

รายละเอียดของวารสาร

ชื่อวารสาร : แก่นเกษตร

Journal Name : Khon Kaen Agriculture Journal

ชื่อบรรณาธิการ : ศศ.ดร.ปฐมา บุษปะกิจ

ชื่อย่อของวารสาร : แก่นเกษตร

Abbreviation Name : Khon Kaen Agr. J.

ISSN : 0125-0485

E-ISSN :

ที่อยู่สำหรับการติดต่อ : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

เจ้าของ : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น / Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

จำนวนฉบับต่อปี : 6

Email : agkasetkaj@gmail.com

Website : <https://ag2.kku.ac.th/kaj/>

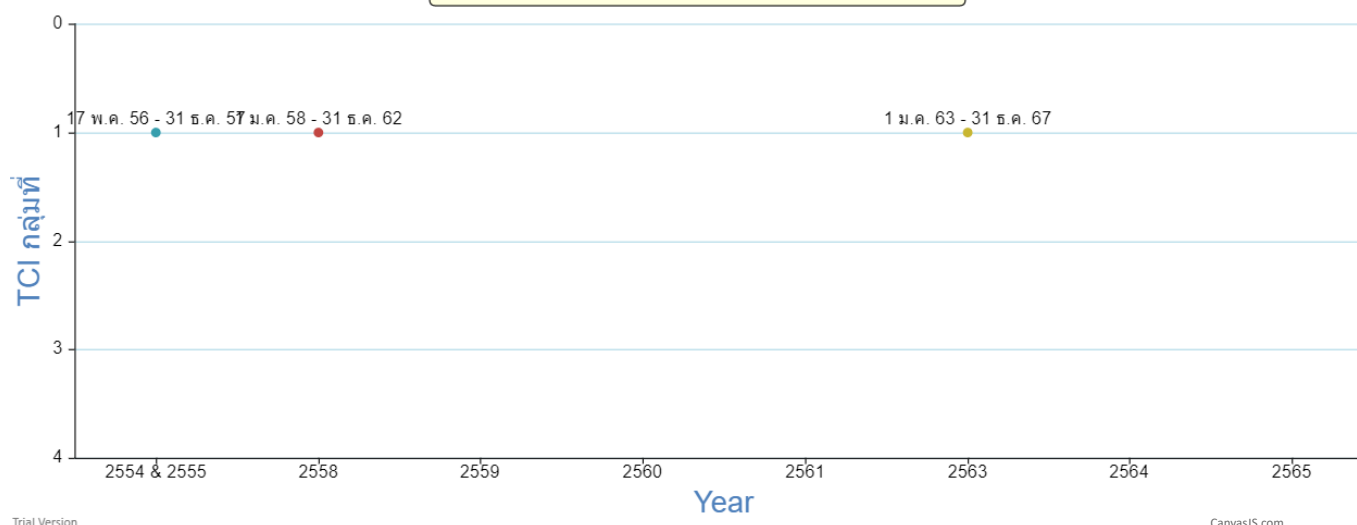
TCI กลุ่มที่ : 1

สาขาหลักของวารสาร : Physical Sciences

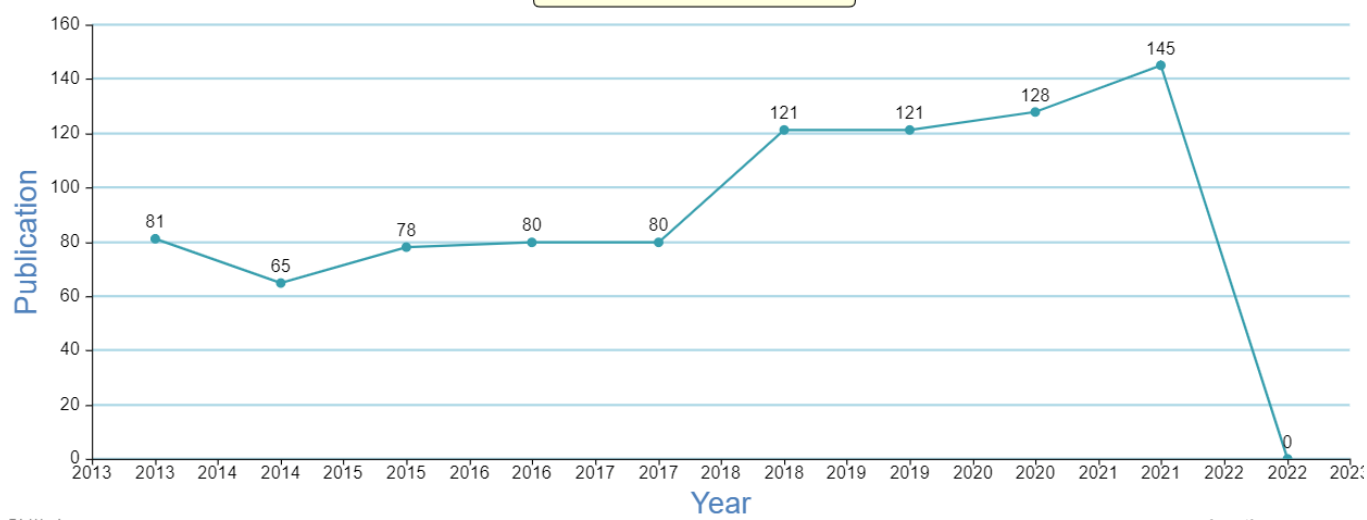
สาขาย่อยของวารสาร : Agricultural and Biological Sciences

หมายเหตุ :

กลุ่มของวารสารในฐานข้อมูล TCI



Publication 10 Years



การวิเคราะห์แคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาสดหางดาบและปลาเซลฟินมอลลี

Karyotype analysis and standard idiogram of *Xiphophorus helleri* and *Poecilia latipinna*

ภัทรวรรณ คงอิม¹, ณัฐนิชา หอมตา¹, สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง² และ สุมาลี พิมพันธ์^{2*}

Phattarawan Kongim¹, Nutnicha Homta¹, Surachest Aiumsumang² and Sumalee Phimphan^{2*}

¹ นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

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

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

² Biology program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun

*Corresponding author: joodoof@gmail.com

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาโครโมโซมของปลาสดหางดาบ [red swordtail (*Xiphophorus helleri*)] และปลาเซลฟินมอลลี [sailfin molly (*Poecilia latipinna*)] ใช้วิธีเตรียมตัวอย่างจากเนื้อเยื่อส่วนไตและการย้อมสีแบบธรรมดาเพื่อหาเซลล์ระยะเมทาเฟส ผลการศึกษาพบว่าปลาสดหางดาบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง โครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่ง และขนาดเล็ก 4 แท่ง สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของปลาสดหางดาบได้ดังนี้ $2n (48) = L_{30}^t + M_{14}^t + S_4^t$ และผลการศึกษาปลาเซลฟินมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง โครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 16 แท่ง ขนาดกลาง 24 แท่ง และขนาดเล็ก 6 แท่ง สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของปลาได้ดังนี้ $2n (46) = L_{16}^t + M_{24}^t + S_6^t$

คำสำคัญ: ปลาสดหางดาบ; ปลาเซลฟินมอลลี; โครโมโซม; แคริโอไทป์

ABSTRACT: The present study was aimed to construct standardized karyotype and idiogram of *Xiphophorus helleri* and *Poecilia latipinna*. was used in the mitotic chromosome preparation using direct method. Conventional staining was applied on the metaphase. The results demonstrated that *X. helleri* had diploid chromosome number $2n = 48$ and the fundamental number (NF) was 48, consisting of 30 large, 14 medium and 4 small telocentric chromosomes. The karyotype formula can be deduced as followed $2n (48) = L_{30}^t + M_{14}^t + S_4^t$. The result of *P. latipinna* had diploid chromosome number $2n = 46$, NF = 46. The karyotype composes of 16 large, 24 medium and 6 small telocentric chromosomes. The karyotype formula is as follows: $2n (46) = L_{16}^t + M_{24}^t + S_6^t$

Keywords: *Xiphophorus helleri*; *Poecilia latipinna*; chromosome; Karyotype

บทนำ

ปลาสดหางดาบ [*Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848)] และปลาเซลฟินมอลลี [*Poecilia latipinna* (Lesueur, 1821)] ปลาทั้งสองจัดอยู่ในวงศ์ Poeciliidae ปลาสดหางดาบมีถิ่นกำเนิดทางเม็กซิโกตอนเหนือไปยังภาคกลางและตะวันตกของทวีปอเมริกาและฮอนดูรัสในอเมริกากลาง (Axelrod and Wischnath, 1991) ลักษณะของปลาสดหางดาบมีรูปร่างลำตัวยาวเรียวแบนด้านข้างเล็กน้อย เกล็ดมีขนาดเล็ก ลำตัวมีสีสด มีขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 63.5 มิลลิเมตร ลักษณะเด่นของปลาชนิดนี้คือ ปลาหางของเพศผู้ยื่นยาวออกมากคล้ายดาบ (swordtail) และเพศผู้มีอวัยวะสืบพันธุ์ที่เรียกว่า Gonopodium เพศเมียขนาดลำตัวป้อมสั้นกว่าปลาตัวผู้ บริเวณท้องขยายกว้างใหญ่ สีของลำตัวจะอ่อนกว่าเพศผู้ ส่วนครีบหางและครีบก้นจะโค้งมน (Clyde S. et al., 2001) ส่วนปลาเซลฟินมอลลี มีถิ่นกำเนิดทาง

ตะวันออกเฉียงเหนือของสหรัฐอเมริกาและอเมริกาใต้ ตัวผู้จะมีลักษณะตัวที่ยาวเรียวยาวลำตัวด้านข้างแบน มีขนาดความยาวลำตัวรวม 51 มิลลิเมตร โดยเพศผู้จะมีลักษณะพิเศษจะมีครีบลึงที่ขยายใหญ่คล้ายใบเรือ เพศเมียมีขนาดความยาวลำตัว 48 มิลลิเมตร ลำตัวกลมและป้อมสั้นกว่าเพศผู้จะมีสีส้มสวยงามกว่า (Koutsikos et al., 2017) ด้วยลักษณะของปลาทั้งสองชนิดนี้ มีความสวยงามและโดดเด่น จึงได้มีการนำมาดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม ปลาวงศันี้ได้ถูกนำเข้ามาสู่ประเทศครั้งแรกในสมัยรัชกาลที่ 5 โดยนำมาเลี้ยงในอ่างบัวและได้เป็นที่นิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายจนถึงปัจจุบัน จึงได้นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อการค้า ปัจจุบันนิยมเลี้ยงทั่วทุกภาคในประเทศไทย

รายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาทั้งสองชนิดนี้ที่ผ่านมาพบว่าปลาสดหางดาบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง (Atkin, 1966; Hinegardner and Rosen, 1972; Ohno, 1974; Tiersch et al., 1989; Donsakul et al., 2011; Franchini et al., 2018) ปลาเซลฟีนมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 46 แท่ง (Prehn and Rasch, 1969; Sola et al., 1992; Donsakul et al., 2011) ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ (Hinegardner and Rosen, 1972; Froese and Pauly, 2014) พบว่าปลาเซลฟีนมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แท่ง และมณีกานต์ (2541) ได้ศึกษาโครโมโซมของปลาเซลฟีนมอลลี พบว่ามีจำนวนโครโมโซมแปรผันมากตั้งแต่ (2n) เท่ากับ 34 ถึง 48 แท่ง จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบความแปรผันของจำนวนโครโมโซมค่อนข้างมาก งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาโครโมโซมระยะเมทาเฟส สร้างแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาทั้งสองชนิด การศึกษาโครโมโซมสามารถทำให้เราตอบคำถามเกี่ยวกับความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมและรูปแบบของโครโมโซม ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านพันธุศาสตร์ ด้านอนุกรมวิธาน การระบุชนิด การจัดจำแนกลักษณะทางพันธุกรรม และการศึกษาวิวัฒนาการ รวมถึงการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่น เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การผสมข้ามพันธุ์ และการอนุรักษ์พันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะพันธุ์ที่ติดตามต้องการและเป็นประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมปลาวงศ์ Poeciliidae ในประเทศไทยในอนาคต

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาได้จากร้านปลาสวยงามในจังหวัดเพชรบูรณ์ ใช้ตัวอย่างปลาชนิดละ 10 ตัว แบ่งเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว วิธีการเตรียมดัดแปลงจากวิธีของ Chen and Ebeling (1968) โดยนำตัวอย่างมาฉีดสารโคลชิซิน (Colchicine) เข้มข้น 0.1% ปลอ่ยปลาให้ว่ายน้ำตามปกติ 1 ชั่วโมง จากนั้นสลบปลาด้วยน้ำแข็งและผ่าเอาไตโดยนำมาสับให้ละเอียดในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ และบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 นาที ดูดสารละลายส่วนบนทิ้งแล้วเติมน้ำยาคงสภาพ (Canoy's fixative) ที่ละน้อยจนได้ปริมาตร 7 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและเวลาเท่าเดิมและดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง แล้วเติมน้ำยาคงสภาพอีกในปริมาตรเท่าเดิม ทำซ้ำขั้นตอนนี้ 3 รอบ หลังจากนั้นทำการเจือจางตะกอนเซลล์ในปริมาตรพอเหมาะ โดยเติมน้ำยาคงสภาพลงไปในปริมาตร 3 เท่าของปริมาณตะกอนเซลล์ หยดสารละลายเซลล์แขวนลอยลงบนสไลด์ที่สะอาด ปลอ่ยสไลด์ให้แห้งในอากาศ ย้อมสีย้อมโครโมโซมด้วยสีจิมซาความเข้มข้น 20% เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาให้สะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ผลการศึกษา

จากการศึกษาโครโมโซมของของปลาสดหางดาบโดยการนับจำนวนโครโมโซมจากภาพถ่าย เป็นภาพถ่ายโครโมโซมระยะเมทาเฟสจำนวน 100 เซลล์ พบว่าเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แท่ง มีความถี่สูงสุด จำนวน 69 เซลล์ จึงสรุปได้ว่าปลาสดหางดาบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แท่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่ง และขนาดเล็ก 4 แท่ง (Figure 1) และปลาเซลฟีนมอลลีการนับจำนวนโครโมโซมจากภาพถ่าย เป็นภาพถ่ายโครโมโซมระยะเมทาเฟสจำนวน 100 เซลล์ พบว่าเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 46 แท่ง มีความถี่สูงสุด จำนวน 63 เซลล์ จึงสรุปได้ว่า ปลาเซลฟีนมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 46 แท่ง โดยเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด

แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 16 แท่ง ขนาดกลาง 24 แท่ง และขนาดเล็ก 6 แท่ง (Figure 2)

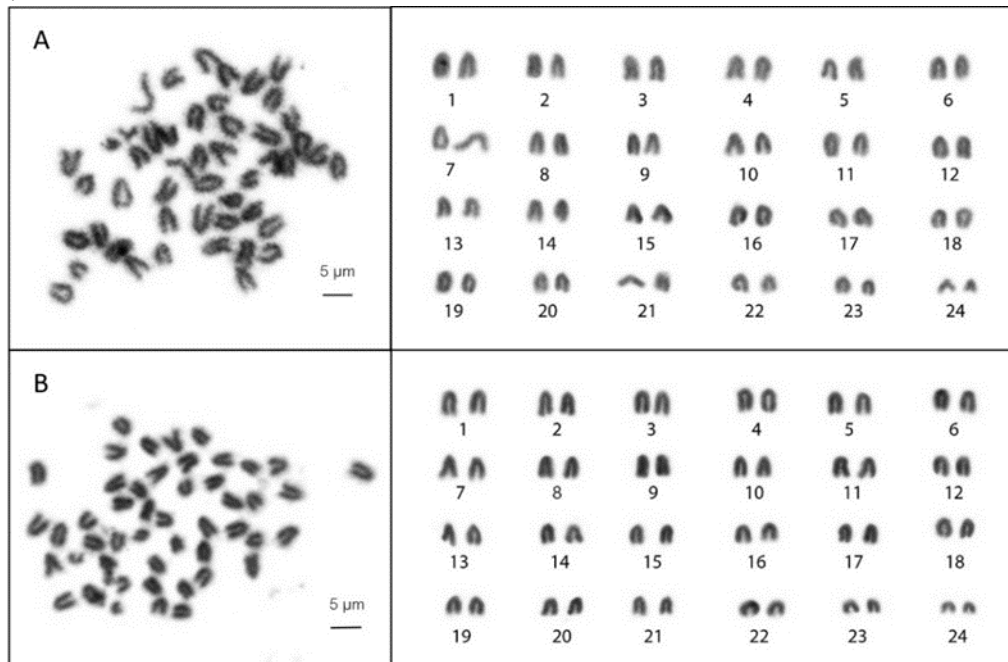


Figure 1 Metaphase chromosome plates and karyotypes of male (A) and female (B) *X. helleri* 2n=48 by conventional straining technique.

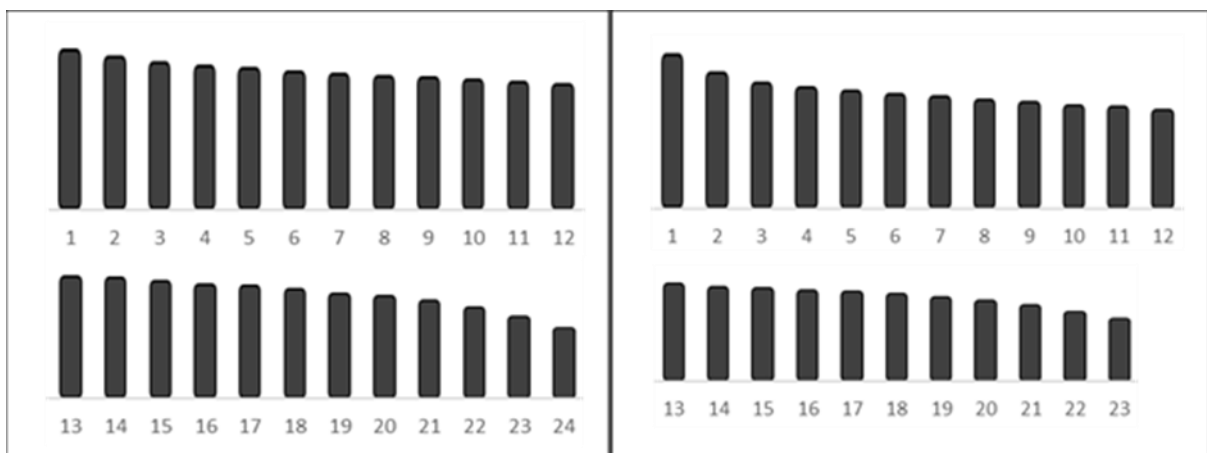


Figure 2 Metaphase chromosome plates and karyotypes of male (A) and female (B) *P. latipinna* 2n=46 by conventional straining technique

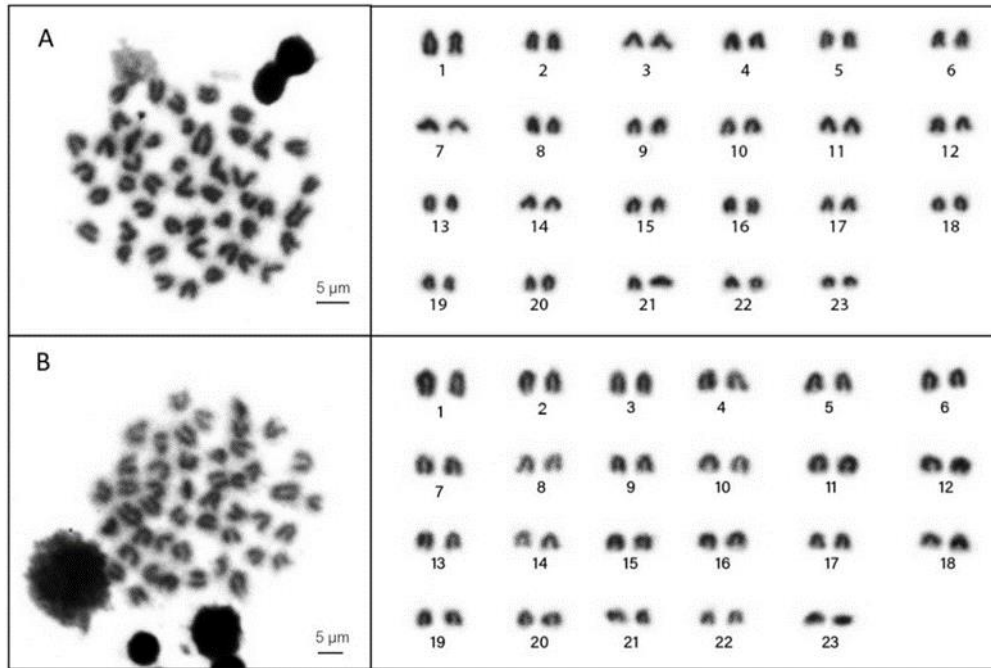


Figure 3 Idiogram showing lengths and shapes of chromosomes of *X. helleri* 2n=48 (A) and *P. latipinna* 2n=46 (B) by conventional staining

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ความเหมือนและความแตกต่างของโครโมโซมของปลาสดหางดาบและปลาเซลฟีนมอลลี ชนิดละจำนวน 100 เมทาเฟส โดยเลือกโครโมโซมในระยะเมทาเฟสจำนวน 10 เซลล์ที่ชัดเจนมากที่สุด เพื่อนำมาจัดเรียง แคริโอไทป์ และวัดขนาดโครโมโซม และนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยเพื่อระบุชนิดของโครโมโซม ซึ่งหาได้จากค่า Centromeric index (CI) และขนาดของโครโมโซมได้จากค่า Relative length (RL) ซึ่งปลาสดหางดาบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด ประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แห่ง ขนาดกลาง 14 แห่ง และขนาดเล็ก 4 แห่ง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Atkin, 1966; Hinegardner and Rosen, 1972; Ohno, 1974; Tiersch et al., 1989; Donsakul et al., 2011; Franchini et al., 2018) ว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แห่ง และปลาเซลฟีนมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 46 แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด ประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 16 แห่ง ขนาดกลาง 24 แห่ง และขนาดเล็ก 6 แห่ง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Prehn and Rasch, 1969; Sola et al., 1992; Donsakul et al., 2011) พบว่าปลาเซลฟีนมอลลีมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 46 แห่ง แต่แตกต่างจากการรายงานของ (Hinegardner and Rosen, 1972; Froese and Pauly, 2014) ว่าพบจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แห่ง และมะณีกันต์ (2541) ได้ศึกษาโครโมโซมของปลาเซลฟีนมอลลี ว่ามีจำนวนโครโมโซมแปรผันมากตั้งแต่ (2n) เท่ากับ 34 ถึง 48 แห่ง และการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมระหว่างเพศผู้และเพศเมียจึงทำให้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศของปลาได้ ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมนี้อาจมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรแต่ละพื้นที่ การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน สามารถบอกถึงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตนั้นๆได้ จากผลการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของทั้งสองชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ Poeciliidae จะพบว่าปลาในวงศ์เดียวกัน แต่สกุลต่างกันสามารถมีแคริโอไทป์ที่แตกต่างกันได้ หรือแม้แต่ปลาในวงศ์เดียวกันและอยู่ในสกุลเดียวกันก็สามารถมีแคริโอไทป์ที่แตกต่างกันได้

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาสดหางดาบและปลาเซลฟีนมอลลีครั้งนี้ นอกจากจะทำการศึกษานับจำนวนโครโมโซมและรูปร่างโครโมโซมแล้ว ยังได้ทำการวัดขนาดโครโมโซม จัดทำแคริโอไทป์ สูตรแคริโอไทป์ และ อิติโอแกรมมาตรฐาน ข้อมูลที่ได้มานี้ใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาลำดับวิวัฒนาการของปลา การจัดจำแนก การปรับปรุงพันธุ์และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาในขั้นสูงต่อไป

สรุป

จากการศึกษาของโครโมโซมของปลาสดหางดาบและปลาเซลฟีนมอลส์พบว่าปลาสดหางดาบมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 48 แท่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่ง และขนาดเล็ก 4 แท่ง สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของปลาสดหางดาบได้ดังนี้ $2n (48) = L_{30}^t + M_{14}^t + S_4^t$ และปลาเซลฟีนมอลส์พบจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 46 แท่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 16 แท่ง ขนาดกลาง 24 แท่ง และขนาดเล็ก 6 แท่ง สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของปลาได้ดังนี้ $2n (46) = L_{16}^t + M_{24}^t + S_6^t$

เอกสารอ้างอิง

- มณีกันต์ จิตเอื้อเฟื้อ. 2541. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- Axelrod, H. R. and L. Wischnath. 1991. Swordtails and platies. T.H.F. Publications, Inc., Neptune City, NJ, USA.
- Chen, T. R. and A. W. Ebeling. 1968. Karological evidence of female heterogamety in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. Copeia. 1: 70-75.
- Clyde, S. T, B. Cole, R. Bailey, C. Brown and H. Ako. 2001. A manual for commercial production of the swordtail, *xiphophorus helleri*. University of Hawaii Sea Grant Extension Service School of Ocean Earth Science and Technology. 2525. Available: <http://www.soest.hawaii.edu/SEAGRANT/antimicrobial/pathrpt.pdf>. Accessed Jun.2, 2020.
- Donsakul T. 2011. Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Sukhumvit 23, Bangkok.
- Froese, R. and D. Pauly. 2014. Fishbase. Available: <http://www.fishbase.org/antimicrobial/pathrpt.pdf>. Accessed Aug.13, 2020.
- Hinegardner, R. and D.E. Rosen. 1972. Cellular DNA content and evolution of teleostean fishes. The American Naturalist 106: 621-644.
- Koutsikos N., N. A. Economou, L. Vardakas, D. Kommatas and S. Zogaris. 2017. First confirmed record of established population of sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes:Poeciliidae), in Europe. Acta Ichthyologica et Piscatoria. 47(3): 311-315.
- Ohno. S. 1974. Protochordata. Cyclostomata and pisces. Pages 1-91 in B. John. Ed. Animal cytogenetics. Vol.4 Chordata I. Borntraeger.Berlin and N.B. Atkin. 1966. Comparative DNA values and Chromosome complements of eight species of fishes Chromosome. 18: 455-466.
- Paolo, F., C. J. Jones, P. Xiong, S. Kneitz, Z. Gompert, C. W., Warren, Walter, B. R., Meyer, A. and M. Scharlt. 2018. Long-term experimental hybridisation results in the evolution of a new sex chromosome in swordtail fish. Department of Biology, of Konstanz, University. 9: 5136.
- Prehn, L.M., and E.M. Rasch. 1969. Cytogenetic studies of *Poecilia* (Pisces).I.Chromosome number of naturally occur ring poeciliid species and their hybrids from Eastern Mexico. Canadian Journal of Genetics and Cytology. 11: 880-895.
- Sola L, A.R, Rossi, V. Iaselli, E. M. Rasch and P.J. Monaco. 1992. Cytogenetics of bisexual/unisexual species of *Poecilia*. III. The karyotype of *Poecilia formosa*, a gynogenetic species of hybrid origin. Cytogenetics Cell Genetics. 60: 236-240.
- Tiersch, T. R., R. W. Chandler, K.D. Kallman, and S.S. Wachtel. 1989. Estimation of nuclear DNA content by flow cytometry in fishes of the genus *Xiphophorus*. Comp. Biochemistry and Physiology. 94B: 465-468.