



รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

การศึกษาอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับจากความหลากหลายชนิด
และพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
Risk of liver fluke disease using species diversity and cytogenetics of
fishes liver fluke-intermediate host in Phetchabun province
รหัสโครงการ 207950

ชื่อหัวหน้าโครงการ สุมาลี พิมพันธุ์
ชื่อคณะวิจัย สุรเชษฐ เอี่ยมสำออง
สังกัด สาขาวิชาเอกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เดือน กันยายน พ.ศ. 2568

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2568

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

การศึกษาอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับจากความหลากหลายชนิด
และพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
Risk of liver fluke disease using species diversity and cytogenetics of
fishes liver fluke-intermediate host in Phetchabun province

สุมาลี พิมพ์พันธุ์

สาขาวิชาเอกชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สุรเชษฐ์ เอี่ยมสำอาง

สาขาวิชาเอกชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2568

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

(ก)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับจากความหลากหลายชนิดและพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาดุกพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์

ผู้วิจัย สุมาลี พิมพ์พันธุ์
ผู้ร่วมวิจัย สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง
สาขาวิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2568

บทคัดย่อ

การศึกษาอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับจากความหลากหลายชนิดและพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาดุกพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยเตรียมโครโมโซมจากไต ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาด้วยสีจีมีซ่า ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาช่อนหวดยาว ปลาสร้อยนกเขา ปลาช่อนเพชรน้อย ปลาช่อนสามจุด และปลาช่อนหมีจำนวนโครโมโซมดีพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 100 การศึกษาทางพันธุกรรมระดับโครโมโซม ได้วิเคราะห์พันธุกรรมของปลาดุกพยาธิ จากผลการวิเคราะห์พบว่าปลาดุกพยาธิบางชนิดมีจำเพาะทางด้านพันธุกรรมแต่ยังไม่สามารถระบุความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ซึ่งโครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการศึกษาความหลากหลายชนิดของปลาที่เป็นพยาธิของพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์ รวมทั้งการวิเคราะห์พันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาดุกพยาธิที่พบ และการถ่ายทอดองค์ความรู้สู่ชุมชนเกี่ยวกับความเสี่ยงจากการบริโภคปลาดิบ โดยผลการศึกษาได้สะท้อนให้เห็นภาพรวมของปัญหาเชิงพื้นที่ด้านสุขภาพ และนำเสนอแนวทางในการเฝ้าระวังและป้องกันโรคจากพยาธิใบไม้ตับอย่างเป็นระบบจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างปลาในพื้นที่ศึกษาครอบคลุมแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งเพาะเลี้ยงในจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่ามีปลาจำนวน 5 ชนิด ที่จัดอยู่ในกลุ่มปลาดุกพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแหล่งน้ำ ฤดูกาล และลักษณะทางระบบนิเวศ ทั้งนี้ พบว่าปลาดุกบางชนิดมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของพยาธิในพื้นที่ที่มีการบริโภคปลาดิบเป็นวัฒนธรรมท้องถิ่น จึงเป็นชนิดที่ควรได้รับการเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิด

คำสำคัญ: แคริโอไทป์ โครโมโซม โรคพยาธิใบไม้ตับ

Title Environmental Risk of liver fluke disease using species diversity and cytogenetics of fishes liver fluke-intermediate host in Phetchabun province

Author Sumalee Phimphan

Co-author Surachest Aiumsumang

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

Year 2025

ABSTRACT

This study investigated the risk of liver fluke infection based on the diversity of fish species and chromosomal-level genetics of fish hosts in Phetchabun Province. Chromosomes were prepared from the kidneys of the fish and stained using conventional Giemsa staining techniques. The chromosomal analysis of *Rasbora trilineata*, *Barbonymus gonionotus*, *Boraras maculatus*, *Boraras naevus* and *Boraras urophthalmoides* revealed that all five species had a diploid chromosome number of 50 and fundamental number (NF) of 100. The genetic analysis at the chromosomal level indicated that some fish host species exhibited genetic specificity. However, the differences were not yet distinct enough to be clearly classified. This research project encompassed the study of fish species diversity that serve as liver fluke hosts in the province, as well as the analysis of their cellular-level genetic characteristics. Moreover, the project included community outreach activities to disseminate knowledge regarding the health risks associated with consuming raw fish. The findings reflect the regional health challenges associated with liver fluke infection and propose systematic approaches for surveillance and disease prevention. Fish samples were collected from both natural water sources and aquaculture sites across Phetchabun Province. Five species were identified as potential intermediate hosts of the liver fluke, varying by habitat, season, and ecological conditions. It was observed that certain species played

(A)

a particularly important role in the transmission of liver flukes, especially in communities where consuming raw fish is a cultural practice. These species should therefore be closely monitored as part of ongoing public health efforts.

Keywords: Karyotype, Chromosomal, Liver fluke

(ง)

กิตติกรรมประกาศ

วิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือ ความกรุณา และคำปรึกษาจากบุคคลหลายฝ่าย ดังต่อไปนี้คือ ขอกราบขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่เอื้อเฟื้อวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา และมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ทุนอุดหนุนงานวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประเภทกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ภายใต้แผนงานยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2568 ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สุมาลี พิมพันธุ์

30 กันยายน 2568

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

โรคพยาธิใบไม้ตับเป็นปัญหาสำคัญพบว่าเป็นปี พ.ศ. 2539, 2552 และ 2557 พบอัตราการความชุกทั่วประเทศเฉลี่ยร้อยละ 11.8 ร้อยละ 8.7 และร้อยละ 5.1 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาในระดับหมู่บ้านในปี 2552 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีอัตราการความชุกของโรคสูงที่สุดถึงร้อยละ 85.2 ในระดับหมู่บ้านภาคเหนือสูงสุด 45.6 จากการประมาณการพบว่าคนภาคตะวันออกเฉียงเหนือกว่า 20 ล้านคนติดโรคหรือเคยติดโรค พยาธิใบไม้ตับกว่า 6 ล้านคน หรือนับเป็นหนึ่งในสามของประชากรในภูมิภาค สอดคล้องกับสถิติการเสียชีวิตของโรคมาเร็งท่อน้ำดีสูงสุดใน ปี 2548 เมื่อ 10 กว่าปีที่ผ่านมามีประมาณ 25,000 ราย คิดเป็นอัตราการเสียชีวิตวันละ 70 ราย หรือเฉลี่ยชั่วโมงละ 3 ราย ในปี 2554 พบคนไทยเสียชีวิตจากโรคมาเร็งท่อน้ำดีและตับ จำนวน 14,314 ราย ประมาณครึ่งหนึ่งเป็นคนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือประมาณ 7,539 ราย รองลงมาคือภาคเหนือ จำนวน 2,638 ราย และหากพิจารณาผลการดำเนินงานปี 2561 รายจังหวัด พบว่า จังหวัดที่มีอัตราการติดเชื้อมากกว่าร้อยละ 10 ได้แก่ จังหวัดมหาสารคาม (ร้อยละ 29.03) จังหวัดตาก (ร้อยละ 24.24) จังหวัดเชียงใหม่ (ร้อยละ 21.59) และจังหวัดเพชรบูรณ์ (ร้อยละ 10.53) (กรมควบคุมโรค, 2563)

อาหารพื้นบ้านหมายถึงอาหารที่ประชาชนบริโภคในชีวิตประจำวันและในโอกาสต่าง ๆ โดยอาศัยเครื่องปรุงและวัตถุดิบในการประกอบอาหารจากแหล่งธรรมชาติใกล้ชุมชน หรือการซื้อ ขายแลกเปลี่ยนโดยมีกรรมวิธีเป็นเอกลักษณ์ และรสชาติเฉพาะถิ่นแตกต่างกันไป อาหารพื้นบ้าน เช่น ก้อยปลา ปลาต้ม ปลาจ่อม ที่เตรียมจากปลาวงศ์ปลาตะเพียน เช่น ปลาตะเพียน ปลาขาว สร้อย ปลากระสับจุด ปลาตะเพียนทราย ปลาชีว ปลาสร้อยหางแดง (Mard-arhin et al., 2001; Nithiuthai et al., 2002) อาจมีตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับในปลาที่นำมาปรุง เมื่อบริโภคแบบไม่ปรุงสุก ตัวอ่อนระยะติดต่อที่อยู่ในปลาจะฟักตัวที่ ลำไส้เล็กส่วนต้น เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในท่อน้ำดี และถุงน้ำดีของผู้ติดเชื้อ จากรายงานวิจัยพบว่าการติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับมีความสัมพันธ์กับการบริโภคอาหารพื้นบ้าน ก้อยปลา ปลาต้ม ปลาจ่อม แบบไม่ปรุงสุก (Lindahl & Grace, 2015; Prasongwatana et al., 2013; Sithithaworn & Haswell-Elkins, 2003; Sripa et al., 2011; Tatem et al., 2006) ชนิดของปลาที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับมีหลายชนิด แต่ในจังหวัดเพชรบูรณ์ยังไม่มีข้อมูลความหลากหลายชนิดและข้อมูลทางพันธุกรรมของปลาที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับ

ดังนั้นการทราบชนิดและข้อมูลทางพันธุกรรมที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ จึงนับเป็นข้อมูลที่มีความน่าสนใจอย่างยิ่ง อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อการวิชาการ การศึกษาครั้งนี้จะทำให้ทราบข้อมูลชนิดความหลากหลายและโครงสร้างพื้นฐานทางพันธุกรรมของปลาที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ไปเผยแพร่สู่หน่วยงานต่าง ๆ ทั้งในภาครัฐและเอกชน เพื่อ

การบริหารจัดการหลายมิติ เช่น การให้ความรู้เพื่อสร้างความเข้าใจกับชุมชนเรื่องพยาธิใบไม้ตับ พฤติกรรมการบริโภคปลาดิบ และชนิดของปลาที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับที่อยู่ในพื้นที่ชุมชน เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์หลักของโครงการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาความหลากหลายชนิดของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
- 1.2.2 เพื่อศึกษาพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
- 1.2.3 เพื่อเผยแพร่องค์ความรู้และความเข้าใจให้กับชุมชนด้านพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบในจังหวัดเพชรบูรณ์

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.3.1 ทราบความหลากหลายชนิดของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
- 1.3.2 ทราบพันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์
- 1.3.3 ชุมชนมีองค์ความรู้และความเข้าใจด้านพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบในจังหวัดเพชรบูรณ์

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1.4.1 ศึกษาความหลากหลายชนิดและโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลากลุ่มปลาที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์บนพื้นฐานข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ระดับโครโมโซม
- 1.4.2 เผยแพร่องค์ความรู้ที่ได้สู่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด และประชาชนในพื้นที่เป้าหมายในจังหวัดเพชรบูรณ์ และผู้ที่สนใจให้ตระหนักถึงความเสี่ยงและอันตรายจากพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบ ซึ่งจะนำมาสู่การเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ และมะเร็งท่อน้ำดี

1.5 ขอบเขตระยะเวลา

ระยะเวลาในการทำงานวิจัย เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่วันที่ 26 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2568 ถึงวันที่ 30 เดือน กันยายน พ.ศ. 2568

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเตรียมโครโมโซม

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

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

2.2 การย้อมสีโครโมโซม

การเตรียมโครโมโซมโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว เก็บเกี่ยวเซลล์และหยดเซลล์ลงบนสไลด์ ทำการย้อมสีโดยเลือกวิธีตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา (Halnan, 1989) ดังนี้

2.2.1 การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

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

2.2.2 การย้อมแถบสีแบบคิว (Q-banding)

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

2.2.3 การย้อมแถบสีแบบซี (C- banding)

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

2.2.4 การย้อมแถบสีแบบจี (G-banding)

เทคนิคนี้เหนี่ยวนำให้เกิดแถบโดยใช้สารเคมีที่สามารถย่อยโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโครโมโซม สารเคมีที่นิยมใช้ คือ เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) แล้วจึงย้อมด้วยสีจิมซ่าตามปกติ จะทำให้เกิดแถบสีเข้มสลับกับจางเนื่องจากคุณสมบัติที่ต่างกันในแต่ละบริเวณบนแท่งโครโมโซมเป็นเทคนิคที่นิยมทำกันมากที่สุด เพราะเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ลักษณะของแถบมีความคงตัว

2.2.5 การย้อมแถบสีแบบอาร์ (R-banding)

เป็นเทคนิคที่เกิดแถบสีเข้ม และจางสลับกันเช่นเดียวกับแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจี แต่แถบสีที่เกิดขึ้นจะตรงข้ามกับแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจี คือ แถบที่ติดสีเข้มในแถบสีแบบคิว และแถบสีแบบจีจะติดสีจางแทนในแถบสีแบบอาร์

2.2.6 การย้อมแถบสีแบบนอร์

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

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

2.2.7 การย้อมสีบนโครโมโซมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์อินไซทูไฮบริไดเซชัน (fluorescence *in situ* hybridization หรือ FISH)

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

2.3 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลา

ปลาในประเทศไทย ได้แก่ ปลาในวงศ์ไซไพรินิดี (Cyprinidae) หรือวงศ์ปลาตะเพียน วงศ์แดทนีออยอิดี (Datnioididae) หรือวงศ์ปลาเสือตอ วงศ์แท็กโซทิดี (Taxotidae) หรือวงศ์ปลาเสือพ่นน้ำ วงศ์โนโทปเทอริดี (Notopteridae) หรือวงศ์ปลากายว่อง วงศ์บากริดี (Bagridae) หรือวงศ์ปลากด และวงศ์ซิซอริดี (Sisoridae) หรือวงศ์ปลาแค้วงศ์ปลาตะเพียนเป็นวงศ์ปลาที่มีจำนวนมากที่สุด 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 (ขวลิต 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-Bukhsh and Das (2007) รายงานไว้ว่าปลาชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $6m+18sm+16st+10a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 74 ปลาในสกุล *Puntius* มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ไว้จำนวน 47 รายงาน ปลาแก้มขี้ (P. orphoides) มีการศึกษาของ Arai and Magtoon (1991) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $14m+16sm+4st+16a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 84 และการศึกษาของ Taki et al. (1977) รายงานไว้ว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $6m+36sm/st+8a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 92 และอีก 45 รายงานที่ศึกษาในปลาชนิดอื่นในสกุล *Puntius* พบว่าปลาสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 48-50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 52-100 แท่ง

สำหรับปลาชนิดอื่นที่อยู่ในสกุลเดียวกันได้มีรายงานการศึกษา โดย Magtoon and Arai (1989) และ Wu et al. (1991) รายงานไว้ว่าปลาสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 76-88 แท่ง สำหรับปลาในสกุล *Epalzeorhynchos* มีรายงานศึกษาไว้ 2 ชนิด โดยธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2536) ศึกษาในปลาแก้มแดง (*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 โดยธวัช ดอนสกุล และคณะ (2550) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $10m+6sm+34a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 64

ปลาในวงศ์ปลาเสือมีเพียง 1 สกุล คือ สกุล *Datnioides* ประกอบด้วยปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลาเสือตอปาวันนิวกินี (*D. campbelli*) ปลาเสือดอนอินโดนีเซีย (*D. microlepis*) ปลากะพงลาย (*D. polota*) ปลาเสือดอลายใหญ่ (*D. pulcher*) และปลาเสือดอลายเล็ก (*D. undecimradiatus*) (สมโภชน์ อัครกะทวิวัฒน์, 2547) โดยมีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ปลาในสกุลนี้ไว้ 3 ชนิด โดยพัชราพรพรณ คงเพชรศักดิ์ (2550) ศึกษาปลาเสือดอลายเล็กมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง มีสูตร แคริโอไทป์ คือ $4m+2sm+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 54 สำหรับปลาเสือดอลายใหญ่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2m+4st+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 50 และปลากะพงลายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2Sm+2st+42a$ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48

สำหรับปลาในวงศ์ปลากายพบกระจายพันธุ์ตั้งแต่ทวีปแอฟริกา 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 *Papyrocranus* มี 2 ชนิด คือ *P. afer* และ *P. congoensis* (สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์, 2547 และชวลิต วิทยานนท์, 2544) ปลาในสกุล *Chitala* ซึ่งมีรายงานการศึกษาไว้ 2 ชนิด ได้แก่ ปลาตองลาย (*C. Blanci*) และปลากทราย (*C. chitala*) โดยธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2533) พบว่าปลาตองลายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 42a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และปลากทรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 2st+40a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และ Uyeno (1973) รายงานไว้ว่าปลากทรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 42a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 42 และพบตำแหน่งนอร์ (NORs) บนโครโมโซมคู่ที่ 2 นอกจากนั้นยังมีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์อีก 5 รายงานที่ศึกษาในปลาสกุลอื่นในวงศ์ปลากทราย โดยปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 34-42 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 38-42 แท่ง

ปลาในวงศ์ปลากด มีการกระจายพันธุ์ตามแหล่งน้ำจืดไปจนถึงน้ำกร่อยตั้งแต่ทวีปแอฟริกา อนุทวีปอินเดีย เอเชียอาคเนย์ ไปจนถึงหมู่เกาะซุนดา ทั่วโลกพบประมาณ 200 ชนิด สำหรับในประเทศไทย จัดเป็นปลาหนังวงศ์ที่พบมากชนิดที่สุดของไทย โดยพบมากกว่า 25 ชนิด (Nelson, 2006 และ ชวลิต วิทยานนท์ และคณะ, 2540) มีรายงานการศึกษาในปลาวงศ์นี้ คือ ปลากดดำ (*Hemibagrus wyckii*) 2 รายงาน ได้แก่ Magtoon and Arai (1988) รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 54 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 16m+14sm+24a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 84 และธวัช ดอนสกุล (2544) รายงานว่าปลากดดำมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 62 แท่ง 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 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 72-108 นอกจากนั้นยังมีรายงานการศึกษาปลาชนิดอื่นในวงศ์ปลากดอีก 57 รายงาน พบว่าปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 44-60 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 80-108

สำหรับปลาในวงศ์ปลาแค้ เป็นปลาน้ำจืดที่พบแพร่กระจายในแถบตุรกี ซีเรีย จีนตอนใต้ พม่า ลาว กัมพูชา ไทย และบอร์เนียว ปลาในกลุ่มนี้มีผิวหนังหยาบ มีตุ่มกระจายตามลำตัว ส่วนใหญ่มีขนาด 4 นิ้ว ทั่วโลกมีประมาณ 20 สกุล และ 85 ชนิด (Nelson, 1994) ในประเทศไทยพบปลาวงศ์นี้ 6 สกุล 18 ชนิด (ชวลิต วิทยานนท์ และคณะ, 2540) มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของวงศ์ปลาแค้น้อยมาก มีรายงานการศึกษาโดยอัจฉริยา รังษิรุจิ และคณะ (2550) พบว่าปลาแค้ (*Bagarius suchus*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 16m+16sm+4st+20a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 88 และปลาแค้วัว (*B. bagarius*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 56 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์ คือ 16m+10sm+2st+28a มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 82 และนอกจากนั้นยังมี

รายงานการศึกษาปลาในวงศ์ปลาแค้ อีก 10 รายงาน พบว่าปลาวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ระหว่าง 36-56 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานอยู่ระหว่าง 66-104

จากการตรวจสอบเอกสารรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ในปลาน้ำจืดกลุ่มปลาสวยงาม ส่วนใหญ่ศึกษาโครโมโซมโดยใช้เทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ส่วนการศึกษาแถบสีบนโครโมโซมมีรายงานวิจัยน้อย ทั้งที่ลักษณะแถบสีบนโครโมโซมมีความสำคัญทำให้เราทราบลักษณะโครงสร้างของโครโมโซมมากขึ้น อันจะนำไปสู่การศึกษาต่อยอดในอนาคต นอกจากนี้ยังมีปลาอีกหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ทั้งในและต่างประเทศ

2.4 การเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ

พยาธิใบไม้ตับเป็นโรคหนึ่งปัญหาทางด้าน สาธารณสุขที่สำคัญของมนุษย์ พบมากในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั่วโลกคาดว่ามีคนติดเชื้อมากกว่า 40 ล้านคนและกว่า 600 ล้านคนเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับ (Yongvanit, 2011) คนไทยกว่า 6 ล้านคนมีการ ติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับ (บรรจบ, 2550) โดยในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือคาดว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ 1.5 - 2 ล้านคน (สำนักกระบาดวิทยา, 2550) จังหวัดหนองบัวลำภู พบประชาชนติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับคิดเป็นร้อยละ 7.84 ทั้งนี้ในพื้นที่อำเภอศรีบุญเรืองคิดเป็นร้อยละ 6.65 (สำนักงานสาธารณสุขอำเภอศรีบุญเรือง, 2554) มะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของคนไทย อันดับต้นๆ โดยเฉพาะโรคมะเร็งท่อน้ำดีในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี จาก 39.9 ในปี 2544 เป็น 51.6 ต่อประชากรแสนคนในปี 2554 (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์กระทรวงสาธารณสุข, 2554) ซึ่งมะเร็งท่อน้ำดีเป็นโรคหนึ่งที่ สัมพันธ์กับการติดเชื้อโรคพยาธิใบไม้ตับ โดยผลการศึกษาของศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น พบว่าความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง ท่อน้ำดีขึ้นอยู่กับจำนวนพยาธิใบไม้ตับที่พบในบุคคล นั้น 0 และจากข้อสรุปของสถาบันวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ ที่ได้สรุปว่าพยาธิใบไม้ตับเป็นสาเหตุหลักของการเกิด โรคมะเร็งท่อน้ำดีในคน (IARC, 1994) ดังนั้นจึงสรุปได้ ว่าพยาธิใบไม้ตับเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง ท่อน้ำดีในคน จากข้อมูลความชุกของโรคพยาธิใบไม้ตับ ข้างต้นและผลการตรวจจุลจากระยะหลังกินยาฆ่าพยาธิ praziquantel 6 เดือน พบไข้พยาธิใบไม้ตับถึงร้อยละ 8.92 (สำนักงานสาธารณสุขอำเภอศรีบุญเรือง, 2554) สะท้อนให้เห็นว่าที่ผ่านมาการดำเนินการเพียงการจ่ายยา ฆ่าพยาธิอย่างเดียวไม่สามารถป้องกันและควบคุมโรค พยาธิใบไม้ตับได้ จำเป็นต้องศึกษาหาปัจจัยเสี่ยงของการ เกิดโรคพยาธิใบไม้ตับของประชาชนในพื้นที่ เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้มาเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาโรค พยาธิใบไม้ตับ

2.5 ปลาพาหะพยาธิใบไม้ตับ

พยาธิใบไม้ตับเป็นสาเหตุหลักของการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) ติดต่อโดยการกินปลาน้ำจืดเกล็ดขาวตระกูลปลาตะเพียน เช่น ปลาตะเพียน ปลาไส้ตัน ปลากระสูบ ปลาชิว เป็นต้น ที่มีตัวอ่อนระยะติดต่อ (metacercaria) โดยปรุงไม่สุกหรือดิบ เช่น ลาบปลาดิบ ก้อยปลา ปลาต้ม ปลาจ่อม

เป็นต้น หากมีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับบ่อย ๆ จะทำให้เกิดการอักเสบบริเวณเยื่อบุท่อน้ำดีเกิดเป็นพังพืด และกลายเป็นมะเร็งขึ้นได้ โดยมีรายงานว่า การติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับเพิ่มความเสี่ยง 6-7 เท่าต่อการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี และการรับประทานยาฆ่าพยาธิ praziquantel จะเพิ่มความเสี่ยง 2 เท่าต่อการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี เช่นเดียวกัน จากการสำรวจความชุกตัวอ่อนพยาธิระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรีย ในกลุ่มปลาเกล็ดขาวในพื้นที่เขตสุขภาพ 6 แห่ง ได้แก่ เขตสุขภาพที่ 1, 6, 7, 8, 9 และ 10 ในปี 2562 ของกองโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค ภาพรวม พบว่า จำนวนปลาที่ตรวจทั้งหมด 4,711 ตัว พบติดเชื้อพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียจำนวน 579 ตัว คิดเป็น ร้อยละ 12.30 ซึ่งปลาที่พบอัตราการติดเชื้อพยาธิมากที่สุด คือ ปลาหางเหลือง ร้อยละ 5.5 รองลงมา ได้แก่ ปลาจาด ปลาตะเพียนขาว ปลาหนามหลัง ปลาสวาย ปลาแม่สะแตง คิดเป็นร้อยละ 1.90, 1.10, 0.80, 0.70 และ 0.50 ตามลำดับ เฉพาะพื้นที่เขตสุขภาพที่ 8 ตรวจปลาทั้งหมด 1,511 ตัว พบติดเชื้อพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียจำนวน 198 ตัว คิดเป็นร้อยละ 13.10 ซึ่งสูงกว่าภาพรวมทั้ง 6 เขต ส่วนการศึกษาความชุกโรคหนอนพยาธิในประชาชนและโฮสต์กึ่งกลางในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่โครงการอ่างเก็บน้ำแม่สวดตอนบน อำเภอแม่สวด จังหวัดตาก ผลการตรวจอุจจาระในประชาชน จำนวน 449 ราย พบการติดเชื้อโรคหนอนพยาธิทั้งหมด 23 ราย คิดเป็นร้อยละ 5.12 จำแนกเป็นพยาธิใบไม้ตับ ร้อยละ 2.22 ผลการตรวจปลาน้ำจืดวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 406 ตัว ติดเชื้อเมตาเซอร์คาเรีย 201 ตัว คิดเป็นร้อยละ 49.51 จำแนกพยาธิใบไม้ได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพยาธิใบไม้ลำไส้ ขนาดเล็กของสัตว์และคน ได้แก่ *Centrocestus formosanus* และ *Haplorchis* sp. และกลุ่มพยาธิใบไม้ตับของคน ได้แก่ *Opisthorchis viverrine* และการศึกษาอัตราการติดเชื้อโรคหนอนพยาธิในประชาชนและโฮสต์กึ่งกลางในสิ่งแวดล้อมพื้นที่ โครงการปรับปรุงประสิทธิภาพการเก็บกักน้ำอ่างเก็บน้ำลำปาว จังหวัดกาฬสินธุ์ พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคน ร้อยละ 1.5 ปลาน้ำจืดเกล็ดขาวติดเชื้อพยาธิใบไม้ ร้อยละ 35.82 นอกจากนั้นในปี 2562 มีการศึกษาการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาน้ำจืดที่อ่างเก็บน้ำแม่หนึ่ง อำเภอเมืองปาน จังหวัดลำปาง พบว่าจับปลาได้ 200 ตัว จำแนกพันธุ์ปลาได้ 12 ชนิด ตรวจพบปลาติดเชื้อจำนวน 153 ตัว คิดเป็นร้อยละ 76.50 ทั้งหมดเป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก และชนิดปลาที่มีการติดเชื้อพยาธิทุกตัว ได้แก่ ปลาหนามหลัง ปลาช่อนหรือปลาสวายลูกกล้วย และปลาชิวครีบแดง สำหรับสถานการณ์โรคพยาธิใบไม้ตับ เขตสุขภาพที่ 8 จากการดำเนินงานทศวรรษกำจัดปัญหาพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีปี 2559-2565 พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับร้อยละ 12.25, 10.91, 3.53, 3.07, 5.06, 2.40 และ 1.67 ตามลำดับ (บุญเทียน อาสารินทร์ 2568)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติชนิดละ 20 ตัวอย่างต่อประชากร โดยจะเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำในพื้นที่ อ.หนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ จากนั้นนำปลามาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีโดยเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลาขนาด 60x120x50 เซนติเมตร ที่ให้ก๊าซออกซิเจนตลอดเวลา และให้อาหารเม็ดวันละ 2 ครั้ง เลี้ยงไว้จนกว่าจะทำการศึกษา

ศึกษาลักษณะภายนอกตามสัณฐานวิทยาเพื่อระบุชนิดตัวอย่างปลา

นำตัวอย่างปลามาตรวจสอบ และระบุชนิดโดยใช้เอกสารตามคู่มือของชวลิต วิทยานนท์ (2548) ชวลิต วิทยานนท์ และคณะ (2540) Kottelat (2001) และ Rainboth (1996) การกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ที่เป็นที่ยอมรับยึดตามฐานข้อมูลออนไลน์ Catalog of Fishes (Eschmeyer, 2017)

3.2 ศึกษาด้านพันธุศาสตร์ระดับเซลล์

จำนวนตัวอย่างที่จะศึกษาด้านพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ชนิดละ 15 ตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างที่เหลือจะต้องเก็บไว้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ขั้นตอนศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ ประกอบด้วย ขั้นตอนการเตรียมโครโมโซม การเตรียมสไลด์ การย้อมสีโครโมโซม การตรวจสอบโครโมโซม การจัดทำแคโรไทป์ และการสร้างอิดีโอแกรมมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

การเตรียมโครโมโซมปลา

การเตรียมโดยวิธีทางตรง (direct method) จากในตัวสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของอลองกลด เทนอมทอง (2554) และ Supiwong et al. (2009) ดังนี้

ฉีดสารละลายโคลชิซินเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ผ่าตัดเปิดช่องท้อง และนำเฉพาะส่วนของไตมา ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.075 โมลาร์ (KCl 0.075 M) เทตะกอนเซลล์ขนาดเล็กลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ลงไปในหลอดปั่นเหวี่ยงประมาณ 6-8 มิลลิลิตร ขึ้นกับตะกอนเซลล์ บ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที นำตะกอนเซลล์ไปปั่นที่ความเร็ว 1,200-1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งส่วนใสข้างบน เติมน้ำยาตรึงสภาพ (fixative) ที่มีส่วนผสมของเมทานอล (methanol) 3 ส่วน ต่อกรดอะซิติก (acetic acid) 1 ส่วน ที่เตรียมใหม่ ๆ และเย็นจัดที่ละลายอย่างช้า ๆ พร้อมกับเขย่าหลอดไปด้วย เติมน้ำจนครบ 7 มิลลิลิตร นำสารละลายไปปั่นที่ 1,200-1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งส่วนใสข้างบน เติมน้ำยาตรึงสภาพลงไป 7-8 มิลลิลิตร ปั่นอีกครั้ง ทำซ้ำเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด 3-4 ครั้ง เก็บตะกอนเซลล์ในสารละลายตรึงเซลล์ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะศึกษา

การเตรียมสไลด์โครโมโซม

นำตะกอนเซลล์ที่เตรียมไว้แล้วมาหยดบนสไลด์ที่สะอาด 1-2 หยด โดยหยดห่างจากสไลด์ 10 เซนติเมตร เมื่อหยดครบเวลา 15 วินาทีให้หยดน้ำยาตรึงสภาพตามอีก 1 หยด ปล่องให้แห้ง การเตรียมสไลด์จะเตรียมจากตัวอย่างตัวละ 8 สไลด์

การย้อมสีโครโมโซม

นำสไลด์ที่เตรียมไว้มาทำการย้อมสีโครโมโซมทั้งแบบธรรมดาและแบบเอ็นโออาร์ ดังนี้

การย้อมแบบธรรมดานั้นทำการย้อมสไลด์ด้วยสีจิมซ่า ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% Geimsa stain) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 (pH 6.8) เป็นเวลา 30-45 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง (Rooney, 2001) นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

สำหรับการย้อมแถบสีแบบเอ็นโออาร์ ดัดแปลงจากวิธีการของ Howell and Black (1980) ดังนี้สไลด์ที่จะย้อมต้องมีอายุระหว่าง 1-7 วัน โดยนำสไลด์ที่เตรียมไว้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชั่วโมง หยดเจลาตินเข้มข้นร้อยละ 2 ลงบนสไลด์ 2 หยด แล้วหยดซิลเวอร์ไนเตรทเข้มข้นร้อยละ 50 (50% AgNO_3) ลงบนสไลด์ 4 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำเข้าตูอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หรือจนกว่าสไลด์จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม (ห้ามทิ้งไว้นานจนสไลด์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลโดยเด็ดขาด) ล้างซิลเวอร์ไนเตรทส่วนเกินออกด้วยน้ำกลั่น ผึ่งสไลด์ให้เกือบแห้ง นำไปย้อมด้วยสีจิมซ่าเข้มข้นร้อยละ 10 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้งนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 40X

การตรวจสอบโครโมโซม

เลือกเซลล์ที่มีโครโมโซมระยะเมทาเฟสกระจายตัวดีไม่ซ้อนทับกัน นำมาถ่ายภาพโครโมโซมโดยใช้เลนส์วัตถุ (objective lens) กำลังขยาย 100X โดยใช้ชุดถ่ายภาพที่ต่อกับกล้องจุลทรรศน์ หรือใช้กล้องดิจิทัล เพื่อตรวณับจำนวนโครโมโซมจากภาพถ่ายโครโมโซมจำนวน 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 และนำค่าที่ได้ไปใช้ประกอบในการจัดทำแคโรไทป์ และสร้างอิดิโอแกรมมาตรฐาน

การจัดทำแคโรไทป์

ดัดแปลงจากวิธีการของกันยารัตน์ (2532) อลงกลด แทนอมทอง (2554) และ Turpin and Lejeune (1965) ใช้รูปถ่ายที่ได้ในการจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน โดยการกำหนดตำแหน่งเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมแต่ละแท่งในเซลล์ วัดค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว ค่าความยาวของแขน

โครโมโซมข้างสั้น นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง จัดเรียงคาร์ิโอไทป์ให้เรียงตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย ยกเว้นโครโมโซมเพศจะวางเป็นคู่สุดท้ายมุมล่างซ้ายเสมอ ต้องบอกหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ด้านล่าง วางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง

จากความยาวของโครโมโซมและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ แล้วสามารถนำมาคำนวณค่า 3 ค่า คือ (1) centromeric index (2) arm ratio และ (3) relative length สำหรับ 2 ค่าแรกเป็นตัวบอกรูปร่างของโครโมโซมนั้น ๆ ส่วนค่าที่ 3 เป็นค่าช่วยบอกขนาดของโครโมโซมหนึ่งแท่งเมื่อเทียบกับโครโมโซมอื่น ๆ ทั้งจีโนม โดยนำค่า relative length คูณด้วย 100 โดยโครโมโซมขนาดใหญ่ที่สุดเทียบเป็น 100%

การเขียนสูตรแคริโอไทป์

สูตรพื้นฐานสำหรับการเขียน แคริโอไทป์ เป็นดังนี้ ชื่อวิทยาศาสตร์ จำนวนโครโมโซมดีพลอยด์ในวงเล็บ ($2n$) เครื่องหมายเท่ากับ ตามด้วยจำนวนของโครโมโซมตามด้วยเครื่องหมายจุลภาคตามด้วยส่วนประกอบของโครโมโซมเพศ เขียนสัญลักษณ์ L M และ S แทนขนาดโครโมโซมใหญ่ กลาง และเล็ก ตามลำดับ และเขียนสัญลักษณ์ m sm a และ t แทน โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก ตามลำดับ ในลักษณะด้วยจำนวนโครโมโซม แต่ละขนาดและรูปร่าง เป็นตัวเลข วางตำแหน่งในลักษณะตัวห้อย

การทำอิดิโอแกรมมาตรฐาน

อิดิโอแกรม คือ ไดอะแกรมแสดงแคริโอไทป์ของโครโมโซม 1 ชุดแฮพลอยด์ ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย และโครโมโซมเพศ โดยใช้ข้อมูลค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซม รูปร่างของโครโมโซม และตำแหน่งเซนโทรเมียร์ อิดิโอแกรมจากเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาใช้เซลล์ระยะเมทาเฟสชนิดละ 20 เซลล์ นำมาจัดแคริโอไทป์ แล้ววัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว และแขนโครโมโซมข้างสั้นของโครโมโซมทุกคู่ด้วยเวอร์เนีย (vernier) จัดทำภาพวาดอิดิโอแกรมด้วยคอมพิวเตอร์ โดยการนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาสร้างกราฟโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ให้แกนตั้ง (Y) เป็นความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดไปหาคู่ที่เล็กที่สุด ยกเว้นโครโมโซมเพศจัดเป็นคู่สุดท้าย แล้วนำมาปรับรูปร่างของโครโมโซมโดยใช้โปรแกรม Microsoft Word หรือ Microsoft Powerpoint (อลงกลต แทนอมทอง, 2554)

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

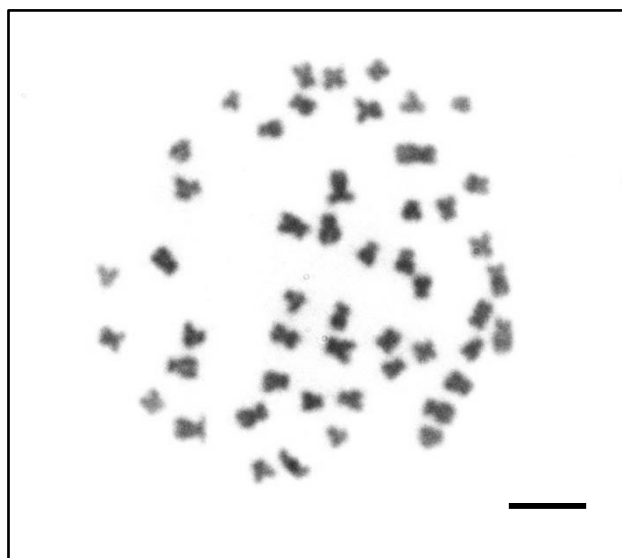
เลขอาร์บิค (1, 2 ,3 ...etc) = จำนวนก้านครีบอ่อน

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในครั้งนี้ ใช้ตัวอย่างปลา จากแหล่งน้ำในพื้นที่ จังหวัดเพชรบูรณ์ จำแนกความหลากหลายชนิดได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ปลาชีวนวดยาว ปลาสร้อยนกเขา ปลาชีวนพชรน้อย ปลาชีวนสามจุด และปลาชีวนหนู

4.2 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา

ปลาชีวนวดยาว

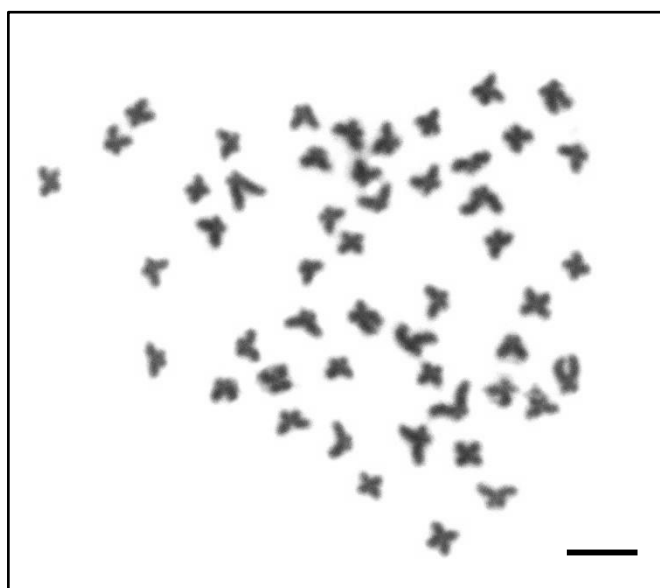
ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาชีวนวดยาวพบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 100 ปลาชีวนวดยาวเพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 โครโมโซมระยะเมทาเฟสของปลาชิวหนวดยาว ($2n=50$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกล = 5 ไมโครเมตร

ปลาสร้อยนกเขา

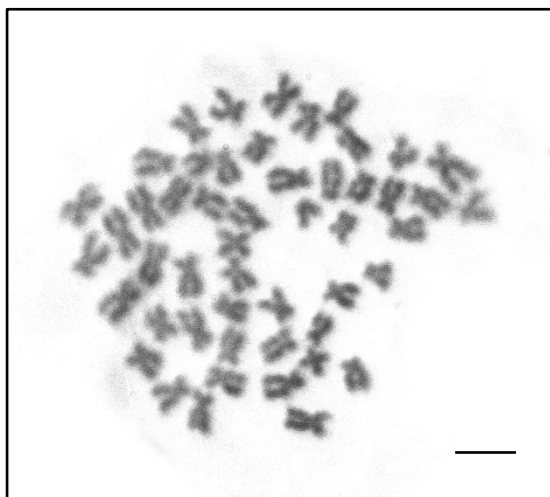
ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาสร้อยนกเขา พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 100 ปลาสร้อยนกเขาเพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 โครโมโซมระยะเมทาเฟสของปลาสร้อยนกเขา ($2n=50$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกล = 5 ไมโครเมตร

ปลาซิวเพชรน้อย

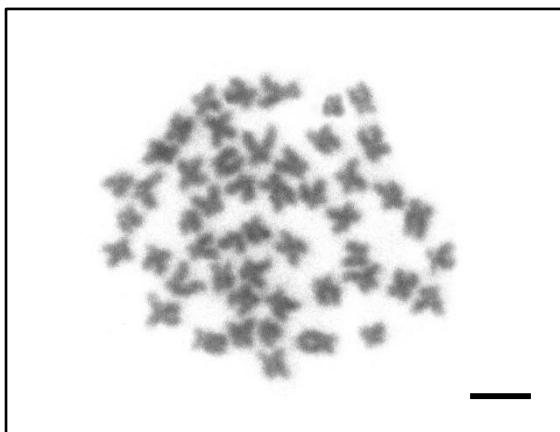
ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาซิวเพชรน้อย พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 100 ปลาซิวเพชรน้อย เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 โครโมโซมระยะเมทาเฟสของปลาซิวเพชรน้อย ($2n=50$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกล = 5 ไมโครเมตร

ปลาซิวสามจุด

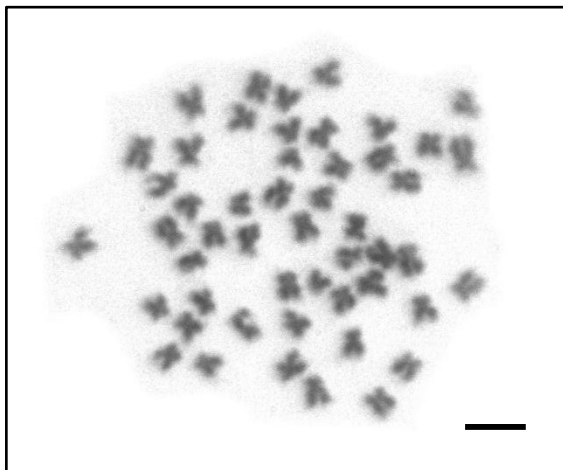
ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาซิวสามจุด พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 100 ปลาซิวสามจุด เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 โครโมโซมระยะเมทาเฟสของปลาซิวสามจุด ($2n=50$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกล = 5 ไมโครเมตร

ปลาซิวหนู

ผลการศึกษาโครโมโซมของปลาซิวหนูพบว่ามีความถี่โครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 100 ปลาซิวหนู เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 โครโมโซมระยะเมทาเฟสของปลาซิวหนู ($2n=50$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกล = 5 ไมโครเมตร

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 การศึกษาโครโมโซมของปลาด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา

จากผลการศึกษาโครโมโซมของปลาปลาชืมหวดยาว ปลาสร้อยนอกเขา ปลาชืพชรน้อย ปลาชืสามจุด และปลาชืหนู พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง และมีโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 100 เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน

จากผลการศึกษาโครโมโซมของปลาทั้ง 5 ชนิด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มไซพรีนิตี้พบว่าสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมา ได้แก่ ในปลาชืสกุลปลาชื (*Rasbora*) ยกเว้นจากรายงานการศึกษาของ Post (1965) ในปลาชืหางกรไกร (*R. trilineata*) และปลาชืข้างขวานใหญ่ (*R. heteromorpha*) ที่รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ จำนวนโครโมโซมพื้นฐานของปลาชืไบโม่แถบขาวเท่ากับ 100 สอดคล้องกับปลาชืพอม (*R. agillis*) (Donsakul *et al.*, 2009) แต่แตกต่างจากปลาชืทองตามรายงานของ Donsakul *et al.* (2005) ที่รายงานจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 86 อีกทั้งจากการศึกษานี้พบว่าปลาชืไบโม่แถบขาวมีแคริโอไทป์ประกอบด้วย $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + M^m_4 + M^{sm}_8 + M^a_{20}$. เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาในปลาชือื่นๆ ในสกุล *Rasbora* (Donsakul *et al.*, 2005) พบว่ารูปแบบแคริโอไทป์มีความแตกต่างกัน ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากปลาที่นำมาศึกษาต่างกลุ่มประชากรกันรวมถึงเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกชนิดโครโมโซมแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลาสกุลอื่นๆ ในวงศ์ Cyprinidae เช่น การศึกษาแคริโอไทป์ของปลาชืไบโม่ (*Danio aequipinnatus*) จากแม่น้ำ Assam, Lockchau และ Gadana ในประเทศอินเดีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ($2n=50$) แต่มีแคริโอไทป์ต่างกันคือ $14m+32sm+4a$ (Khuda-Buksh *et al.*, 1986), $8m+42sm$, $6m+34sm+6st+4t$ (Sukham *et al.*, 2013) และ $14m+11sm+15st+10t$ (Shanthipreya *et al.*, 2015) ส่วนในประเทศไทยมีการศึกษาแคริโอไทป์ในปลาชืไบโม่เช่นกัน พบว่าแคริโอไทป์ประกอบด้วย $8m+28sm+10st+4t$ (Magtoon and Arai, 1994) และ $8m+42sm$ (Seetapan and Moeikum, 2004) นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของรูปแบบแคริโอไทป์ แต่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันในปลาชนิดเดียวกันที่มีรายงานในประเทศไทยอีก เช่น ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*) ซึ่งมีแคริโอไทป์คือ $2m+2sm+44st+2t$ (Piyapong, 1999), $2m+2sm+44st+2t$ (Donsakul and Magtoon, 2008) และ $4m+4sm+4st+38t$ (Nitikulwopawong and Khruanet, 2014) จากการเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมที่มีการศึกษามาแล้วในสกุลเดียวกันพบว่าปลาบางชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน แต่มีรูปแบบโครโมโซมที่ต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการวิวัฒนาการของปลา เช่น เกิดการต่อสลับแบบใช้เซนโทรเมียร์ร่วมกัน (Pericentric inversion) เป็นต้น ทำให้รูปแบบโครโมโซมแตกต่างกัน และเกิดจากสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย ซึ่งอาจเกิดความแปรผันของจำนวนโครโมโซมได้ (Tanomtong, 2010)

ในวงศ์ปลาตะเพียนวงศ์ย่อย Cultrinae ซึ่งจากผลการศึกษาโครโมโซม และแคโรไทป์ของปลาในวงศ์ย่อยนี้ส่วนใหญ่มีโครโมโซม $2n = 48$ แท่ง (Arai, 2011) สกุลปลาแปบมีการศึกษามาแล้วในประเทศไทยพบว่าปลาแปบน้อย มี $2n = 48$ แท่ง NF = 82 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก 16 แท่ง ซับเมทาเซนตริก 18 แท่ง อะโครเซนตริก 4 แท่ง และเทโลเซนตริก 10 แท่ง (Donsakul and Magtoon, 1995) และในปลาแปบพบว่ามี $2n = 48$ แท่ง NF = 76 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก 14 แท่ง ซับเมทาเซนตริก 14 แท่ง อะโครเซนตริก 6 แท่งและเทโลเซนตริก 14 แท่ง (Donsakul and Magtoon, 2003) เมื่อเปรียบเทียบพบว่าปลาแปบควายมีจำนวนโครโมโซมสอดคล้องภายในวงศ์ย่อยและสกุลเดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความ สัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของปลาในวงศ์ย่อยนี้ยังคงมีความใกล้ชิดกับปลาที่เป็นบรรพบุรุษเนื่องจากปลาโบราณส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ ข้อมูลที่ได้นี้ใช้ประกอบการพิจารณาจัดปลาให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันซึ่งช่วยในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานแม้ว่าแคโรไทป์และจำนวนโครโมโซม พื้นฐานต่างกันแต่ความแตกต่างนี้สามารถใช้จำแนกชนิดปลาแปบได้เนื่องจากปลาแปบแตบน้อยและ ปลาแปบควายมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันแคโรไทป์ที่ได้จึงเป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความแตกต่างของชนิดปลาได้เป็นอย่างดีและจากการศึกษาตำแหน่งนอร์พบว่ามีตำแหน่งอยู่บนปลายแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 จึงกำหนดให้เป็นโครโมโซมเครื่องหมายซึ่งจะมีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากโครโมโซมแท่งอื่นๆ และมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจึงสามารถนำมาใช้จัดจำแนกได้ด้วยและจากการนำค่าเฉลี่ยการวัดขนาดของโครโมโซม 20 เซลล์มาทำอิดิโอแกรมของปลาชนิดนี้มีประโยชน์ในการวิเคราะห์โครโมโซมได้สะดวกมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาจากแคโรไทป์

สรุปผลการศึกษา

โครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการศึกษาความหลากหลายชนิดของปลาที่เป็นพาหะของพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์ รวมทั้งการวิเคราะห์พันธุกรรมระดับเซลล์ของปลาพาหะที่พบ และการถ่ายทอดองค์ความรู้สู่ชุมชนเกี่ยวกับความเสี่ยงจากการบริโภคปลาดิบ โดยผลการศึกษาได้สะท้อนให้เห็นภาพรวมของปัญหาเชิงพื้นที่ด้านสุขภาพ และนำเสนอแนวทางในการเฝ้าระวังและป้องกันโรคจากพยาธิใบไม้ตับอย่างเป็นระบบจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างปลาในพื้นที่ศึกษา ครอบคลุมแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งเพาะเลี้ยงใน จังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่ามีปลาจำนวน 5 ชนิด ที่จัดอยู่ในกลุ่มปลาพาหะของพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแหล่งน้ำ ฤดูกาล และลักษณะทางระบบนิเวศ ทั้งนี้ พบว่าปลาบางชนิด เช่น กลุ่มปลาซิว ปลาขาว มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของพยาธิในพื้นที่ที่มีการบริโภคปลาดิบเป็นวัฒนธรรมท้องถิ่น จึงเป็นชนิดที่ควรได้รับการเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิด

ในด้านของการศึกษาทางพันธุกรรม โครงการได้วิเคราะห์พันธุกรรมของปลาพาหะโดยใช้การศึกษาในระดับโครโมโซม จากผลการวิเคราะห์ พบว่าปลาพาหะบางชนิดมีจำเพาะทางด้านพันธุกรรม แต่ยังไม่สามารถระบุความแตกต่างได้อย่างชัดเจน การเผยแพร่ความรู้และถ่ายทอดข้อมูลสู่ชุมชน ผ่าน

บทความวิจัย และการเสวนากับชาวบ้าน ผู้นำชุมชน และนักเรียนในพื้นที่ต่าง ๆ โดยเน้นประเด็นเรื่อง วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ ความเสี่ยงจากการบริโภคปลาดิบ และวิธีป้องกันโรค จากแบบสอบถามก่อน และหลังการอบรม พบว่าผู้เข้าร่วมกิจกรรมมีความรู้ ความเข้าใจ และทัศนคติที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดย ร้อยละ 82 ของผู้เข้าร่วมระบุว่าจะลดหรือหลีกเลี่ยงการบริโภคปลาดิบในชีวิตประจำวัน อีกทั้งยังสามารถ อธิบายแนวทางในการป้องกันตนเองและคนในครอบครัวได้อย่างถูกต้องและครบถ้วน

โดยสรุป โครงการวิจัยนี้ได้ให้ข้อมูลเชิงลึกทั้งในด้านความหลากหลายของชนิดปลาพาหะและ ข้อมูลพันธุกรรมระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ อย่างยั่งยืน เนื่องจากโรคนี้มีความซับซ้อนทั้งในด้านวงจรชีวิต ปัจจัยสิ่งแวดล้อม พฤติกรรมการบริโภค และความแตกต่างของความไวต่อการติดเชื้อในระดับบุคคลและประชากร การใช้เพียงวิธีการรักษาหรือ ควบคุมแบบดั้งเดิม เช่น การรณรงค์เปลี่ยนพฤติกรรมการกินปลา หรือการใช้ยาถ่ายพยาธิ อาจไม่เพียงพอ ในการแก้ปัญหาในระยะยาว แต่การเข้าใจข้อมูลพันธุกรรมในระดับโมเลกุลจะช่วยให้การจัดการโรคเป็นไป อย่างแม่นยำและยั่งยืน ดังนั้น การทำความเข้าใจความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิใบไม้ตับ การ วิเคราะห์จีโนม (genome) และทรานสคริปโตม (transcriptome) ของพยาธิใบไม้ตับ ช่วยเปิดเผยความ แตกต่างของสายพันธุ์ ความสามารถในการปรับตัว และกลไกการดื้อต่อยา การรู้ข้อมูลเหล่านี้ช่วยให้ สามารถพัฒนายาที่ตรงเป้าหมาย ลดความเสี่ยงต่อการดื้อยา และออกแบบมาตรการควบคุมที่สอดคล้อง กับความแตกต่างของประชากรพยาธิในแต่ละพื้นที่ การทำความเข้าใจปฏิสัมพันธ์ระหว่างพยาธิและ ร่างกายมนุษย์ในระดับโมเลกุลข้อมูลพันธุกรรมและโปรตีโอมิกส์ของพยาธิใบไม้ตับช่วยระบุโปรตีนที่ เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อและการก่อมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) การระบุยีนหรือโปรตีนเหล่านี้ สามารถนำไปสู่การพัฒนาตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคในระยะเริ่มต้น รวมทั้งเป็นเป้าหมายใหม่ในการรักษา การพัฒนาวัคซีนเชิงโมเลกุล การค้นหายีนและโปรตีนสำคัญที่พยาธิ ใช้ในการรุกรานหรืออยู่รอดในโฮสต์ สามารถใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการพัฒนาวัคซีนเชิงป้องกัน เพื่อลด อัตราการติดเชื้อในระยะยาว และเป็นวิธีการควบคุมที่ยั่งยืนมากกว่าการใช้ยาเพียงอย่างเดียว ดังนั้น ข้อมูลพันธุกรรมระดับโมเลกุลจึงเปรียบเสมือน “กุญแจหลัก” ที่เชื่อมโยงระหว่างทำความเข้าใจกลไก เชิงลึกของการติดเชื้อ การปฏิสัมพันธ์ระหว่างพยาธิและโฮสต์ การพัฒนานวัตกรรมทางการแพทย์ ตลอดจนการออกแบบมาตรการเชิงนโยบายและสาธารณสุข เพื่อมุ่งสู่การควบคุมและป้องกันโรคพยาธิ ใบไม้ตับอย่างยั่งยืน ลดภาระทางสุขภาพ เศรษฐกิจ และสังคมในพื้นที่ระบาดอย่างเป็นรูปธรรม

นอกจากนี้ การสร้างความตระหนักรู้ในชุมชนได้นำไปสู่การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภค อาหารที่ปลอดภัยมากยิ่งขึ้น อันเป็นรากฐานสำคัญของการพัฒนาสุขภาพระดับชุมชนในระยะยาว ทั้งนี้ หากสามารถต่อยอดผลการศึกษาไปสู่การออกแบบนโยบายสาธารณสุขระดับพื้นที่และการบูรณาการ ร่วมกับภาคีเครือข่ายที่เกี่ยวข้อง ก็จะสามารถลดภาระโรคที่เกิดจากพยาธิใบไม้ตับในจังหวัดเพชรบูรณ์ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ

บรรณานุกรม

กันยารัตน์ ไชยสุต. **เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes***. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 2532.

กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. **มาตรฐานการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเพื่อการส่งออก**. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:

<http://www.fisheries.go.th/newsupdate/standard.doc> (1 ตุลาคม 2556).

ชวลิต วิทยานนท์. **ปลาน้ำจืดไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 2. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชั่นส์, กรุงเทพฯ, 2544.

ชวลิต วิทยานนท์. **ปลาน้ำจืดไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 4. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชั่นส์, กรุงเทพฯ, 2546.

ชวลิต วิทยานนท์. **คู่มือปลาน้ำจืด**. สำนักพิมพ์สารคดีในนามบริษัทวิริยะธุรกิจ จำกัด, กรุงเทพฯ, 2547.

ชวลิต วิทยานนท์. **ปลาน้ำจืดไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 5. นานมีบุ๊คส์พับลิเคชั่นส์, กรุงเทพฯ, 2548.

ชวลิต วิทยานนท์ จรัสธาดา กรรณสูตร และ จารุจินต์ นกิตะภัก. **ความหลากหลายชนิดของปลาน้ำจืด**

ในประเทศไทย. บริษัทอินทริเกรตเต็ด โปรโมชัน เทคโนโลยี จำกัด, กรุงเทพฯ, 2540.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. **พันธุศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2546.

ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากตุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. การศึกษาการไหลไปของปลาหางม่วง ทางเหลือองไส้ตัน และแก้มข้างสาละวินที่พบในประเทศไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของ**

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (2549) หน้า 469-476. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.

ธวัช ดอนสกุล อัจฉริยา รังษิรุจิ และ วิเชียร มากตุ่น. การไหลไปของปลาจาก จาด ปากเปลี่ยน และสร้อยน้ำเงินที่พบในประเทศไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 (2550) หน้า 740-748. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.**

ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากตุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. การไหลไปของปลาฝักพร้าว มอน กาแดงแม่น้ำมูล น้ำหมึก และเตปแก้วที่พบในประเทศไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของ**

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 (2555) หน้า 439-446. สาขาสัตว สัตวแพทยศาสตร์ และสาขาประมง, กรุงเทพฯ.

วีรยุทธ์ เลหาะจินดา และ วุฒิ ทักษิณธรรม. **หลักอนุกรมวิธานสัตว์**. สำนักพิมพ์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2549.

วีรยุทธ์ เลหาะจินดา. **วิทยาสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก**. สำนักพิมพ์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2552.

วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. การศึกษาโครโมโซมของปลาทราย ปลาตองลาย และปลาสร้อยที่พบในประเทศไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 (มกราคม 2533) หน้า 459-466. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตว สัตวแพทย์ และประมง, กรุงเทพฯ.**

วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. การศึกษาโครโมโซมของปลาแก้มแดง ปลาทรงเครื่อง และปลาเยือกเทศ. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31** (3-6 กุมภาพันธ์ 2536) หน้า 543-551. สาขาสัตว ปรเมง สัตวแพทยศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. **ธุรกิจค้าปลาสวยงาม**: ตลาดในประเทศเติบโตดี...ส่งออกยังแข่งขันรุนแรง. วารสารมองเศรษฐกิจ ฉบับที่ 1928, (16 มกราคม 2550.). [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.kasikornresearch.com/TH/Pages/SearchforResearch.aspx> (8 ตุลาคม 2562)

สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ. **ศักยภาพการผลิตปลาสวยงามของประเทศไทย**. กรมประมง, 2543.

สถาบันพัฒนาปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ. **การทำธุรกิจปลาสวยงาม**. กรมประมง, กรุงเทพมหานคร, 2540.

สมโภชน์ อัคระทวีวัฒน์. **ประวัติความเป็นมาปลาหมอสีและอนุกรมวิธาน คู่มือปลาหมอสี**: 9-54. กรมประมง, กรุงเทพมหานคร, 2544.

สมโภชน์ อัคระทวีวัฒน์. **สารานุกรมปลาน้ำจืดไทย เล่ม ๒**. องค์การค้าของคุรุสภา, 2547.

สมพร ประเสริฐสงสกุล. **พันธุศาสตร์โมเลกุล**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, 2547.

อมรา คัมภีรานนท์. **พันธุศาสตร์ของเซลล์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2546.

อัญฉริยา รังษิรุจิ วิเชียร มากตุ่น และ ธวัช ดอนสกุล. คาร์ิโอไทป์ของปลาแค้ว แค้ววาย แค้ง และแค้ตืด หินสามแถบที่พบในประเทศไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45**. (2550) หน้า 732-739. สาขาประมง, กรุงเทพฯ.

อุวะ อิโรชิ, ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. คาร์ิโอไทป์ของปลากระแหและปลาของไทย. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27** (30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2532) หน้า 429-433. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตว สัตวแพทย์ และประมง, กรุงเทพฯ.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. **พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2543.

Andreata, A.A., Almeida-Toledo, L.F., Oliveira, C. and Toledo Filho, S.A. 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 (1993). 215-220.

- Arai, R. 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 (1982): 115-118.
- Buth, D.G., Dowling, T.E. and Gold, J.R. Molecular and cytological investigation. In : Winfield, J. J. & Nelson, J. S. (eds.): *Cyprinid fishes systematics, biology and exploitation*. Chapman & Hall, London. **Fisheries Series** 3 (1991): 81-126.
- Cytogenetic Laboratory of Wuhan University. A preliminary report of fish chromosomes of 7 families and 23 species. **Wuhan University Journal of Natural Sciences** 3 (1981): 14. [In Chinese].
- Chanda, T. *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: (1998). 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. Karyological evidence of female heterogamety in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. **Copeia** 1 (1968): 70-75.
- Choudhury, R.C., Prasad, R. and Das, C.C. Chromosomes of four Indian marine catfishes (Bagridae, Ariidae: Siluriformes) with a heteromorphic pair in male *Mystus gulio*. **Caryologia** 46 (1993): 233-243.
- Das, J.K. and Khuda-Bukhsh, A.R. 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 (2007): 413-418.
- Das, R.K. and Kar, R.N. Somatic chromosome analysis of a siluroid fish, *Rita chrysea* Day. **Caryologia** 30 (1977): 247-253.
- Fujioka, Y. 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 (1973): 191-195. [In Japanese with English summary]
- Fujiwara, A., Nishida-Umehara, C., Sakamoto, T., Okamoto, N., Nakayama, I. and Abe, S. Improved fish lymphocyte culture for chromosome preparation. **Genetica** 111 (2001): 78-89.
- Gold, J.R., Amemiya, C.T. and Ellison, J.R. Chromosomal heterochromatin differentiation in North American cyprinid fishes. **Cytologia** 51 (1986): 557-566.
- Gary, H.T. and E.D. Jane. Chromosome preparation and analysis: (1990) 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. 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 (1986): 119-127. [In Chinese with English abstract]
- Hong, Y.H. and Zhou, T. Karyotypes of nine species of Chinese catfishes (Bagridae). **Zoological Research** 5 (1984): 21-28. [In Chinese with English abstract]
- Howell, W.M. and Black, D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia** 36 (1980): 1014-1015.
- Kim, D.S., Park, E.H. and Kim, J.S. Karyotypes of nine species of the Korean catfishes (Teleostomi: Siluriformes). **Korean Journal of Genetics** 4 (1982): 57-68.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Rahman, A., Chanda, T., Nayak, K. and Khuda-Bukhsh, A. Diploid numbers and chromosome formulae of some 29 species of Indian teleosts (Pisces). **Chromosome Information Service** 58 (1995): 38-39.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Das, J.K. Cytogenetic analyses in eight species of teleostean fishes (Pisces): karyotypes, multiple Ag-NORs, sex chromosomes. **Research & Review Bio-Sciences (India)** 1 (2007): 47-52.
- Khuda-Bukhsh, A.R. Somatic chromosomes of an exotic fish *Puntius japonicus*. **Journal of the Cytologic and Genetics (India)** Congress Supply: (1975): 118-120.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Chanda, T. and Barat, A. 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 (1986) pp. 886-898.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Barat, A. Chromosomes in fifteen species of Indian teleosts (Pisces). **Caryologia** 40 (1987): 131-144.
- Khuda-Bukhsh, A.R., Gupta, S.K. and Goswami, S. Karyotypic studies in *Garra lamta* and *Mystus cavassius* (Pisces). **Proceeding of the Indian Academy of Science Section Science B** 89 (1980): 557-562.
- Khuda-Bukhsh, A.R. and Nayak, K. Karyotypic studies in six species of brackish water fishes from India. **La Kromosomo II** 58 (1990): 1955-1960.
- Krishnaja, A.P. and Rege, M.S. Some observations on the chromosomes of certain teleosts using a simple method. **Indian Journal of Experimental Biology** 18 (1980): 268-270.
- Lakra, W.S. and Rishi, K.K. Chromosomes of Indian fishes: an annotated list. **India Journal Animal Science** 61 (1991): 342-349.
- Lee, H.Y., Yu, C.H., Jeon, S.K. and Lee, H.S. The karyotype analysis on 29 species of fresh water fish in Korea. **Bulletin of the Institute of Basic Sciences, Inha University** 4 (1983): 79-86. [In Korean with English abstract]
- Li, S.S., Wang, R.F., Liu, G.Z., Wang, Y.X. and Li, C.Y. A karyotype study of *Coreglanis kishinouyei* and *Euchiloglanis davidi*. **Transactions of the Chinese Ichthyological Society** 2 (1981): 153-156. [In Chinese with English abstract]
- Ling, J.X. Studies on the karyotypes of eight species of fish. **wuhan university journal of natural sciences** 2 (1982): 109-112, 121-122. [In Chinese with English abstract]
- Manna, G.K. and Prasad, R. A new perspective in the mechanism on evolution of chromosome in fishes. **Proceedings of the First All India Congress of Cytology and Genetics** (1971): 237-240.
- Manna, G.K. and Prasad, R. Cytological evidence for two forms of *Mystus vittatus* (Bloch) as two species. **Nucleus** 17 (1974): 4-8.
- Manna, G.K. and Khuda-Bukhsh, A.R. Karyomorphological studies in three species of teleostean fishes. **Cytologia** 43 (1978): 69-73.
- Magtoon, W. and Arai, R. Karyotypes of bagrid catfishes, *Mystus wyckii* and *Bagroides macracanthus*, from Thailand. **Bulletin of the National Science Museum Tokyo (A)** 14 (1988): 113-117.

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

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

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

2.2 การเตรียม Colchicine

- สูตรที่ 1 ชั่ง colchicines 0.005 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
 ได้ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร
- สูตรที่ 2 ชั่ง colchicines 0.0025 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
 ได้ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร
- Colchicine powder เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2.3 การเตรียม Fixative

2.3.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) Glacial acetic acid
- 2) Absolute methanol

2.3.2 วิธีเตรียม

ใช้ glacial acetic acid 1 ส่วน ผสมกับ absolute methanol 3 ส่วน เก็บใส่ขวด แช่ในตู้เย็น (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

2.4 การเตรียม Sorensen buffer

2.4.1 สารที่ใช้เตรียม

- 1) Stock Solution A: ใช้ KH_2PO_4 9.1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร
- 2) Stock Solution B: ใช้ NaHPO_4 9.5 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

2.4.2 วิธีเตรียม

ใช้ Stock Solution A 50.8 มิลลิลิตร ผสมกับ Stock Solution B 49.2 มิลลิกรัม จะได้ Sorensen buffer (pH 6.8) 100 มิลลิกรัม

2.5 การเตรียมสีย้อม Giemsa

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

สีย้อมจิมซ่า 10% เตรียมจาก Giemsa's stain ใช้ชนิด Stock Giemsa's Solution โดยดูดสีย้อมจิมซ่าจาก 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's 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
การเผยแพร่ผลงานวิจัย

CYTOLOGIA

Karyological investigation of three Boraras species (Danionidae, Rasborinae) from Thailand --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Regular Article
Full Title:	Karyological investigation of three Boraras species (Danionidae, Rasborinae) from Thailand
Short Title:	Karyological investigation of three Boraras
First Author:	Sumalee Phimphan
Order of Authors:	Sumalee Phimphan
	Surachest Aiumsumang
	Intira Komphan
	Natnapha Bukiing
Corresponding Author:	Sumalee Phimphan Phetchabun Rajabhat University Phetchabun, central THAILAND
Abstract:	Summary This research aimed to examine karyotypes of three Boraras species, including Boraras maculatus, B. naevus, and B. urophthalmoides from Thailand. Chromosome preparations for karyotype analysis were obtained from renal tissues. Conventional staining technique was applied to stain the chromosomes with Giemsa's solution. The results of this study revealed that all Boraras under study possessed the same diploid chromosome number of 50. Their karyotypes were as follows. Boraras maculatus had 3 metacentric (m) + 21 submetacentric (sm) + 1 acrocentric (a) pairs with the arm number (NF) of 100. B. naevus possessed 5m + 17sm + 3a pairs and NF=100. B. urophthalmoides had 6m + 17sm + 2a pairs and NF=100.
Manuscript Classifications:	1.006: Animal :Vertebrate; 2.003: Cytogenetics; 3.004: Chromosome structure; 3.012: Karyotype analysis
Keywords:	Karyotype; Boraras maculatus; Boraras naevus; Boraras urophthalmoides
Additional Information:	
Question	Response
Suggested Reviewers:	Nuntaporn Getlekha, Ph.D. nanthaphonket@mcr.u.ac.th
	Praween Supanuam supanuam@hotmail.com
	Sarawut Kaewsri weapon_wut@hotmail.com
Opposed Reviewers:	

Regular Article

Karyological investigation of three *Boraras* species (Danionidae, Rasborinae) from Thailand

Surachest Aiumsumang¹, Intira Komphan¹,
Natnapha Bukiing¹, and Sumalee Phimphan^{1*}

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

*Corresponding author, e-mail: sumalee.phi@pcru.ac.th

Numbers of tables (4), grayscale figures (2), and color figures (1)

Short title: Karyological investigation of three *Boraras*

Summary This research aimed to examine karyotypes of three *Boraras* species, including *Boraras maculatus*, *B. naevus*, and *B. urophthalmoides* from Thailand. Chromosome preparations for karyotype analysis were obtained from renal tissues .Conventional staining technique was applied to stain the chromosomes with Giemsa's solution .The results of this study revealed that all *Boraras* under study possessed the same diploid chromosome number of 50. Their karyotypes were as follows. *Boraras maculatus* had 3 metacentric (m) + 21 submetacentric (sm) + 1 acrocentric (a) pairs with the arm number (NF) of 100. *B. naevus* possessed 5m + 17sm + 3a pairs and NF=100. *B. urophthalmoides* had 6m + 17sm + 2a pairs and NF=100.

Keywords Karyotype, *Boraras maculatus*, *Boraras naevus*, *Boraras urophthalmoides*

Boraras currently includes six species, most of which were formerly placed in *Rasbora* Bleeker: *B. brigittae* (Vogt, 1978), *B. maculatus* (Duncker, 1904), *B. merah* (Kottelat, 1991), *B. micros* Kottelat & Vidthayanon, 1993, *B. urophthalmoides* (Kottelat, 1991) and *B. naevus* Conway & Kottelat, 2011 (Conway and Kottelat, 2011). Several phylogenetic investigations have recovered *Boraras* as a monophyletic group and suggest that the genus *Trigonopoma* Liao, Kullander & Fang (= *R. pauciperforata*-group of Kottelat and Vidthayanon, 1993) may represent the sister group to *Boraras* (Conway, 2005; Liao et al., 2009; Tang et al., 2010). Members of the cyprinid genus *Boraras* are small, brightly colored fishes that inhabit swamps and slow-flowing streams throughout much of Southeast Asia (Kottelat and Vidthayanon, 1993). Reaching maximum adult sizes less than 20 mm in standard length, all members of *Boraras* are considered miniature fishes (sensu Weitzman and Vari, 1988) and exhibit a number of reductive characteristics, including the absence of the body lateral line, reduced cephalic lateral line system, low numbers of scales, branched fin rays, gill rakers and pharyngeal tooth rows (Kottelat and Vidthayanon, 1993), and the complete absence of a number of skeletal elements (Conway, 2005; Britz and Conway, 2009).

Karyotype studies have played a crucial role in understanding the evolutionary history and diversity of fish species. Indeed, fish are excellent models for cytogenetic studies because they exhibit diverse karyotypes, including diploid and polyploid genomes, in addition to sex chromosomes, which offer unique insights into chromosome structure and behavior (Cioffi et al., 2010). They are used to identify genetic disorders and can be helpful in understanding evolutionary relationships between species. Nowadays, several methods namely, conventional staining, C-banding, Ag-NOR banding and FISH (fluorescence *in situ* hybridization) have been used by ichthyologists for the gathering of cytogenetic information of fish (Sola et al., 2000; Kavaco et al., 2005), yet each of these methods provides a different aspect of the karyotype

characteristics. Further, karyotypic information can throw light on phylogenetic relationship between different species and karyotype evolution in fish species. In view of the above, cytogenetic data for *Boraras* are scarce. In the present research, karyotype of *Boraras* species typically involves a diploid chromosome number of $2n=50$, with no observed differences in sex chromosomes between males and females. The fundamental number (NF), which represents the total number of chromosome arms, varies. For example, *B. maculatus* has a NF of 92, while *B. urophthalmoides* has a NF of 94. The karyotype formula describes the number and types of chromosomes. For instance, *B. maculatus* has a karyotype formula of $2n (50) = 6m + 15sm + 2a + 2t$, while *B. urophthalmoides* is $2n (50) = 9m + 13sm + 1a + 2t$ (Donsakul *et al.*, 2009).

In the present study, we explore the cytogenetic report of three *Boraras*, including *B. maculatus*, *B. naevus*, and *B. urophthalmoides*. This study is the first chromosome record of *B. naevus*. In the future, basic knowledge and cytogenetics of three *Boraras* species could be applied to several studies, especially for their cytotaxonomy.

Materials and methods

Preparation of chromosome spreads

B. maculatus, *B. naevus* and *B. urophthalmoides* specimens used in this study (Figure 1). This research was conducted under animal use permission of scientific purposes code U1-05662-2559. The chromosomes were prepared in vivo, and cell suspensions with mitotic chromosomes were obtained from the anterior kidney, using the conventional air-drying method (Aiumsumang, 2021). Conventional staining was done using 10% Giemsa's solution for 10 min (Rooney, 2001).

Metaphases were photographed under Olympus Bx50 microscope (Olympus Corporation, Ishikawa, Japan). Chromosomes photographs of 100 metaphase spreads were taken from each species by conventional Giemsa's staining and the best 20 were used for karyological examination. The length of the short arm chromosome (Ls) and the long arm chromosome (Ll) were measured and the length of the total arm chromosome (LT, $LT = Ls + Ll$) was calculated. The relative length (RL), the centromeric index (CI), and standard deviation (SD) of RL and CI were estimated (Turpin and Lejeune, 1965). The CI ($q/p + q$) between 0.50 and 0.59, 0.60–0.69, 0.70–0.89, and 0.90–0.99 were described as metacentric, submetacentric, acrocentric and telocentric chromosomes, respectively. The fundamental numbers (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 data were used in karyotyping and idiogramming.

Results and discussion

All studied species share the same diploid chromosome number as $2n=50$ and fundamental number (NF)=100, but there are differences in karyotypes. The diploid number of *B. maculatus* and *B. urophthalmoides* were in concordance with previous cytogenetics data (Donsakul *et al.*, 2009), and similar to another species in *Rasbora* (Post, 1965; Khuda-Bukhsh *et al.*, 1979; Donsakul and Magtoon, 1995; Manna and Khuda-Bukhsh, 1977; Donsakul and Magtoon, 2002; Seetapan and Moeikum, 2004; Donsakul *et al.*, 2005; Donsakul *et al.*, 2009; Yeesaem *et al.*, 2019; Aiumsumang *et al.*, 2021; 2022a; 2022b). These species have the chromosome diploid number of $2n=50$, which is the apparent modal diploid number of the

Rasbora .Accordingly, it can be concluded that chromosome number in this genus is conserved. However, it differs from some species of previous report in the *R. Heteromorpha* (Post, 1965; Donsakul *et al.*, 2005) and *R. Trilineata* (Post, 1965) which was $2n=48$.

The karyotypic analysis revealed that the chromosome complement of *B. maculatus* consisting of 3 metacentric (m) + 21 submetacentric (sm) + 1 acrocentric (a) *chromosomes* .The mean values calculated from twenty mitotic metaphases showed the centromeric index of chromosome complements ranging from 0.581 ± 0.094 to 0.710 ± 0.064 .The karyotype formula of *B. maculatus* could be deduced as : $2n (50) = 6m+42sm+2a$. The karyotype of *B. urophthalmoides* was composed of $6m + 17sm + 2a$ chromosomes (Figure 2A. and Table 2) The mean values calculated from twenty mitotic metaphases showed the centromeric index of chromosome complements ranging from 0.528 ± 0.028 to 0.755 ± 0.029 . The karyotype formula of *B. urophthalmoides* could be deduced as : $2n)50 = (12m + 34sm + 4a$ (Figure 2B. and Table 2). The type chromosomes and NF of two species, including *B. maculatus* and *B. urophthalmoides* herein differ from those previously reported (Donsakul *et al.*, 2009) these differences may be due to inter-population variation in this species .This difference may be on account of inter-population variation emanating from pericentric inversions. Comparison of the present results and previous reports (Table 1). This is the first report on *B. naevus* showed $5m + 17sm + 3a$ chromosomes. The present investigation in this fish species revealed that the mean value of centromeric index ranged from 0.543 ± 0.043 to 0.702 ± 0.003 .The suggested karyotype of this species was $2n (50) = 10m + 34sm + 6a$ (Figure 2C. and Table 2). The NFs of the genus *Boraras* range from 92 to 94 and karyotypes are composed of both mono - and bi- arms chromosome. Nirchio *et al.*, (2014) proposed that species with high NF is advanced state or apomorphic character whereas one with low NF is a primitive state or plesiomorphic character. Thus, the *Boraras* seems to be advanced karyotype. The ideogram (Figure 4) shows a continuous length gradation of chromosomes .The

size differences between the largest and smallest chromosomes show approximately two-fold .
The data of the chromosome measurement on mitotic metaphase cells (from all specimens) are
shown in Table 2, 3 and 4.

In summary, the present cytogenetic procedure results provide basic information of the
karyotypic features in three yet understudied *Borarus* species. Each species can be clearly
distinguished by cytogenetic analysis. These results also provide important data for systematics
within this family. Further studies, other species comprising a high number of species in the
Borarus should be studied additionally by both cytogenetic and molecular hybridization
procedure techniques to provide a better understanding about the chromosomal evolution and to
characterize biodiversity.

Author contributions

Surachest Aiumsumang, Intira Komphan, Natnapha Buring, and Sumalee Phimphan provided
the samples and identified them. Surachest Aiumsumang planned the study. Surachest
Aiumsumang, Intira Komphan, Natnapha Buring conducted cytogenetic studies. Sumalee
Phimphan analyzed the data and wrote the manuscript. All authors approved the final manuscript.

Acknowledgments

This study was supported by the National Research Council of Thailand under the
Phetchabun Rajabhat University (Grant No. 207950).

References

- Aiumsumang, S., Phimphan S., Suwannapoom C., Chaiyasan P., Supiwong W., Tanomtong A. and 2021 .A comparative chromosome study on five Minnow fishes)Cyprinidae, Cypriniformes(in Thailand .Caryologia **74**1:(89–96.
- Aiumsumang, S., Chaiyasan, P., Khoomsab, K., Supiwong, W., Tanomtong, A., and Phimphan, S. 2022a. Comparative chromosome mapping of repetitive DNA in four minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes). Caryologia **75**(2): 71–80.
- Aiumsumang, S., Phimphan, S., Tanomtong, A. and Supiwong, W. 2022b. Chromosome study of *Rasbora trilineata* and *Rasbora borapetensis* (Cyprinidae, Cypriniformes): Reveal by conventional staining technique. Science Technology and Engineering Journal **8**(2): 29–39.
- Conway, K.W. 2005. Monophyly of the genus *Boraras* (Teleostei: Cyprinidae). Ichthyol. Explor. Freshw. **16**: 249–264.
- Conway, K.W. and M. Kottelat, 2011. *Boraras naevus*, a new species of miniature and sexually dichromatic freshwater fish from peninsular Thailand (Ostariophysi: Cyprinidae). Zootaxa 3002: 45–51.
- Cioffi, M.B. and Bertollo, L.A.C. 2012. Chromosomal distribution and evolution of repetitive DNAs in fish. In Repetitive DNA Genome Dyn. Basel, 1st ed.; Garrido-Ramos, M.A., Ed.; Karger Publishers: Basel, Switzerland 7: 197–221.
- Rooney, D.E. 2001. Human Cytogenetics:Constitutional analysis:A Practical approach. 3rd ed.London:Oxford University Press.
- Brittan, M.R. 1954. A revision of the Indo-Malayan fresh-water fish genus *Rasbora*.
- Donsakul, T. and Magtoon, W. 1995. Karyotypes of four Cyprinid fishes, *Osteochilus melanopleura*, *Puntioplites proctozysron*, *Paralaubuca riveroi* and *Rasbora sumatrana* from Thailand. In: 33rd Conference of Kasetsart University. Fisheries. 128–138. [In Thai]
- Donsakul, T., and Magtoon, W .2002 .Karyotype of *Rasbora Caudimaculata*, *R .myersi*, *R .retrodorsalis*, *R .paviei* from Thailand .Academic conference seminar for research papers of Srinakharinwirot University .Bangkok .1–7] .In Thai[
- Donsakul, T., Magtoon, W .and Rangsiruji, W .2005 .Karyotype of five species of fish)Pla siew (in subfamily Rasboranae .31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology .Nakhon Ratchasima Province Thailand.
- Donsakul, T., Rangsiruji, A .and Magtoon, W .2009 .Karyotypes of five cyprinid fishes)Cyprinidae, Danioninae-Danionini :(*Rasbora agilis*, *R .dorsiocellata*, *R .rubrodorsalis*, *Boraras maculate* and *B .urophthalmoides* from Thailand .In Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart Bangkok, Thailand .320–327.

- Kottelat, M. and Vidthayanon, C. 1993. *Boraras micros*, a new genus and species of minute freshwater fish from Thailand (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyol. Explor. Freshw.* **4**: 161–176.
- Kavaco, K.F., Pazza, R., Bertollo, L.A.C. and Moreira-Filho, O. 2005. Molecular cytogenetics of *Oligosarcus hepsetus* (Teleostei, Chareciformes) (from two Brazilian locations). *Genet.* **124**, 85–91.
- Khuda-Bukhsh, A.R. 1979. Karyology of two species of hillstream fishes, *Barilius bendelisis* and *Rasbora daniconius* (Fam. Cyprinidae). (*Curr. Sci.* **48**: 793–794.
- Liao, T.Y., Kullander S.O. and Fang, F. 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Rasbora* (Teleostei: Cyprinidae). *Zool. Scr.* **39**: 155–176.
- Manna, G.K., and Khuda-Bukhsh, A.R. 1977. Karyomorphology of cyprinid fishes and cytological evaluation of the family. *The Nucleus* **20**: 119–127.
- Nirchio, M., Rossi, A.R., Foresti, F., Oliveira, C. 2014. Chromosome evolution in fishes: A new challenging proposal from Neotropical species. *Neotrop. Ichthyol.* **12**: 761–770.
- Post, A. 1965. Vergleichende Untersuchungen der chromosomenzahlen bei Süßwasser-Teleostern. In: Gyldenholm, A.O. & Scheel, J.J. Chromosome number of fishes I. *J. Fish Biol.* **3**: 47–93.
- Sola, L., De Innocentiis, S., Gornung, E., Papalia, S., Rossi, A.R., Marino, G., De Marco P, Cataudella S. 2000. Cytogenetic analysis of *Epinephelus marginatus* (Pisces: Serranidae), with the chromosome localization of the 18S and 5S rRNA genes and of the (TTAGGG)_n telomeric sequence. *Marine Biol.* **137**: 47–51.
- Seetapan, K., and Moeikum, T) .2004. (Karyotypes of ten Cyprinid fishes) Family Cyprinidae. (*J. Agric. Ext.* **22**: 92–101] .in Thai[
- Tang, K.L., Agnew, M.K., Chen, W.-J., Hirt, M.V., Sado, T., Schneider, L.M., Freyhof, J., Sulaiman, Z., Swartz, E., Vidthayanon, C., Miya, M., Saitoh, K., Simons, A.M., Wood, R.M. and Mayden, R.L. 2010. Systematics of the subfamily Danioninae (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **57**: 189–214.
- Turpin, R. and Lejeune, J. 1965. *Les Chromosomes Humains*. Gauthier-pillars, Paris.
- Yeesaem, N., Jantararat, S. and Yeesin, P. 2019. Cytogenetic Characterization of *Rasbora einthovenii* in Sirindhorn Peat Swamp Forest, Narathiwat Province. *J. Fish. Technol. Res.* **13**: 58–68.

234

Table 1 Cytogenetic publications of the genus *Boraras*.

Species	2n	NF	Karyotype formula	References
<i>Boraras maculatus</i>	50	92	6m+15sm+2a+2t	Donsakul <i>et al.</i> (2009)
	50	100	3m+21sm+1a	This study
<i>B. naevus</i>	50	100	5m + 17sm + 3a	This study
<i>B. urophthalmoides</i>	50	94	9m+13sm+1a+2t	Donsakul <i>et al.</i> (2009)
	50	100	6m+17sm+2a	This study

235

Remarks :2n=diploid chromosome, NF=fundamental number m, sm, a =2, t=1, m=metacentric,

236

sm=submetacentric, st=subtelocentric, a =acrocentric and t=telocentric chromosome.

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

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

Chromosome pairs	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	CI±SD	RL±SD	Chromosome size	Chromosome type
1	0.953	1.353	2.306	0.587±0.033	0.057±0.005	Large	metacentric
2	0.722	1.351	2.072	0.652±0.035	0.051±0.004	Large	submetacentric
3	0.729	1.315	2.044	0.643±0.045	0.051±0.003	Large	submetacentric
4	0.639	1.249	1.888	0.662±0.100	0.047±0.003	Large	submetacentric
5	0.641	1.196	1.838	0.651±0.034	0.045±0.002	Large	submetacentric
6	0.608	1.189	1.798	0.661±0.053	0.044±0.002	Large	submetacentric
7	0.630	1.127	1.757	0.641±0.027	0.043±0.002	Large	submetacentric
8	0.580	1.140	1.720	0.663±0.044	0.042±0.002	Medium	submetacentric
9	0.588	1.095	1.683	0.651±0.044	0.042±0.003	Medium	submetacentric
10	0.616	1.043	1.659	0.629±0.038	0.041±0.002	Medium	submetacentric
11	0.556	1.049	1.605	0.654±0.027	0.040±0.002	Medium	submetacentric
12	0.521	1.071	1.591	0.703±0.064	0.039±0.002	Medium	acrocentric
13	0.597	0.972	1.569	0.620±0.025	0.039±0.002	Medium	submetacentric
14	0.499	1.063	1.562	0.681±0.094	0.039±0.005	Medium	metacentric
15	0.536	0.997	1.533	0.650±0.049	0.038±0.003	Medium	submetacentric
16	0.531	0.999	1.531	0.653±0.075	0.038±0.003	Medium	submetacentric
17	0.578	0.943	1.520	0.620±0.040	0.038±0.003	Medium	submetacentric
18	0.537	0.936	1.473	0.635±0.036	0.036±0.001	Medium	submetacentric
19	0.540	0.917	1.457	0.629±0.037	0.036±0.003	Medium	submetacentric
20	0.511	0.921	1.432	0.643±0.059	0.035±0.003	Medium	submetacentric
21	0.500	0.848	1.348	0.629±0.042	0.033±0.002	Medium	submetacentric
22	0.499	0.844	1.342	0.629±0.038	0.033±0.004	Medium	submetacentric
23	0.532	0.779	1.311	0.594±0.029	0.032±0.003	Medium	metacentric
24	0.502	0.787	1.289	0.611±0.049	0.032±0.002	Medium	submetacentric
25	0.446	0.701	1.147	0.611±0.080	0.028±0.002	Small	submetacentric

Remarks: Ls= short arm chromosome, Ll= length of long arm chromosome, LT= length of total chromosomes, RL=relative length, CI=centromeric index, SD=standard deviation.

Table 3. Karyomorphological details of *B. naevus* from 20 metaphases chromosome, 2n (diploid)=50.

Chromosome pairs	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	CI±SD	RL±SD	Chromosome size	Chromosome type
1	0.697	1.276	1.973	0.647±0.006	0.054±0.001	Large	submetacentric
2	0.574	1.251	1.825	0.685±0.007	0.050±0.002	Large	submetacentric
3	0.600	1.160	1.760	0.659±0.011	0.048±0.001	Large	submetacentric
4	0.615	0.937	1.552	0.604±0.028	0.042±0.002	Large	submetacentric
5	0.612	0.956	1.568	0.610±0.012	0.043±0.001	Large	submetacentric
6	0.488	1.150	1.637	0.702±0.003	0.044±0.000	Large	acrocentric
7	0.491	0.957	1.448	0.701±0.008	0.039±0.002	Medium	acrocentric
8	0.560	0.940	1.500	0.627±0.028	0.041±0.000	Medium	submetacentric
9	0.727	0.864	1.591	0.543±0.043	0.043±0.001	Medium	metacentric
10	0.630	0.998	1.628	0.573±0.035	0.044±0.003	Medium	metacentric
11	0.538	0.929	1.467	0.634±0.027	0.040±0.001	Medium	submetacentric
12	0.471	1.054	1.524	0.701±0.015	0.041±0.002	Medium	acrocentric
13	0.583	0.805	1.388	0.580±0.006	0.038±0.000	Medium	metacentric
14	0.485	0.891	1.376	0.648±0.002	0.037±0.001	Medium	submetacentric
15	0.557	0.995	1.551	0.641±0.035	0.042±0.002	Medium	submetacentric
16	0.484	0.895	1.379	0.649±0.005	0.037±0.001	Medium	submetacentric
17	0.542	0.877	1.419	0.618±0.036	0.039±0.001	Medium	submetacentric
18	0.538	0.871	1.409	0.618±0.025	0.038±0.004	Medium	submetacentric
19	0.401	0.876	1.277	0.686±0.013	0.035±0.001	Medium	submetacentric
20	0.528	0.812	1.340	0.606±0.011	0.036±0.000	Medium	submetacentric
21	0.520	0.757	1.278	0.593±0.008	0.035±0.001	Medium	metacentric
22	0.546	0.854	1.400	0.610±0.004	0.038±0.002	Medium	submetacentric
23	0.377	0.819	1.196	0.585±0.008	0.032±0.001	Medium	metacentric
24	0.430	0.777	1.207	0.644±0.002	0.033±0.001	Medium	submetacentric
25	0.402	0.706	1.108	0.637±0.012	0.030±0.000	Medium	submetacentric

Remarks: Ls= short arm chromosome, Ll= length of long arm chromosome, LT= length of total chromosomes, RL=relative length, CI=centromeric index, SD=standard deviation.

Table 4. Karyomorphological details of *B. urophthalmoides* from 20 metaphases chromosome, 2n (diploid)=50.

Chromosome pairs	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	CI±SD	RL±SD	Chromosome size	Chromosome type
1	0.715	1.331	2.046	0.651±0.033	0.054±0.004	Large	submetacentric
2	0.667	1.226	1.893	0.648±0.014	0.050±0.001	Large	submetacentric
3	0.595	1.199	1.794	0.668±0.017	0.047±0.002	Large	submetacentric
4	0.646	1.091	1.737	0.588±0.028	0.046±0.002	Large	metacentric
5	0.575	1.142	1.717	0.665±0.037	0.045±0.001	Large	submetacentric
6	0.669	1.034	1.702	0.608±0.034	0.045±0.006	Large	submetacentric
7	0.583	1.108	1.691	0.755±0.029	0.044±0.002	Large	acrocentric
8	0.567	1.081	1.647	0.656±0.028	0.043±0.003	Large	submetacentric
9	0.564	1.014	1.578	0.703±0.028	0.041±0.003	Medium	acrocentric
10	0.574	0.990	1.564	0.633±0.036	0.041±0.003	Medium	submetacentric
11	0.646	0.907	1.553	0.584±0.022	0.041±0.004	Medium	metacentric
12	0.555	0.949	1.504	0.631±0.025	0.039±0.001	Medium	submetacentric
13	0.574	0.926	1.500	0.617±0.033	0.039±0.001	Medium	submetacentric
14	0.553	0.948	1.501	0.632±0.020	0.039±0.001	Medium	submetacentric
15	0.590	0.894	1.484	0.592±0.030	0.039±0.001	Medium	metacentric
16	0.537	0.888	1.425	0.623±0.032	0.037±0.002	Medium	submetacentric
17	0.555	0.851	1.406	0.585±0.022	0.037±0.002	Medium	metacentric
18	0.547	0.853	1.400	0.609±0.015	0.037±0.002	Medium	submetacentric
19	0.549	0.851	1.401	0.607±0.016	0.037±0.002	Medium	submetacentric
20	0.519	0.844	1.363	0.619±0.029	0.036±0.003	Medium	submetacentric
21	0.474	0.845	1.319	0.641±0.054	0.035±0.002	Medium	submetacentric
22	0.508	0.742	1.249	0.594±0.041	0.033±0.002	Medium	submetacentric
23	0.479	0.767	1.246	0.596±0.022	0.033±0.002	Medium	metacentric
24	0.449	0.756	1.205	0.627±0.045	0.032±0.003	Medium	submetacentric
25	0.488	0.710	1.197	0.593±0.034	0.031±0.001	Medium	metacentric

Remarks: Ls= short arm chromosome, Ll= length of long arm chromosome, LT= length of total chromosomes, RL=relative length, CI=centromeric index, SD=standard deviation.

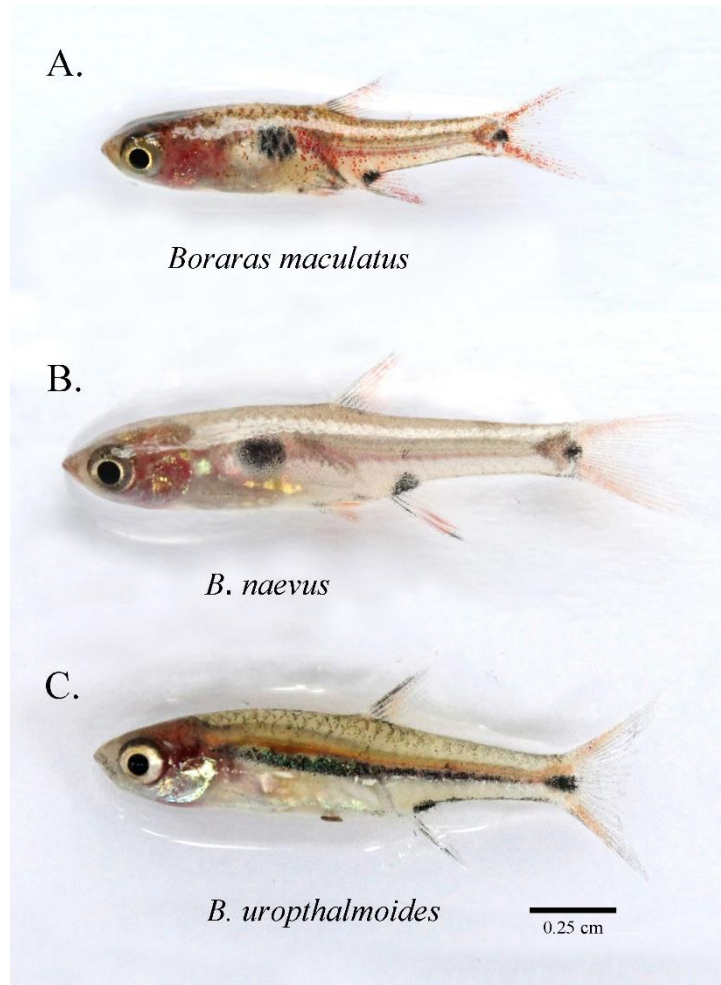


Fig. 1. General characteristics of *Boraras* (A.) *Boraras maculatus*, (B.) *B. naevus* and (C.) *B. urophthalmoides* from Thailand.

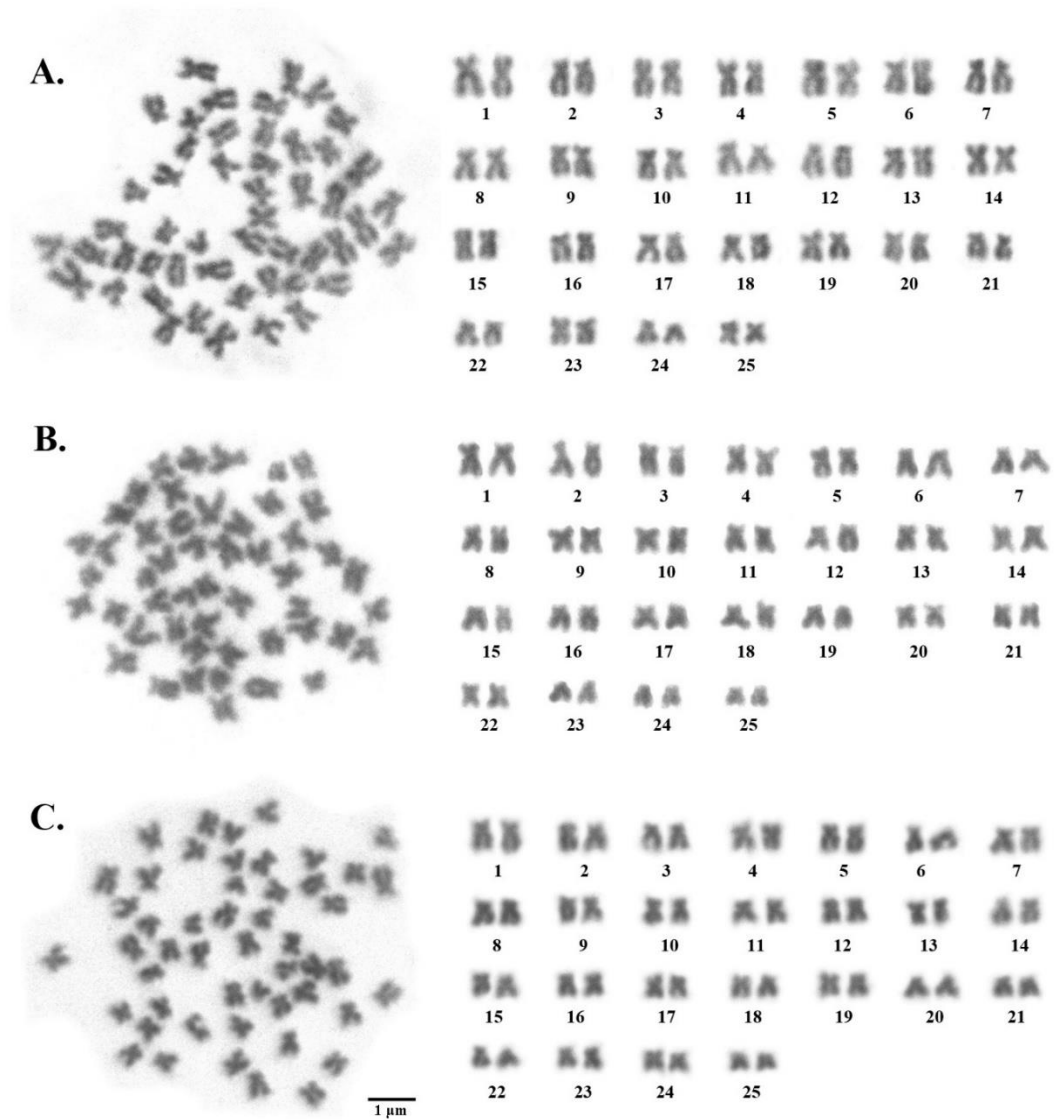


Fig. 2. Metaphase chromosome plates and karyotypes of *Boraras* (A.) *Boraras maculatus*, (B.) *B. naevus* and (C.) *B. urophthalmoides*, by conventional staining. All species share the karyotype composed of 50 chromosomes.

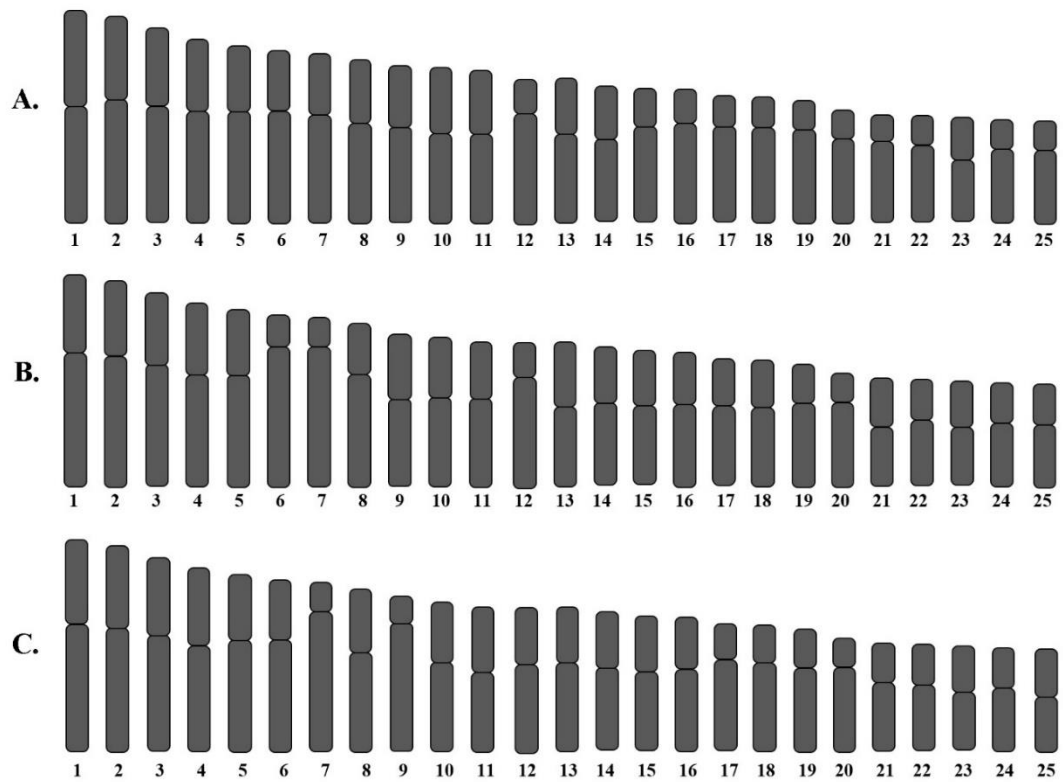


Fig. 3 Idiogram showing lengths and shape of chromosomes of *Borarus* (A.) *Boraras maculatus*, (B.) *B. naevus* and (C.) *B. urophthalmoides*, n (haploid)=25, by conventional staining technique.

ภาคผนวก ค
การเผยแพร่องค์ความรู้สู่ชุมชน

เผยแพร่องค์ความรู้สู่ชุมชน



ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล

รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิมพันธ์

Assoc.Prof.Dr. Sumalee Phimphan

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

83 หมู่ 11 ตำบลสะเตียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000

โทรศัพท์ มือถือ 0834197025

e-mail: joodoof@gmail.com

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญาเอก ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

พันธุศาสตร์เซลล์ของสัตว์

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

• การประชุมสัมมนาวิชาการ

สุมาลี พิมพันธ์ และศุภจิรณ อธิบาย. 2011. ความหลากหลายและความชุกชุมของไรโบโซมในบ่อบำบัดน้ำเสีย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ใน งานประชุมวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2553. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. [โปสเตอร์]

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. [Presentation and full paper proceeding]

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. [Presentation and full paper proceeding]

สุมาลี พิมพันธ์ และ **สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง**. 2562. โครโมโซมของอีกรายห้วยใหญ่ (*Xenophrys major*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์. รายงานสืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 73-80. มหาวิทยาลัยราชภัฏ เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่

สุรางคณา แสงเอี่ยม ศิลาภรณ์ สุนทรักษ์ สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2562. การใช้ เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวในจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงาน สืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 17-25. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่.

สลันญา สอนสุภาพ เจนจิรา เชื้อบุญจันทร์ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2562. โครโมโซม ของปลาอีสกุเทศ (*Labeo rohita*) และปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) ในจังหวัด เพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมสัมมนาวิชาการระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัย ราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 19. หน้า 109-119. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่.

สุปรียา ศิริวารินทร์ บุชยาแก้วน้อย สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2563. โครโมโซมตักแตน ลิงจุดเชื่อมและตักแตนหน้าเอียงขาสีฟ้าจากจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ ระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6. หน้า 324-332. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (ส่วนทะเล แก้ว) จ.พิษณุโลก.

อารียา แสงลาม ธีรพงษ์ ขุนเกี่ยม สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และสุมาลี พิมพันธ์. 2563. โครโมโซมจิ้งหรีด ทองดำ จิ้งหรีดทองแดง และจิ้งโกร่งในจังหวัดเพชรบูรณ์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ ระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6. หน้า 349-358. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (ส่วนทะเล แก้ว) จ.พิษณุโลก.

ณัฐฐินันท์ วันเพ็ญ อาภาอนุช วังศิริ สุมาลี พิมพันธ์และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2563. การศึกษา ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของตักแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด. รายงาน สืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6. หน้า 333-340. มหาวิทยาลัยราชภัฏ พิบูลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พิษณุโลก.

รัชชา อินแนน กมลทิพย์ แก้วแสง สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2564. การศึกษาเซลล์พันธุ์ ศาสตร์ของกบเขาหลังตองมลายูและกบชะง่อนผาใต้. วารสารแก่นเกษตร ฉบับเพิ่มเติม 1: 116-120.

ภัทรวรรณ คงอิม ญัฐนิชา หอมตา สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ **สุมาลี พิมพันธ์**. 2564. การวิเคราะห์แครีโอไทป์และอดีโอแกรมมาตรฐานของปลาสดหางดาบและปลาเซลฟีนมอลลี. วารสารแก่นเกษตร ฉบับเพิ่มเติม 1: 121-125.

ศุติศา ปานนูน **สุมาลี พิมพันธ์** และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2565. ความหลากหลายทางพันธุกรรมมะม่วง (*Mangifera indica* L.) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืศลสงครามวิจัย ครั้งที่ 7 (วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2565). หน้า 283 - 289. มหาวิทยาลัยราชภัฏพืศลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืชนโลก.

เกวลี นนทะภา สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ **สุมาลี พิมพันธ์**. 2565. การศึกษาโครโมโซมของปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*). รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืศลสงครามวิจัย ครั้งที่ 7 (วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2565). หน้า 355 - 360.

มหาวิทยาลัยราชภัฏพืศลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืชนโลก.

นิภาพร คำดก สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ **สุมาลี พิมพันธ์**. 2565. การวิเคราะห์แครีโอไทป์ของอึ่งน้ำนอง (*Occidozyga martensii*) อึ่งขาคำ (*Microhylla pulchra*) และอึ่งหลังจุด (*Micryletta inornata*) ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืศลสงครามวิจัย ครั้งที่ 7 (วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2565). หน้า 403 - 410. มหาวิทยาลัยราชภัฏพืศลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืชนโลก.

ณัฐวุฒิ วิชิตนาค **สุมาลี พิมพันธ์** และสุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2565. การจำแนกสายพันธุ์ของไม้ที่เจริญเติบโตในจังหวัดเพชรบูรณ์โดยใช้เทคนิค RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD). รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพืศลสงครามวิจัย ครั้งที่ 7 (วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2565). หน้า 361 - 366. มหาวิทยาลัยราชภัฏพืศลสงคราม (ส่วนทะเลแก้ว) จ.พืชนโลก.

เบญจมาพร ณะกองแก้ว สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ **สุมาลี พิมพันธ์**. 2566. การศึกษาโครโมโซมของอึ่งกรายหัวแหลม (*Pelobatrachus nasuta*) อึ่งกรายหัวมน (*Xenophrys aceras*) และอึ่งแม่หนาว (*Microhylla berdmorei*). ในการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย 12 (25-27 มกราคม 2566) หน้า 1-11. ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา.

ดารินทร์ สาพู สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และ **สุมาลี พิมพันธ์**. 2566. การวิเคราะห์แครีโอไทป์ของปาดเขียวตีนดำ (*Rhacophorus nigropalmatus*) และปาดแคระป่า (*Raorchestes parvulus*). ในการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย 12 (25-27 มกราคม 2566) หน้า 12-20. ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา.

จักรกริช กาจันทร์ **สุมาลี พิมพันธ์** และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง. 2566. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาชิว โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไอเอสเอสอาร์. ในการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย 12 (25-27 มกราคม 2566) หน้า 31-37. ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา.

อินทรา คำพันธ์, นัฐภา บุกิง, สุรเชษฐ เอี่ยมสำออง, กาญจน์ คุ่มทรัพย์ และสุมาลี พิมพันธ์. 2568. การวิเคราะห์แคโรไทป์ และการระบุแผนที่โครโมโซมด้วยโพรบไมโครแซทเทลไลต์ของเขียดหลังปุ่ม (*Occidozyga martensii*). การประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 14. มหาวิทยาลัยพะเยา, จ.พะเยา 2568, ปีที่ 14 หน้า 600 - 610. ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา.

นัฐภา บุกิง, อินทรา คำพันธ์, สุรเชษฐ เอี่ยมสำออง, กาญจน์ คุ่มทรัพย์ และสุมาลี พิมพันธ์. 2568. เซลล์พันธุ์ศาสตร์ระดับโมเลกุลของกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) และกบหนอง (*Fejervaya limnocharis*). การประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 14. มหาวิทยาลัยพะเยา, จ.พะเยา 2568, ปีที่ 14 หน้า 628-639. ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา.

• บทความวิชาการและบทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูล Thai-journal citation index (TCI)

Phimphan, S., Tanomtong, A., Chuaynkern, Y., Pratumtong, D. 2015. Karyological Analysis of Red Junglefowl (*Gallus gallus gallus* Linnaeus, 1758) Using Egg Fibroblastic Cell Culture. *KKU Science Journal* 43(1): 39-48. (T-JIF 0.134, 2557)

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. (T-JIF 0.078, 2557)

ศิริพร แสงศักดิ์, อลงกลด แทนอมทอง, สุมาลี พิมพันธ์ และ อีสสระ ปะทะวัง. 2560. พันธุ์ศาสตร์เซลล์ของแมวดาว (*Prionailurus bengalensis*) ในประเทศไทยด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์. *วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร* 39(2): 96-108.

สุมาลี พิมพันธ์ วิวรรณ แสงภักดี กฤติยา แสงภักดี และ อลงกลด แทนอมทอง. 2560. โครโมโซมและการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของตั๊กแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) ในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข. KKU Science Journal* 43(1): 469-477. (T-JIF 0.134, 2557)

สุมาลี พิมพันธ์ และ วิวรรณ แสงภักดี. 2561. แคโรไทป์ของตั๊กแตนข้าวปึกสั้น (*Pseudoxya diminuta* Walker, 1871) ในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี* 14(2): 38-44.

สุรเชษฐ เอี่ยมสำออง และ สุมาลี พิมพันธ์. 2561. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว โดย ใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR. *แก่นเกษตร* 47 (ฉบับพิเศษ1): 604-610.

สุรเชษฐ เอี่ยมสำออง และ สุมาลี พิมพันธ์. 2563. การใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยาสูบ 9 สายพันธุ์. *แก่นเกษตร* 48 (43). 515-524.

Phimphan, S., Rojrung R., Aiumsumang, S., Koomsab, K. and Tanomtong, A. 2020. Karyological Analysis of Lesser Bamboo Rat, *Cannomys badius* (Rodentia, Rhizomyinae) by Classical and Molecular Cytogenetic Techniques. *KKU Science Journal* 48(3): 318-325.

สุมาลี พิมพันธ์ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาน และกาญจน์ คัมทรัพย์ 2564. แคริโอไทป์และอิดิโอแกรมของปลา ก้างจากจังหวัดเพชรบูรณ์ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและแบบนอร์. *วารสารวิจัยและเทคโนโลยี การประมง* 15 (1): 37-47

สุมาลี พิมพันธ์ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาน และ อลงกลด แทนอมทอง. 2021. รายงานครั้งแรกทางพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวใบไม้แถบขาว (*Danio albolineatus*). *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.* 49(2): 203-211.

ณัฐริการ์ นวลศรี นภัส นุ่มสกุล สุมาลี พิมพันธ์ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาน. 2565. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไฟโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย* 1(2): 60-67.

Aiumsumang, S., **Phimphan, S.**, Tanomtong, A. and Supiwong, W. 2022. Chromosome study of *Rasbora trilineata* and *Rasbora borapetensis* (Cyprinidae, Cypriniformes): Reveal by conventional staining technique. *Science Technology and Engineering Journal* 8(2): 29-39.

สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาน. 2565. การศึกษาโครโมโซมและลักษณะการแบ่งเซลล์ของ ตั๊กแตนหนวดยักษ์ไฮโรไกลฟัส (*Hieroglyphus banian*). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย* 1(1): 23-28.

สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาน กาญจน์ คัมทรัพย์ อิศระ ตั้งสุวรรณ และ สุมาลี พิมพันธ์. 2566. รูปแบบโครโมโซมมาตรฐานของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดในจังหวัดเพชรบูรณ์. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข. KKU Science Journal* 51(3): 306-313.

Buasriyot, P., Arunsang, S., Pinthong, K., Phimphan, S., Jantarat, S., Supiwong, W. and Tanomtong A. 2024. Cytogenetic study of Spotted hampara barb (*Hampala dispar*) and Transverse-bar barb (*Hampala macrolepidota*) in Thailand. *Vocational Education Innovation and Research Journal* 8(1):22-31.

• **บทความวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารนานาชาติที่อยู่ในฐานข้อมูล SCOPUS และ ISI Impact Factor**

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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. (SCOPUS, SNIP 0.620, 2014)
- 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 [IF 0.750 (2014), Q4].
- 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 (SCOPUS SNIP 0.620, 2014)

- 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 (SCOPUS SNIP 0.620, 2014)
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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].
- 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. [IF 0.324 (2016), Q4].
- Rattanayuvakorn, S., Tanomtong, A., **Phimphan, S.**, Sangpakdee, W., Pinmongkhonkul, S. and Phintong, K. 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- Supiwong, W., **Phimphan, S.**, Kaewmad, P., Saenjundaeng, P., Jantarat, S. and Tanomtong, A. 2017. First Cytogenetic Study of the Whitecheek Monocle Bream, *Scolopsis vosmeri* (Perciformes, Nemipteridae) from Thailand. *Cytologia* 82(5): 481-484. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [IF 0.913 (2016), Q4].
- 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. [SCOPUS SNIP 0.620 (2014)]
- 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. [IF 2.806 (2016)]
- 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
- Supiwong, W., Pinthong, K., Seetapan, K., Sanjundaeng, P., Oliveira, E.A., Yano, C.F., Liehr, 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[IF 3.221 (2016)].
- 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 64() 129-133. doi.org/ 10.1007/s13237-019-00291-20399-8. [IF 2.806 (2016)]
- 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 64(2): 249-254 https://doi.org/10.1007/s13237-020-00315-2
- Pissaparn, M., **Phimphan, S.**, Chaiyasan, P., Tanomtong, A., Liehr, T., Suwannapoom, C., Reungsing, M. and Supiwong, W. 2020. First chromosome analysis of Thai pufferfish *Pao cochinchinensis* (Steindachner, 1866). Biodiversitas 21(9): 4309-4316.
- 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. Comparative Cytogenetic 14(4): 597–612.
- Phimphan, S.**, Aiumsumang, S. and Tanomtong, A. 2021. Charecterization of Chromosome and Repetitive elements in the Genome of Frog *Rana nigrovittata* (Anuran, Ranidae) from Thailand: Revealed by conventional, Ag-NOR banding, C-banding and FISH techniques. Cytology and Genetics. Cytology and Genetics 55(6): 583-589.

- Thongnetr, W., Aiumsumang, S., Kongkaew, R., Tanomtong, A., Suwannapoom, C. and **Phimphan, S.** 2021. Cytogenetic characterisation and chromosomal mapping of microsatellite and telomeric repeats in two gecko species (Reptilia, Gekkonidae) from Thailand. *Comparative Cytogenetic*. 15(1): 41-52.
- Kasiroek W., **Phimphan, S.**, Pinthong, K., Suwannapoom, C., Aiumsumang, S., Liehr, T., Supiwong, W., Tanomtong, A., 2022. Comparative cytogenomic analysis of Cardinal fishes (Perciformes, Apogonidae) from Thailand. *The Nucleus*. 65: 57-66.
- Aiumsumang S., **Phimphan S.**, Suwannapoom C., Chaiyasan P., Supiwong W., Tanomtong A 2021. A comparative chromosome study on five Minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes) in Thailand. *Caryologia* 74(1): 89-96. doi: 10.36253/caryologia-1017
- Chaiyasan, P., **Phimphan, S.**, Sarasan, T., Juntaree, S., Tanomtong, A., Pinmongkhonkul, S., & Supiwong, W. (2021). First report on Nucleolar Organizer Regions (NORs) polymorphism and constitutive heterochromatin of Moonlight Gourami, *Trichopodus microlepis* (Perciformes, Osphronemidae). *Caryologia*, 74(2), 111-119.
<https://doi.org/10.36253/caryologia-775>
- Thongnetr, W., Aiumsumang, S., Tanomtong, A. and **Phimphan, S.** 2022. Classical chromosome features and microsatellites repeat in *Gekko petricolus* (Reptilia, Gekkonidae) from Thailand. *Caryologia* 75(2): 81-88. doi: 10.36253/caryologia-1544
- Chaiphech, S., Patawang, I, **Phimphan, s.**, Ditcharoen, S. Suwannapoom, C. and Tanomtong. 2022. Cytotoxic Evaluation of *Eurycoma longifolia* Jack Root Extract on Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes *In vitro*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 7(2) 1-14.
- Aiumsumang, S., Chaiyasan, P., Khoomsab, K., Supiwong, W., Tanomtong, A., and **Phimphan, S.** (2022). Comparative chromosome mapping of repetitive DNA in four minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes). *Caryologia*, 75(2), 71–80.
<https://doi.org/10.36253/caryologia-1523>
- Thongnetr, W., Prasopsin, S., Aiumsumang, S., Ditcharoen, S., Tanomtong, A., Wongchantra, P., Bunnaen, W. and **Phimphan, S.** 2023. First report of chromosome and karyological analysis of *Gekko nutaphandi* (Gekkonidae, Squamata) from Thailand: Neo-diploid chromosome number in genus *Gekko*. *Caryologia*, 75(4). 103-109. <https://doi.org/10.36253/caryologia-1875>

- Aiumsumang, S., Vidthayanon, C., Kulabtong, S., Tanomtong, A. and **Phimphan, S.** (2023). First cytogenetic study of the Somphong's rasbora (*Trigonostigma somphongsi*) (Perciformes, Cyprinidae), a critically endangered species in Thailand. *Caryologia* 76(4): 3-8. doi: 10.36253/caryologia-2439
- Supanuam, P., Jantararat, S., Khawporntip, W., Kraiprom, T., Buatip, S., Jumrusthanasan, S., Kaewsri, S., Donbundit, N., Ditcharoen, S., Thongnetr, W., **Phimphan, S.**, and Tanomtong, A. (2024). First Chromosome Characterization and Repetitive DNA of Barred Gliding Lizard, *Draco taeniopterus* Günther, 1861 (Draconinae: Agamidae: Squamata). *Caryologia* 77(2): 19-28. doi:10.36253/caryologia-2668