สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปลาในสกุล *Chitala* เป็นปลาน้ำจืดที่จัดว่ามีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยอีกกลุ่มหนึ่ง โดยมีการจับกันเป็นจำนวนมากและส่งขายทั้งแบบสดและรมควัน เนื้อปลามีรสอร่อยแต่มีก้างเล็กๆค่อนข้างมาก ปลาที่เป็นที่รู้จักกันดี เช่น ปลากรายที่นิยมนำมาบริโภคในรูปของ ทอดมัน หรือลูกชิ้นปลากราย สามารถเพาะพันธุ์ขายจนเป็นปลาเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง ในขณะที่ปลาตองลายซึ่งเป็นปลาสวยงามราคาแพงเนื่องจากลำตัวมีสีเงินเงางาม นิยมนำมาเลี้ยงเป็นปลาตู้ หรือนำมารับประทาน แต่ปลาตองลายก็ยังเป็นปลาที่เพาะขยายพันธุ์ได้ยากมาก กรมประมงได้พยายามเพาะเลี้ยงหลายครั้งแต่ยังได้จำนวนลูกปลาน้อย ทำให้ในประเทศไทยมีจำนวนปลาตองลายลดน้อยลงเนื่องจากถูกจับมากเกินไปจนถึงขั้นใกล้สูญพันธุ์ (ชวลิต วิทยานนท์, 2538) ส่วนปลาสะตือจัดว่าเป็นชนิดที่หายากในธรรมชาติ (พนม กระจ่างพจน์ และคณะ, 2543)

2.1 ลักษณะปลาในสกุล *Chitala*

ลำตัวยาว แบนข้างมาก มีความลึกของลำตัวมาก ส่วนหัวแยกจากส่วนลำตัวชัดเจน ตอนท้ายของส่วนหัวด้านบนจะโค้งนูนขึ้นไปจนจรดฐานของครีบหลังและลาดลงต่ำไปทางด้านหาง รูทวารอยู่ส่วนครึ่งหน้าของลำตัว จึงมีส่วนหางยาว มีครีบหลังเล็กคล้ายกับขนนกอันสั้นๆ จึงได้ชื่อสามัญว่า "Featherbacks" หรือ "Knifefishes" เนื่องจากส่วนท้องเป็นสันแคบดูคล้ายใบตองหรือมีดทำครัว นอกจากนี้ยังมีอวัยวะรับความรู้สึกและสร้างกระแสไฟฟ้าอ่อนๆ ที่ส่วนหัวและข้างลำตัว เพื่อคลำทางและหาเหยื่อในที่มืดหรือน้ำขุ่นได้ (ชวลิต วิทยานนท์, 2538)

ปลาในสกุล *Chitala* มีปากค่อนข้างกว้าง กระดูกเพดานปากบางส่วน คือ palatine และ ectopterygoid เชื่อมติดกัน กระดูกลิ้น hypohyal มีชิ้นเดียว (ปลาส่วนมากมีเป็นคู่) ขากรรไกรยาว มีฟันที่ขากรรไกร ลิ้น และเพดานปาก มีซี่กรองเหงือกลักษณะทู่ สั้น จำนวน 8-12 ซี่ รูจมูก 2 คู่ คู่แรกเปิดออกเป็นท่อ ไม่มีเหงือกเทียม กระดูกกระพุ้งแก้มที่ปิดช่องเหงือกเป็นแผ่นแบนกว้าง มีฐานเยื่อหุ้มเหงือก ด้านท้องเชื่อมติดกับ isthmus มีกระดูกซี่ปิดเหงือกจำนวน 8-9 ซี่ ลำตัวและหัวปกคลุมด้วยเกล็ดสีเงินขนาดเล็กแบบ cycloid เส้นข้างตัวอยู่ค่อนขึ้นไปด้านบนของลำตัวเล็กน้อย สันท้องมีเกล็ดที่เปลี่ยนรูปไปเป็นหนามแข็ง เรียงเป็น 2 แถว ทำให้เกิดเป็นรอยหยัก (double serrature) กระดูกที่เชื่อมส่วนนี้กับกระดูกซี่โครง คือ apleuralia ครีบหูมีขนาดปานกลาง มีก้านครีบ 15-16 ก้าน ครีบหลังสั้น มีตอนเดียวอยู่ประมาณกึ่งกลางลำตัว ครีบก้นยาวมาก มีก้านครีบประมาณ 100

ก้านหรือมากกว่า ติดต่อกับครีบหางซึ่งเล็กและมีก้านครีบประมาณ 13-14 ก้าน (สืบสิน สนธิรัตน์, สุภาพ มงคลประสิทธิ์ และ ประจิตร วงศ์รัตน์, 2514)

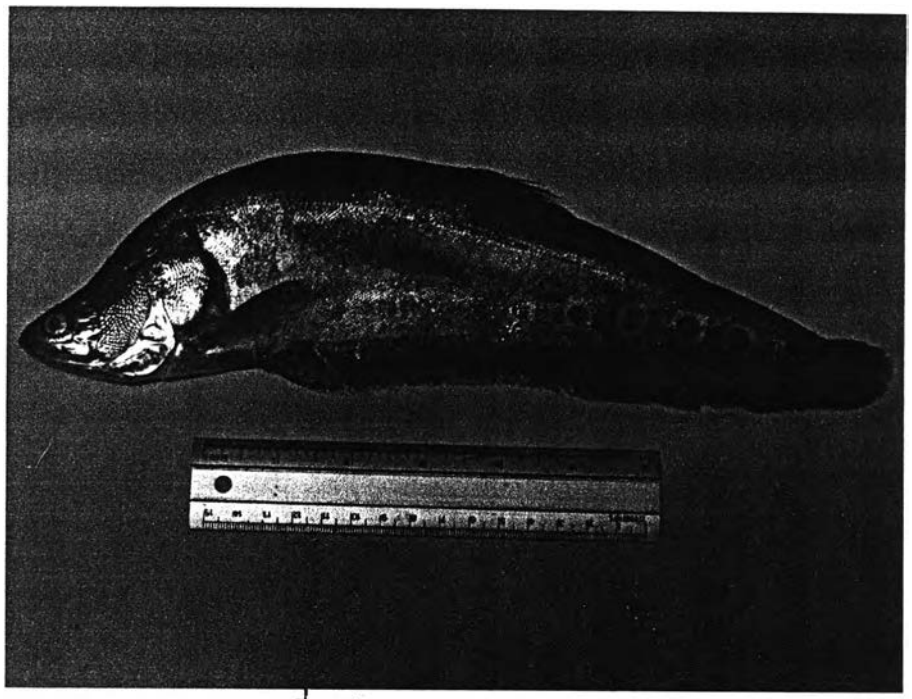
จากการศึกษาของ สืบสิน สนธิรัตน์, สุภาพ มงคลประสิทธิ์ และ ประจิตร วงศ์รัตน์ (2514) พบว่าปลาในสกุล *Chitala* ที่พบในประเทศไทย มีทั้งหมด 3 ชนิด คือ

1. *Chitala ornata* **ปลากราย หรือปลาหางแพน** (ภาพที่ 1)

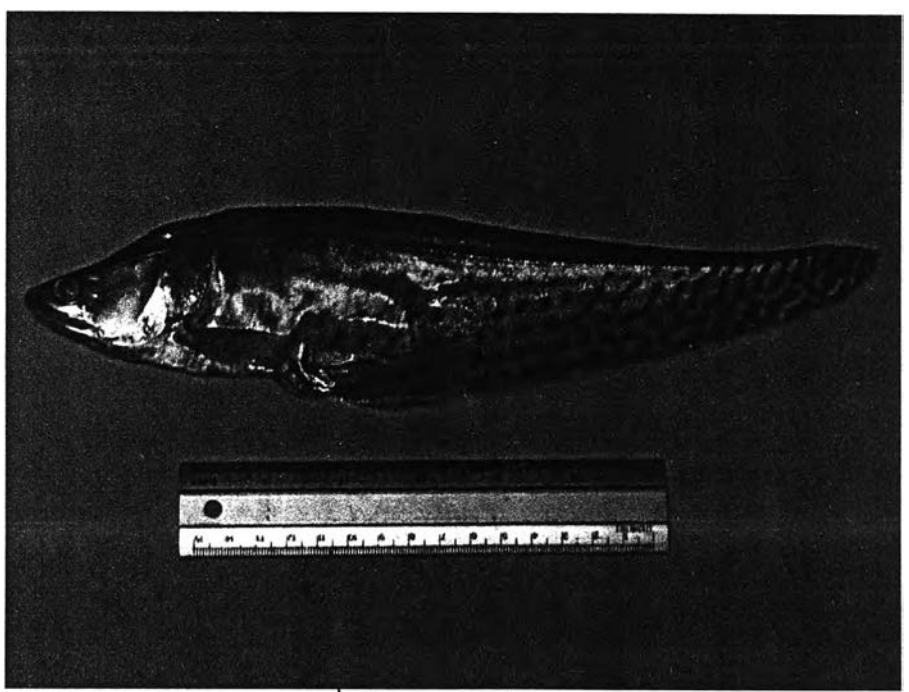
ลำตัวยาว แบนข้างมาก ความลาดของส่วนหลังชันมากและรอยเว้าบริเวณต้นคอมีมากกว่าชนิดอื่น มุมปากอยู่เลยขอบหลังของตาออกไปมาก ครีบต่างๆ มีแต่ก้านครีบอ่อน เกล็ดเป็นแบบ cycloid เกล็ดที่แก้มและที่ลำตัวมีขนาดเท่ากัน สีของลำตัวเป็นสีขาวเงิน บริเวณเหนือครีบก้นมีจุดกลมดำขนาดค่อนข้างใหญ่ ประมาณ 5-10 จุด ส่วนหัวและลำตัวส่วนหลังมีสีคล้ำกว่าส่วนท้อง ปลากรายมีขนาดใหญ่มาก อาจยาวถึง 80 เซนติเมตร หรือมากกว่า พบได้ทั่วไปในแม่น้ำลำคลอง โดยเฉพาะในที่ลุ่มภาคกลาง

2. *Chitala blanci* **ปลาตองลาย** (ภาพที่ 2)

ลำตัวยาว แบนข้างมาก ความลาดของส่วนหลังค่อนข้างชัน และเป็นรอยเว้าเล็กน้อยบริเวณต้นคอ มุมปากอยู่เลยขอบหลังของตาออกไปมาก ครีบต่างๆ มีแต่ก้านครีบอ่อน เกล็ดเป็นแบบ cycloid เกล็ดที่แก้มและที่ลำตัวมีขนาดเท่ากัน สีของลำตัวเป็นสีขาวเงิน มีแถบสีเข้มพาดผ่านตาตามแนวเฉียงไปถึงส่วนที่ต่อกับส่วนหลัง มีแถบสีดำพาดเฉียงจากส่วนของลำตัวไปบนส่วนของครีบหางและครีบก้น ส่วนหน้าของลำตัวเป็นจุดสีดำ ขนาดปานกลาง กระจายทั่วไป ส่วนหัวและส่วนหลังมีสีดำปนเทา พบได้ในลุ่มแม่น้ำโขง เป็นสิ่งมีชีวิตเฉพาะถิ่น (endemic species)



ภาพที่ 1 ปลากราย (*Chitala ornata*)

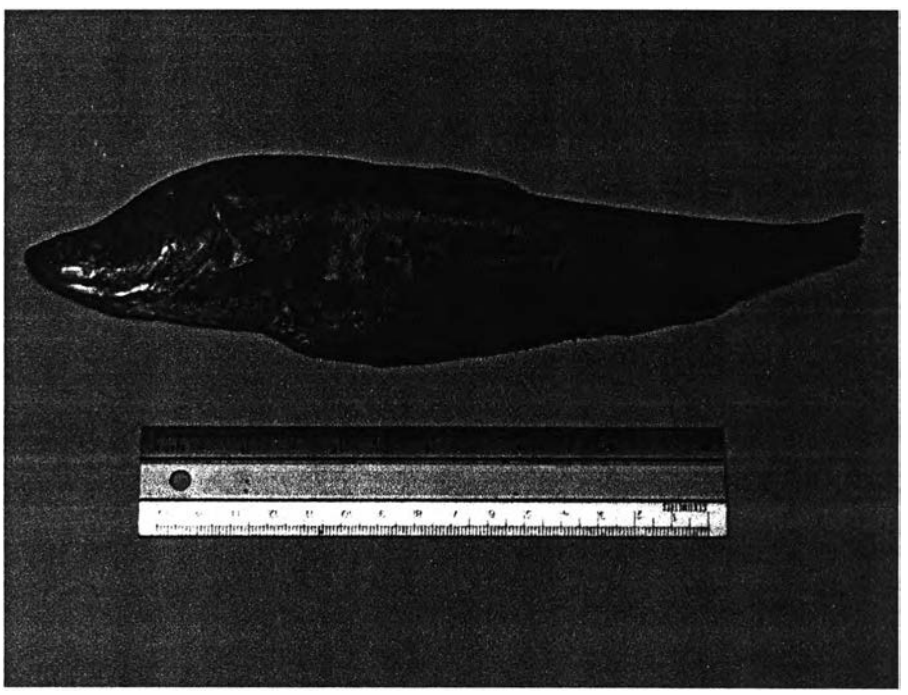


ภาพที่ 2 ปลาตองลาย (*Chitala blanci*)

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. *Chitala lopis* **ปลาสะตือ** (ภาพที่ 3)

ลำตัวยาว แบนข้างมาก ความลาดของส่วนหลังค่อนข้างชัน และเป็นรอยเว้าเล็กน้อยบริเวณต้นคอ มุมปากอยู่ตรงกับขอบหลังของตาหรือเลยไปเล็กน้อย ครีบต่างๆ มีแต่ก้านครีบอ่อน เกล็ดเป็นแบบ cycloid เกล็ดที่แก้มและที่ลำตัวมีขนาดเท่ากัน สีของลำตัวเป็นสีขาวเงิน บนหลังสีคล้ำกว่าด้านท้อง บริเวณด้านข้างของลำตัว ครีบก้น และครีบหางมีจุดค่อนข้างกลมสีน้ำตาลขนาดปานกลางกระจายอยู่ ในอดีตสามารถพบได้ในภาคใต้ของประเทศไทย และเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี ปัจจุบันพบที่เขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรีเพียงแห่งเดียว (ธวัช ดอนสกุล, สนทนา, 20 เมษายน 2549)



ภาพที่ 3 ปลาสะตือ (*Chitala lopis*)

2.2 ชีววิทยาของปลาในสกุล *Chitala*

2.2.1 ชีววิทยาของปลากราย (*C. ornata*)

ปลากรายเป็นปลาน้ำจืดที่พบมากในประเทศอินโดนีเซีย อินเดีย มาเลเซีย พม่า และไทย โดยอาศัยในแม่น้ำลำคลอง หนอง และบึง

ลักษณะนิสัยการหากินอาหาร เป็นปลาที่ออกหากินตอนกลางคืน ดำรงชีพอยู่ได้ด้วยการกินแมลง หอย กุ้ง ปู และปลาเป็นอาหาร (อนุสสรณ์ มีวรรณ, เดชา รอดระรัง และสมพิศ พรรณนา, 2538) สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และ จรินทร์ จรกรรณ (2535) รายงานการตรวจพบเศษอาหาร

ประเภทกุ้งและลูกปลาในกระเพาะอาหารของปลากราย ดังนั้นการกินอาหารของปลากรายจึงขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของอาหารมีชีวิต ซึ่งแปรผันไปตามสภาพแวดล้อม จากการศึกษาของสันทนา ดวงสวัสดิ์ และคณะ (2533) ได้กล่าวว่าปลาที่มีทางเดินอาหารยาวไม่เกิน 0.6 เท่าของความยาวลำตัวจัดเป็นปลาประเภทกินเนื้อเป็นอาหาร จึงสรุปว่าปลากรายเป็นปลาที่กินเนื้อเป็นอาหาร เพราะมีลำไส้สั้นกว่าความยาวตัวปลามาก (สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และ จรินทร์ จรกรรณ, 2535)

ลักษณะภายนอกของปลากรายตัวผู้และตัวเมียมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ได้แก่ ความยาวของครีบท้อง ปลาตัวผู้จะมีครีบท้องยาวกว่าปลาตัวเมีย ส่วนหัวของปลากรายตัวผู้จะมีส่วนโค้งและปากงอนเชิดมากกว่าตัวเมีย อวัยวะเพศของปลาตัวเมียจะเห็นเป็นก้อนเนื้อสีชมพูอ่อน มีขนาดใหญ่และซ่อนอยู่ในช่องท้องเป็นรูปยาวไปตามลำตัว ส่วนตัวผู้อวัยวะเพศเล็กแหลม มีสีคล้ำกว่าโผล่ออกมาเล็กน้อย (ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, 2512) รังไข่ของปลากรายจะมีลักษณะคล้ายผลมะเฟือง ไม่ได้เป็นพูไข่ 2 พูเหมือนรังไข่ปลาทั่วไป แต่ละกลีบของรังไข่จะวางซ้อนทับกันอยู่ประมาณ 9-12 ชั้น ส่วนอัณฑะจะมีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่วงอกหัวโตเป็นส่วนที่ผลิตอสุจิ และมีท่อนำอสุจิคล้ายหางของถั่วงอก (สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และ จรินทร์ จรกรรณ, 2535)

ปลากรายจะวางไข่ตามตอไม้น้ำ รากไม้ เสา และกิ่งก้านของต้นไม้ที่จมลงไปในน้ำ ไข่ของปลาจะมีสารที่ทำให้ไข่ติดกับวัสดุ ซึ่งจะคงรูปอย่างรวดเร็วเมื่อสัมผัสน้ำ มีฤดูวางไข่อยู่ในช่วงเดือนมีนาคมถึงสิงหาคมของทุกปี ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล (2512) ได้รายงานว่าการเจริญเติบโตของไข่ปลากรายในรังไข่จะมีหลายระยะ และมีการพิสูจน์แล้วว่า จะมีเพียงรังไข่เดียวที่พัฒนาในฤดูหนึ่ง รังไข่ 2 รังจะเปลี่ยนหน้าที่กันทำงานจากปีหนึ่งไปยังอีกปีหนึ่ง ในปลาตัวหนึ่งๆ เมื่อวางไข่อาจมีไข่อยู่จำนวนระหว่าง 5,000-10,000 ฟองต่อฤดูกาล ปลาตัวผู้จะทำหน้าที่ปกป้องดูแลไข่ที่ตัวเมียวางไว้จากมนุษย์ ปลาอื่นๆ และตะกอนต่างๆ โดยใช้หางโบกพัดเพื่อให้ออกซิเจน และป้องกันไม่ให้ตะกอนจับติดไข่ เนื่องจากถ้าไข่ถูกตะกอนถับถมจะไม่สามารถฟักออกมาเป็นตัวได้ (Smith, 1933) ไข่ปลากรายที่ได้รับการผสมจะมีสีเหลืองอ่อนใส มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร

Smith (1933) รายงานว่า ขนาดลูกปลากรายยาว 3-3.5 เซนติเมตร จะมีแถบสีดำพาดขวางลำตัว 10-15 แถบ และเมื่อมีความยาว 7-8 เซนติเมตร หรืออายุประมาณ 70 วัน แถบสีดำจะเริ่มจางลงกลายเป็นจุดสีดำขอบขาวเหนือบริเวณครีบหางจนตลอดชีวิต

2.2.2 ชีววิทยาของปลาตองลาย (*C. blanci*)

ปลาตองลาย เป็นปลาล่าเหยื่อ กินปลาและกุ้งเป็นอาหาร รวมถึงแมลงน้ำต่างๆ ด้วย ในฤดูวางไข่ประมาณเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ปลาตัวผู้และตัวเมียจะช่วยกันดูแลไข่ที่ออกติดไว้กับ

ก้อนหินหรือท่อนไม้ใต้น้ำ จนกว่าไข่จะฟักเป็นตัวและลูกปลาโตประมาณ 4 เซนติเมตร ปลาตองลายวางไข่ครั้งละประมาณ 150-300 ฟอง ขึ้นอยู่กับขนาดของแม่ปลา

ปลาตองลายเป็นปลาที่พบเฉพาะถิ่นในแม่น้ำโขงเท่านั้น พบตั้งแต่บริเวณเมืองหลวงพระบางลงมาถึงทะเลสาบกัมพูชา และยังพบอาศัยในแม่น้ำสาขาต่างๆ ของแม่น้ำโขง เช่น ลำน้ำสงคราม น้ำก่ำ น้ำงึม น้ำเทิน และแม่น้ำมูล ซึ่งปัจจุบันพบได้น้อยมากหลังการสร้างเขื่อน ในประเทศไทย ปลาตองลายเริ่มลดจำนวนลงเนื่องจากถูกจับมากเกินไป โดยเฉพาะเพื่อนำมาขายเป็นปลาสวยงาม ดังนั้นจึงจัดอยู่ในกลุ่มสัตว์ที่มีสถานภาพหายาก (Rare=R) ของ IUCN Red List 1994 และใกล้สูญพันธุ์ (ยุพิน วิวัฒนชัยเศรษฐ์, 2537)

2.2.3 **ชีววิทยาของปลาสะตือ** (*C. lopis*)

ชีววิทยาของปลาสะตือยังไม่พบข้อมูลอ้างอิงว่ามีผู้ศึกษาไว้แล้ว

ปลาในสกุลนี้ไม่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจนโดยใช้รูปร่างลักษณะ เนื่องจากมีความคล้ายคลึงกันมาก Roberts (1992) ได้ทำการนับและวัดส่วนต่างของปลาในสกุลนี้จำนวน 9 ตำแหน่ง คือ branchiostegal ray, gill rager, dorsal fin ray, abdominal scutes, anal fin ray, pectoral fin ray, pelvic fin ray, caudal fin ray และข้อกระดูกสันหลัง ซึ่งเป็นบริเวณที่นิยมศึกษากันมาก พบว่าจำนวนที่ศึกษาได้มีจำนวนคาบเกี่ยวในช่วงกว้างมาก หรือเกือบเท่ากัน ดังนั้น Roberts (1992) จึงสามารถใช้เพียงลักษณะความแตกต่างของจุดและลวดลายในการจัดจำแนกปลาทั้งสามชนิดออกจากกัน (ดูที่ภาคผนวก ข)

จากการศึกษาปลาสกุลนี้ในขณะที่ยังไม่โตเต็มที่ โดยภาณุ เทวรัตน์มณีกุล (2512) พบว่าทุกชนิดมีจุดและลายบนตัวคล้ายคลึงกัน ทำให้เกิดความยากลำบากในการจัดลำดับอนุกรมวิธาน และการวิเคราะห์ชนิดของปลา

การเพาะพันธุ์ปลากรายในปัจจุบันสามารถพบได้ในหลายจังหวัดของประเทศไทย เช่น จังหวัดราชบุรี (สัตว์น้ำ, 2532) จังหวัดสุพรรณบุรี (ประมงเศรษฐกิจ, 2536) และจังหวัดฉะเชิงเทรา (พฤกธิ์ โพธิ์แท่น, 2536) ในบางกรณีพบว่าปลากรายที่เลี้ยงไว้ เมื่อทำการผสมพันธุ์หลายครั้ง ลายจุดบนลำตัวปลาจะหายไป ทำให้ได้ปลากรายที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับปลาสะตือ จึงเปิดโอกาสให้กลุ่มผู้ค้าปลาบางรายนำปลากรายที่ไม่มีจุดมาขายในราคาที่เท่ากับปลาสะตือ (ราคาของปลาสะตือในตลาดขายปลาสวยงามมีราคาสูง ตั้งแต่ 500-3,000 บาท ในขณะที่ปลากรายราคาตัวละ 20-100 บาท) ถือเป็นการหลอกลวงผู้บริโภคทางหนึ่ง หากผู้ซื้อไม่มีความชำนาญในการวิเคราะห์ชนิดของปลา (ธวัช ดอนสกุล, สนทนา, 20 เมษายน 2549)

2.3 การศึกษาทางพันธุศาสตร์โมเลกุล

การศึกษาการแปรผันของสิ่งมีชีวิต นอกจากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว การวิเคราะห์ข้อมูลจากสารพันธุกรรมที่อยู่ในเซลล์ โดยนำข้อมูลทางโครโมโซมและอณูพันธุศาสตร์เข้ามาช่วย จะทำให้เกิดความถูกต้องและน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น สารพันธุกรรมต่างๆ ภายในเซลล์สามารถบ่งบอกถึงการแปรผันของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากโครโมโซมเป็นที่เก็บและสะสมข้อมูลทางพันธุกรรมจากอดีตถึงปัจจุบัน รวมทั้งเก็บข้อมูลการกลายที่เกิดขึ้น จึงทำให้สิ่งมีชีวิตมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปจากบรรพบุรุษ ดังนั้นการศึกษาการแปรผันของสิ่งมีชีวิตจึงได้ก้าวหน้าไปอีกหนึ่งขั้น คือนอกจากจะศึกษาจากหลักฐานทางกายวิภาคหรือซากสิ่งมีชีวิตโบราณแล้ว ยังสามารถตรวจสอบความแตกต่างของสารพันธุกรรมระหว่างสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นวิธีตรวจสอบที่รวดเร็ว และให้ผลสนับสนุนที่แม่นยำยิ่งขึ้น (Kocher *et al.*, 1989)

ในธรรมชาติ สิ่งมีชีวิตอาจเกิดการแปรผันทางพันธุกรรมอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยอื่น ซึ่งส่งผลกระทบต่อรูปร่างลักษณะ ยากต่อการวิเคราะห์ จรัลธาดา กรรณสูต และพนม กระจ่างพจน์ สอดศุข (2541) ได้ศึกษาจากจำนวน enzyme loci จำนวน 38 โลไซ พบว่าปลากราย ปลาตองลาย และปลาสะตือมีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดต่อกันมาก

พนม กระจ่างพจน์ สอดสุข, ศรีรัตน์ สอดสุข และ เฉลิมชัย สุวรรณรักษ์ (2543) ได้ศึกษาข้อมูลทาง isozyme ซึ่งรายงานว่าไม่พบ polymorphic loci ในปลาสะตือ เนื่องจากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้มีจำนวนน้อย และส่งผลกระทบต่อกระบวนการวิเคราะห์ จึงไม่สามารถตรวจพบความแปรปรวนหรือความหลากหลายในรูปแบบพันธุกรรมนี้ แสดงให้เห็นถึงสถานภาพของปลาชนิดนี้ว่าเป็นชนิดที่หายากในธรรมชาติ

อย่างไรก็ดีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในระดับโปรตีนหรือเอนไซม์บางครั้งไม่สามารถตรวจสอบได้ เนื่องจากอาจมีการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน ซึ่งยังคงให้ผลิตภัณฑ์หรือเอนไซม์ชนิดเดิม จึงอาจทำให้ผลการทดลองที่ศึกษาโดยใช้ isozyme ผิดพลาดได้ ดังนั้น ข้อมูลทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย นับเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญในการศึกษาคุณลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต และเชื่อมโยงถึงความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียงกันได้ เนื่องจากเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับสารพันธุกรรมโดยตรง

2.3.1 ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA)

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่พบในไซโทพลาซึมของสิ่งมีชีวิตระดับสูง ประกอบไปด้วยเยื่อหุ้ม ภายในมีองค์ประกอบสารพันธุกรรมที่เป็นอิสระจากนิวเคลียสของเซลล์ เรียกว่าไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เป็นดีเอ็นเอสายคู่ขนาดเล็ก รูปวงแหวนปลายปิด (Nass, 1966) สายโพลีนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีชื่อเรียกต่างกัน โดยสายหนึ่งเรียกว่าสาย light (light strand; L-strand) อีกสายหนึ่งเรียกว่าสาย heavy (heavy strand; H-strand) ซึ่งเป็นชื่อที่เรียกตามผลการปั่นเหวี่ยงไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในสภาวะเสียสภาพ ในสารละลายที่มีความหนาแน่นต่อเนื่อง $CsCl_2$ ด้วยเครื่องอัลตร้าเซนตริฟิวจ์ ปรากฏแถบดีเอ็นเอขึ้นสองแถบ โดยดีเอ็นเอแถบบนจะประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เบากว่าสายโพลีนิวคลีโอไทด์ในแถบล่าง ดังนั้นจึงเรียกสายโพลีนิวคลีโอไทด์ในแต่ละแถบว่า light และ heavy ตามลำดับ โดยความแตกต่างกันนี้เกิดจากปริมาณ GC content ในแต่ละสายโพลีนิวคลีโอไทด์ (Meyer, 1993) โดยทั่วไปของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสัตว์มีขนาด 15-20 กิโลเบส (Boore, 1999) ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของปลาพบว่ามีขนาดประมาณ 16.5 กิโลเบส (ภาพที่ 4, ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ขนาดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของปลาบางชนิด

ชนิดของปลา	ขนาดของ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (คู่เบส)	เอกสารอ้างอิง
ปลาไน (*Cyprinus carpio*)	16,400	Araya *et al.*, 1984
ปลาค็อด (*Gadus morhua*)	16,578	Dahle, 1991
ปลาเรนโบว์ เทราท์ (*Oncorrhynchys mykiss*)	16,660	Zardoya *et al.*, 1995
ปลาฉลาม (*Scyliorhinus canicula*)	16,697	Delarbre *et al.*, 1998

และเนื่องจากไมโทคอนเดรียพบเฉพาะในไซโทพลาซึมในเซลล์ไข่ แต่ไม่พบในสเปิร์ม ทำให้การถ่ายทอดสารพันธุกรรมส่วนมากเป็นแบบแม่สู่ลูกเท่านั้น คุณสมบัติอื่นๆ ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เช่น การแทนที่ของเบสที่ค่อนข้างรวดเร็วเนื่องจากไม่มีกระบวนการแก้ไข และปราศจากการเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกันในรุ่นลูก ซึ่งทำให้การถ่ายทอดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเปรียบเสมือนการคัดลอกแบบพันธุกรรมจากแม่ หรือการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เหล่านี้ทำให้

ข้อมูลที่ได้รับจากไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ได้เปรียบกว่าข้อมูลจากแหล่งอื่นๆ ในการศึกษาวิวัฒนาการของสายพันธุ์ จึงเหมาะสมต่อการนำไปศึกษาการแปรผันทางพันธุกรรมในระดับชนิด (Wiley and Hagen, 1997) หรือในระดับสกุล (Bernadi, 1997) การอ่านผลจากข้อมูลทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ดังนั้นจีโนไทป์ใหม่ๆที่เกิดขึ้นจะไม่สูญหายไป เนื่องจากการคัดเลือกตามธรรมชาติ อย่างไรก็ดีโดยทั่วไปวิวัฒนาการที่ศึกษาจากไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ มักจะเป็นเฉพาะทางด้านแม่ (Nass, Nass and Afzelius, 1965)

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอประกอบไปด้วยลำดับเบสที่ทำหน้าที่กำหนดรหัสของยีน (coding region) สำหรับถอดรหัสเป็นอาร์เอ็นเอและส่วนที่ไม่ได้กำหนดรหัสของยีน (non-coding region) ซึ่งตามปกติแล้วส่วนกำหนดรหัสในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของสัตว์จะประกอบด้วยยีนกำหนดรหัสของไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) 2 ยีน โปรตีน 13 ยีน และอาร์เอ็นเอถ่ายโอน (tRNA) 22 ยีน รวมทั้งหมด 37 ยีน (Chomyn *et al.*, 1985)

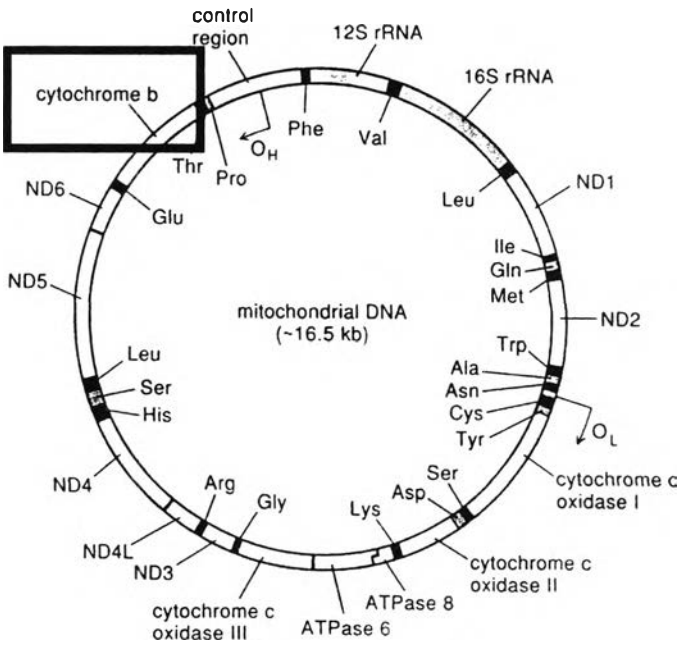
การแปรผันของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในสัตว์ชั้นสูงโดยทั่วไปจะมีค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ เนื่องจากอัตราการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม หรือการกลายของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เกิดขึ้นในระดับสูงกว่าประมาณ 5-10 เท่า (Brown *et al.*, 1979) อย่างไรก็ดีมีผู้ศึกษาพบว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในส่วนที่ใช้สร้างโปรตีน (protein-encoding genes) ของสัตว์เลือดเย็น เช่น ปลาในกลุ่มแซลมอน (Salmonids) และกลุ่มปลานิล (Cichlids) มีอัตราต่ำกว่าที่พบในสัตว์เลือดอุ่นมาก (Kocher *et al.*, 1989; Meyer, 1993)

2.3.2 ไซโทโครมบี (Cytochrome *b*)

ไซโทโครมบี (ภาพที่ 4) เป็นไซโทโครมชนิดหนึ่งซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนในการหายใจระดับเซลล์ของไมโทคอนเดรีย พบในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด และมีอัตราการแทนที่เบสที่เหมาะสมเมื่อเทียบกับยีนอื่นที่พบในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Meyer, 1993)

ความยาวของไซโทโครมบีของปลามีขนาดประมาณ 1,140 คู่เบส โดย Whitemore *et al.* (1994) ได้ศึกษาในปลากระพงปากใหญ่ Song, Near and page (1998) ศึกษาในปลาวงศ์เพอซิดี (Percidae) Xiao *et al.* (2001) ศึกษาในปลาวงศ์ไซพรินิดี (Cyprinidae) และ Tsigenopoulos *et al.* (2002) ศึกษาในปลาบาร์บอัฟริกาใต้ Kumazawa and Nishida (2000) ได้รายงานผลการหาลำดับเบสของบริเวณไซโทโครมบีที่สมบูรณ์ของปลากราย (*C. ornata*) ว่ามีขนาดความยาว 1,140 คู่เบส (AB035243) เช่นเดียวกับในปลาชนิดอื่นที่กล่าวมาข้างต้น ในขณะที่ปลาตองลาย (*C. blanci*) และปลาสะตือ (*C. lopis*) ยังไม่พบรายงานการทดลอง

นักวิจัยได้นำลำดับเบสบริเวณไซโทโครมบีมาใช้ในการศึกษาด้านไฟโลเจเนติกทรีของปลาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีการแปรผันทางพันธุกรรมมากพอที่จะตอบคำถามด้านความสัมพันธ์ของปลาชนิดต่างๆ (Akihito *et al.*, 2000; Xiao *et al.*,2001; Durand *et al.*, 2002; Peng *et al.*, 2004) การศึกษาถึงต้นกำเนิดของการเกิดโพลิพลอยด์ในปลาบาร์บอัฟริกาใต้ (Tsigenopoulos *et al.*, 2002) การศึกษาถึงต้นกำเนิดและการย้ายถิ่นเนื่องจากการเคลื่อนที่ของเปลือกโลกของปลาอะโรวาน่าเอเชีย (Kumazawa and Nishida, 2000)

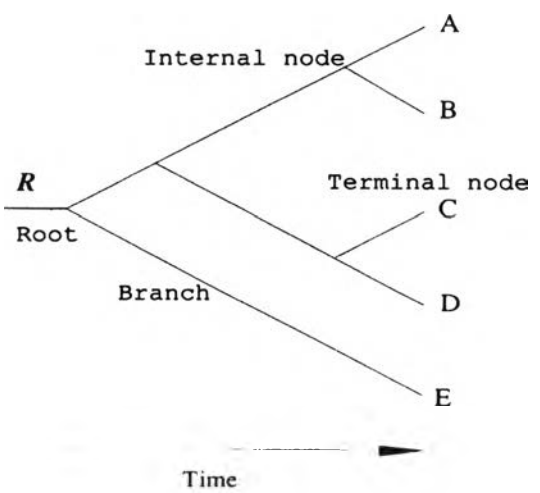


ภาพที่ 4 ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของปลาและตำแหน่งของไซโทโครมบี (Bond, 1996)

2.3.3 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุล (molecular phylogenetics)

ในปี ค.ศ. 1950 Willi Hennig ได้เสนอแนวคิดในการสร้างไฟโลเจเนติกทรีไว้คือ ระบบวิทยาคลาดิสติกส์ (cladistics) แนวคิดนี้มีหลักว่า ความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตควรที่จะอยู่บนพื้นฐานของความคล้ายคลึงกันแบบจำเพาะ (special similarity) ไม่ใช่ความคล้ายคลึงโดยรวม และความสัมพันธ์นี้ควรนำเสนอออกในรูปของแผนภูมิลำดับขั้นที่เรียกว่า แผนภูมิเคลโดแกรม (cladogram) โดยที่สมาชิกของกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาจะเกี่ยวพันกันโดยมีวิวัฒนาการสืบทอดมาจากบรรพบุรุษร่วมเดียวกัน เคลด (clade มาจากภาษากรีกคำว่า klados แปลว่ากิ่งก้าน) ที่สร้างขึ้นจะต้องรวมสิ่งมีชีวิตทั้งหมดที่มีลักษณะร่วมซึ่งได้พัฒนาแล้ว (shared derived characters) ซึ่งลักษณะนี้ไม่ได้มีอยู่ในบรรพบุรุษที่ห่างออกไป (เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์, 2545)

แผนภูมิเคลโดแกรม หรือไฟโลเจเนติกทรีประกอบด้วยส่วนต่างๆ ได้แก่ ปม (node) แบ่งออกเป็นปมด้านปลาย (terminal node) หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา และปมด้านใน (internal node) หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่สันนิษฐานว่าเป็นบรรพบุรุษร่วมสุดท้ายของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา โดยที่ปมต่างๆ จะเชื่อมต่อกันด้วยกิ่งก้าน แต่ละปมควรมีเพียงสองกิ่งก้าน (dichotomy) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิต ในบางกรณีอาจมีมากกว่าสองกิ่งก้านบนหนึ่งปม (polytomy) ทำให้ไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ ไฟโลเจเนติกทรีอาจจะรวมสิ่งมีชีวิตที่สันนิษฐานว่าเป็นบรรพบุรุษของสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษาทั้งหมดด้วย โดยเรียกบรรพบุรุษนี้ว่า ราก (root) (อัจฉริยา รังษิรุจิ, 2549) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ส่วนประกอบของไฟโลเจเนติกทรี (ดัดแปลงจาก ศิราวุธ กลิ่นบุหงา, 2544)

จากการที่ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุลและการวิเคราะห์ผลด้วยคอมพิวเตอร์มาช่วย ทำให้แนวคิดคลาดิสติกส์เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมที่สุดในการสร้างไฟโลเจเนติกทรีขึ้นมาใหม่ ดังเห็นได้จากรายงานทางวิชาการหลายฉบับ (Akihito *et al*., 2000; Xiao *et al*., 2001; Peng *et al*., 2004)

การศึกษาความสัมพันธ์โดยการเปรียบเทียบลำดับเบสของสิ่งมีชีวิต อาศัยหลักการที่ว่าสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันมากกว่า จะมีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกันมากกว่า ในปัจจุบันการศึกษาความสัมพันธ์ระดับโมเลกุลนิยมใช้ข้อมูลจากลำดับเบสหรือกรดอะมิโนเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งหลังจากนำข้อมูลเหล่านี้จากสิ่งมีชีวิตต่างๆ มาเปรียบเทียบ (aligned sequences) ผู้ที่ศึกษาสามารถสร้างไฟโลเจเนติกทรีได้ โดยเลือกวิธีที่เกี่ยวข้องกับการคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (distance-based approach เช่น neighbor-joining) หรือวิธีที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ลำดับเบสหรือกรดอะมิโนโดยตรง (character-based approach เช่น maximum parsimony) จากนั้นทำการทดสอบความเชื่อมั่นของไฟโลเจเนติกทรีโดยใช้กระบวนการทางสถิติเช่น การวิเคราะห์บูทสแตรป (bootstrapping analysis) เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้วิธีที่กล่าวมาทั้งหมด

วิธี neighbor-joining คือการคำนวณหาระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) จากลักษณะที่ศึกษา และสร้างตารางแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม (distance matrix) จากนั้นจึงสร้างไฟโลเจเนติกทรีโดยการวิเคราะห์ผลจากตาราง ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงสายวิวัฒนาการของคู่สิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุดตามด้วยคู่สิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมมากขึ้น ตามลำดับ (อัจฉริยา รังษิรุจิ, 2549)

วิธี maximum parsimony คือการวิเคราะห์สถานะของลักษณะที่เป็นลำดับเบสโดยตรง เพื่อหาลักษณะร่วมที่พัฒนาแล้ว หรือซินแนปพอมอร์ฟี (synapomorphy) ที่มีความสำคัญต่อการสร้างไฟโลเจเนติกทรี โดยวิธีนี้จะเลือกไฟโลเจเนติกทรีที่มีจำนวนการเปลี่ยนแปลงของสถานะของลักษณะน้อยที่สุด ซึ่งจะช่วยลดจำนวนการเปลี่ยนแปลงที่เป็นฮอโมเพลซี (homoplasy) ด้วย (อัจฉริยา รังษิรุจิ, 2549) (ดูคำศัพท์เพิ่มเติมที่ภาคผนวก ข)

นอกจากมีการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาและพันธุศาสตร์โมเลกุลของปลาแล้ว นักวิทยาศาสตร์ยังได้ศึกษาเกี่ยวกับเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาอีกด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

2.4 การศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์

การศึกษาวิชาเซลล์พันธุศาสตร์ได้เริ่มขึ้นครั้งแรกในปลายศตวรรษที่ 19 แต่ยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก ต่อมาในต้นศตวรรษที่ 20 นักวิชาการต่างประเทศเริ่มให้ความสนใจมากยิ่งขึ้น แต่การค้นคว้าวิจัยก็ไม่ได้ก้าวหน้าไปเท่าที่ควร ทั้งนี้เนื่องจากขาดวิธีการและความชำนาญที่ดีพอในการเตรียมโครโมโซม ซึ่งสมัยนั้นการเตรียมโครโมโซมจัดเป็นเรื่องที่ยาก เพราะเหตุว่าในภาวะปกติภายในเซลล์ของร่างกายทั่วไปไม่มีโครโมโซมในรูปแบบที่มองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ยกเว้น ในอวัยวะบางชนิดเท่านั้นที่กำลังสร้างเซลล์และมีการแบ่งเซลล์ที่พอจะศึกษาโครโมโซมได้ เช่น ในไขกระดูกและที่หลอดสร้างตัวอสุจิในอัณฑะปกติ (Denton,1973)

ในประเทศไทยมีผู้ศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาเป็นจำนวนมาก จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า ปลาในวงศ์ Notopteridae 3 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย ปลาสลาด *Notopterus notopterus*, ปลากราย *C. ornata* และ ปลาตองลาย *C. blanci* ได้มีผู้ศึกษาไว้คือ ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น (2532) ซึ่งศึกษาโดยฉีดสารละลายโคลชิซีนเข้าสู่ตัวปลา และตัดไตมาทำการทดลอง พบว่า ปลาสลาดมีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ 2n = 42 ประกอบด้วย โครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 21 คู่ ปลากรายมีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ 2n = 42 ประกอบด้วย โครโมโซมแบบซับเทโลเซนตริก 1 คู่ และแบบอะโครเซนตริก 20 คู่ ส่วนปลาตองลายมีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ 2n = 42 ประกอบด้วย โครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 21 คู่ ในขณะที่ปลาสะตือได้มีการศึกษาต่อมาภายหลังพบว่า 2n = 38 และเป็นโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกทั้งหมด (ธวัช ดอนสกุล, สนทนา, 20 เมษายน 2549)

ส่วนการศึกษาโครโมโซมของปลาสกุล *Chitala* ในต่างประเทศนั้น Denton (1973) ได้รวบรวมผลการทดลองเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมของปลาที่ได้มีผู้ศึกษาไว้แล้วลงในหนังสือ "Fish Chromosome Methodology" โดยระบุว่า Nayyar ศึกษาโครโมโซมในปลากรายอินเดีย *C. chitala* ไว้ในปี ค.ศ. 1965 พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 48 แบ่งเป็นแบบเมทาเซนตริก 12 แท่ง และเทโลเซนตริก 36 แท่ง

วิธีการฉีดสารละลายโคลชิซีนเข้าสู่ตัวปลา เป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้โครโมโซมหยุดในระยะเมทาเฟส แต่เนื่องจากวิธีนี้ส่งผลให้สัตว์ทดลองต้องเสียชีวิต จึงมีนักเซลล์พันธุศาสตร์หลายท่าน นำวิธีการกดให้แบน (squash) มาใช้ โดยดัดแปลงจากการใช้เนื้อเยื่อภายในมาใช้เกล็ดแทน เช่น Denton and Howell (1969) ศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อที่ติดมากับเกล็ดในปลาสกุล *Notropis* พบว่าได้ผลดีเทียบเท่ากับการศึกษาโดยวิธีกดให้แบนในเหงือก ตา และม้ามของปลา Ramirez (1980)

ได้ศึกษาวิธีเดียวกันในปลาแซนด์ ซีเทราท์ (*Cynoscion arenarius*) ซึ่งประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี

ก้าวใหม่ของวิชาเซลล์พันธุศาสตร์ได้เริ่มต้นขึ้นระหว่างปี ค.ศ. 1950 ถึง ค.ศ. 1960 จากการค้นพบเทคนิคใหม่สำคัญ 3 ประการ คือ วิธีการทำให้เซลล์ที่กำลังแบ่งตัวหยุดอยู่ในระยะเมทาเฟส ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาโครโมโซม นอกจากนี้ ยังอาศัยคุณสมบัติของสารละลายไฮโปโทนิคซึ่งทำให้เกิดการออสโมซิสขึ้นในเซลล์ เมื่อเซลล์พองตัวขึ้น โครโมโซมจะกระจายออก ทำให้ง่ายต่อการดูและศึกษาโครโมโซมใต้กล้องจุลทรรศน์ ในปี ค.ศ. 1960 Moorehead *et al.* ได้ค้นพบวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวในหลอดแก้ว (*in vitro*) ได้สำเร็จ โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสม และกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดการแบ่งตัวขึ้นมาใหม่ด้วยสารไฟโทฮีมแอกกลูตินิน การค้นพบประการหลังนี้นับเป็นความก้าวหน้าที่สำคัญมากเพราะทำให้สามารถศึกษาโครโมโซมของคนและสัตว์ได้โดยเพียงแค่จากการเจาะเลือดเท่านั้น ซึ่งไม่ทำให้สัตว์ทดลองตาย (จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, 2521)

ในปี ค.ศ. 1960 Peter Nowell ได้ค้นพบสารสกัดประเภทมิวโคโปรตีนจากพืชซึ่งเป็นที่รู้จักในชื่อ ไฟโทฮีมแอกกลูตินิน หรือ PHA ได้นำมาใช้เป็นสารกระตุ้นให้เซลล์เกิดการแบ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวในมนุษย์ และนำมาใช้ในการศึกษาโครโมโซมในสิ่งมีชีวิตอีกหลายชนิด (ดวงสมร สุวัฑฒน, วีระพงษ์ โกยกุล และ วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 2544; Moorehead *et al.*,1960)

ในต่างประเทศ มีการศึกษาโครโมโซมของปลาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเม็ดเลือดขาวอย่างแพร่หลาย โดยมากจะเป็นปลาในเขตหนาว อาทิเช่น ปลาทองญี่ปุ่น (*Carassius auratus*) (Heckman and Brubaker, 1970) ปลาเรนโบว์ เทราท์ (*Salmo gairdneri*) ปลาเทราท์สีน้ำตาล (*S. trutta*) และปลามาร์เบิล เทราท์ (*S. marmoratus*) (Al-Sabti,1985) ปลาคาร์ป (*Cyprinus carpio*) (Blaxhall, 1983) และปลาแซลมอน (*S. salar*) (Grammeltvedt, 1975) เป็นต้น

ส่วนการศึกษาโครโมโซมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวในประเทศไทยนั้นมีรายงานไม่มาก เชษฐ์วุฒิ สถิตพิมพา, ปิยะ อภิรติกุล และชาญณรงค์ มิตรมูลพิทักษ์ (2530) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาน้ำจืดไทย 4 ชนิดคือ ปลาสวาย (*Pangasius pangasius*) ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) และปลานิล (*Tilapia nilotica*) พบว่า ไม่ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว แต่หลังจากนั้น เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และคณะ (2547) ได้ทำการทดลองจนประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาบึก (*Pangasianodon gigas*)

2.4.1 การเรียกชื่อและจำแนกชนิดโครโมโซม

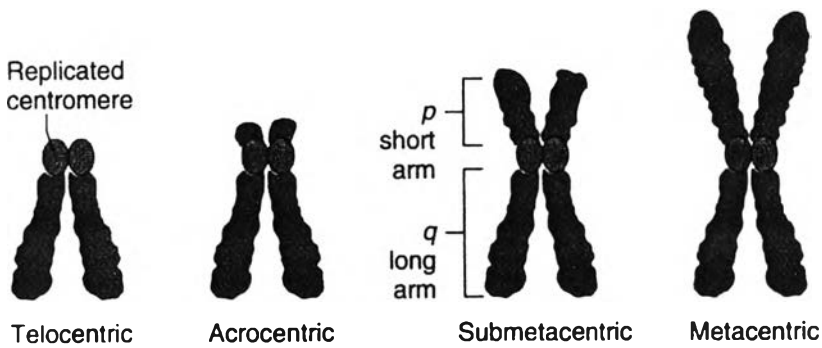
นักเซลล์พันธุศาสตร์ใช้ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์เป็นหลักเกณฑ์ในการจำแนกชนิดของโครโมโซม เซนโทรเมียร์เป็นส่วนของโครโมโซมที่เส้นใยสปินเดิลเข้าเกาะในระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ไคนีโทคอร์ (kinetochore) หรือรอยคอดส่วนที่หนึ่ง (primary constriction) ถ้าเซนโทรเมียร์อยู่ตรงส่วนกลางของโครโมโซม เรียกตำแหน่งนั้นว่า มีเดียน (median) ถ้าอยู่ตรงส่วนปลายของโครโมโซม เรียกว่า เทอร์มินอล (terminal) ถ้าอยู่ระหว่างตำแหน่งมีเดียนและเทอร์มินอล เรียกว่า ซับมีเดียน (submedian) และถ้าอยู่ระหว่างตำแหน่งเทอร์มินอลและซับมีเดียน เรียกว่า ซับเทอร์มินอล (Denton,1973)

ชนิดของโครโมโซม คือการบอกลักษณะรูปร่างของโครโมโซมโดยใช้ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์เป็นตัวบ่งบอก ถ้าเซนโทรเมียร์อยู่ส่วนมีเดียนจะเรียกโครโมโซมชนิดนั้นว่าแบบเมทาเซนทริก (metacentric) ถ้าอยู่บริเวณซับมีเดียน เรียกว่าแบบซับเมทาเซนทริก (submetacentric) ถ้าอยู่ส่วนเทอร์มินอล เรียกว่าแบบอะโครเซนทริก (acrocentric) หรือเทโลเซนทริก (telocentric) และถ้าเซนโทรเมียร์อยู่ส่วนซับเทอร์มินอล เรียกโครโมโซมชนิดนั้นว่าแบบซับเทโลเซนทริก (subtelocentric) ในบางครั้งโครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่ส่วนเทอร์มินอลและซับเทอร์มินอลจะเรียกรวมว่าแบบอะโครเซนทริก (ภาพที่ 6) Levan *et al.* (1964) ได้กำหนดชื่อย่อของโครโมโซมแต่ละแบบดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ ชนิด อัตราส่วนของความยาวแขนและรูปแบบของโครโมโซมในระยะอะนาเฟส (Levan *et al.*, 1964)

ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์	ชนิดของโครโมโซม	อัตราส่วนของความยาวแขนโครโมโซม (q/p)	รูปแบบในระยะอะนาเฟส
มีเดียน	เมทาเซนทริก (m)	1.00-1.70	ตัว V
ซับมีเดียน	ซับเมทาเซนทริก (sm)	1.71-3.00	ตัว J
เทอร์มินอล	อะโครเซนทริกหรือเทโลเซนทริก (t)	3.01-7.00	เป็นแท่ง
ซับเทอร์มินอล	ซับเทโลเซนทริก (st)	7.01-∞	เป็นแท่ง

แต่เมื่อตำแหน่งของเซนโทรเมียร์และชนิดของโครโมโซมมีความใกล้เคียงกันมากก่อให้เกิดความสับสนในการใช้สายตาเพื่อจัดกลุ่มของโครโมโซมได้ Levan *et al.* (1964) ได้คิดค้นวิธีแก้ปัญหานี้โดยใช้อัตราส่วนของความยาวแขนโครโมโซม (arm ratio) โดยนำความยาวของแขนโครโมโซมด้านยาว q หารด้วยความยาวของแขนโครโมโซมด้านสั้น p เมื่อได้ค่าอัตราส่วน จึงนำมาเทียบกับค่าในตารางที่ 2



ภาพที่ 6 รูปร่างของโครโมโซม (Lewis, 2003)

2.4.2 **การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม** (Denton, 1973)

จำนวนโครโมโซมที่คงที่เป็นลักษณะพิเศษของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มีรายงานว่า จำนวนโครโมโซมของปลาชนิดต่างๆ มีตั้งแต่ 16 แท่งในปลา Chocolate gourami (*Sphaerrichthys osphromenoides*) ถึง 446 แท่งใน *Diptychus dipogon* ซึ่งเป็นโพลีพลอยด์ (Calton and Denton, 1974) ปลาส่วนมากมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 40 – 60 แท่ง ไม่มีหลักฐานบ่งบอกว่าจำนวนโครโมโซมใช้บอกความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในปลากลุ่มใหญ่ได้ แต่ในระดับที่แคบลงเช่นในระดับวงศ์ และสกุลมีแนวโน้มว่าจำนวนโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลง จึงพบว่า การเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านรูปร่างของโครโมโซมมีความสัมพันธ์กัน นักเซลล์พันธุศาสตร์จึงได้คาดการณ์ว่า ปลาที่มีลักษณะโบราณ หรือมีลักษณะพิเศษที่น้อยจะมีจำนวนโครโมโซมมากและมีโครโมโซมแบบอะโครเซนทริกมากกว่า ในขณะที่ปลายุคใหม่จะมีโครโมโซมแบบเมทาเซนทริกมากกว่า Mayers และ Roberts (1969) ได้รายงานว่า ปลา Alewife เป็นสมาชิกที่โบราณของอันดับ Salmoniformes เนื่องจากปลาชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมแบบอะโครเซนทริก 48 แท่ง เปรียบเทียบกับสมาชิกชนิดอื่นซึ่งมีโครโมโซมแบบเมทาเซนทริกมาก

2.4.3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

การเกิดวิวัฒนาการของโครโมโซม ส่วนมากเกิดจากการจัดเรียงตัวใหม่ของโครโมโซม ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงอินเตอร์เฟส–โปรเฟสของระยะการแบ่งเซลล์ในไมโอซิส และสามารถตรวจพบได้เมื่อเข้าสู่ระยะปลายของโปรเฟสและเมทาเฟส

ถ้าโครโมโซมมีการแตกหัก 1 ตำแหน่งที่ส่วนปลาย ชิ้นส่วนดีเอ็นเอจะสูญหายไปในรูปแบบของการเกิดดีลีชัน (deletion) และหากมีการแตกหักเกิดขึ้น 2 ตำแหน่ง จำนวนของโครโมโซมที่ผิดปกติจะเพิ่มขึ้น การเกิดการแตกหัก 2 ตำแหน่งบนโครโมโซมเดียวกันทำให้เกิดดีลีชันภายในแท่งโครโมโซม ทำให้ชิ้นส่วนนั้นหายไป ในชิ้นส่วนโครโมโซมที่ขาดหรือหลุดออกไปถ้าไม่มีเซนโทรเมียร์จะไม่สามารถเคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ในระยะอะนาเฟสและไม่สามารถเข้าไปรวมอยู่ในนิวเคลียสใหม่ ทำให้ชิ้นส่วนโครโมโซมที่ขาดออกสูญหายไปในเซลล์รุ่นหลัง การสูญหายชิ้นส่วนโครโมโซมแบบนี้มักก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในกรณีที่มียีนสูญหายเป็นจำนวนมาก หรือเกี่ยวกับปฏิกิริยาชีวเคมีที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต (Hartwell *et al.*, 2000)

ถ้าชิ้นส่วนโครโมโซมที่เกิดการแตกหัก 2 ตำแหน่งแล้วเชื่อมต่อกันใหม่ แต่มีการกลับทิศทางของยีน เรียกว่า อินเวอร์ชัน (inversion) ทำให้ลำดับของยีนบนโครโมโซมเปลี่ยนแปลงไป การเกิดอินเวอร์ชันมีบทบาทสำคัญมากต่อการเกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่โดยป้องกันการผสมกันของยีนพูลระหว่างลูกซึ่งมีโครโมโซมแบบอินเวอร์ชันกับแบบ parental การเกิดอินเวอร์ชันที่รวมเซนโทรเมียร์เข้าไปด้วย หรือเพอริเซนทริกอินเวอร์ชัน (pericentric inversion) ในโครโมโซมแบบอะโครเซนทริก จะได้โครโมโซมแบบเมทาเซนทริก ส่วนการกลับทิศของชิ้นส่วนโครโมโซมที่แขนข้างใดข้างหนึ่งโดยไม่รวมเอาเซนโทรเมียร์เข้าไปด้วย เรียกว่าพาราเซนทริกอินเวอร์ชัน (paracentric inversion) (Hartwell *et al.*, 2000)

หากชิ้นส่วนโครโมโซมโดยเฉพาะในยูโครมาทินมีเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ แต่ไม่ได้รวมถึงลำดับดีเอ็นเอที่มีความซ้ำสูง เรียกความผิดปกติแบบนี้ว่าดูพลิเคชัน (duplication) พบในธรรมชาติมากกว่าดีลีชัน เนื่องจากการเพิ่มของโครโมโซมไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตรุนแรงถึงตายเท่ากับการขาดหายของโครโมโซม (Hartwell *et al.*, 2000)

สาเหตุของการเกิดโครโมโซมผิดปกติมากที่สุดในปลาคือทรานสโลเคชัน (translocation) เกิดจากการแตกหักของโครโมโซม 2 ตำแหน่ง และแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนกันระหว่างนอนโฮโมโลกัสโครโมโซม 2 แท่ง ทรานสโลเคชันไม่มีหน้าที่ในการป้องกันการผสมของยีนพูลทำให้เกิดสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ ทรานสโลเคชันแบบที่เกิดมากที่สุดในปลาคือ โรเบิร์ตโซเนียนทรานสโลเคชัน (Robertsonian

translocation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของโครโมโซมที่เกิดจากโครโมโซมแบบอะโครเซนทริก รวมตัวกันเป็นโครโมโซมแบบเมทาเซนทริกหรือซับเมทาเซนทริก (Denton, 1973)

2.4.4 **การแปรผันของจำนวนโครโมโซม** (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2543)

ในสัตว์ชั้นสูงทั่วไป สัตว์ชนิดเดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน นอกจากนั้นภายในสัตว์แต่ละตัว จำนวนโครโมโซมในเซลล์ร่างกายทุกเซลล์จะเท่ากัน แต่ในปลาพบว่ามีการแปรผันของจำนวนโครโมโซมในทุกระดับ ได้แก่ การแปรผันภายในตัวเดียวกัน ระหว่างปลาที่อยู่ในประชากรเดียวกัน และระหว่างปลาชนิดเดียวกันแต่ต่างประชากร

การแปรผันของจำนวนโครโมโซมภายในปลาตัวเดียวพบมากในปลากลุ่มซัลโมนิดส์ (Salmonids) เช่น ปลาเรนโบว์ เทราท์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Fukuoka, 1972) Chernenko (1968, 1971) ได้รายงานการแปรผันที่พบในปลาซ็อคอาย แซลมอน (*Oncorhynchus nerka*) พบว่าในคัพพะตัวเดียวกันมีจำนวนโครโมโซมในเซลล์ต่างๆ อยู่ระหว่าง 56, 57 หรือ 58 แท่ง ภายในเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมมากจะพบโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกมากตามไปด้วย แสดงว่าความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมดังกล่าว อาจเกิดจากโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 2 แท่งมาเชื่อมต่อกัน ในกรณีนี้จำนวนแขนของโครโมโซม (arm number หรือ fundamental number ย่อว่า NF หรือ FN) ในเซลล์เหล่านี้ควรจะเท่ากันแม้จำนวนโครโมโซมต่างกัน นอกจากนั้นอาจเกิดจากการแยกตัวผิดปกติของโครโมโซมที่เป็นคู่กันระหว่างการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ การหายไปของโครโมโซมระหว่างการแบ่งเซลล์ร่างกาย หรือการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโครโมโซมหลายๆ แท่ง สาเหตุเหล่านี้จะทำให้จำนวนแขนโครโมโซมแตกต่างกันไปด้วย การเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมก็เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้จำนวนโครโมโซมภายในตัวปลาแตกต่างกัน (Kirpichnikov, 1981)

ในการศึกษาการแปรผันทางพันธุกรรมของโครโมโซม จำเป็นต้องศึกษาอย่างละเอียดโดยใช้ตัวอย่างจำนวนมาก ทั้งนี้เพราะการนับจำนวนโครโมโซมปลาทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากโครโมโซมมีขนาดเล็กมากและอาจมีโครโมโซมบางแท่งสูญหายระหว่างการเตรียมสไลด์ (Kirpichnikov, 1981)

การแปรผันของจำนวนโครโมโซมระหว่างตัวปลาภายในประชากรเดียวกันพบได้หลายลักษณะ ส่วนใหญ่พบว่าปลาชนิดที่มีการแปรผันภายในตัวปลาก็มักจะพบการแปรผันภายในประชากรด้วย สาเหตุของการแปรผันดังกล่าวคล้ายคลึงกับสาเหตุการแปรผันที่เกิดขึ้นระหว่างเซลล์ คือโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกมาเชื่อมต่อกัน ในปลาทองบางชนิดย่อย (sub-species) มีการแปรผันโดยการเพิ่มชุดจำนวนโครโมโซม เช่น ในปลา *Carassius auratus gibelio* ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 100 และ 150 แท่ง (Cherfas, 1966) ในปลาเรนโบว์ เทราท์พบการแปรผันดังกล่าวเช่นเดียวกัน โดย

Thorgaard and Gall (1979) ได้รายงานว่าพบปลาที่เป็นทริพลอยด์จำนวน 6 ตัว ในประชากรของปลาเรนโบว์ เทราท์สายพันธุ์หนึ่ง

การแปรผันของจำนวนโครโมโซมในปลาต่างประชากร เป็นปรากฏการณ์ที่พบไม่มาก เพราะเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวขึ้น จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างอื่นตามมาอย่างรวดเร็วจนเกิดเป็นปลาชนิดใหม่ ทำให้ไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างดังกล่าว อย่างไรก็ตามพบว่ามีรายงานในปลาหลายชนิด เช่น ปลากรีน ซันฟิช (*Lepomis cyanellus*) (Robert, 1964) ปลากลุ่มซัลโมนิดส์ (Gold and Gall, 1975)

2.4.5 การประยุกต์ใช้การแปรผันของโครโมโซมในปลา

การปรับปรุงสายพันธุ์ปลาโดยการจัดชุดของโครโมโซม เป็นวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพวิธีหนึ่งที่นำมาใช้อย่างแพร่หลาย โพลีพลอยด์ในสัตว์น้ำพบได้ทั้งในธรรมชาติและจากการเหนี่ยวนำทั้งโดยการช็อคด้วยความดันน้ำ อุณหภูมิ หรือสารเคมี โดยโพลีพลอยด์เหล่านั้นมีอัตราการรอดที่ดี ซึ่งโดยทั่วไปในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูงจะไม่แข็งแรงและมีอัตราการรอดต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเพศ แต่สัตว์น้ำบางชนิดไม่มีโครโมโซมเพศ การเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมจึงไม่เกิดผลร้ายแรงเท่าสัตว์ชั้นสูง (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2543)

โพลีพลอยด์ที่มีรายงานในสัตว์น้ำมี 2 ชนิด คือ ทริพลอยด์และเตตราพลอยด์ โดยโพลีพลอยด์ที่ทำการเหนี่ยวนำมากที่สุดในสัตว์น้ำคือ ทริพลอยด์ โดยคุณสมบัติของปลาที่เป็นทริพลอยด์คือจะมีขนาดตัวไม่แตกต่างจากปลาดิพลอยด์ เมื่อปลามีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้น ขนาดของนิวเคลียสและขนาดเซลล์ก็จะโตขึ้นเป็นสัดส่วนกัน ดังนั้นหากเซลล์ร่างกายมีจำนวนเท่าเดิม ปลาควรมีขนาดใหญ่ขึ้น เช่นเดียวกับพืชโพลีพลอยด์ แต่ในสัตว์ แม้ขนาดของเซลล์จะเพิ่มขึ้น ขนาดของสัตว์ไม่โตขึ้น เพราะสัตว์เหล่านี้มีจำนวนเซลล์ลดลง (Purdom, 1983) ดังเช่นมีรายงานในปลาชันแนล แคทฟิช (Wolters *et al.*, 1982)

นอกจากนั้น ความเป็นหมันของปลาทริพลอยด์นี้มีประโยชน์ในปลากลุ่มซัลโมนิดส์ ซึ่งเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์อัตราการตายจะเพิ่มมากขึ้น ไวต่อการติดเชื้อ อัตราการเจริญเติบโตลดลง คุณภาพของเนื้อลดลง หากสามารถทำให้เป็นหมันจะช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ ในปลาชนิดอื่นๆ เช่น ปลานิล หากทำให้เป็นหมันอาจทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้สัตว์ที่เป็นหมันยังมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตดีกว่าสัตว์ปกติ เพราะไม่ต้องแบ่งพลังงานบางส่วนไปใช้ในการสืบพันธุ์ (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2543) สำหรับตัวอย่างของการใช้ปลาทริพลอยด์ในการบริหารทรัพยากรประมง ได้แก่ การ

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำปลากินหญ้าที่เป็นทริพลอยด์มาใช้ควบคุมวัชพืชแทนปลากินหญ้าปกติในสหรัฐอเมริกา เพื่อป้องกันปัญหาการแพร่กระจายของปลาที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (Allen *et al.*, 1986)