**สารบัญ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **หัวเรื่อง** |  | **หน้า** |
| **กิตติกรรมประกาศ** | …………………………………………………………………………………………………. | ก |
| **บทคัดย่อ** | …………………………………………………………………………………………………. | ข |
| **ABSTRACT** | …………………………………………………………………………………………………. | ง |
| **สารบัญ** | …………………………………………………………………………………………………. | ฉ |
| **สารบัญตาราง** | …………………………………………………………………………………………………. | ซ |
| **สารบัญภาพ** | …………………………………………………………………………………………………. | ฏ |
| **บทที่ 1** | **บทนำ** ………………………………………………………………………………………. | 1 |
|  | 1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของปัญหา …………………………………. | 1 |
|  | 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย ……………………………………………………………. | 3 |
|  | 1.3 ขอบเขตการวิจัย ………………………………………………………………….. | 3 |
|  | 1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของ  โครงการวิจัย ………………………………………………………………………. | 3 |
|  | 1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ …………………………………………………………………. | 5 |
|  |  |  |
| **บทที่ 2** | **ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** …………………………………………………... | 6 |
|  | 2.1 แมน้ำที่สำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ..................................... | 6 |
|  | 2.2 ระบบการจำแนกปลาในปัจจุบัน ................................................... | 8 |
|  | 2.3 การจำแนกกลุ่มปลาปักเป้าในประเทศไทย.................................... | 31 |
|  | 2.4 การศึกษาโครโมโซม | 33 |
|  | 2.5 การศึกษาระดับโมเลกุล | 38 |
|  | 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ........................................................................ | 42 |
|  |  |  |
| **บทที่ 3** | **วิธีดำเนินการวิจัย** …………………………………………………………………….. | 49 |
|  | 3.1 ข้อมูลและแหล่งที่มาของข้อมูล ……………………………………………… | 49 |
|  | 3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง …………………………………………………... | 49 |
|  | 3.3 เครื่องมือในการวิจัย ………………………………………………….............. | 49 |
|  | 3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย ……………………………………………….. | 49 |

**สารบัญ (ต่อ)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **หัวเรื่อง** |  | **หน้า** |
| **บทที่ 4** | **ผลการศึกษา** ……………………………………………………………………………. | 58 |
|  | 4.1 ความหลากชนิดของปลาปักเป้า และการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์.. | 58 |
|  | 4.2 ผลการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อปลาปักเป้า.................................... | 79 |
|  | 4.3 การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดของปลาปักเป้า ........... | 80 |
|  | 4.4 การสร้างการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าที่พบในแม่น้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 สาย คือ แม่น้ำโขง แม่น้ำชี และ แม่น้ำมูล ….. | 81 |
| **บทที่ 5** | **สรุป และวิจารณ์ผลการวิจัย** …………………………………………………..... | 92 |
|  | 5.1 สรุปผลการวิจัย …………………………………………………………………... | 92 |
|  | 5.2 อภิปรายผลการวิจัย …………………………………………………………..... | 97 |
|  | 5.3 ข้อเสนอแนะในงานวิจัยครั้งต่อไป…………………………………………… | 100 |
| **บรรณานุกรม** | ………………………………………………………………………………………………… | 101 |
| **ภาคผนวก ก.** | **การเตรียมสารเคมี** ………………………………………………………………….. | 107 |
| **ประวัตินักวิจัย** | ………………………………………………………………………………………………… | 114 |

**สารบัญตาราง**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ตารางที่** |  | **หน้า** |
| **ตารางที่ 2.1** | ความแตกต่างระหว่างปลากระดูกอ่อนและปลากระดูกแข็ง …………….. | 12 |
| **ตารางที่ 2.2** | รายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ปลาปักเป้า (family Tetraodontidae) ................................................................. | 43 |
| **ตารางที่ 3.1** | ส่วนประกอบของสารละลายที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโช่พอลิเมอเรส  เพื่อสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด .......................................... | 54 |
| **ตารางที่ 3.2** | ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ 10 ชนิด ที่ใช้การวิเคราะห์  ความสัมพันธ์ของปลาด้วยเทคนิค RAPD ............................................. | 56 |
| **ตารางที่ 3.3** | ส่วนประกอบของสารละลายที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโช่พอลิเมอเรส  ด้วยวิธีการ RAPD ................................................................................ | 56 |
| **ตารางที่ 4.1** | ความหลากชนิดของปลาปักเป้าที่ศึกษา .............................................. | 58 |
| **ตารางที่ 4.2** | พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาวงศ์ปลาปักเป้า 5 ชนิด ในประเทศไทย  **(**NF = fundamental number; 2*n* = diploid number;  m = metacentric chromosome; sm = submetacentric  chromosome; a = acrocentric chromosome และ  t = telocentric chromosome) ...................................................... | 61 |
| **ตารางที่ 4.3** | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร ของ  ดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อปลาปักเป้า ………………………………………............... | 79 |
| **ตารางที่ 4.4** | แสดงจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ จากไพรเมอร์ RAPD ทั้ง 10 ชนิด ……………………………………………………………………. | 81 |
| **ตารางที่ 5.1** | ตัวอย่างปลาปักเป้าที่พบในแหล่งน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ......................................................................................... | 92 |
| **ตารางที่ 5.2** | ระยะห่างระหว่างพันธุกรรมของปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิด ที่นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี RAPD-PCR ................................................... | 95 |

**สารบัญภาพ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ภาพที่** |  | **หน้า** |
| **ภาพที่ 2.1** | แมน้ำที่สำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ .......................................... | 7 |
| **ภาพที่ 2.2** | แสดงกลุ่มปลาที่มีชีวิตอยู่ในปัจจุบัน ................................................... | 12 |
| **ภาพที่ 2.3** | ลักษณะภายนอกของปลากระดูกอ่อน ................................................. | 13 |
| **ภาพที่ 4.1** | ปลาปักเป้าที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ปลาปักเป้าดำ (ก.) ปลาปักเป้า  เป้า...................................................................................ควาย (ข.) ปลาปักเป้าท้องตาข่าย (ค.) ปลาปักเป้าเขียว (ง.) และปลา  ปักเป้าเขียวจุด (จ.) ............................................................................ | 59 |
| **ภาพที่ 4.2** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ  (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซม  ดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา  (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร) .................................................................. | 63 |
| **ภาพที่ 4.3** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ  (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซม  ดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา  (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร) .................................................................. | 64 |
| **ภาพที่ 4.4** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ  (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซม  ดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์  ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร) ................ | 65 |
| **ภาพที่ 4.5** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ  (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซม  ดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์  ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร) .................. | 66 |
| **ภาพที่ 4.6** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย  (*Tetraodon suvattii*) เพศผู้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ  (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 67 |

**สารบัญภาพ (ต่อ)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ภาพที่** |  | **หน้า** |
| **ภาพที่ 4.7** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย  (*Tetraodon suvattii*) เพศเมียมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ  (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 68 |
| **ภาพที่ 4.8** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย  (*Tetraodon suvattii*) เพศผู้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ  (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 69 |
| **ภาพที่ 4.9** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย  (*Tetraodon suvattii*) เพศเมียมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ  (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 70 |
| **ภาพที่ 4.10** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าท้อง  ตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซม  ดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 36 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา  (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)........................................................ | 71 |
| **ภาพที่ 4.11** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าท้อง  ตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศเมีย มีจำนวน  โครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 36 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบ  ธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร ........................................... | 72 |
| **ภาพที่ 4.12** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าท้อง  ตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศผู้ มีจำนวน  โครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 36 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบ  นอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร ........................................... | 73 |
| **ภาพที่ 4.13** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าท้อง  ตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศผู้ มีจำนวน  โครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ (2*n*) 36 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบ  นอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร ........................................... | 74 |

**สารบัญภกาพ (ต่อ)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ภาพที่** |  | **หน้า** |
| **ภาพที่ 4.14** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าเขียว  (*Tetraodon fluviatilis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ  (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 75 |
| **ภาพที่ 4.15** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าเขียว  (*Tetraodon fluviatilis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์  เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 76 |
| **ภาพที่ 4.16** | เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าเขียว  (*Tetraodon fluviatilis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์  เท่ากับ (2*n*) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ  5 ไมโครเมตร)..................................................................................... | 77 |
| **ภาพที่ 4.17** | เมทาเฟสโครโมโซมและแคริโอไทป์ของปลาปักเป้าเขียวจุด  (*Dichotomyctere nigroviridis*) มีจำนวนโครโมโซม ดิพลอยด์  เท่ากับ (2*n*) 42 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (ก. และ ค.) แล  ะการย้อมแถบสีแบบนอร์ (ข.) กรอบสี่เหลี่ยมเล็กแสดงตำแหน่งนอร์  (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)....................................................... | 78 |
| **ภาพที่ 5.1** | UPGMA dendrogram from RAPD analysis of Puffer fish from  three river basin in northeast of Thailand. Divide three-  group population in Puffer fish | 94 |