



รายงานการวิจัย

การศึกษาพันธุกรรมปลาเพื่อพัฒนาเป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจ
ของจังหวัดเพชรบูรณ์

Fish Cytogenetic Study for Developed to Ornamental Fish
in Phetchabun Province

สุมาลี พิมพันธุ์
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2563

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาพันธุกรรมปลาเพื่อพัฒนาเป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจ
ของจังหวัดเพชรบูรณ์

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

สุมาลี พิมพันธุ์

สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนงานวิจัยงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
ประเภทโครงการทุนอุดหนุนงานวิจัยที่บูรณาการตามศาสตร์พระราชา
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563

(ก)

ชื่อโครงการวิจัย	การศึกษาพันธุกรรมปลาเพื่อพัฒนาเป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจ ของจังหวัดเพชรบูรณ์
ผู้วิจัย	สุมาลี พิมพันธ์
สาขาวิชา	ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 2563

บทคัดย่อ

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ระดับโครโมโซมของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์เพื่อสร้างฐานข้อมูลด้านพันธุกรรมและยกระดับพันธุ์ปลาสวยงามในแหล่งน้ำธรรมชาติให้เป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ จากการศึกษาปลากริมควาย (*Trichopsis vittatus*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 46 แท่ง มีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 46 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 26 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 12 แท่ง ปลากริมควายมีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้ $2n(46) = L^t_8 + M^t_{26} + S^t_{12}$ ปลาบควาย (*Paralabuca harmandi*) $2n=48$ แท่ง NF=96 มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง และชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 24 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมระหว่างเพศผู้และเพศเมีย มีสูตรคาริโอไทป์ดังนี้ $2n(48) = L^m_4 + L^{sm}_6 + M^m_4 + M^{sm}_{10} + M^a_{24}$ ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciata*) $2n=48$ NF=48 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมเป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบบีโครโมโซมขนาดเล็กตั้งแต่ 0-3 แท่ง ร้อยละที่พบบีโครโมโซม 0, 1 และ 3 แท่ง เท่ากับ 94.23, 1.92 และ 3.85 ตามลำดับ จำนวนออร์มีมีความแตกต่างแปรผัน ตั้งแต่ 1-4 แท่ง ตำแหน่งใกล้เทโลเมียร์ บนโครโมโซมคู่ที่ 4 และ 10 คาร์ิโอไทป์ของเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างกัน และมีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้ $2n(48) = L^t_{18} + M^t_{28} + S^t_2 + 0-3$ B-chromosomes ปลาซิวใบไผ่แถบขาว (*Danio albolineatus*) $2n=50$ NF=100 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย คาร์ิโอไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 14 แท่ง และชนิดอะโครเซนทริก 28 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศ มีสูตรคาริโอไทป์ดังนี้ $2n(50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$ ปลาแค้ควาย (*Bagarius yarrelli*) $2n=56$ NF=106 คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 18 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 18 แท่ง อะโครเซนทริก 14 แท่ง และเทโลเซนทริก 6 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของรูปร่างโครโมโซมเพศ มีสูตรคาริโอไทป์ดังนี้ $2n(56) = L^m_6 + L^{sm}_6 + L^a_2 + M^m_{10} + M^{sm}_{10} + M^a_6 + S^m_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^t_6$

คำสำคัญ: ปลาน้ำจืด คาร์ิโอไทป์ โครโมโซม

Title Fish Cytogenetic Study for Developed to Ornamental Fish in Phetchabun Province

Author Sumalee Phimphan

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

Date 2019

ABSTRACT

Cytogenetics of the croaking gourmi (*Trichopsis vittatus*). The results show that diploid chromosome number (2n) was 46, and the fundamental number (NF) was 46 in both female and male. The chromosomes consist of 8 large telocentric, 26 medium telocentric and 12 small telocentric chromosomes. The karyotype formula for the *T. vittatus* was as follows: $2n (46) = L^t_8 + M^t_{26} + S^t_{12}$. The Siamese river abramine (*Paralabrus harmandi*). The results showed $2n=48$ and $NF=96$. The types of chromosomes were four large metacentric, six large submetacentric, four medium metacentric, 10 medium submetacentric and 24 medium acrocentric chromosomes. The karyotype formula for *P. harmandi* could be deduced as: $2n(48) = L^m_4 + L^{sm}_6 + M^m_4 + M^{sm}_{10} + M^a_{24}$. Cytogenetic study of Malayan leaf fish (*Pristolepis fasciata*). The results exhibited that $2n= 48$, $NF= 48$ in both male and female. All chromosomes are telocentric chromosomes. In addition, 0, 1 and 3 B chromosome were detected as 94.23, 1.92 and 3.85 percent, respectively. The sex chromosomes can not be identified. The karyotype formula of *P. fasciata* is as follows: $2n (48) = L^t_{18} + M^t_{28} + S^t_2 + 0-3 B$ -chromosomes. The Pearl Danio (*Danio albolineatus*) result showed that $2n=50$, $NF=100$ in both male and female. The karyotype consisted of 8 metacentric, 14 submetacentric and 28 acrocentric chromosomes classifying as 18 large and 32 medium. No heteromorphic sex chromosome was observed in this species. The Karyotype formula of *D. albolineatus* is $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$. The results showed that the number of diploid chromosome of *B. yarrelli* is 56 and fundamental number is 106 in both sexes. The karyotype comprises 18 metacentric, 18 submetacentric, 14 acrocentric and six telocentric. None of sex chromosome

(A)

differenced was detected. The karyotype formula is as follows $2n (56) = L^m_6 + L^{sm}_6 + L^a_2 + M^m_{10} + M^{sm}_{10} + M^a_6 + S^m_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^t_6$

Keywords: Fresh water Fish, karyotype, chromosome

(ง)

กิตติกรรมประกาศ

วิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือ ความกรุณา และคำปรึกษาจากบุคคลหลายฝ่าย ดังต่อไปนี้คือ ขอกราบขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่เอื้อเฟื้อวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา และมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่อุดหนุนงานวิจัยงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประเภทโครงการทุนอุดหนุนงานวิจัยที่บูรณาการตามศาสตร์พระราชา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สุมาลี พิมพันธ์

31 สิงหาคม 2563

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ	ข
ภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทที่ 1	บทนำ
	1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา
	2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย
	3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ
	4. ขอบเขตของการวิจัย
	5. ขอบเขตระยะเวลา
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
	1. อนุกรมวิธานของปลาในประเทศไทย
	2. การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลา
	3. การเตรียมโครโมโซม
	4. การย้อมสีโครโมโซม
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย
	1. การเก็บตัวอย่าง
	2. การเตรียมโครโมโซม
	3. การเตรียมสไลด์โครโมโซม และการย้อมสีโครโมโซม
	4. การตรวจสอบโครโมโซม การจัดแครีโอไทป์
	5. การทำอิดีโอแกรมมาตรฐาน
	6. การศึกษาทางสัณฐานวิทยา
บทที่ 4	ผลการวิจัย
	1. เตรียมตัวอย่างปลา
	2. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลากริมควาย

(จ)

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
	3. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาแปบควาย 29
	4. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาหมอช้างเหยียบ 33
	5. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวใบไม้แถบขาว 43
	6. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาแค้ควาย 47
บทที่ 5	วิจารณ์ผลการวิจัย 52
	1. การศึกษาโครโมโซมของปลากริมควาย 52
	2. การศึกษาโครโมโซมของปลาแปบควาย 53
	3. การศึกษาโครโมโซมของปลาหมอช้างเหยียบ 53
	4. การศึกษาโครโมโซมของปลาซิวใบไม้แถบขาว 54
	5. การศึกษาโครโมโซมของปลาซิวใบไม้แถบขาว 55
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	65
	ภาคผนวก ก วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ 66
	ภาคผนวก ข ผลงานวิจัยที่เผยแพร่ 71
ประวัตินักวิจัย	83

(จ)

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
ภาพที่ 4.1	เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแครีโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศผู้ ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา
ภาพที่ 4.2	เมทาเฟสโครโมโซม (ก) และแครีโอไทป์ (ข) ของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศเมีย ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา
ภาพที่ 4.3	เมทาเฟสโครโมโซมของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ด้วยการย้อมแถบสีแบบบอร์
ภาพที่ 4.4	อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>) จากการย้อมสีแบบธรรมดา
ภาพที่ 4.5	ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาก้าง (<i>C. gachua</i>)

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยเฉพาะปลาน้ำจืดพบมีรายงานมากกว่า 720 ชนิด และวงศ์ที่มีความหลากหลายสูงคือวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) (ชวลิต วิทยานนท์, 2548) เนื่องจากลักษณะภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ และปลาส่วนใหญ่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีความหลากหลายของแหล่งน้ำจืดสูง ได้แก่ ลำธาร น้ำตก ห้วย หนอง คลอง บึง แม่น้ำ ถ้า หรือลำธารใต้ดิน จากการตรวจสอบข้อมูลพบว่าประเทศไทยมีปลามากมายหลายชนิด หลากหลายสายพันธุ์ โดยรวมแล้วมีชนิดปลาไม่น้อยกว่า 700 ชนิด (ชวลิต วิทยานนท์, 2544) นอกจากนั้น ยังมีปลาต่างถิ่นที่เข้ามาแพร่ขยายพันธุ์ในแหล่งน้ำของประเทศไทยอีกมาก จึงเป็นข้อได้เปรียบของประเทศไทยในการที่จะพัฒนาสายพันธุ์ของปลาสวยงามที่พบตามแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น ปลาชีวกหางแดง (*Rasbora borapetensis*) ปลาแป้นแก้ว (*Parambassis siamensis*) ปลาปักเป้าเขียว (*Tetraodon fluviatilis*) ปลาทรงเครื่อง (*Epalzeorhynchos bicolor*) เป็นต้น

จังหวัดเพชรบูรณ์เป็นจังหวัดที่นับว่ามีความอุดมสมบูรณ์ทางด้านทรัพยากรธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นป่าไม้ แหล่งน้ำ จัดเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ในอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย แต่ปัจจุบันเนื่องจากการพัฒนาเพื่อให้เป็นแหล่งท่องเที่ยว ทำให้ส่งผลกระทบต่อทรัพยากรต่าง ๆ ที่เคยอุดมสมบูรณ์ลดลงอย่างรวดเร็ว ทางผู้วิจัยจึงเล็งเห็นปัญหาของทรัพยากรธรรมชาติที่ลดลงอย่างรวดเร็วนี้ โดยเฉพาะในกลุ่มสัตว์น้ำ ซึ่งบางชนิดอาจเข้าสู่ภาวะวิกฤตหรือใกล้จะสูญพันธุ์ เพื่อจะสร้างฐานข้อมูลและองค์ความรู้สำหรับการอนุรักษ์อย่างถูกวิธีและไม่ด้อยประสิทธิภาพควบคู่กับการพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวในด้านต่าง ๆ ซึ่งปัจจัยที่ทำให้การอนุรักษ์สัตว์ด้อยประสิทธิภาพ คือ ขาดข้อมูลทางด้านชีววิทยาของสัตว์ชนิดที่ต้องการอนุรักษ์ เพราะการอนุรักษ์สัตว์ชนิดใดก็ตามจำเป็นต้องรู้ข้อมูลพื้นฐานเสียก่อนว่าในสัตว์แต่ละชนิดต้องการอะไร และในช่วงเวลาใด เพื่อนำมาใช้เป็นมาตรการสำหรับป้องกันพื้นที่อาศัย แหล่งอาหาร และพื้นที่ผสมพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง ข้อมูลด้านลักษณะของโครโมโซม เป็นข้อมูลพื้นฐานอย่างหนึ่งที่จำเป็นต่อการนำไปใช้ประโยชน์ด้านการอนุรักษ์ (วีรยุทธ์ เลาหะจินดา, 2552) โครโมโซมเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ใช้อธิบายถึงรูปแบบการเจริญพัฒนามถึงวิวัฒนาการได้ แม้แต่ในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานก็จำเป็นต้องใช้ข้อมูลหลายๆ อย่างประกอบการพิจารณาความถูกต้อง ข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมถือว่าเป็นข้อมูลที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการพิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่น ๆ เพื่อการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานในสิ่งมีชีวิต (อมรา คัมภีรานนท์, 2546) โดยข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางอนุกรมวิธาน 2 ระดับ ได้แก่ ในลำดับขั้นต่ำ เพื่อจำแนกชนิดที่ใกล้เคียงกันเพราะชนิดต่างกันที่มีรูปร่างและลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันจะปรากฏว่ามีลักษณะโครโมโซมแตกต่างกันบางประการ และในลำดับขั้นสูงโดยใช้แบบแผนการเปลี่ยนแปลง

ของโครโมโซมสำหรับสร้างสายวิวัฒนาการ (dendrogram) เพราะการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมมักมีแบบอย่างเฉพาะ ข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมจึงเป็นข้อมูลหนึ่งที่ใช้ระบุความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสัตว์ได้ (วีรยุทธ์ เลหาะจินดา และวุฒิ ทักษิณธรรม, 2549)

ดังนั้นการทราบข้อมูลทางพันธุกรรมของปลาแต่ละชนิดในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ จึงนับเป็นข้อมูลที่มีความน่าสนใจอย่างยิ่ง อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อวงการวิชาการ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบความหลากหลายชนิดและข้อมูลทางพันธุกรรมระดับโครโมโซมของปลาในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ไปเผยแพร่สู่ชุมชนและหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งในภาครัฐและเอกชน เพื่อการบริหารจัดการหลายมิติ เช่น ด้านการเรียนรู้ การอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปลาที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ ก่อนที่สายพันธุ์ปลาอันมีเอกลักษณ์โดดเด่นสวยงามเหล่านี้จะสูญพันธุ์ไปตามธรรมชาติ หรือจากภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ และที่สำคัญข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการการผสมพันธุ์ปลาสวยงามระหว่างสายพันธุ์เพื่อพัฒนาเป็นปลาสวยงามสายพันธุ์ใหม่ และเพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้แก่ชุมชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณแหล่งน้ำในจังหวัดเพชรบูรณ์ได้ต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์หลักของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาโครงสร้างพันธุกรรมระดับโครโมโซมของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์
2. เพื่อสร้างฐานข้อมูลด้านพันธุกรรมสำหรับใช้ผสมพันธุ์ข้ามชนิดของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์
3. เพื่อยกระดับพันธุ์ปลาสวยงามในแหล่งน้ำธรรมชาติให้เป็นปลาสวยงามเศรษฐกิจ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบโครงสร้างพันธุกรรมระดับโครโมโซมของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์
2. ทราบข้อมูลด้านพันธุกรรมสำหรับใช้ผสมพันธุ์ข้ามชนิดของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์
3. ได้ข้อมูลพันธุกรรมของปลา ซึ่งนำไปสู่การยกระดับเป็นปลาสวยงามในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของปลาในแหล่งน้ำพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์บนพื้นฐานข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ระดับโครโมโซม
2. ถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้สู่ นักศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ รวมทั้งประชาชนในพื้นที่ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และผู้ที่สนใจให้ตระหนักถึงความสำคัญของปลาอันเป็นทรัพยากรที่สำคัญและมีอยู่ในท้องถิ่นของตนเอง

1.5 ขอบเขตระยะเวลา

ระยะเวลาในการทำงานวิจัย เริ่มทำการศึกษตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562 ถึง เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2563

บทที่ 2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุกรมวิธานของปลาในประเทศไทย

ปลาเศรษฐกิจในประเทศไทย ได้แก่ ปลาในวงศ์ไซไพรินิดี (Cyprinidae) หรือวงศ์ปลาตะเพียน วงศ์แดทนีออยอิดี (Danionidae) หรือวงศ์ปลาเสือตอ วงศ์แท็กโซทิดี (Taxotidae) หรือวงศ์ปลาเสือพ่นน้ำ วงศ์โนโทปเทอริดี (Notopteridae) หรือวงศ์ปลากRAY วงศ์บากริดี (Bagridae) หรือวงศ์ปลากด และวงศ์ซิซอริดี (Sisoridae) หรือวงศ์ปลาแค้ววงศ์ปลาตะเพียนเป็นวงศ์ปลาที่มีจำนวนมากที่สุด ทั่วโลกมีอยู่ 210 สกุล (genus) ประมาณ 2,100 ชนิด โดยที่ประมาณ 1,270 ชนิด เป็นปลาพื้นเมืองของแถบยูเรเชีย (Eurasia) ปลาในวงศ์นี้มีความหลากหลายที่สุดในระดับสกุลและชนิดในประเทศจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในทวีปแอฟริกาพบประมาณ 23 สกุล 475 ชนิด และในทวีปอเมริกาเหนือพบประมาณ 50 สกุล 270 ชนิด (Nelson, 1994) ในประเทศไทยพบพันธุ์ปลาน้ำจืดอย่างน้อย 17 อันดับ (order) 56 วงศ์ 700 ชนิด วงศ์ปลาที่พบจำนวนมากที่สุด คือ วงศ์ปลาตะเพียน ซึ่งพบอย่างน้อย 207 ชนิด (ชวลิต วิทยานนท์ และคณะ, 2540) กระจายอยู่ตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ปลาในสกุล *Balantiocheilos* มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ไว้แล้วจำนวน 2 รายงาน ได้แก่ Ojima and Yamamoto (1990) รายงานไว้ว่าปลาฉลามหางไหม้ (*B. melanopterus*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $10m+12sm+28a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 72 และ Khuda-Bukhs and Das (2007) รายงานไว้ว่าปลาชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $6m+18sm+16st+10a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 74 ปลา

ในสกุล *Puntius* มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ไว้จำนวน 47 รายงาน ปลาแก้มขำ (*P. orphoides*) มีการศึกษา 2 รายงาน ได้แก่ Arai and Magtoon (1991) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $14m+16sm+4st+16a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 84 และ Taki et al. (1977) รายงานไว้ว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $6m+36sm/st+8a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 92 และอีก 45 รายงานที่ศึกษาในปลาชนิดอื่น ในสกุล *Puntius* พบว่าปลาสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 48-50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 52-100 แท่ง ดังแสดงในตารางที่ 2.1

2.2 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลา

ตารางที่ 2.1 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ Cyprinidae (สกุล *Balantiocheilos*, *Puntius*, *Barbonymus*, *Epalzeorhynchus* และ *Scaphognatops*)

Subfamily/ Species	2n	NF	Karyotype	Ag-NORs	Locality	Reference
Barbinae						
ปลาฉลามหางไหม้ (<i>Balantiocheilos melanopterus</i>)	50	72	10M+12SM+28A	-	South East Asia	Ojima and Yamamoto (1990)
	50	74	6M+18SM+16ST+10A	-	South East Asia.	Khuda-Bukhsh and Das (2007)
<i>Puntius arulius</i>	50	82	6M+26SM/ST+18A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
<i>P. binotatus</i>	50	92	8M+34SM/ST+8A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. brevis</i>	50	78	6M+14SM+8ST+22A	-	Asia	Khuda-Bukhsh (1975)
<i>P. chola</i>	50	56	2M+4SM/ST+44A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
	50	54	2M+2SM +46A	-	India	Sahoo et al. (2007)
	50	58	2M+2SM+4ST+42A	-	India	Tripathi and Sharma (1987)
<i>P. conchoniis</i>	50	92	16M+24SM+2ST+8A	-	India	Khuda-Bukhsh, et al. (1986)
	50	94	6M+38SM/ST+6A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
	50	94	4M+40SM +6A	-	Asia	Takai and Ojima (1988)
	50	-	-	-	Asia	Vasiliev (1985)
	48	88	10M+20SM+10ST+8A		India	Sharma and Agarwal (1981)
<i>P. cumingi</i>	50	94	18M+26SM/ST+6A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
<i>P. denisonii</i>	50	92	4M+20SM+18ST+8A	8	India	Nagpure et al. (2004)
<i>P. everetti</i>	50	86	6M+30SM/ST+14A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. fasciatus</i>	50	82	6M+26SM/ST+18A	-	Asia	Taki et al. (1977)
	50	84	30M/SM+4ST+16A	-	Asia	Ohno et al. (1967)
<i>P. filamentosus</i>	50	84	8M+26SM/ST+16A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
	50	90	12M+16SM+12ST+10A	8	India	Nagpure et al (2003)
<i>P. lateristriga</i>	50	88	6M+32SM/ST+12A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. manipurensis</i>	50	92	22M+14SM+6ST+8A	-	India	Sobita et al. (2004)

<i>P. melanampyx</i>	50	86	12M+12SM+14ST+12A	-	India	Khuda-Bukhsh et al.(1986)
<i>P. nigrofasciatus</i>	50	100	16M+34SM/ST	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
<i>P. oligolepis</i>	50	88	8M+30SM/ST+12A	-	Asia	Taki et al. (1977)
ปลาแก้มช้ำ (<i>P.orphoides</i>)	50	84	14M+16SM+4ST+16A	-	Thailand	Arai and Magtoon (1991)
	50	92	6M+36SM/ST+8A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. partipentazona</i>	50	90	6M+34SM/ST+10A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. pentazona</i>	50	98	22M+26SM/ST+2A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. sarana</i>	50	88	12M+14SM+12ST+12A	-	India	Rishi(1981)
<i>P. sarana subnasutus</i>	50	96	12M+26SM+8ST+4A	8	India	Nagpure et al. (2004)
<i>P. semifasciolatus</i>	50	90	12M+14SM+14ST+10A	-	China	Gui et al.(1986)
	50	76	8M+18SM/ST+24A	-	Asia	Suzuki(1991)
<i>P. sophore</i>	50	56	2M+4SM+44A	-	India	Khuda-Bukhsh, et al. (1986)
	48	54	2M+4SM+42A	-	India	Rishi et al. (1977)
	48	54	4M+2ST+38A	-	India	Rishi and Rishi (1981)
	48	58	4M+6ST+38A	-	India	Tripathi and Sharma (1987)
	48	54	4M+2SM+42A	-	India	Khuda-Bukhsh and Barat (1987)
	48	52	2M+2SM/ST+44A	-	India	Rishi (1973)
<i>P. sophoroides</i>	50	54	2M+2SM+46A	-	Thailand	Magtoon and Arai (1989)
<i>P. stoliczkanus</i>	50	98	22M+22SM+4ST+2A		Thailand	Magtoon and Arai (1989)
<i>P. tetrazona</i>	50	90	34M/SM+6ST+10A	-	Asia	Ohno et al. (1967)
	50	-	-	-	India	Krishnaja and Rege (1980)
	50	84	6M+28SM/ST+16A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. tetrazona partipentazona</i>	50	90	6M+34SM/ST+10A	-	Asia	Taki et al. (1977)
<i>P. ticto</i>	50	92	20M+12SM+10ST+8A	-	India	Sharma (1995)
	50	100	28M+22SM/ST	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
	50	100	28M+16SM/ST+2A	-	India	Sahoo et al. (2007)
<i>P. titteya</i>	50	98	20M+28SM/ST+2A	-	Asia	Takin and Suzuki (1977)
ปลากระแห (<i>Barbonymus schwanenfeldii</i> หรือ	50	84	6M+28SM/ST+16A	-	Asia	Taki et al. (1977)
	50	74	6M+18SM+10ST+16A	-	Thailand	วิเชียร และคณะ (2532)
	50	76	6M+6SM+14ST+24A	-	Thailand	เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์ (2550)

<i>Barbodes schwanenfeldii</i> *						
<i>B. altus</i>	50	88	10M+24SM+4ST+12A	-	Thailand	Magtoon and Arai (1989)
<i>B. gonionotus</i>	50	76	2M+20SM+4ST+24A	-	Thailand	Magtoon and Arai (1989)
	50	78	12M+12SM+4ST+22A	-	Thailand	Wu et al. (1991)
ปลากาแดง (<i>Epalzeorhynchus frenatum</i> หรือ <i>Labeo erythrurus</i> *)	48	72	14M+10SM+8ST+16A	-	Thailand	รัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536)
ปลาทรงเครื่อง (<i>E. bicolor</i> หรือ <i>L. bicolor</i> *)	50	74	20M+4SM+2ST+24A	-	Thailand	รัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536)
ปลาปากเปียน (<i>Scaphognathops bandanensis</i>)	50	64	10M+6SM+34A		Thailand	รัช ดอนสกุล และคณะ (2550)

หมายเหตุ : * ชื่อวิทยาศาสตร์ตามที่รายงาน, $2n$ = จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์, NF = จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน, M = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, SM = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, ST = โครโมโซมชนิดซับเทโรเซนทริก และ A = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก, NORs = Nucleolar organizer regions

สำหรับปลาชนิดอื่นที่อยู่ในสกุลเดียวกันได้มีรายงานการศึกษา โดย Magtoon and Arai (1989) และ Wu et al. (1991) รายงานไว้ว่าปลาสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 76-88 แท่ง สำหรับปลาในสกุล *Epalzeorhynchus* มีรายงานศึกษาไว้ 2 ชนิด โดยรัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2536) ศึกษาในปลากาแดง (*E. frenatum*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $14m+10sm+8st+16a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 72 และในปลาทรงเครื่อง (*E. bicolor*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $20m+4sm+2st+24a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 74 สำหรับปลาปากเปียน (*Scaphognathops bandanensis*) มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ไว้ 1 รายงาน โดยรัช ดอนสกุล และคณะ (2550) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $10m+6sm+34a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 64

ปลาในวงศ์ปลาเสือมีเพียง 1 สกุล คือ สกุล *Datnioides* ประกอบด้วยปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลาเสือตอปาปัวนิวกินี (*D. campbelli*) ปลาเสือดอนอินโดนีเซีย (*D. microlepis*) ปลากะพงลาย (*D. polota*) ปลาเสือดอลายใหญ่ (*D. pulcher*) และปลาเสือดอลายเล็ก (*D. undecimradiatus*) (สมโภชน์ อัคระ

ทวิวัฒน์, 2547) โดยมีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ปลาในสกุลนี้ไว้ 3 ชนิด โดยพัชรพรพรรณ คงเพชรศักดิ์ (2550) ศึกษาปลาเสือตอลายเล็กมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แห่ง มีสูตร แคริโอไทป์ คือ $4m+2sm+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 54 สำหรับปลาเสือตอลายใหญ่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2m+4st+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 50 และปลากะพงลายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2Sm+2st+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48

สำหรับปลาในวงศ์ปลากราย พบกระจายพันธุ์ตั้งแต่ทวีปแอฟริกา เอเชียใต้จนถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีทั้งสิ้น 4 สกุล 10 ชนิด ได้แก่ สกุล *Chitala* มี 6 ชนิด ได้แก่ *C. blanci*, *C. borneensis*, *C. chitala*, *C. hypselonotus*, *C. lopis* และ *C. ornata* สกุล *Notopterus* มีชนิดเดียว คือ *N. notopterus* สกุล *Xenomystus* มีชนิดเดียว คือ *X. nigri* และสกุล *Papyrocraus* มี 2 ชนิด คือ *P. afer* และ *P. congoensis* (สมโภชน์ อัคระทวิวัฒน์, 2547 และชวลิต วิทยานนท์, 2544) ปลาในสกุล *Chitala* ซึ่งมีรายงานการศึกษาไว้ 2 ชนิด ได้แก่ ปลาตองลาย (*C. Blanci*) และปลากราย (*C. chitala*) โดยธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2533) พบว่าปลาตองลายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และปลากรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2st+40a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และ Uyeno (1973) รายงานไว้ว่าปลากรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และพบตำแหน่งนอร์ (NORs) บนโครโมโซมคู่ที่ 2 นอกจากนั้นยังมีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์อีก 5 รายงานที่ศึกษาในปลาสกุลอื่นในวงศ์ปลากราย โดยปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 34-42 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 38-42 แห่ง

ปลาในวงศ์ปลาเก็ด มีการกระจายพันธุ์ตามแหล่งน้ำจืดไปจนถึงน้ำกร่อยตั้งแต่ทวีปแอฟริกา อนุทวีปอินเดีย เอเชียอาคเนย์ ไปจนถึงหมู่เกาะซุนดา ทั่วโลกพบประมาณ 200 ชนิด สำหรับในประเทศไทย จัดเป็นปลาหนึ่งวงศ์ที่พบมากชนิดที่สุดของไทย โดยพบมากกว่า 25 ชนิด (Nelson, 2006 และ ชวลิต วิทยานนท์ และคณะ, 2540) มีรายงานการศึกษาในปลาวงศ์นี้ คือ ปลาเก็ดดำ (*Hemibagrus wyckii*) 2 รายงาน ได้แก่ Magtoon and Arai (1988) รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 54 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $16m+14sm+24a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 84 และธวัช ดอนสกุล (2544) รายงานไว้ว่าปลาเก็ดดำมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 62 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $34m+10sm+8st+10a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 104 และมีรายงานการศึกษาปลาที่อยู่ในสกุลเดียวกันอีก 9 รายงาน ใน 5 ชนิด/ชนิดย่อย ได้แก่ *H. guttatus*, *H. macropterus*, *H. menoda*, *H. menoda menoda* และ *H. nemurus* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 48-60 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 72-108 นอกจากนั้นยังมีรายงานการศึกษาปลาชนิดอื่นในวงศ์ปลาเก็ดอีก 57 รายงาน พบว่าปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 44-60 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 80-108

สำหรับปลาในวงศ์ปลาแค้ เป็นปลาน้ำจืดที่พบแพร่กระจายในแถบตูลูกี ซีเรีย จีนตอนใต้ พม่า ลาว กัมพูชา ไทย และบอร์เนียว ปลาในกลุ่มนี้มีผิวหนังหยาบ มีตุ่มกระจายตามลำตัว ส่วนใหญ่มีขนาด 4 คู่ทั่วโลกมีประมาณ 20 สกุล และ 85 ชนิด (Nelson, 1994) ในประเทศไทยพบปลาวงศ์นี้ 6 สกุล 18 ชนิด (ขวลิต วิทยานนท์ และคณะ, 2540) มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของวงศ์ปลาแค้น้อยมาก มีรายงานการศึกษาโดยอัจฉริยา รังษิรุจิ และคณะ (2550) พบว่าปลาแค้ (Bagarius suchus) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง มีสูตรแคโรไทป์ คือ $16m+16sm+4st+20a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 88 และปลาแค้ว (B. bagarius) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง มีสูตรแคโรไทป์ คือ $16m+10sm+2st+28a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 82 และนอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาปลาในวงศ์ปลาแค้อีก 10 รายงาน พบว่าปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 36-56 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 66-104

จากการตรวจสอบเอกสารรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ในปลาน้ำจืดกลุ่มปลาสวายงาม ส่วนใหญ่ศึกษาโครโมโซมโดยใช้เทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ส่วนการศึกษาแถบสปีนโครโมโซมแทบไม่มีรายงาน ทั้งที่ลักษณะแถบสปีนโครโมโซมมีความสำคัญทำให้เราทราบลักษณะโครงสร้างของโครโมโซมมากขึ้น อันจะนำไปสู่การศึกษาต่อยอดในอนาคต นอกจากนี้ยังมีปลาอีกหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ทั้งในและต่างประเทศ

ตารางที่ 2.2 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ Datnioididae, Notopteridae, Bagridae และ Sisoridae

Family/ Species	2n	NF	Karyotype	Ag-NORs	Locality	Reference
Datnioididae						
ปลาเลื้อยตอลายเล็ก (<i>Datnioides undecimradiatus</i> หรือ <i>Coius undecimradiatus</i> *)	48	54	4M+2SM+42A	-	Thailand	พัชราพรรณ คงเพชรศักดิ์ (2550)
ปลาเลื้อยตอลายใหญ่ (<i>D. pulcher</i> หรือ <i>C. microlepis</i> *)	48	50	2M+4ST+42A	-	Thailand	พัชราพรรณ คงเพชรศักดิ์ (2550)
ปลากระพงลาย (<i>D. polota</i> หรือ <i>C. quadrifasciatus</i> *)	46	48	2SM+2ST+42A	-	Thailand	พัชราพรรณ คงเพชรศักดิ์ (2550)
Notopteridae						
ปลาตอลาย (<i>Chitala blanci</i> หรือ <i>Nototerus blanci</i> *)	42	42	42A	-	Thailand	ธวัช ตอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2533)
ปลากลาย (<i>C. chitala</i>)	42	42	42A	2	Asia	Uyeno (1973)

	42	42	2ST+40A	-	Thailand	ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2533)
ปลาสร้อย (<i>Notopterus notopterus</i>)	42	42	42A	2	India	Rishi and Singh (1983)
	42	42	42A	2		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2533)
<i>Papyrocranus afer</i>	34	38	4SM+30A	-	Africa	Uyeno (1973)
<i>Xenomystus nigri</i>	42	42	42A	-	Africa	Uyeno (1973)
Bagridae						
<i>Hemibagrus guttatus</i>	60	108	20M+12SM+16ST +12A	-	China	Yu et al.(1989)
<i>H. macropterus</i>	60	108	20M+12SM+16ST +12A	-	China	Hong and Zhou (1984)
	60	-	-		China	Wuhan University (1981)
<i>H. menoda</i>	48	72	12M+12ST+24A	-	India	Lakra and Rishi (1991)
	58	100	22M+20SM+16A	-	India (WB)	Das and Khuda-Bukhsh (2007)
<i>H. menoda menoda</i>	56	108	36M+16SM+4A		India (Assam)	Khuda-Bukhsh et al. (1995)
	58	100	22M+20SM+16A	2	India (WB)	Barat and Khuda-Bukhsh (1986)
<i>H. nemurus</i>	56	100	20M+14SM+10ST +12A	-	India (Jammu)	Sharma and Tripathi (1986)
	56	102	32M+14SM+10A	-	India (Assam)	Khuda-Bukhsh et al. (1995)
ปลากดดำ (<i>H. wyckii</i>)	54	84	16M+14SM+24A	-	Thailand	Magtoon and Arai (1988)
	62	104	34M+10SM+8ST+ 10A	-	Thailand	ธวัช ดอนสกุล (2544)
<i>Bagrichthys macracanthus</i>	50	94	16M+26SM+2ST+ 6A	-	Thailand	Magtoon and Arai(1988)
<i>Coreobagrus brevicorpus</i>	44	80	22M+14SM+8ST/ A	-	Korea	Kim et al. (1982)
<i>C. ichikawai</i>	56	88	18M+14SM+24ST /A	-	Japan	Ueno (1985)

<i>Horabagrus brachysoma</i>	60	116	28M+20SM+8ST/ A	2	India	Nagpure et al. (2003)
<i>H. nigricollaris</i>	60	116	26M+20SM+10ST +4A	2	India	Nagpure et al. (2004)
<i>Mystus cavasius</i>	58	102	18M+16SM+10St +14A	2	India	Sharma and Tripathi (1986)
	58	98	18M+22SM+18A	-	India	Tripathi and Das (1980)
	58	102	14M+26SM+4ST+ 14A	-	India	Khuda-Bukhsh et al. (1980)
<i>M. gulio</i>	58	102	30M+12SM+2ST+ 14A	2	India	Manna and Khuda-Bukhsh (1978)
	58	108	12M+34SM+4ST+ 8A	-	India	Choudhury et al.(1993)
	58	108	13M+33SM+4ST+ 8A	-	India	Choudhury et al.(1993)
<i>M. tengara</i>	54	101	9M+38SM/ST+7A	-	India	Rishi(1973)
	54	102	10M+38SM/ST+6 A	-	India	Rishi(1973)
	54	97	25M+18SM/ST+1 1A	-	India	Rishi and Rishi (1981)
	54	98	26M+18SM/ST+1 0A	-	India	Rishi and Rishi (1981)
<i>Pelteobagrus eupogon</i>	50	100	20M+14SM+16ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
<i>P. nudiceps</i>	56	86	18M+12SM+26ST /A	-	Japan	Ueno (1985)
	56	100	44M/SM+12ST/A	-	Japan	Fujioka (1973)
<i>M. vittatus</i>	54	108	22M+26SM+6ST	-	India	Tripathi and Das (1980)
	54	108	22M+20SM+12ST	-	India	Sharma and Tripathi (1986)
	58	110	10M+30SM+12ST +6A	-	India	Choudhury et al.(1993)
	54	108	20M+24SM+10ST	-	India	Manna and Prasad (1974)
	58	104	16M+10SM+20ST +12A	-	India	Manna and Prasad (1974)

	54	106	28M+22SM+2ST+ 2A	2	India	Khuda-Bukhsh and Barat (1987)
<i>P. ussuriensis</i>	52	104	24M+18SM+10ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
	52	86	18M+16SM+18ST /A	2	Korea	Kim et al. (1982)
	52	104	24M+10SM+18ST	-	China	Yu et al. (1989)
	52	92	20M+20SM+12ST /A	-	Korea	Ueno (1985)
<i>Pseudobagrus aurantiacuc</i>	48	80	20M+12SM+16ST /A	-	Japan	Ueno (1974)
	48	80	18M+14SM+16ST /A	-	Japan	Ueno (1985)
<i>P. crassilabris</i>	52	104	24M+14SM+14ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
<i>P. koreanus</i>	48	80	18M+14SM+16ST /A	-	Korea	Ueno (1985)
	48	82	20M+14SM+14ST /A	-	Korea	Kim et al. (1982)
<i>P. longirostris</i>	52	104	20M+16SM+16ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
<i>P. nitidus</i>	52	94	22M+20SM/ST+1 0A	-	Korea	Kim et al. (1982)
	52	104	20M+16SM+16ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
<i>P. pratti</i>	52	94	20M+14SM+8ST+ 10A	-	China	Yu et al. (1989)
<i>P. tenius</i>	52	104	22M+16SM+14ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
<i>P. tokiensis</i>	56	92	24M+12SM+20ST /A	-	Japan	Ueno (1974)
<i>P. truncatus</i>	52	104	26M+14SM+12ST	-	China	Yu et al. (1989)
<i>P. vachelli</i>	52	104	22M+16SM+14ST	-	China	Hong and Zhou (1984)
	52	88	16M+20SM+16ST /A	2	Korea	Ueno (1985)
<i>Rita chrysea</i>	54	108	28M+20SM+6ST	-	India	Das and Kar (1977)
	54	84	8M+22SM+2ST+2 0A	-	India	Khuda-Bukhsh and Nayak (1990)
<i>R. rita</i>	54	108	14M+34SM+6ST	2	India	Khuda-Bukhsh and Barat (1987)

	54	104	14M+24SM+12ST +4A	-	India	Manna and Prasad (1971)
<i>Sperata aor</i>	52	96	20M+14SM+10ST +8A	-	India	Lakra and Rishi (1991)
<i>S. seenghala</i>	54	102	28M+12SM+8ST+ 6A	2	India	Sharma and Tripathi (1986)
	50	82	10M+14SM+6ST+ 20A	2	India	Das and Khuda-Bukhsh (2007)
<i>Tachysurus adiposalis</i>	50	98	20M+14SM+14ST +2A	-	China	Yu et al. (1989)
<i>T. fulvidraco</i>	52	100	24M+14SM+10ST +4A	-	China	Hong and Zhou (1984)
	52	100	22M+12SM+14ST +4A	4	China	Zhang et al. (1992)
	52	96	18M+26SM/ST+8 A	-	Korea	Kim et al. (1982)
	52	104	28M+14SM+12ST	-	China	Shen et al.(1983)
	52	98	22M+24SM/ST+6 A	-	China	Ling (1982)
	52	100	24M+24SM+4A	-	Korea	Lee et al. (1983)
	52	96	18M+26SM+8A	-	Korea	Park and Lee (1996)
ปลาแค้งู (<i>Bagarius suchus</i>)	56	88	16M+16SM+4ST+ 20A	-	Thailand	อัจฉริยา รังษิรุจิ และคณะ (2550)
ปลาแค้งู (<i>B. bagarius</i>)	56	82	16M+10SM+2ST+ 28A	-	Thailand	อัจฉริยา รังษิรุจิ และคณะ (2550)
<i>Euchioglanis davidi</i>	36	50	8M+6SM+22ST/A	-	China	Li et al. (1981)
<i>E. kishinouyei</i>	50	70	14M+6SM+30ST/ A	-	China	Li et al. (1981)
<i>Glyptosternon reticulatum</i>	42	-	-	-	India	Rishi et al. (1998)
<i>Glyptothorax fokiensis</i>	52	104	20M+18SM+14ST	-	China	Yu et al. (1989)
<i>G. telchitta</i>	56	102	18M+26SM+2ST+ 10A	-	India	Khuda-Bukhsh et al. (1986)
Sisoridae						
<i>G. glyptothorax trilineatus</i>	52	-	18M+24SM+10A	-	India	Khuda-Bukhsh et al. (1995)

<i>Pseudecheneis sulcata</i>	52	-	8M+14SM+30ST/ A	-	India	Rishi et al. (1998)
<i>Gagata cenia</i>	46	66	4M+8SM+8ST+26 A	-	India	Mishra (1998)
<i>Gogangra viridescens</i>	42	-	14M+20SM+8A	-	India	Khuda-Bukhsh et al. (1995)
	48	86	12M+22SM+4ST+ 10A	-	India	Sharma and Tripathi (1981)

หมายเหตุ : * ชื่อวิทยาศาสตร์ตามที่รายงาน, $2n$ = จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์, NF = จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน, M = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, SM = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, ST = โครโมโซมชนิดซับเทโรเซนทริก และ A = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก, NORs = Nucleolar organizer regions

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 ช่วยเหนี่ยวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวมีพฤติกรรมแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสได้ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเซลล์ 3 วัน จะได้เซลล์เมทาเฟสมากเพียงพอใน

การศึกษา ซึ่งเป็นข้อดี ได้ผลรวดเร็ว เทคนิคการท่าง่าย ไม่ค่อยมีปัญหาด้าน ติดเชื้อ และค่าใช้จ่ายน้อย นอกจาก PHA ที่ใช้ได้กับสัตว์ กินเนื้อแล้ว 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) คาร์มิน (carmin) 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)

เป็นเทคนิคที่ทำให้แถบสีเข้มบริเวณที่โครโมโซมหดตัวกันแน่น (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) ในสัตว์มีกระดูกสันหลังส่วนนี้มีขึ้นสำหรับสังเคราะห์ ribosomal RNA ชนิด 18s และ 28s อยู่ ปฏิบัติการย้อมด้วยซิลเวอร์จะจำเพาะกับตำแหน่งนี้ เนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีการแสดงออกของยีนเป็นอย่างมาก และบริเวณนั้นจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนฮิสโตนมากกว่าบริเวณอื่นของโครโมโซม โปรตีนเหล่านี้จึงทำให้เกิดแถบสีที่จำเพาะเนื่องจากจะไปรีดิวซ์ (reduce) ซิลเวอร์ในรูปไอออนิก (ionic) ทำให้ซิลเวอร์เปลี่ยนเป็นสีดำ ตำแหน่งนอร์ส่วนใหญ่จะพบบนบริเวณรอยคอดที่ 2 ทำให้แขนส่วนที่เหลือเป็นกระเปาะเล็ก ๆ โครโมโซมที่มีรอยคอดที่สองนี้เรียกว่า แซทเทลไลท์โครโมโซม (satellite chromosome หรือ SAT-chromosome) ซึ่งใช้เป็นโครโมโซมเครื่องหมาย (marker chromosome) ได้

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

เทคนิค FISH นี้เป็นเทคนิคที่ทำให้เกิดการเข้าคู่หรือไฮบริไดซ์ (hybridize) ระหว่างโพรบ (probe) และ ดีเอ็นเอเป้าหมาย (target DNA) ซึ่งอยู่ภายในโครโมโซม โพรบที่ใช้มักเป็นดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ (DNA probe หรือ RNA probe) ซึ่งติดฉลาก (label) ด้วยสารเรืองแสง (fluoroccein 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)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่าง

1. เก็บตัวอย่างปลาจากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ตัวอย่างปลาที่เก็บมาได้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ตัวอย่างสำหรับตรวจสอบเอกลักษณ์ปลา และตัวอย่างสำหรับเตรียมโครโมโซม
2. นำตัวอย่างปลาที่เก็บได้มาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลาขนาด 60x120x50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ให้ก๊าซออกซิเจนตลอดเวลา
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 มิลลิตร 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 มิลลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนในด้านล่างทิ้ง เติมน้ำยาตรึงสภาพ (fixative) ที่มีส่วนผสมของเมทานอล 3 ส่วนต่อกรดอะซิติก 1 ส่วน (methanol: acetic acid; 3:1) ที่เตรียมใหม่และเย็นจัด นำสารละลายไปปั่นที่ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสข้างบนทิ้งเติมน้ำยาตรึงสภาพลงไป 7 มิลลิตร ปั่นด้วยความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม ทำซ้ำเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด เก็บตะกอนเซลล์ในสารละลายตรึงเซลล์ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

3.3 การเตรียมสไลด์โครโมโซม และการย้อมสีโครโมโซม

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

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 การย้อมแถบสีแบบบอร์

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. การคำนวณหาค่า 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. การคำนวณหาค่า centromeric index (CI) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

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

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 และนิยมวางแท่งโครโมโซมให้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ตรงกัน

3.5 การทำอิดิโอแกรมมาตรฐาน

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

ไปหาคุ้ที่เล็กที่สุด ยกเว้นโครโมโซมเพศจัดเป็นคู่สุดท้าย แล้วนำมาปรับปรุงร่างของโครโมโซมโดยใช้โปรแกรม Microsoft Word XP/2003 หรือ Microsoft Powerpoint XP/2003

3.6 การศึกษาทางสัณฐานวิทยา

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 = 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 = ระยะตั้งฉากขอบด้านบนบนสุดของคอดหางลงมาถึงขอบด้านล่างของคอดหาง ตรงบริเวณส่วนที่แคบที่สุด

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

4.1 เตรียมตัวอย่างปลา

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

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 = ระยะตั้งฉากขอบด้านบนบนสุดของคอดหางลงมาถึงขอบด้านล่างของคอดหาง ตรงบริเวณส่วนที่แคบที่สุด

Eye diameter = เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่างตา

Post-orbital length = ความยาวจากขอบด้านหลังของตาถึงปลายสุดของแผ่นกระดูกปิดเหงือก

Snout length = ความยาวจากปลายสุดของจะงอยปากถึงขอบด้านหน้าของตา

Total length = ความยาวจากปลายสุดของจะงอยปากถึงปลายสุดของครีบหาง

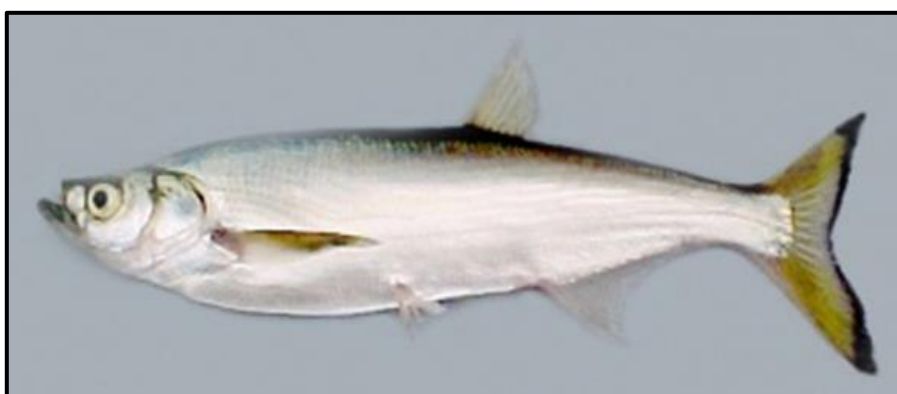
เลขโรมัน(I, II, III...etc) = จำนวนก้านครีบแข็ง

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

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในครั้งนี้ ได้ใช้ตัวอย่างปลา จากแหล่งน้ำในพื้นที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ดังนี้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลากริมควาย (*Trichopsis vittatus*)



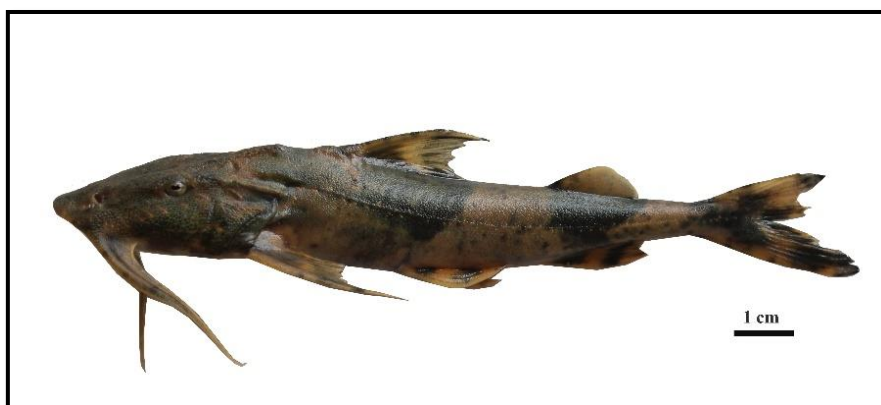
ภาพที่ 4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาแปบควาย (*Paralaubuca harmandi*)



ภาพที่ 4.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciata*)



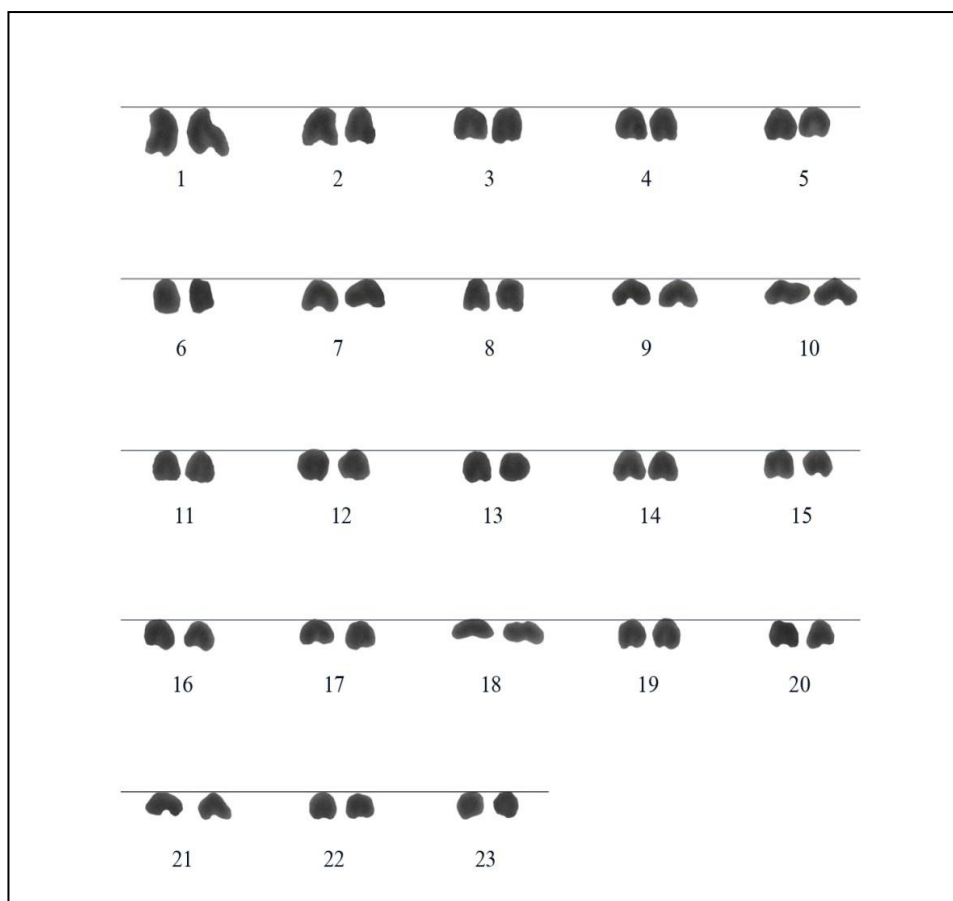
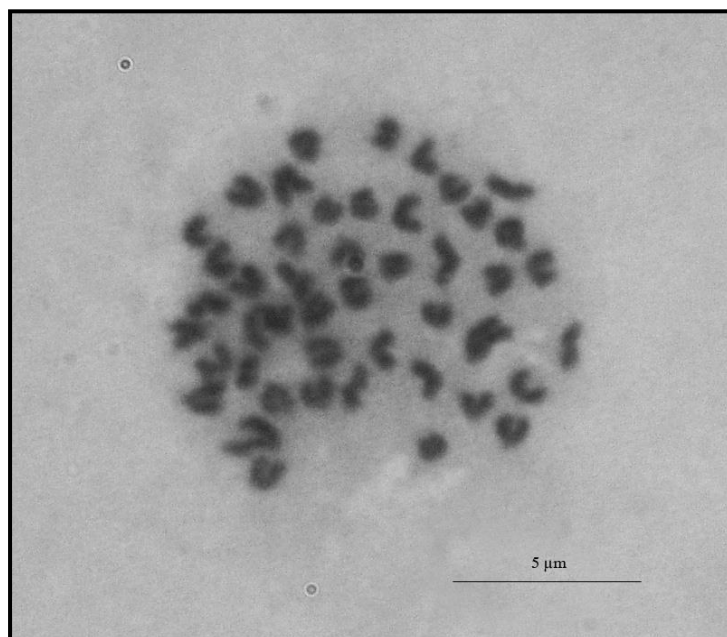
ภาพที่ 4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาซิวใบไม้แถบขาว (*Danio albolineatus*)



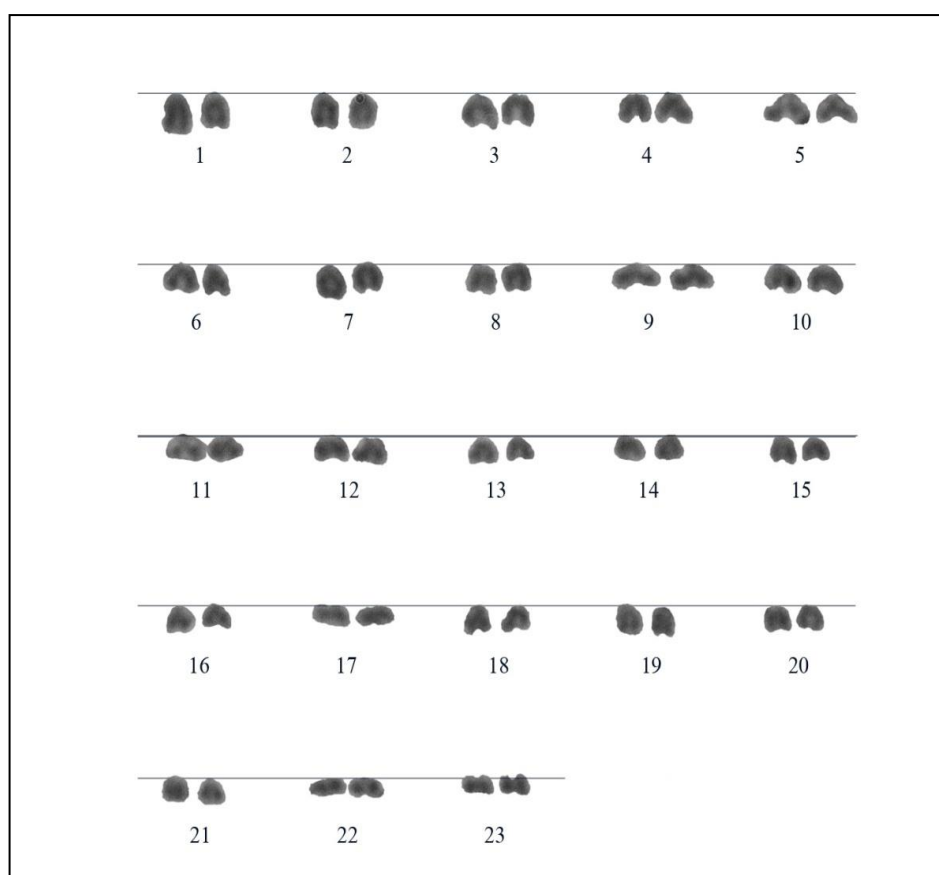
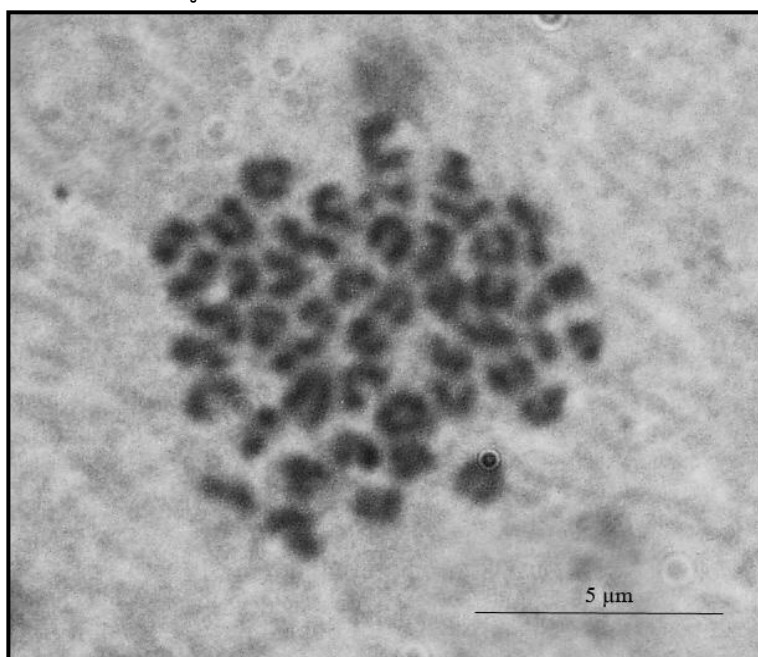
ภาพที่ 4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาแค้ควาย (*Bagarius yarrelli*)

4.2 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลากริมควาย

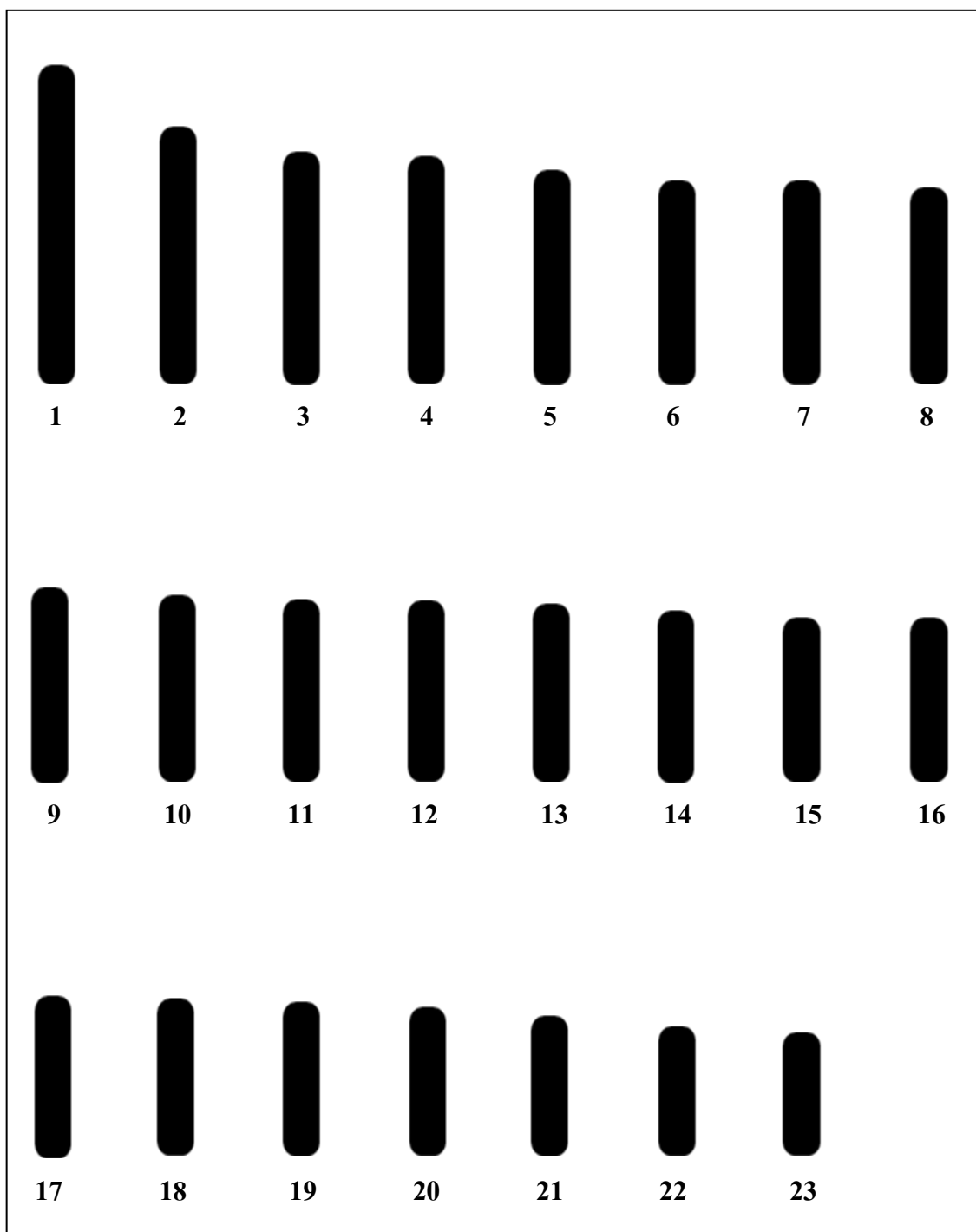
เตรียมโครโมโซมจากปลาแบบทางตรง ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ได้ผลการศึกษา ดังนี้ จากผลการศึกษาโครโมโซมของปลากริมควาย พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 46 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกทั้ง 46 แท่ง ปลากริมควายไม่สามารถแยกโครโมโซมเพศออกจากโครโมโซมร่างกายได้ เพราะในเพศผู้กับเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมที่ไม่แตกต่างกันโดยพบว่าปลากริมควายมีโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด (ภาพที่ 6 และ 7) เมื่อทำการวัดขนาดและนำมาหาค่าเฉลี่ยในการจัดทำคาริโอไทป์แล้วยังสามารถจำแนกขนาดของโครโมโซมออกเป็น เทโลเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 4 คู่ เทโลเซนทริกขนาดกลาง 13 คู่ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 คู่ และนำมาจัดทำสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้ $2n (46) = L^t_8 + M^t_{26} + S^t_{12}$



ภาพที่ 4.6 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ของปลากริมควาย (*Trichopsis vittatus*, $2n=46$) เพศผู้ โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.7 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ของปลากริมควาย (*Trichopsis vittatus*, $2n=46$) เพศเมีย โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.8 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลากริมควาย (*Trichopsis vittatus*, $2n=46$)

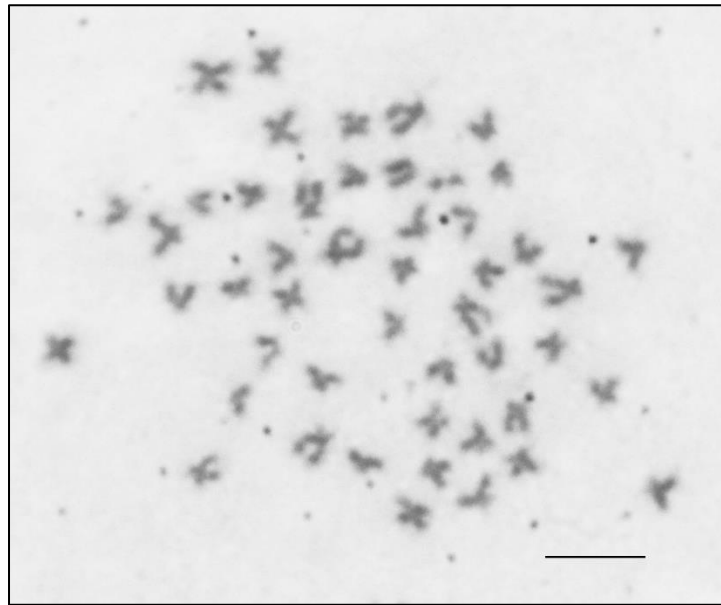
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของแขนข้างสั้น (Ls) ความยาวแขนข้างยาว (LL) ความยาวของแขนโครโมโซมทั้งหมด (LT) ค่า relative length (RL $\pm$ SD) ค่า centromeric index (CI $\pm$ SD) และขนาดโครโมโซมของปลากริมเพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LL	LT	RL $\pm$ SD	CI $\pm$ SD	ชนิด	ขนาด
1	0.00	0.29	0.29	0.232 $\pm$ 0.509	1 $\pm$ 0.00	telocentric	L
2	0.00	0.24	0.24	0.200 $\pm$ 0.446	1 $\pm$ 0.00	telocentric	L
3	0.00	0.21	0.21	0.176 $\pm$ 0.391	1 $\pm$ 0.00	telocentric	L
4	0.00	0.21	0.21	0.171 $\pm$ 0.383	1 $\pm$ 0.00	telocentric	L
5	0.00	0.20	0.20	0.163 $\pm$ 0.364	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
6	0.00	0.20	0.20	0.156 $\pm$ 0.346	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
7	0.00	0.19	0.19	0.150 $\pm$ 0.327	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
8	0.00	0.19	0.19	0.148 $\pm$ 0.327	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
9	0.00	0.18	0.18	0.147 $\pm$ 0.328	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
10	0.00	0.18	0.18	0.143 $\pm$ 0.319	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
11	0.00	0.17	0.17	0.137 $\pm$ 0.300	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
12	0.00	0.17	0.17	0.133 $\pm$ 0.290	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
13	0.00	0.17	0.17	0.132 $\pm$ 0.291	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
14	0.00	0.17	0.17	0.126 $\pm$ 0.272	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
15	0.00	0.16	0.16	0.118 $\pm$ 0.254	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
16	0.00	0.16	0.16	0.118 $\pm$ 0.254	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
17	0.00	0.16	0.16	0.114 $\pm$ 0.244	1 $\pm$ 0.00	telocentric	M
18	0.00	0.15	0.15	0.110 $\pm$ 0.235	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S
19	0.00	0.15	0.15	0.109 $\pm$ 0.236	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S
20	0.00	0.14	0.14	0.106 $\pm$ 0.226	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S
21	0.00	0.14	0.14	0.101 $\pm$ 0.217	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S
22	0.00	0.13	0.13	0.117 $\pm$ 0.219	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S
23	0.00	0.12	0.12	0.104 $\pm$ 0.190	1 $\pm$ 0.00	telocentric	S

หมายเหตุ: L = โครโมโซมขนาดใหญ่, M = โครโมโซมขนาดกลาง, S = โครโมโซมขนาดเล็ก

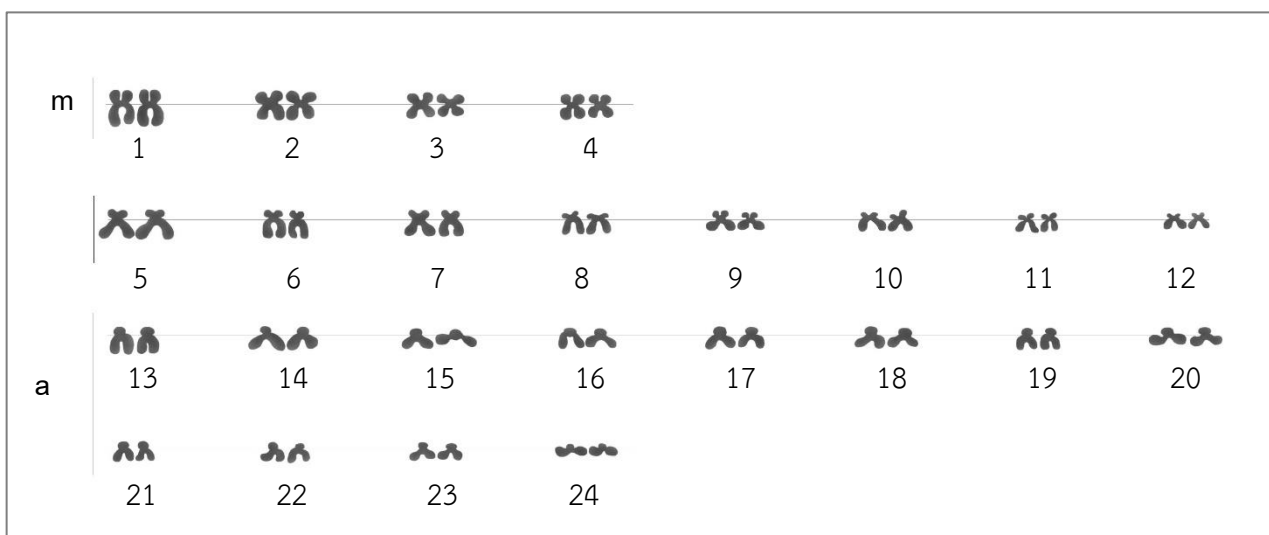
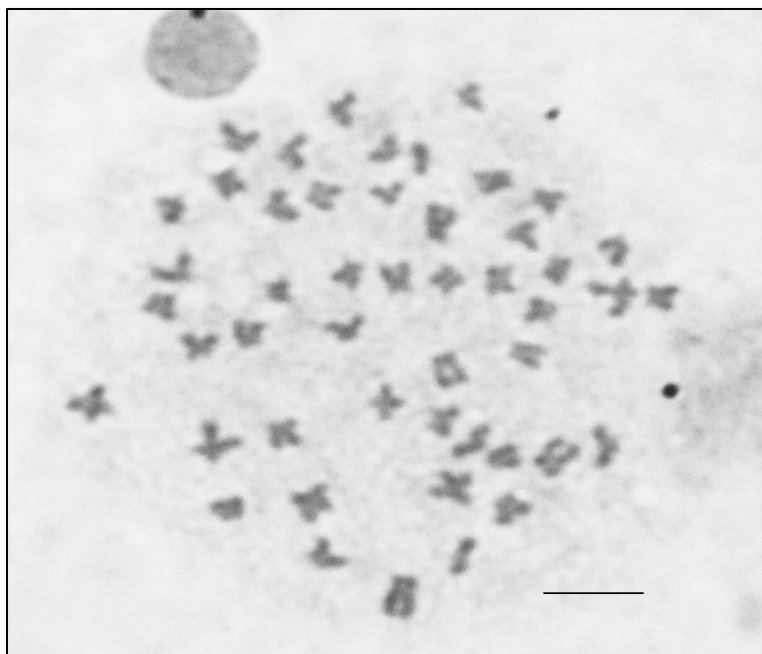
4.3 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาแปบควาย

นับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ในระยะเมทาเฟสจำนวน 100 เซลล์ พบว่าปลาแปบควายมีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ และ $NF = 96$ ผลการจัดแคริโอไทป์จากโครโมโซมในระยะเมทาเฟสของปลาแปบควายพบว่าแคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 16 แท่งและอะโครเซนทริก 24 แท่ง (ภาพที่ 4.9 และ 4.10) นำมาจัดทำสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้ $2n(48) = L^m_4 + L^{sm}_6 + M^m_4 + M^{sm}_{10} + M^a_{24}$

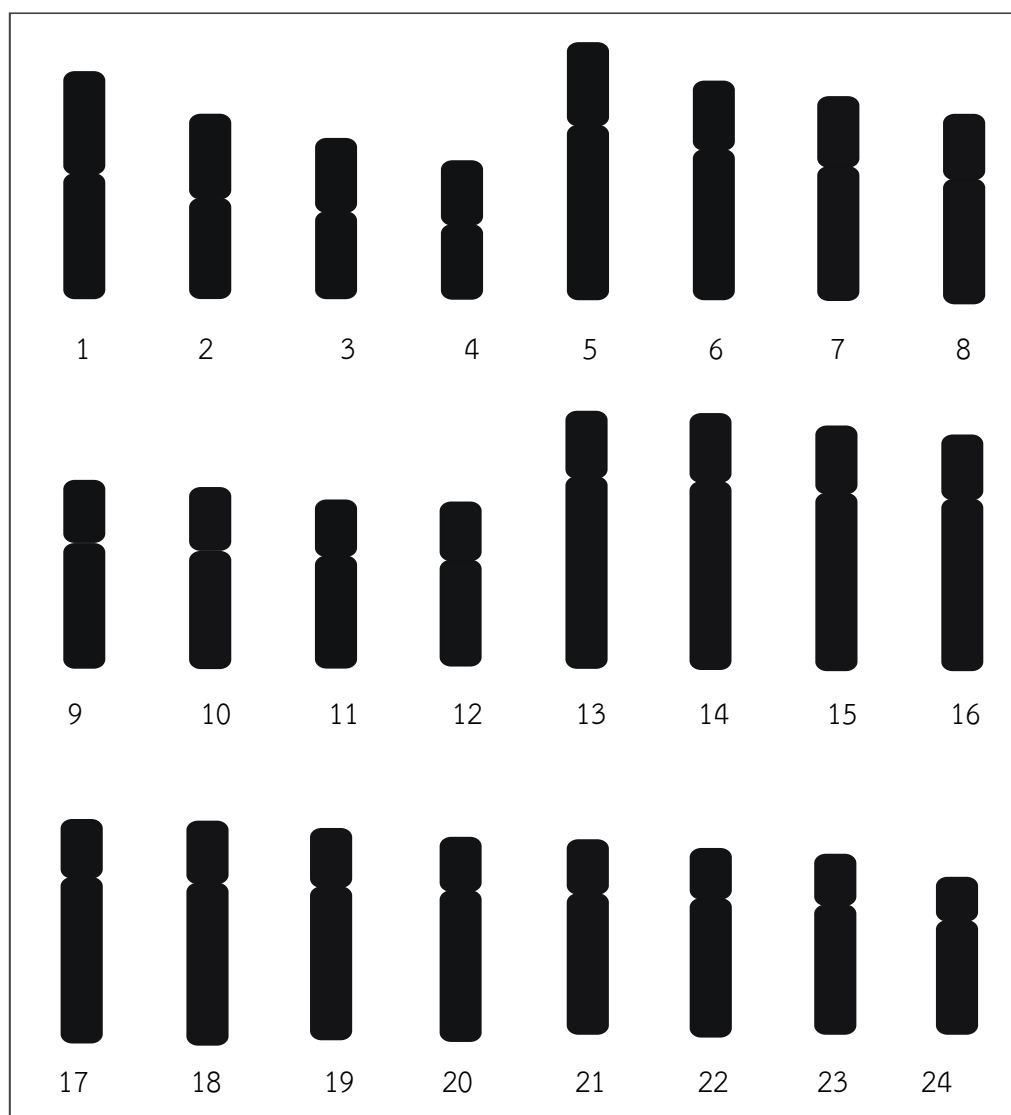


m	xx	xx	xx	xx															
	1	2	3	4															
sm	kk	kk	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx										
	5	6	7	8	9	10	11	12											
a	kk	kk	kk	kk	kk	kk	kk	kk	kk										
	13	14	15	16	17	18	19	20											
	xx	xx	xx	xx															
	21	22	23	24															

ภาพที่ 4.9 เซลล์ระยะเมทาเฟสและแคริโอไทป์ของปลาแปบควาย(*Paralaubuca harmandi*; $2n=48$) เพศผู้ จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกลเท่ากับ 5 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4.10 เซลล์ระยะเมทาเฟสและแคริโอไทป์ของปลาแปบควาย (*Paralaubuca harmandi*; $2n=48$) เพศเมีย จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกลเท่ากับ 5 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4.11 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาแปบควาย (*Paralaubuca harmandi*; $2n=48$)
จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (length short; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long; LL) ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่ (length total; LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation,SD) ของ RL และ CI จากเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ของปลาแปบควาย (*Paralaubuca harmandi*; 2n = 48)

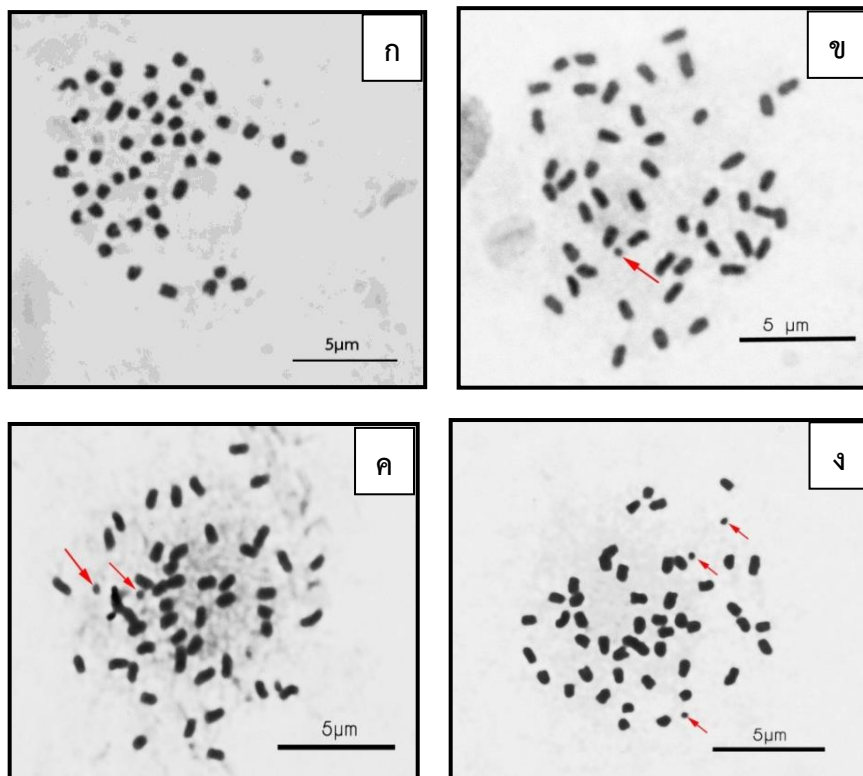
โครโมโซมคู่ที่	Ls	LL	LT	RL $\pm$ SD	CI $\pm$ SD	ชนิด	ขนาด
1	37.767	46.037	83.804	0.063 $\pm$ 0.006	0.549 $\pm$ 0.021	m	L
2	31.138	36.886	68.024	0.051 $\pm$ 0.004	0.542 $\pm$ 0.020	m	L
3	27.106	31.953	59.060	0.044 $\pm$ 0.004	0.541 $\pm$ 0.020	m	M
4	23.629	27.398	51.026	0.038 $\pm$ 0.005	0.537 $\pm$ 0.016	m	M
5	30.593	64.310	94.903	0.071 $\pm$ 0.008	0.678 $\pm$ 0.024	sm	L
6	25.363	55.296	80.659	0.060 $\pm$ 0.008	0.686 $\pm$ 0.021	sm	L
7	22.727	45.918	68.645	0.051 $\pm$ 0.005	0.669 $\pm$ 0.022	sm	L
8	21.734	41.218	62.951	0.047 $\pm$ 0.004	0.655 $\pm$ 0.021	sm	M
9	19.174	36.571	55.745	0.042 $\pm$ 0.003	0.656 $\pm$ 0.029	sm	M
10	17.759	34.050	51.809	0.039 $\pm$ 0.003	0.657 $\pm$ 0.025	sm	M
11	17.042	31.953	48.994	0.037 $\pm$ 0.003	0.652 $\pm$ 0.027	sm	M
12	15.915	28.881	44.796	0.034 $\pm$ 0.003	0.645 $\pm$ 0.023	sm	M
13	18.227	52.402	70.629	0.053 $\pm$ 0.007	0.742 $\pm$ 0.031	a	M
14	16.878	46.244	63.122	0.047 $\pm$ 0.005	0.733 $\pm$ 0.021	a	M
15	14.669	41.140	55.810	0.042 $\pm$ 0.004	0.737 $\pm$ 0.024	a	M
16	13.706	37.860	51.565	0.039 $\pm$ 0.003	0.734 $\pm$ 0.028	a	M
17	13.061	35.888	48.949	0.037 $\pm$ 0.003	0.733 $\pm$ 0.018	a	M
18	12.884	33.899	46.784	0.035 $\pm$ 0.003	0.725 $\pm$ 0.021	a	M
19	12.279	32.786	45.064	0.034 $\pm$ 0.003	0.728 $\pm$ 0.024	a	M
20	11.871	30.953	42.824	0.032 $\pm$ 0.003	0.723 $\pm$ 0.019	a	M
21	11.191	29.214	40.405	0.030 $\pm$ 0.004	0.723 $\pm$ 0.017	a	M
22	10.342	26.845	37.187	0.028 $\pm$ 0.003	0.722 $\pm$ 0.014	a	M
23	9.706	24.696	34.402	0.026 $\pm$ 0.003	0.718 $\pm$ 0.013	a	M
24	8.284	21.699	29.983	0.022 $\pm$ 0.003	0.724 $\pm$ 0.022	a	M

หมายเหตุ: L = โครโมโซมขนาดใหญ่, M = โครโมโซมขนาดกลาง, S = โครโมโซมขนาดเล็ก, m =

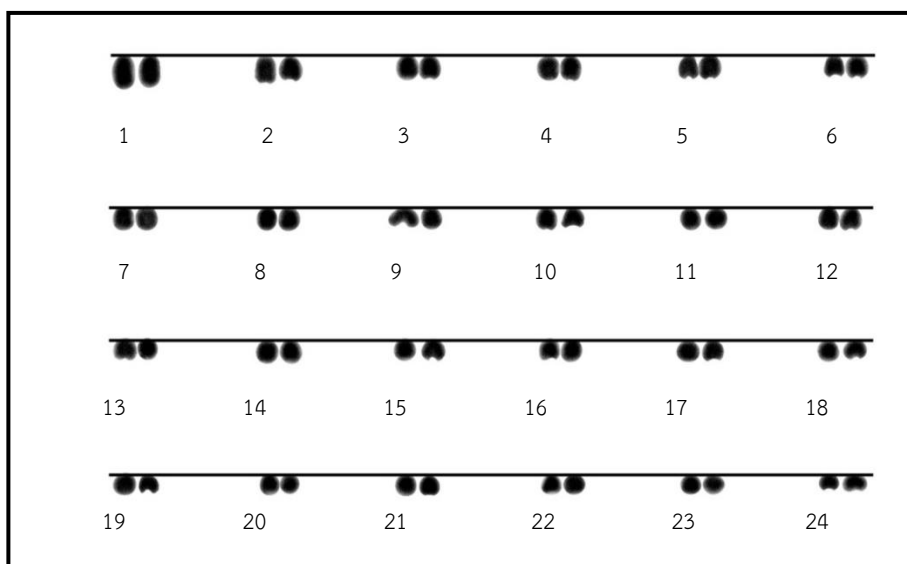
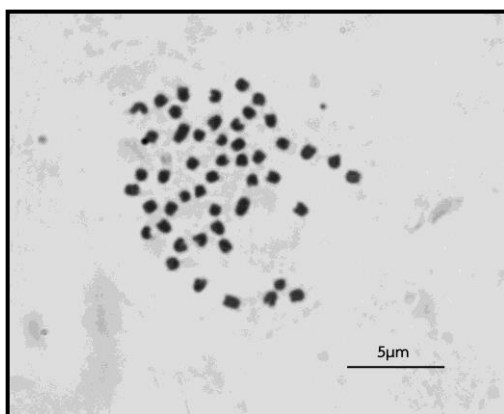
โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

4.4 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาหมอช้างเหยียบ

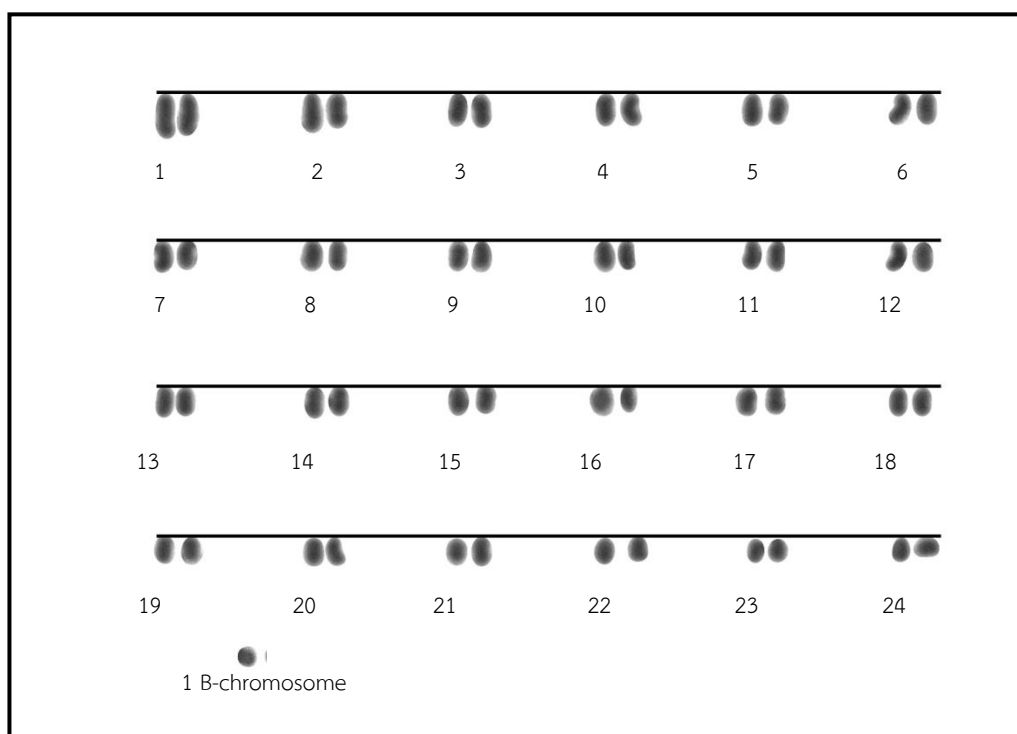
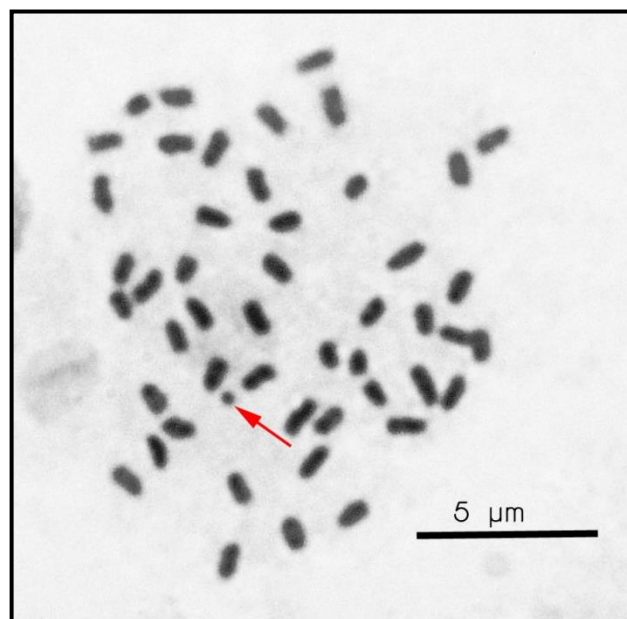
ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง (24 คู่) จำนวนโครโมโซมพื้นฐานพบว่าปลาหมอช้างเหยียบมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย นอกจากนี้ยังพบว่าปลาหมอช้างเหยียบจำนวน 2 ตัว พบบีโครโมโซม (B chromosome) ขนาดเล็กจำนวน 3 แท่ง ปลาหมอช้างเหยียบจำนวน 1 ตัว พบบีโครโมโซมขนาดเล็กจำนวน 1 แท่ง และไม่พบบีโครโมโซม (ภาพที่ 4.12) และไม่พบความแตกต่างของรูปร่างโครโมโซมเพศในปลาหมอช้างเหยียบ (ภาพที่ 4.13 และ 4.14) ปลาหมอช้างเหยียบมีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้ $2n(48) = L_{18}^t + M_{28}^t + S_2^t + 0-3 \text{ B-chromosomes}$



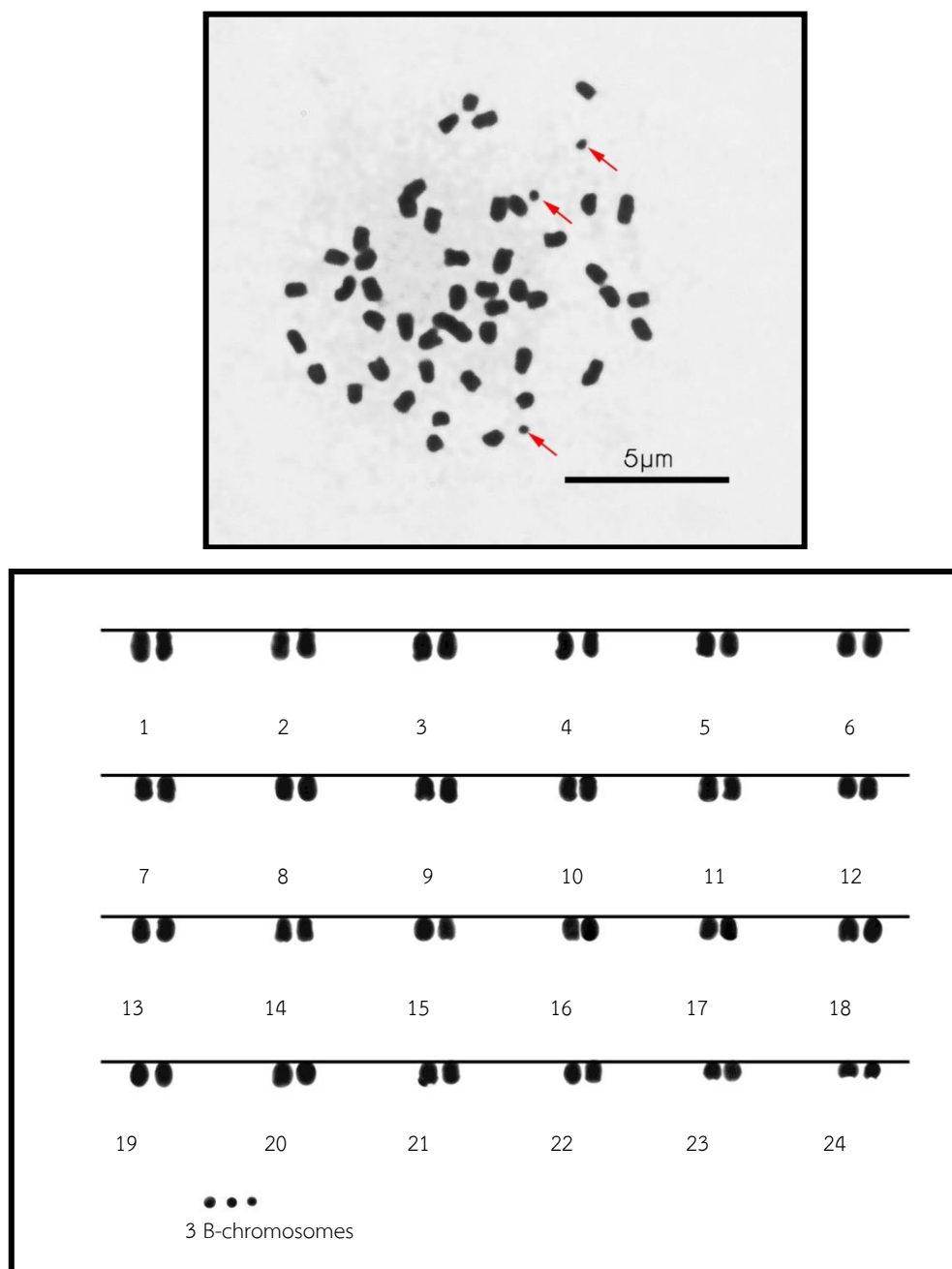
ภาพที่ 4.12 เซลล์ระยะเมทาเฟสของปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อม แกลสียแบบธรรมดา (ก) ปรากฏบีโครโมโซมจำนวน 1 แท่ง (ข) บีโครโมโซมจำนวน 2 แท่ง (ค) และบีโครโมโซมจำนวน 3 แท่ง (ง)



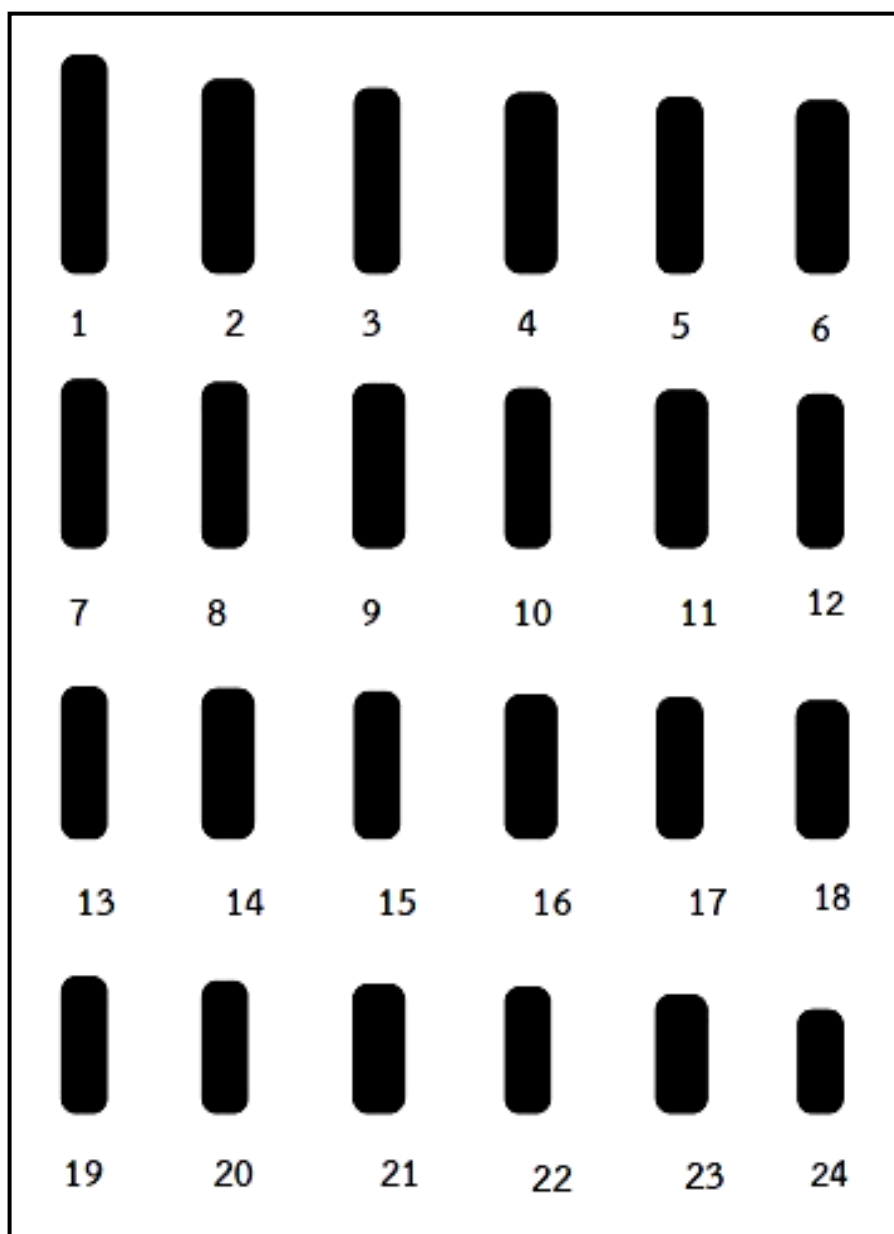
ภาพที่ 4.13 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pistolepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.14 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pistolepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา และปรากฏบีโครโมโซม 1 แห่ง



ภาพที่ 4.15 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pistolepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา และปรากฏบีโครโมโซม 3 แห่ง

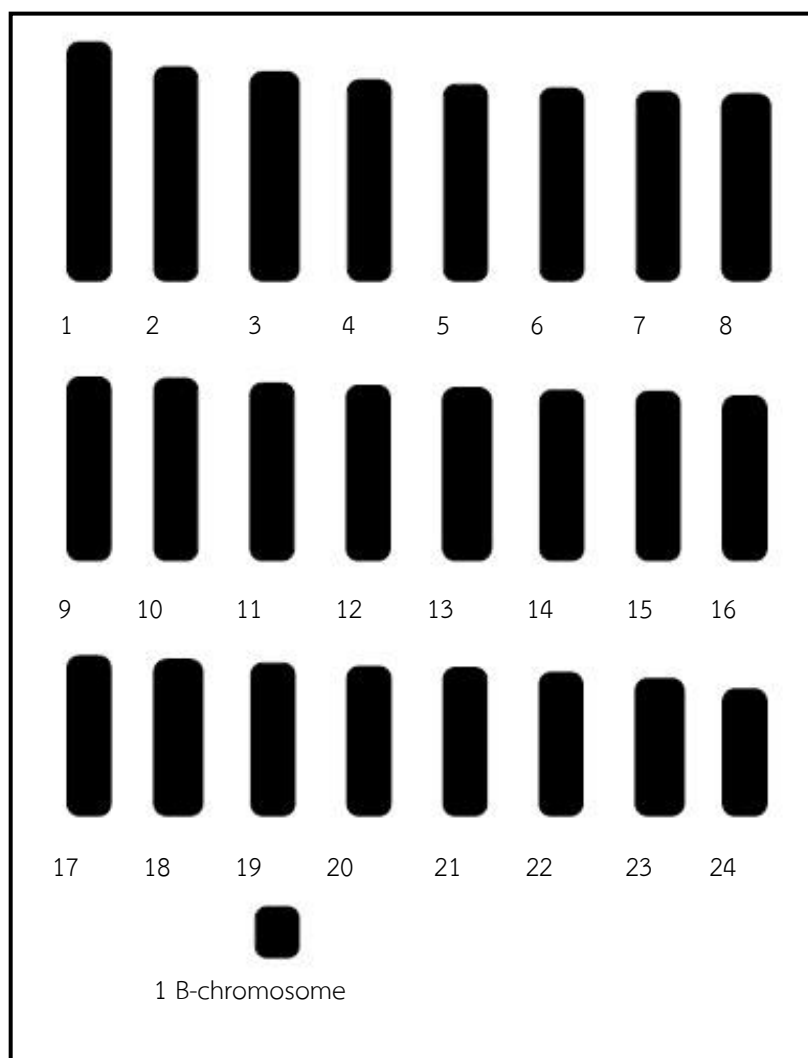


ภาพที่ 4.16 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาหมอช้างเหี้ยบ (*Pistolepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ย (mean) ของความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) relative length (RL) centromeric index (CI) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของ RL และ CI ของปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciata*, $2n = 48$) ที่ไม่พบบีโครโมโซม จำนวน 20 เซลล์

โครโมโซม คู่ที่	LS	LL	LT	RL±SD	CI±SD	ชนิด	ขนาด
1	0.00	2.224	2.224	0.060±0.004	1.00±0.00	t	L
2	0.00	1.973	1.973	0.052±0.002	1.00±0.00	t	L
3	0.00	1.884	1.884	0.050±0.002	1.00±0.00	t	L
4	0.00	1.834	1.834	0.048±0.002	1.00±0.00	t	L
5	0.00	1.795	1.795	0.047±0.002	1.00±0.00	t	L
6	0.00	1.757	1.757	0.046±0.002	1.00±0.00	t	L
7	0.00	1.716	1.716	0.045±0.001	1.00±0.00	t	L
8	0.00	1.680	1.680	0.044±0.001	1.00±0.00	t	L
9	0.00	1.660	1.660	0.044±0.001	1.00±0.00	t	L
10	0.00	1.627	1.627	0.043±0.001	1.00±0.00	t	M
11	0.00	1.600	1.600	0.042±0.001	1.00±0.00	t	M
12	0.00	1.556	1.556	0.041±0.001	1.00±0.00	t	M
13	0.00	1.540	1.540	0.041±0.001	1.00±0.00	t	M
14	0.00	1.528	1.528	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
15	0.00	1.492	1.492	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
16	0.00	1.461	1.461	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
17	0.00	1.429	1.429	0.038±0.001	1.00±0.00	t	M
18	0.00	1.397	1.397	0.037±0.001	1.00±0.00	t	M
19	0.00	1.388	1.388	0.037±0.001	1.00±0.00	t	M
20	0.00	1.343	1.343	0.036±0.001	1.00±0.00	t	M
21	0.00	1.314	1.314	0.035±0.001	1.00±0.00	t	M
22	0.00	1.283	1.283	0.034±0.001	1.00±0.00	t	M
23	0.00	1.204	1.204	0.032±0.001	1.00±0.00	t	M
24	0.00	1.051	1.051	0.028±0.002	1.00±0.00	t	S

หมายเหตุ: t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก L = โครโมโซมขนาดใหญ่ M = โครโมโซมขนาดกลาง S = โครโมโซมขนาดเล็ก

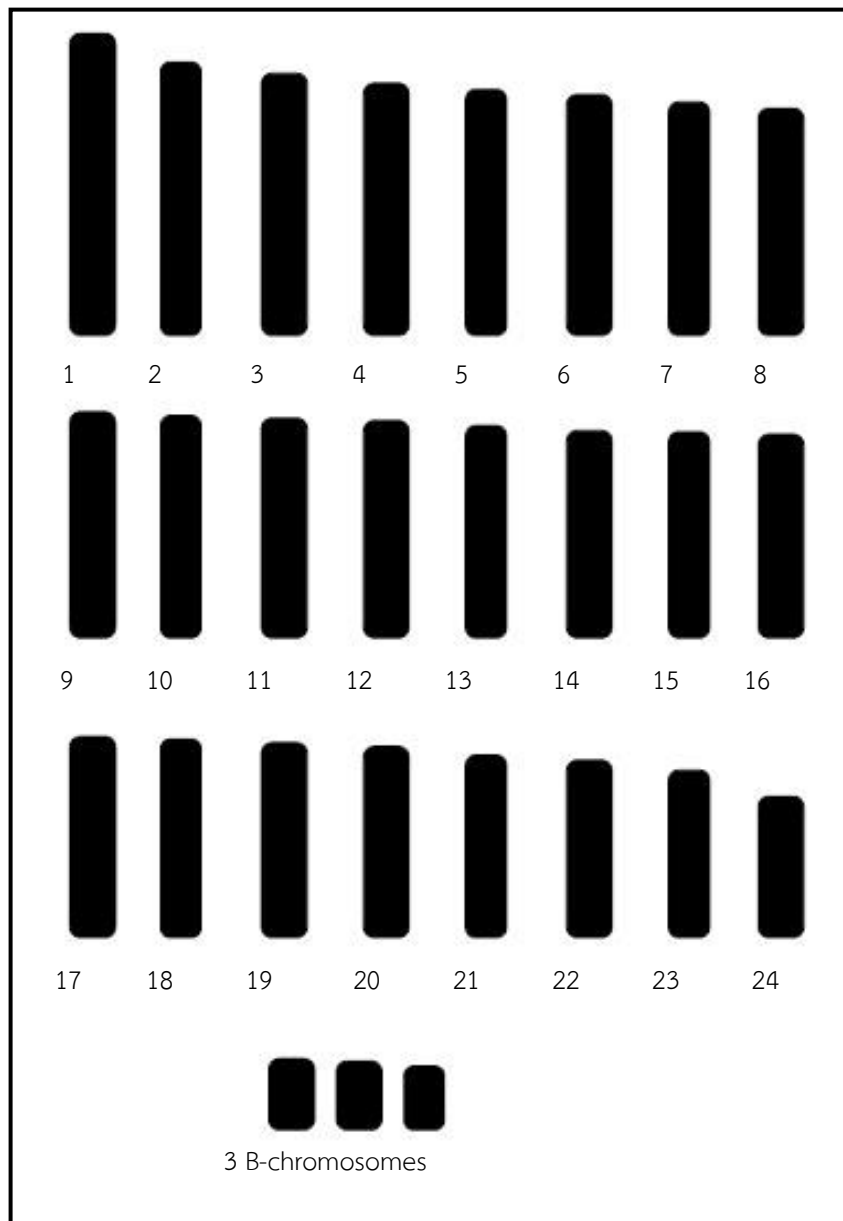


ภาพที่ 4.17 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาหมอช้างเหี้ยบ (*Pistocheilus fasciatus*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา กลุ่มที่พบปีโครโมโซมจำนวน 1 แท่ง

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ย (mean) ของความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) relative length (RL) centromeric index (CI) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของ RL และ CI ของปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciata*, $2n = 48$) ที่พบปีโครโมโซมจำนวน 1 แท่ง จำนวน 20 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	LS	LL	LT	RL±SD	CI±SD	ชนิด	ขนาด
1	0.00	1.919	1.919	0.056±0.002	1.00±0.00	t	L
2	0.00	1.722	1.722	0.051±0.002	1.00±0.00	t	L
3	0.00	1.681	1.681	0.050±0.002	1.00±0.00	t	L
4	0.00	1.617	1.617	0.048±0.002	1.00±0.00	t	L
5	0.00	1.579	1.579	0.045±0.001	1.00±0.00	t	L
6	0.00	1.553	1.553	0.046±0.001	1.00±0.00	t	L
7	0.00	1.523	1.523	0.045±0.001	1.00±0.00	t	L
8	0.00	1.498	1.498	0.044±0.001	1.00±0.00	t	L
9	0.00	1.472	1.472	0.044±0.001	1.00±0.00	t	L
10	0.00	1.463	1.463	0.043±0.001	1.00±0.00	t	M
11	0.00	1.424	1.424	0.042±0.001	1.00±0.00	t	M
12	0.00	1.410	1.410	0.042±0.001	1.00±0.00	t	M
13	0.00	1.383	1.383	0.041±0.001	1.00±0.00	t	M
14	0.00	1.372	1.372	0.041±0.001	1.00±0.00	t	M
15	0.00	1.355	1.355	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
16	0.00	1.319	1.319	0.039±0.001	1.00±0.00	t	M
17	0.00	1.281	1.281	0.038±0.001	1.00±0.00	t	M
18	0.00	1.254	1.254	0.037±0.001	1.00±0.00	t	M
19	0.00	1.231	1.231	0.037±0.001	1.00±0.00	t	M
20	0.00	1.202	1.202	0.035±0.001	1.00±0.00	t	M
21	0.00	1.189	1.189	0.035±0.001	1.00±0.00	t	M
22	0.00	1.146	1.146	0.034±0.001	1.00±0.00	t	M
23	0.00	1.102	1.102	0.032±0.001	1.00±0.00	t	M
24	0.00	1.019	1.019	0.030±0.002	1.00±0.00	t	M
1B	0.413		-	-	-	B-chromosome	

หมายเหตุ: t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก L = โครโมโซมขนาดใหญ่ M = โครโมโซมขนาดกลาง



ภาพที่ 4.18 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาหมอค้างเหยียบ (*Pistocepis fasciata*, $2n = 48$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา กลุ่มที่พบปีโครโมโซมจำนวน 3 แห่ง

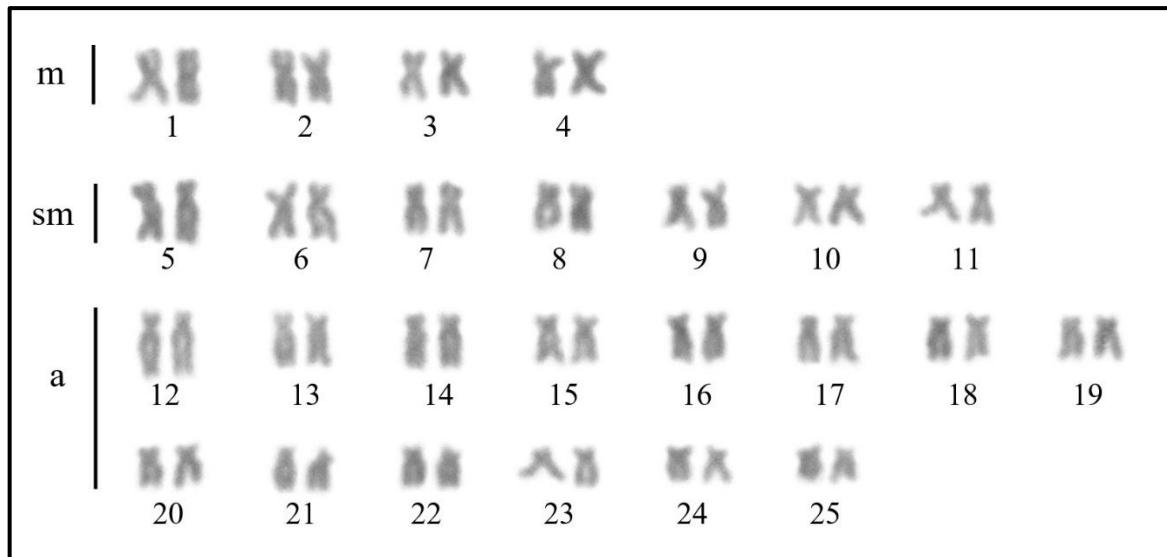
ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ย (mean) ของความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) relative length (RL) centromeric index (CI) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของ RL และ CI ของปลาหมี่ข้างเหี้ยยบ (*Pristolepis fasciata*, $2n = 48$) ที่พบปีโครโมโซมจำนวน 3 แห่ง จำนวน 20 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	LSเฉลี่ย	LL1	LTเฉลี่ย	RL±SD	CI±SD	ชนิด	ขนาด
1	0.00	1.104	1.103782	0.058±0.004	1.00±0.00	t	L
2	0.00	0.100	0.999533	0.052±0.002	1.00±0.00	t	L
3	0.00	0.956	0.95644	0.051±0.001	1.00±0.00	t	L
4	0.00	0.921	0.921217	0.048±0.001	1.00±0.00	t	L
5	0.00	0.900	0.899894	0.047±0.001	1.00±0.00	t	L
6	0.00	0.879	0.879175	0.047±0.002	1.00±0.00	t	L
7	0.00	0.852	0.851635	0.045±0.001	1.00±0.00	t	L
8	0.00	0.833	0.832691	0.044±0.001	1.00±0.00	t	L
9	0.00	0.824	0.824275	0.043±0.001	1.00±0.00	t	L
10	0.00	0.813	0.813471	0.043±0.001	1.00±0.00	t	L
11	0.00	0.803	0.80294	0.042±0.001	1.00±0.00	t	M
12	0.00	0.794	0.794421	0.042±0.001	1.00±0.00	t	M
13	0.00	0.776	0.775582	0.041±0.001	1.00±0.00	t	M
14	0.00	0.759	0.759325	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
15	0.00	0.754	0.753931	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
16	0.00	0.744	0.743773	0.040±0.001	1.00±0.00	t	M
17	0.00	0.733	0.73307	0.038±0.001	1.00±0.00	t	M
18	0.00	0.724	0.724379	0.038±0.001	1.00±0.00	t	M
19	0.00	0.711	0.711063	0.037±0.001	1.00±0.00	t	M
20	0.00	0.697	0.69667	0.036±0.001	1.00±0.00	t	M
21	0.00	0.664	0.664459	0.035±0.002	1.00±0.00	t	M
22	0.00	0.650	0.649816	0.034±0.002	1.00±0.00	t	M
23	0.00	0.611	0.61058	0.032±0.002	1.00±0.00	t	M
24	0.00	0.514	0.513902	0.027±0.003	1.00±0.00	t	S
1B	0.258		-	-	-	B-chromosome	
2B	0.250		-	-	-	B-chromosome	
3B	0.233		-	-	-	B-chromosome	

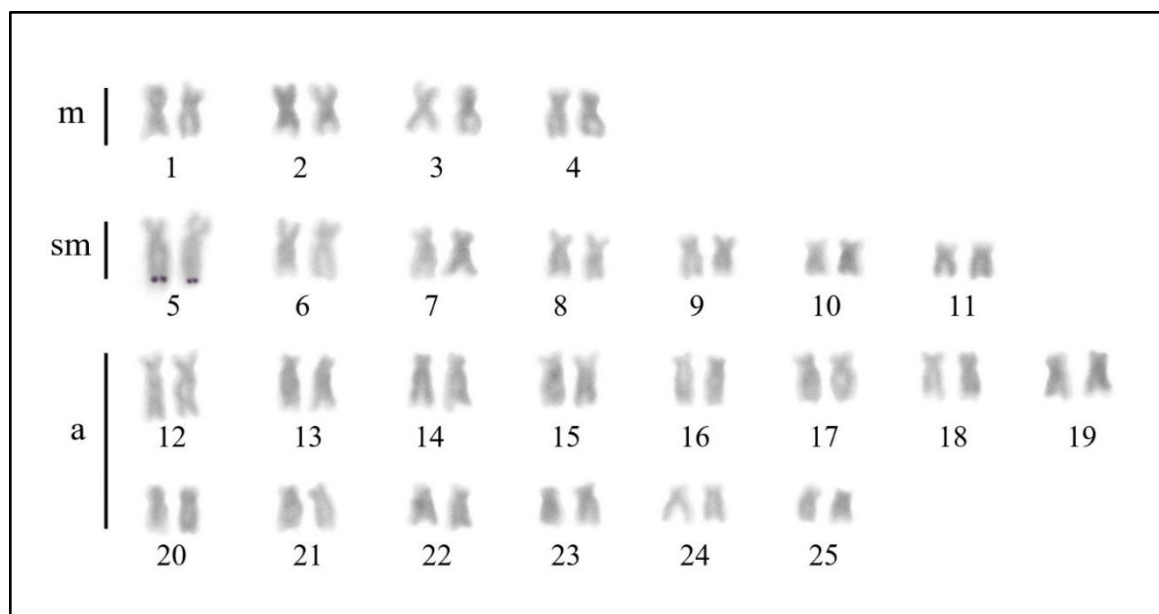
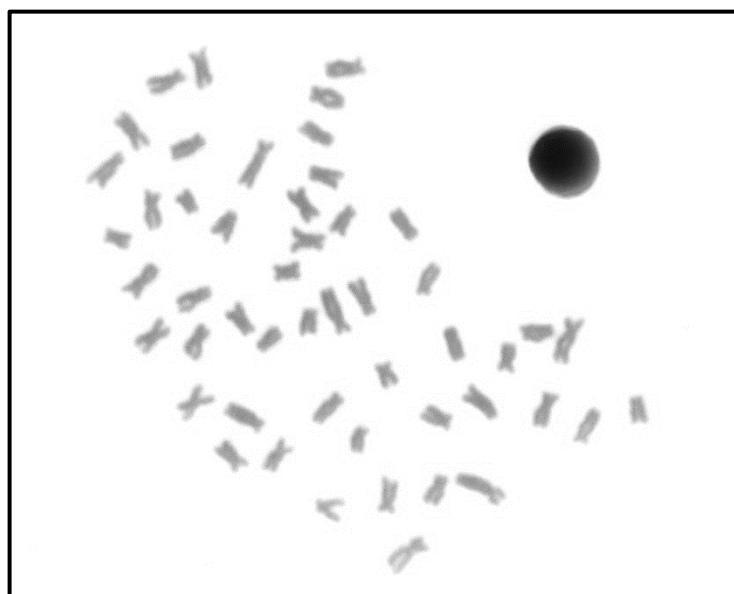
หมายเหตุ: t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก L = โครโมโซมขนาดใหญ่ M = โครโมโซมขนาดกลาง S = โครโมโซมขนาดเล็ก

4.5 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวไบไฟ้แถบขาว

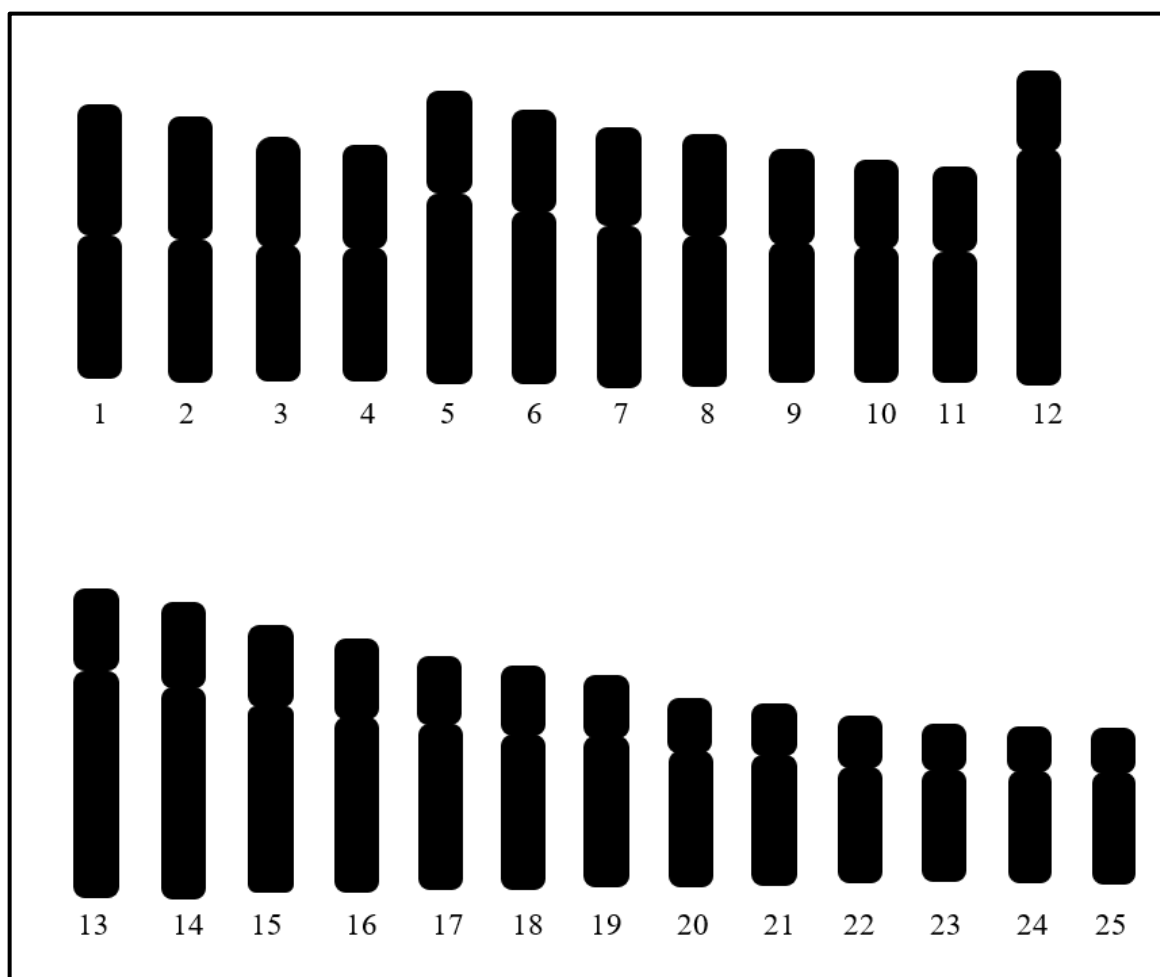
ผลการศึกษาค้างนี้พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 100 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย. แคริโอไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 14 แห่ง และชนิดอะโครเซนทริก 28 แห่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศ ปลาซิวไบไฟ้แถบขาวมีสูตร แคริโอไทป์ดังนี้ $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$.



ภาพที่ 4.19 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และแคริโอไทป์ (ล่าง) ปลาซิวไบไฟ้แถบขาว (*Danio albolineatus*, $2n = 50$) เพศผู้ โดยการใช้ย้อมแถบสีแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.20 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และคาริโอไทป์ (ล่าง) ปลาซิวไบไฟแถบขาว (*Danio albolineatus*, $2n = 50$) เพศเมีย โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.21 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวไบไฟแถบขาว (*Danio albolineatus*, $2n = 50$) โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา

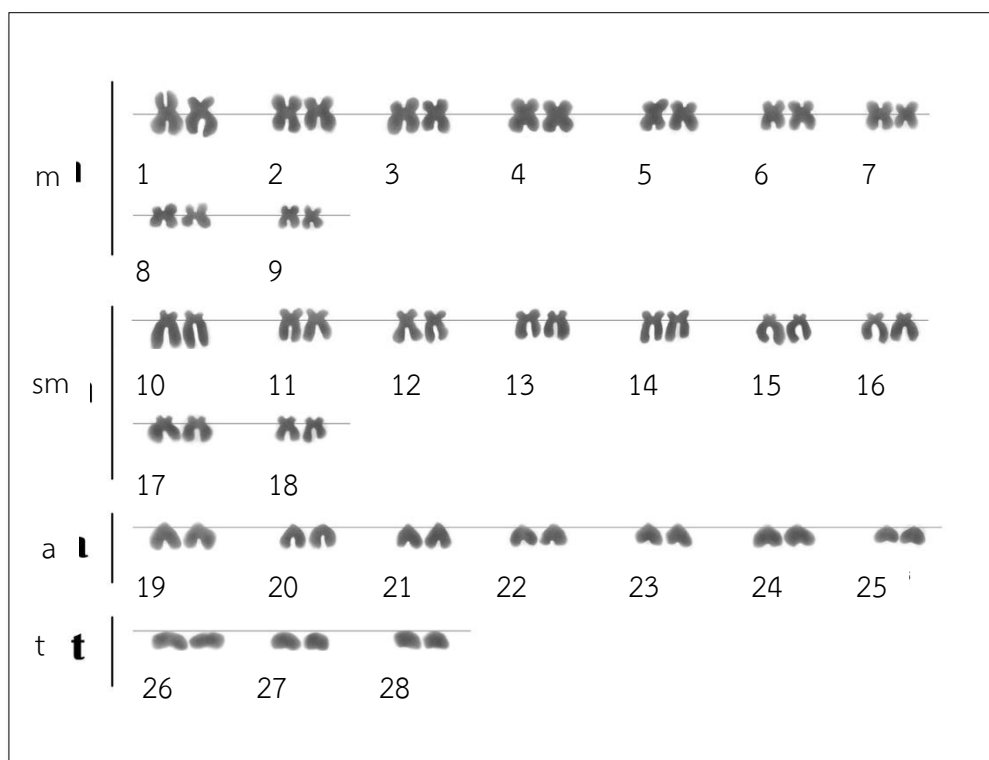
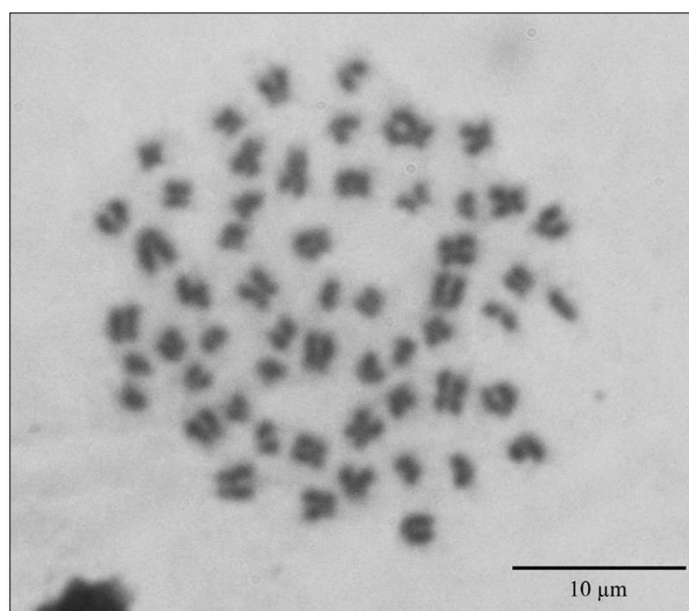
ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (length short; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long; LL) ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่ (length total; LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation,SD) ของ RL และ CI จากเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ของปลาซิวไบโม่แถบขาว (*Danio albolineatus*; $2n = 50$)

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LL	LT	RL $\pm$ SD	CI $\pm$ SD	ชนิด	ขนาด
1	1.628	1.851	3.479	0.043 $\pm$ 0.001	0.532 $\pm$ 0.037	m	L
2	1.576	1.879	3.455	0.043 $\pm$ 0.000	0.544 $\pm$ 0.030	m	L
3	1.414	1.774	3.188	0.040 $\pm$ 0.000	0.556 $\pm$ 0.007	m	M
4	1.302	1.694	2.996	0.037 $\pm$ 0.001	0.565 $\pm$ 0.022	m	M
5	1.295	2.955	4.250	0.053 $\pm$ 0.002	0.695 $\pm$ 0.003	s	L
6	1.196	2.496	3.692	0.046 $\pm$ 0.000	0.676 $\pm$ 0.025	s	L
7	1.222	2.311	3.533	0.044 $\pm$ 0.000	0.654 $\pm$ 0.002	s	L
8	1.150	2.089	3.239	0.040 $\pm$ 0.001	0.645 $\pm$ 0.006	s	M
9	1.049	1.940	2.990	0.037 $\pm$ 0.000	0.649 $\pm$ 0.013	s	M
10	0.988	1.645	2.634	0.033 $\pm$ 0.001	0.625 $\pm$ 0.012	s	M
11	0.963	1.603	2.566	0.032 $\pm$ 0.001	0.625 $\pm$ 0.044	s	M
12	1.035	3.356	4.391	0.055 $\pm$ 0.003	0.764 $\pm$ 0.009	a	L
13	0.871	2.907	3.779	0.047 $\pm$ 0.001	0.769 $\pm$ 0.030	a	L
14	0.887	2.746	3.632	0.045 $\pm$ 0.001	0.756 $\pm$ 0.010	a	L
15	0.818	2.481	3.299	0.041 $\pm$ 0.002	0.752 $\pm$ 0.013	a	L
16	0.845	2.367	3.212	0.040 $\pm$ 0.002	0.737 $\pm$ 0.014	a	M
17	0.852	2.433	3.284	0.041 $\pm$ 0.000	0.741 $\pm$ 0.006	a	M
18	0.784	2.227	3.010	0.037 $\pm$ 0.001	0.740 $\pm$ 0.004	a	M
19	0.775	2.286	3.061	0.038 $\pm$ 0.001	0.747 $\pm$ 0.016	a	M
20	0.788	2.002	2.789	0.035 $\pm$ 0.001	0.718 $\pm$ 0.010	a	M
21	0.708	2.202	2.910	0.036 $\pm$ 0.000	0.757 $\pm$ 0.007	a	M
22	0.685	2.143	2.828	0.035 $\pm$ 0.001	0.758 $\pm$ 0.013	a	M
23	0.684	1.924	2.608	0.032 $\pm$ 0.000	0.738 $\pm$ 0.004	a	M
24	0.709	1.756	2.465	0.031 $\pm$ 0.000	0.712 $\pm$ 0.004	a	M
25	0.655	1.706	2.361	0.029 $\pm$ 0.001	0.723 $\pm$ 0.017	a	M

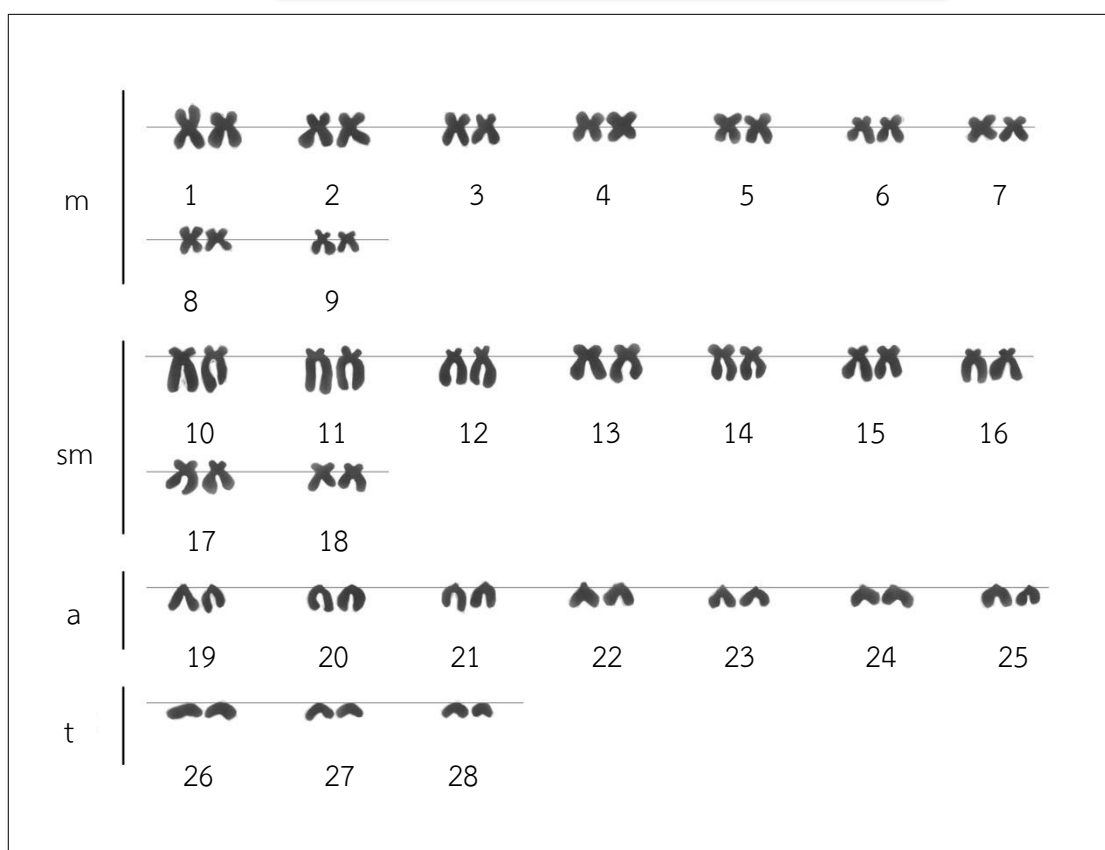
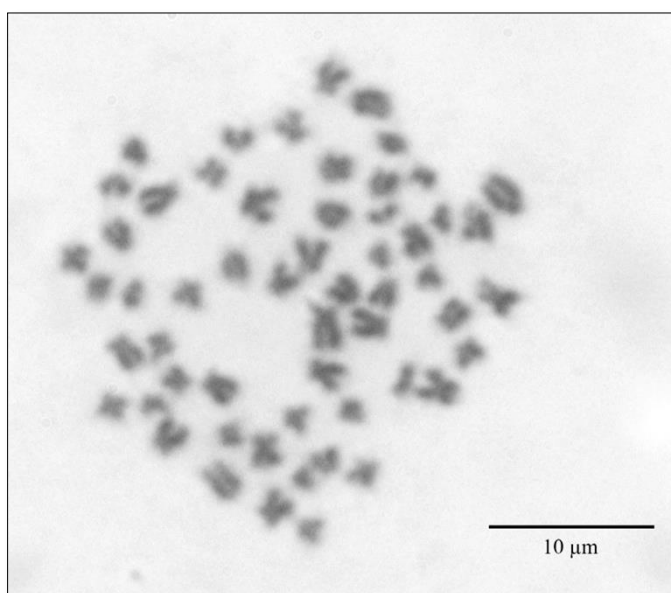
หมายเหตุ: L = โครโมโซมขนาดใหญ่, M = โครโมโซมขนาดกลาง, S = โครโมโซมขนาดเล็ก, m = โครโมโซมชนิด เมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

4.6 พันธศาสตร์เซลล์ของปลาแค้ควาย

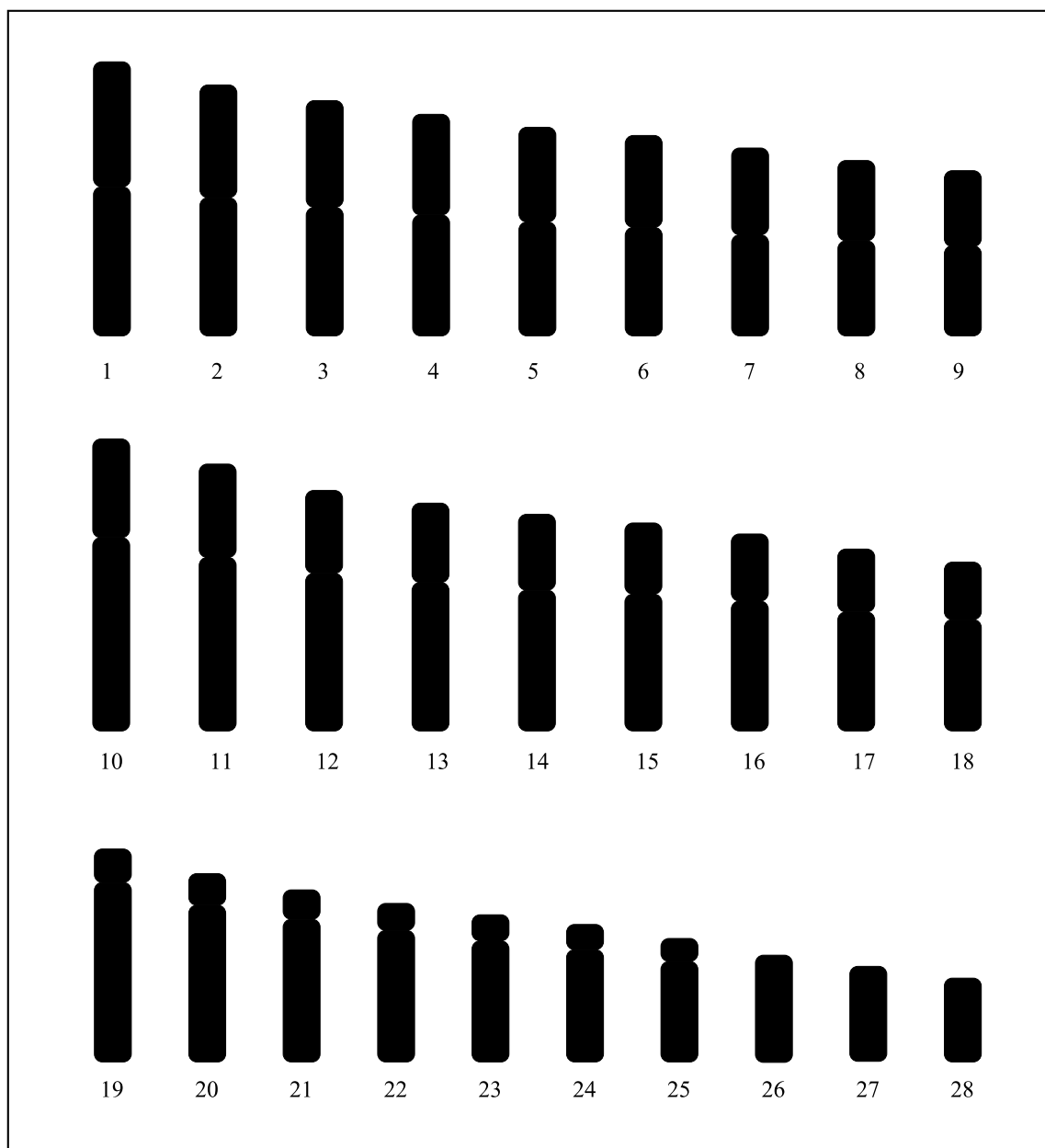
ปลาแค้ควายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 106 ทั้งเพศผู้ (ภาพที่ 4.22) และเพศเมีย (ภาพที่ 4.23) แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่จำนวน 14 แห่ง โครโมโซมขนาดกลางจำนวน 27 แห่งโครโมโซมขนาดเล็กจำนวน 15 แห่งและชนิดโครโมโซมประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 5 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 7 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 11 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 10 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 6 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 1 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 6 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แห่ง ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของรูปร่างโครโมโซมเพศ มีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้ $2n(56) = L^m_6 + L^{sm}_6 + L^a_2 + M^m_{10} + M^{sm}_{10} + M^a_6 + S^m_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^t_6$



ภาพที่ 4.22 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และแคโรไทป์ (ล่าง) ของปลาแค้ควาย (*B.yarrelli*, $2n=56$)
 เพศผู้ ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.23 เซลล์ระยะเมทาเฟส (บน) และแคริโอไทป์ (ล่าง) ของปลาแค้ควาย (*B.yarrelli*, $2n=56$) เพศเมีย ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา



ภาพที่ 4.24 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาแค้ควาย (*B. yarrelli*, $2n=56$) ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบ
ธรรมดา

ตารางที่ 4.7 ค่าเฉลี่ย (mean) ความยาวแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LL) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ค่าเฉลี่ย centromeric index (CI) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ของ RL และ CI ขนาด (size) และชนิด (type) ของปลาแค้ควาย 20 เซลล์

คู่ที่	Ls	LL	LT	RL±SD	CI±SD	ขนาด	ชนิด
1	46.36	55.14	101.51	1.260±0.109	0.545±0.018	L	m
2*	41.95	51.33	93.28	1.160±0.116	0.551±0.016	L	m
3	39.65	47.78	87.43	1.089±0.127	0.548±0.027	L	m
4	36.91	44.34	81.25	1.009±0.116	0.547±0.015	M	m
5	34.81	41.77	76.58	0.951±0.123	0.545±0.017	M	m
6	33.78	40.11	73.89	0.917±0.110	0.542±0.017	M	m
7	32.40	38.03	70.43	0.875±0.112	0.540±0.018	M	m
8	29.42	35.32	64.74	0.807±0.109	0.545±0.027	M	m
9	27.05	32.73	59.78	0.744±0.124	0.544±0.041	S	m
10	36.18	72.19	108.37	1.341±0.118	0.666±0.020	L	sm
11	34.58	64.34	98.91	1.225±0.077	0.651±0.024	L	sm
12	31.24	59.81	91.05	1.126±0.051	0.656±0.021	L	sm
13	29.68	55.27	84.95	1.053±0.033	0.651±0.025	M	sm
14	28.38	52.28	80.65	1.000±0.000	0.649±0.019	M	sm
15	26.59	50.54	77.12	0.958±0.033	0.656±0.022	M	sm
16	25.01	48.31	73.32	0.909±0.038	0.659±0.017	M	sm
17	23.67	44.75	68.42	0.847±0.050	0.655±0.024	M	sm
18	21.11	40.27	61.38	0.761±0.067	0.656±0.021	S	sm
19	12.32	67.26	79.59	0.986±0.168	0.843±0.032	L	a
20	11.78	59.40	71.19	0.882±0.132	0.832±0.028	M	a
21	10.80	53.42	64.22	0.795±0.108	0.831±0.038	M	a
22	9.97	48.30	58.27	0.725±0.086	0.826±0.035	M	a
23	9.68	44.03	53.71	0.667±0.083	0.818±0.043	S	a
24	9.20	40.31	49.51	0.618±0.087	0.814±0.032	S	a
25	8.44	36.02	44.45	0.554±0.087	0.806±0.041	S	a
26	0.00	39.85	39.85	0.400±0.095	1.000±0.000	S	t
27	0.00	35.27	35.27	0.442±0.080	1.000±0.000	S	t
28	0.00	30.69	30.69	0.383±0.082	1.000±0.000	S	t

หมายเหตุ: L = โครโมโซมขนาดใหญ่, M = โครโมโซมขนาดกลาง, S = โครโมโซมขนาดเล็ก, m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 การศึกษาโครโมโซมของปลากริมควาย

จากผลการศึกษาโครโมโซมของปลากริมควายพบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 โดยไม่มีความแตกต่างกันทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ วิเชียร มากตุ่นและคณะ (2550) ที่ทำการศึกษาคาร์ิโอไทป์ปลากริมควาย ปลากริมควายมีโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วิเชียร มากตุ่นและคณะ (2550) แต่ในการศึกษารุ่นนี้สามารถจำแนกขนาดของโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกออกเป็น เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 26 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 12 แท่ง จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) ของปลากริมควาย สอดคล้องกับ ปลากริมสี ปลากริมอีสาน ปลาสลิด ปลากระดี่มุก ปลากระดี่หม้อ ปลากระดี่นาง แต่แตกต่างกับ ปลากัดเขียว ปลากัดกระป๋อง ปลากัดจีน ปลากัดหัวโหม่ง ปลากระดี่นาง และปลากัดยักษ์ จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) ของปลากริมควาย สอดคล้องกับ ปลากริมอีสาน ปลาสลิด ปลากระดี่มุก ปลากระดี่หม้อ และปลากระดี่นาง (เกรียงไกร สีตะพันธุ์และคณะ, 2549) แต่แตกต่างกับ ปลากัดเขียว ปลากัดกระป๋อง ปลากัดจีน ปลากัดหัวโหม่ง ปลากระดี่นาง (วชิราภรณ์ ปัดวี, 2544) ปลากัดยักษ์ และปลากริมสี

การศึกษาจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์รูปร่าง ชนิด และขนาดของโครโมโซม ของปลากริมควาย ได้จัดทำคาร์ิโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลากริมควาย โดยพบว่ายังไม่มีรายงานการจัดทำอิดิโอแกรมของปลากริมควายมาก่อน ซึ่งการจัดอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลากริมควายในครั้งนี้ สามารถที่จะนำไปเป็นข้อมูลในการเปรียบเทียบกับสัตว์ชนิดอื่น หรือการจัดอนุกรมวิธาน เรียงลำดับสายวิวัฒนาการของสัตว์ และยังเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์สิ่งมีชีวิตได้อีกต่อไป จากตารางสรุปผล พบว่าส่วนใหญ่ปลาในวงศ์นี้มีโครโมโซม 46 แท่ง และเป็นชนิดเทโลเซนทริก ดังนั้นบรรพบุรุษของปลาวงศ์นี้จึงมีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง ได้แก่ ปลาสลิด ปลากระดี่นาง ปลากระดี่มุก ปลากระดี่หม้อ ปลากริมอีสาน และปลากริมควาย เนื่องจากมีโครโมโซมเหมือนบรรพบุรุษ แสดงว่าปลาเหล่านี้คงลักษณะของบรรพบุรุษไว้หรือเป็นกลุ่มโบราณ (กลุ่ม A) ซึ่งในการไล่สายวิวัฒนาการ จัดว่าเป็นลักษณะที่โบราณที่สุดตามด้วยปลากลุ่มที่สองคือ ปลากัดเขียว ปลากัดกระป๋อง ปลากัดจีน ปลากัดหัวโหม่ง ปลากัดยักษ์ และปลากริมสี ซึ่งมีวิวัฒนาการมาจากกลุ่มบรรพบุรุษโดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครโมโซม (กลุ่ม B) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จาก จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) รูปร่าง และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) ซึ่งปลาแต่ละชนิดก็มีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่แตกต่างกันไป

5.2 การศึกษาโครโมโซมของปลาแปบควาย

ผลการศึกษาแคโรไทป์ของปลาแปบควายพบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) = 48 แห่ง จำนวนแขนโครโมโซม (NF)เท่ากับ96 ลักษณะแคโรไทป์เหมือนกันทั้งเพศผู้และเพศเมียประกอบ ด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 16 แห่งและอะโครเซนทริก 24 แห่ง มีสูตรแคโรไทป์ ดังนี้ $2n(48) = L^m_4 + L^{sm}_6 + M^m_4 + M^{sm}_{10} + M^a_{24}$

ปลาแปบควายจัดอยู่ในวงศ์ปลาตะเพียนวงศ์ย่อย Cultrinae ซึ่งจากผลการศึกษาโครโมโซม และแคโรไทป์ของปลาในวงศ์ย่อยนี้ส่วนใหญ่มีโครโมโซม $2n = 48$ แห่ง (Arai, 2011) จากตารางที่ 2.1 และสกุลปลาแปบมีการศึกษามาแล้วในประเทศไทยพบว่าปลาแปบน้อย มี $2n = 48$ แห่ง NF = 82 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 16 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 18 แห่ง อะโครเซนทริก 4 แห่ง และเทโลเซนทริก 10 แห่ง (Donsakul and Magtoon, 1995) และในปลาแปบพบว่ามี $2n = 48$ แห่ง NF = 76 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 14 แห่ง อะโครเซนทริก 6 แห่งและเทโลเซนทริก 14 แห่ง (Donsakul and Magtoon, 2003)เมื่อเปรียบเทียบพบว่าปลาแปบควายมีจำนวนโครโมโซม สอดคล้องภายในวงศ์ย่อยและสกุลเดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความ สัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของปลาในวงศ์ย่อยนี้ยังคงมีความใกล้ชิดกับปลาที่เป็นบรรพบุรุษเนื่องจากปลาโบราณส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ ข้อมูลที่ได้นี้ใช้ประกอบการพิจารณาจัดปลาให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันซึ่งช่วยในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานแม้ว่าแคโรไทป์และจำนวนโครโมโซม พื้นฐานต่างกันแต่ความแตกต่างนี้สามารถใช้จำแนกชนิดปลาแปบได้เนื่องจากปลาแปบแปบน้อยและ ปลาแปบควายมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน แคโรไทป์ที่ได้จึงเป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความแตกต่างของชนิดปลาได้เป็นอย่างดีและจากการศึกษาตำแหน่งนอร์พบว่ามีตำแหน่งอยู่บนปลายแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่5จึงกำหนดให้เป็นโครโมโซมเครื่องหมายซึ่งจะมีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากโครโมโซมแท่งอื่นๆและมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจึงสามารถนำมาใช้จัดจำแนกได้ด้วยและจากการนำค่าเฉลี่ยการวัดขนาดของโครโมโซม 20 เซลล์มาทำอติโอแกรมของปลาชนิดนี้มีประโยชน์ในการวิเคราะห์โครโมโซมได้สะดวกมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาจากแคโรไทป์

5.3 การศึกษาโครโมโซมของปลาหมอช้างเหยียบ

ปลาหมอช้างเหยียบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แห่ง ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์สอดคล้องปลา *B. badis* (Khuda-Bukhsh *et al.*, 1995) ปลา *N. nandus* (Manna and Prasad, 1977; Nayak and Khuda-Bukhsh, 1987; Sharma and Tripathi, 1994 and Khuda-Bukhsh and Das, 2007) ปลา *N. oxyrhynchus* (จิราภรณ์ มิ่งขวัญ และอลงกลต แทนอมทองม, 2556) และ ปลา *P. marginata* (Nagpure *et al.*, 2004) ซึ่งเป็นปลาในวงศ์เดียวกัน แต่ผลแตกต่างกับปลา *B. badis* (Tripathi and Das, 1988; Sharma and Tripathi, 1994) ที่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานครั้งนี้สอดคล้องเฉพาะปลา *P. marginata*

(Nagpure *et al.*, 2004) ที่รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48 แต่วางกับปลาชนิดอื่นในวงศ์เดียวกัน โครโมโซมของปลาหมอช้างเหยียบประกอบด้วย โครโมโซมเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ เทโลเซนทริกขนาดกลาง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก ซึ่งชนิดของโครโมโซมสอดคล้องกับรายงานของ Nagpure *et al.* (2004) ที่ศึกษาใน *P. marginata* ที่รายงานว่ามีชนิดโครโมโซมเป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด

บีโครโมโซมเป็นโครโมโซมที่เกินมาจากปกติ หรือเรียกว่า Supernumerary chromosome ในวิวัฒนาการนั้นมีความเชื่อว่าน่าจะเป็นชิ้นส่วนที่มาจากคาริโอไทป์ปกติ อาจเป็นผลเนื่องมาจากชิ้นส่วนของโครโมโซมที่หลุดออกมาขณะที่มีการขาดหายไป (deletion) และ การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ไม่ใช่โครโมโซมคู่เหมือน (translocation) และเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) จึงน่าจะเป็นชิ้นส่วนของโครโมโซมเดิม จากบริเวณเซนโทเมียร์หรือเทโลเมียร์ (อมรา คัมภีรานนท์, 2546) รายงานการพบบีโครโมโซมในปลาวงศ์นี้เป็นการรายงานครั้งแรกและเป็นการรายงานการพบบีโครโมโซมครั้งแรกในปลาน้ำจืดของประเทศไทย โดยตัวอย่างที่เก็บจากแม่น้ำชีพบบีโครโมโซม 0-3 แท่ง ตัวอย่างที่เก็บจากแม่น้ำสงครามพบบีโครโมโซม 0-1 แท่ง และตัวอย่างที่เก็บจากแม่น้ำเจ้าพระยาไม่พบบีโครโมโซม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Feresti *et al.* (1989) ที่ศึกษาในปลา *Moenkhausia sanctaefilomenae* ที่เก็บตัวอย่างจากแม่น้ำ Tietê ประเทศบราซิล ที่รายงานพบบีโครโมโซม 1-8 แท่ง Ana Luiza *et al.* (2001) ที่ศึกษาในปลา *M. sanctaefilomenae* ที่เก็บตัวอย่างจากแม่น้ำ Paraná ประเทศบราซิล ที่รายงานพบบีโครโมโซม 0-2 แท่ง และ Diogo *et al.* (2012) ที่ศึกษาในปลา *M. sanctaefilomenae* ที่เก็บตัวอย่างจากแม่น้ำ Tietê ประเทศบราซิล ที่รายงานพบบีโครโมโซม 0-8 แท่ง ซึ่ง Carvolho *et al.* (2008) กล่าวว่าบีโครโมโซมที่พบในปลามีความแตกต่างผันแปรในเรื่องจำนวนพบได้ภายในตัวเดียวกัน (intra individual variation) และคนละตัวในชนิดเดียวกัน

5.4 การศึกษาโครโมโซมของปลาชีวไบโอฟอสฟอรัส

จากผลการศึกษานี้พบว่าปลาชีวไบโอฟอสฟอรัส มีจำนวนโครโมโซม $2n=50$ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาในปลาชีวสกุลปลาชีว (*Rasbora*) ยกเว้นจากรายงานการศึกษาของ Post (1965) ในปลาชีวหางกรรไกร (*R. trilineata*) และปลาชีวข้างขวานใหญ่ (*R. heteromorpha*) ที่รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ จำนวนโครโมโซมพื้นฐานของปลาชีวไบโอฟอสฟอรัสเท่ากับ 100 สอดคล้องกับปลาชีวผอม (*R. agillis*) (Donsakul *et al.*, 2009) แต่แตกต่างจากปลาชีวทองตามรายงานของ Donsakul *et al.* (2005) ที่รายงานจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 86 อีกทั้งจากการศึกษานี้พบว่าปลาชีวไบโอฟอสฟอรัสมีแคโรไทป์ประกอบด้วย $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$. เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาในปลาชีวอื่นๆ ในสกุล *Rasbora* (Donsakul *et al.*, 2005) พบว่ารูปแบบแคโรไทป์มีความแตกต่างกัน ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากปลาที่นำมาศึกษาต่างกลุ่มประชากรกันรวมถึงเทคนิคที่ใช้ในการจำแนกชนิดโครโมโซมแตกต่างกัน อย่างที่มีการศึกษาในปลาสกุลอื่น ๆ ในวงศ์ Cyprinidae เช่น การศึกษาแคโรไทป์ของปลาชีวไบโอฟอสฟอรัส (*Danio aequipinnatus*) จากแม่น้ำ Assam,

Lockchau และ Gadana ในประเทศอินเดีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ($2n=50$) แต่มีแคโรไทป์ต่างกันคือ $14m+32sm+4a$ (Khuda-Bukhsh *et al.*, 1986), $8m+42sm$, $6m+34sm+6st+4t$ (Sukham *et al.*, 2013) และ $14m+11sm+15st+10t$ (Shanthipreya *et al.*, 2015) ส่วนในประเทศไทยมีการศึกษาแคโรไทป์ในปลาชีวไบโอฟอสเฟอไรต์เช่นกัน พบว่าแคโรไทป์ประกอบด้วย $8m+28sm+10st+4t$ (Magtoon and Arai, 1994) และ $8m+42sm$ (Seetapan and Moeikum, 2004) นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของรูปแบบแคโรไทป์ แต่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันในปลาชนิดเดียวกันที่มีรายงานในประเทศไทยอีก เช่น ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*) ซึ่งมีแคโรไทป์คือ $2m+2sm+44st+2t$ (Piyapong, 1999), $2m+2sm+44st+2t$ (Donsakul and Magtoon, 2008) และ $4m+4sm+4st+38t$ (Nitikulwopawong and Khrueanet, 2014) จากการเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมที่มีการศึกษามาแล้ว ในสกุลเดียวกันพบว่าปลาบางชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน แต่มีรูปแบบโครโมโซมที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการวิวัฒนาการของปลา เช่น เกิดการต่อสลับแบบใช้เซนโทรเมียร์ร่วมกัน (Pericentric inversion) เป็นต้น ทำให้รูปแบบโครโมโซมแตกต่างกัน และเกิดจากสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย ซึ่งอาจเกิดความแปรผันของจำนวนโครโมโซมได้ (Tanomtong, 2010)

5.5 การศึกษาโครโมโซมของปลาชีวไบโอฟอสเฟอไรต์

ปลาแค้ควายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 106 แท่ง ในเพศผู้และเพศเมีย แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 6 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง พบตำแหน่งนอร์บนแขนข้างสั้นบริเวณเทโลเมียของโครโมโซมคู่ที่ 2 ซึ่งเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศ มีสูตรแคโรไทป์ ดังนี้ $2n(56) = L^m_6 + L^{sm}_6 + L^a_2 + M^{m}_{10} + M^{sm}_{10} + M^a_6 + S^{sm}_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^t_6$ ปัจจุบันมีรายงานด้านพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาแค้ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Bagarius bagarius*, *B. yarrelli* และ *B. suchus* ซึ่งเป็นปลาที่อยู่ในสกุลเดียวกัน จากการศึกษาโครโมโซมของปลาแค้ควาย (*B. yarrelli*) ในครั้งนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับรายงานการศึกษาปลาแค้ควายที่เคยมีรายงานการศึกษาในประเทศไทยโดย อัจฉริยา รังษิรุจิและคณะ (2550) เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาที่ผ่านมาและการศึกษาในครั้งนี้พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่งเท่ากัน สำหรับจำนวนโครโมโซมพื้นฐานจากผลการศึกษาในครั้งนี้เท่ากับ 106 ผลการศึกษาก่อนหน้านี้เท่ากับ 90 และชนิดของโครโมโซมจากผลการศึกษาครั้งนี้พบโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 20 แท่ง อะโครเซนทริก 16 แท่ง และเทโลเซนทริก 6 แท่ง ส่วนผลการศึกษาในครั้งนี้พบโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 18 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 18 แท่ง อะโครเซนทริก 14 แท่ง และซับเทโลเซ

นทริก 6 แห่ง ในการศึกษาครั้งนี้พบตำแหน่งนอร์หรือโครโมโซมเครื่องหมายบนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 2 บริเวณเทโลเมียร์ เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ ซึ่งจากรายงานโครโมโซมของปลาสกุล *Bagarius* ที่ผ่านมายังไม่เคยมีการรายงานตำแหน่งนอร์หรือโครโมโซมเครื่องหมายมาก่อน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นรายงานการศึกษาครั้งแรกที่พบตำแหน่งนอร์บนโครโมโซม

จากการเปรียบเทียบกับจำนวนโครโมโซมที่มีการศึกษามาแล้วในสกุลเดียวกันและเป็นตัวอย่างสัตว์ทดลองที่ถูกเก็บมาจากประเทศเดียวกันพบว่าปลาในวงศ์ปลาแค้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ จำนวนโครโมโซมพื้นฐานและชนิดโครโมโซมไม่เท่ากัน เนื่องมาจากชนิดของโครโมโซมที่ต่างกันจึงทำให้จำนวนแขนของโครโมโซมมีจำนวนแตกต่างกัน โดยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก และอะโครเซนทริกมีจำนวนแขนของโครโมโซมเท่ากับ 2 แขน ส่วนโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกมีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 1 แขน จึงทำให้ผลการศึกษาโครโมโซมปลาแค้ควายและปลาแค้ชนิดอื่นๆ ที่ผ่านมามีจำนวนแขนของโครโมโซมไม่เท่ากัน ถึงแม้ว่าจะเป็นปลาชนิดเดียวกันก็ตามและอาจเกิดจากกลุ่มประชากรของสัตว์ตัวอย่างถูกเก็บมาจากต่างสถานที่จึงทำให้โครโมโซมมีการแปรผันได้

ผลงานวิจัยในครั้งนี้ได้ถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้สู่ นักศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ รวมทั้งประชาชนในพื้นที่ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และผู้ที่สนใจให้ตระหนักถึงความสำคัญของปลาอันเป็นทรัพยากรที่สำคัญและมีอยู่ในท้องถิ่นของตนเอง

เอกสารอ้างอิง

- กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. มาตรฐานการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเพื่อการส่งออก. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:
<http://www.fisheries.go.th/newsupdate/standard.doc> (1 ตุลาคม 2556).
- ชวลิต วิทยานนท์. 2544. ปลาน้ำจืดไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชันส์, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์. 2546. ปลาน้ำจืดไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชันส์, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์. 2547. คู่มือปลาน้ำจืด. สำนักพิมพ์สารคดีในนามบริษัทวิริยะธุรกิจ จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์. 2548. ปลาน้ำจืดไทย. พิมพ์ครั้งที่ 5. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชันส์, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์ จรัสธาดา กรรณสูตร และ จารุจินต์ นกิตะภัก. 2540. ความหลากหลายชนิดของปลาน้ำจืดในประเทศไทย. บริษัทอินทริเกรตเต็ด โปรโมชัน เทคโนโลยี จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2546. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากตุ่น และ อัจฉริยา รั้งศิริจิ . 2549. การศึกษาการไหลไปป์ของปลาหางม่วง หางเหลือง ไส้ตัน และแก้มข้างสาละวินที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. หน้า 469-476. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.
- ธวัช ดอนสกุล อัจฉริยา รั้งศิริจิ และ วิเชียร มากตุ่น. 2550. การไหลไปป์ของปลาจาด จาด ปากเปลี่ยนและสร้อยน้ำเงินที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. หน้า 740-748. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.
- ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากตุ่น และ อัจฉริยา รั้งศิริจิ. 2555. การไหลไปป์ของปลาฝักพว้า มอน กาแดง แม่น้ำมูล น้ำหมึก และแดปแก้วที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50. หน้า 439-446. สาขาสัตว สัตวแพทยศาสตร์ และสาขาประมง, กรุงเทพฯ.
- วีรยุทธ์ เลหาะจินดา และ วุฒิ ทักษิณธรรม. 2549. หลักอนุกรมวิธานสัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วีรยุทธ์ เลหาะจินดา. 2552. วิทยาสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. 2553. การศึกษาโครโมโซมของปลาทราย ปลาตองลาย และปลาสร้อย ที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28

- 29- 31 มกราคม. หน้า 459-466. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตว์ สัตวแพทย์ และประมง, กรุงเทพฯ.
- วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. 2536. การศึกษาโครโมโซมของปลากาแดง ปลาทรงเครื่อง และปลา ยี่สกเทศ. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 3-6 กุมภาพันธ์. หน้า 543-551. สาขาสัตว์ ประมง สัตวแพทยศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2550. ธุรกิจค้าปลาสวยงาม: ตลาดในประเทศเติบโตดี...ส่งออกยังแข่งขันรุนแรง. วารสารมองเศรษฐกิจ ฉบับที่ 1928, (16 มกราคม). [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.kasikornresearch.com/TH/Pages/SearchforResearch.aspx> (8 ตุลาคม 2562)
- สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ. 2543. ศักยภาพการผลิตปลาสวยงามของ ประเทศไทย. กรมประมง.
- สถาบันพัฒนาปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ. 2540. การทำธุรกิจปลาสวยงาม. กรมประมง, กรุงเทพมหานคร.
- สมโภชน์ อัคระทวีวัฒน์. 2544. ประวัติความเป็นมาปลาหมอสีและอนุกรมวิธาน คู่มือปลาหมอสี: 9-54. กรมประมง, กรุงเทพมหานคร.
- สมโภชน์ อัคระทวีวัฒน์. 2547. สารานุกรมปลาน้ำจืดไทย เล่ม ๒. องค์การค้าของคุรุสภา.
- สมพร ประเสริฐสงสกุล. 2547. พันธุศาสตร์โมเลกุล. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อัญฉริยา รังษิรุจิ วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. 2550. คาร์ิโอไทป์ของปลาแค้ว แคควาย แค้ง และ แคตติหินสามแถบที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. หน้า 732-739. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.
- อุวะ อิโรชิ, ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. 2532. คาร์ิโอไทป์ของปลากระแหและปลากาของไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์. หน้า 429-433. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตว์ สัตวแพทย์ และประมง, กรุงเทพฯ.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- Andreata, A.A., Almeida-Toledo, L.F., Oliveira, C. and Toledo Filho, S.A. 1993. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). II. ZZ/ZW sexchromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in *Microlepidogaster leucofrenatus*. Cytogenetics and Cell Genetics 63: 215-220.

- Arai, R. 1982. A chromosome study on two cyprinid fishes *Acrossocheilus labiatus* and *Pseudorasbora pumila pumila* with note on Eurasian cyprinid and their karyotypes. Bulletin of the National Science Museum Series A 8(3): 131-182.
- Barat, A. and Khuda-Bukhsh, A.R. 1986. Karyomorphometrical studies in two species of fishes, *Lepidocephalichthys guntea* (fam.: Cobitidae) and *Mystus corsula* (fam.: Bagridae). Perspect. Cytogenetics and Cell Genetics 5: 115-118.
- Buth, D.G., Dowling, T.E. and Gold, J.R. 1991. Molecular and cytological investigation. In : Winfield, J. J. & Nelson, J. S. (eds.): Cyprinid fishes systematics, biology and exploitation. Chapman & Hall, London. Fisheries Series 3: 81-126.
- Cytogenetic Laboratory of Wuhan University. 1981. A preliminary report of fish chromosomes of 7 families and 23 species. Wuhan University Journal of Natural Sciences 3: 14. [In Chinese].
- Chanda, T. 1998. *Aspidoparia morar*, *Chagunius chagunio*, *Crossocheilus latius latius*, *Mystus bleekeri*, *Mystus menoda menoda*, *Ailia coila*, *Clupisoma garua*, *Pseudeutropius atherinoides*, *Glyptothorax trilineatus*, *Laguvia rebeiroi*, *Nangra punctata*, *Johnius dussumieri*, *Colisa sota*. In: Ponniah, A.G. and John, G. eds. Fish chromosome atlas. National Bureau of Fish Genetic Resources Lucknow. India: pp. 22-23, 48-49, 58-59, 158-159, 164-165, 190-191, 192-193, 196-197, 208-213, 244-245, 286-287.
- Chen, T.R. and Ebeling, A. W. 1968. Karyological evidence of female heterogamety in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. Copeia 1: 70-75.
- Choudhury, R.C., Prasad, R. and Das, C.C. 1993. Chromosomes of four Indian marine catfishes (Bagridae, Ariidae: Siluriformes) with a heteromorphic pair in male *Mystus gulio*. Caryologia 46: 233-243.
- Das, J.K. and Khuda-Bukhsh, A.R. 2007. GC-rich heterochromatin in silver stained nucleolar organizer regions (NORs) fluoresces with chromomycin A3 (CMA3) staining in three species of teleostean fishes (Pisces). India. Journal of Experimental Biology 45: 413-418.
- Das, R.K. and Kar, R.N. 1977. Somatic chromosome analysis of a siluroid fish, *Rita chrysea* Day. Caryologia 30: 247-253.
- Fujioka, Y. 1973. A comparative study of the chromosomes in Japanese freshwater fishes. I. A study of the somatic chromosome of common catfish *Parasilurus asotus*

- (Linne) and fork-tailed bullhead *Pelteobagrus nudiceps* (Sauvage). Bulletin of the Faculty of Education, Yamaguchi University 23: 191-195. [In Japanese with English summary]
- Fujiwara, A., Nishida-Umehara, C., Sakamoto, T., Okamoto, N., Nakayama, I. and Abe, S. 2001. Improved fish lymphocyte culture for chromosome preparation. Genetica 111: 78-89.
- Gold, J.R., Amemiya, C.T. and Ellison, J.R. 1986. Chromosomal heterochromatin differentiation in North American cyprinid fishes. Cytologia 51: 557-566.
- Gary, H.T. and E.D. Jane. 1990. Chromosome preparation and analysis: p. 171-190. In: Schreck, C.B. and P.B. Moyle. Methods for fish biology. American Fisheries Society. Bethesda. Maryland. USA.
- Gui, J.F., Li, Y.C., Li, K. and Zhou, T. 1986. Studies on the karyotypes of Chinese cyprinid fishes. (VIII) Karyotypic analyses of fifteen species of Barbinae with a consideration for their phyletic evolution. Transactions of the Chinese Ichthyological Society 5: 119-127. [In Chinese with English abstract]
- Hong, Y.H. and Zhou, T. 1984. Karyotypes of nine species of Chinese catfishes (Bagridae). Zoological Research 5(3) :21-28. [In Chinese with English abstract]
- 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.
- Kim, D.S., Park, E.H. and Kim, J.S. 1982. Karyotypes of nine species of the Korean catfishes (Teleostomi: Siluriformes). Korean Journal of Genetics 4: 57-68.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Rahman, A., Chanda, T., Nayak, K. and Khuda-Bukhsh, A. 1995. Diploid numbers and chromosome formulae of some 29 species of Indian teleosts (Pisces). Chromosome Information Service 58: 38-39.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Das, J.K. 2007. Cytogenetic analyses in eight species of teleostean fishes (Pisces): karyotypes, multiple Ag-NORs, sex chromosomes. Research & Review Bio-Sciences (India) 1: 47-52.
- Khuda-Bukhsh, A.R. 1975. Somatic chromosomes of an exotic fish *Puntius japonicus*. Journal of the Cytologic and Genetics (India) Congress Supply: 118-120.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Chanda, T. and Barat, A. 1986. Karyomorphology and evolution in some Indian hillstream fishes with particular reference to polyploidy in some

- species. In: Uyeno, T., Arai, R., Taniuchi, T. and Matsuura, K. eds. Indo-Pacific fish biology. Ichthyological Society of Japan Tokyo pp. 886-898.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Barat, A. 1987. Chromosomes in fifteen species of Indian teleosts (Pisces). *Caryologia* 40: 131-144.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Gupta, S.K. and Goswami, S. 1980. Karyotypic studies in *Garra lamta* and *Mystus cavassius* (Pisces). *Proceeding of the Indian Academy of Science Section Science B* 89: 557-562.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Nayak, K. 1990. Karyotypic studies in six species of brackish water fishes from India. *La Kromosomo* 11 58: 1955-1960.
- Krishnaja, A.P. and Rege, M.S. 1980. Some observations on the chromosomes of certain teleosts using a simple method. *Indian Journal of Experimental Biology* 18: 268-270.
- Lakra, W.S. and Rishi, K.K. 1991. Chromosomes of Indian fishes: an annotated list. *India Journal Animal Science* 61: 342-349.
- Lee, H.Y., Yu, C.H., Jeon, S.K. and Lee, H.S. 1983. The karyotype analysis on 29 species of fresh water fish in Korea. *Bulletin of the Institute of Basic Sciences, Inha University* 4: 79-86. [In Korean with English abstract]
- Li, S.S., Wang, R.F., Liu, G.Z., Wang, Y.X. and Li, C.Y. 1981. A karyotype study of *Coreglanis kishinouyei* and *Euchiloglanis davidi*. *Transactions of the Chinese Ichthyological Society* 2: 153-156. [In Chinese with English abstract]
- Ling, J.X. 1982. Studies on the karyotypes of eight species of fish. *wuhan university journal of natural sciences* 2: 109-112, 121-122. [In Chinese with English abstract]
- Manna, G.K. and Prasad, R. 1971. A new perspective in the mechanism on evolution of chromosome in fishes. *Proceedings of the First All India Congress of Cytology and Genetics* 237-240.
- Manna, G.K. and Prasad, R. 1974 Cytological evidence for two forms of *Mystus vittatus* (Bloch) as two species. *Nucleus* 17: 4-8.
- Manna, G.K. and Khuda-Bukhsh, A.R. 1978. Karyomorphological studies in three species of teleostean fishes. *Cytologia* 43: 69-73.
- Magtoon, W. and Arai, R. 1988. Karyotypes of bagrid catfishes, *Mystus wyckii* and *Bagroides macracanthus*, from Thailand. *Bulletin of the National Science Museum Tokyo (A)* 14: 113-117.

- Magtoon, W. and Arai, R. 1989. Karyotypes of five *Puntius* species and one *Cyclocheilichthys* species (Pisces, Cyprinidae) from Thailand. Bulletin of the National Science Museum Tokyo (A) 15: 167-175.
- Mishra, A. 1998. *Gadusia variegata*, *Gonialosa manmina*, *Gagata cenia*. In: Ponniah, A.G. and John, G. eds. Fish chromosome atlas. National Bureau of Fish Genetic Resources. Lucknow. India: 202-203.
- Nagpure, N.S., Kumar, R., Srivastava, S.K., Gopalakrishnan, A., Verma, M.S. and Baseer, V.S. 2004. Cytogenetic studies of fish species *Horabagrus nigricollaris*, *Puntius denisonii* and *Puntius sarana subnasutus* endemic to the Western Ghats. Nucleus 47:143-148.
- Nagpure, N.S., Kushwaha, B., Srivastava, S.K., Kumar, R., Gopalakrishnan, A., Baseer, V.S. and Verma, M.S. 2003. Characterization of three endemic fish species from Western Ghats using cytogenetic markers. Nucleus 46: 110-114.
- Nanda, I., Scharlt, M., Feichtinger, W., Schlupp, I., Parzefall, J. and Schmid, M. 1995. Chromosomal evidence for laboratory synthesis of triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia Formosa* and its host species. Journal of Fish Biology 47: 619-623.
- Nelson, J.S. 1994. Fishes of the world. 3rd edition. John Wiley and Sons incorporated, New York.
- Nelson, J.S. 2006. Fishes of the World. 4th edition. John Wiley & Sons incorporated, New York.
- Ojima, Y. and Yamamoto, K. 1990. Cellular DNA contents of fishes determined by flow cytometry. La Kromosomo II 57: 1871-1888.
- Ohno, S., Muramoto, J., Christian, L. and Atkin, N.B. 1967. Diploid-tetraploid relationship among Old-World members of the fish family Cyprinidae. Chromosoma 23: 1-9.
- Park, I.S. and Lee, C.L. 1996. Cytogenetic analysis of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Teleostomi: Siluriformes). Korean Journal of Ichthyology 8(2): 10-15.
- Rainboth, W.J. 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
- Rishi, K.K. and Singh, J. 1983. Chromosomes of *Notopterus notopterus* (Pallas) (Notopteridae: Clupeiformes). Chromosome Information Service 34: 9-10.
- Rishi, K.K. 1973. Somatic karyotypes of three teleosts. Genen Phaenen 16(3): 101-107.

- Rishi, K.K. 1981. Chromosomal studies on four cyprinid fishes. *International Journal of Academy of Ichthyology* 2: 1-4.
- Rishi, K.K., Sharma, M.P. and Mankotia, R. 1977. Somatic chromosomes of three Indian teleosts. *Matsya* 3: 6-9.
- Rishi, K.K. and Rishi, S. 1981. Giemsa banding in fish chromosomes. *Perspectives in Cytology and Genetics* 3: 103-106.
- Rishi, K.K., Shashikala and Rishi, S. 1998. Karyotype study on six Indian hill-stream fishes. *Chromosome Science* 2: 9-13.
- Sharma, O.P. and Tripathi, N.K. .1986. Karyotypic diversity in genus *Mystus* (Bagridae:Pisces). *Cytologia* 51: 1-9.
- Sahoo, P.K., Nanda, P. and Barat, A. 2007. Karyotypic analysis of *Neolissocheilus hexagonolepis* (McClelland), *Puntius ticto* (Ham.) and *P. chola* (Ham.) (family: Cyprinidae, Pisces). *Cytologia* 72: 409-413.
- Sharma, O.P. and Tripathi, N.K. 1981. Chromosome number and karyotype of the catfish *Gagata viridescens* (Siluridae) from Jammu (J & K) India. *Chromosome Information Service* 30: 13-15.
- Shen, J.B., Fan, Z.T. and Wang, G.R. 1983. Karyotype of *Pseudobagrus fulvidraco*. *Hereditas* (Beijing) 5(2): 23-24. [In Chinese]
- Sobita, N., Bhagirath, T.H. and Dhananjay, C.H. 2004. Chromosome complements of a cyprinid fish *Puntius manipurensis*. *Nucleus* 47: 59-63.
- Suzuki, A. and Taki, Y. 1988. Karyotype and DNA content in the cyprinid *Catlocarpio siamensis*. *Japan Journal Ichthyology* 35: 389-391.
- Suzuki, A. 1991. Chromosomes of a Chinese cyprinid fish, *Puntius semifasciolatus*. *Chromosome Information Service* 51: 8-10.
- Takai, A. and Ojima, Y. 1998. C-banded karyotype and nucleolus organizer regions of a notopterid fish, *Notopterus chitala* (Notopteridae, Osteoglossiformes). *Chromosome Science* 2: 35-38.
- Taki, Y. and Suzuki, A. 1977. A comparative chromosome study of *Puntius* (Cyprinidae: Pisces). II. Indian and Ceylonese species. *Proceeding of the Japan Academy Series B* 53: 282-286.

- Taki, Y., Urushido, T., Suzuki, A. and Serizawa, C. 1977. A comparative chromosome study of *Puntius* (Cyprinidae: Pisces). I. Southeast Asian species. Proceeding of the Japan Academy Series B 53: 231-235.
- Takai, A. and Ojima, Y. 1988. Chromosomal distribution of C-banded heterochromatin in cyprinid fishes. Proceeding of the Japan Academy Series B 64: 49-52.
- Tripathi, N.K. and Sharma, O.P. 1987. Cytological studies on six cyprinid fishes. Genetica 73: 243-246.
- Tripathi, N.K. and Das, C.C. 1980. Chromosomes in three species of Asian catfish. Copeia 916-918.
- Uyeno, T. 1973. A comparative study of chromosomes in the teleostean fish order Osteoglossiformes. Japan Journal Ichthyology 20: 211-217.
- Ueno, K. 1974. Chromosomal polymorphism and variant of isozymes in geographical populations of *Pseudobagrus aurantiacus*, Bagridae. Japan Journal Ichthyology 21: 158-164.
- Ueno, K. 1985. Karyotypes of bagrid catfishes in Japan and Korea. Journal of Marine Science Monthly 17(2): 102-108. [In Japanese]
- Vasiliev, V.P. 1985. Evolutionary karyology of fishes. Publishing House Nauka, Moscow. (In Russian)
- Wu, G.M., Zhu, X.P., Hu, G. and Luo, J.R. 1991. The karyotype of *Puntius gonionotus* (Cyprinidae). Chinese Journal of Zoology 26(1): 20-21. [In Chinese]
- Yu, X.J., Zhou, T, Li, Y.C., Li, K. and Zhou, M. 1989. Chromosomes of Chinese freshwaterfishes. Science Press Beijing. [In Chinese]
- Zhang, S.M., Zheng, Y., Yao, H. and Zhang, X.Z. 1992. Nucleolar organizer regions in four species of fishes. Chromosome Information Service 53: 6-8.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ

รายการวัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และการเตรียมสารต่าง ๆ

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- ปีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ
- ขวดรูปชมพู่ขนาดต่าง ๆ
- กระตักน้ำแข็ง
- กระบอกตวง
- กรวยกรอง
- โถสำหรับย้อมสี (staining jar)
- กระบอกฉีดยา (syring) และเข็มฉีดยาขนาดต่าง ๆ
- Automatic pipette, micropipette และ pipette ขนาดต่าง ๆ
- หลอดเลี้ยงเซลล์ขนาด 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 เก็บใส่

ขวด 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 โดยตูดสีจิมซ่าจาก 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 องศาเซลเซียส

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 โดยค่อย ๆ ริน HCl ลงในน้ำกลั่น (ข้อควรระวังห้ามเท HCl ลงในน้ำกลั่น เป็นอันตราย แต่ให้เทกรด HCl ลงในน้ำกลั่น)

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 เก็บใส่ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

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 ซองใน Erlenmeyer flask ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 มิลลิลิตร ล้างผง HBSS ที่ติดอยู่ในซองออกให้หมดเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 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 ไมครอนเมตร

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

Classical Cytogenetics of Pearl Danio, *Danio albolineatus* (Cyprinidae, Cypriniformes) : First Karyomorphological Report

Sumalee Phimphan^{1*} · S. Aiumsumang¹ · A. Tanomtong²

✉ Sumalee Phimphan
joodoof@gmail.com

S. Aiumsumang
topthesun1978@gmail.com

A. Tanomtong
tanomtong@hotmail.com

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

² Toxic Substances in Livestock and Aquatic Animals Research Group, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand

Classical Cytogenetics of Pearl Danio, *Danio albolineatus* (Cyprinidae, Cypriniformes) : First Karyomorphological Report

Abstract. A cytogenetic analysis was carried out on specimens of Pearl Danio (*Danio albolineatus*) by classical technique. Mitotic chromosome preparation was prepared directly from kidney cells follow by standard protocol and stained by conventional staining and Ag-NOR banding techniques. The diploid chromosome number (2n) of this species is 50 and the fundamental number (NF) is 100 in both male and female. The karyotype consisted of 8 metacentric, 14 submetacentric and 28 acrocentric chromosomes classifying as 18 large and 32 medium. No heteromorphic sex chromosome was observed in this species. Nucleolar organizer regions (NORs) appeared in the terminal position of the long arms chromosome pair 5. The Karyotype formula of *D. albolineatus* is $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$.

Keywords: Karyotype, Chromosome, Fish chromosome, *D. albolineatus*

Introduction

The pearl danio (*D. albolineatus*) belongs to the family Cyprinidae (Cypriniformes) which, with about 2,010 species, grouped in 210 genera, is the most speciose family among the freshwater fishes [11]. It is located within the *D. rerio* species group, but it can be considered as a separate species subgroup – the *D. albolineatus* species subgroup [10]. Within the *D. rerio* species group, the *D. albolineatus* species subgroup was found to be most distantly related to *D. rerio* [21]. The zebrafish (*D. rerio*) is a cyprinid species adopted in research as a model system for the analysis of vertebrate development [16]. *D. albolineatus* has seven dorsal soft rays (total) and 12-13 anal soft rays. Incomplete lateral line, without infraorbital process; with 6-7 branched dorsal fin rays and 13-14 branched anal fin rays. Two pairs of long barbels. Rostral barbels reaching to or slightly anterior to vertical through the middle of the orbit. Maxillary barbels exceed the origin of pectoral fin [5]. This species has body pink with two light yellow-white (iridescent in life) stripes from below dorsal origin to caudal base [9] (Fig. 1).

Studies of cytogenetics are important in an aquaculture context in the use of chromosome manipulation techniques, including induction of polyploidy, gynogenesis, androgenesis, and inter- or intra-species hybridization. For the family Cyprinidae, there were some cytogenetical studies reported about *Danio*. The first report on the chromosomes of *Danio* species dates back to the sixties, when [15] proposed a diploid number (2n) of 48, based on the observation of meiotic cells. A few years later the chromosome were reported of *D. rerio* has 2n=50, karyotype several independent papers such as 50 bi-arm chromosomes [4], 10m (metacentric) + 40sm (submetacentric) [6], 10m + 12sm + 28a (acrocentric) [17], 16m + 32sm + 2a [18], 12m + 26sm + 12a [14], 4m + 16sm + 30a [3,7], female: 7m + 7sm + 36a, male: 6m + 8sm + 36a [19], 12m + 26sm + 12a [24], 4m + 30sm + 16a [1] and 4m + 16sm + 30a [12, 21].

This cytogenetic study, provide the very first report on chromosome standardization, including chromosome measurements of shape and size, karyotype formulation, idiogramming and chromosomal characteristics of the nucleolar organizer regions (NORs) of *D. albolineatus*. Among the species of Cyprinidae, *D. albolineatus* is probably the one species that has been the examined from a cytogenetic point of view. This is why it might encourage future cytotaxonomic and cytogenetic studies on representatives of this family, as well as in teleosts, in general and could be applied to several studies, especially for their extinction protection.

Materials and methods

Biological Materials and Chromosome preparation

Individuals from both sexes of *D. albolineatus* analyzed were collected from various river basins in Thailand (Table 1). The fish were transferred to laboratory aquaria and were kept under standard condition to the experiments. All the experiments followed ethical protocols and anesthesia with clove oil was used prior to sacrificing the animals to minimize suffering. Mitotic chromosomes were obtained from cell suspensions of the anterior kidney, using the conventional air-drying method as follows [23]. The colchicine was injected into the fish's intramuscular and/or its abdominal cavity at a dose of 0.05mL/100 g of body weight and then left for one hour. Kidney were cut into small pieces then squash mixed with 0.075 M KCl. After discarding all large piece tissues, 8 ml of cell sediments were transferred to a centrifuge tube and incubated for 30 minutes. The KCl was discarded from the supernatant after centrifugation at 1,500 rpm for 8 minutes. Cells were fixed in fresh cool fixative (3 methanol: 1 glacial acetic acid) to which up to 7 mL were gradually added before being centrifuged again at 1,500 rpm for 10 minutes, at which time 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-drying technique.

Giemsa's staining, Ag-NORs banding technique and karyotype

The chromosomes were conventionally stained with 20 % Giemsa's solution for 30 minutes [13]. Ag-NOR banding technique was performed according to [8] by applying four drops of 50% silver nitrate and 2% gelatin on slides. The slides were then sealed with cover glasses and incubated at 60°C for 5 minutes. Next, the slides were soaked in distilled water until the cover glasses were separated and allow slide to air dry at room temperature. Approximately 30 metaphase spreads per specimen were analyzed to confirm the diploid chromosome number and karyotype structure. Metaphases were observed under the Nikon ECLIPSE microscope and photographed with digital CCD camera (Cannon EOS 500D). The chromosomes were measured and the centromeric index (CI) and relative length (RL) were estimated. The metaphase figures were analyzed according to the chromosome classification of [2]. The centromeric index (CI) between 0.500-0.599, 0.600-0.699, 0.700-0.899, and 0.900-1.000 were described as metacentric (m), submetacentric (sm), acrocentric (a), and telocentric (t) chromosomes, respectively. The fundamental number (NF, number of chromosome arms) were obtained by assigning a value of two to metacentric, submetacentric and acrocentric chromosomes and one to telocentric chromosome. All parameters were used in karyotyping and idiograming.

Results and Discussion

The present investigation revealed that the somatic chromosome number of *D. albolineatus* is $2n=50$. The respective fundamental number (NF) was 100 in both males and females. No cytologically distinguishable sex chromosomes were observed in this species analyzed. The chromosome types comprise two large metacentric, three large submetacentric, four large acrocentric, two medium metacentric, four medium submetacentric and ten medium acrocentric chromosomes (Fig. 2A). The average lengths of each chromosome including short and long arm length, total length, relative length, and centromeric index were calculated and are presented in Table 2. The mean values calculated from twenty mitotic metaphases showed the relative length of chromosomes complement ranging from 0.043 ± 0.01 to 0.029 ± 0.001 . Ag-NOR banding result showed clearly observable nucleolar organizer regions (NORs) were found appeared in the terminal position of the long arms chromosome pair 5 (Fig. 2B). The standard idiogram of *D. albolineatus* showed the gradually decreasing length and size of the chromosomes from conventional staining and Ag-NOR banding techniques are shown in Fig. 3.

The karyotype and other chromosomal markers as revealed by Giemsa staining and Ag-NOR banding techniques were studied in *D. albolineatus*. This information is the first report for the following members of this species. Other species previously studied have a common karyotype consisting of $2n=48-50$ and $NF=100$ (all bi-arm chromosomes). The cytogenetic features reported here for the examined specimens of *D. albolineatus* revealed that the species has $2n=50$ (all bi-arm chromosomes), which is shared by most of *Danio* species previously analyzed, such as chromosomes [3, 4, 6, 7, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 21, 24]. The karyotype in Fig. 2 has been ordered numbering chromosomes according to their type and length, indicating the morphological classification based on the centromere position under the single chromosome pair, as done by [2]. The karyotype complements of *D. albolineatu* composed of $8m + 14sm + 28a$ chromosomes, there are a few differences in chromosome type for previous report (*D. rerio*) shown on Table 3.

The analysis of the NORs with the Ag-NOR banding technique detected a maximum of two Ag-positive signals in this species. In *D. albolineatus*, the Ag-positive signals are located along the long arm chromosome pair 5. The objective of the Ag-NOR band technique is to determine the nucleolar organizer region (NOR), which represents the location of genes (loci) that function in ribosome synthesis [20]. Normally, most fishes have only one pair of small NORs on chromosomes. Only some fishes have more than two NORs, which may be caused by the translocation between some parts of the chromosomes that have NOR and another chromosome [20]. Our present study showed that the species we analyzed had a NOR site on a single chromosome pair in a subtelomeric position. This chromosome study has no heteromorphic pairs of chromosomes were observed in both sexes. It may be possible that the fish sex chromosomes are at the initiation of differentiation, and hence these chromosomes which contain the sex determination genes cannot be detected by cytogenetic analyses [22]. Our results providing a rich source of information for comparative karyological analyses in *Danio* species and in related fish species.

Acknowledgments

This research was supported by research and development institute Phetchabun Rajabhat University year 2020 (No. PCRU-2020-RK005). We would like to thank the laboratory of animal cytogenetic group in the Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University.

References

- Amores A, Postlethwait JH. Banded chromosomes and the zebrafish karyotype. *Methods in Cell Biol.* 1999;60:323–338.
- Chaiyasut K. Cytogenetics and Cytotaxonomy of the Family *Zephyranthes*. Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok;1989 (in Thai).
- Daga RR, Thode G, Amores A. Chromosome complement, C banding, Ag-NOR and replication banding in the zebrafish *Danio rerio*. *Chromosome Res.* 1996;4:29–32.
- Endo A, Ingalls TH. Chromosomes of the Zebra Fish: a model for cytogenetic, embryologic, and ecologic study. *J. Hered.* 1968;59:382–384.
- Fang F. A review of Chinese *Danio* species (Teleostei: Cyprinidae). *Acta Zootaxonomica Sinica.* 2000;25:214–227.
- Fontana F, Chiarelli B, Rossi AC. Il cariotipo di alcune specie di Cyprynidae, Centrarchidae, Characidae studiate mediante colture ‘*in vitro*’. *Caryologia.* 1970;23:549–564.
- Gornung E, Gabrielli I, Cataudella S, Sola L. CMA3- banding pattern and fluorescence *in situ* hybridization with 18S rRNA genes in zebrafish chromosomes. *Chromosome Res.* 1997;5:40–46.
- Howell WM, Black DA. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia.* 1980;36:1014–1015.
- Kottelat M. Fishes of Laos. WHT Publications, Colombo 5, Sri Lanka;2001.
- McCluskey BM, Postlethwait JH. Phylogeny of zebrafish, a “model species,” within *Danio*, a “model genus”. *Mol. Biol. Evol.* 2015;32:635–52.
- Nelson JS. Fishes of the World, 4th Edition. John Wiley & Sons, New Jersey;2006.
- Phillips RB, Reed KM. Localization of repetitive DNAs to zebrafish (*Danio rerio*) chromosomes by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Chromosome Res.* 2000;8:27–35.
- Phimphan S, Tanomtong A, Saengphan N, Sangpakdee W. The First Karyological Study in Freshwater Prawn, *Macrobrachium lanchesteri* (Decapoda, Palaemonidae) from Thailand. *Nucleus.* 2019;62:77–82.
- Pijnacker LP, Ferwerda MA. Zebrafish chromosome banding. *Genome.* 1995;38:1052–1055.
- Post A. Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Susswasserteleosteen. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 1964;3:47–93.
- Quigley KI, Manuel LJ, Roberts AR, Nuckels JR, Emily R, MacDonald LE, Parichy MD. Evolutionary diversification of pigment pattern in *Danio* fishes: differential *fms* dependence and stripe loss in *D. albolineatus*. *Development.* 2005;132:89–104.
- Rishi KK. Karyotypic studies on four species of fishes. *Nucleus.* 1976;19:95–98.
- Schreeb KH, Groth G, Sachsse W, Freundt KJ. The karyotype of the zebrafish. *J. Exp. Anim. Sci.* 1993;36:27–31.
- Sharma KK, Sharma OP, Tripathi NK. Female heterogamety in *Danio rerio* (Cypriniformes: Cyprinidae). *Proc. Natl. Acad. Sci., India.* 1998;68:123–126.
- Sharma OP, Tripathi NK, Sharma KK. A review of chromosome banding in fishes. In: Sobti RC, Obe G (eds.). *Some Aspects of Chromosome Structure and Functions*. Narosa Publishing House, New Delhi; 2002.
- Sola L, Gornung E. Classical and molecular cytogenetics of the zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae, Cypriniformes): an overview. *Genetica.* 2001;111:397–412.
- Supiwong W, Tanomtong A, Jumrusthanasan S, Khakhong S, Neeratanaphan L, Sanoamuang L. Standardized karyotype and idiogram of titan triggerfish, *Balistoides viridescens* (Tetraodontiformes, Balistidae) in Thailand. *Cytologia.* 2013;78:345–351.
- Supiwong W, Liehr T, Cioffi BM, Chaveerach A, Kosyakova N, Pinthong K, Tanee T, Tanomtong T. Chromosomal evolution in naked catfishes (Bagridae, Siluriformes): A comparative chromosome mapping study. *Zoologischer Anzeiger.* 2014;253:316–320.
- Ueda T, Naoi H. BrdU-4Na-EDTA-Giemsa band karyotypes of three small freshwater fish, *Danio rerio*, *Oryzias latipes* and *Rhodeus ocellatus*. *Genome.* 1999;42:531–535.

Tables

Table 1 Collection sites of the analyzed *Danio albolineatus* with the sample size.

Collection sites	<i>N</i>
– Nan Basin	(05 ♀; 05 ♂)
– Ping Basin	(07 ♀; 08 ♂)
– Pa Sak Basin	(10 ♀; 10 ♂)
– <i>Chao Phraya Basin</i>	(08 ♀; 05 ♂)

Table 2 Karyomorphological details of *D. albolineatus* from 20 metaphases chromosome, 2n (diploid)=50.

Chromosome pairs	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	CI±SD (mean±SD)	RL±SD (mean±SD)	Chromosome size	Chromosome type
1	1.628	1.851	3.479	0.532±0.037	0.043±0.001	Large	metacentric
2	1.576	1.879	3.455	0.544±0.030	0.043±0.000	Large	metacentric
3	1.414	1.774	3.188	0.556±0.007	0.040±0.000	Medium	metacentric
4	1.302	1.694	2.996	0.565±0.022	0.037±0.001	Medium	metacentric
5	1.295	2.955	4.250	0.695±0.003	0.053±0.002	Large	submetacentric
6	1.196	2.496	3.692	0.676±0.025	0.046±0.000	Large	submetacentric
7	1.222	2.311	3.533	0.654±0.002	0.044±0.000	Large	submetacentric
8	1.150	2.089	3.239	0.645±0.006	0.040±0.001	Medium	submetacentric
9	1.049	1.940	2.990	0.649±0.013	0.037±0.000	Medium	submetacentric
10	0.988	1.645	2.634	0.625±0.012	0.033±0.001	Medium	submetacentric
11	0.963	1.603	2.566	0.625±0.044	0.032±0.001	Medium	submetacentric
12	1.035	3.356	4.391	0.764±0.009	0.055±0.003	Large	acrocentric
13	0.871	2.907	3.779	0.769±0.030	0.047±0.001	Large	acrocentric
14	0.887	2.746	3.632	0.756±0.010	0.045±0.001	Large	acrocentric
15	0.818	2.481	3.299	0.752±0.013	0.041±0.002	Large	acrocentric
16	0.845	2.367	3.212	0.737±0.014	0.040±0.002	Medium	acrocentric
17	0.852	2.433	3.284	0.741±0.006	0.041±0.000	Medium	acrocentric
18	0.784	2.227	3.010	0.740±0.004	0.037±0.001	Medium	acrocentric
19	0.775	2.286	3.061	0.747±0.016	0.038±0.001	Medium	acrocentric
20	0.788	2.002	2.789	0.718±0.010	0.035±0.001	Medium	acrocentric
21	0.708	2.202	2.910	0.757±0.007	0.036±0.000	Medium	acrocentric
22	0.685	2.143	2.828	0.758±0.013	0.035±0.001	Medium	acrocentric
23	0.684	1.924	2.608	0.738±0.004	0.032±0.000	Medium	acrocentric
24	0.709	1.756	2.465	0.712±0.004	0.031±0.000	Medium	acrocentric
25	0.655	1.706	2.361	0.723±0.017	0.029±0.001	Medium	acrocentric

Ls, short arm chromosome; Ll, length of long arm chromosome; LT, length of total chromosomes; RL, relative length; CI, centromeric index; *NORs bearing chromosomes (satellite chromosome).

Table 3 Review of the karyotypic data of other species the genus *Danio*.

Species	2n	NF	Karyotype formula	References
<i>Danio rerio</i>	48	-	-	Post [15]
	50	100	50m, sm, a	Endo and Ingalls [4]
	50	100	10m + 40sm	Fontana [6]
	50	100	10m + 12sm + 28a	Rishi [17]
	50	100	16m + 32sm + 2a	Schreeb et al. [18]
	50	100	12m + 26sm + 12a	Pijnacker and Ferwerda [14]
	50	100	4m + 16sm + 30a	Daga et al. [3]
	50	100	4m + 16sm + 30a	Gornung et al. [7]
	50	100	F: 7m + 7sm + 36a	Sharma et al. [19]
			M: 6m + 8sm + 36a	
	50	100	12m + 26sm + 12a	Ueda and Naoi [24]
	50	100	4m + 30sm + 16a or*	Amores and Postlethwait [1]
		100	4m + 20sm + 26a	
	50	100	4m + 16sm + 30a	Phillips and Reed [12]
	50	100	4m + 16sm + 30a	Sola and Gornung [21]
<i>D. albolineatus</i>	50	100	8m + 14sm + 28a	This study

2n, diploid chromosome; NF, fundamental number (arm of chromosome); m, metacentric; sm, submetacentric; a, acrocentric chromosomes; *depending on the degree of chromosome condensation.

Figures captions

Fig. 1 General characteristics of the Pearl Danio (*Danio albolineatus*).

Fig. 2 Karyotype of *D. albolineatus* from conventional staining (A.) and Ag-NOR banding techniques (B.), $2n=50$, m=metacentric, sm=submetacentric and a=acrocentric chromosomes. The nucleolar organizer regions (NORs) on chromosome pair 5.

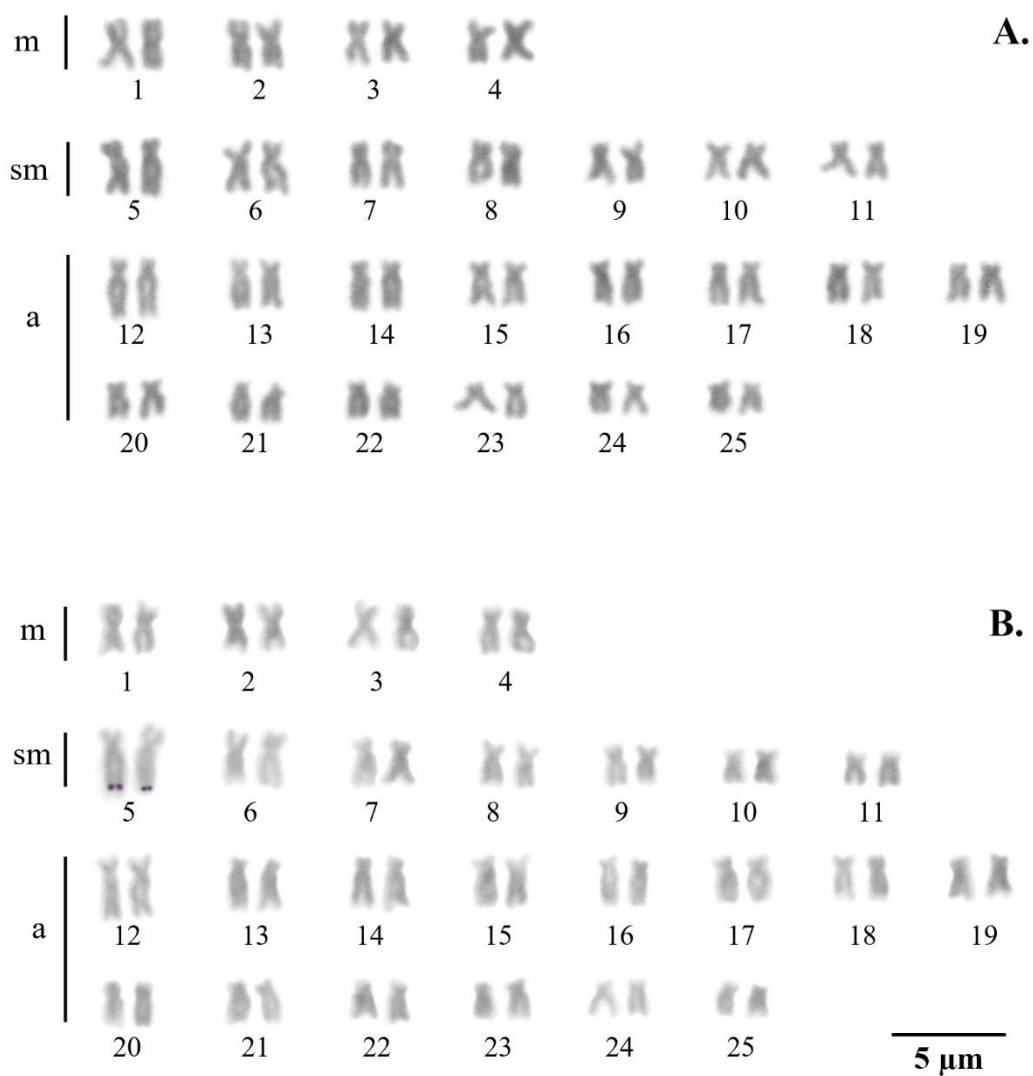
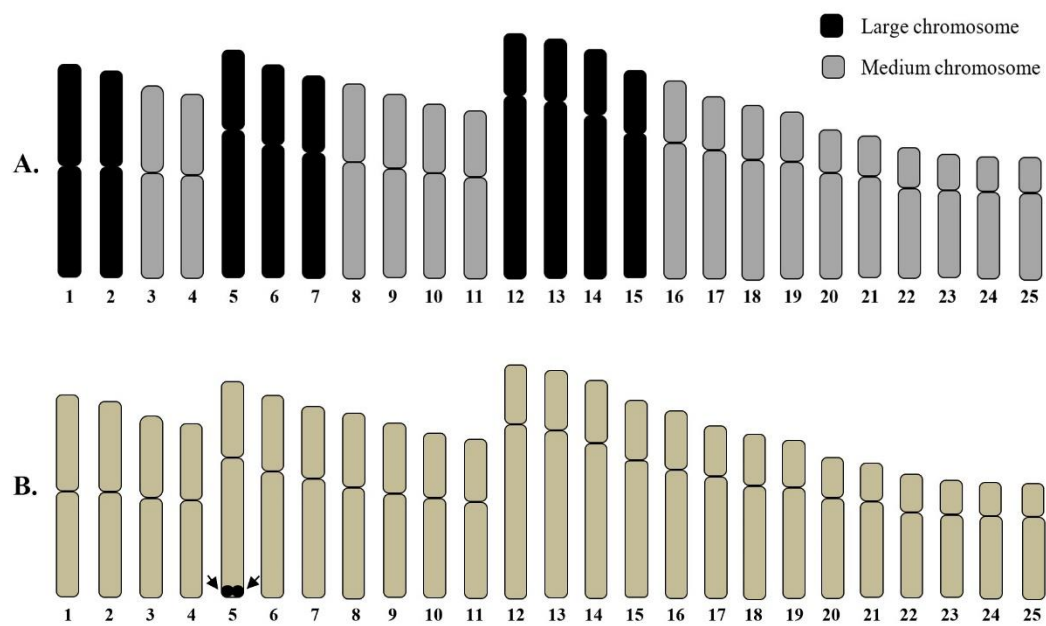
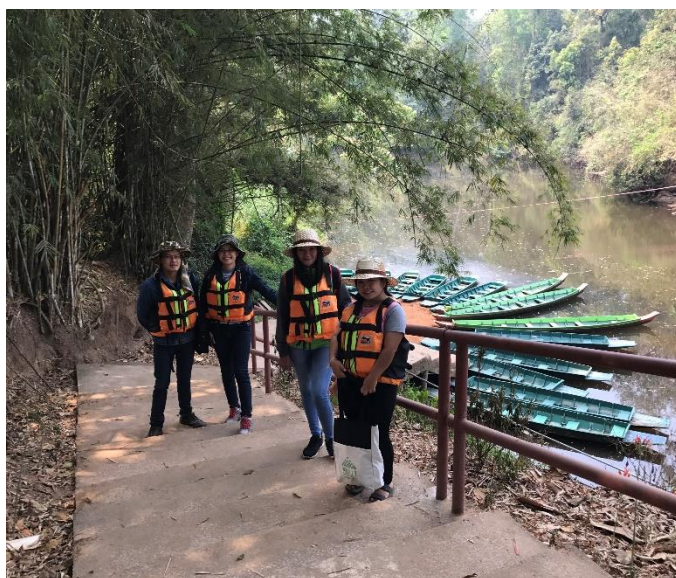
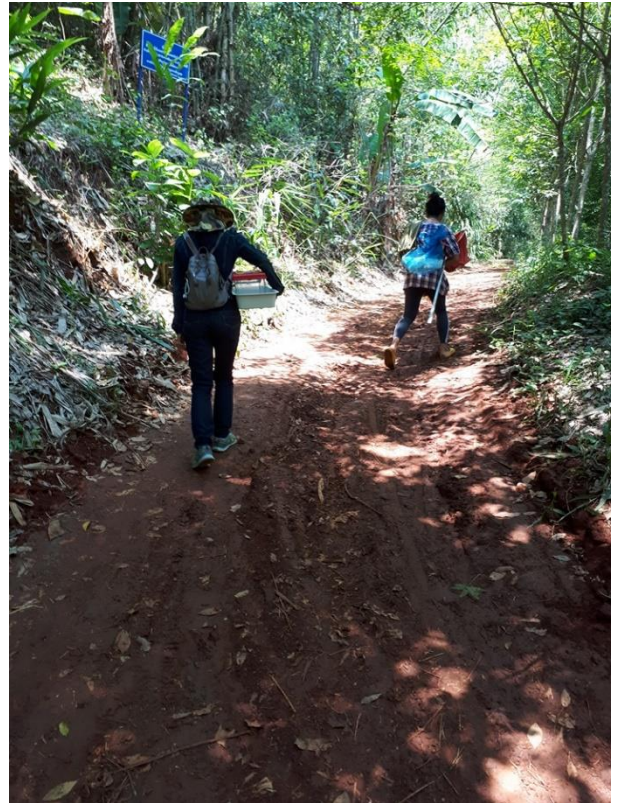


Fig. 3 Idiogram of *D. albolineatus* from conventional staining (A.) and Ag-NOR banding techniques (B.) Arrows indicate NORs bearing.



ภาพลงพื้นที่เผยแพร่ข้อมูลงานวิจัยสู่ตัวแทนชุมชน ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์
วันที่ 3-4 มีนาคม 2563





ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล

ว่าที่ ร.ต.หญิง สุมาลี พิมพันธ์

Acting-Sub.Lt Sumalee Phimphan

หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1410200065496

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

สูตรสาขาวิชาชีววิทยา 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

ปริญญาเอก ปรัชญาดุสิตบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

พันธุศาสตร์เซลล์ของสัตว์

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

บทความวิจัยในการประชุมสัมมนาวิชาการ

1. **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.
2. **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.

3. สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2562. โครโมโซมของอีกรายห้วยใหญ่ (*Xenophys major*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์. รายงานสืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 73-80. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่.
4. สลันญา สอนสุภาพ เจนจิรา เชื้อบุญจันทร์ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2562. โครโมโซมของปลาอีสกเทศ (*Labeo rohita*) และปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) ในจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 109-119. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่.
5. สุปรียา ศิริวารินทร์ บุชยาแก้วย้อย สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2563. โครโมโซมตักแตนลิงจุดเชื่อมและตักแตนหน้าเอียงขาสี่ฟ้าจากจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืบลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6. หน้า 97. มหาวิทยาลัยราชภัฏพืบลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืบลโลก.
6. อารียา แสงลาภ อีรพงษ์ ขุนเกี่ยม สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2563. โครโมโซมจิ้งหรีดทองคำ จิ้งหรีดทองแดง และจิ้งโกร่งในจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืบลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6. หน้า 100. มหาวิทยาลัยราชภัฏพืบลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืบลโลก.

บทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล Thai-journal citation index (TCI)

1. สุมาลี พิมพันธ์, อลงกลด แทนอมทอง, ยอดชาย ช่วยเงิน, และ โดม ประทุมทอง 2558. คาริโอไทป์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว (*Gullus gallus spadiceus* Linnaeus, 1758) ด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่วิทยาศาสตร์ มข. 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 แส่นศักดิ์, อลงกลด แทนอมทอง, สุมาลี พิมพันธ์ และ อีสสระ ปะทะวัง. 2560. พันธุศาสตร์เซลล์ของแมวดาว (*Prionailurus bengalensis*) ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์. วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร 39(2): 96-108.
4. สุมาลี พิมพันธ์ วิวรรณ แสงภักดี กฤติยา แสงภักดี และ อลงกลด แทนอมทอง. 2560. โครโมโซมและการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของตักแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. KRU Science Journal 43(1): 469-477.

5. สุมาลี พิมพันธ์ และ วิวรรณ แสงภักดี. 2561. แครีโอไทป์ของตั๊กแตนข้าวปีกสั้น (*Pseudoxya diminuta* Walker, 1871) ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี 14(2): 38-44.
 6. **Phimphan, S.**, Rojrung, R., Aiumsumang, A., Koomsab, K. and Tanomtong, A. 2020. Karyological Analysis of Lesser Bamboo Rat, *Cannomys badius* (Rodentia, Rhizomyinae) by Classical and Molecular Cytogenetic Techniques. KCU Science Journal (accepted)
 7. **Phimphan, S.**, Aiumsumang, A. and Koomsab, K. 2020. Karyotype Analysis and Idiogram in the *Channa gachua* from Phetchabun Province by Conventional Staining and Ag-NOR Banding Techniques. Journal of Fisheries Technology Research. (accepted)
- บทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารนานาชาติที่อยู่ในฐานข้อมูล SCOPUS และ ISI Impact Factor
1. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Patawang, I., Kaewsri, S., Jantarat, 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
 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., Jantararat, S. and Tanomtong, A. 2017. First Cytogenetic Study of the Whitecheek Monocle Bream, *Scolopsis vosmeri* (Perciformes, Nemipteridae) from Thailand. *Cytologia* 82(5): 481-484.
 15. Supiwong, W., Getlakha, N., Chaiphech, S., Pinthong, K., **Phimphan, S.** and Tanomtong, A. 2018. Nucleolar Organizer Regions Polymorphism and Karyological Analysis of Black

- Lancer, *Bagrichthys majusculus* (Siluriformes, Bagridae) in Thailand. *Cytologia* 83(2): 193–199.
16. **Phimphan, S.**, Tanomtong, A., Saengphan, N. and Sangpakdee, W. 2018. The First Karyological Study in Freshwater Prawn, *Macrobrachium lanchesteri* (Decapoda, Palaemonidae) from Thailand. *Nucleus* 62: 77-82.
 17. Saenjundaeng, P., Oliveira, A.E., Tanomtong, A., Supiwong, W., **Phimphan, S.**, Collares-Pereira, M.J., Sember, A., Yano, C.F., Hatanaka, T., ; Bertollo, L.A.C., Rab and Cioffi, M.B. 2018. The Asian paleotetraploid cyprinid fishes: Chromosomal investigations in two endangered species of the small Probarbini tribe. *PLOS ONE*. doi.org/10.1186/s13039-018-0399-8.
 18. 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*. 19: 73. doi.org/10.1186/s12862-019-1393-4.
 19. **Phimphan, S.** and Aiumsumang, S. 2019. Karyotype Analysis of Taolor's stream frog (*Limnonectes taylori*) (Amphibia, Anura) by conventional straining and Ag-NOR banding techniques from Thailand. *The Nucleus*. doi.org/10.1007/s13237-019-00291-2 0399-8.
 20. **Phimphan, S.**, Aiumsumang, Tanomtong, A. and Jantararat, S. 2020. Karyomorphological delineation and linear differentiation of microsatellite patterns, and meiosis in giant Asian river frog (*Limnonectes blythii*) from Thailand. *Nucleus* https://doi.org/10.1007/s13237-020-00315-2.
 21. **Phimphan, S.**, Chaiyasan, P., Suwannapoom, C., Reungsing, M., Juntaree, S., Tanomtong, A. and Supiwong, W. 2020 Comparative karyotype study of three Cyprinids (Cyprinidae, Cyprininae) in Thailand by classical cytogenetic and FISH techniques. (accepted)