอวัยวะช่วยหายใจอยู่ในรูปของแผ่นกระดูกที่บางมากอยู่ในตำแหน่งช่องว่างเหนือเหงือก ครีบหลังยาวมีจุดเริ่มต้นตรงกับครีบอก ไม่มีก้านครีบแข็ง มีก้านครีบอ่อนที่แตกปลาย 29-55 ก้าน ครีบกันยาวมีจำนวนก้านครีบอ่อน 21-36 ก้าน ทั้งครีบหลังและครีบกันไม่เชื่อมต่อกับครีบหาง ครีบหางกลม เกล็ดมีขนาดเล็ก แบบไซคลอยด์ (cycloid) หรือทินอยด์ (ctenoid) เกล็ดบนหัวมีขนาดใหญ่กว่าบนลำตัว เส้นข้างตัวโค้ง ลดระดับลงบริเวณเกล็ดที่ 37-110 (ภาพที่ 1) เป็นปลากินเนื้อ อาศัยอยู่ในน้ำจืดที่ค่อนข้างนิ่ง (Counernay and Williams, 2004)

ปัจจุบันทั่วโลกมีปลาที่จัดอยู่ในวงศ์ปลาช่อนทั้งหมด 29 ชนิด 2 สกุล (Counernay and Williams, 2004; Nelson, 2006) คือ สกุล *Parachanna* 3 ชนิด ได้แก่ *P. africana* (Steindachner, 1879), *P. insignis* (Sauvage, 1884) และ *P. obscura* (Günther, 1861) สกุล *Channa* 26 ชนิด ได้แก่ *C. amphibeus* (McClelland, 1845), *C. argus* (Cantor, 1842), *C. asiatica* (Linnaeus, 1758), *C. aurantimaculata*, *C. bankanensis* (Bleeker, 1852), *C. baramensis* (Steindachner, 1901), *C. barca* (Hamilton, 1822), *C. bleheri* Vierke, 1991, *C. burmanica* Chaudhuri, 1916, *C. cyanospilos* (Bleeker, 1853), *C. gachua* (Hamilton, 1822), *C. harcourtbutleri* (Annandale,

1918), *C. lucius* (Cuvier, 1831), *C. maculata* (Lacépède, 1801), *C. maruloides* (Bleeker, 1851), *C. marulius* (Hamilton, 1822), *C. melanoptera* (Bleeker, 1855), *C. melasoma* (Bleeker, 1851), *C. micropeltes* (Cuvier, 1831), *C. nox* Zhang, Musikasinthorn & Watanabe, 2002, *C. orientalis* Bloch & Schneider, 1801, *C. panaw* Musikasinthorn, 1998, *C. pleurophthalmus* (Bleeker, 1851), *C. punctata* (Bloch, 1793), *C. stewartii* (Playfair, 1867) และ *C. striata* (Bloch, 1793)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาสกุลปลาช่อน

ปลาในสกุลปลาช่อน เป็นปลาที่มีรูปร่างทรงกระบอก เรียว ยาว ส่วนหัวแบน ด้านบน และด้านข้างของหัวปกคลุมด้วยเกล็ด มีฟันขนาดใหญ่ และฟันกรามแข็งแรง ครีบหลังและครีบท้องยาว จุดเริ่มต้นของครีบหลังตรงกับจุดเริ่มของครีบอก ก้านครีบทั้งหมดเป็นครีบอก่อน (Counernay and Williams, 2004)

2.2 ลักษณะทั่วไป และอนุกรมวิธานของปลาวงศ์ปลาช่อนในประเทศไทย

ประเทศไทยมีปลาวงศ์ปลาช่อน อยู่ทั้งหมด 1 สกุล และ 7 ชนิด (ขวลิต วิทยานนท์, 2548; Counernay and Williams, 2004) ดังนี้

2.2.1 ปลาช่อน (*Channa striata*)

เป็นปลาที่มีส่วนหัวค่อนข้างโต รูปร่างทรงกระบอกยาว ครีบหางเรียวปลายมน ปากกว้าง ภายในปากมีฟันเขี้ยวบนเพดาน ลำตัวสีคล้ำอมมะกอกหรือน้ำตาลอ่อน มีลายเส้นทแยงสีคล้ำตลอดทั้งลำตัว 6-7 เส้น ด้านท้องสีจางตัดกับด้านบน ครีบสีคล้ำมีขอบสีเหลืองอ่อน ครีบท้องจาง มีขนาดลำตัวประมาณ 30-40 เซนติเมตร ขนาดใหญ่สุดคือ 1 เมตร (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.2 ปลาชะโด (*C. micropeltes*)

จัดเป็นปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์นี้ คือขนาดโตเต็มที่ยาวถึง 1 เมตร หรือ 1.5 เมตร หนักถึง 20 กิโลกรัม มีรูปร่างลำตัวค่อนข้างกลมยาว พื้นลำตัวสีน้ำตาลอมเขียว มีลายประ สีดำกระจายทั่วตัว ภายในปากมีฟันแหลมคม เมื่อยังเป็นปลาขนาดเล็กจะมีสีลำตัวเป็นสีน้ำตาล และมีแถบสีดำ ส้ม และเหลืองพาดตามความยาวลำตัว 2 แถบ บริเวณหางสีแดงสด เมื่อเริ่มโตขึ้นมาสีและลายจะเริ่มจางหายไป กลายเป็นสีเขียวอมน้ำตาลคล้ายสีของเปลือกหอยแมลงภู่ (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.3 ปลากะพง (*C. lucius*)

ลักษณะคล้ายปลาช่อน แต่ลำตัวป้อมกว่า หัวและตาเล็ก หน้าผากเว้าลาด ปากกว้างและเรียวบนขึ้นเล็กน้อย ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มอมเหลืองหรือเขียวมะกอกคล้ำ และมีลายประต่างตลอด ข้างแก้มมีแต้มสีคล้ำใหญ่ดูคล้ายดวงตา ท้องสีจางและมีประสีคล้ำ ครีbspีคล้ำและมีจุดสีจาง พบชุกชุมในบางแหล่งน้ำของไทย (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.4 ปลาก้าง (*C. gachua*)

มีรูปร่างคล้ายปลาช่อน แต่มีส่วนหัวมนกลม และมีขนาดโตกว่าปลาช่อน ลำตัวสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำเงินคล้ำ และมีลายประหรือจุดสีคล้ำ ท้องสีจาง โคนครีบอกมีลายเส้นสีคล้ำเป็นแถบ 4-6 แถบ ครีบลหลัง ครีบก้น และครีบท้องมีสีเทาหรือน้ำเงินเรื่อขอบมีสีส้มหรือสีจาง ปลาก้างจัดเป็นปลาที่มีขนาดเล็กที่สุดของวงศ์นี้ โดยขนาดโตเต็มที่มักไม่เกิน 30 เซนติเมตร (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.5 ปลาช่อนงูเห่า (*C. marulius*)

มีลักษณะลำตัวค่อนข้างกลมยาว หัวมีขนาดเล็กกว่าปลาช่อนชนิดอื่น ๆ สีลำตัวจะเปลี่ยนไปตามวัยและสภาพแวดล้อม ปกติพื้นลำตัวจะเป็นสีคล้ำเช่น น้ำตาลแกมเขียว หรือสีดำ เมื่อยังเป็นลูกปลาจะมีแถบสีส้มคาดตามความยาวจากหัวจรดโคนหาง โดยบริเวณโคนหางจะมีจุดสีดำล้อมรอบด้วยวงสีส้ม สดคล้ายเครื่องหมายดอกจันทน์ เมื่อปลาเริ่มโตขึ้นจะมีแถบดำราว 5-6 แถบคาดขวางลำตัวส่วนที่อยู่ก่อนไปทางท้าย ใต้ท้องสีจาง ลำตัวด้านท้าย ครีบลหลัง หาง และครีบท้องจะมีจุดสีตะกั่วเหลืองแวววาวกระจายอยู่ทั่ว ขนาดโตเต็มที่ประมาณ 40-90 เซนติเมตร มีรูปร่างเรียวยาวกว่าปลาช่อนชนิดอื่น ๆ (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.6 ปลาช่อนข้าหลวง (*C. maruloides*)

มีลักษณะคล้ายปลาช่อนงูเห่า แต่ลำตัวสั้นป้อมกว่า ลำตัวสีเขียวอ่อน และมีลายสีเหลืองทอง ส้มสลับกับแต้มสีดำ ครีบลมีจุดประสีเหลืองสด ท้องสีจาง ขนาดโตเต็มที่ที่มีความยาวประมาณ 90 เซนติเมตร ในประเทศไทยพบเฉพาะภาคใต้เท่านั้น (ขวลิต วิทยานนท์, 2548)

2.2.7 ปลาช่อนพรุ (*C. melasoma*)

ลักษณะคล้ายปลาช่อน แต่ไม่มีแผ่นเกล็ดบริเวณคาง (gular region) ลำตัวด้านบนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ท้องสีจาง มีครีบลสีดำหรือเข้ม ครีบท้องปกติมีลายหรือแถบ เกล็ดด้านข้างจำนวนมาก ที่มีจุดสี

เข็มตรงกลาง ความยาวลำตัวถึง 35 เซนติเมตร ในประเทศไทยพบเฉพาะบริเวณป่าพรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส (Counernay and Williams, 2004)

2.3 การเตรียมโครโมโซม

การศึกษาโครโมโซมเพื่อตรวจสอบจำนวน และรูปร่างของโครโมโซมมีหลายวิธี แต่ละวิธีจะเลือกเอาเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) เนื่องจากเป็นระยะที่มีโครโมโซมหดสั้นมากที่สุดเห็นรูปร่างได้ชัดเจน ในการเก็บเกี่ยวเซลล์ในระยะเมทาเฟส ได้ใช้สารโคลชิซิน (colchicine) ซึ่งเป็นสารสกัดจากพืชสกุล *Colchicum* มาใช้เพื่อยับยั้งการสร้างสายใยสปินเดิล (spindle fiber) ทำให้เซลล์ที่มีการแบ่งตัวไม่สามารถเข้าสู่ระยะแอนาเฟส (anaphase) ได้ วิธีการเตรียมโครโมโซมแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ วิธีโดยตรง (direct chromosome preparation) เป็นวิธีที่เลือกเอาเซลล์ในร่างกายที่กำลังมีการแบ่งตัวมาศึกษาโครโมโซม เป็นเซลล์ที่ยังอ่อนและยังมีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลา เช่น เซลล์เม็ดเลือดจากไขกระดูก (bone marrow) อีกวิธี คือ วิธีโดยอ้อม (indirect chromosome preparation) จะเลือกเซลล์ในร่างกายชนิดที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ภายนอกร่างกาย (*in vitro*) ให้เซลล์มีการแบ่งตัว หรือใช้สารกระตุ้นการแบ่งเซลล์

การเพาะเลี้ยงเซลล์ยังแบ่งได้เป็น 2 แบบ แบบที่หนึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ใช้เวลานาน (long term culture) เป็นการนำเซลล์ร่างกาย เช่น เซลล์ผิวหนัง ปอด ตับ เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยงจะมีเฉพาะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ที่เจริญแบ่งเซลล์มากมาย แบบที่สอง เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ใช้ระยะเวลาสั้น (short term culture) ได้แก่ การเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphocyte) โดยนำเลือด (whole blood) ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวซึ่งเป็นเซลล์ที่แก่หรือหยุดแบ่งตัวแล้วมากระตุ้นให้เซลล์กลับสู่วัฏจักรการแบ่งเซลล์ (cell cycle) แบบไมโทซิส (mitosis) ในปี ค.ศ. 1949-1955 Osgood ได้พัฒนาเทคนิคเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเติมสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ คือ phytohemagglutinin (PHA) เป็นสารประเภท mitotic stimulating agent ช่วยเหนี่ยวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวมีพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสได้ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเซลล์ 3 วัน จะได้เซลล์เมทาเฟสมากเพียงพอในการศึกษา ซึ่งเป็นข้อดี ได้ผลรวดเร็ว เทคนิคการทำงานง่าย ไม่ค่อยมีปัญหาด้าน ติดเชื้อ และค่าใช้จ่ายน้อย นอกจาก PHA ที่ใช้ได้กับสัตว์ ก็นั่นแล้ว ต่อมา มีการค้นพบและใช้สารกระตุ้นการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นอีกหลายชนิด เช่น pokeweed (PW) และ concanavalin A (Con A) ที่สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดบี (B-lymphocyte) ได้ดี และเหมาะสมกับสัตว์กินพืชมากกว่า แต่การศึกษาในขณะนั้นยังนับจำนวนโครโมโซมได้ไม่แน่นอนภายหลังได้ใช้สาร hypotonic solution ให้กับเซลล์ช่วยทำให้เซลล์พองตัวมากขึ้น มีการกระจายตัวของโครโมโซมดี ทำให้การตรวจนับจำนวนและรูปร่างชัดเจนยิ่งขึ้น (อมรา คัมภีรานนท์, 2546)

2.4 การย้อมสีโครโมโซม

การเตรียมโครโมโซมโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว เก็บเกี่ยวเซลล์และหยดเซลล์ลงบนสไลด์ ทำการย้อมสีโดยเลือกวิธีตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา (Halnan, 1989) ดังนี้

2.4.1 การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

จะใช้สีย้อมที่ติดโปรตีนฮิสโตน (histone) บนโครโมโซม โดยสีที่นิยมใช้ได้แก่ ออร์ซีน (orcein) คาร์มีน (carmine) และจิมซ่า (Giemsa's) ภาพโครโมโซมจะติดสีตลอดแท่งสามารถบอกจำนวนและชนิดของโครโมโซมประจำสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ และอาจบอกลักษณะบางอย่างของโครโมโซม เช่น รอยคอดที่หนึ่ง (primary constriction) รอยคอดที่สอง (secondary constriction) และ แซทเทลไลต์ (satellite)

2.4.2 การย้อมแถบสีแบบคิว (Q-banding)

วิธีนี้ย้อมโครโมโซมให้เกิดแถบมืด และสว่างเป็นช่วง ๆ ตลอดความยาวแท่งโครโมโซมได้ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence microscope) โดยใช้สีย้อมชนิด Quinacrine mustard ทำให้สามารถจำแนกความแตกต่างของโครโมโซมทุกแท่งได้

2.4.3 การย้อมแถบสีแบบซี (C- banding)

เป็นเทคนิคที่ทำให้แถบสีเข้มบริเวณที่โครโมโซมขดตัวกันแน่น (constitutive heterochromatin) มีคุณสมบัติเป็นลำดับเบสที่ซ้ำกันมากๆ (highly repetitive DNA sequence) ซึ่งได้แก่ บริเวณเซนโทรเมียร์ (centromere) ของเกือบทุก ๆ โครโมโซม นอกจากนี้ยังพบที่บริเวณเทโลเมียร์ (telomere) ของโครโมโซมบางแท่งอีกด้วย

2.4.4 การย้อมแถบสีแบบจี (G-banding)

เทคนิคนี้เหนี่ยวนำให้เกิดแถบโดยใช้สารเคมีที่สามารถย่อยโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโครโมโซม สารเคมีที่นิยมใช้ คือ เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) แล้วจึงย้อมด้วยสีจิมซ่าตามปกติ จะทำให้เกิดแถบสีเข้มสลับกับจางเนื่องจากคุณสมบัติที่ต่างกันในแต่ละบริเวณบนแท่งโครโมโซมเป็นเทคนิคที่นิยมทำกันมากที่สุด เพราะเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ลักษณะของแถบมีความคงตัว

2.4.5 การย้อมแถบสีแบบอาร์ (R-banding)

เป็นเทคนิคที่เกิดแถบสีเข้ม และจางสลับกันเช่นเดียวกับแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจี แต่แถบสีที่เกิดขึ้นจะตรงข้ามกับแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจี คือ แถบที่ติดสีเข้มในแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจีจะติดสีจางแทนในแถบสีแบบอาร์

2.4.6 การย้อมแถบสีแบบนอร์

เป็นเทคนิคที่ทำให้ส่วน nucleolar organizer regions (NORs) ติดสีเข้ม โดยการใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate) ในสัตว์มีกระดูกสันหลังส่วนนี้มีถิ่นสำหรับสังเคราะห์ ribosomal RNA ชนิด 18s และ 28s อยู่ ปฏิกริยาการย้อมด้วยซิลเวอร์จะจำเพาะกับตำแหน่งนี้ เนื่องจาก

บริเวณดังกล่าวมีการแสดงออกของยีนเป็นอย่างมาก และบริเวณนั้นจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนฮิสโตนมากกว่าบริเวณอื่นของโครโมโซม โปรตีนเหล่านี้จึงทำให้เกิดแถบสีที่จำเพาะเนื่องจากจะไปรีดิวซ์ (reduce) ซิลเวอร์ในรูปไอออนิก (ionic) ทำให้ซิลเวอร์เปลี่ยนเป็นสีดำ ตำแหน่งนอร์ส่วนใหญ่จะพบบนบริเวณรอยคอดที่ 2 ทำให้แขนส่วนที่เหลือเป็นกระเปาะเล็ก ๆ โครโมโซมที่มีรอยคอดที่สองนี้เรียกว่าแซทเทลไลท์โครโมโซม (satellite chromosome หรือ SAT-chromosome) ซึ่งใช้เป็นโครโมโซมเครื่องหมาย (marker chromosome) ได้

2.4.7 การย้อมสีบนโครโมโซมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์อินไซโตไฮบริไดเซชัน (fluorescence *in situ* hybridization หรือ FISH)

เทคนิค FISH นี้เป็นเทคนิคที่ทำให้เกิดการเข้าคู่หรือไฮบริไดซ์ (hybridize) ระหว่างโพรบ (probe) และ ดีเอ็นเอเป้าหมาย (target DNA) ซึ่งอยู่ภายในโครโมโซม โพรบที่ใช้นี้มักเป็นดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ (DNA probe หรือ RNA probe) ซึ่งติดฉลาก (label) ด้วยสารเรืองแสง (fluorocetin หรือ fluorophore) มีหลายสี การตรวจสอบจะทำให้เห็นสีหลายสีบนแท่งโครโมโซมทำให้ดูเหมือนการระบายสีบนโครโมโซม จึงนิยมเรียกเทคนิค FISH อีกอย่างหนึ่งว่า “chromosome painting” การย้อมแถบสีโครโมโซมแบบต่าง ๆ นี้มีประโยชน์ช่วยในการจับคู่โครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) ช่วยตรวจสอบเอกลักษณ์ของโครโมโซม ความผิดปกติของโครโมโซม พฤติกรรมของโครโมโซม และช่วยในการจำแนกสิ่งมีชีวิตได้ถูกต้องยิ่งขึ้น การเปรียบเทียบทางพันธุศาสตร์เซลล์ (comparative cytogenetics) ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถช่วยอธิบายวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้ (Rooney, 2001; อมรา คัมภีรานนท์, 2546)

2.5 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ปลาช่อน

Nyyar (1966) รายงานโครโมโซมของวงศ์ปลาช่อน 3 ชนิด คือ ปลาช่อนงูเห่า ปลาช่อน และปลาช่อน *C. punctata* จากประเทศอินเดีย โดยศึกษาจากเซลล์สเปิร์มมาโทโกเนียม (spermatogonium) เซลล์สเปิร์มมาโทไซต์ระยะที่หนึ่ง (primary spermatocyte) และเซลล์สเปิร์มมาโทไซต์ระยะที่สอง (secondary spermatocyte) พบว่า ปลาช่อนงูเห่า และปลาช่อน มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 40 แท่ง ประกอบด้วย โครโมโซมขนาดใหญ่ (macrochromosome) ที่มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก 10 แท่ง และโครโมโซมขนาดเล็ก (microchromosome) 30 แท่ง ส่วน *C. punctata* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 32 แท่ง เป็นชนิดเมทาเซนทริก 16 แท่ง ปลาช่อนทั้ง 3 ชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากัน คือ 50

Manna and Prasad (1973) ศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 102 ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง อะโครเซนทริก 4 แท่ง และเทโลเซนทริก 50 แท่ง

Sharma and Agarwal (1981) ศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 104 ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนตริก 10 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 8 แห่ง อะโครเซนตริก 8 แห่ง และเทโลเซนตริก 52 แห่ง

Banerjee et al. (1988) ศึกษาจำนวนโครโมโซม ขนาดของจีโนม ปริมาณดีเอ็นเอในนิวเคลียส (ค่า C-value) และวิวัฒนาการของปลาวงศ์ปลาช่อน โดยศึกษาในปลา 3 ชนิด คือ *C. punctata* ปลาช่อน และปลาก้างจากประเทศอินเดีย พบว่าปลา *C. punctata* มีจำนวนโครโมโซม ดิพลอยด์เท่ากับ 32 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนตริก 24 แห่ง และซับเมทาเซนตริก 8 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 64 ค่า C-value เท่ากับ 0.66 พิโกกรัม หรือ 6.4×10^8 คู่เบสต่อเซลล์ ปลาช่อนมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 40 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนตริก 8 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 2 แห่ง ซับเทโลเซนตริก 2 แห่ง เทโลเซนตริก 28 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 64 ค่า C-value เท่ากับ 0.73 พิโกกรัม หรือ 7.08×10^8 คู่เบสต่อเซลล์ ปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนตริก 16 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 10 แห่ง และเทโลเซนตริก 52 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 104 ค่า C-value เท่ากับ 0.978 พิโกกรัม หรือ 9.4×10^8 คู่เบสต่อเซลล์

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2534) รายงานการศึกษาโครโมโซมของปลาช่อน ปลาช่อนงูเห่า ปลาชะโด ปลากะพง และปลาก้าง ในประเทศไทย พบว่า มีโครโมโซมดิพลอยด์ (diploid chromosome number, $2n$) เท่ากับ 44, 44, 44, 48 และ 112 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number) เท่ากับ 48, 46, 48, 52 และ 116 ตามลำดับ แคริโอไทป์ของปลาช่อนประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก (metacentric) 2 แห่ง ซับเมทาเซนตริก (submetacentric) 2 แห่ง ซับเทโลเซนตริก (subtelocentric) 2 แห่ง และเทโลเซนตริก (telocentric) 38 แห่ง ปลาชะโดมีโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก 2 แห่ง และเทโลเซนตริก 44 แห่ง ปลากะพงมีแคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมเมทาเซนตริก 2 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 2 แห่ง ซับเทโลเซนตริก 2 แห่ง และเทโลเซนตริก 42 แห่ง และปลาก้างประกอบด้วยเมทาเซนตริก 4 แห่ง ซับเทโลเซนตริก 2 แห่ง และเทโลเซนตริก 106 แห่ง

Chavananikul et al. (1993) ศึกษาโครโมโซมของปลากะพง จากการเพาะเลี้ยงเซลล์จากส่วนหาง พบว่าปลากะพงมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 88 แห่ง เป็นชนิดเมทาเซนตริก 2 แห่ง และอะโครเซนตริก (acrocentric) 86 แห่ง

Wu et al. (1994) รายงานแคริโอไทป์ของปลาช่อน และปลาชะโด จากประเทศจีน พบว่า จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 44 แห่งเท่ากัน แคริโอไทป์ต่างกัน คือ ปลาช่อน ประกอบด้วยโครโมโซมเมทาเซนตริก 4 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 2 แห่ง ซับเทโลเซนตริก 16 แห่ง และเทโลเซนตริก 22 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 50 ส่วนปลาชะโดแคริโอไทป์ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนตริก 2 แห่ง และชนิดเทโลเซนตริก 42 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46

Sahoo et al. (1997) ศึกษาการย้อมแถบสีแบบ replication และแถบสีแบบนอร์ ของปลา *C. punctata* พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 32 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซมเมทาเซนทริก 20 แห่ง และซับเมทาเซนทริก 12 แห่ง ตัวอย่างปลาหนึ่งจากหกตัวอย่าง ที่แสดงแถบสีของ replication banding โดยโครโมโซมคู่ที่ 3 และ 14 เซนโทรเมียร์ติดสีจางและโครโมโซมคู่ที่ 10 ความยาวแขนทั้งหมดติดสีจาง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกคู่ที่ใหญ่ที่สุดมีนอร์อยู่ที่แขนยาว ใกล้เซนโทรเมียร์ ขนาดของนอร์มีความแตกต่างกันระหว่างโครโมโซมคู่เหมือน

Magtoon et al. (2006) ศึกษาโครโมโซมของปลาช่อนข้าหลวง ปลาช่อนหางดอก (*C. asiatica*) จากประเทศไทย ผลการศึกษาพบว่าปลาช่อนข้าหลวงมีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 38 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 2 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 2 แห่ง ซับเทโลเซนทริก 2 แห่ง และเทโลเซนทริก 32 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 ปลาช่อนหางดอกมีโครโมโซม ดิพลอยด์เท่ากับ 44 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 4 แห่ง และอะโครเซนทริก 36 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 52

Ruma et al. (2006) ศึกษาแครีโอไทป์ของปลา *C. punctata* และ *C. orientalis* โดยการย้อมแบบธรรมดา และย้อมแถบสี CMA และ DAPI พบว่า *C. punctata* มีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 32 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 24 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 2 แห่ง และเทโลเซนทริก 6 แห่ง ส่วน *C. orientalis* มีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 34 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 2 แห่ง และเทโลเซนทริก 42 แห่ง *C. orientalis* มีโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกมากกว่า ดังนั้น *C. orientalis* จึงมีลักษณะที่ก้าวหน้ากว่า *C. punctata* จากการตรวจสอบแถบสี CMA positive band เท่ากับ 7 แถบ ในปลาชนิดนี้ และ 12 แถบ ใน *C. orientalis* ซึ่งแถบสีบนโครโมโซมของ *C. punctata* มีขนาดใหญ่กว่า ตรวจพบ DAPI negative band เท่ากับ 7 แถบ ตรงตำแหน่งเดียวกันกับที่ปรากฏ CMA positive band ส่วน *C. orientalis* ปรากฏ DAPI positive band จำนวน 20 แถบ และ DAPI negative band เท่ากับ 7 แถบ ตรงตำแหน่งเดียวกันกับที่ปรากฏ CMA positive band

Kumar et al. (2013) ศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 52 จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 74 ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 12 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 10 แห่ง อะโครเซนทริก 14 แห่ง และเทโลเซนทริก 16 แห่ง

Cioffi et al. (2015) ศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 52 จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 74 ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก 12 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 10 แห่ง อะโครเซนทริก 14 แห่ง และเทโลเซนทริก 16 แห่ง

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่าง

3.1.1 เก็บตัวอย่างปลาก้างจากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ตัวอย่างปลาที่เก็บมาได้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ตัวอย่างสำหรับตรวจสอบเอกลักษณ์ปลา และตัวอย่างสำหรับเตรียมโครโมโซม

3.1.2 นำตัวอย่างปลาที่เก็บได้มาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลาขนาด 60x120x50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ให้ก๊าซออกซิเจนตลอดเวลา

3.1.3 นำตัวอย่างปลามาตรวจสอบและระบุชนิดโดยใช้เอกสารของชวลิต วิทยานนท์ (2548), Nelson (1994) และ Rainboth (1996) ถ่ายภาพตัวอย่างปลา

3.2 การเตรียมโครโมโซม

เตรียมโดยวิธีทางตรง (direct method) อวัยวะที่ใช้ คือเนื้อเยื่อไต เนื่องจากเป็นอวัยวะที่มีการแบ่งเซลล์ตลอดเวลา โดยเตรียมจากในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ตามวิธีการของ Supiwong et al. (2009); Cioffi et al. (2015) ดังนี้ ฉีดโคลชิซินความเข้มข้น 0.05% ขนาด 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าไปในกล้ามเนื้อ (intramuscular injection) ของปลาทั้งตัว 1 ชั่วโมง สลับปลาโดยใช้น้ำแข็ง นำเฉพาะส่วนของไตมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ในจานเพาะเชื้อขนาดเล็ก โดยเติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.075 โมลาร์ (KCl 0.075 M) สับจนละเอียด จากนั้นดูดตะกอนเซลล์ขนาดเล็กลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนในด้านบนทิ้ง เติมน้ำยาตรึงสภาพ (fixative) ที่มีส่วนผสมของเมทานอล 3 ส่วนต่อกรดอะซิติก 1 ส่วน (methanol: acetic acid; 3:1) ที่เตรียมใหม่และเย็นจัด นำสารละลายไปปั่นที่ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสข้างบนทิ้งเติมน้ำยาตรึงสภาพลงไป 7 มิลลิลิตร ปั่นด้วยความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม ทำซ้ำเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด เก็บตะกอนเซลล์ในสารละลายตรึงเซลล์ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

3.3 การเตรียมสไลด์โครโมโซม และการย้อมสีโครโมโซม

เตรียมสไลด์โครโมโซมโดยนำตะกอนเซลล์ที่เตรียมไว้แล้วมาหยดบนสไลด์ที่สะอาด 2-3 หยด โดยหยดห่างจากสไลด์ 2 เซนติเมตร ปล่อยให้แห้งในอากาศ การเตรียมสไลด์จะเตรียมจากตัวอย่างปลาตัวละ 5 สไลด์ การย้อมสีโครโมโซม โดยเทคนิคการย้อมแบบธรรมดาและการย้อมแบบแบบนอร์

3.3.1 การย้อมแบบธรรมดา

ย้อมสีแบบธรรมดากจะย้อมด้วยสีจิมซ่าความเข้มข้น 10% ในเกอร์บัฟเฟอร์ (Gurr's buffer) pH 6.8 เป็นเวลา 30 นาที แล้ว ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 10X และ ถ่ายภาพด้วยกำลังขยาย 100X

3.3.2 การย้อมแถบสีแบบนอร์

ดัดแปลงจากวิธีการ Howell and Black (1980) ดังนี้ อบสไลด์ที่ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 วัน หยดซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 50% (50% AgNO_3) ลงบนสไลด์ 4 หยด และหยดเจลาตินความเข้มข้น 2% จำนวน 2 หยดลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำเข้าตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ล้างซิลเวอร์ไนเตรทส่วนเกินออกด้วยน้ำกลั่น ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 10X และ ถ่ายภาพด้วยกำลังขยาย 100X

3.4 การตรวจสอบโครโมโซม การจัดทำแคริโอไทป์ และการทำอิดิโอแกรมมาตรฐาน

การตรวจสอบโครโมโซม จัดทำแคริโอไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐาน ดัดแปลงจากวิธีการของ Turpin and Lejeune (1965)

3.4.1 การตรวจสอบโครโมโซม

เลือกเซลล์ที่มีโครโมโซมระยะเมทาเฟสกระจายตัวดีไม่ซ้อนทับกัน นำมาถ่ายภาพโครโมโซมโดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100X โดยใช้ชุดถ่ายภาพที่ต่อกับกล้องจุลทรรศน์ หรือใช้กล้องดิจิตอล เพื่อตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากภาพถ่ายโครโมโซม จำนวน 100 เซลล์ ความถี่ของจำนวนโครโมโซมที่พบมากที่สุด จะเป็นค่าของจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จากนั้นจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน (homologous chromosome) และศึกษาโครโมโซมโดยการหาความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (long arm; LL) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (short arm; Ls) และคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (total length; LT, $LT = LL + Ls$) คำนวณค่า relative length (RL) และ centromeric index (CI) เพื่อระบุชนิดของโครโมโซม และนำค่าที่ได้ไปใช้ประกอบในการจัดทำแคริโอไทป์ และอิดิโอแกรม

3.4.2 การจัดทำแคริโอไทป์

ใช้รูปถ่ายที่ได้ในการจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน โดยการกำหนดตำแหน่งเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมแต่ละแท่งในเซลล์ วัดค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว ค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง จัดเรียงแคริโอไทป์ ให้เรียงตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย ยกเว้นโครโมโซมเพศจะวางเป็นคู่สุดท้ายมุมล่างซ้ายเสมอ ต้องบอกหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ด้านล่าง วางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง

ขั้นตอนการจัดทำแคโรไทป์

1. เลือกเซลล์ในระยะเมทาเฟส ที่มีขนาดของโครโมโซมไม่ยาวหรือสั้นเกินไป มีการกระจายที่ดีไม่ซ้อนทับกัน และนับจำนวนโครโมโซมได้ครบเท่ากับจำนวนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ถ่ายภาพเซลล์ที่เลือกไว้โดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100X เลือกมาจัดจำนวน 20 เซลล์
2. ใช้รูปถ่ายที่ได้ในการจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน โดยการกำหนดตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมแต่ละแท่งในเซลล์ จากนั้นวัดค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว ค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง การวัดค่าความยาวของโครโมโซมอาจจะใช้วิธีการตัดโครโมโซมออกมาจากรูปถ่ายที่ละแท่ง กำหนดหมายเลขให้โครโมโซมทุกแท่งก่อนการวัด เมื่อวัดความยาวเสร็จแล้วจึงจับคู่โครโมโซมที่มีความยาวของแขนแต่ละข้าง และความยาวทั้งแท่งใกล้เคียงกันมากที่สุด
3. การคำนวณค่า relative length (RL) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ค่า relative length (RL)} = \frac{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}{\text{ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมทุกแท่ง (\sum LT)}}$$

การใช้ค่า RL นี้สามารถช่วยในการจับคู่โครโมโซมได้แน่นอนกว่าการใช้ค่าความยาวของโครโมโซม เพราะค่า RL ของโครโมโซมแต่ละแท่งจะคงที่ในทุก ๆ เซลล์ ส่วนค่าความยาวของโครโมโซมจะแตกต่างกันไปในเซลล์แต่ละเซลล์

4. การคำนวณค่า centromeric index (CI) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ค่า centromeric index (CI)} = \frac{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LL)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}$$

นำค่า CI ที่ได้นำมาระบุชนิดของโครโมโซม โดยใช้เกณฑ์ ดังนี้

ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.500–0.599 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.600–0.699 จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก

ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.700–0.899 จัดเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.900–1.000 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

5. การกำหนดขนาดของโครโมโซม แบ่งขนาดของโครโมโซมออกเป็น 3 ขนาด โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซมคู่ที่สั้นที่สุดเป็นโครโมโซมคู่สุดท้าย

โครโมโซมขนาดใหญ่ (large=L) คือ โครโมโซมที่มีความยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของผลบวกความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมใหญ่ที่สุด รวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด

$$\text{ดังนั้น } L > \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดกลาง (medium=M) คือ โครโมโซมที่มีค่าความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมใหญ่ที่สุด รวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด

$$\text{ดังนั้น } M < \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1 + LT \text{ เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดเล็ก (small=S) ได้แก่ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่ที่สุด

$$\text{ดังนั้น } S < \frac{LT \text{ เฉลี่ยคู่ที่ } 1}{2}$$

6. จัดเรียงแคริโอไทป์ ให้เรียงตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย ยกเว้นโครโมโซมเพศจะวางเป็นคู่สุดท้ายมุมล่างซ้าย ต้องบอกหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ด้านล่างวางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง และนิยมนำแท่งโครโมโซมให้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ตรงกัน

3.5 การทำอิดิโอแกรมมาตรฐาน

อิดิโอแกรม คือ ไดอะแกรมแสดงแคริโอไทป์ของโครโมโซม 1 ชุดแฮพลอยด์ ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย และโครโมโซมเพศ โดยใช้ข้อมูลค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซม รูปร่างของโครโมโซม และตำแหน่งเซนโทรเมียร์ อิดิโอแกรมจากเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาใช้เซลล์ระยะเมทาเฟส ชนิดละ 20 เซลล์ นำมาจัดแคริโอไทป์ แล้ววัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว และแขนโครโมโซมข้างสั้นของโครโมโซมทุกคู่ด้วยเวอร์เนีย (vernier) จัดทำภาพวาดอิดิโอแกรมด้วยคอมพิวเตอร์ โดยการนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาสร้างกราฟโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel XP/2003 ให้แกนตั้ง (Y) เป็นความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด

ไปหาซื้อที่เล็กที่สุด ยกเว้นโครโมโซมเพศจัดเป็นคู่สุดท้าย แล้วนำมาปรับรูปร่างของโครโมโซมโดยใช้โปรแกรม Microsoft Word XP/2003 หรือ Microsoft Powerpoint XP/2003

3.6 การศึกษาทางสัณฐานวิทยา

การจำแนกชนิดปลา ตามหลักของ Taylor (1962, 1963, 1965) วิธีการวัดสัดส่วนของปลา และการนับจำนวนของก้านครีบต่าง ๆ ดัดแปลงจากหนังสือปฏิบัติการวิชา มินวิทยา ของคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อักษรย่อที่ไ้มีความหมายดังต่อไปนี้

D; Dorsal fin = ครีบหลัง

A; Anal fin = ครีบก้น

P; Pectoral fin = ครีบหู

V; Ventral fin = ครีบท้อง

C; Caudal fin = ครีบหาง

SL; Standard length = ความยาวปลายสุดของจะงอยปากถึงปลายสุดของกระดูก hypurals

HL; Head length = ความยาวปลายสุดของจะงอยปากไปถึงขอบด้านท้ายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือก

Body depth = ระยะตั้งฉากจากขอบด้านบนของลำตัวบริเวณจุดเริ่มต้นของครีบหลังลงมาถึงด้านล่าง

Body length = ความยาวของลำตัวจากขอบด้านท้ายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือกถึงรูทวาร

Caudal-fin length = ความยาวครีบหางโดยวัดจากปลายสุดของกระดูก hypurals ถึงปลายสุดของครีบหาง

Caudal-peduncle depth = ระยะตั้งฉากขอบด้านบนบนสุดของคอดหางลงมาถึงขอบด้านล่างของคอดหางตรงบริเวณส่วนที่แคบที่สุด

Eye diameter = เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่างตา

Post-orbital length = ความยาวจากขอบด้านหลังของตาถึงปลายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือก

Snout length = ความยาวจากปลายสุดของจะงอยปากถึงขอบด้านหน้าของตา

Total length = ความยาวจากปลายสุดของจะงอยปากถึงปลายสุดของครีบหาง

เลขโรมัน(I, II, III...etc) = จำนวนก้านครีบแข็ง

เลขอารบิก (1, 2 ,3 ...etc) = จำนวนก้านครีบอ่อน

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาก้างในครั้งนี้ ได้ใช้ตัวอย่างปลาช่อนจำนวน 40 ตัว จากแหล่งน้ำในพื้นที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยเตรียมโครโมโซมจากปลาทั้งแบบทางตรง ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์ ได้ผลการศึกษา ดังนี้

4.1 จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน

จากการนับจำนวนจาก 100 เมทาเฟส พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 76 แท่ง (ตารางที่ 4.1) และจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 114 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย และไม่พบความแตกต่างของลักษณะโครโมโซมระหว่างเพศผู้และเพศเมีย

4.2 ชนิดและขนาดของโครโมโซม

ปลาก้างมีโครโมโซมครบทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก อะโครเซนทริก และเทโลเซนทริก มีโครโมโซม 3 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ 30 แท่ง ขนาดกลาง 44 แท่ง และขนาดเล็ก 2 แท่ง โครโมโซมขนาดใหญ่พบโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริกและอะโครเซนทริก โครโมโซมขนาดกลางพบโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก อะโครเซนทริกและเทโลเซนทริก และขนาดเล็กพบเฉพาะชนิดเทโลเซนทริกเท่านั้น (ภาพที่ 4.1 และ 4.2)

4.3 โครโมโซมเครื่องหมาย

โครโมโซมเครื่องหมาย คือ โครโมโซมที่มีลักษณะเฉพาะสามารถจำแนกได้ง่าย และตรวจพบได้ในสกุลหรือชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ รวมทั้งโครโมโซมที่มีลักษณะพิเศษ เช่น มีรอยคอดที่สอง (secondary constriction) มี satellite หรือ knob การศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจพบโครโมโซมเครื่องหมายของปลาก้างได้ผลดังนี้

จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาก้างพบโครโมโซมค่อนข้างเล็กและไม่เด่นชัด จากการย้อมด้วยเทคนิคแถบสีแบบบอร์ พบว่าปลาก้างมีโครโมโซมที่มีตำแหน่งนอร์ 1 คู่ ตำแหน่งนอร์อยู่ตอนปลายของโครโมโซม (telomeric NOR) (ภาพที่ 4.3)

4.4 แคริโอไทป์ และอติโอแกรมมาตรฐานของปลาก้าง

ปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 76 แท่ง และมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 114 โครโมโซมแบ่งออกเป็น 3 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ ขนาดกลาง และขนาดเล็ก (ภาพที่ 4.4) โดยโครโมโซม

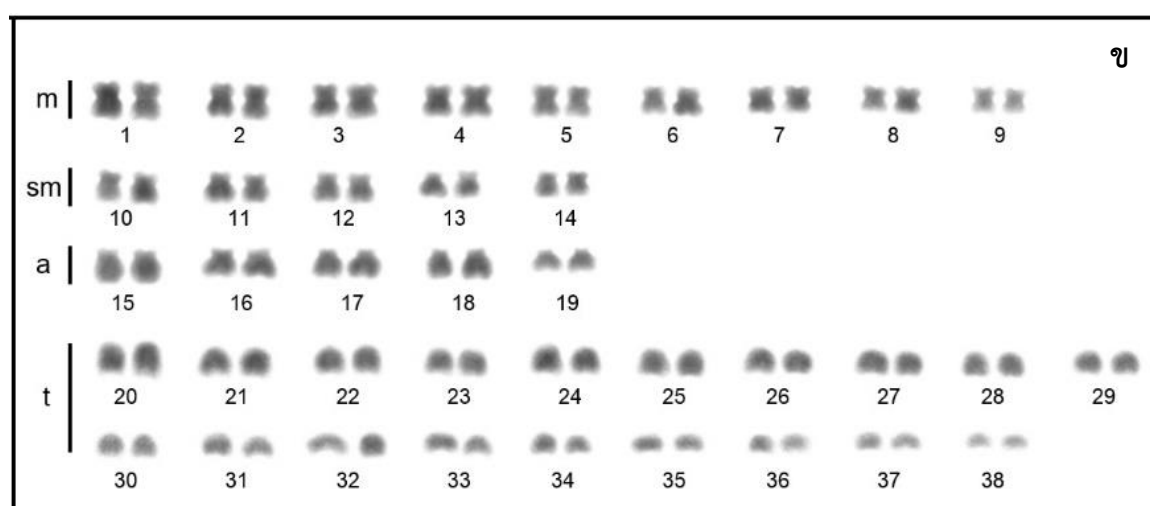
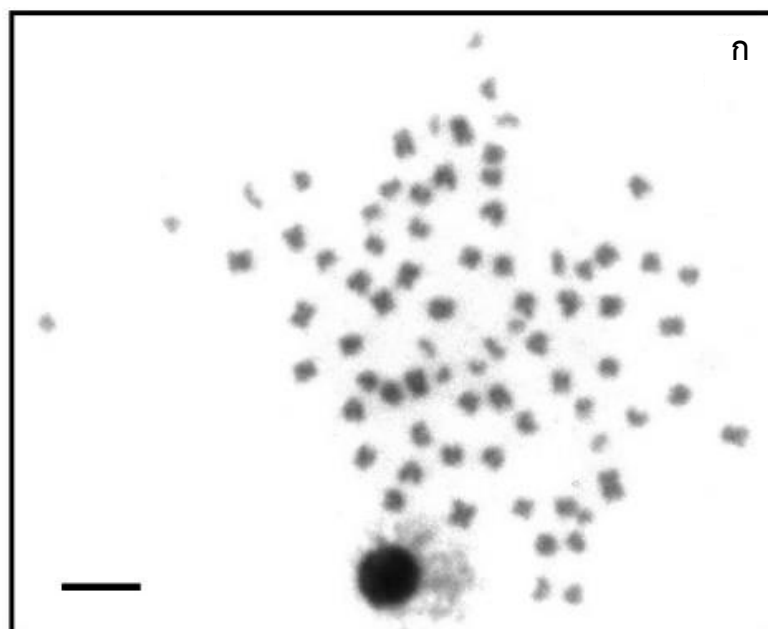
ขนาดใหญ่มีค่าความยาวโครโมโซมมากกว่า 2.64 โครโมโซมขนาดกลางมีค่าความยาวโครโมโซมระหว่าง 1.37-2.64 และโครโมโซมขนาดเล็กมีค่าความยาวโครโมโซมน้อยกว่า 1.37 (ตารางที่ 4.2)

โครโมโซมดิพลอยด์ของปลาก้างประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 14 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 36 แท่ง และ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างของโครโมโซมระหว่างเพศผู้และเพศเมีย แคริโอไทป์และอัติโอแกรมโครโมโซมมาตรฐานของปลาก้างจากการย้อมแถบสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์ สามารถสร้างสูตรแคริโอไทป์ได้ ดังนี้

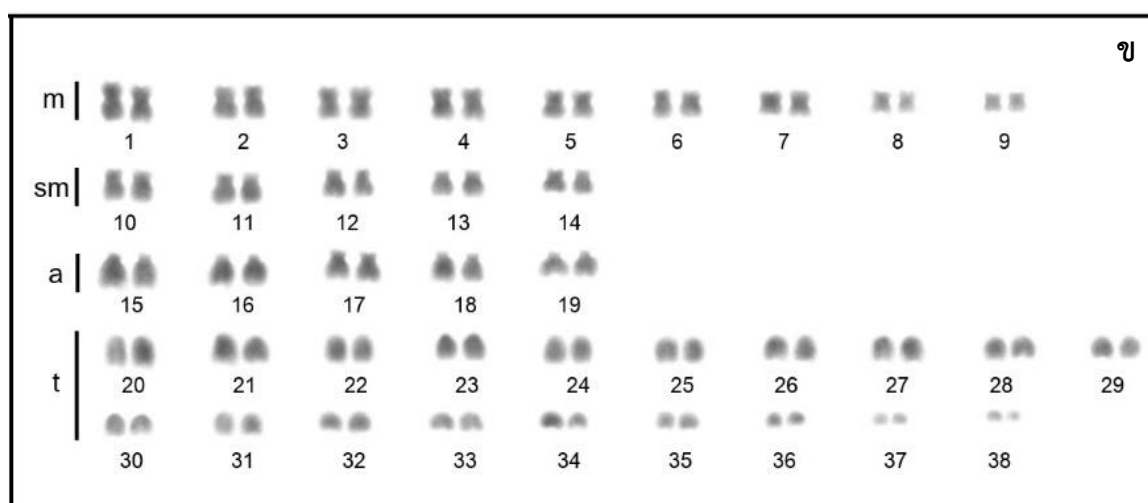
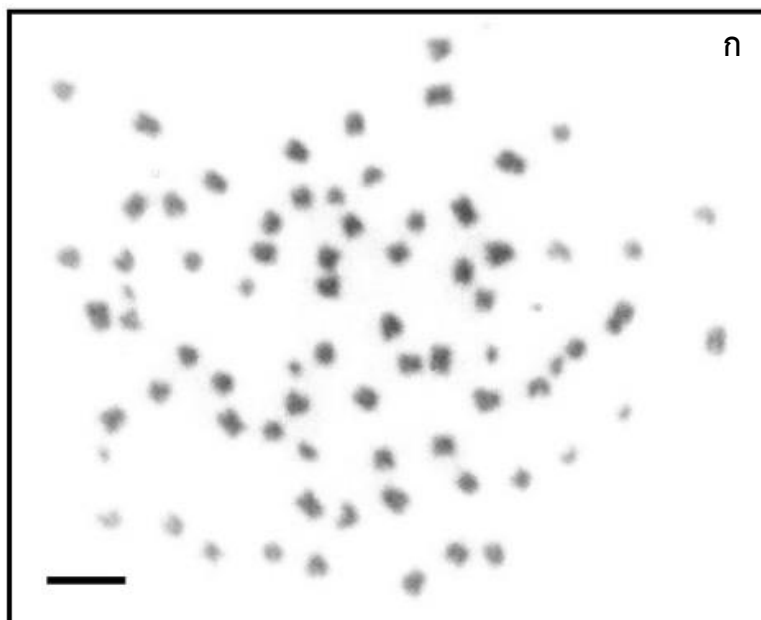
$$2n(76) = L^m_{14} + M^m_4 + L^{sm}_8 + M^{sm}_2 + L^a_8 + M^a_2 + M^t_{36} + S^t_2$$

ตารางที่ 4.1 จำนวนโครโมโซมของปลาก้างนับจาก 100 เมทาเฟส

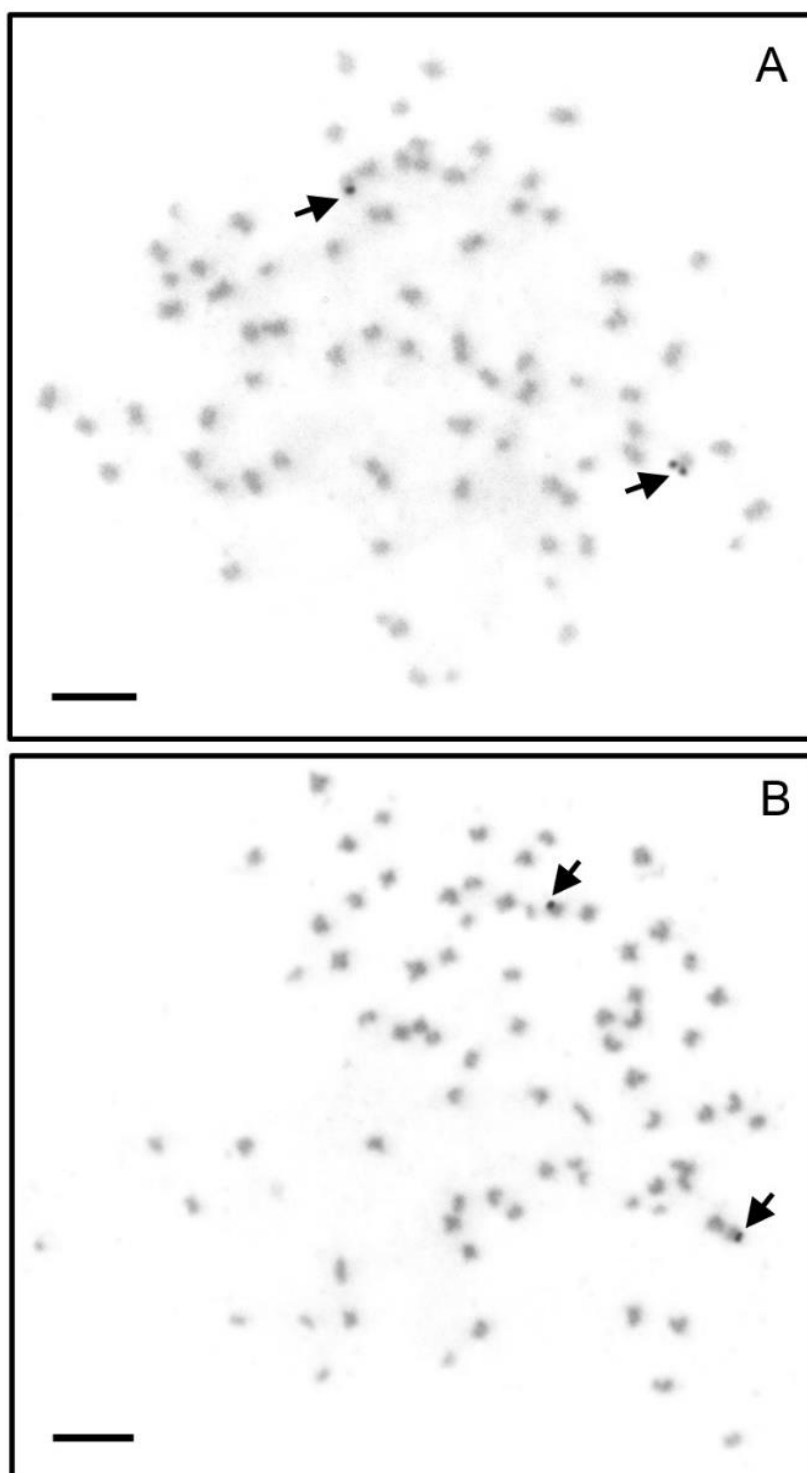
จำนวนโครโมโซม (แท่ง)	จำนวนเซลล์ที่นับ
68	3
69	1
70	1
72	3
73	3
74	6
75	7
76	54
77	7
78	7
79	4
80	3
81	1



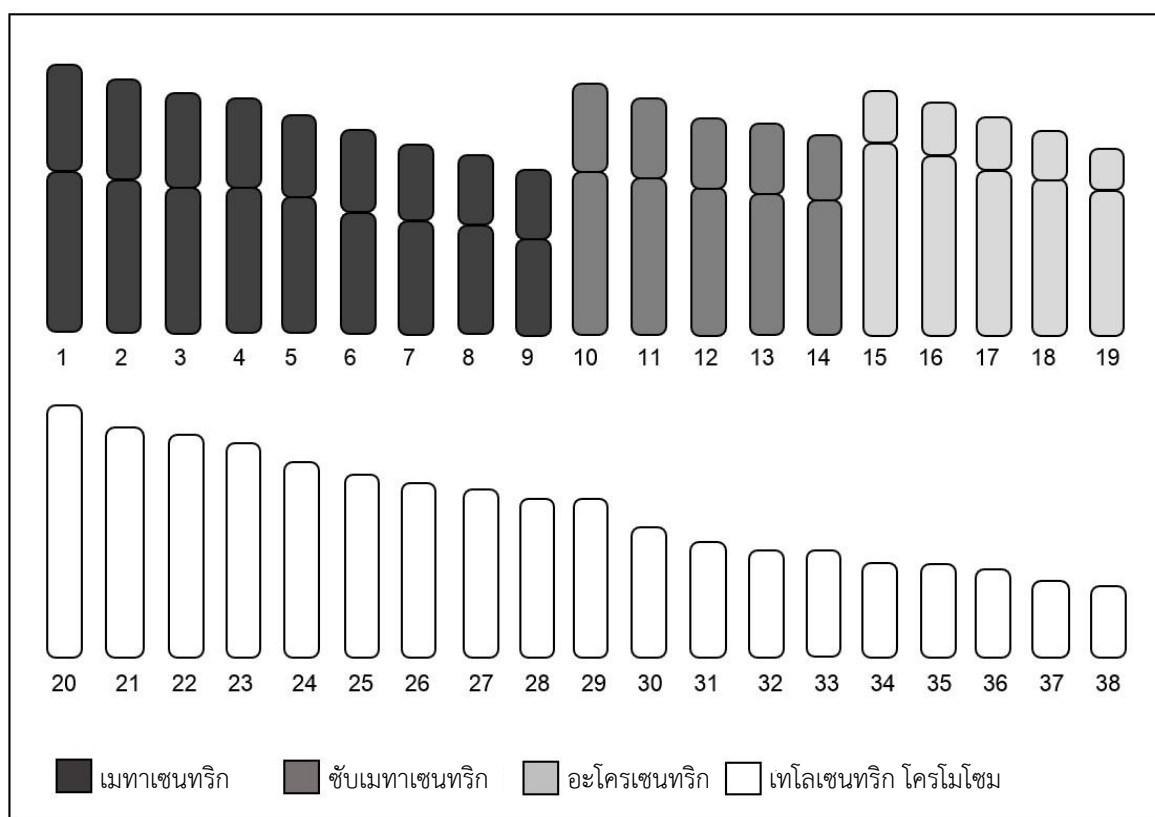
ภาพที่ 4.1 เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแคริโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (*C. gachua*) เพศผู้ ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา สเกลบาร์ = 2 ไมโครเมตร.



ภาพที่ 4.2 เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแคริโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (*C. gachua*) เพศเมีย ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา สเกลบาร์ = 2 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4.3 เมทาเฟสโครโมโซมของปลาก้าง (*C. gachua*) เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ด้วยการย้อมแถบสี
แบนเนอร์ สเกลบาร์ = 2 ไมโครเมตร (ลูกศรชี้ตำแหน่งนอร์)



ภาพที่ 4.4 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาก้าง (*C. gachua*) จากการย้อมสีแบบธรรมดา

Table 4.2 ค่าเฉลี่ยของความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมทั้งหมด (LT) ของโครโมโซมแต่ละคู่ ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ของปลาก้าง *C. guchua* จาก 20 เมทาเฟส

คู่ที่	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	CI $\pm$ SD	RL $\pm$ SD	ขนาด	ชนิด
1	1.630	2.266	3.896	0.582 $\pm$ 0.005	0.039 $\pm$ 0.001	ใหญ่	เมทาเซนทริก
2	1.438	2.092	3.530	0.593 $\pm$ 0.021	0.035 $\pm$ 0.001	ใหญ่	เมทาเซนทริก
3	1.561	2.017	3.577	0.566 $\pm$ 0.024	0.035 $\pm$ 0.001	ใหญ่	เมทาเซนทริก
4	1.413	1.896	3.309	0.575 $\pm$ 0.023	0.033 $\pm$ 0.000	ใหญ่	เมทาเซนทริก
5	1.229	1.847	3.076	0.593 $\pm$ 0.033	0.030 $\pm$ 0.000	ใหญ่	เมทาเซนทริก
6	1.287	1.704	2.990	0.571 $\pm$ 0.021	0.030 $\pm$ 0.001	ใหญ่	เมทาเซนทริก
7	1.168	1.534	2.702	0.565 $\pm$ 0.019	0.027 $\pm$ 0.002	ใหญ่	เมทาเซนทริก
8	1.249	1.345	2.595	0.519 $\pm$ 0.006	0.026 $\pm$ 0.001	กลาง	เมทาเซนทริก
9	1.062	1.284	2.347	0.544 $\pm$ 0.034	0.023 $\pm$ 0.001	กลาง	เมทาเซนทริก
10	1.195	2.013	3.209	0.628 $\pm$ 0.003	0.032 $\pm$ 0.001	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
11	1.160	2.029	3.189	0.637 $\pm$ 0.017	0.032 $\pm$ 0.000	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
12	1.068	1.854	2.921	0.634 $\pm$ 0.001	0.029 $\pm$ 0.001	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
13	1.011	1.758	2.769	0.636 $\pm$ 0.010	0.027 $\pm$ 0.000	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
14	0.853	1.498	2.351	0.639 $\pm$ 0.020	0.023 $\pm$ 0.001	กลาง	ซับเมทาเซนทริก
15	0.789	2.829	3.618	0.781 $\pm$ 0.009	0.036 $\pm$ 0.000	ใหญ่	อะโครเซนทริก
16	0.856	2.382	3.238	0.736 $\pm$ 0.009	0.032 $\pm$ 0.003	ใหญ่	อะโครเซนทริก
17	0.828	2.119	2.947	0.718 $\pm$ 0.029	0.029 $\pm$ 0.001	ใหญ่	อะโครเซนทริก
18	0.850	2.233	3.083	0.723 $\pm$ 0.015	0.030 $\pm$ 0.000	ใหญ่	อะโครเซนทริก
19	0.679	1.806	2.485	0.727 $\pm$ 0.004	0.025 $\pm$ 0.002	กลาง	อะโครเซนทริก
20	0.000	3.420	3.420	1.000 $\pm$ 0.000	0.034 $\pm$ 0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
21	0.000	3.070	3.070	1.000 $\pm$ 0.000	0.030 $\pm$ 0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
22	0.000	2.917	2.917	1.000 $\pm$ 0.000	0.029 $\pm$ 0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
23	0.000	2.688	2.688	1.000 $\pm$ 0.000	0.027 $\pm$ 0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
24	0.000	2.858	2.858	1.000 $\pm$ 0.000	0.028 $\pm$ 0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
25	0.000	2.646	2.646	1.000 $\pm$ 0.000	0.026 $\pm$ 0.000	กลาง	เทโลเซนทริก

26	0.000	2.537	2.537	1.000±0.000	0.025±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
27	0.000	2.414	2.414	1.000±0.000	0.024±0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
28	0.000	2.505	2.505	1.000±0.000	0.025±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
29	0.000	2.176	2.176	1.000±0.000	0.021±0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
30	0.000	2.178	2.178	1.000±0.000	0.022±0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
31	0.000	2.031	2.031	1.000±0.000	0.020±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
32	0.000	2.050	2.050	1.000±0.000	0.020±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
33	0.000	1.879	1.879	1.000±0.000	0.019±0.002	กลาง	เทโลเซนทริก
34	0.000	1.840	1.840	1.000±0.000	0.018±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
35	0.000	1.683	1.683	1.000±0.000	0.017±0.002	กลาง	เทโลเซนทริก
36	0.000	1.657	1.657	1.000±0.000	0.016±0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
37	0.000	1.392	1.392	1.000±0.000	0.014±0.001	กลาง	เทโลเซนทริก
38	0.000	1.377	1.377	1.000±0.000	0.014±0.002	เล็ก	เทโลเซนทริก

4.5 สันฐานวิทยาปลาก้าง

การจำแนกชนิดปลา ตามหลักของ Taylor (1962, 1963, 1965), วิธีการวัดสัดส่วนของปลา และการนับจำนวนของก้านครีบต่าง ๆ ดัดแปลงจากหนังสือปฏิบัติการวิชา มีนวิทยา ของคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อักษรย่อที่ใช้มีความหมายดังต่อไปนี้

D; Dorsal fin = ครีบหลัง

A; Anal fin = ครีบก้น

P; Pectoral fin = ครีบทู

V; Ventral fin = ครีบท้อง

C; Caudal fin = ครีบทหาง

SL; Standard length = ความยาวปลายสุดของจะงอยปากถึงปลายสุดของกระดูก hypurals

HL; Head length = ความยาวปลายสุดของจะงอยปากไปถึงขอบด้านท้ายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือก

Body depth = ระยะตั้งฉากจากขอบด้านบนของลำตัวบริเวณจุดเริ่มต้นของครีบหลังลงมาถึงด้านล่าง

Body length = ความยาวของลำตัวจากขอบด้านท้ายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือกถึงรูทวาร

Caudal-fin length = ความยาวครีบทหางโดยวัดจากปลายสุดของกระดูก hypurals ถึงปลายสุดของครีบทหาง

Caudal-peduncle depth = ระยะตั้งฉากขอบด้านบนบนสุดของคอดหางลงมาถึงขอบด้านล่างของคอดหางตรงบริเวณส่วนที่แคบที่สุด

Eye diameter = เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่างตา

Post-orbital length = ความยาวจากขอบด้านหลังของตาถึงปลายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือก

Snout length = ความยาวจากปลายสุดของจงอยปากถึงขอบด้านหน้าของตา

Total length = ความยาวจากปลายสุดของจงอยปากถึงปลายสุดของครีบหาง

เลขโรมัน(I, II, III...etc) = จำนวนก้านครีบแข็ง

เลขอารบิก (1, 2 ,3 ...etc) = จำนวนก้านครีบอ่อน

ผลการศึกษาในพื้นที่วิจัย พบว่าลักษณะภายนอกของปลาก้าง มีรูปร่างเรียวยาวทรงกระบอก ส่วนหัวโตจะงอยปากยื่น ปากกว้าง ตาโต มีฟันเป็นเขี้ยวบนขากรรไกร หัวด้านบนราบ ถ้าดูจากตอนบนจะโค้งมน คล้ายงู ลำตัวค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้ม ปลายครีบหลังสีและปลายครีบหางสีส้ม ครีบกันยาว ครีบหางปลายมน ครีบอกใหญ่ ครีบท้องเล็ก เกล็ดใหญ่มีขอบเรียบ (Cycloid) ขนาดโตเต็มที่ไม่เกิน 30 เซนติเมตร (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาก้าง (*C. gachua*)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน

ปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แท่ง และจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 114 ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Nayyar (1966) Sharma and Agarwal (1981) Donsakul and Magtoon (1991) Banerjee et al. (1988) Nayyar (1966) Manna and Prasad (1973) Sharma and Agarwal (1981) Kumar et al. (2013) Cioffi et al. (2015) ความแตกต่างดังกล่าวอาจเกิดปรากฏการณ์การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม จากการเชื่อมกันของโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก 2 แท่งกลายเป็นโครโมโซมเมทาเซนตริกที่มีสองแขน ทำให้จำนวนแขนโครโมโซมหรือโครโมโซมพื้นฐานไม่เปลี่ยนแปลง (Yu and Zhou, 1996) และผลการศึกษานี้ยังพบว่าจำนวนโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริกเพิ่มขึ้นหลายคู่ ซึ่งเป็นความผันแปรทางโครโมโซมระหว่างปลาต่างประชากรกัน ผลการศึกษานี้พบจำนวนโครโมโซมพื้นฐานแตกต่างจากการศึกษาของ Nayyar (1966) Sharma and Agarwal (1981) Donsakul and Magtoon (1991) Banerjee et al. (1988) Nayyar (1966) Manna and Prasad (1973) Sharma and Agarwal (1981) Kumar et al. (2013) Cioffi et al. (2015) (ตารางที่ 5.1) อีกทั้งปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมค่อนข้างมาก ขนาดเล็ก และยังหัดสันจนไม่สามารถจำแนกชนิดของโครโมโซมได้อย่างชัดเจน

5.2 ชนิดและขนาดของโครโมโซม

การศึกษานี้สามารถจำแนกขนาดของโครโมโซมได้ 3 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ โครโมโซมขนาดกลาง และโครโมโซมขนาดเล็ก พบว่าต่างจากการศึกษาของ Nayyar (1966) Sharma and Agarwal (1981) Donsakul and Magtoon (1991) Banerjee et al. (1988) Nayyar (1966) Manna and Prasad (1973) Sharma and Agarwal (1981) Kumar et al. (2013) Cioffi et al. (2015) ความแตกต่างของรูปร่างหรือชนิดของโครโมโซมจากการศึกษานี้ เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานที่ผ่านมา มีความแตกต่างกัน สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องจากหลักเกณฑ์ในการจำแนกรูปร่างโครโมโซมต่างกัน ซึ่งการศึกษานี้ได้ดัดแปลงวิธีการจาก Turpin and Lejeune (1965) โดยการจำแนกโครโมโซมแบ่งตามสัดส่วนแขนข้างยาวต่อความยาวแขนโครโมโซมทั้งหมด (centromeric index, CI; $q/p+q$) หากค่า CI อยู่ระหว่าง 0.500–0.599, 0.600–0.699, 0.700–0.899 และ 0.900–1.000 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก ซับเมทาเซนตริก อะโครเซนตริก และเทโลเซนตริก ตามลำดับ ในขณะที่รายงานที่ผ่านมายึดหลักตาม Levan et al. (1964) ซึ่งการกำหนดชนิดของโครโมโซมแบ่งตามสัดส่วนแขนข้างยาวต่อแขนข้างสั้น (q/p) ได้ดังนี้ ค่าระหว่าง 1.0–1.7, 1.7–3.0, 3.0–7.0 และ มากกว่า 7.0 จัดเป็นเมทาเซนตริก ซับเมทาเซนตริก ซับเทโลเซนตริก และ เทโลเซนตริก ตามลำดับ จากหลักเกณฑ์ดังกล่าวพบว่าโครโมโซมชนิดซับเมทาเซน

ทริกตามหลักของ Levan et al. (1964) จะมีค่าคาบเกี่ยวกับโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกที่จัดตามหลักเกณฑ์ของ Turpin and Lejeune (1965) ซึ่งอาจเป็นเหตุผลให้เกิดความแตกต่างของชนิดโครโมโซม การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมระหว่างเพศผู้และเพศเมียจึงทำให้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศของปลาก้างได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากต่น (2534), Banerjee et al. (1988) และ Wu et al. (1994) มีความเป็นไปได้ว่าโครโมโซมเพศของปลายังอยู่ในขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลง (differentiation) การกำหนดเพศอาจถูกกำหนดโดยยีนซึ่งอยู่บนโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่งซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ในระดับพันธุศาสตร์เซลล์ (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2543) การกำเนิดและพัฒนาของโครโมโซมเพศมีรายงานในปลาน้ำจืดที่เป็นปลาเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Neotropical fish) จากประเทศบราซิล (Bertollo et al., 2004)

ตารางที่ 5.1 เปรียบเทียบการศึกษาโครโมโซมของปลาก้าง (*C. gachua*)

ชนิด	2n	NF	สูตรแคริโอไทป์	อ้างอิง
<i>Channa gachua</i>	78	102	12m + 12sm + 54t/a	Nayyar (1966)
	78	104	10m + 8sm + 8st + 52t	Sharma and Agarwal (1981)
	78	104	16m + 10sm + 52t	Banerjee et al. (1988)
	112	-	2m + 1sm + 53t(a)	Donsakul and Magtoon (1991)
	78	102	12m + 12sm + 4st + 50t	Manna and Prasad (1973)
	52	74	12m + 10sm + 14st + 16t	Kumar et al. (2013)
	104	112	8a+96t	Cioffi et al. (2015)
	76	114	18m+10sm+10a+38t	การศึกษาครั้งนี้

หมายเหตุ: 2n = จำนวนดิพลอยด์โครโมโซม NF = จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน m = เมทาเซนทริก

sm = ซับเมทาเซนทริก a = อะโครเซนทริก t = เทโลเซนทริก

5.3 โครโมโซมเครื่องหมาย

เมื่อย้อมแถบสีแบบนอร์พบโครโมโซมเครื่องหมายที่มีนอร์ 1 คู่ ตำแหน่งของนอร์อยู่ตอนปลายโครโมโซม ซึ่งตำแหน่งนอร์ที่แตกต่างกันในปลาสกุลเดียวกันเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมแบบต่อสลับหรืออินเวอร์ชันของโครโมโซมที่มีนอร์จากบรรพบุรุษ (Sharma et al., 2002) ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Sahoo et al. (1997) ที่ศึกษานอร์ของปลา *C. punctata* ในวงศ์ปลาช่อน พบว่าโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกคู่ที่ใหญ่ที่สุดมีนอร์อยู่ที่แขนข้างยาวใกล้เซนโทรเมียร์ ขนาดของนอร์มีความแตกต่างกันระหว่างโครโมโซมคู่เหมือน Sharma et al. (2002) กล่าวว่าสาเหตุที่ *C. punctata* มีตำแหน่งของนอร์อยู่ระหว่างเซนโทรเมียร์และเทโลเมียร์ (interstitial NOR) อาจเกิดจากการรวมกันแบบเทโลเมียร์ต่อกับเซนโทรเมียร์หรือแทนเต็ม ระหว่างโครโมโซมที่มีนอร์และโครโมโซมแท่งอื่น ๆ หรือเกิดจากการรวมกันตรงเซนโทรเมียร์ หรือหักและต่อสลับแบบรวมเซนโทรเมียร์ ระหว่างโครโมโซมเทโลเซนทริก 2 แท่ง โดยแท่งหนึ่งมีตำแหน่งนอร์ที่เทโลเมียร์

5.4 แคริโอไทป์และอิติโอแกรมของปลาก้าง

ปลาก้างมีแคริโอไทป์แตกต่างจากทุก ๆ การศึกษา ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลมาจากความผันแปรทางโครโมโซมภายในชนิดเดียวกันแต่ต่างประชากร (ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น, 2537) การศึกษาค้างนี้เป็นการรายงานใหม่และเป็นรายงานแรกของกลุ่มประชากรจากพื้นที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่รายงานจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ของปลาก้างเท่ากับ 76 และ 114 แท่ง โดยปลาก้างพบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ 4 แบบ คือ $2n=78$ Nayyar (1966) Sharma and Agarwal (1981) Banerjee et al. (1988) Manna and Prasad (1973) $2n=112$ Donsakul and Magtoon (1991) $2n=52$ Kumar et al. (2013) และ $2n=104$ Cioffi et al. (2015) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ที่ต่างกันส่งผลให้แคริโอไทป์มีความแตกต่างกัน แต่มีข้อสังเกตประการหนึ่ง คือ การมีโครโมโซมชนิด เมทาเซนทริกเพิ่มขึ้น 1 คู่ จะมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ลดลง 2 แท่ง เช่น ผลการศึกษาของ สุมิตรา วัฒนธร และคณะ (2528) ที่ศึกษาในปลาช่อนจากภาคกลางของประเทศไทย และ Wu et al. (1994) ที่ศึกษาปลาช่อนจากประเทศจีน ได้รายงานพบโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 44 แท่ง มีโครโมโซมเมทาเซนทริก 2 คู่ การศึกษาครั้งนี้พบโครโมโซมดิพลอยด์ 42 แท่ง มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 3 คู่ และ Banerjee et al. (1988) รายงานปลาช่อนจากอินเดียพบโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 40 แท่ง มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 4 คู่ ความผันแปรของจำนวนโครโมโซมดังกล่าวเป็นผลมาจากการเกิดทรานสโลเคชันแบบโรเบิร์ตโซเนียน (Robertsonian translocation) ของโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกเชื่อมรวมกันตรงตำแหน่งเซนโทรเมียร์ กลายเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yu and Zhou (1996) ที่ศึกษาในปลา *C. asiatica* ซึ่งเป็นปลาวงศ์ปลาช่อนอีกชนิดหนึ่งในประเทศจีน พบว่าประชากรจากแม่น้ำ Guangzhou ซึ่งอยู่ทางตอนใต้ของจังหวัด Guangdong มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง ขณะที่ประชากร

จากแม่น้ำ Shaoguas ซึ่งอยู่ทางตอนเหนือของจังหวัด Guangdong และแม่น้ำ Shashi ในจังหวัด Hubei มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 44 แท่ง แต่ยังคงมีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากัน

นอกจากนี้แล้วยังพบความผันแปรของโครโมโซมในปลาวงศ์อื่น ๆ เช่น Beçak et al (1966) รายงานในปลา green sunfish (*Lepomis cyanellus*) พบแคโรไทป์ 3 แบบ ได้แก่ (1) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด (2) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 2 แท่ง และ โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 44 แท่ง และ (3) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 47 แท่ง ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 1 แท่ง และ โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 46 แท่ง ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าความผันแปรที่เกิดขึ้นนี้เกิดจาก การเชื่อมกันตรงเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกไปเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

ประชากรปลาก้างประเทศไทยและประเทศอินเดียมีวิวัฒนาการทางโครโมโซมโดยผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่แตกต่างกัน ปลาก้างในประเทศไทยน่าจะมีจุดกำเนิดมาจากบรรพบุรุษร่วมระหว่างปลาช่อนและปลาชะโด Banerjee et al. (1988) อธิบายว่าปลาก้างจากอินเดียได้มีจุดกำเนิดร่วมเดียวกันกับปลาช่อนอินเดีย ผ่านกระบวนการเพิ่มชุดโครโมโซม และผ่านขั้นตอนที่ซับซ้อนหลายขั้นตอน จากการศึกษาพบว่าบรรพบุรุษร่วมที่มีแคโรไทป์ $2n = 44; 4ba + 40t$ ได้มีวิวัฒนาการผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับปลาช่อนภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย คือ $2n = 42; 6m + 2sm + 34t$ แคโรไทป์ดังกล่าวถือเป็นจุดกำเนิดร่วมของปลาก้างอินเดียกับปลาช่อนอินเดียจากบรรพบุรุษร่วม ได้เกิดวิวัฒนาการแยกสายออกไปเป็นปลาก้างอินเดียโดยผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางโครโมโซม มีการเพิ่มชุดโครโมโซมเป็น 2 เท่า คือ $4n = 84; 12m + 4sm + 68t$ จากนั้นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 14 แท่ง เกิดการเชื่อมต่อตรงตำแหน่งเซนโทรเมียร์กลายเป็นโครโมโซมที่มีสองแขน 6 แท่ง โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกอีก 4 แท่ง เกิดการต่อสลับโดยมีเซนโทรเมียร์ร่วมด้วยกลายเป็นโครโมโซมที่มีสองแขน 4 แท่ง ผลที่ได้ คือ โครโมโซมที่มีสองแขน 26 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 52 แท่ง แคโรไทป์ คือ $2n = 78; 16m + 10sm + 52t$ ซึ่งเป็นโครโมโซมของปลาก้างอินเดียในปัจจุบัน

ในระหว่างการพัฒนาการของโครโมโซมของปลาก้างที่ผ่านการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็น 2 เท่า รวมทั้งกระบวนการที่ซับซ้อนหลาย ๆ กระบวนการนั้น ได้มีการหายไปของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบางส่วนที่ไม่จำเป็น ทำให้ปริมาณดีเอ็นเอต่อเซลล์ไม่เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าเมื่อเทียบกับของปลาช่อน ซึ่งการศึกษาขนาดของจีโนม หรือค่าซีแวลู (C-value) ต่อชุดจีโนมของปลาช่อนและปลาก้างโดย Banerjee et al. (1988) ได้ยืนยันผลข้างต้น

เอกสารอ้างอิง

- ชวลิต วิทยานนท์. 2544. ปลาน้ำจืดไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชันส์, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์. 2548. คู่มือปลาน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพฯ.
- ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. 2534. การศึกษาโครโมโซมของปลาช่อน ช่อนงูเห่า ชะโด กะพง และ ปลาก้างที่พบในประเทศไทย. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. หน้า 561–574. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วีรยุทธ์ เลาะห์จินดา และ วุฒิ ทักษิณธรรม. 2549. หลักอนุกรมวิธานสัตว์. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วีรยุทธ์ เลาะห์จินดา. 2552. วิยาสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สถาบันพัฒนาปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ. 2540. การทำธุรกิจปลาสวยงาม. กรมประมง, กรุงเทพมหานคร.
- สุมิตรา วัฒนโนตร, วิวัฒน์ ชวนใช้ และ วัฒนา วัฒนวิจารณ์. 2528. เซลล์เลี้ยงของปลาช่อน. เวชสารสัตวแพทย์ 15(4): 305–312.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Beçak, W., Beçak, M. L. and Ohno, S. 1966. Intraindividual chromosomal polymorphism in green sunfish (*Lepomis cyanellus*) as evidence of somatic segregation. Cytogenetics 5: 313–320.
- 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.
- Courtenay, W. R. and Williams, J. D. 2004. Snakeheads-A Biological Synopsis and Risk Assessment. U.S. Geological Survey, Denver, Colorado.
- Gary, H. T. and Jane, E. D. 1990. Chromosome preparation and analysis: p. 171–190. In: Schreck, C.B. and Moyle, P. B. Methods for fish biology. American Fisheries Society. Maryland, USA.
- Banerjee, S.K., Mishra, K.K., Banerjee, S. and Ray-Chaudhuri, S.P. 1988. Chromosome number, genome sizes, cell volumes and evolution of snake-head fish (family Channidae) Fish Biology 33(5): 781–789.

- Chavananikul, V., Wattanodorn, S. and Wattanavijarn, W. 1993. A study of chromosome number and morphology in 7 species of Thai freshwater fish. *Journal of Aquatic Animal Diseases* 14(4): 19–34.
- Cioffi, B.M., Bertollo, L.N.C, Villa, M.A., Oliveira, E.A., Tanomtong, A., Yano, C.F., Supiwong, W. and Chaveerach, A. 2015. Genomic Organization of Repetitive DNA Elements and Its Implications for the Chromosomal Evolution of Channid Fishes (Actinopterygii, Perciformes). *PLOS one* DOI:10.1371/journal.pone.0130199.
- Courtenay, W. R. and Williams, J. D. 2004. Snakeheads-A Biological Synopsis and Risk Assessment. U.S. Geological Survey, Denver.
- Diniz, D. and Bertollo, L.A.C. 2006. Intra- and inter-individual chromosome variation in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Pisces, Erythrinidae). A population from the Brazilian São Francisco river basin. *Genetics Molecular Biology* 29: 453–458.
- Donsakul, T. and Magtoon, W. 1991. Chromosome study on five species of channid fishes (Channa, family Channidae), from Thailand. *Proceedings of the 29th Kasetsart University Annual Conference: Animal Science, Veterinary Science, Aquaculture; 1991 Feb 4–7; Kasetsart University, Bangkok (Thailand).* p. 561–574. Published by FAO and NACA at Bangkok.
- Howell, W.M. and Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014–1015.
- Halnan, C. R. E. 1989. *Cytogenetics of Animals*. CAB International, United State of Kingdom.
- Kumar, R., Kushwaha, B., Nagpure, S.N., Behera, K.B. and Lakra, S.W. 2013. Karyological and molecular diversity in three freshwater species of the genus *Channa* (Teleostei, Perciformes) from India. *Caryologia* 66(2): 109–119.
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220.
- Magtoon, W., Donsakul, T. and Rangsiruji., A. 2006. Karyotypes of two Channid fishes (family Channidae): *Channa maruloides* and *C. asiatica*. In: 32nd congress on science and technology of Thailand. p BO-206: 1.
- Manna, G.K. and Prasad, R. 1973. Chromosome in three fishes (*Channa*). *Nucleus* 16(3): 150–157.

- Nayyar, R.P. 1966. Karyotype studies in thirteen species of fishes. *Genetica* 37(1): 78–92.
- Nelson, J. S. 1994. Fish of the World. 3rd edition. John Wiley and Sons, Inc, New York.
- Nelson, J.S. 2006. Fishes of the World. 4th ed. New York: John Wiley & Sons.
- Rahman, A.K.A. 1989. Freshwater fishes of Bangladesh. Published by Zoological Society of Bangladesh. Department of Zoology, University of Dhaka. Bangladesh 364 p.
- Rainboth, W. J. 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome.
- Rooney, D. E. 2001. Human Cytogenetics: Constitutional Analysis: a Practical Approach. Oxford University Press, London.
- Ruma, F., Ahmed, A. T. A. and Alam, S. S. 2006. Karyotype Analysis of *Channa punctata* Bloch and *Channa orientalis* Schneider with Giemsa, CMA and DAPI. *Cytologia* 71(4): 425–430.
- Sahoo, P. K., Barat, A. and Ponniah, A. G. 1997. Replication banding in *Channa punctata* (Channidae, Pisces). *Chromosomes Science* 1: 123–125.
- Sharma, O.P. and Agrawal, A. 1981. Cytogenetic studies in two species of genus *Channa*. *Perspective Cytology Genetics* 3: 57–61.
- Supiwong, W., Jearanaipreame, P. and Tanomtong, A. 2009. A new report of karyotype in the chevron snakehead fish, *Channa striata* (Channidae, Pisces) from Northeast of Thailand. *Cytologia* 74(3): 317–322.
- Turpin, R. and Lejeune, J. 1965. Les Chromosomes humains. Cornell University: Gauthier-Villars.
- Vidthayanon, C. 2005. Handbook of Freshwater Fish. 2nd ed. Sarakadee press, Bangkok.
- Wu, G., Ma, J., Hu, H., Lou, J., Chen, K. and Lin, G. 1994. The karyotype of *Channa striatus* and *Channa micropeltes*. *Freshwater Fish Danshui Yuye* 24(4): 3–5.
- Yu, Q. and Zhou, R. 1996. Analyses of genetic diversities in Chinese fresh water fishes. *Chinese Biodiversity* 4: 1–5.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ

รายการวัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ปีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ
- ขวดรูปชมพู่ขนาดต่าง ๆ
- กระตักน้ำแข็ง
- กระบอกดวง
- กรวยกรอง
- โถสำหรับย้อมสี (staining jar)
- กระบอกฉีดยา (syling) และเข็มฉีดยาขนาดต่าง ๆ
- Automicropipette, micropipette และ pipette ขนาดต่าง ๆ
- หลอดเลียงเซลล์ขนาด 10 และ 15 มิลลิลิตร
- ถังมือยาง
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แผ่นสไลด์
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- หลอดหยด
- เครื่องกรองสาร และแผ่นกรองเมมเบรน (Millipore membrane filter) ขนาด 0.2 ไมโครลิตร
- เครื่องชั่งแบบละเอียด (balance)
- ตู้เย็น
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

1.2 สารเคมี

- โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
- โคลชิซิน (colchicine)
- เมทานอล (methanol)
- เอทานอล 95 และ 70 เปอร์เซ็นต์ (ethanol 95% และ 70%)
- กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid)
- สีย้อมจิมซ่า (Giemsa's stain)
- โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NaHCO_3)
- โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaHPO_4)
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

2. การเตรียมสารเคมี

2.1 การเตรียม Hypotonic solution 0.075 M KCl

2.1.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) KCl crystal
- 2) น้ำกลั่น

2.1.2 วิธีเตรียม (ปริมาตรที่เตรียม 100 มิลลิลิตร)

ชั่งผลึก KCl 0.5588 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เขย่าจนผลึกละลาย

หมด เก็บใส่ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

หมายเหตุ: น้ำยานี้มีอายุการใช้งาน 1-2 สัปดาห์

2.2 การเตรียม Colchicine

- สูตรที่ 1 ชั่ง colchicines 0.005 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

ได้ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร

- สูตรที่ 2 ชั่ง colchicines 0.0025 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

ได้ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร

- Colchicine powder เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2.3 การเตรียม Fixative

2.3.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) Glacial acetic acid
- 2) Absolute methanol

2.3.2 วิธีเตรียม

ใช้ glacial acetic acid 1 ส่วน ผสมกับ absolute methanol 3 ส่วน เก็บใส่ขวด

แช่ในตู้เย็น (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

2.4 การเตรียม Sorensen buffer

2.4.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) Stock Solution A: ใช้ KH_2PO_4 9.1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

- 2) Stock Solution B: ใช้ NaHPO_4 9.5 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

2.4.2 วิธีเตรียม

ใช้ Stock Solution A 50.8 มิลลิลิตร ผสมกับ Stock Solution B 49.2 มิลลิกรัม

จะได้ Sorensen buffer (pH 6.8) 100 มิลลิกรัม

2.5 การเตรียมสีย้อม Giemsa

2.5.1 การเตรียมจิมซ่า 10% (10% Giemsa's Solution)

สีจิมซ่า 10% เตรียมจาก Giemsa's stain ใช้ชนิด Stock Giemsa's Solution โดย
ดูดสีจิมซ่าจาก Stock Giemsa's Solution มา 5 มิลลิลิตร ละลายใน Sorensen buffer 45 มิลลิลิตร

2.6 การเตรียม Phytohemagglutinin (PHA)

2.6.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) PHA Powder
- 2) น้ำกลั่น

2.6.2 วิธีเตรียม

ละลายผง PHA ด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ที่ 2-8 องศา
เซลเซียส

2.7 การเตรียมสารละลาย 1N HCl

2.7.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) Conc. HCl
- 2) น้ำกลั่น

2.7.2 วิธีเตรียม (ปริมาตรที่เตรียม 500 มิลลิลิตร)

ใช้ Conc. HCl จำนวน 43.68 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 456.32 มิลลิลิตร โดย
ค่อย ๆ ริน HCl ลงในน้ำกลั่น (ข้อควรระวังห้ามเท HCl ลงในน้ำกลั่น เป็นอันตราย แต่ให้เทกรด HCl ลง
ในน้ำกลั่น)

2.8 การเตรียมสารละลาย 1N NaOH

2.8.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) NaOH Crystal
- 2) น้ำกลั่น

2.8.2 วิธีเตรียม (ปริมาตรที่เตรียม 500 มิลลิลิตร)

ชั่งผลึก NaOH 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดไว้ที่
อุณหภูมิห้อง

2.9 การเตรียม Hank' balance salt solution (HBSS)

2.9.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) HBSS powder
- 2) NaHCO_3 crystal
- 3) 1 N HCl
- 4) 1 N NaOH
- 5) น้ำกลั่น

2.9.2 วิธีเตรียม

1) ละลาย HBSS powder 1 ชองใน Erlenmeyer flask ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 มิลลิลิตร ล้างผง HBSS ที่ติดอยู่ในชองออกให้หมดเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าจนผงละลายเข้ากันได้ดี

2) ชั่ง NaHCO_3 0.35 กรัม ละลายผลึก NaHCO_3 ในสารละลาย HBSS เขย่าจนผลึกละลายหมด

3) ปรับ pH โดยใช้ 1 N HCl และ 1 N NaOH จนได้ pH 7.1-7.3

4) ทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้ Millipore membrane filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร

5) แบ่งใส่ขวด ขวดละ 100 มิลลิลิตร (aseptic technique) เก็บที่ 2-8 องศาเซลเซียส

2.10 การเตรียมสารละลาย AgNO_3

2.10.1 สารที่ใช้เตรียม

1) AgNO_3

2) น้ำกลั่น

2.10.2 วิธีเตรียม

ชั่ง AgNO_3 5 กรัม ละลายผลึก AgNO_3 ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในหลอดที่ใช้กระดาษฟอยด์หุ้มป้องกันแสง เก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส

2.11 การเตรียม Gelatin

2.11.1 สารที่ใช้เตรียม

1) Gelatin

2) กรดฟอร์มิก

3) น้ำกลั่น

2.11.2 วิธีเตรียม

1) ชั่ง Gelatin 1.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

2) เติมกรดฟอร์มิก 500 ไมโครลิตร

ภาคผนวก ข
ข้อมูลการเผยแพร่

แคโรไทป์และอิดิโอแกรมของปลาก้าง (*Channa gachua*) จากจังหวัด

เพชรบูรณ์ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์

Karyotype Analysis and Idiogram in the *Channa gachua* from Phetchabun

Province by Conventional Staining and Ag-NOR Banding Techniques

สุมาลี พิมพันธ์^{1*}, สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง¹ และกาญจน์ คุ่มทรัพย์²

Sumalee Phimphan^{1*}, Surachest Aiumsumang¹ and Kan Khoomsab²

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 67000

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 67000

¹Biology Program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun, 67000

²Education Science Program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun,

67000

*Corresponding author, E-mail: joodoof@gmail.com

บทคัดย่อ

วิเคราะห์แคโรไทป์และอิดิโอแกรมของปลาก้าง (*Channa gachua*) จากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 ตัว เตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรงจากไต ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์ ผลการศึกษาพบว่าปลาก้างมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 76 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 114 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ตรวจไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศในปลาเพศผู้และเพศเมีย แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 14 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 36 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ตำแหน่งโครโมโซมเครื่องหมายบนแขนข้างสั้นบริเวณปลายเทโลเมียร์ของโครโมโซมจำนวน 2 ตำแหน่ง ปลาก้างมีสูตรแคโรไทป์ ดังนี้ $2n (76) = L_{14}^m + M_4^m + L_8^{sm} + M_2^{sm} + L_8^a + M_2^a + M_{36}^t + S_2^t$

คำสำคัญ: ปลาก้าง แคโรไทป์ โครโมโซม

Abstract

Karyotype analysis and ideogram of dwarf snakehead (*Channa gachua*) were studied from Khao Kho District, Phetchabun Province. Kidney cell samples were taken from ten male and ten female fishes. Mitotic chromosome preparations were conducted using standard

protocol. Conventional staining and Ag–NORs banding techniques were applied to stain the chromosomes. The results showed that the diploid chromosome number of *C. gachua* was $2n = 76$ and the fundamental number (NF) was 114 in both males and females. No heteromorphic sex chromosomes were found between male and female. Their karyotypes consisted of 14 large metacentric, 4 medium metacentric, 8 large submetacentric, 2 medium submetacentric, 8 large acrocentric, 2 medium acrocentric, 36 medium telocentric and 2 small telocentric chromosomes. The present study of NOR-bearing chromosome as 2 regions, which showed clearly observable NOR. The karyotype formula is as follows: $2n (76) = L_{14}^m + M_{4}^m + L_{8}^{sm} + M_{2}^{sm} + L_{8}^a + M_{2}^a + M_{36}^t + S_{2}^t$

Keywords: *Channa gachua*, karyotype, chromosome

Introduction

The Channidae family (Actinopterygii, Perciformes) comprises 2 genera (*Channa* and *Parachanna*) and 29 recognized species (Nelson, 2006). There are 7 species found in Thailand (Courtenay and Williams 2004, Vidthayanon 2005). *Channa gachua* (Hamilton, 1822), commonly known as dwarf snakehead (Figure 1). They can be found in all habitats, from mountain streams to polluted ponds, dwarf snakeheads are a common element of Southeast Asia's freshwater ichthyofauna. They are esteemed food fish for their tasty and firm, muscular flesh, and provide important subsistence fisheries in rural areas. Due to their ability to breathe atmospheric air and can tolerate very stagnant, poorly oxygenated, turbid and even very foul water (Rahman 1989).

There have only been few cytogenetic studies on the *C. gachua*. Seven reports have been studied cytogenetically, each having a different diploid number and fundamental number such as $2n=78$, $NF=102$ (Nayyar, 1966; Manna and Prasad, 1973), $2n=78$, $NF=104$ (Sharma and Agarwal, 1981; Banerjee *et al.*, 1988), $2n=112$ (Donsakul and Magtoon, 1991), $2n=52$, $NF=74$ (Kumar *et al.*, 2013), $2n=104$, $NF=112$ (Cioffi *et al.*, 2015). Variations on chromosome number and morphology can be found between different populations of the same species or among different individuals of the same population and even in different cells of the same specimen (Diniz and Bertollo, 2006).

For the present study, we report karyotypes and other chromosomal markers such as these Ag-stained nucleolar organizer region (Ag-NOR) of *C. gachua* population from Khao Kho District, Phetchabun Province, Thailand. the present study was undertaken to investigate the genetic variation among chromosome of *C. gachua* using cytogenetic as well as chromosome markers, to increase understanding of the taxonomy and to generate information useful for evolutionary and conservation genetics.

Materials and methods

Sample collection

The *C. gachua* (fourty males and females) were obtained from Khao Kho District, Phetchabun Province, Thailand. The fish were transferred to laboratory aquaria and were kept under standard condition for 3 days prior to the experiments.

Chromosome preparation

Chromosomes were directly prepared *in vivo* follow the standard protocols (Supiwong *et al.* 2009; Cioffi *et al.*, 2015) Briefly, 0.05% colchicine was injected to fish's abdominal (1 ml:100 g body weight) and left it for 1 hour. Kidney tissue were removed and cut into small pieces then gently mixed with hypotonic solution (0.075 M KCl). After discarding all large piece tissues, 7 ml of cell sediments as transferred to centrifuge tube and incubated for 30 minutes. KCl was discarded from the supernatant after centrifugation again at 2,000 rpm for 10 minutes. Cells were fixed in fresh cool Canoy's fixative gradually added up to 7 ml before centrifuged again at 2,000 rpm for 10 minutes, then the supernatant was discarded. The fixation was repeated until the supernatant was clear and the pellet was mixed with 1 ml fixative. The mixture was dropped onto a clean and cold slide by micropipette followed by air-dry technique.

Chromosome staining

Conventional staining was performed by using 20% Giemsa's solution for 30 minutes. Ag-NOR banding (Howell and Black, 1980) was carried out by adding 2 drops of 50% silver nitrate and 2% gelatin on slides, respectively. The slides were then sealed with cover glasses and incubate at 60°C for 5 minutes. After that the slides were soaked in distilled water until the cover glasses were separated.

Karyotype analysis

Chromosome counting was performed on mitotic metaphase cells under light microscope (Table 1). Twenty clearly observable and well-cells spread chromosomes plates of each male and female were selected and photographed. The metaphase figures were analyzed

according to the chromosome classification after Turpin and Lejeune (1965). The centromeric index (CI) between 0.50–0.59, 0.60–0.69, 0.70–0.89 and 0.90–0.99 were described as metacentric, submetacentric, acrocentric and telocentric chromosomes, respectively. The fundamental number, number of chromosome arm or NF, is obtained by assigning a value of 2 to metacentric, submetacentric and acrocentric chromosomes and 1 to telocentric chromosome.



Figure 1 General characteristics of the dwarf snakehead (*C. gachua*), scale bar indicates 3 cm.

Table 1 Chromosome number of *C. gachua* from 100 metaphases.

Chromosome number	Cells (%)
68	3
69	1
70	1
72	3
73	3
74	6
75	7
76	54
77	7
78	7
79	4
80	3
81	1

Results and discussion

The diploid chromosome number (2n) of *C. gachua* was 76 chromosomes. 2n was count from 100 metaphases (Table 1). This differs from previous studies by Nayyar (1966); Manna and Prasad (1973); Sharma and Agarwal (1981); Banerjee *et al.* (1988) (2n=78,), Donsakul and Magtoon (1991) (2n=112), Kumar *et al.* (2013) (2n=52), Cioffi *et al.* (2015) (2n=104).

We found that the fundamental number (NF) of *C. gachua* was 114 in both males and females. The comparative studies with previous reported showed the different NF as those found NF=102 (Nayyar, 1966; Manna and Prasad, 1973), NF=104 (Sharma and Agarwal, 1981; Banerjee *et al.*, 1988), NF=74 (Kumar *et al.*, 2013), NF=112 (Cioffi *et al.*, 2015). The result no cytologically distinguishable sex chromosome was observed.

No differences between male and female karyotypes were observed (Figure 2). The karyotype consisted of 18 metacentric, 10 submetacentric, 10 acrocentric, 36 medium telocentric and 2 acrocentric chromosomes. It differs from the all previous report of Nayyar (1966) that found the karyotype of *C. gachua* consisting of 12 metacentric, 12 submetacentric and 54 telocentric (acrocentric) chromosomes. Sharma and Agarwal (1981) reported the karyotype consists of 10 metacentric, 8 submetacentric, 8 subtelocentric and 52 telocentric chromosomes. Banerjee *et al.* (1988) reported that the karyotype of this species composes of 16 metacentric, 10 submetacentric and 52 telocentric chromosomes. Donsakul and Magtoon (1991) reported that karyotypes of *C. gachua* consist of 2 metacentric, submetacentric and 53 telocentric (acrocentric) chromosomes, while Manna and Prasad (1973) reported the chromosome analysis composing of 12 metacentric, 12 submetacentric, 4 subtelocentric and 50 telocentric chromosomes. Kumar *et al.* (2013) reported the karyotype comprised 12 metacentric, 10 submetacentric, 14 subtelocentric and 16 telocentric chromosomes, then in 2015 Cioffi *et al.* report that the karyotype composes of 8 acrocentric and 96 telocentric chromosomes (Table 2). The length of short arm chromosome, length of long arm chromosome, length of total arm chromosomes, relative length, centromeric index, standard deviation of RL and CI, size and type of chromosome are presented in table 3 and showed that the mean value of relative length ranged from 0.039 ± 0.001 to 0.023 ± 0.001 (Table 3). The present study karyotype formula for *C. gachua* is as follows: $2n (76) = L_{14}^m + M_4^m + L_8^{sm} + M_2^{sm} + L_8^a + M_2^a + M_{36}^t + S_2^t$

Table 2 Comparative karyological variation in *Channa gachua*.

Species	2n	NF	Karyotype formula	References
<i>Channa gachua</i>	78	102	12m + 12sm + 54t/a	Nayyar (1966)
	78	104	10m + 8sm + 8st + 52t	Sharma and Agarwal (1981)
	78	104	16m + 10sm + 52t	Banerjee <i>et al.</i> (1988)
	112	-	2m + 1sm + 53t(a)	Donsakul and Magtoon (1991)
	78	102	12m + 12sm + 4st + 50t	Manna and Prasad (1973)
	52	74	12m + 10sm + 14st + 16t	Kumar <i>et al.</i> (2013)
	104	112	8a+96t	Cioffi <i>et al.</i> (2015)
	76	114	18m+10sm+10a+38t	Present study

Remarks: 2n = diploid chromosome number, NF = fundamental number, m = metacentric chromosome, sm = submetacentric chromosome, a = acrocentric chromosome, t = telocentric chromosome, and - = not available.

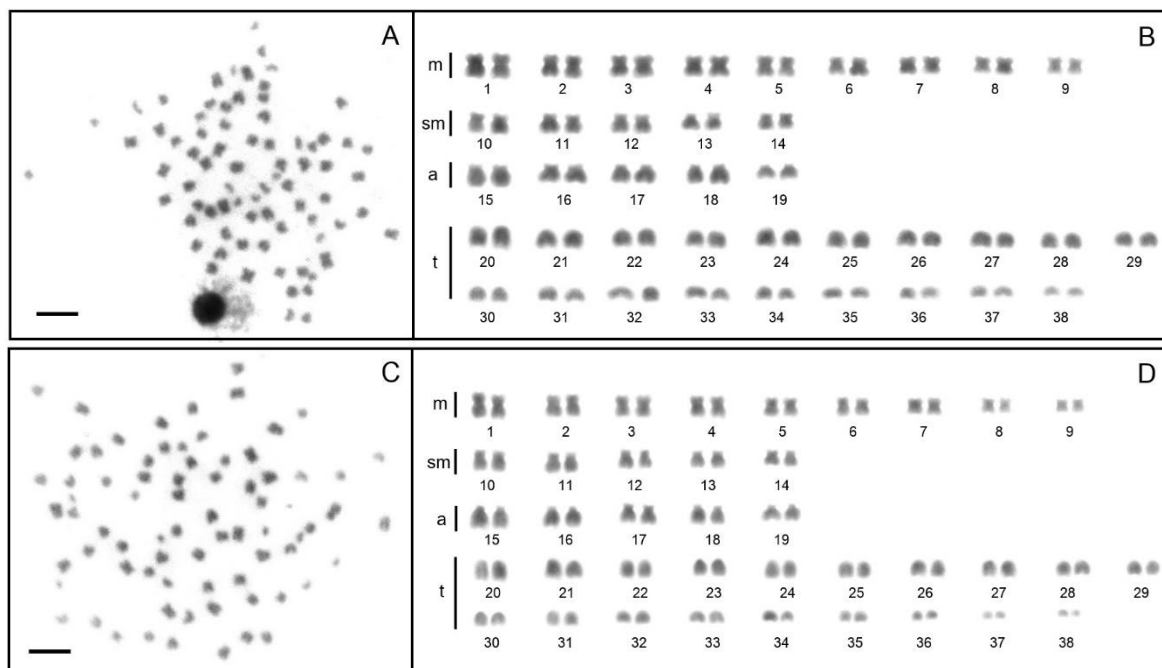


Figure 2 Metaphase chromosome plate of dwarf snakehead (*C. gachua*) male (A), female (C) and karyotype male (B), female (D), 2n (diploid) = 76 by conventional staining, scale bar indicates 2 μ m. There is no observation of strange size chromosome related to sex.

The development of silver staining technique (Howell and Black, 1980) to detect metaphase chromosome sites of NORs has greatly facilitated comparative studies of NORs variation. Silver staining of NORs is considered as one of the standard banding methods and has assumed considerable importance in the characterization of a species karyotype. displayed terminal Ag-NOR chromosome as 2 regions (Figure 3). It differs from Cioffi *et al.* (2015) which has interstitial Ag-NOR as 4 regions. Here we first demonstrated Ag-NOR bands in the dwarf snakehead fishes from Northern, Thailand. it is suggested that the location of NOR presented on different chromosome pair in the karyotype implied that those can be a chromosome marker for each fish species. The chromosome length and relative chromosome length were used to construct the standardized ideogram. The idiogram clearly revealed the chromosomes to occur in different size groups of large, medium and small (Figure 4). Such studies are useful in resolving taxonomic ambiguities among closely related fish (Genus *Channa*) species and can also throw light on karyoevolution and speciation of the fish species.

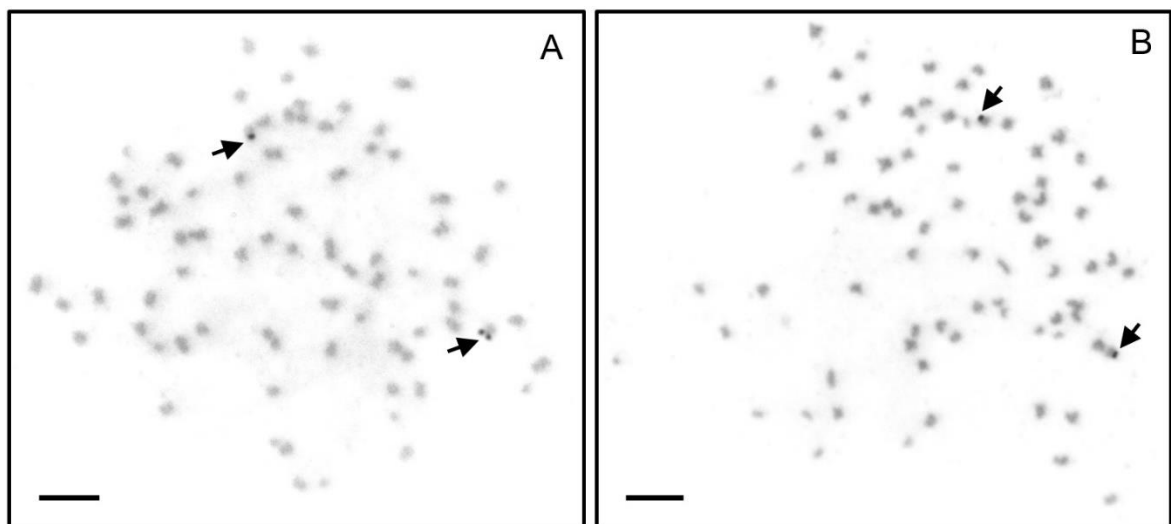


Figure 3 Metaphase chromosome plates of male (A) and female (B) dwarf snakehead (*C. gachua*), $2n$ (diploid) = 76 by Ag-NORs staining technique, scale bars indicate 2 μ m. The clearly observable nucleolar organizer regions/NORs, (arrows).

Table 3 Mean length of short arm chromosome (Ls), length of long arm chromosome (LI), length of total chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) from 20 metaphases of male and female dwarf snakehead (*C. gachua*), 2n (diploid) = 76.

Chromosome pair	Ls (μm)	LI (μm)	LT (μm)	CI±SD	RL±SD	Chromosome Size	Chromosome Type
1	1.630	2.266	3.896	0.582±0.005	0.039±0.001	Large	metacentric
2	1.438	2.092	3.530	0.593±0.021	0.035±0.001	Large	metacentric
3	1.561	2.017	3.577	0.566±0.024	0.035±0.001	Large	metacentric
4	1.413	1.896	3.309	0.575±0.023	0.033±0.000	Large	metacentric
5	1.229	1.847	3.076	0.593±0.033	0.030±0.000	Large	metacentric
6	1.287	1.704	2.990	0.571±0.021	0.030±0.001	Large	metacentric
7	1.168	1.534	2.702	0.565±0.019	0.027±0.002	Large	metacentric
8	1.249	1.345	2.595	0.519±0.006	0.026±0.001	Medium	metacentric
9	1.062	1.284	2.347	0.544±0.034	0.023±0.001	Medium	metacentric
10	1.195	2.013	3.209	0.628±0.003	0.032±0.001	Large	submetacentric
11	1.160	2.029	3.189	0.637±0.017	0.032±0.000	Large	submetacentric
12	1.068	1.854	2.921	0.634±0.001	0.029±0.001	Large	submetacentric
13	1.011	1.758	2.769	0.636±0.010	0.027±0.000	Large	submetacentric
14	0.853	1.498	2.351	0.639±0.020	0.023±0.001	Medium	submetacentric
15	0.789	2.829	3.618	0.781±0.009	0.036±0.000	Large	acrocentric
16	0.856	2.382	3.238	0.736±0.009	0.032±0.003	Large	acrocentric
17	0.828	2.119	2.947	0.718±0.029	0.029±0.001	Large	acrocentric
18	0.850	2.233	3.083	0.723±0.015	0.030±0.000	Large	acrocentric
19	0.679	1.806	2.485	0.727±0.004	0.035±0.002	Medium	acrocentric
20	0.000	3.420	3.420	1.000±0.000	0.034±0.001	Medium	telocentric
21	0.000	3.070	3.070	1.000±0.000	0.030±0.001	Medium	telocentric
22	0.000	2.917	2.917	1.000±0.000	0.029±0.000	Medium	telocentric
23	0.000	2.688	2.688	1.000±0.000	0.028±0.000	Medium	telocentric
24	0.000	2.858	2.858	1.000±0.000	0.028±0.001	Medium	telocentric
25	0.000	2.646	2.646	1.000±0.000	0.026±0.000	Medium	telocentric
26	0.000	2.537	2.537	1.000±0.000	0.025±0.000	Medium	telocentric
27	0.000	2.414	2.414	1.000±0.000	0.024±0.001	Medium	telocentric
28	0.000	2.505	2.505	1.000±0.000	0.025±0.000	Medium	telocentric
29	0.000	2.176	2.176	1.000±0.000	0.021±0.001	Medium	telocentric

30	0.000	2.178	2.178	1.000±0.000	0.022±0.001	Medium	telocentric
31	0.000	2.031	2.031	1.000±0.000	0.020±0.000	Medium	telocentric
32	0.000	2.050	2.050	1.000±0.000	0.020±0.000	Medium	telocentric
33	0.000	1.879	1.879	1.000±0.000	0.019±0.002	Medium	telocentric
34	0.000	1.840	1.840	1.000±0.000	0.018±0.000	Medium	telocentric
35	0.000	1.683	1.683	1.000±0.000	0.017±0.002	Medium	telocentric
36	0.000	1.657	1.657	1.000±0.000	0.016±0.001	Medium	telocentric
37	0.000	1.392	1.392	1.000±0.000	0.014±0.001	Medium	telocentric
38	0.000	1.377	1.377	1.000±0.000	0.014±0.002	Small	telocentric

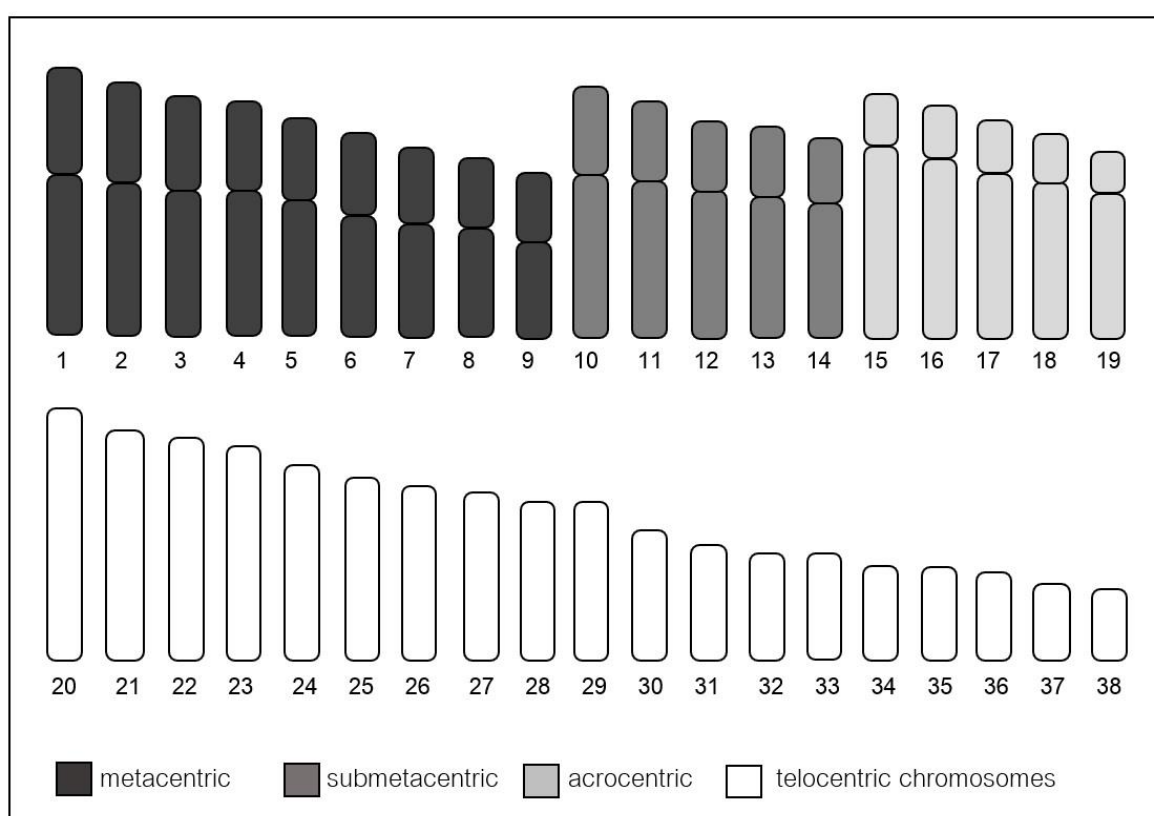


Figure 4 Standard idiogram showing length and shape chromosome of dwarf snakehead (*C. gachua*) demonstrated the haploid set (n=38) by conventional staining techniques.

Acknowledgment

This work was supported by Research grants of new researcher budget year 2019, Phetchabun Rajabhat University and grateful to Prof. Dr. Alongklod Tanomtong for suggestion.

References

- Banerjee, S.K., Mishra, K.K., Banerjee, S. and Ray-Chaudhuri, S.P. 1988. Chromosome number, genome sizes, cell volumes and evolution of snake-head fish (family Channidae) Fish Biology 33(5): 781–789.
- Cioffi, B.M., Bertollo, L.N.C, Villa, M.A., Oliveira, E.A., Tanomtong, A., Yano, C.F., Supiwong, W. and Chaveerach, A. 2015. Genomic Organization of Repetitive DNA Elements and Its Implications for the Chromosomal Evolution of Channid Fishes (Actinopterygii, Perciformes). PLOS one DOI:10.1371/journal.pone.0130199.
- Courtenay, W. R. and Williams, J. D. 2004. Snakeheads-A Biological Synopsis and Risk Assessment. U.S. Geological Survey, Denver.
- Diniz, D. and Bertollo, L. A. C. 2006. Intra- and inter-individual chromosome variation in *Hoplerethrinus unitaeniatus* (Pisces, Erythrinidae). A population from the Brazilian São Francisco river basin. Genetics Molecular Biology 29: 453–458.
- Donsakul, T. and Magtoon, W. 1991. Chromosome study on five species of channid fishes (Channa, family Channidae), from Thailand. Proceedings of the 29th Kasetsart University Annual Conference: Animal Science, Veterinary Science, Aquaculture; 1991 Feb 4–7; Kasetsart University, Bangkok (Thailand). p. 561–574. Published by FAO and NACA at Bangkok.
- Howell, W.M. and Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia 36: 1014–1015.
- Kumar, R., Kushwaha, B., Nagpure, S.N., Behera, K.B. and Lakra, S.W. 2013. Karyological and molecular diversity in three freshwater species of the genus *Channa* (Teleostei, Perciformes) from India. Caryologia 66(2): 109–119.
- Manna, G.K. and Prasad, R. 1973. Chromosome in three fishes (*Channa*). Nucleus 16(3): 150–157.
- Nayyar, R.P. 1966. Karyotype studies in thirteen species of fishes. Genetica 37(1): 78–92.
- Nelson, J.S. 2006. Fishes of the World. 4rd ed. New York: John Wiley & Sons.

- Rahman, A.K.A. 1989. Freshwater fishes of Bangladesh. Published by Zoological Society of Bangladesh. Department of Zoology, University of Dhaka. Bangladesh 364 p.
- Sharma, O.P. and Agrawal, A. 1981. Cytogenetic studies in two species of genus *Channa*. Perspective Cytology Genetics 3: 57–61.
- Supiwong, W., Jearanaipreameand, P. and Tanomtong, A. 2009. A new report of karyotype in the chevron snakehead fish, *Channa striata* (Channidae, Pisces) from Northeast of Thailand. Cytologia 74(3): 317–322.
- Turpin, R. and Lejeune, J. 1965. Les Chromosomes humains. Cornell University: Gauthier-Villars.
- Vidthayanon, C. 2005. Handbook of Freshwater Fish. 2nd ed. Sarakadee press, Bangkok.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล

ว่าที่ ร.ต.หญิง สุมาลี พิมพันธ์

Acting-Sub.Lt Sumalee Phimphan

หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1410200065496

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

สุตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

83 หมู่ 11 ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000

โทรศัพท์มือถือ 0834197025

e-mail: joodoof@gmail.com

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำเร็จการศึกษาปริญญาเอก ปรัชญาดุสิตบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

พันธุศาสตร์เซลล์ของสัตว์

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่แล้ว

• บทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารนานาชาติที่อยู่ในฐานข้อมูล SCOPUS และ ISI Impact Factor

1. **Phimphan, S.,** Tanomtong, A., Patawang, I., Kaewsri, S., Jantararat, S. and Sanoamuang, L. 2013. Cytogenetic Study of Northeastern Butterfly Lizard, *Leiolepis reevesii rubritaeniata* (Squamata, Agamidae) in Northeast Thailand. *Cytologia* 78(2): 133-140. 80(2): 167-172.
2. Siripiyasing, P., Tanomtong, A., Jumrusthanasan, S., Patawang, I., **Phimphan, S.,** Sanoamuang, L. 2013. First cytogenetic study of Malayan snail-eating turtle, *Malayemys macrocephala* (Testudines, Geoemydidae) in Thailand. *Cytologia* 78(2): 125-132.

3. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Jumrusthanasan, S., Supiwong, W., Siripiyasing, P. and Sanoamuang, L. 2013. First Report of NOR Polymorphism and Chromosome Analysis of John's Snapper, *Lutjanus johnii* (Perciformes, Lutjanidae) in Thailand. *Cytologia* 78(4): 335-344.
4. Patawang, I., Tanomtong, A., **Phimphan, S.**, Chuaynkern, Y., Chuaynkern, C., Phaengphairee, P., Khruanet, W., Nithikulworawong, N. 2014. The identification of sex-chromosomes and karyological analysis of rice frog, *Fejervarya limnocharis*, (Anura, Ranidae) from northeast Thailand. *Cytologia* 79(2): 141-150.
5. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Supiwong, W., Khongcharoensuk, H., Suvarnaraksha, A. and Kaewsri, S. 2014. Karyological analysis of the Barramundi, *Lates calcarifer* (Perciformes, Latidae). *Cytologia* 80(2): 167-172.
6. Sangpakdee, W. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Patawang, I., Pinthong, K. and Neeratanaphan, L. 2015. Karyological study of *Lutjanus ehrenbergii* and *L. carponotatus* (perciformes, lutjanidae) by classical and Ag-NOR staining techniques. *Nucleus* 59(1): 53-59.
7. Patawang, I., Pinthong, K., **Phimphan, S.**, Chuaynkern, Y., Duengkae, P., Tanomtong, A. 2016. Karyological characteristics of the Koh Tao caecilian, *Ichthyophis kohtaoensis* (Amphibia: Gymnophiona: Ichthyophiidae) by conventional staining and Ag-NOR banding techniques. *Rendiconti Lincei-Scienze Fisiche e Naturali*; DOI: 10.1007/s12210-016-0534-6
8. Sangpakdee, W., **Phimphan, S.**, Liehr, T., Fan, X., Pinthong, K., Patawang, I., Tanomtong, A. 2016. Characterization of chromosomal rearrangements in pileated gibbon (*Hylobates pileatus*) using multiplex-FISH technique. *The Nucleus* 59(2): 131-135. DOI: 10.1007/s13237-016-0171-6
9. **Phimphan, S.**, Sangpakdee, W., Sangpakdee, K. and Tanomtong A. 2016. Chromosomal analysis and meiosis studies of *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acrididae) from Thailand. *The Nucleus*. 60(1): 9-15
10. Sangpakdee, W., **Phimphan, S.**, Tengjaroenkul, B., Pinthong, K., Neeratanaphan, L. and Tanomtong, A. 2017. Cytogenetics Study of Three Microhylid Species (Anura, Microhylidae) from Thailand. *Cytologia* 82(1): 67-74

11. Patawang, I., Tanomtong, A., **Phimphan, S.**, Pinthong, K., Neeratanaphan, L. 2017. Standardized karyotype and idiogram of Bengal monitor lizard, *Varanus bengalensis* (Squamata, Varanidae). *Cytologia* 82(1): 75-82.
12. **Phimphan, S.**, Supiwong, W., Tanomtong, A., Pinthong, K., Sangpakdee W. and Kaewsri, S. 2017. Karyotypic Study of Five Lutjanid Species Using Conventional and Ag-NORs Banding Techniques. *Cytology and Genetics* 51(4): 315–324.
13. Rattanayuvakorn, S., Tanomtong, A., **Phimphan, S.**, Sangpakdee, W., Pinmongkhonkul, S. and Phintong. 2017. Karyological Study of Tusker and Tuskless Male Asian Elephant (*Elephas maximus*) by Conventional, GTG-, and Ag-NOR Banding Techniques. *Cytologia* 82(4): 349–354.
14. Supiwong, W., **Phimphan, S.**, Kaewmad, P., Saenjundaeng, P., Jantarat, S. and Tanomtong, A. 2017. First Cytogenetic Study of the Whitecheek Monocle Bream, *Scolopsis vosmeri* (Perciformes, Nemipteridae) from Thailand. *Cytologia* 82(5): 481-484.
16. Supiwong, W., Pinthong, K., Seetapan, K., Sanjundaeng, P., Oliveira, E.A., Yano, C.F., Leih, T., **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Cioffi, M.B. 2019. Karyotype diversity and evolutionary trends in the Asian swamp eel *Monopterus albus* (Synbranchiformes, Synbranchidae). A biodiversity approach on 22 allopatric populations. *BMC Evolutionary Biology*. doi.org/10.1186/s12862-019-1393-4[IF 3.221 (2016)].

• บทความวิชาการและบทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล Thai-journal citation index (TCI)

1. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Chuaynkern, Y., Pratumtong, D. 2015. Karyological Analysis of Red Junglefowl (*Gallus gallus gallus* Linnaeus, 1758) Using Egg Fibroblastic Cell Culture. *KKU Science Journal* 43(1): 39-48.
2. **Phimphan, S.**, Supiwong, W. and Khakhong, S. 2015. Standardized Karyotype and Idiogram of False Clown Anemonefish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830 (Amphiprioninae, Perciformes). *Journal of Fisheries Technology Research* 9(1): 43-52.
3. ศิริพร แสนศักดิ์, อลงกลด แทนอมทอง, **สุมาลี พิมพันธ์** และ อิสสระ ปะทะวัง. 2560. พันธุศาสตร์เซลล์ของแมวดาว (*Prionailurus bengalensis*) ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์. *วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร* 39(2): 96-108.

4. สุมาลี พิมพันธ์ วิวรรณ แสงภักดี กฤติยา แสงภักดี และ อลงกลด แทนอมทอง. 2560. โครโมโซมและการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของตั๊กแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. KCU Science Journal 43(1): 469-477.
5. สุมาลี พิมพันธ์ และ วิวรรณ แสงภักดี. 2561. แครีโอไทป์ของตั๊กแตนข้าวปี้กสั้น (*Pseudoxya diminuta* Walker, 1871) ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี 14(2): 38-44.

• การประชุมสัมมนาวิชาการ

1. สุมาลี พิมพันธ์ และศุภจิรณ อธิบาย. 2011. ความหลากหลายและความชุกชุมของโรติเฟอร์ในบ่อบำบัดน้ำเสีย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ใน งานประชุมวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2553. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
2. **Phimphan, S.** and Tanomtong, A. 2012. Standardized Karyotype and Idiogram of Common Indian Toad, *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799) by Conventional Staining and Ag-NOR banding Techniques. In: The 6th Graduate Research Conference. pp. 325-334. Udon Thani Rajabhat University, Udon Thani.
3. **Phimphan, S.**, Sangpakdee, W., Supiwong, W., Patawang, I., Tanomtong, A. 2015. Cytogenetics study and characterization of microsatellites d(CGG)₁₀, d(CA)₁₅ and telomeric regions in the genome of Blacktail snapper, *Lutjanus fulvus* (Perciformes, Lutjanidae). In: The 19th National Genetics Conference 2015 –Genetics and Genomics “from Molecular Studies to Applications”. pp. 78-84. Centara Hotel & Convention Centre, Khon Kaen.
4. สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2562. โครโมโซมของอีกรายห้วยใหญ่ (*Xenophrys major*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์. รายงานสืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 73-80. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่