

บทที่ 4

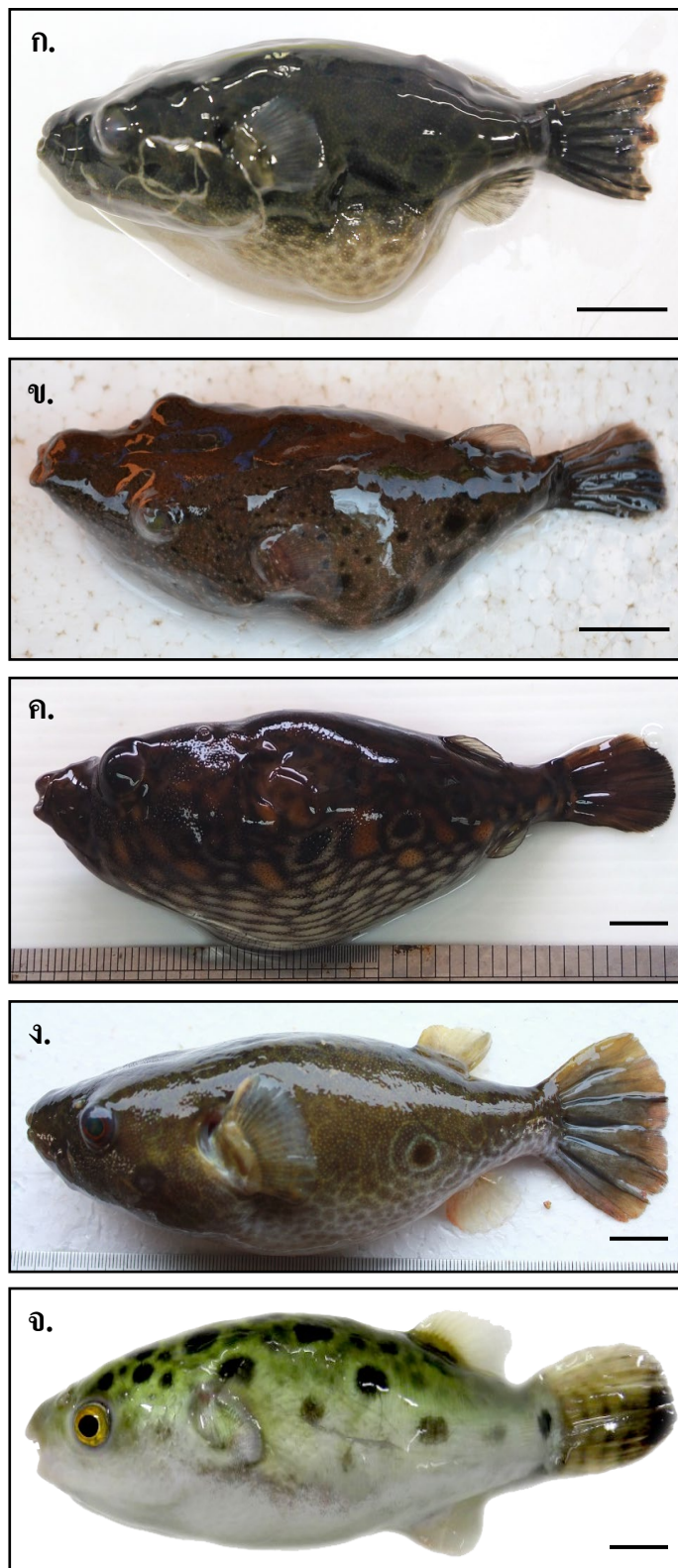
ผลการศึกษา

4.1 ความหลากหลายชนิดของปลาปักเป้า และการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์

จากการเก็บตัวอย่างปลาปักเป้าในพื้นที่ธรรมชาติในแม่น้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ แม่น้ำชี แม่น้ำมูล และแม่น้ำโขง พบปลาปักเป้า 3 ชนิดคือ ปลาปักเปื่อดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) ปลาปักเป้าควาย (*T. suvattii*) และปลาปักเป้าเขียว (*T. fluviatilis*) และได้ตัวอย่างปลาปักเป้าท้องตาข่าย (*T. palembangensis*) และปลาปักเป้าเขียวจุด (*Dichotomyctere nigroviridis*) คิดเป็นร้อยละ 50 ของชนิดปลาปักเป้าที่มีรายงานการพบในแหล่งน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย และได้ตัวอย่างปลาปักเป้าจากป่าพรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาสของประเทศไทย

ตารางที่ 4.1 ความหลากหลายชนิดของปลาปักเป้าที่ศึกษา

ลำดับ	ชนิด	สกุล	แม่น้ำชี	แม่น้ำมูล	แม่น้ำโขง
1.	ปลาปักเปื่อดำ (<i>Tetraodon cochinchinensis</i>)	<i>Tetraodon</i>	✓	✓	✓
2.	ปลาปักเป้าควาย (<i>T. suvattii</i>)	<i>Tetraodon</i>	✓	✓	✓
3.	ปลาปักเป้าเขียว (<i>T. palembangensis</i>)	<i>Tetraodon</i>	✓	✓	✓
4.	ปลาปักเป้าเขียวจุด (<i>T. fluviatilis</i>)	<i>Tetraodon</i>	ป่าพรุโต๊ะแดง		
5.	ปลาปักเป้าท้องตาข่าย (<i>Dichotomyctere nigroviridis</i>)	<i>Dichotomycter</i>	ป่าพรุโต๊ะแดง		



ภาพที่ 4.1 ปลาปักเป้าที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ปลาปักเป้าดำ (ก.) ปลาปักเป้าควาย (ข.) ปลาปักเป้าทองตาข่าย (ค.) ปลาปักเป้าเขียว (ง.) และปลาปักเป้าเขียวจุด (จ.)

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาวงศ์ปลาปักเป้าในประเทศไทย ได้แก่ ปลาปักเป้าดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) ปลาปักเป้าควาย (*T. suvattii*) ปลาปักเป้าทองตาข่าย (*T. palembangensis*) ปลาปักเป้าเขียว (*T. fluviatilis*) และปลาปักเป้าเขียวจุด (*Dichotomyctere nigroviridis*) ในครั้งนี้ ได้ใช้ตัวอย่างปลาปักเป้าดำ จำนวน 8 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 4 ตัว) ปลาปักเป้าควาย จำนวน 10 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 5 ตัว) ปลาปักเป้าทองตาข่าย 4 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 2 ตัว) ปลาปักเป้าเขียว จำนวน 10 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 5 ตัว) และปลาปักเป้าเขียวจุดจำนวน 4 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 2 ตัว) จากประชากรแม่น้ำชี จังหวัดร้อยเอ็ด แม่น้ำสงคราม จังหวัดนครพนม แม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสิงห์บุรี และป่าพรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาสของประเทศไทย (ภาพที่ 4.1) โดยเตรียมโครโมโซมจากปลาทั้งแบบทางตรงและทางอ้อม ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา และแถบสีแบบนอร์ ได้ผลการศึกษา ดังนี้

1. จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน

จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (diploid, $2n$) ของปลาปักเป้าดำ ปลาปักเป้าควาย ปลาปักเป้าทองตาข่าย ปลาปักเป้าเขียว และปลาปักเป้าเขียวจุด เท่ากับ 40, 40, 36, 40 และ 42 แห่งตามลำดับ และจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number, NF) เท่ากับ 74, 78, 72, 76 และ 80 ตามลำดับ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย และไม่พบความแตกต่างของลักษณะโครโมโซมเพศ (sex-chromosome) ระหว่างเพศผู้และเพศเมียในปลาปักเป้าทุกชนิดที่ศึกษา

2. ชนิดของโครโมโซม (ตารางที่ 4.2)

ปลาปักเป้าดำมีโครโมโซม 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก (metacentric) จำนวน 12 แห่ง ซับเมทาเซนทริก (submetacentric) จำนวน 10 แห่ง อะโครเซนทริก (acrocentric) จำนวน 12 แห่ง และเทโลเซนทริก (telocentric) จำนวน 6 แห่ง (ภาพที่ 4.2 และ 4.3) ปลาปักเป้าดำมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้

$$2n (40) = m_{12} + sm_{10} + a_{12} + t_6$$

ปลาปักเป้าควายมีโครโมโซม 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก จำนวน 16 แห่ง ซับเมทาเซนทริก จำนวน 22 แห่ง และเทโลเซนทริก จำนวน 2 แห่ง (ภาพที่ 4.6 และ 4.7) ปลาปักเป้าควายมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้

$$2n (40) = m_{16} + sm_{22} + t_2$$

ปลาปักเป้าท้องตาข่ายมีโครโมโซม 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก จำนวน 20 แห่ง และ ซับเมทาเซนทริก จำนวน 16 แห่ง (ภาพที่ 4.10 และ 4.11) ปลาปักเป้าท้องตาข่ายมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้

$$2n (40) = m_{20} + sm_{16}$$

ปลาปักเป้าเขียวมีโครโมโซม 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก จำนวน 16 แห่ง ซับเมทาเซนทริก จำนวน 12 แห่ง อะโครเซนทริก จำนวน 8 แห่ง และเทโลเซนทริก จำนวน 4 แห่ง (ภาพที่ 4.14 และ 4.15) ปลาปักเป้าเขียวมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้

$$2n (40) = m_{16} + sm_{12} + a_8 + t_4$$

ปลาปักเป้าเขียวจุดมีโครโมโซม 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก จำนวน 18 แห่ง ซับเมทาเซนทริก จำนวน 8 แห่ง อะโครเซนทริก จำนวน 12 แห่ง และเทโลเซนทริก จำนวน 4 แห่ง (ภาพที่ 4.17) ปลาปักเป้าเขียวจุดมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้

$$2n (40) = m_{18} + sm_8 + a_{12} + t_4$$

ตารางที่ 4.2 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาวงศ์ปลาปักเป้า 5 ชนิด ในประเทศไทย (NF = fundamental number; $2n$ = diploid number; m = metacentric chromosome; sm = submetacentric chromosome; a = acrocentric chromosome และ t = telocentric chromosome)

ชนิดของปลา	$2n$	NF	ชนิดของโครโมโซม			
			m	sm	a	t
ปลาปักเป้าดำ (<i>Tetraodon cochinensis</i>)	40	74	12	10	12	6
ปลาปักเป้าควาย (<i>Tetraodon suvattii</i>)	40	78	16	22	0	2
ปลาปักเป้าท้องตาข่าย (<i>Tetraodon palembangensis</i>)	36	72	20	16	0	0
ปลาปักเป้าเขียว (<i>Tetraodon fluviatilis</i>)	40	76	16	12	8	4
ปลาปักเป้าเขียวจุด (<i>Dichotomyctere nigroviridis</i>)	42	80	18	8	12	4

3. โครโมโซมเครื่องหมาย

โครโมโซมเครื่องหมาย (marker chromosome) คือ โครโมโซมที่มีลักษณะเฉพาะสามารถจำแนกได้ง่าย และตรวจพบได้ในสูกุลหรือชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ รวมทั้งโครโมโซมที่มีลักษณะพิเศษ เช่น มีรอยคอดที่สอง (secondary constriction) มี satellite หรือ knob การศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจพบโครโมโซมเครื่องหมายของของปลาปักเป้าดำ ปลาปักเป้าควาย ปลาปักเป้าห้องตาข่าย ปลาปักเป้าเขียว และปลาปักเป้าเขียวจุด ดังนี้

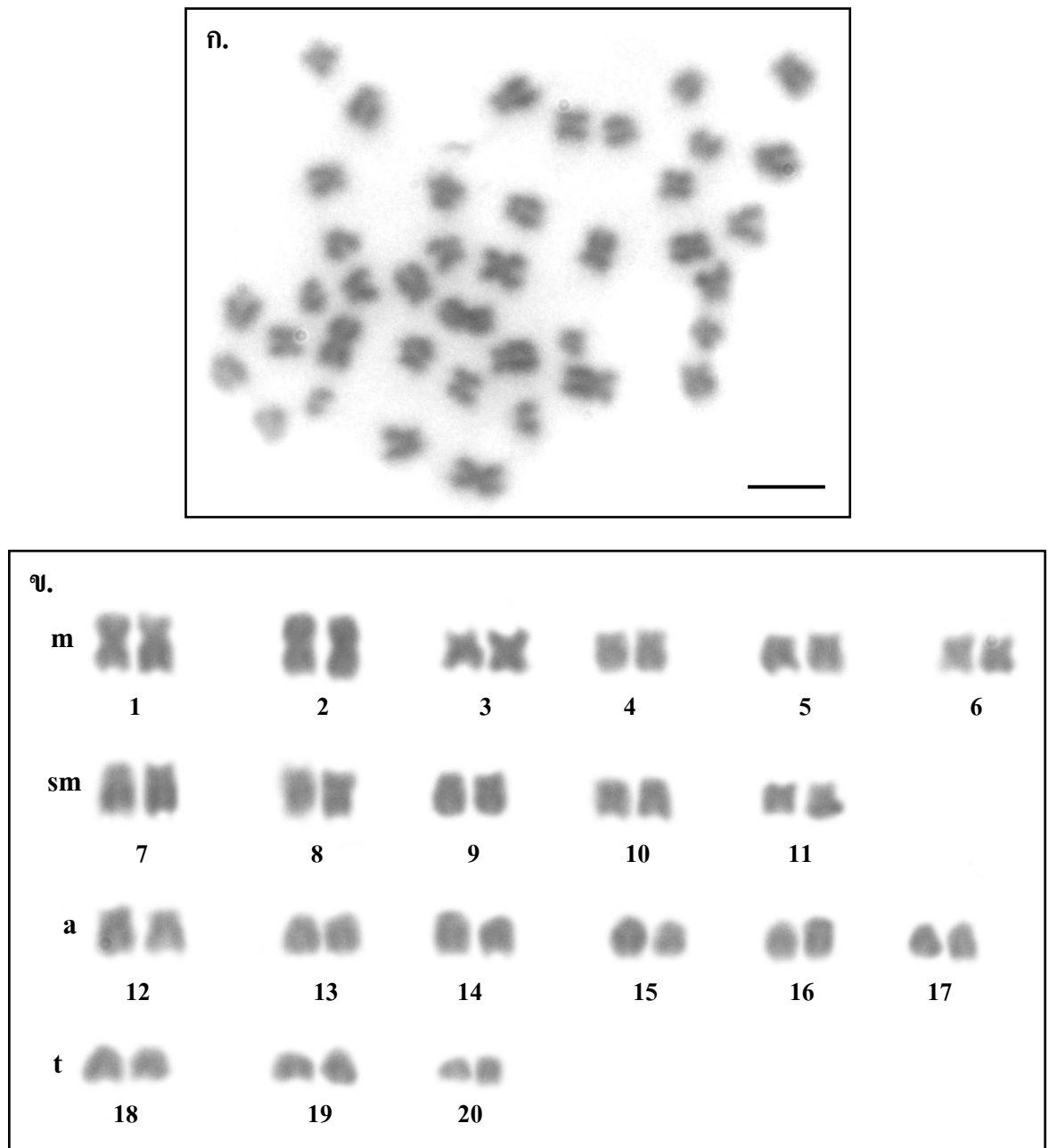
จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาปักเป้าดำมีโครโมโซมคู่ใหญ่สุดเป็นชนิดเมทา เซนทริก และโครโมโซมขนาดเล็กเป็นชนิดเทโลเซนทริก จากการย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์ 2 ตำแหน่ง อยู่บนโครโมโซมเมทาเซนทริกคู่ที่ 4 มีตำแหน่งอยู่ใกล้เซนโทรเมียร์ (subcentromeric NOR) บนแขนข้างสั้น (short arm, p) ของโครโมโซมคู่ที่ 4 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 4.4 และ 4.5)

จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาปักเป้าควายมีโครโมโซมคู่ใหญ่สุดเป็นชนิดเมทา เซนทริก และโครโมโซมขนาดเล็กเป็นชนิดเทโลเซนทริก จากการย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์ 2 ตำแหน่ง อยู่บนโครโมโซมเมทาเซนทริกคู่ที่ 5 มีตำแหน่งอยู่ใกล้เซนโทรเมียร์บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 4.8 และ 4.9)

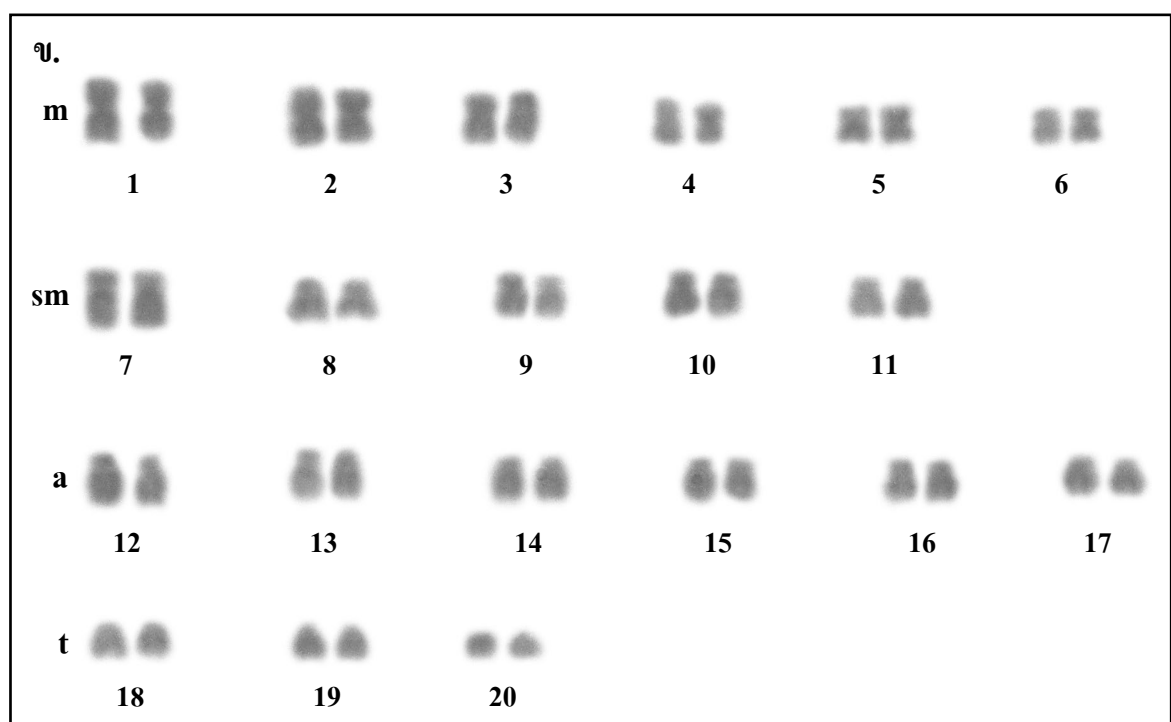
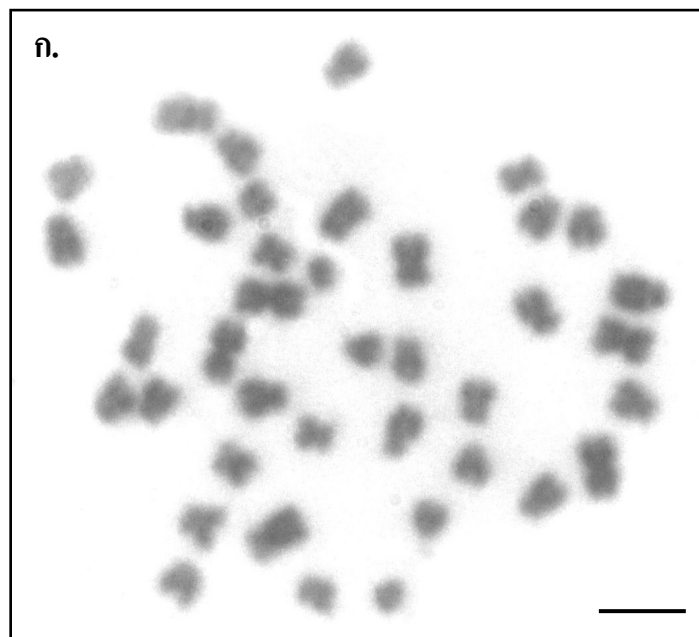
จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาปักเป้าห้องตาข่ายมีโครโมโซมคู่ใหญ่สุดเป็นชนิด เมทาเซนทริก และโครโมโซมขนาดเล็กเป็นชนิดซับเมทาเซนทริก จากการย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์ 2 ตำแหน่ง อยู่บนโครโมโซมเมทาเซนทริกคู่ที่ 6 มีตำแหน่งอยู่ใกล้เซนโทรเมียร์บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 4.12 และ 4.13)

จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาปักเป้าเขียวมีโครโมโซมคู่ใหญ่สุดเป็นชนิดเมทา เซนทริก และโครโมโซมขนาดเล็กเป็นชนิดเทโลเซนทริก จากการย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์เพียง 1 ตำแหน่ง อยู่บนโครโมโซม แสดงให้เห็นถึงการมีภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) ของตำแหน่งนอร์ โดยมีตำแหน่งนอร์อยู่ใกล้เซนโทรเมียร์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 4.16)

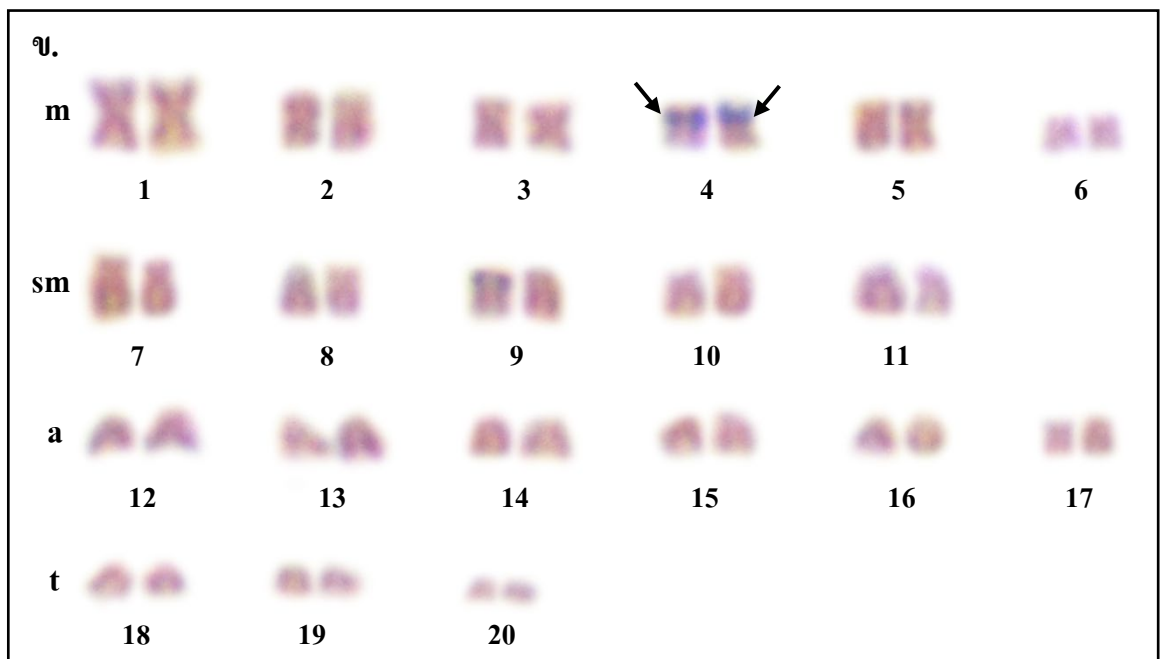
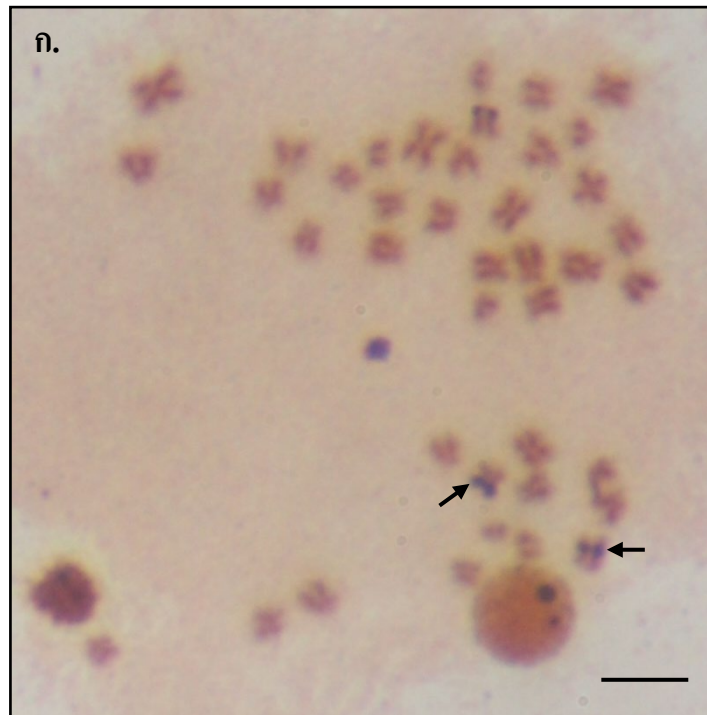
จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่าปลาปักเป้าเขียวจุดมีโครโมโซมคู่ใหญ่สุดเป็นชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมขนาดเล็กเป็นชนิดเทโลเซนทริก จากการย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์ 2 ตำแหน่ง อยู่บนโครโมโซมเมทาเซนทริกคู่ที่ 12 มีตำแหน่งใกล้เทโลเมียร์ (telomeric NOR) บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 12 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 4.17)



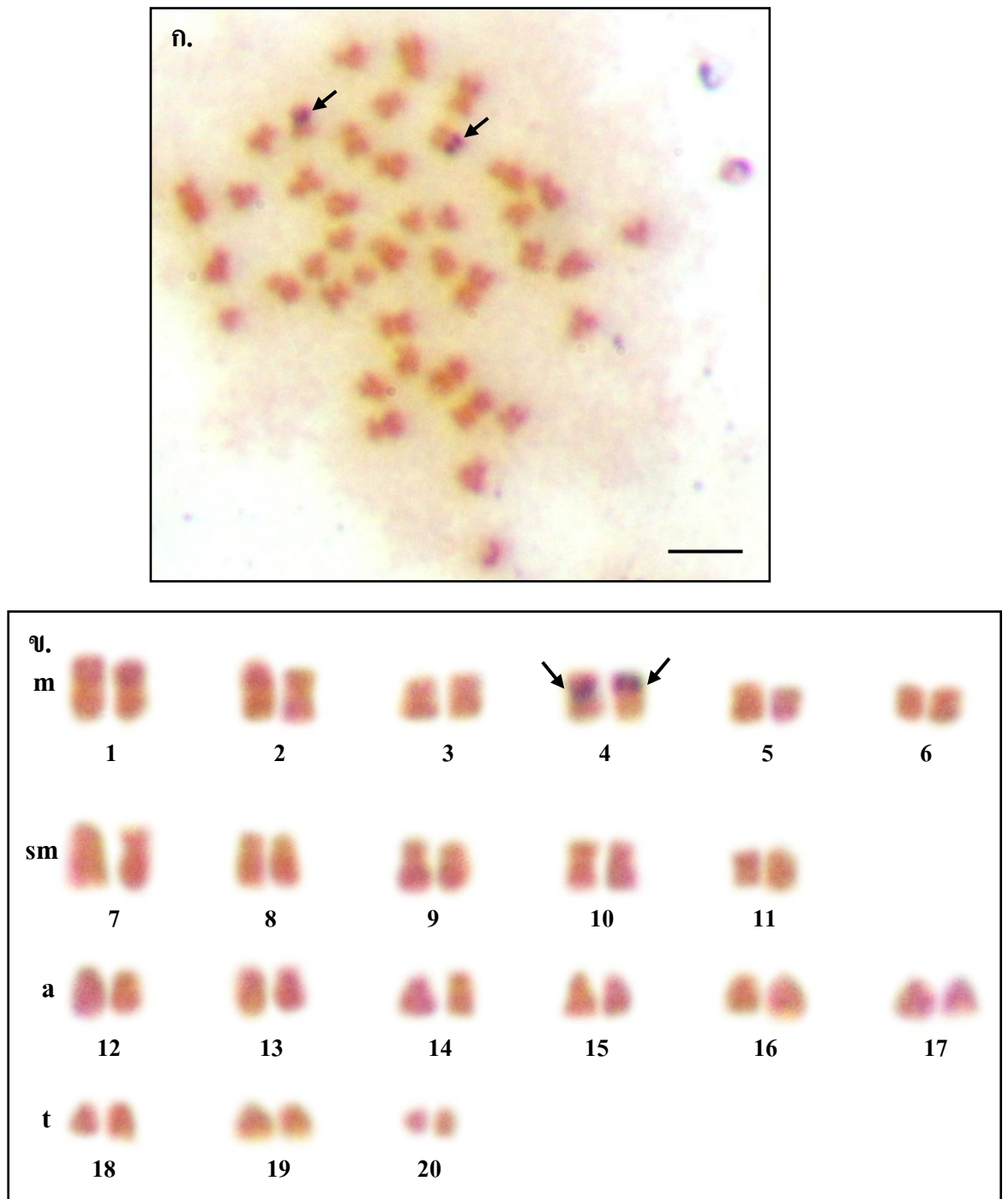
ภาพที่ 4.2 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



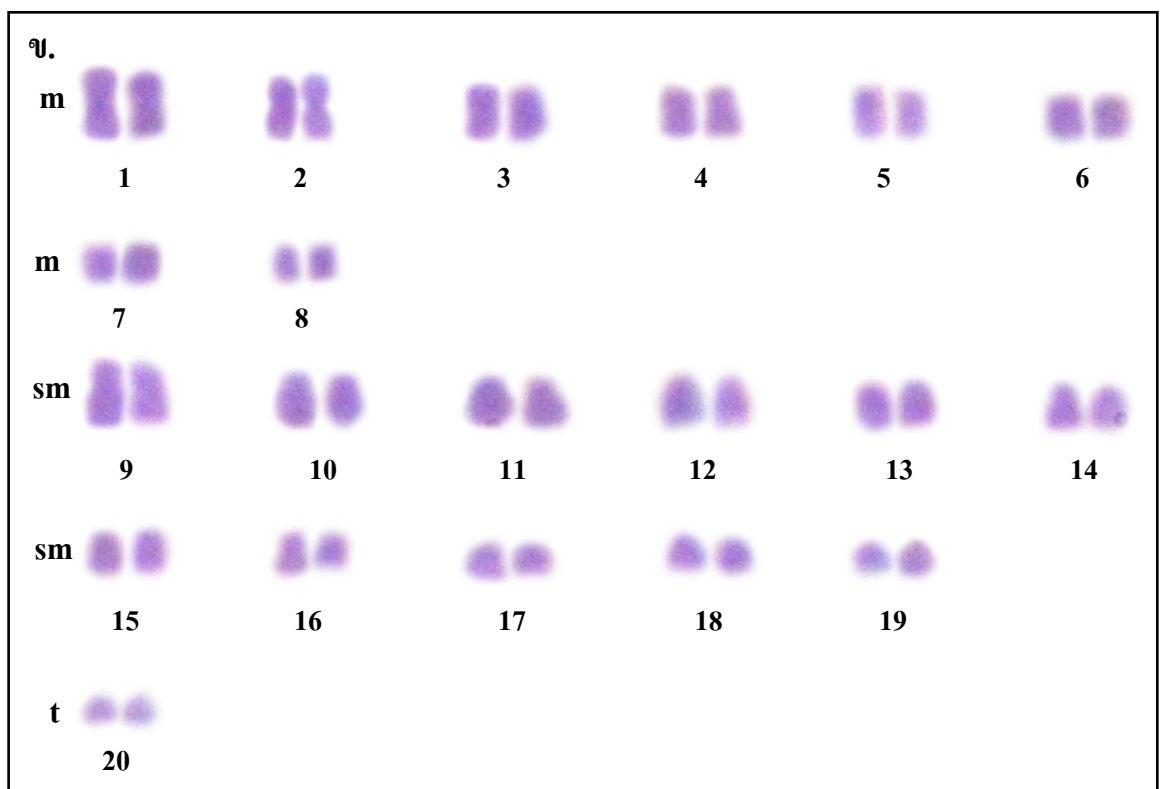
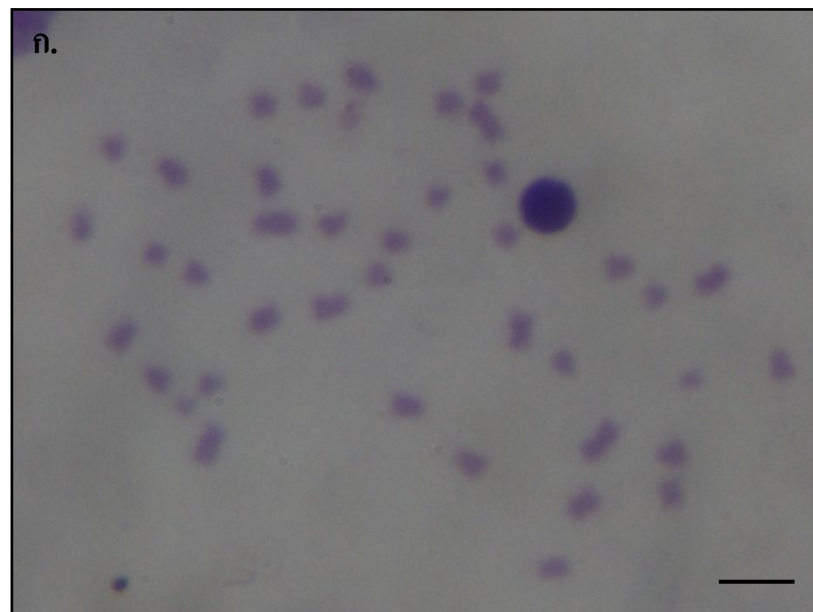
ภาพที่ 4.3 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



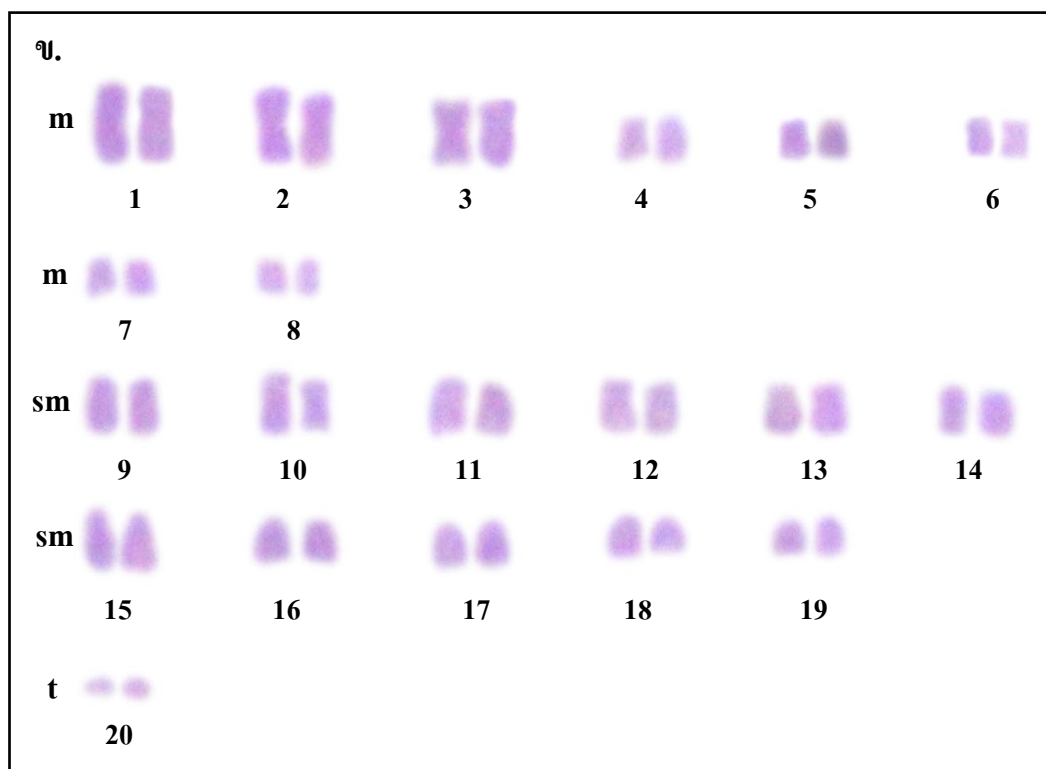
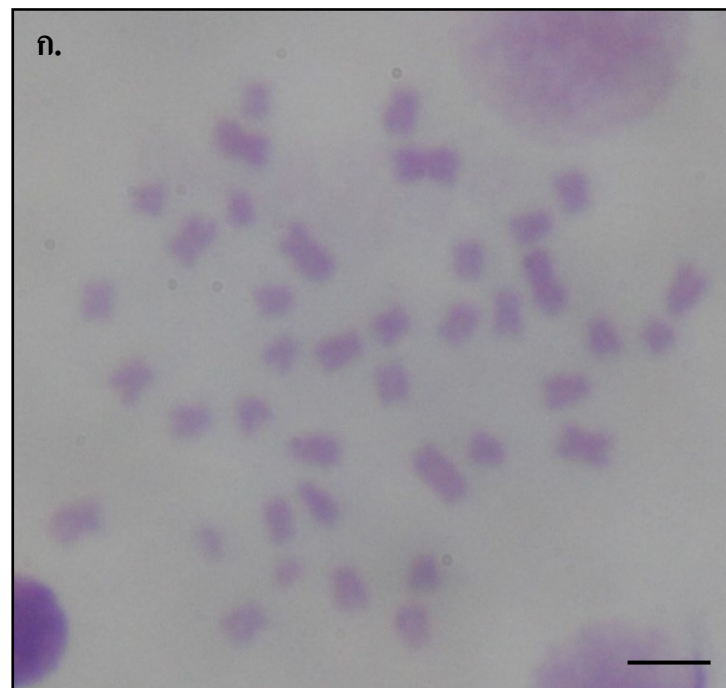
ภาพที่ 4.4 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แท่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



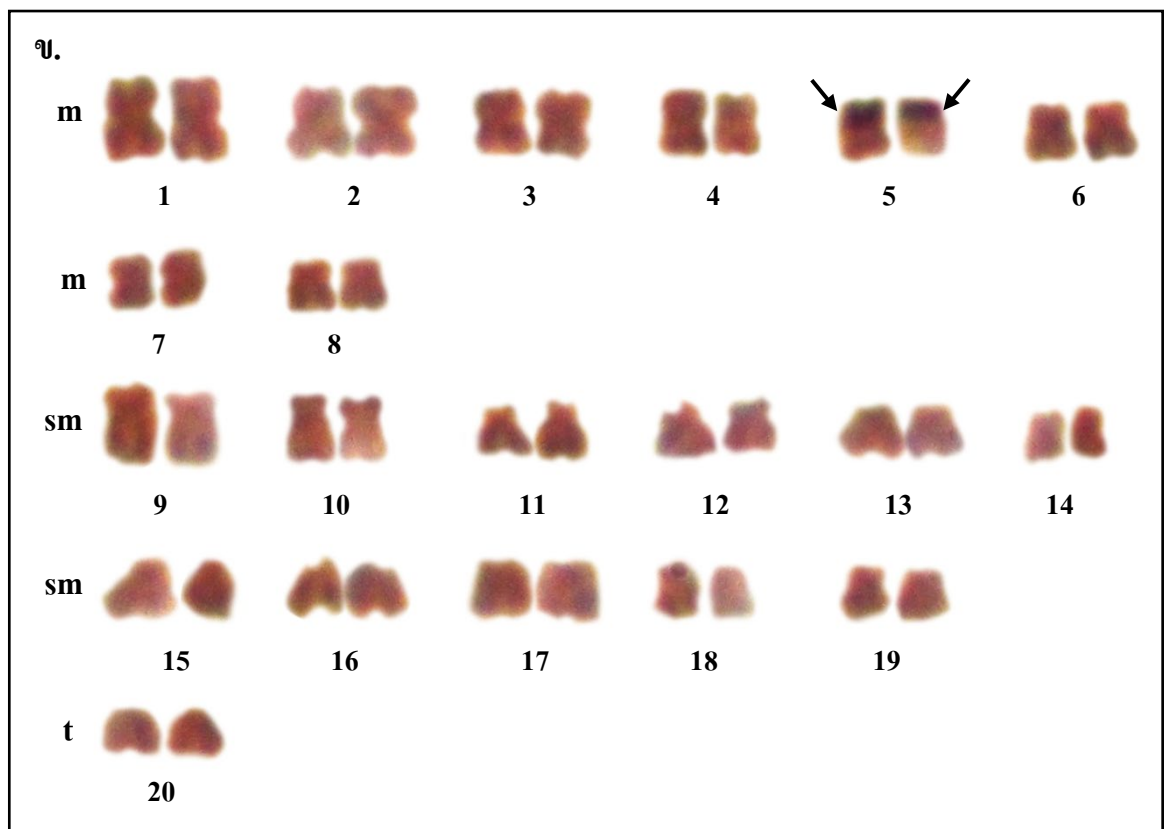
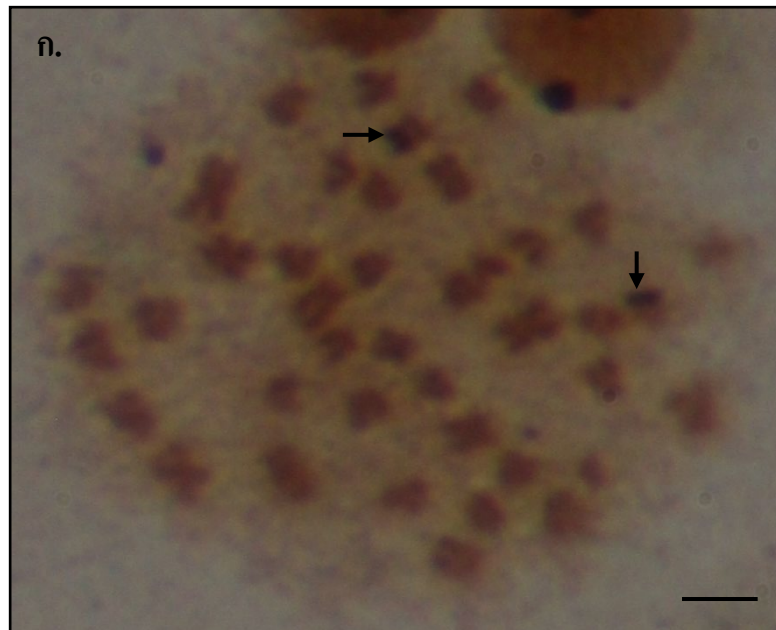
ภาพที่ 4.5 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าดำ (*Tetraodon cochinchinensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



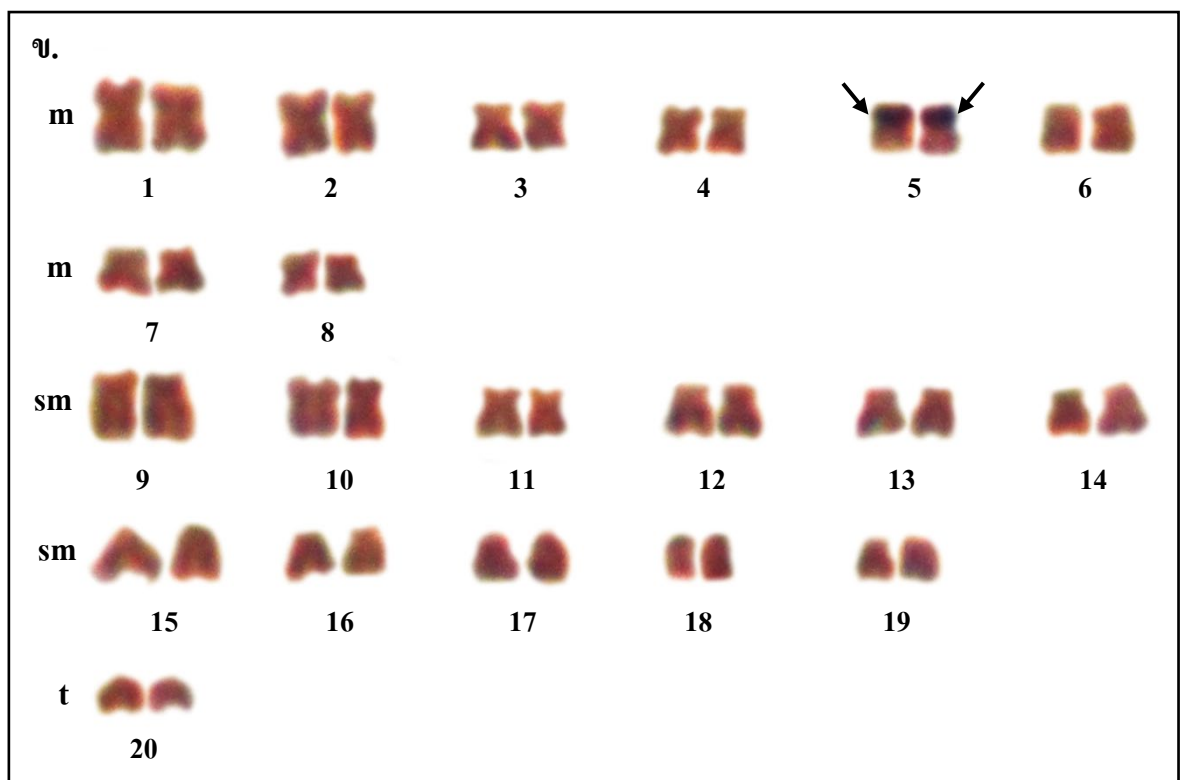
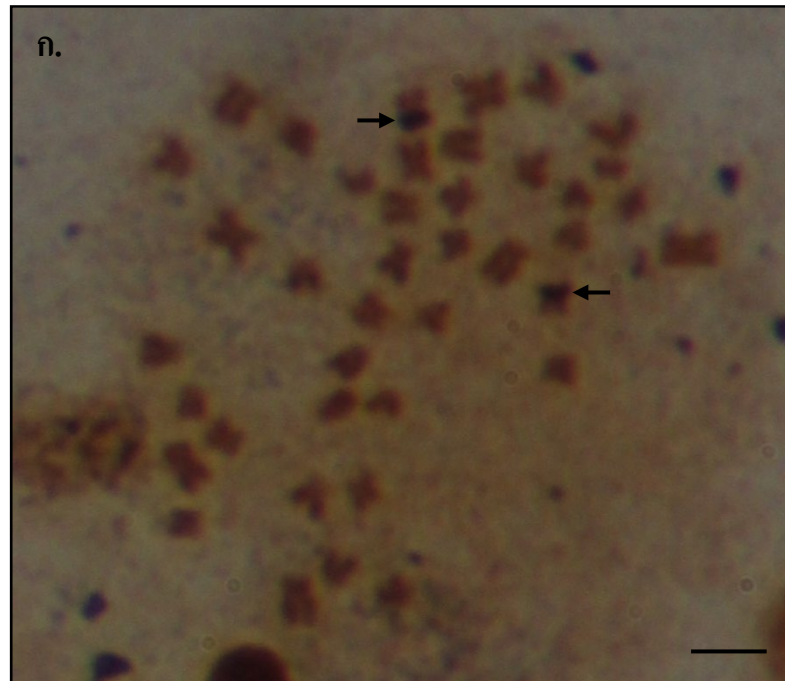
ภาพที่ 4.6 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย (*Tetraodon suvattii*) เพศผู้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ $(2n) 40$ แท่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



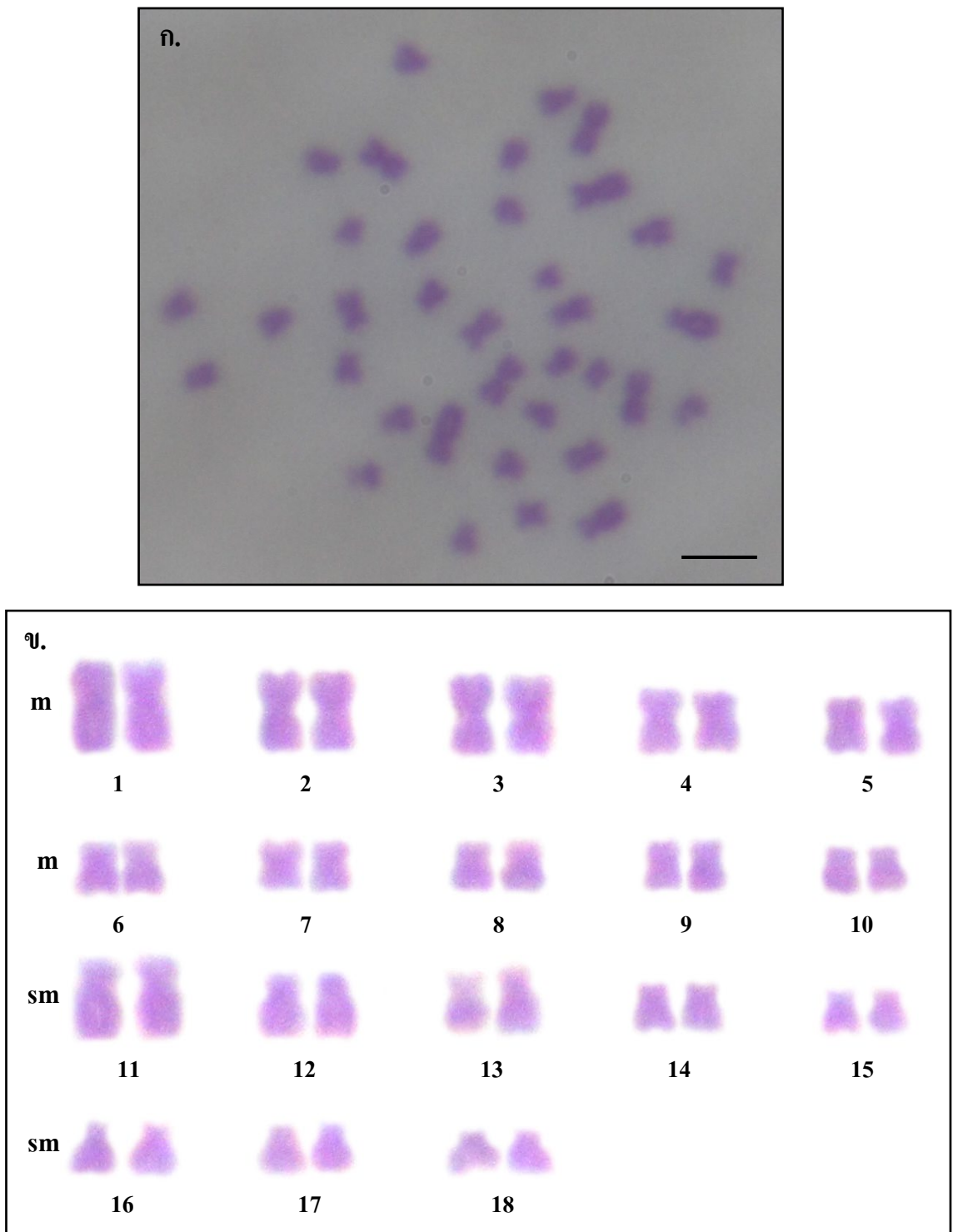
ภาพที่ 4.7 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย (*Tetraodon suvattii*) เพศเมียมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



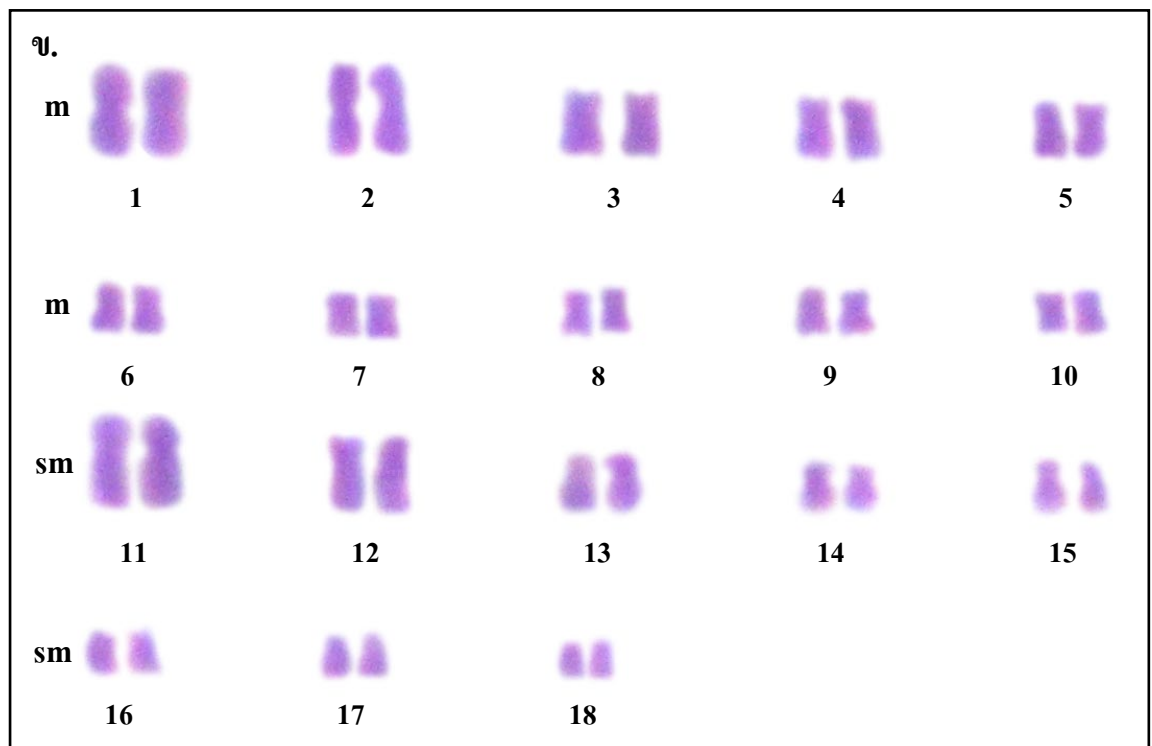
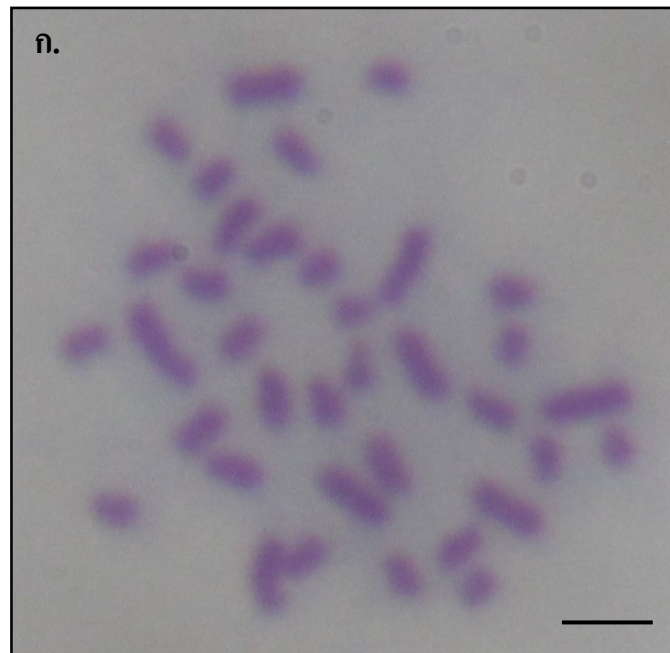
ภาพที่ 4.8 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย (*Tetraodon suvattii*) เพศผู้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



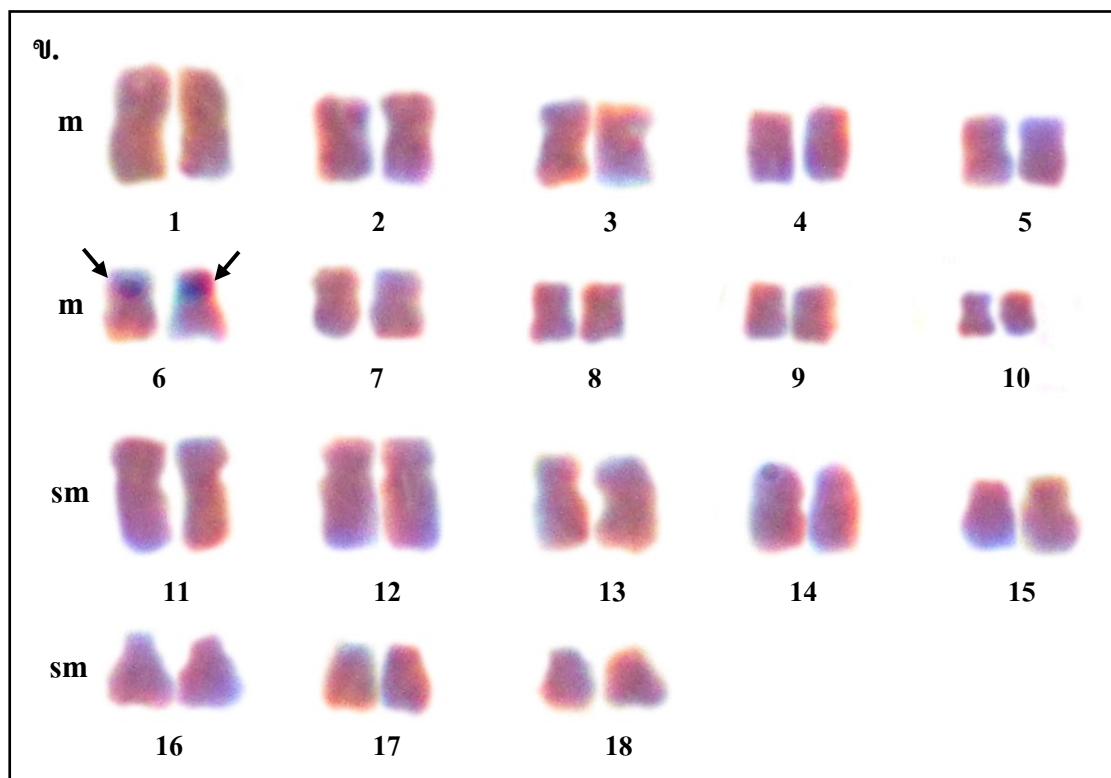
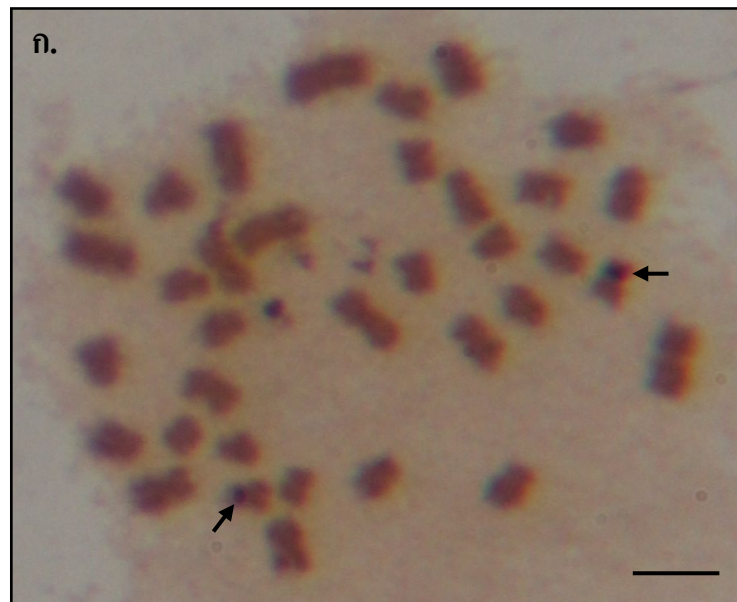
ภาพที่ 4.9 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าควาย (*Tetraodon suvattii*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



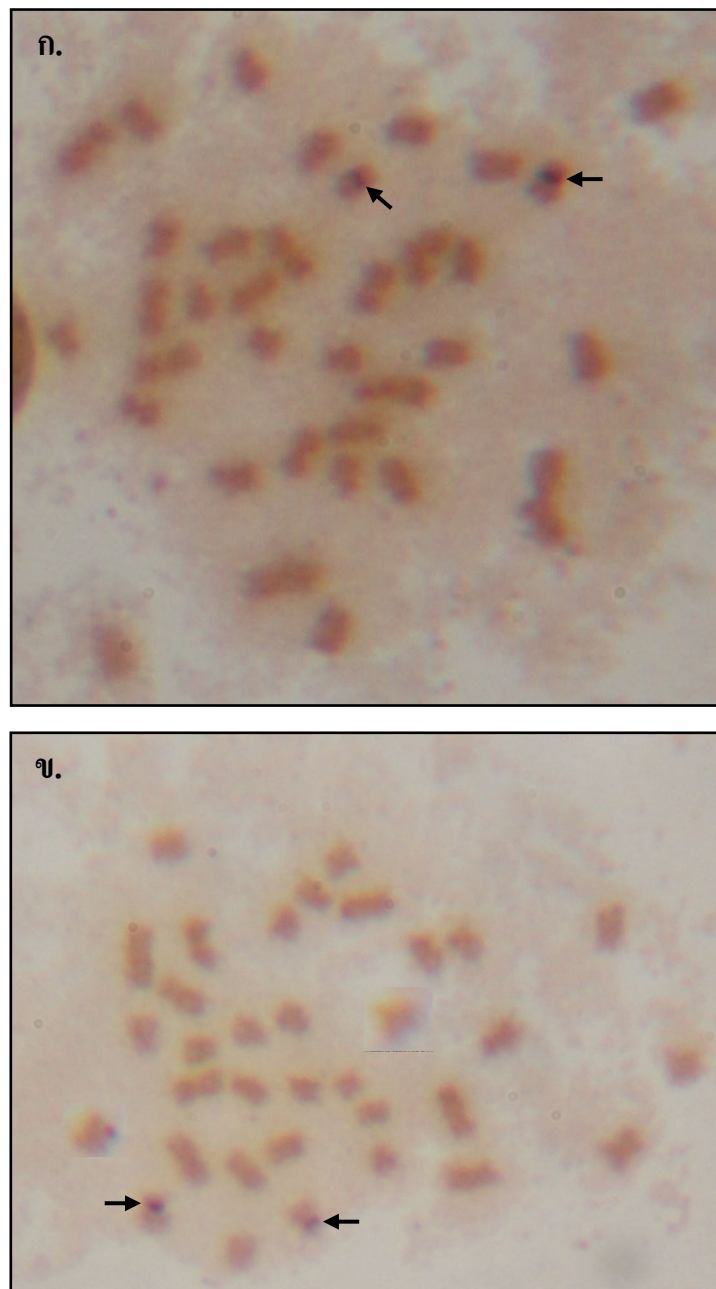
ภาพที่ 4.10 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าท้องตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 36 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



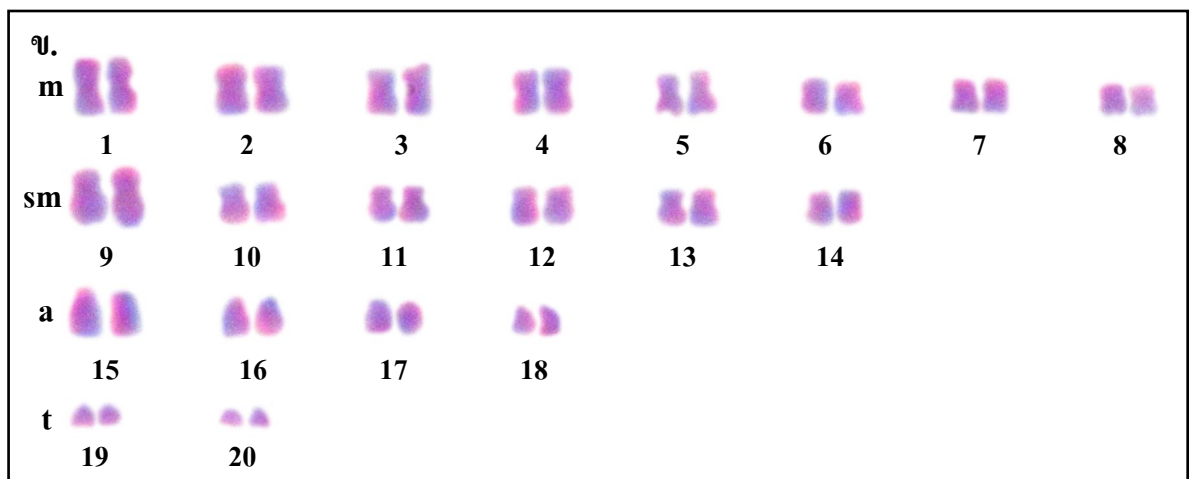
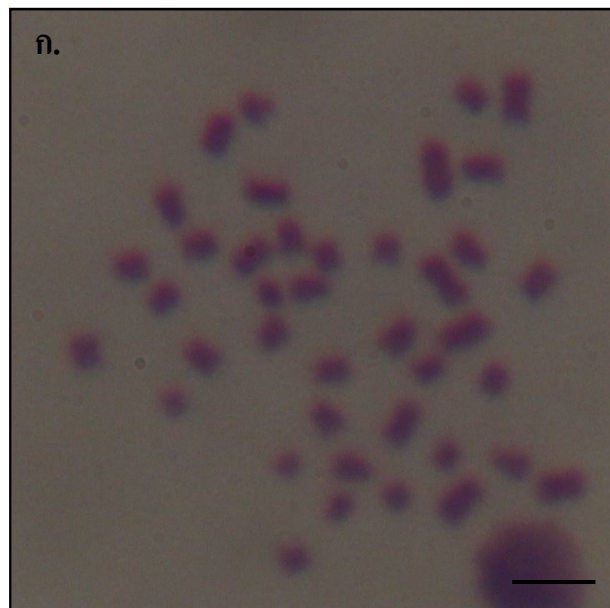
ภาพที่ 4.11 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าห้องตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 36 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



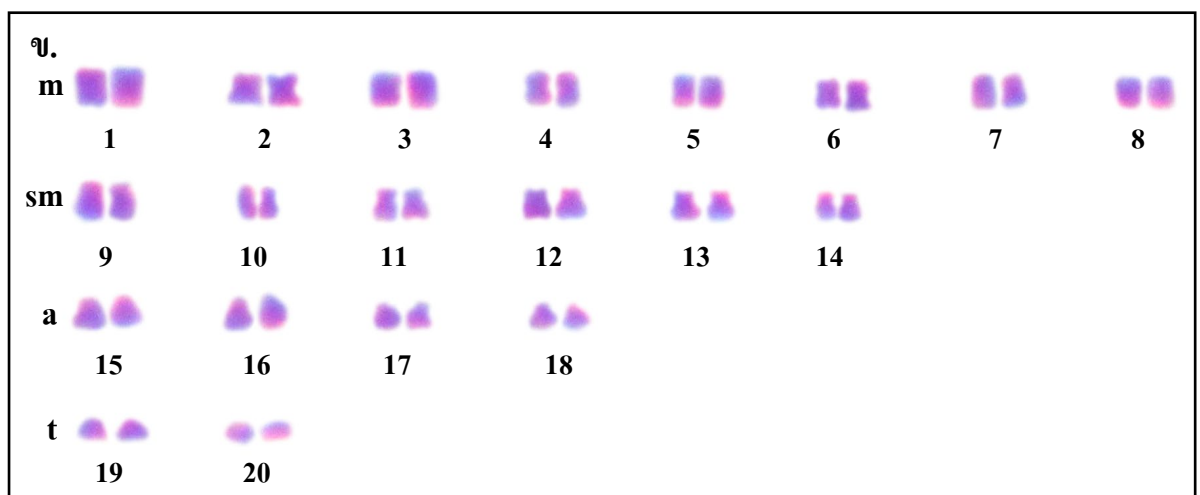
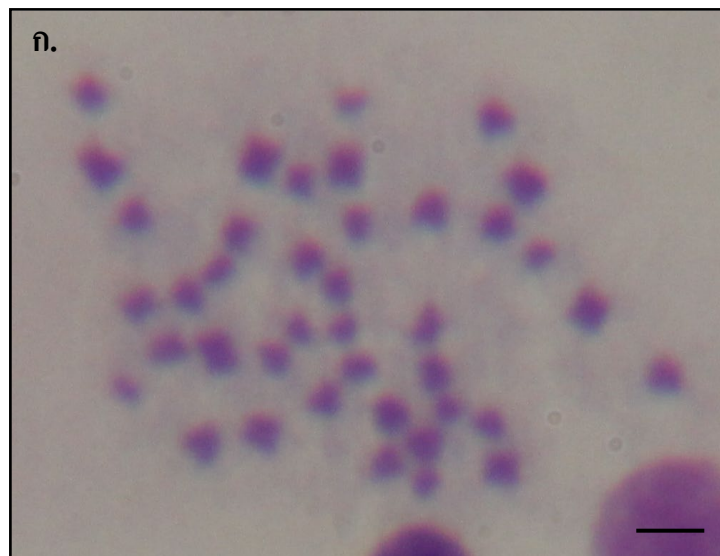
ภาพที่ 12 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าห้องตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 36 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบบอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



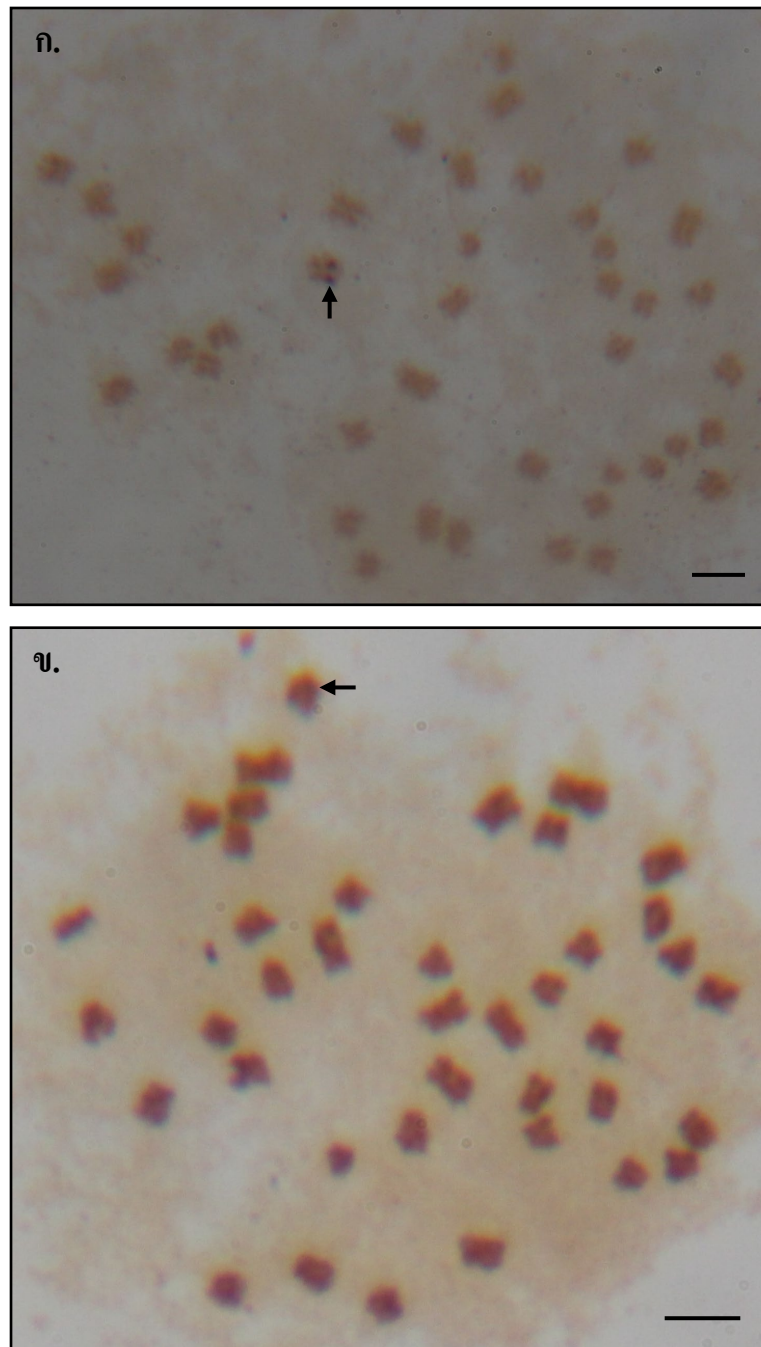
ภาพที่ 4.13 เมทาเฟสโครโมโซม (ก. และ ข.) ของปลาปักเป้าท้องตาข่าย (*Tetraodon palembangensis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 36 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



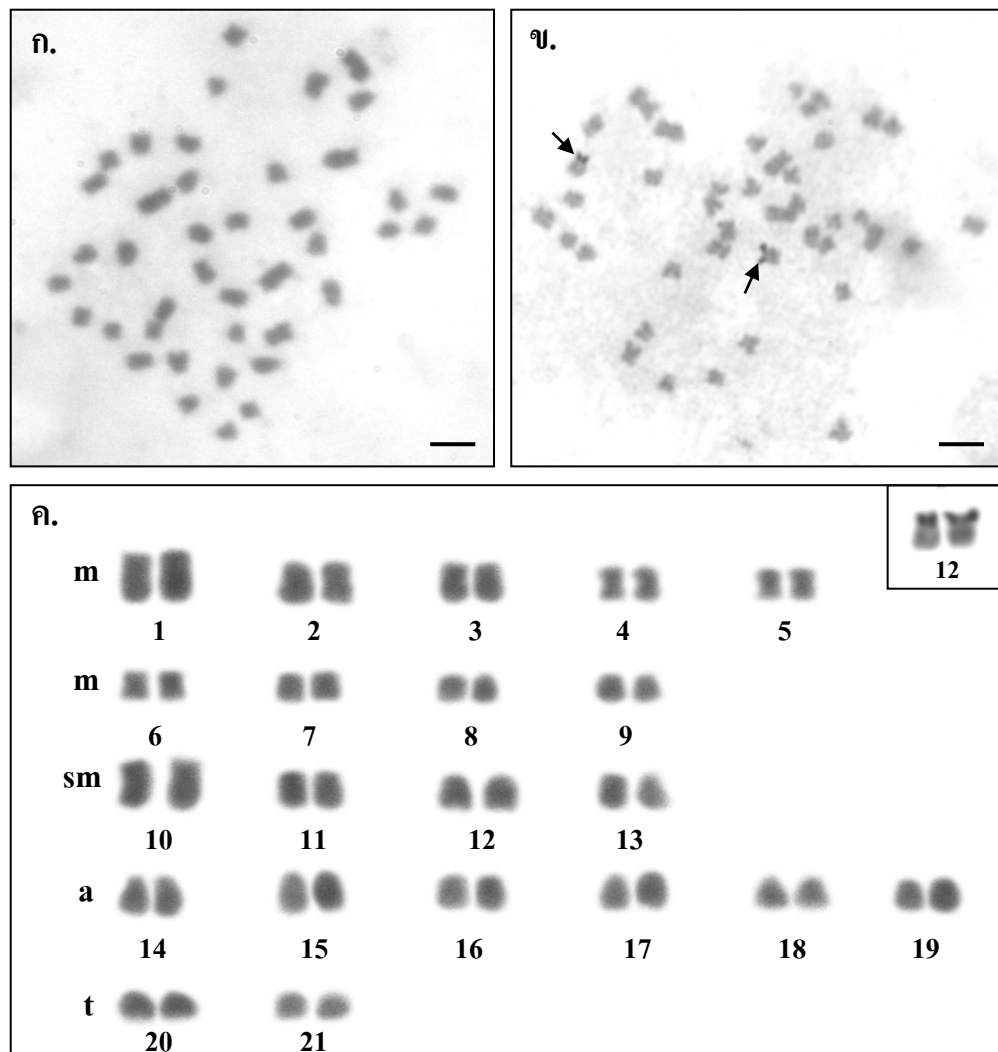
ภาพที่ 4.14 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าเขียว (*Tetraodon fluviatilis*) เพศผู้ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 4.15 เมทาเฟสโครโมโซม (ก.) และแคริโอไทป์ (ข.) ของปลาปักเป้าเขียว (*Tetraodon fluviatilis*) เพศเมีย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 4.16 เมทาเฟสโครโมโซมของปลาปักเป้าเขี้ยว (*Tetraodon fluviatilis*) เพศผู้ (ก.) และ เพศเมีย (ข.) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 40 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบนอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 4.17 เมทาเฟสโครโมโซมและแคริโอไทป์ของปลาปักเป้าเขี้ยวจุด (*Dichotomyctere nigroviridis*) มีจำนวนโครโมโซม ดิพลอยด์เท่ากับ ($2n$) 42 แห่ง ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (ก. และ ค.) และการย้อมแถบสีแบบนอร์ (ข.) กรอบสี่เหลี่ยมเล็กแสดงตำแหน่งนอร์ (สเกลบาร์เท่ากับ 5 ไมโครเมตร)

4.2 ผลการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อปลาปักเป้า

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากชิ้นส่วนของปลาปักเป้าแต่ละชนิด โดยชุดสกัดดีเอ็นเอ วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยใช้เครื่อง Nanodrop spectrophotometer วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (DNA concentration) ความบริสุทธิ์ (DNA purity) และคุณภาพของดีเอ็นเอ (DNA quality) คูณผลจากการนำ DNA ไปวัด OD และหาอัตราส่วน (ratio) ของ OD 260/280 แบ่งดีเอ็นเอที่วัดได้เป็น 2 ระดับ

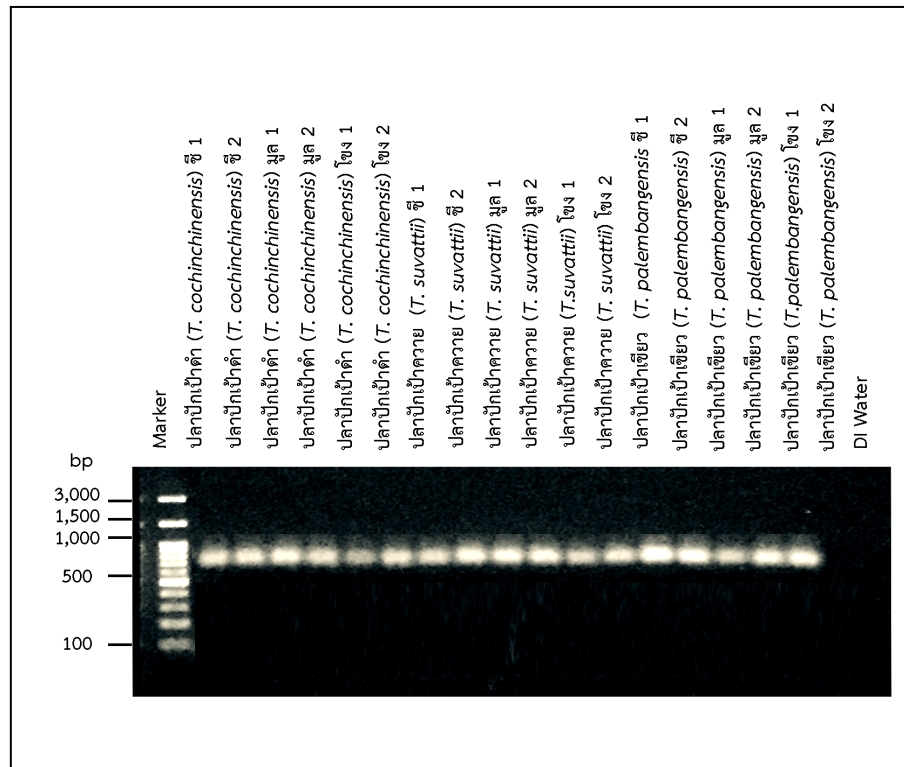
Grade 1 the highest quality = มี DNA ratio 1.8-2.0

Grade 2 the high quality = มี DNA ratio < 1.8 หรือ > 2.0 (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร ของดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อปลาปักเป้า

ลำดับ	ชนิด	A260	A280	260/280
1.	ปลาปักเป้าดำ ซี (<i>Tetraodon cochinchinensis</i>)	1.815	1.021	1.778
2.	ปลาปักเป้าดำ มุล (<i>Tetraodon cochinchinensis</i>)	0.976	0.527	1.852
3.	ปลาปักเป้าดำ โงง (<i>Tetraodon cochinchinensis</i>)	0.976	0.565	1.727
4.	ปลาปักเป้าควาย ซี (<i>T. suvattii</i>)	1.244	0.825	1.508
5.	ปลาปักเป้าควาย มุล (<i>T. suvattii</i>)	1.746	1.060	1.647
6.	ปลาปักเป้าควาย โงง (<i>T. suvattii</i>)	1.656	1.045	1.585
7.	ปลาปักเป้าเขียว ซี (<i>T. palembangensis</i>)	1.628	0.874	1.863
8.	ปลาปักเป้าเขียว มุล (<i>T. palembangensis</i>)	1.530	0.877	1.745
9.	ปลาปักเป้าเขียว โงง (<i>T. palembangensis</i>)	1.287	0.778	1.654
10.	ปลาปักเป้าเขียวจุด (<i>T. fluviatilis</i>)	1.656	0.764	2.168
11.	ปลาปักเป้าท้องตาข่าย (<i>Dichotomyctere nigroviridis</i>)	2.277	1.118	2.037

4.3 การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดของปลาปักเป้า



ภาพที่ 4.18 แถบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้จากบริเวณยีน *COI* ของปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิด

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *COI* ของปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิด ทั้ง 3 แหล่งน้ำ จำนวน ชนิด 18 ตัวอย่าง พบว่าผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มีขนาดประมาณ 600-800 คู่เบส

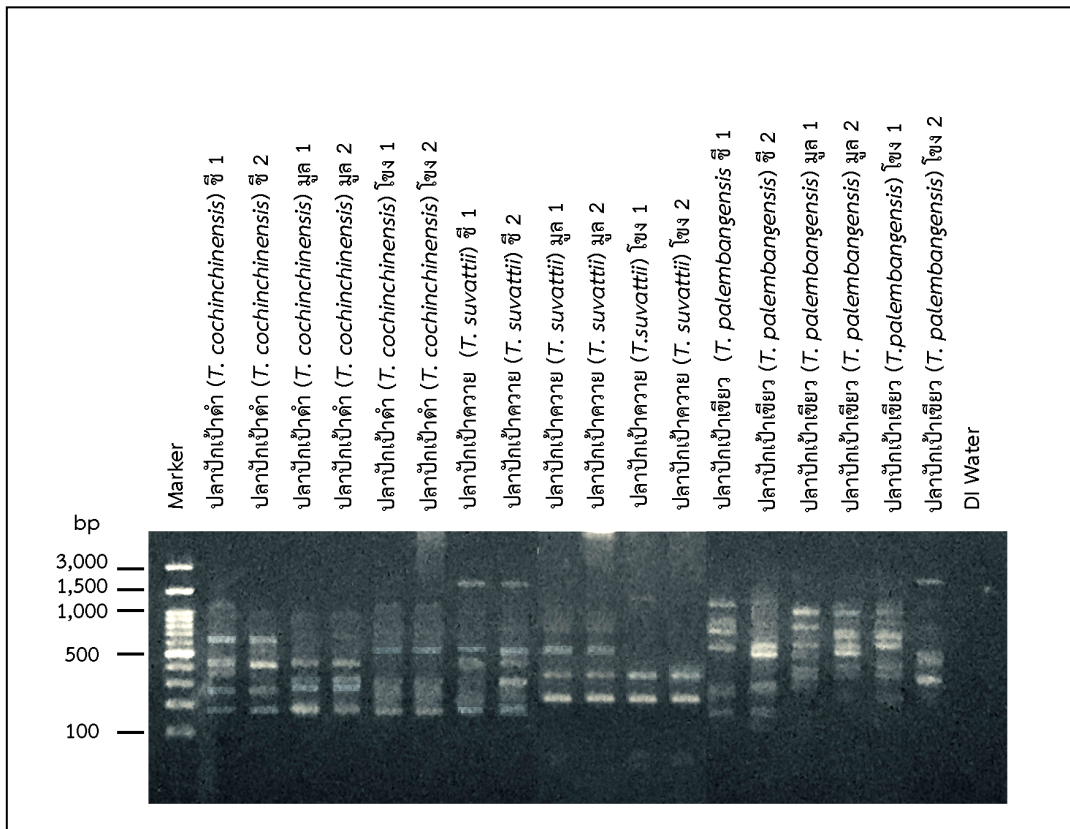
การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Cytochrome c oxidase I (*COI*) ในการจำแนกชนิดปลา 5 ชนิด พบว่าขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้มีขนาด 600-800 คู่เบส ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ส่งชิ้นส่วนดีเอ็นเอไปวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรม ทำให้ไม่สามารถนำไปวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าได้

4.4 การสร้างการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาปักเป้าที่พบในแม่น้ำสายหลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 สาย คือ แม่น้ำโขง แม่น้ำชี และแม่น้ำมูล

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิด โดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์จำนวน 10 ชนิด พบว่ามีจำนวน 3 ไพรเมอร์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้จำนวน 27 แถบ โดยไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้มากที่สุดคือไพรเมอร์ S61 สามารถสร้างชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ 13 แถบ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 แสดงจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ จากไพรเมอร์ RAPD ทั้ง 10 ชนิด

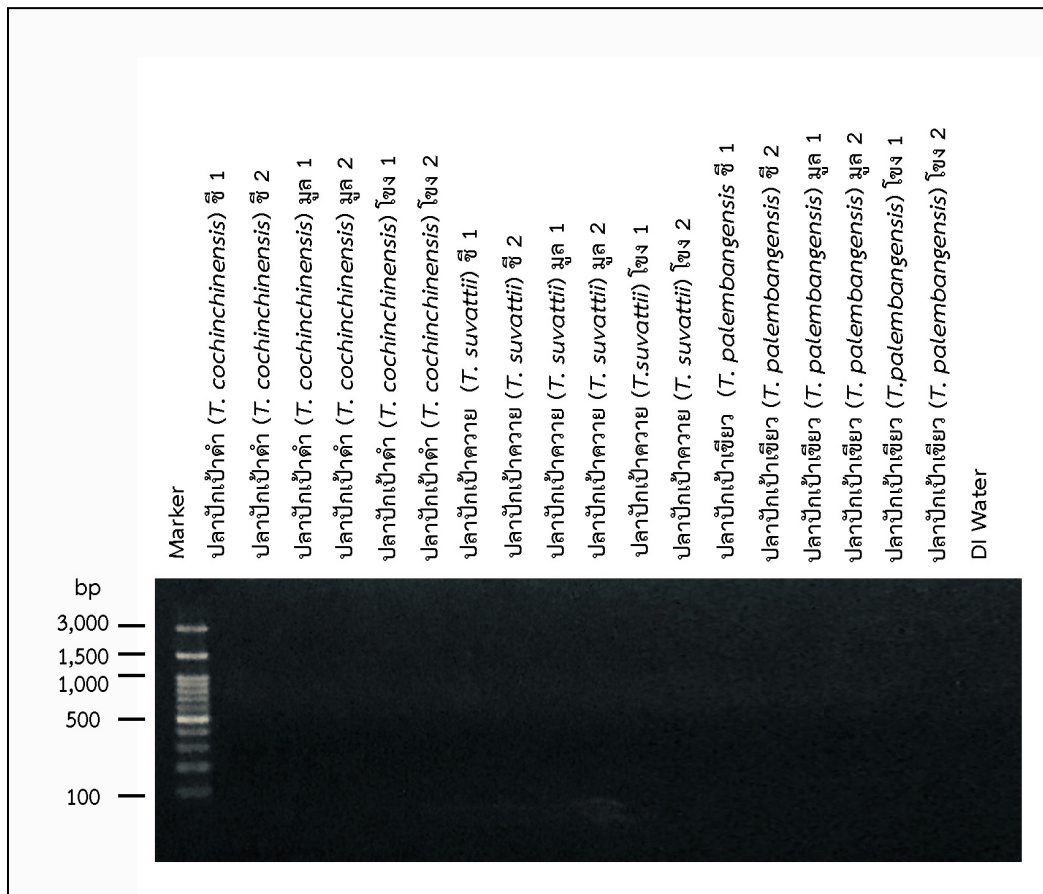
ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ
S61	13
S62	0
S63	0
S64	5
S65	0
S66	0
S67	0
S68	0
S69	0
S70	9



ภาพที่ 4.19 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S61

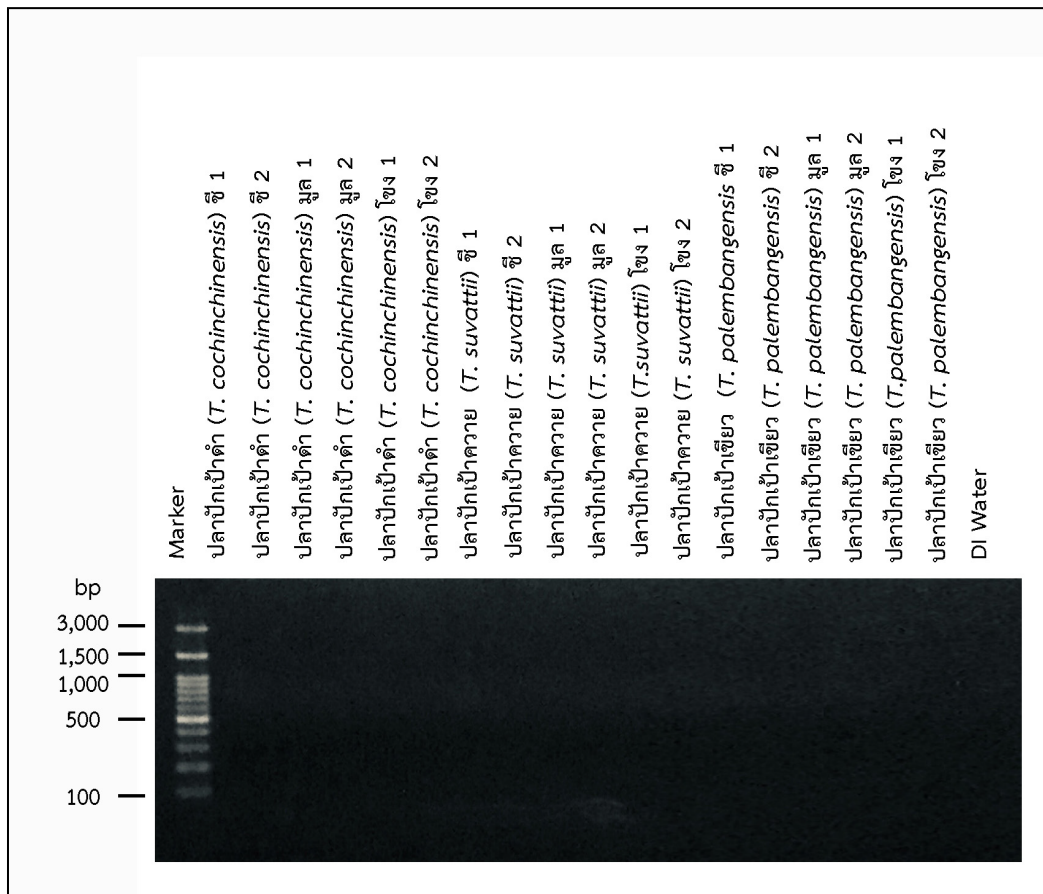
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S61 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 13 แถบ มีขนาดเท่ากับ 200, 250, 400, 500, 600, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1,400 และ 2,500 คู่เบส ดังภาพที่ 4.19

แถบดีเอ็นเอขนาด 200 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าดำที่พบในแม่น้ำชี แม่น้ำมูล และแม่น้ำโขง เป็นต้น



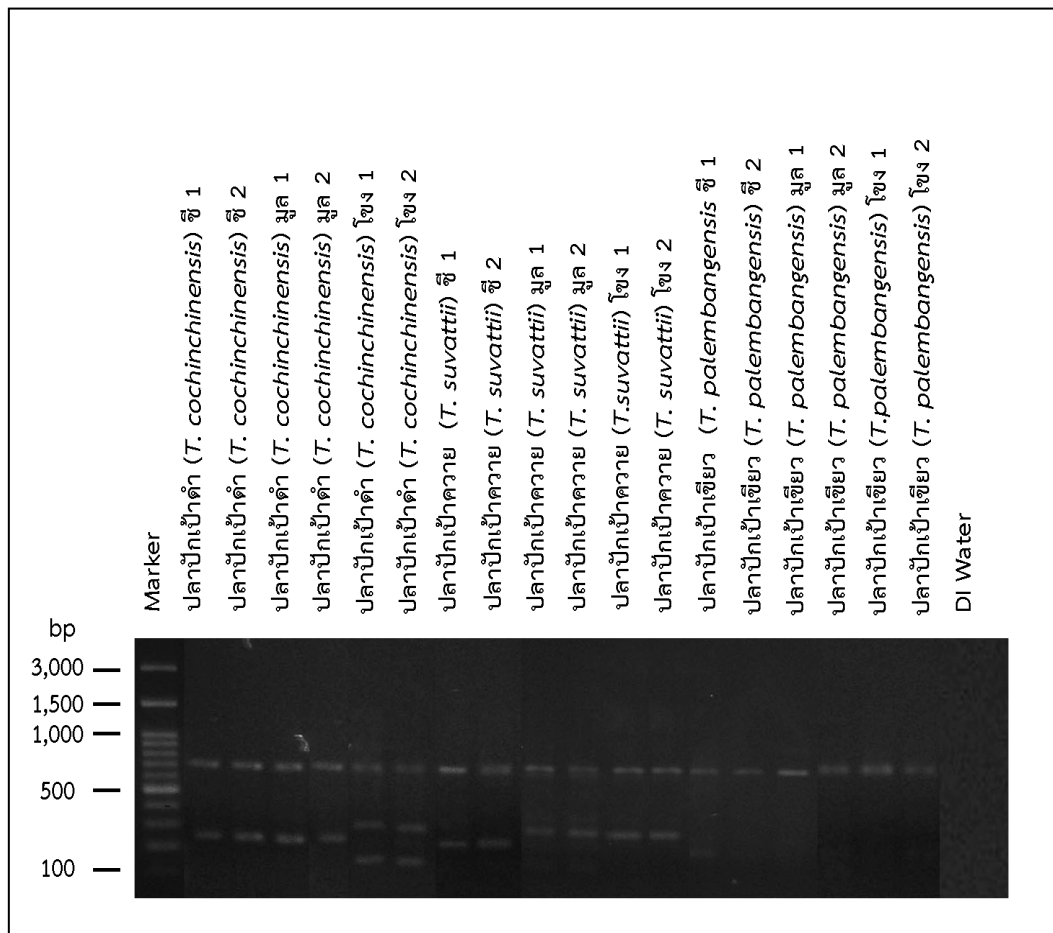
ภาพที่ 4.20 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลากัดเป่าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S62

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลากัดเป่าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S62 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.20



ภาพที่ 4.21 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S63

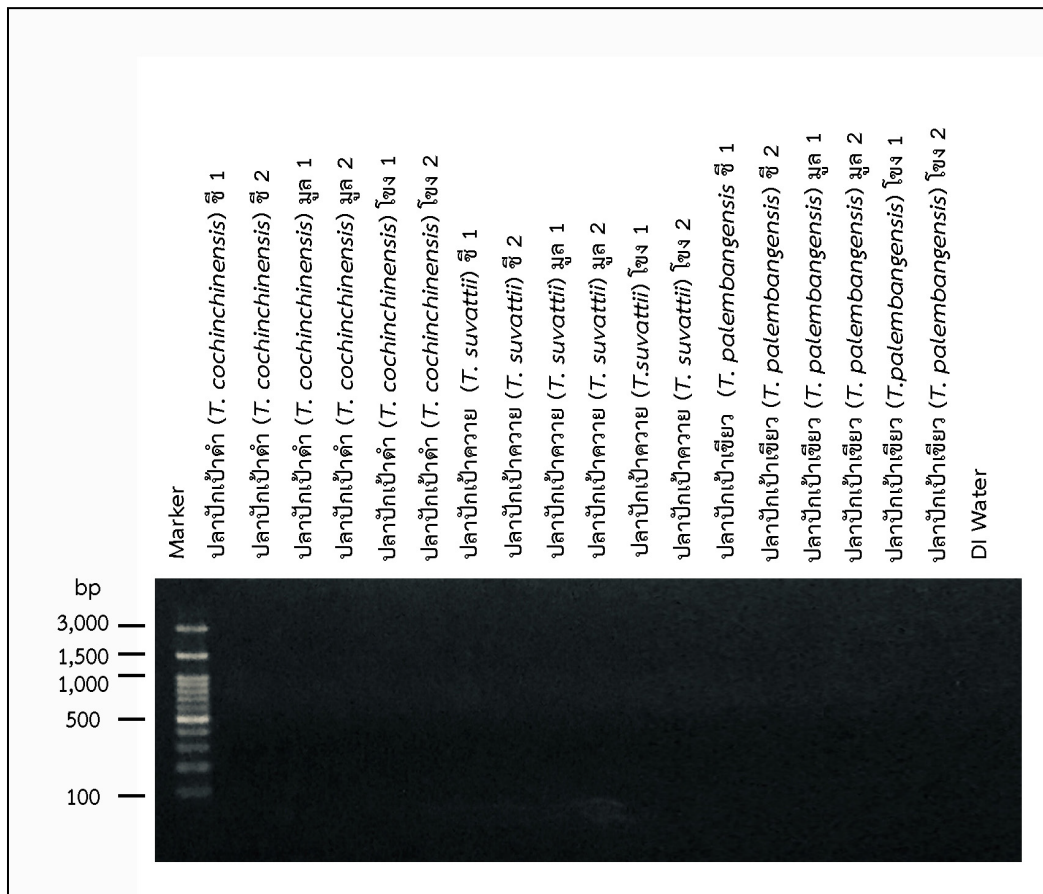
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S63 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.21



ภาพที่ 4.22 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S64

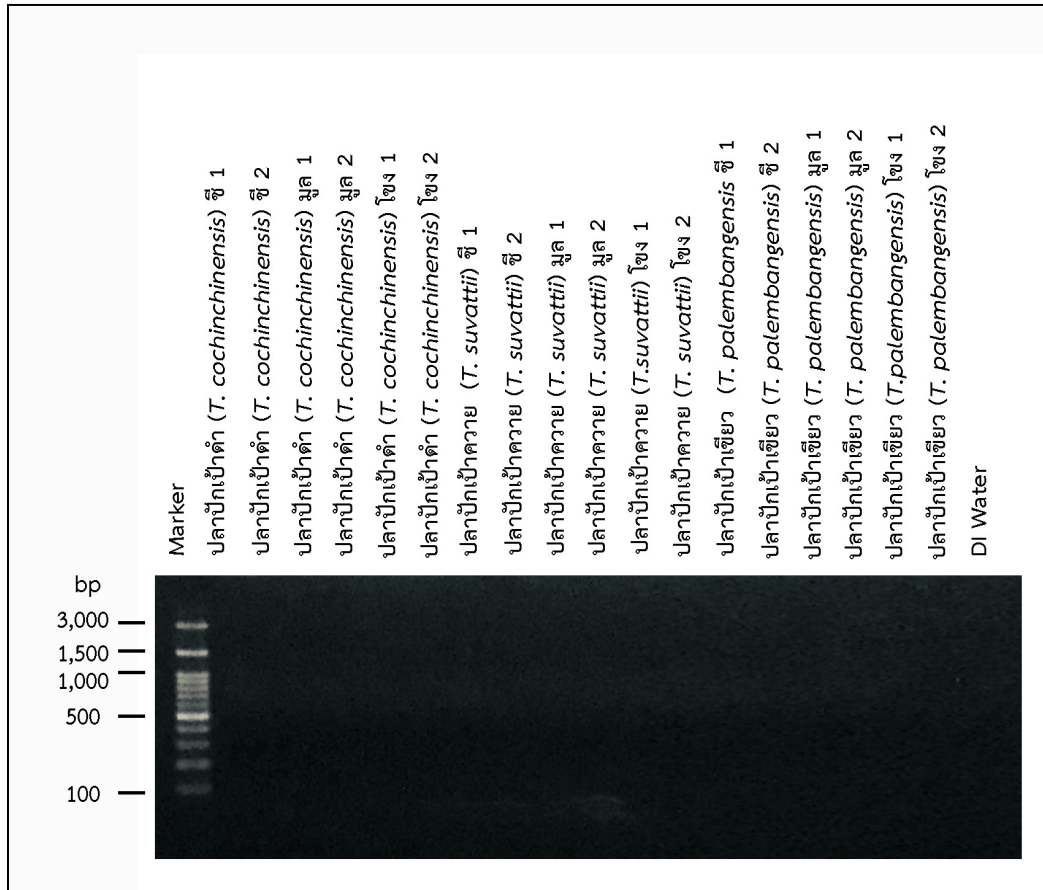
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S64 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 5 แถบ มีขนาดเท่ากับ 100, 200, 250, 300 และ 700 คู่เบส ดังภาพที่ 4.22

แถบดีเอ็นเอขนาด 700 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าทุกชนิด แถบดีเอ็นเอขนาด 200 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าดำที่พบในแม่น้ำชี และแม่น้ำมูล แถบดีเอ็นเอขนาด 100 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าดำที่พบในแม่น้ำโขง



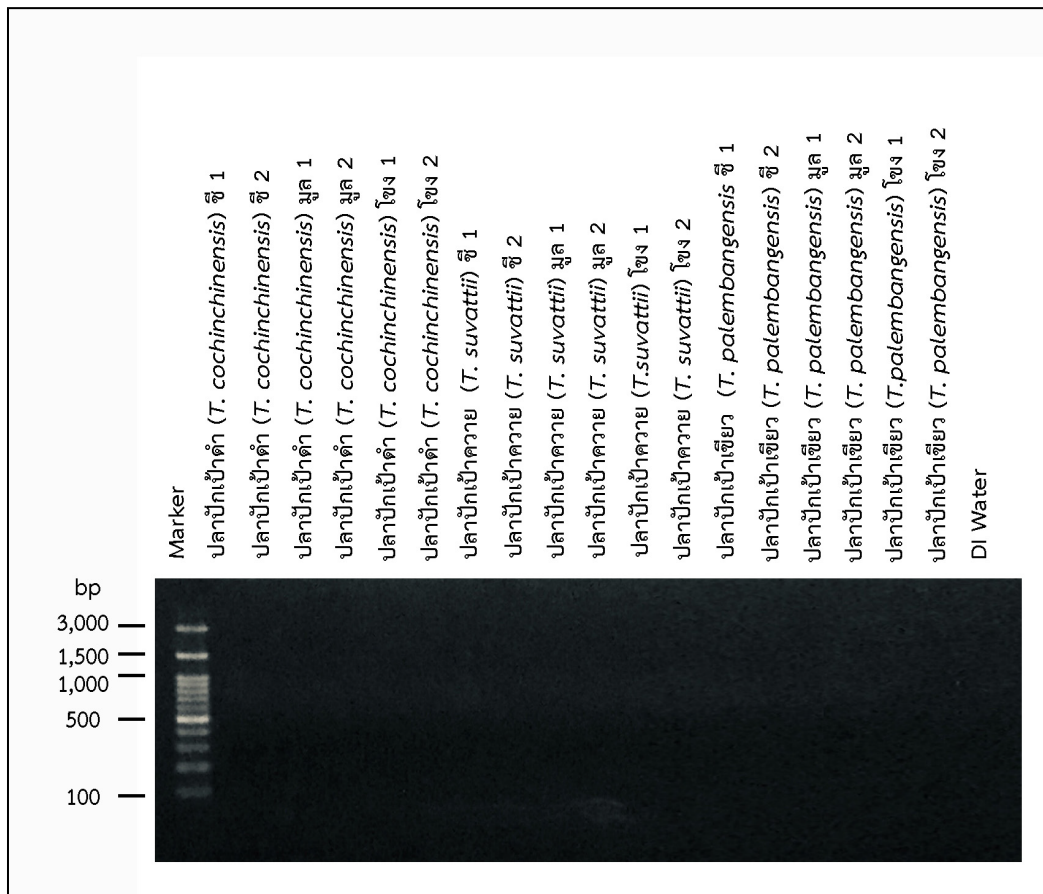
ภาพที่ 4.23 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S65

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S65 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.23



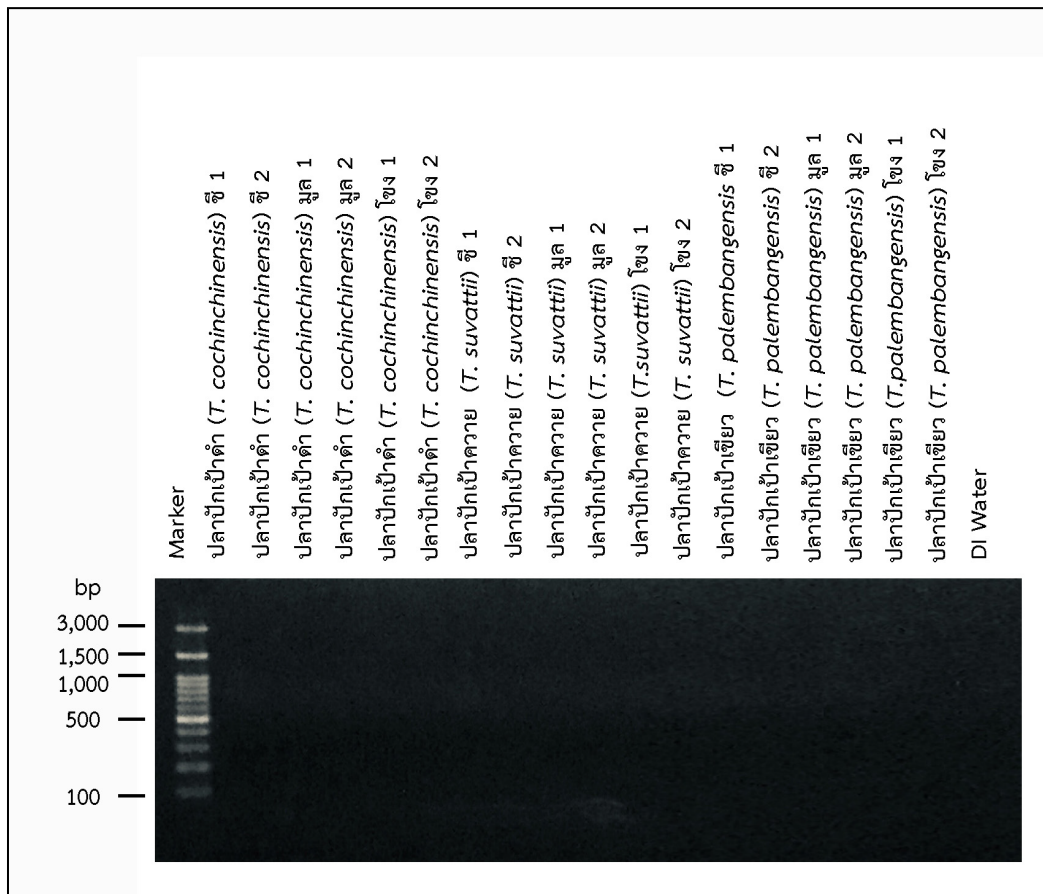
ภาพที่ 4.24 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S66

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S66 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.24



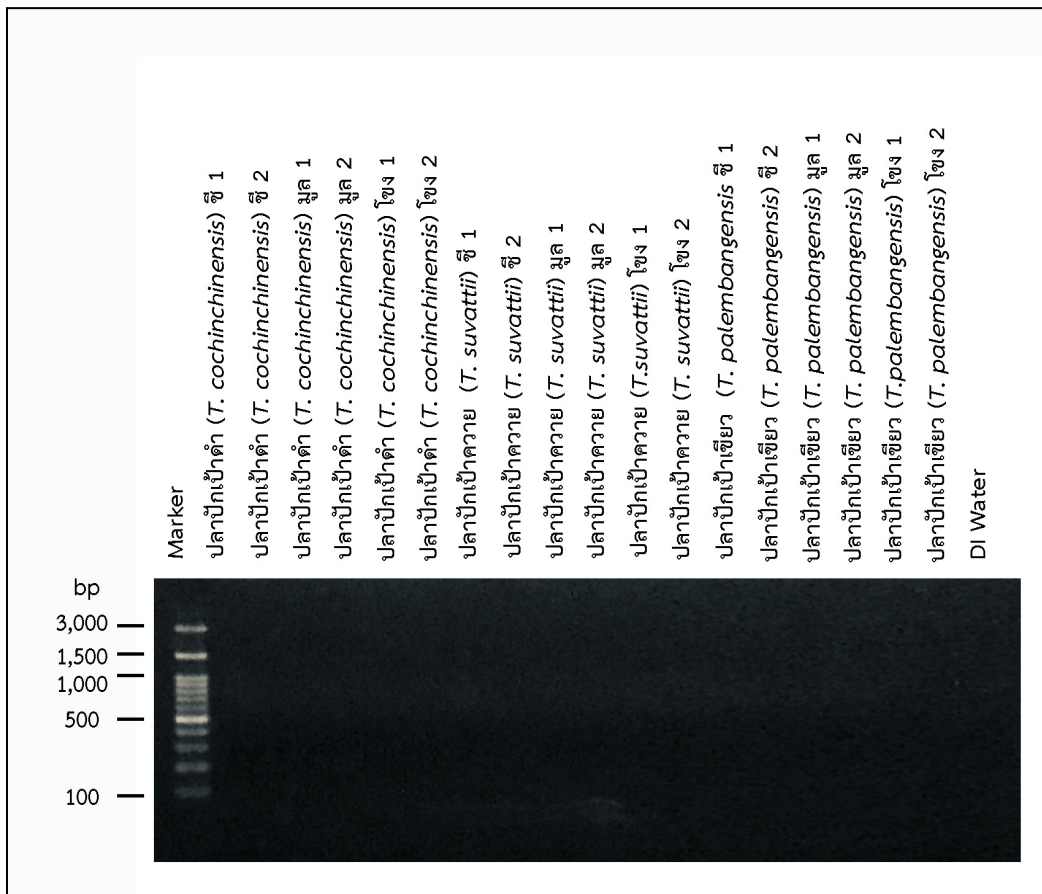
ภาพที่ 4.25 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S67

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S67 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.25



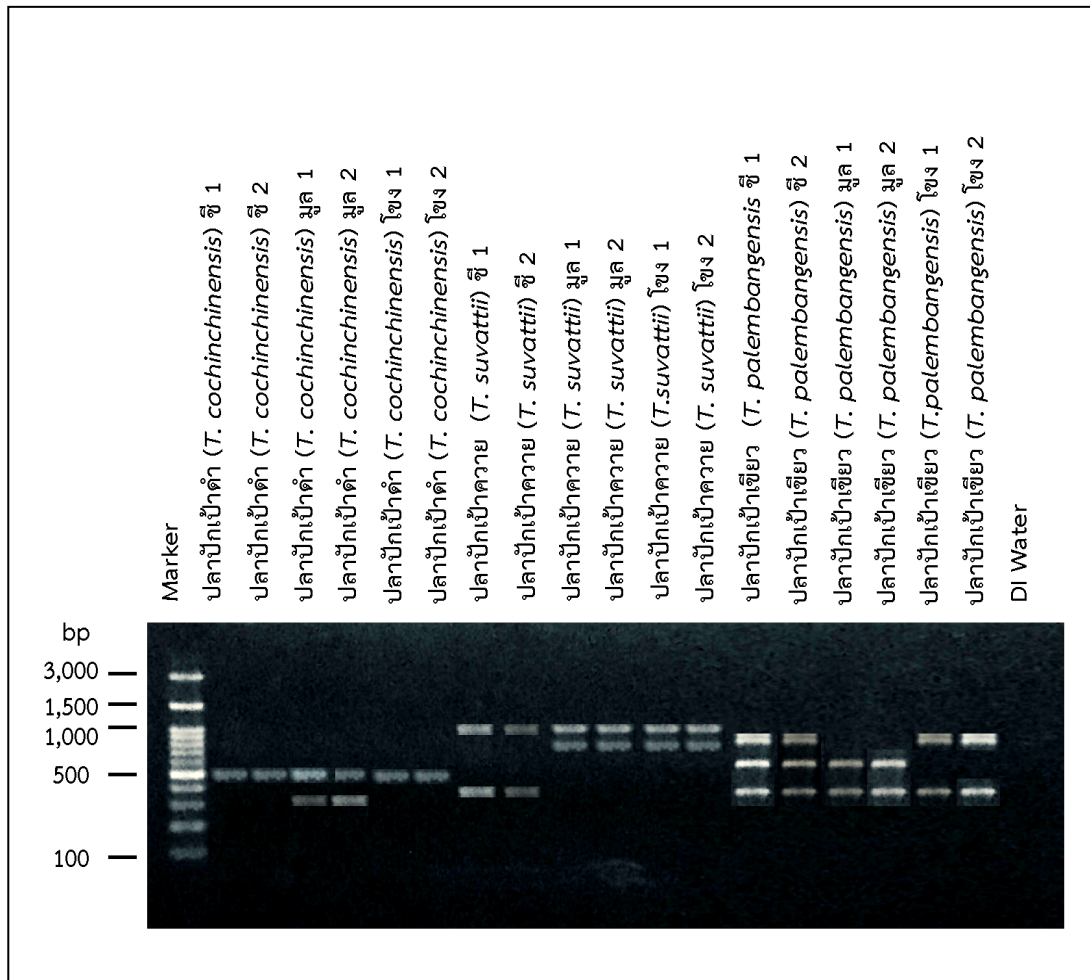
ภาพที่ 4.26 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S68

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S68 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.26



ภาพที่ 4.27 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S69

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S69 พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 4.27



ภาพที่ 4.28 รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดที่เพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR ด้วยไพรเมอร์ S70

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดด้วยไพรเมอร์ S70 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 9 แถบ มีขนาดเท่ากับ 300, 350, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 คู่เบส ดังภาพที่ 4.28

แถบดีเอ็นเอขนาด 500 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าดำทุกแหล่งน้ำ แถบดีเอ็นเอขนาด 1,000 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าควายที่พบในแม่น้ำชี แม่น้ำมูล และแม่น้ำโขง แถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบส เป็นแถบที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าเขียวที่พบในแม่น้ำชี แม่น้ำมูล และแม่น้ำโขง