**บทที่ 1**

**บทนำ**

**1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของปัญหา**

 ปลาปักเป้า (puffer fish) เป็นปลาปักเป้าเป็นปลาที่พบได้ในน้ำจืดและน้ำทะเล โดยพบได้ทั่วไปในประเทศที่มีอากาศร้อนและอบอุ่น เป็นปลาที่มีพิษในตัวทุกชนิด แม้บริโภคเพียงเล็กน้อยก็อาจถึงแก่ความตายได้ ถึงแม้จะผ่านการปรุงด้วยความร้อนสูงก็ตาม เพราะพิษก็ไม่ได้สลายที่อุณหภูมิสูงดังนั้นผู้จับมาบริโภคจะต้องมีความเชี่ยวชาญและรู้วิธีชำแหละเป็นพิเศษ สำหรับปลาปักเป้าทะเลในประเทศญี่ปุ่น นิยมบริโภคปลาปักเป้าโดยทำเป็นซูชิ จนเป็นอาหารประจำชาติญี่ปุ่นที่ขึ้นชื่อเป็นที่รู้จัก และมีราคาแพง ปลาปักเป้ามีลักษณะพิเศษ เมื่อถูกรบกวนจะพองตัวให้ป่องกลมคล้ายลูกโป่งได้ด้วยการสูบลมเข้ามาในช่องว่างของลำตัวโดยอาศัยลิ้นที่เชื่อมระหว่างคอหอยกับช่องว่างในลำตัวเป็นตัวควบคุม พฤติกรรมนี้มีไว้เพื่อข่มขู่ศัตรู ปลาปักเป้าทั่วโลกมี 3 วงศ์ได้แก่ Diodontidae, Tetraodontidae และ Triodontidae ทั้ง 3 วงศ์นี้มีสมาชิกอยู่ใน 19 สกุล 130 ชนิด พบในทะเลประมาณ 110 ชนิด ในน้ำจืดประมาณ 20 ชนิด (Nelson, 2004; Berra, 2001) ส่วนปักเป้าที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 28 ชนิด เป็นปลาน้ำจืด 12 ชนิด (คมกริช หาสิตะพันธุ์, 2555) ปลาปักเป้าเป็นปลาที่สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นห้วย หนอง คลอง บึง รวมทั้งตามแม่น้ำสายต่าง ๆ ในบางเวลาที่ชาวบ้านออกไปหาปลามาเพื่อประกอบอาหาร หรือจำหน่ายมักจะมีปลาเหล่านี้ติดมากับอุปกรณ์หาปลาเสมอ และมีชาวบ้านจำนวนไม่น้อยที่นำปลากลุ่มนี้มาบริโภคทั้ง ๆ ที่รู้ว่าเป็นกลุ่มปลาที่มีพิษ เพราะคิดว่ามีกรรมวิธีในการกำจัดพิษออก พิษของปลากลุ่มนี้จะอยู่ตามผิวหนัง เลือด อวัยวะภายใน บางคนเชื่อว่าหากลอกหนังออก ล้างน้ำ เอาวัยวะภายในทิ้งไป ก็สามารถบริโภคเนื้อปลาได้ พิษของปลาปักเป้ามีผลให้เกิดอาการอัมพาตของระบบหายใจ และอาจทำให้เสียชีวิตได้ ดังที่เคยปรากฏเป็นข่าวให้เห็นตามหน้าหนังสือพิมพ์มาแล้ว

 สำหรับในภาคอีสานนั้นมีแม่น้ำสายสำคัญ ได้แก่ **1. แม่น้ำมูล** แม่น้ำมูลเป็นแม่น้ำสายใหญ่และมีปริมาณน้ำมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีต้นกำหนดมาจากระหว่างเขาวง กับเขาละมั่งในเขตอำเภอปักธงชัย จังหวัดนครราชสีมา ไหลผ่านจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ และไหลลงสู่แม่น้ำโขงที่อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งมีความยาวประมาณ 750 กิโลเมตร **2. แม่น้ำชี** เป็นสาขาหนึ่งของแม่น้ำมูล มีต้นกำเนิดจากภูเขา พยาฝ่อในเขตอำเภอเกษตรสมบูรณ์ จังหวัดชัยภูมิ นับเป็นแม่น้ำสายที่ยาวที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีความยาวประมาณ 765 กิโลเมตร หลผ่านจังหวัดชัยภูมิ จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดขอนแก่น จังหวัดมหาสารคาม จังหวัดร้อยเอ็ด จังหวัดยโสธร จังหวัดศรีสะเกษ และไหลไปบรรจบกับแม่น้ำมูลที่บ้านวังยาง รอยต่อจังหวัดศรีสะเกษ กับ จังหวัดอุบลราชธานี **3. แม่น้ำโขง** แม่น้ำโขงเป็นแม่น้ำที่มีความยาวและใหญ่สายหนึ่งของทวีปเอเซีย โดยมีต้นกำเนิดจากเทือกเขาสูงในทิเบต ไหลผ่านสาธารณรัฐประชาชนจีน และเป็นเส้นกั้นเขตแดนระหว่างไทยกับลาว ซึ่งมีบริเวณที่ไหลผ่านประเทศไทยในภาคตะวันออกฉียงเหนือยาวประมาณ 800 กิโลเมตร ผ่านจังหวัดเลย หนองคาย กับ บึงกาฬ นครพนม มุกดาหาร อำนาจเจริญ และอุบลราชธานี ซึ่งแม่น้ำทั้ง 5 สายนี้มีบทบาทต่อความเป็นอยู่ของประชาชนโดยรอบ การแพร่กระจายของพันธุ์ปลาในแหล่งน้ำเหล่านี้ย่อมมีความแตกต่างกันตามสภาพภูมิศาสตร์ การใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมสามารถใช้เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การหาลักษณะเฉพาะทางเซลล์พันธุศาสตร์ และการใช้ข้อมูลในการช่วยจำแนกชนิดของเนื้อปลาได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ เป็นเครื่องมือที่สามารถช่วยผู้ประกอบการร้านค้า และหน่วยงานสาธารณสุขต่าง ๆ ประเมินผลกระทบหรือ ผลเสียที่เกิดจากการได้รับพิษจากสัตว์น้ำโดยเฉพาะในกลุ่มของปลาปักเป้าที่มีอยู่ในแหล่งน้ำต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้วว่าประชาชนบางกลุ่มก็นำเนื้อมาเพื่อบริโภค

 การศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกในการจำแนกปลาปักเป้าน้ำจืดแล้ว ยังได้นำความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์เซลล์ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านการจัดจำแนก และข้อมูลพื้นฐานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ได้ เนื่องจากปลาปักเป้าในปัจจุบันนี้เริ่มได้รับความนิยมในการเลี้ยงเพื่อพัฒนาเป็นปลาสวยงาม ส่วนการศึกษาทางด้านอณูพันธุศาสตร์ มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ และหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันได้ จากการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPDs) (Williams et al., 1990), เทคนิค Simple sequence repeats (SSR) หรือ เทคนิค microsatellites (Tautz, 1989), เทคนิค Amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Vos et al., 1995) และเทคนิค Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) (Bornet et al., 2001) และเครื่องมือทางอณูพันธุศาสตร์ชนิดดีเอ็นเอบาร์โค้ดถือว่าเป็นเครื่องมือที่มีความน่าเชื่อถือ และแม่นยำในการจัดจำแนก ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมในใช้ในการจำแนกสิ่งมีชีวิตในปัจจุบัน ผู้วิจัยคาดว่าการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการพัฒนาระบบที่ใช้จัดจำแนกกลุ่มปลาปักเป้า ข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์เซลล์ และพันธุศาสตร์โมเลกุลสามารถนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าที่อยู่ต่างสภาพภูมิศาสตร์กัน และสามารถบ่งบอกร่องรอยของวิวัฒนาการในกลุ่มปลาปักเป้าด้วย

**1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย**

* 1. เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย
	2. เพื่อศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ได้จากการศึกษาโครโมโซมของปลาปักเป้าน้ำจืด และสร้างคาริโอไทป์มาตรฐานของปลาปักเป้าน้ำจืด
	3. เพื่อศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่สร้างจากเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดของปลาปักเป้าน้ำจืด
	4. เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

**1.3 ขอบเขตการวิจัย**

* 1. สำรวจลักษณะสัณฐานวิทยาของปลาปักเป้าน้ำจืดในแม่น้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 สายคือ แม่น้ำมูล แม่น้ำชี แม่น้ำสงคราม และแม่น้ำโขง
	2. การเตรียมโครโมโซมโดยวิธีการเตรียมโดยตรงจากเนื้อเยื่อไตของปลาปักเป้าน้ำจืด ชนิดละ 10 ตัว คัดเลือกเซลล์ในระยะเมทาเฟส 1 เซลล์ ที่กระจายตัวดี มาสร้างคาริโอไทป์มาตรฐาน
	3. การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอจากเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด โดยใช้ยีน COI เพื่อนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทป์ที่มีความจำเพาะของปลาปักเป้าน้ำจืด
	4. ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าน้ำจืดในแต่ละพื้นที่โดยการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมจากการใช้เทคนิค RAPD หรือ ISSR

**1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย**

 ปลาปักเป้าน้ำจืดสามารถพบเห็นได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำธรรมชาติ จากการที่มีลักษณะพิเศษสามารถพองตัวได้เมื่อมีศัตรูเข้ามาใกล้ ทำให้เป็นที่สังเกตได้ง่าย ไม่นิยมนำมาประกอบอาหารเนื่องจากตามชิ้นส่วนต่าง ๆ ของร่างการมีพิษ แต่ยังมีชาวบ้านบางกลุ่มที่นิยม และมีความคิดที่พิษว่าสามารถกำจัดพิษของปลากลุ่มนี้ได้ และนำมาประกอบอาหาร แม้ในปัจจุบันจะมีการรายงานข่าวของคนที่บริโภคปลาปักเป้าแล้วเสียชีวิตน้อยลง แต่ยังยังพอมีปรากฏในข่าวบ้าง ปลากลุ่มนี้ไม่นิยมจับขึ้นมาจากแหล่งน้ำ แต่ในการทำการประมงก็มีติดมากับอุปกรณ์จับปลาบ้าง จากรูปร่างทรงกลม และลวดลายที่สวยงามของปลาปักเป้าบ้างชนิดนั้น ได้รับความนิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามเช่น ปักเป้าจุด ซึ่งการศึกษาครั้งนี้นอกจากจะศึกษาสัณฐานวิทยาภายนอกเพื่อใช้ในการจำแนกอย่างง่ายแล้ว ยังศึกษาข้อมูลทางด้านพันธุกรรมเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าน้ำจืดที่อยู่ต่างแหล่งน้ำ และใช้ข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลในการระบุชนิด เพื่อนักวิจัยสามารถนำไปใช้ในการจำแนกชิ้นเนื้อของปลากลุ่มนี้ที่อาจจะติดมากับผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลาในอาหารอื่น ๆ ต่อไปได้

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ และคาริโอไทป์มารตฐานของปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

การสร้างเครื่องหมายทางพันธุกรรมเพื่อใช้ในการจำแนกปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

การศึกษาความสัมพันธ์ของปลาปักเป้าน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย 3 สายคือ แม่น้ำมูล แม่น้ำชี และแม่น้ำโขง

**1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ**

 1 ทราบข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาภายนอกของปลาปักเป้าที่อยู่ในแม่น้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพื่อใช้ในการจัดจำแนกเบื้องต้น

 2. ทราบเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ได้จากการศึกษาโครโมโซมของปลาปักเป้า และได้คาริโอไทป์มาตรฐานของปลาในสกุลปลาเนื้ออ่อนแท้

 3. ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่สามารถใช้ในการระบุชนิดของปลาปักเป้าน้ำจืดด้วยเครื่องหมายทางพันธุกรรมแบบบาร์โค้ด

 4. สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการตรวจสอบปลาปักเป้าที่มาจากแม่น้ำสายหลักของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ