บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. Karyotype

ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นมีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 เท่ากับปลากัดไทยพวกหางและครีบยาว และเท่ากับที่รายงานไว้โดย Bennington (1938) และ Svardson and Wickbom (1942)

การศึกษาจำนวนโครโมโซมในปลาชนิดต่าง ๆ ที่เป็นคนละ species มักจะมีจำนวนและชนิดของโครโมโซมไม่เหมือนกัน Simon and Dollar ศึกษาปลา Salmo gairdner 2n = 60 ส่วนปลา Salmo clarki lawisi 2n = 64 Simon (1960) ศึกษาปลา Oncorbynchus 5 species พบว่ามีจำนวนไม่เท่ากัน 2n = 52 - 74

การศึกษาจำนวนโครโมโซมเพียงอย่างเดียวไม่อาจตัดสินได้ว่าปลาใน species เดียวกันจะต้องมีจำนวนเท่ากัน และถ้าปลา 2 ชนิดมีจำนวนไม่เท่ากันจะต้องเป็นปลาคนละ species เสมอไปเพราะมีรายงานพบว่าสัตว์ที่เป็น species เดียวกันอาจจะมีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากันได้ถ้าการวิวัฒนาการของ karyotype เป็นไปตาม Robertson's law (White, 1954) เช่นจากรายงานของ Prokofieva (1934), Svardson (1945) และ Boothroyed (1959) ทั้ง 3 ท่านศึกษาปลาชนิดเดียวกันคือ Salmo salar แต่จับมาจากที่ต่าง ๆ กัน พบว่ามีจำนวนไม่เท่ากัน นอกจากนี้มีรายงานอื่น ๆ เช่น Matthey (1949) ศึกษาในปลา Lacertila Nogusa (1955) ศึกษาในปลา Acbeilognathus rhombea

ผลการศึกษา arm number ในปลากัดไทยทั้ง 2 พวกพบว่ามีจำนวนเท่ากัน คือ 2n = 56 การศึกษา arm number ในปลาชนิดต่าง ๆ ได้มี

รายงานว่าปลาที่มี arm number เท่าหรือใกล้เคียงกันถึงแม้จะมีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน ปลาเหล่านั้นมีวิวัฒนาการมาในสายเดียวกัน (phylogenetic relationship) เช่นจากรายงานของ Simon and Dollar (1963) ศึกษาปลาใน genus Salmo 2 ชนิด Simon (1960) ศึกษาปลา Oncorhynchus 5 species, Chen (1971) ศึกษาปลาใน genus Fundulus 20 species รายงานเหล่านี้ได้รายงานว่าปลาที่ศึกษามีจำนวน arm number ใกล้เคียงกัน

การศึกษา karyotype ของปลากัดไทยทั้ง 2 พวกมีจำนวนโครโมโซมและ arm number เท่ากัน น่าจะจัดไว้ในพวกเดียวกันได้ตามหลักของ Simon and Dollar (1963)

ผลการศึกษาชนิดของโครโมโซมยึดค่า Centromeric index เป็นหลัก ปลากัดไทยทั้งพวกหางและครีบสั้นกับพวกหางและครีบยาวมี acrocentric 14 คู่ และ submetacentric 7 คู่ เนื่องจากปลาส่วนใหญ่ที่ศึกษาไว้แล้วมักจะพบ acrocentric chromosome มากกว่าโครโมโซมชนิดอื่น (Chen and Ruddle, 1970 และ Chen, 1971) จึงได้แยกชนิดของ acrocentric เพื่อแยกชนิดของปลาได้แน่นอนขึ้น การศึกษาชนิดของ acrocentric chromosome ในปลากัดไทยได้ยึดหลักเหมือน Chen and Ruddle (1970) พบว่าปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นมีโครโมโซมที่เป็น acrocentric ชนิด SSA = 71.3% ปลากัดไทยพวกหางและครีบยาวมีโครโมโซมที่เป็น acrocentric ชนิด SSA = 78.57% จึงจัดปลากัดไทยทั้ง 2 พวกนี้อยู่ในกลุ่มSSA ตามหลักของ Chen (1971)

ผลการศึกษาการจัดกลุ่มของโครโมโซมตามขนาดความยาว ปลากัดไทยทั้ง 2 พวก แบ่งได้ 3 กลุ่มเหมือนกันคือ กลุ่มที่ 1 โครโมโซมขนาดใหญ่มี 16 คู่ คู่ที่ 1 – 16 มี submetacentric 5 คู่ acrocentric 11 คู่ กลุ่มที่ 2 โครโมโซมขนาดกลาง 2 คู่ ได้แก่คู่ที่ 17 – 18 ซึ่งมีลักษณะเป็น submetacentric

กลุ่มที่ 3 โครโมโซมขนาดเล็ก 3 คู่ ได้แก่คู่ที่ 19 – 21 มีลักษณะเป็น acrocentric

ผลจากการศึกษาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย R.L. ของโครโมโซมแต่ละคู่ระหว่างปลากัดไทยทั้ง 2 พวก พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 4 จากการศึกษาเปรียบเทียบ karyogram 2 มิติระหว่างปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้น (กราฟที่ 1) และพวกหางและครีบยาว (กราฟที่ 2) โครโมโซมคู่ที่ 8 และ 15 ในปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้น ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ C.I. มีค่าต่ำกว่าของพวกหางและครีบยาว ในพวกหางและครีบยาวแบ่งเป็นกลุ่ม ๆ ที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ R.L. และ C.I. ทับกันได้ 6 กลุ่ม แต่ในพวกหางและครีบสั้นแบ่งได้เป็นกลุ่มย่อย ๆ ได้มากกว่า 6 กลุ่ม เนื่องจากค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ R.L. และ C.I. ของคู่ที่ 8 และ 15 น้อยกว่าพวกหางและครีบยาว ทำให้เขียน karyogram แล้วแยกจากกลุ่มอื่นอย่างเห็นได้ชัด ผลที่เป็นเช่นนี้อาจจะเกิดจากได้มีการเปลี่ยนแปลงที่รูปร่างของโครโมโซมคู่ที่ 8 และ 15 ทำให้พบความแตกต่างจากการศึกษาโดยเปรียบเทียบ karyogram เป็นที่น่าสังเกตว่าโครโมโซมของปลากัดไทยมีขนาดเล็ก การวัดขนาดของโครโมโซมโดยยึด centromere เป็นหลัก การวัดค่า Ls และ Ll ของโครโมโซมอาจมีความคลาดเคลื่อนได้บ้าง แต่อย่างไรก็ตามจากค่าเฉลี่ย C.I. ของโครโมโซมคู่ที่ 8 และ 15 ในปลากัดไทยทั้ง 2 พวกมีลักษณะเป็น acrocentric เหมือนกัน

ผลจากการศึกษา diploid number, arm number, type of chromosome และ morphology of chromosome ในปลากัดไทยทั้ง 2 พวกมีจำนวนและลักษณะเหมือนกัน ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นและพวกหางและครีบยาวน่าจะเป็น species เดียวกันตามหลักของ Simon and Dollar (1963) Chen and Ruddle (1970) และ Chen (1971)

Swanson (1966) ได้กล่าวถึงประโยชน์ของการศึกษาแคริโอไทพ์ในแง่ที่เป็น cytotaxonomic data ที่ช่วยจัดหมวดหมู่ของสัตว์ได้แน่นอน สัตว์ที่จัดอยู่ใน species เดียวกันมีจำนวนและรูปร่างโครโมโซมที่เหมือนกัน ยกเว้นในสัตว์

บางตัวที่มีโครโมโซมผิดปกติ ทำให้แคริโอไทพ์ของสัตว์นั้นแตกต่างไปจากกลุ่มของสัตว์ที่เป็นพวกเดียวกันได้ เนื่องจากโครโมโซมสามารถเกิดการแตกแยก (breakage) ดังเช่นการเกิด inversion หรือเกิด recombination ดังเช่นการเกิด translocation เป็นการเปลี่ยน sequences ของ genes ซึ่งทำให้รูปร่างของโครโมโซมผิดไปจากเดิม อันเป็นทางนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทางแคริโอไทพ์ แบ่งลักษณะที่ทำให้แคริโอไทพ์ผิดไปจากเดิมได้ 3 กรณี

1. การเปลี่ยนจำนวนโครโมโซมเช่นการเกิด reciprocal translocation ส่วนของโครโมโซมที่มีลักษณะ inert สูญหายไปหรือในกรณีที่เกิด centric fusion

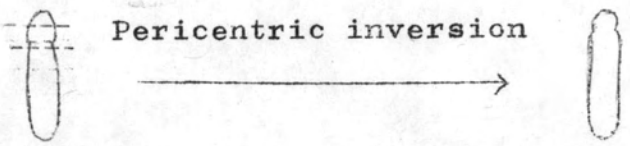
2. การเปลี่ยนแปลงทางรูปร่างและขนาดของโครโมโซม เช่น การเกิด translocation หรืออาจเกิด pericentric inversion

3. ปริมาณและการกระจายของ heterochromatin ผิดไปจากเดิม อาจมีปริมาณมากขึ้นหรือสูญหายไป โดยไม่มีผลต่อส่วนของ euchromatin

การเปลี่ยนแปลงทางแคริโอไทพ์เหล่านี้อาจไม่เกิดผลที่เป็นอันตรายต่อสัตว์นั้น ๆ แต่เมื่อเวลาผ่านไปนาน ๆ สภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมอาจมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ๆ ของสัตว์เหล่านี้อันจะเป็นการเริ่มของการเกิดสกุล (species) หรือประเภท (race) ใหม่ที่ใกล้เคียงกันได้ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการวิวัฒนาการของแคริโอไทพ์มีความสัมพันธุ์โดยตรงกับการเกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต

ในการศึกษาแคริโอไทพ์ของปลากัดไทยทั้ง 2 ชนิดพบว่าจำนวนและชนิดของโครโมโซมเหมือนกัน พบแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเมื่อศึกษาชนิดของ acrocentric ดังเช่น โครโมโซมคู่ที่ 10 ในปลากัดไทยชนิดหางและครีบสั้นมีลักษณะเป็น LSA ส่วนปลากัดไทยชนิดหางและครีบยาวมีลักษณะเป็น SSA ทั้ง ๆ ที่ค่า relative length ของคู่ที่ 10 ในปลาทั้ง 2 ชนิดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงว่าอาจจะ

มีการเรียงตำแหน่งของ gene ใหม่บนโครโมโซมโดยเกิดเปลี่ยนที่ตำแหน่ง 2 ข้าง ของ centromere (pericentric inversion) ทำให้อัตราส่วนของ $\frac{L1}{LT}$ เปลี่ยนแปลงไป



อย่างไรก็ตามในการศึกษาโครโมโซมของปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นและปลากัดไทยพวกหางและครีบยาว ไม่พบความแตกต่างทางแคริโอไทพ์ในอันที่จะชี้ให้เห็นว่าปลากัดทั้ง 2 พวกนี้ มีวิวัฒนาการแตกต่างกันจนแยกออกเป็นคนละชนิด

จากการศึกษาแคริโอไทพ์ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้น และพวกหางและครีบยาวทั้งตัวผู้และตัวเมีย พบ chromosomal polymorphism เนื่องจากปลาแต่ละตัวที่ศึกษามีเซลที่โครโมโซมสวยและกระจายดีมีจำนวนน้อย ปลาบางตัวได้เซลมาศึกษาเพียง 1 เซล แล้วพบว่าเป็น polymorphism ดังเช่นในปลากัดพวกหางและครีบสั้น 3 ตัว และพวกหางและครีบยาว 4 ตัว จึงน่าคิดว่าอาจจะเป็น polymorphism ระหว่างปลาใน species เดียวกัน (intraspecies) แต่มีหลักฐานพบในปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้น 3 ตัว และพวกหางและครีบยาว 1 ตัว ที่พบว่ามีเซลที่มีโครโมโซมปกติและ polymorphism ในปลาตัวเดียวกัน (intraindividuals) จึงทำให้น่าจะเป็นไปได้ว่าลักษณะ polymorphism ที่พบในปลากัดไทยเป็น intraindividual polymorphism

2. Hybridization

ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นตัวเมียและปลากัดไทยพวกหางและครีบยาวตัวผู้สามารถผสมพันธุ์กันได้ ให้ลูกผสมที่มีชีวิตรอดจนโตเต็มวัย และในการผสมระหว่างปลา

กัดไทยพวกหางและครีบสั้นตัวผู้กับปลากัดไทยพวกหางและครีบยาวตัวเมียก็ประสบผลสำเร็จเช่นเดียวกัน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการผสมพันธุ์ระหว่างปลากัดไทยคนละพวกนี้มีปัญหามากกว่าการผสมพันธุ์ปลากัดไทยที่อยู่ในพวกเดียวกันเล็กน้อย กล่าวคือตัวผู้ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นมีอุปนิสัยกุชอบไล่กัดตัวเมีย ถ้าไม่ยอมผสมพันธุ์ด้วยทำให้ปลากัดไทยตัวเมียพวกหางและครีบยาวซึ่งมีรูปร่างบอบบางได้รับความบาดเจ็บมากกว่าการผสมพันธุ์กับตัวผู้พวกหางและครีบยาวด้วยกัน ส่วนในการผสมระหว่างตัวผู้พวกหางและครีบยาวกับตัวเมียหางและครีบสั้นมีปัญหาน้อยกว่าพวกแรก แต่อย่างไรก็ตามปลากัดไทยทั้ง 2 พวกสามารถผสมพันธุ์กันได้ทั้ง 16 คู่ที่ศึกษา และลูกผสมฟักเป็นตัวภายใน 48 ชั่วโมงเหมือนลูกปลากัดไทยที่ได้จากการผสมในพวกเดียวกัน การที่ปลากัดไทยทั้ง 2 พวกสามารถผสมพันธุ์กันได้ เป็นข้อสนับสนุนว่าปลากัดไทยทั้ง 2 พวกนี้ยังไม่ถูกแยกจากกันโดยทางพฤติกรรมการผสมพันธุ์ตามหลักของ Mayr (1969)

ถึงแม้ว่าปลากัดไทยทั้ง 2 พวกสามารถผสมพันธุ์กันได้ ยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอนว่าปลาทั้ง 2 พวกจะเป็น species เดียวกัน เนื่องจากได้มีรายงานพบว่าปลา 2 species สามารถผสมพันธุ์กันได้ลูกผสมที่มีชีวิตรอด (Moenkhan, 1910 และ Crossmon and Buss, 1965)

จากรายงานของ Mayr (1963) และ Dobzhansky (1970) ลูกผสมระหว่าง 2 species อาจมีชีวิตรอดถึงระยะเป็นตัวอ่อนแล้วตาย หรือไม่สามารถเจริญเติบโตเหมือนปกติ ส่วน Eddy (1944) รายงานพบลูกผสมของปลา 2 species ที่มีสายวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน คือ Esox masquinongy และ E. lucius รายงานว่าการฟักเป็นตัวของลูกผสมมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าการฟักเป็นตัวของปลาที่ผสมภายใน species เดียวกัน แต่ผลจากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวของลูกผสมในปลากัดไทยทั้ง 2 พวก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการฟักเป็นตัวของลูกปลาที่ได้จากการผสมในพวกเดียวกัน ซึ่งไม่เหมือนกับรายงานของ Mayr (1963) Dobzhansky (1970) และ Eddy (1944)

ผลจากการศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของลูกผสม (survival) พบว่าลูกผสมปลากัดไทยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงกว่าลูกที่เกิดจากการผสมในพวกเดียวกันเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากรายงานที่ศึกษาความสามารถอยู่รอดของปลาลูกผสมระหว่าง 2 species เช่น Crossman and Buss (1965) ศึกษาลูกผสมระหว่าง Esox masquinongy x E. lucius, E. masquinongy x E. americanus americanus, E. americanus americanus x E. lucius, และ E. americanus vermiculatus E. masquinony และ Dobzhansky (1970) ซึ่งได้รายงานว่าลูกผสมระหว่างต่าง species มักจะตายตั้งแต่เป็นตัวอ่อน

ผลจากศึกษา backcross เพื่อดู fertility ของลูกผสมในปลากัดไทยพบว่าลูกผสมทั้งตัวผู้และตัวเมียสามารถผสมกับปลากัดไทยพันธุ์แท้ทั้งพวกหางและครีบสั้นและพวกหางและครีบยาว ให้ลูกได้แสดงว่าปลาลูกผสมทั้ง 2 เพศ fertile การศึกษาปลา 2 species ที่ให้ลูกผสมแล้วทดสอบความสามารถในการผสมพันธุ์ โดยการศึกษา backcrose แล้วพบว่า fertility ลดลงคือ ลูกผสมสามารถ fertile เพียงเพศใดเพศหนึ่งเท่านั้น เช่น จากรายงานของ Black and Williamson (1947) และ Cameron (1948) ในสัตว์อื่น ๆ เช่น rodent 2 species สามารถผสมแล้วได้ลูกผสมที่มี fertility ลดลง กังรายงานของ Lay and Nadler (1969) แต่ในปลากัดไทยลูกผสมระหว่างพวกหางและครีบสั้นกับพวกหางและครีบยาว fertile ทั้ง 2 เพศ น่าจะจัดปลากัดไทยทั้ง 2 พวกไว้ในชนิดเดียวกันได้ตามหลักของ Mayr (1963) ซึ่งกล่าวว่าสัตว์ที่จัดอยู่ใน species เดียวกันสามารถผสมพันธุ์กันได้ในธรรมชาติ และให้ลูกหลานที่สามารถสืบพันธุ์ได้

3. <u>การสังเกตพฤติกรรมบางอย่างขณะผสมพันธุ์</u>

ผลการศึกษาลักษณะบางอย่างขณะผสมพันธุ์ของปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นเช่นเดียวกันกับการผสมในพวกปลากัดไทยพวกหางและครีบยาว ส่วนใหญ่จะมีลักษณะที่เหมือนกันดังนี้

1. ช่วงเวลาของวันที่ผสมพันธุ์ของปลากัดไทยทั้ง 2 พวก ใกล้เคียงกันมาก เวลาโดยเฉลี่ยประมาณ 3 ชั่วโมง ปลากัดไทยพวกหางและครีบยาวผสมพันธุ์สิ้นสุดก่อน 12.00 น. ทั้ง 8 คู่ที่ศึกษา ส่วนปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นสิ้นสุดก่อน 12.00 น. 7 คู่ ที่เหลืออยู่ 1 คู่ผสมพันธุ์หลัง 12.00 น. (ตารางที่ 6) เหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะตัวผู้ของปลากัดไทยคู่นี้มีอุปนิสัยดุมากกว่าคู่อื่น ไล่กัดตัวเมียจนมีบาดแผลต้องว่ายน้ำหนีตลอดเวลา แต่ในที่สุดก็ผสมพันธุ์ได้ไข่เหมือนคู่อื่น ๆ

2. ลักษณะอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมระหว่างผสมพันธุ์ เช่น ลักษณะการ courtship การวางไข่ และการดูแลลูกอ่อนของปลาตัวผู้ในปลาทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะเหมือนกัน

3. ไข่ที่รับการผสมฟักเป็นตัวภายใน 48 ชั่วโมงเหมือนกัน การฟักเป็นตัวของลูกปลามีจำนวนใกล้เคียงกัน ตลอดจนความสามารถในการอยู่รอดของลูกปลาในปลากัดไทยทั้ง 2 พวกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เหล่านี้เป็นข้อแสดงว่าธรรมชาติในการเจริญเติบโตและความสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมไม่มีความแตกต่างในปลากัดไทยทั้ง 2 ชนิด

ปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นกับพวกหางและครีบยาว มีพฤติกรรมบางอย่างที่แตกต่างกัน เช่น

1. ลักษณะการสร้างหวอด ปลากัดไทยตัวผู้พวกหางและครีบสั้นส่วนใหญ่จะสร้างชนานกับพื้นผิวน้ำ ส่วนพวกหางและครีบยาวสร้างซ้อนจนสูงเหมือนผิวน้ำ แต่บริเวณฐานหวอดแคบกว่า

2. การรัดไข่ของปลาตัวผู้ ปลากัดไทยตัวผู้พวกหางและครีบยาวรัดตัวเมียมีความถี่มากกว่าพวกหางและครีบสั้น แต่จำนวนไข่ที่ได้จากการรัดของตัวผู้แต่ละครั้งน้อยกว่า อาจจะเป็นเพราะตัวผู้พวกหางและครีบสั้นมีลำตัวแข็งแรงกว่าตัวผู้พวกหางและครีบยาวหรืออาจเป็นเพราะตัวเมียพวกหางและครีบยาวสามารถให้ไข่ได้น้อยกว่าตัวเมียชนิดหางและครีบสั้นในการรัดของตัวผู้ในแต่ละครั้ง ตัวผู้จึงต้องรัดตัวเมียบ่อย ๆ จนกว่าจะสิ้นสุดการผสมพันธุ์

แต่อย่างไรก็ตามจำนวนไข่โดยเฉลี่ยจากการผสมพันธุ์พวกละ 8 คู่ มีจำนวนใกล้เคียงกัน

3. ตัวเมียปลากัดไทยพวกหางและครีบสั้นส่วนใหญ่จะได้รับความบาดเจ็บภายหลังจากผสมพันธุ์สิ้นสุดแล้วมากกว่าตัวเมียพวกหางและครีบยาว ทั้งนี้น่าจะมีสาเหตุจากปลากัดตัวผู้พวกหางและครีบสั้นมีอุปนิสัยในระหว่างผสมพันธุ์คุมากกว่าตัวผู้พวกหางและครีบยาว

จากลักษณะที่ต่างกันทั้ง 3 ข้อดังกล่าวข้างต้นนี้เป็นพฤติกรรมที่แสดงความแตกต่างของปลาภายใน population ไม่ได้เป็นลักษณะที่ทำให้ปลาแตกต่างกันในทางที่จะนำไปสู่การ isolation ระหว่างกลุ่ม และจากพฤติกรรมหลายอย่างที่ศึกษาแล้วเหมือนกันเช่นการผสมพันธุ์เริ่มต้นและสิ้นสุดในเวลาใกล้เคียงกัน วิธีการผสมพันธุ์ตลอดจนการดูแลลูกของปลาตัวผู้ในปลากัดไทยทั้ง 2 ชนิดเหมือนกัน น่าจะกล่าวได้ว่าปลาทั้ง 2 พวกมี Ethological character คล้ายกันมาก

Mayr (1963) ได้เสนอความคิดในกรณีของสัตว์ที่จัดอยู่ใน species เดียวกันว่าเป็นกลุ่มสัตว์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้ในธรรมชาติให้ลูกหลานที่สามารถสืบพันธุ์ต่อไปได้ ปกติสัตว์เหล่านี้จะไม่ผสมกับสัตว์ต่าง species การผสมระหว่างสัตว์ 2 species ในธรรมชาติอาจเกิดได้แต่พบน้อยมาก ทั้งนี้เพราะมี species isolating mechanism ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการป้องกันไม่ให้มีการผสมระหว่าง species ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 อย่าง

1. premating mechanism เป็นการป้องกันไม่ให้มีการผสมระหว่าง species อันเนื่องมาจากสภาวะในธรรมชาติ เช่น การแยกจากกันเนื่องจากฤดูกาลแหล่งที่อยู่อาศัย หรือพฤติกรรมในการผสมพันธุ์ต่างกัน เป็นอุปสรรคต่อการที่ sperm จะมีโอกาสผสมกับไข่ของสัตว์ต่างชนิดกัน

2. postmating mechanism ในบางกรั้งพบว่าสัตว์ต่าง species สามารถผสมพันธุ์ได้ในธรรมชาติ หรือถูกนำมาผสมเทียมในห้องปฏิบัติการ ไข่อาจถูกผสมโดยอสุจิของสัตว์ต่าง species ได้ แต่มักจะตายตั้งแต่อยู่ในระยะ zygote

หรืออาจจะเจริญเติบโตได้ แต่ไม่สามารถสืบพันธุ์เหมือนปกติ ดังเช่นลูกผสมพ่อ (Benirschke, 1967) ศึกษาพบว่าสาเหตุของการเป็นหมันเนื่องจากโครโมโซมของเซลสืบพันธุ์ไม่สามารถจับคู่ดังปกติในการแบ่งแบบ meiosis ทำให้ gamete ที่ได้มี genetic material ไม่สมดุลย์กัน เกิดความผิดปกติที่ spermatogenesis ทำให้เป็นผลเสียต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของลูกผสม ดังนั้นในสัตว์คนละ species ที่มีแคริโอไทพ์แตกต่างกันจึงไม่สามารถที่จะให้ลูกผสมที่สืบพันธุ์ได้ สัตว์ที่มาจากสายวิวัฒนาการใกล้เคียงกันมาก ๆ ลักษณะแคริโอไทพ์แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เมื่อผสมพันธุ์กันอาจให้ลูกผสมที่มีชีวิตรอดและสืบพันธุ์ได้ ในปลากัดไทยทั้ง 2 ชนิด ถึงแม้ว่าวิวัฒนาการทางรูปร่างและพฤติกรรมบางอย่างจะแตกต่างกัน แต่การวิวัฒนาการทางแคริโอไทพ์ไม่แตกต่างกันมากจนกระทั่งแยกออกเป็นปลาคนละ species ได้

Sex determination ในพวกปลามีหลายแบบ ผลจากการศึกษา karyotype ในสัตว์พวกปลาได้มีรายงานพบ sex chromosome มีลักษณะเป็น heteromorphic chromosome pair ดังเช่นรายงานของ Chen and Ebeling (1966, 1968), Chen and Ruddle (1970) และ Ebeling and Chen (1970)

จากการศึกษาแคริโอไทพ์ปลากัดไทยตัวผู้และปลากัดไทยตัวเมียที่เจริญเต็มวัยของปลากัดไทยทั้งพวกหางและครีบสั้นกับพวกหางและครีบยาวไม่สามารถ detect heteromorphic sex chromosome ทั้งตัวผู้และตัวเมียมีลักษณะเป็น homomorphic chromosome pairs ทั้ง 21 คู่ เป็นการสนับสนุนรายงานของ Svardson and Wickbom (1942) แต่ไม่ตรงกับรายงานของ Bennington (1938)

Benningtion (1938) ได้รายงานว่าพบ sex chromosome ในปลากัดไทย จากการศึกษาเซลในระยะ primary spermatocyte ลักษณะที่เขาพบคือเป็นคู่ที่เคลื่อนที่ช้ากว่าคู่อื่น และพบลักษณะ heteropycnosis จนถึงระยะ late leptotene แต่อย่างไรก็ตามผู้วิจัยไม่ได้แสดงภาพถ่ายไว้ รายงานเป็นภาพ

วาดที่ศึกษาจากการตัดเนื้อเยื่อ testis หนา 4 ไมครอน แต่มีผู้รายงานว่า ลักษณะดังกล่าวนี้ไม่ใช่ sex chromosome แต่เป็นผลจากการ fix เนื้อเยื่อ โดยศึกษาในปลา Apocheilus และปลา Lebistes (Iriki, 1932)

การศึกษาของ Svardson and Wickbom (1942) ได้ศึกษาตัวผู้ปลากัดไทยจาก testis หนา 10 ไมครอน ศึกษาระยะ prophase metaphase และ anaphase รายงานไม่พบ sex chromosome ซึ่งน่าจะเป็นไปได้เพราะได้ใช้วิธีที่ศึกษาที่ดีกว่า Bennington (1938) และในการศึกษาในครั้งนี้ได้ปรับปรุงวิธีการศึกษาแคริโอไทพ์ให้ทันสมัยกว่า Svardson and Wickbom (1942) ศึกษาเซลในระยะ metaphase ของ spleen ไม่พบ sex chromosome เช่นเดียวกัน

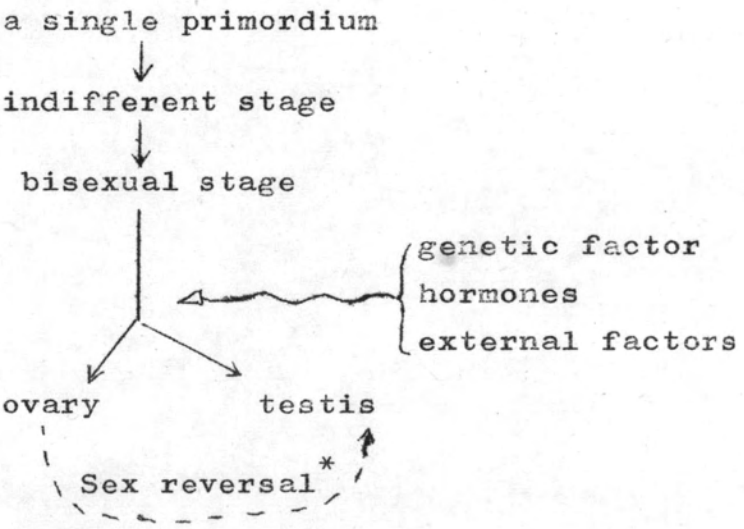
จากรายงานการเปลี่ยนเพศ จากปลากัดไทยตัวเมียชนิดหางและครีบยาว กลายไปเป็นตัวผู้ โดยไม่ได้มีการ treatment ใด ๆ (Schmidt, 1930) โดยวิธีตัดรังไข่ (Noble and Kumpf, 1937) ปลาตัวเมียที่เปลี่ยนเพศเป็นตัวผู้สามารถผสมพันธุ์กับตัวเมียปกติ แล้วให้ลูกได้ 2 เพศ (Kaiser and Schmidt, 1951 และ Becker, 1969) และ Lowe and Larkin (1975) แสดงว่าปลาตัวผู้ไม่ควรเป็น heterogametic sex (δ = xy, φ = xx) เพราะเหตุว่าถ้าตัวผู้มี sex chromosome = xy และตัวเมีย = xx ปลาตัวเมียที่เปลี่ยนเพศเป็นตัวผู้ยังคงมี xx เมื่อนำไปผสมพันธุ์กับตัวเมียปกติ (xx) ลูกที่ได้ควรมีเฉพาะตัวเมียทั้งหมด แต่จากการทดลองมิได้เป็นเช่นนี้ การที่ปลาที่เปลี่ยนเพศมาเป็นตัวผู้แล้วมีลูกได้ลูกทั้ง 2 เพศ เป็นการสนับสนุนว่าปลาตัวผู้ไม่ใช่ heterogametic sex (xy) และตัวเมียไม่ใช่ homogametic sex (xx)

Eberhardt (1943) รายงานว่าปัจจัยภายนอกต่าง ๆ เช่นสภาพของน้ำ อุณหภูมิ ตลอดจนความกว้างที่ปลาอาศัยอยู่ มีอิทธิพลต่อ sex ratio Lucas (1968) รายงานว่าถ้าอายุของแม่ปลามากไข่อยู่ในท้องนานจะทำให้ได้ลูกที่เป็นตัวผู้มีเปอร์เซ็นต์สูง แต่ Lowe and Larkin ได้ให้ตัวเมียผสมบ่อย ๆ

ทำให้ไข่อยู่ในท้องไม่นาน อาจมีผลทำให้ได้ลูกตัวเมียมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าลูกตัวผู้ แสดงว่าการทำงานของ genetic factor ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเพศของปลากัดไทยมีลักษณะไม่คงที่แน่นอน Lowe and Larkin (1975) สรุปว่าการกำหนดเพศในปลากัดไทยไม่ได้อยู่ที่ sex chromosome ซึ่งเป็นแบบ Monofactorial system เพราะถ้าการกำหนดเพศอยู่ระดับโครโมโซม sex ratio ควรใกล้เคียง 1:1 ในการผสมพันธุ์ปลาแต่ละครั้ง และได้กล่าวว่าการกำหนดเพศในปลากัดไทยอยู่ที่ระดับการทำงานของ genes อาจเป็นการทำงานร่วมกันของกลุ่ม genes บนโครโมโซมคู่ใดคู่หนึ่ง หรืออาจ ระจายอยู่บน autosome การแสดงออกของการเกิดเพศใดขึ้นอยู่กับ balance ของ genes เหล่านี้ และอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมภายนอกตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ มีผลต่อการแสดงออก genes ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเพศ โดยการกำหนดเพศเป็นแบบ polygenic หรือ polyfactorial system

ความคิดของ Lowe and Larkin น่าจะเป็นไปได้เพราะจากการศึกษา karyotype ก็ไม่สามารถตรวจพบ heteromorphic sex chromosome ในเพศใดเพศหนึ่งของปลากัดไทย

สรุปการกำหนดเพศในปลากัดไทย



* เกิดจาก (1) ovarectomy
(2) hormone treatment
(3) environmental factors เปลี่ยนแปลง