

รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาโครโมโซม

597.52
ค391ก8

597.52
๕๓๑๑๗๘

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาโครโมโซมของปลาสลิกและปลาแรด

A Chromosome study on two species of Anabantid
Fishes, Trichogaster pectoralis and Osphronemus goramy

โดย

ชวิช คอนสกุล และ วิเชียร มากคูน
ภาควิชาชีววิทยา และ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน

เสนอ

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน

30 มิถุนายน 2531

18 ส.ย. 2535

การศึกษาโครโมโซมของปลาสลิคและปลาแรด

A Chromosome study on two species of Anabantid
Fishes, Trichogaster pectoralis and Osphronemus goramy

ชวิษ กอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายสำคัญเพื่อศึกษาโครโมโซมของปลาสลิคและปลาแรด ปลาสลิคและปลาแรดที่ใช้ในการทดลองอย่างละ 20 ตัว มีความยาวมาตรฐาน 70.00 – 85.90 มม. และ 85.00 – 93.20 มม. ตามลำดับ การเตรียมโครโมโซมดัดแปลงมาจากวิธีของอิดะและคิโอะ (Ida and Kyo, 1980) เคนตัน (Denton, 1973) อุวาและโอจิม่า (Uwa and Ojima, 1981) การจำแนกโครโมโซมถือเอาตามวิธีของลีแวนและคณะ (Levan et al., 1964) ผลการทดลองปรากฏดังนี้

- 1) ปลาสลิคมีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ $2n = 46$ คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 23 คู่ จำนวนแซนโครโมโซมเท่ากับ 46
- 2) ปลาแรดมีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ $2n = 48$ คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 24 คู่ จำนวนแซนโครโมโซมเท่ากับ 48

A Chromosome Study on two species of Anabantid
Fishes, Trichogaster pectoralis and Osphronemus goramy

Thawat Donsakul and Wichian Magtoon
Faculty of Science, Srinakharinwirot
University at Bangkok, Thailand.

Abstract

The main purpose of this experiment was to study the chromosome of Trichogaster pectoralis and Osphronemus goramy. Twenty specimens of each species of T. pectoralis and O. goramy, 70.00 to 89.50 mm and 85.00 to 93.20 mm in standard length were studied respectively. Method of chromosome preparation was modified from Ida and Kyo (1980), Denton (1973) and Uwat and Ojima (1981). Classification of chromosomes followed Levan et al. (1964). The results of this experiment were as follows :

1) The diploid chromosome number of T. pectoralis is 46. The karyotype is composed of 23 pairs of acrocentric chromosomes. The arm number is 46.

2) The diploid chromosome number of O. goramy is 48. The karyotype is composed of 24 pairs of acrocentric chromosomes. The arm number is 48.

สารบัญ

หน้า

คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการทดลอง	2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง	2-7
อุปกรณ์และวิธีการ	8-10
สถานที่ทำการทดลอง	10
ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง	10
ผลการทดลอง	11
ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญบางประการ ของปลาสลิกและปลาแรด	11-12
ผลการศึกษาโครโมโซมและคาร์โบไฮเดรตของปลาสลิกและปลาแรด	11-14
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	15
สรุปผล	15
อภิปรายผล	15
ข้อเสนอแนะ	16
คำขอบคุณ	17
เอกสารอ้างอิง	18-19

บัญชีตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญบางประการของปลาสติกและปลาแรด.....	12
2. ความถี่จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะ เมทาเฟส ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งนับได้จากเซลล์แต่ละเซลล์ ของปลาสติกและปลาแรด	13
3. จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) คาร์ิโอไทป์และจำนวนแขน โครโมโซม (FN) ของปลาสติกและปลาแรด	13

บัญชีรูปภาพ

รูปที่

หน้า

1. ปลาสลิด Trichogaster pectoralis (Regan) 5
2. ปลาแรด Osphronemus goramy (Lacipéde) 5
3. แสดงการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในระยะเมตาเฟสของปลาสลิด
2n = 46 (A) ปลาแรด 2n = 48 (B) และการจัด
คาร์ิโอไทป์ของปลาสลิด (C) และปลาแรด (D) สเกลมีค่า
เท่ากับ 5 μ 14

การศึกษาโครโมโซมของปลาสลิดและปลาแรด

A chromosome Study on two species of Anabantid

Fishes, Trichogaster pectoralis and Osphronemus goramy

คำนำ

ปลาสลิด (pla salad) Trichogaster pectoralis (Regan) และ ปลาแรด (pla rad) Osphronemus goramy (Lacipéde) เป็นปลาพื้นบ้านของไทยเรามีรสชาตินิยมรับประทานกันทั่วไป เป็นปลาที่มีความสำคัญทางค่านเศรษฐกิจ โดยเฉพาะปลาสลิดนิยมรับประทานในรูปของปลาคากแห้งมากกว่าปลาสด มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย พบมากในภาคกลาง และพบกระจายไปยังทั่วทุกภาคของประเทศ ส่วนปลาแรดเป็นปลาที่มีขนาดใหญ่กว่าปลาสลิด มีรสชาตีสั้นเคี้ยวกัน ราคาค่อนข้างแพง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย บริเวณเกาะสุมาตรา ชวา บอร์เนียว (Smith, 1945) ในประเทศไทยพบกันทางภาคใต้ของประเทศไทยเป็นเวลานานมาแล้ว ปัจจุบันพบกันแม่น้ำสายใหญ่ ๆ แทบทุกภาคของประเทศไทย ปลาทั้งสองชนิดต่างก็จัดอยู่ในวงศ์อนาแบนทิดี (Anabantidae) เนื่องจากเป็นปลาที่มีความสำคัญทางค่านเศรษฐกิจ จึงมีนักชีววิทยาให้ความสนใจในการศึกษาทางค่านชีววิทยากันอยู่บ้าง แต่ส่วนใหญ่จะเน้นหนักไปในค่านการเพาะเลี้ยง สำหรับการศึกษทางค่านโครโมโซมของปลาทั้งสองชนิดนี้ ไม่มีรายงานปรากฏให้เห็นเลยว่ามีผู้ใดเคยศึกษากันมาก่อนในต่างประเทศ ส่วนในประเทศไทยนี้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมของปลาน้ำจืดแทบทุกชนิดเอาไว้น้อยมาก หรืออาจกล่าวได้ว่ายังไม่มีเลยหรือจะมีอยู่บ้างก็เป็นเพียงการเริ่มต้นเท่านั้น ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมจึงเป็นสิ่งที่น่าให้ความสนใจในการศึกษาเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะปลาสลิดและปลาแรดซึ่งมีรูปร่างลักษณะภายนอกแตกต่างกัน แต่ก็เป็นปลาที่จัดอยู่ในอนุวงศ์ออสโฟรเนมินี (Subfamily Osphroneminae) เกี่ยวกัน (Frey, 1961) ผลจากการศึกษาจะทำให้ทราบว่าปลาทั้งสองชนิดนี้มีจำนวนรูปแบบโครโมโซม และคาร์ริโอไทป์แตกต่างกันมากน้อยเพียงใด มีความสัมพันธ์กันอย่างไรใกล้ชิดหรือไม่ นอกจากนี้ยังทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับประโยชน์ทางค่านไซโตแทกซ์โนมี (Cytotaxonomy) และการปรับปรุงสายพันธุ์ของปลาทั้งสองชนิดนี้ให้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาดัชนีทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญบางประการของปลาสติกและปลาแรด
2. เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม และคาร์โบไฮเดรตของปลาสติกและปลาแรด

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง

ปลาสลิกมีชื่อสามัญเป็นภาษาอังกฤษว่า Snake skin gourami มีชื่อ
วิทยาศาสตร์ว่า Trichogaster pectoralis (Regan) ส่วนปลาแรดมีชื่อสามัญเป็น
ภาษาอังกฤษว่า giant gourami มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Osphronemus goramy
(Lacipède) สมิท (Smith, 1945) ได้จัดอนุกรมวิธานของปลาสลิกและปลาแรดไว้ใน

Class Pisces

Subclass Telostomi

Order Labyrinthici

Family Anabantidae

เนลสัน (Nelson, 1976) ได้จัดอนุกรมวิธานของปลาสลิกและปลาแรดไว้ใน

Class Osteichthyes

Subclass Actinopterygii

Order Perciformes

Family Belontiidae

ส่วนแลกเลอร์และคณะ (Lager et al., 1962) ได้จัดอนุกรมวิธานของปลาทั้งสองชนิด
นี้ไว้ใน

Class Osteichthyes

Subclass Actinopterygii

Order Perciformes (Percomorphi)

Suborder Anabantitoidei (Labyrinthici)

Family Anabantidae

เฟร (Frey, 1961) จัดอนุกรมวิธานของปลาใน Family Anabantidae ออกเป็น
5 subfamilies คู่ยกกันคือ

Subfamily 1. Anabantinae ไค้แก่วากปลาหมอไทย (Anabas testudineus) ปลาหมอคาง (Helostoma teminckii)

Subfamily 2. Macropodinae ไค้แก่วากปลาพาราโคส (Macropodus)

Subfamily 3. Sphaerichthyinae ไค้แก่วากปลา Sphaerichthys

Subfamily 4. Ctenopominae ไค้แก่วากปลากะทิม (Trichopsis) ปลากัด (Betta)

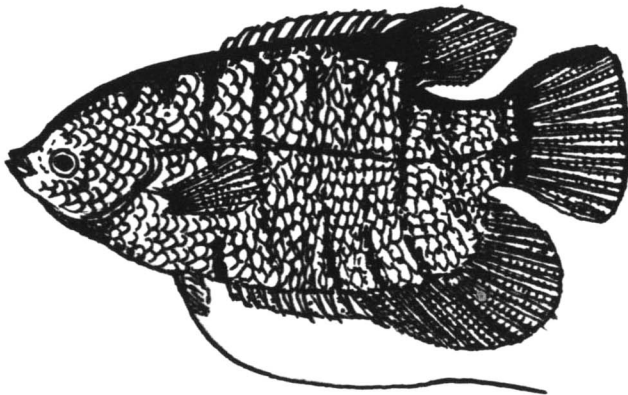
Subfamily 5. Osphroneminae ไค้แก่วากปลากะทิม Colisa ปลากะทิมหัว กระจับปี่ ปลาสลิด (Trichogaster) ปลาแรด (Osphronemus)

ตามที่กล่าวมานี้จะเห็นได้ว่าปลาสลิดและปลาแรดต่างก็จัดอยู่ในอนุวงศ์ (Subfamily) เดียวกัน ปลาสลิดเป็นปลาที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย เป็นปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของปลาในสกุลนี้ อาศัยอยู่ในแหล่งที่มีพืชน้ำ เช่นในท้องนา ร่องน้ำ คู คลอง แอ่งน้ำ อ่างเก็บน้ำ หนองและบึง เป็นต้น พบชุกชุมในภาคกลางมากกว่าภาคอื่น ปลาสลิดมีรูปร่างลักษณะแบน (ดังรูปที่ 1) มีความยาวถึง 25 เซนติเมตร โดยเฉลี่ยทั่วไปยาวประมาณ 15 - 16 เซนติเมตร ลำตัวสีน้ำตาลเขียว หรือเขียวอมเทา มีแถบสีน้ำตาลเข้มพาดเฉียงลำตัว ซึ่งแถบนี้มักจะหายไปเมื่อปลาโตเต็มที่ นอกจากนี้ยังมีแถบเล็ก ๆ สีน้ำตาลพาดไปตามความยาวของลำตัวจากหัวถึงโคนหางอีกข้างละแถบ ครีบหลังมีก้านแข็ง 9 - 12 อัน ก้านครีบอ่อน 10 - 11 อัน ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 9 - 12 อัน ก้านครีบอ่อน 36 - 38 อัน ครีบอกยาวกว่าหัว ครีบท้องมีก้านครีบอ่อนอันที่หนึ่งเป็นเส้นยาวเลยโคนหาง เกล็ดตามเส้นข้างตัวประมาณ 55 - 63 เกล็ด

ปลาแรดมีลักษณะลำตัวลึกและแบนข้างมาก (ดังรูปที่ 2) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย แถวเกาะสุมาตรา ซาวา บอร์เนียว และหมู่เกาะอินเดียนตะวันออก (Smith, 1945) จากนั้นจึงมีการนำเข้าไปเลี้ยงแพร่หลายในประเทศต่าง ๆ เช่น ประเทศจีน ศรีลังกา และอินเดีย รวมทั้งในประเทศไทยเราด้วย ปลาแรดพบในประเทศไทยเราเป็นเวลานานมาแล้ว มีคนเข้าใจกันว่านำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย แต่ไม่มีหลักฐานยืนยันว่าเป็นปลาที่นำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย ในธรรมชาติพบกระจาย



รูปที่ 1 ปลาสลิก Trichogaster pectoralis (Regan)



รูปที่ 2 ปลานรอก Osphronemus goramy (Lacepède)

แพร่หลายทางภาคใต้ของประเทศไทยมากกว่าภาคอื่น ๆ พบได้ทั่วไปตามอ่างเก็บน้ำ แม่น้ำสายใหญ่ ๆ และสาขาในภาคใต้ ภาคกลาง และภาคเหนือของประเทศไทย ปลาแรด ที่มีขนาดเล็กนิยมเลี้ยงไว้เป็นปลาคู่ ปลาแรดเป็นปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในปลาดวงศ์เดียวกัน อาจมีความยาวถึง 60 เซนติเมตร โดยเฉลี่ยทั่วไปมีความยาวประมาณ 40 - 45 เซนติเมตร ครีบหลังและครีบกันยาวมาก มีเกล็ดบนฐานครีบ ครีบหลังมีจำนวนก้านครีบ แข็ง 12 - 16 อัน ก้านครีบอ่อน 10 - 11 อัน ครีบกันมีก้านครีบแข็ง 9 - 13 อัน ก้านครีบอ่อน 17 - 18 อัน ครีบท้องมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 5 อัน ก้านครีบอ่อนอันแรกของก้านครีบท้องเป็นเส้นยาว อาจจะยาวถึงหรือยาวเลยปลายครีบหาง เกล็ดตามเส้นข้างตัวประมาณ 28 - 33 เกล็ด ในปลาโตเต็มวัยเกล็ดบริเวณค้ำหลัง มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนปลาที่มีอายุน้อย เกล็ดบริเวณลำตัวจะมีสีน้ำตาลอมชมพู หรือน้ำตาลอ่อน มีแถบสีฟ้าพาดขวางลำตัว และโคนครีบหางมีจุดสีฟ้า เมื่อปลามีอายุมากขึ้นแถบและจุดสีฟ้า ดังกล่าวจะหายไป

การศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของปลาในวงศ์นี้ ในต่างประเทศ มีผู้ศึกษากันเอาไว้บ้างในปลาบางชนิด เช่น ปลาหมอไทย (*Anabas testudinus*) มีโครโมโซม $2n = 48$ โครโมโซมเป็นแบบอะโครเซนตริก 24 คู่ (Kaur and Srivastava, 1965) ปลากัด (*Betta splendens*) มีโครโมโซม $2n = 42$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก 36 แบบเมตาเซนตริก 6 และปลาพาราไคส์ (*Macropodus opercularis*) มีโครโมโซม $n = 21$ (Svardson and Wickbom, 1942) ปลากรีกชนิดหนึ่ง (*Colisa fasiatus*) มีโครโมโซม $2n = 48$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกทั้ง 48 (Nayyar, 1966) ปลากรีกหม้อ (*Trichogaster trichopterus*) ปลา *Ctenopoma ansorgei* มีโครโมโซม $2n = 48$ เท่ากัน (Gyldenholm, 1971) นอกจากนี้ในรายงานของเดนต์ (Denton, 1973) ยังพบว่า ปลาในวงศ์นี้มีโครโมโซม $2n = 42$ ขึ้นไปจนถึง $2n = 48$ ในประเทศไทยมีผู้ศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลากรีกนางและปลาสลิดของไทย (ชวีชและวิเชียร, 2530) ซึ่งพบว่า ปลาสลิดมีโครโมโซม $2n = 46$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกทั้ง 23 คู่ ปลากรีกมุกมีโครโมโซม $2n = 48$ ประกอบด้วยโครโมโซม

แบบอะโครเซนตริกทั้งหมด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาโครโมโซมของปลาหมอไทยและปลาหมอศาล (ชวัชและวิเชียร, 2531) ปรากฏว่า ปลาหมอไทยมีโครโมโซม $2n = 46$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบสับเมตาเซนตริก 1 คู่ แบบอะโครเซนตริก 22 คู่ จำนวนแท่นโครโมโซมเท่ากับ 48 ปลาหมอศาลมีโครโมโซม $2n = 48$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกทั้ง 24 คู่ จำนวนแท่นโครโมโซมเท่ากับ 48

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาสดที่นำมาใช้ในการทดลอง เป็นปลาที่ได้มาจากแหล่งน้ำในจังหวัด
พระนครศรีอยุธยาจำนวน 20 ตัว ส่วนปลาแรกนำมาจากบ่อเลี้ยงที่จังหวัดสิงห์บุรี จำนวน
20 ตัว นำปลาดังกล่าวบรรจุลงปลาสดอีกออกซิเจนน้ำหนักดิบมาเลี้ยงไว้ในบ่อซีเมนต์ขนาด
เส้นผ่าศูนย์กลาง 90 เซนติเมตร บรรจุน้ำสูง 60 เซนติเมตร ปล่อยปลาลงในบ่อ ๆ ละ
10 ตัว จำนวนทั้งสิ้น 4 บ่อ ให้อาหารสำเร็จจืดเม็ดที่บรรจุลงชายตามท้องปลาพร้อมกับ
แทนเบ็ดเป็นอาหารวันละครั้งในตอนเช้า ปลาที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 2 พวก
พวกแรกใช้ปลาสดและปลาแรกอย่างละ 15 ตัว นำมากองไว้ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70
เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงนำไปกองไว้ในฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์
บรรจุไว้ในขวดที่มีฝาปิดสนิท นำปลาที่กองไว้ในฟอร์มาลินมาศึกษาลักษณะสำคัญทางสัณฐาน
วิทยาบางประการ โดยวัดความยาวมาตรฐาน ความยาวเหยียด ความลึกลำตัว
ความกว้างลำตัว ความยาวหัว ความยาวหน้าตา ความยาวหลังตา เส้นผ่าศูนย์กลางเบ้าตา
ความยาวคอคหาง ความยาวฐานครีบหลัง ความยาวฐานครีบก้น ความยาวครีบอก ค้วย
คาลิปเปอร์ นับจำนวนเส้นครีบ เกล็ดตามเส้นข้างตัวของปลาทั้งสองชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์
แบบสเตอริโอ นับจำนวนข้อกระดูกจากปลาสดและปลาแรกอย่างละ 5 ตัว โดยนำเอา
ปลาที่ตายใหม่ ๆ จากการศึกษาโครโมโซมมาแล้วไปต้มให้เค็ลเป็น เวลาประมาณ 5 นาที
แล้วจึงค่อย ๆ แกะเอาเนื้อออก นำเอาระกอกไปนับจำนวนข้อด้วยกล้องสเตอริโอ
เปรียบเทียบกับการนับด้วยการหักข้อกระดูกออกมาทีละข้อ พวกที่สองศึกษาโครโมโซม
โดยศึกษาจากปลาสดและปลาแรกอย่างละ 5 ตัว นำเอาปลาไปฉีดด้วยโคลชิซินความ
เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ครั้งละตัว ฉีดโคลชิซินเข้ากล้ามเนื้อบริเวณค้ำข้างลำตัวใกล้
กับโคนครีบหลัง โดยจุดตั้งต้นของครีบหลังไปทางค้ำท้ายเล็กน้อย โคลชิซินจะไปทำลาย
สายสปินเคิล (spindle fiber) และยับยั้งการแบ่งเซลล์ให้หยุดอยู่ที่ระยะเมตาเฟส
ตามวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของอิดะและคิโอะ (Ida and Kyo, 1980) วิธีของ
เคนตัน (Denton, 1973) วิธีของอุวาและโอจิม่า (Uwa and Ojima, 1981)
เมื่อฉีดโคลชิซินเสร็จแล้ว นำเอาปลาไปปล่อยลงในบ่อใหม่ที่มีน้ำสะอาดและมีเครื่องพ่นน้ำ
ให้ออกซิเจน เมื่อครบ 4 - 6 ชั่วโมง นำเอาปลามาผ่าตัดเอาไต นำเอาไตแช่ไว้ใน

สารละลายของโปแทสเซียมคลอไรด์ 0.2786 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 45 นาที ในระหว่างนี้ไซโตมิกอนที่สะอาดสับไตออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นจึงใช้หลอดแก้วปลายแหลมดูดถ่ายไปยังหลอดแก้ว นำเข้าเครื่องตกตะกอนสาร (centrifuge) ด้วยความเร็วประมาณ 600 - 1000 รอบต่อนาที ใช้เวลา 5 นาที ใช้หลอดแก้วปลายแหลมดูดเอาโปแทสเซียมคลอไรด์ออก แล้วเติมน้ำยาคงสภาพ (fixative) ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของเอ็บบ์ไซดูลูเอทิลแอลกอฮอล์กับกรดน้ำส้มเข้มข้น หรือเกล เซียลอะซีติกแอสิคในอัตราส่วน 3:1 ใช้เวลาฟิชั่นอย่างน้อย 15 นาที นำเข้าเครื่องตกตะกอนสารใช้ความเร็วเท่าเดิมเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปฏิบัติโดยเปลี่ยนน้ำยาคงสภาพแล้วนำเข้าเครื่องตกตะกอนสารใหม่อีก ปฏิบัติเช่นนี้ 3 ครั้ง ใช้หลอดแก้วปลายแหลมที่แห้งสนิททุกตะกอนที่กั้นหลอดแก้วหยดลงบนสไลด์ที่สะอาดให้กระจาย ฝังไว้ให้แห้งในอากาศ บ้อมด้วยสีย้อมกิมซา (Giemsa stain) ซึ่งบรรจุอยู่ภายในภาชนะบ้อมสี ใช้เวลาย้อมประมาณ 30 นาที หรือมากกว่า นำสไลด์ที่ย้อมแล้วนี้ขึ้นฝังไว้ให้แห้งสนิทในอากาศ หยดคานาบัลซิมลงไปบนสไลด์ที่มีเซลล์ 1 หยด ปิดด้วยกระจกปกสไลด์ นำสไลด์ที่เตรียมเสร็จแล้วนี้ไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบผสม เลือกลำโครโมโซมจาก เซลล์ที่แผ่กระจายดีด้วยหัวเลนส์วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า บันทึกภาพไว้ด้วยฟิล์มขาวดำ ทดลองวิธีเดียวกันนี้กับปลาสิคและปลาแรคอย่างละ 5 ตัว นำฟิล์มที่บันทึกไว้จากปลาแต่ละตัวแต่ละชนิดไปล้างและอัดขยายให้มีกำลังขยายโตขึ้น นับจำนวนความถี่การกระจายของโครโมโซมที่บันทึกไว้ ความถี่ที่ได้จากการนับมากที่สุดถือเป็นจำนวนโครโมโซมของปลาแต่ละชนิด นำภาพซึ่งอัดขยายแล้วจำนวน 10 เซลล์ของ 10 ภาพ มาทำการวัดความยาวแขนโครโมโซม หาอัตราส่วนระหว่างแขนยาวต่อแขนสั้น (arm ratio) และความยาวสัมพันธ์ (relative length) ของโครโมโซมแต่ละอัน เพื่อนำมาคำนวณวิเคราะห์คาร์ิโอไทป์ ความยาวสัมพันธ์ คำนวณได้จากสูตรที่ว่า ความยาวสัมพันธ์เท่ากับความยาวทั้งหมด (total length) ของโครโมโซมแต่ละคู่ $\times 100$ ต่อความยาวของแขนโครโมโซมทั้งหมดที่เป็นส่วนประกอบ การจำแนกชนิดของโครโมโซมถือเอาคามวิธีของลีแวนและคณะ (Levan et al., 1964) คือ ถ้าโครโมโซมมีอัตราส่วนของแขนยาวต่อแขนสั้น (long arm/short arm) มีช่วงอยู่ระหว่าง 1.00 - 1.70 โครโมโซมเป็นแบบเมตาเซนตริก (metacentric หรือ m) ถ้าอัตราส่วนของแขนยาวต่อแขนสั้นอยู่ระหว่าง 1.71 - 2.99 โครโมโซม

เป็นแบบสับเมตาเซนตริก (submetacentric หรือ sm) ถ้าอัตราส่วนแขนยาวต่อแขนสั้น อยู่ระหว่าง 3.00 – 6.99 โครโมโซมเป็นแบบสับทีโลเซนตริก (subtelocentric หรือ st) ถ้าอัตราส่วนของแขนยาวต่อแขนสั้นอยู่ระหว่าง 7 – ∞ โครโมโซมเป็นแบบอะโครเซนตริก (acrocentric หรือ t) จำนวนแขนโครโมโซม (arm number หรือ FN) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ถ้าโครโมโซมเป็นแบบอะโครเซนตริกและแบบสับทีโลเซนตริก ถือเป็นกลุ่มโครโมโซมที่มีแขนเดียว (monoarmed group) ถ้าโครโมโซมเป็นแบบเมตาเซนตริก และแบบสับเมตาเซนตริก ถือเป็นกลุ่มโครโมโซมที่มี 2 แขน (biarmed group)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการสถานเพาะพันธุ์ปลาน้ำจืด และห้องปฏิบัติการเทคนิคโครโมโซม มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้เวลา 1 ปี เริ่มทดลองตั้งแต่วันที่ 20 มิถุนายน 2530 ถึงวันที่ 20 มิถุนายน 2531

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญบางประการของปลาสลิกและปลาแรด

ผลการศึกษาปรากฏในตารางที่ 1 จากตารางจะเห็นได้ว่า ปลาสลิกและปลาแรดที่นำมาใช้ในการศึกษาอย่างละ 15 ตัว มีความยาวมาตรฐานใกล้เคียงกัน คือ ปลาสลิกมีความยาวมาตรฐาน 70.00 – 89.50 มิลลิเมตร ปลาแรดมีความยาวมาตรฐาน 85.50 – 93.20 มิลลิเมตร ปลาสลิกมีก้านครีบแข็งของครีบหลัง 7 อัน ก้านครีบอ่อน 10 – 11 อัน ปลาแรดมีก้านครีบแข็งของครีบหลัง 12 อัน ก้านครีบอ่อน 10 – 12 อัน ปลาสลิกมีก้านครีบอ่อนของครีบท้อง 2 อัน ก้านครีบแข็งไม่มี แต่ปลาแรดมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 5 อัน ปลาแรดมีก้านครีบแข็งของครีบกัน 9 – 10 อัน ก้านครีบอ่อน 36 – 38 อัน ส่วนปลาแรดมีก้านครีบแข็ง 10 อัน ก้านครีบอ่อน 21 อัน สำหรับความลึกลำตัว ความยาวหัว ความยาวหน้าตา ความยาวหลังตา เส้นผ่าศูนย์กลางเบ้าตา ความยาวคอคหางใกล้เคียงกัน ปลาแรดมีความยาวของฐานครีบหลังยาวกว่าปลาสลิกมาก คือ ปลาแรดยาว 32.00 – 39.50 มิลลิเมตร ปลาสลิกยาว 18.50 – 20.00 มิลลิเมตร ความยาวฐานครีบกันและความยาวครีบอกใกล้เคียงกัน ปลาสลิกมีเกล็ดตามเส้นข้างตัว 57 – 60 เกล็ด ปลาแรดมี 33 – 35 เกล็ด ปลาสลิกมีข้อกระดูกสันหลัง 30 ข้อ ปลาแรดมี 31 ข้อ ซึ่งต่างกันเพียงข้อเดียว

2. การศึกษาโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของปลาสลิกและปลาแรด

ผลการตรวจนับความถี่การกระจายของโครโมโซมในระยะเมตาเฟสจากเซลล์ไตที่มีโครโมโซมแผ่กระจายที่อักษยาย ผลปรากฏในตารางที่ 2 จากตารางจะเห็นได้ว่า ความถี่สูงสุดของจำนวนโครโมโซมที่นับได้จากปลาสลิกมีจำนวนโครโมโซม $2n = 46$ ส่วนปลาแรดมีความถี่ของจำนวนโครโมโซมสูงสุดนับได้ $2n = 48$ ดังรูปที่ 3A และ 3B ตามลำดับ จากจำนวนโครโมโซมดังกล่าวนี้ เมื่อนำมาจัดคาร์ิโอไทป์ ผลปรากฏว่า ปลาสลิกซึ่งมีจำนวนโครโมโซม $2n = 46$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก(t) จำนวน 23 คู่ จำนวนแซนโครโมโซม (FN) เท่ากับ 46 ดังรูปที่ 3C และตารางที่ 3 สำหรับปลาแรดซึ่งมีโครโมโซม $2n=48$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริก(t) จำนวน 24 คู่ จำนวนแซนโครโมโซม(FN) เท่ากับ 48 ดังรูปที่ 3D และตารางที่ 3

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญบางประการของปลาสลิกและปลาแรด

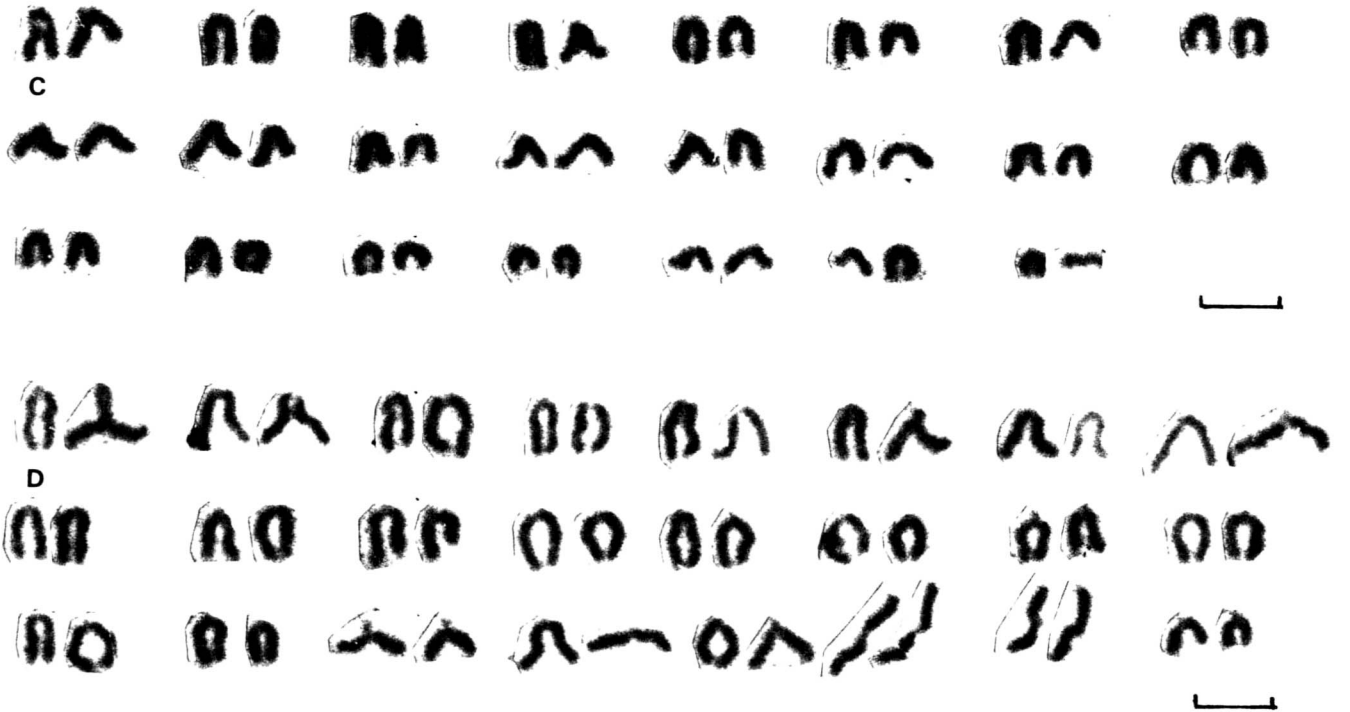
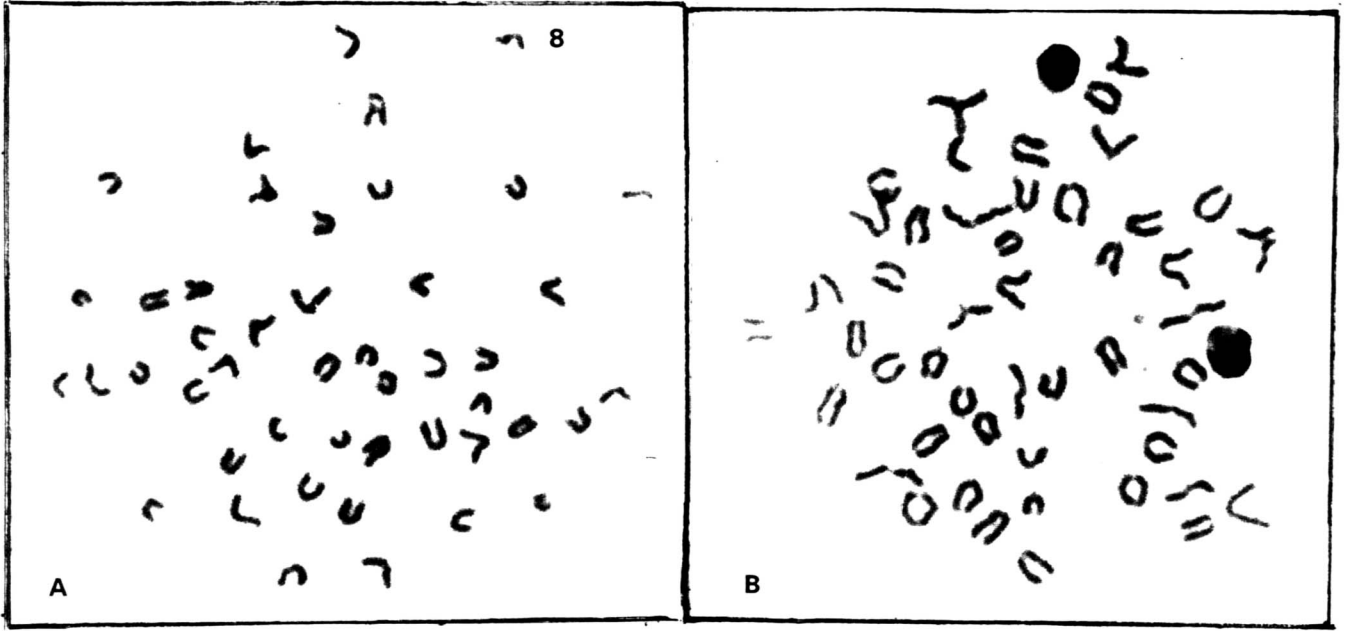
ชนิดปลา	ปลาสลิก	ปลาแรด
จำนวนปลา (ตัว)	15	15
ความยาวมาตรฐาน (มม)	70.00 - 89.50	88.50 - 93.20
ความยาวเหยียด (มม)	80.00 - 110.30	110.20 - 118.30
ก้านครีบลึง	VII, 10 - 11	XII, 10 - 12
ก้านครีบอก	9 - 12	11
ก้านครีบท้อง	2	I, 5
ก้านครีบก้น	IX - X, 36-38	X, 21
ก้านครีบทาง	15-17	16
ความลึกลำตัว (มม)	31.00 - 32.50	34.00 - 46.70
ความกว้างลำตัว (มม)	12.50 - 14.00	12.00 - 15.00
ความยาวหัว (มม)	27.50 - 28.50	29.50 - 31.50
ความยาวหน้าตา (มม)	8.50 - 9.00	8.50 - 10.00
ความยาวหลังตา (มม)	9.00 - 14.00	13.50 - 14.20
เส้นผ่าศูนย์กลางเบ้าตา (มม)	6.50 - 7.00	7.10 - 7.20
ความยาวคอคหาง (มม)	0.20 - 0.30	0.20 - 0.50
ความยาวฐานครีบลึง (มม)	18.50 - 20.00	32.00 - 39.50
ความยาวฐานครีบก้น (มม)	56.00 - 57.00	32.50 - 51.50
ความยาวครีบอก (มม)	26.00 - 26.50	22.50 - 25.00
เกล็ดตามเส้นข้างตัว	57 - 60	33 - 35
ข้อกระดูกสันหลัง	30	31

ตารางที่ 2 ความถี่จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะเมทาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งนับได้จากเซลล์แต่ละเซลล์ของปลาสดิกและปลาแรก

ชื่อปลา	จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์(2n)													รวม (เซลล์)
	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	
สดิก	1	2	1	0	3	1	3	1	2	0	54	1	0	69
แรก	0	0	1	0	2	1	2	1	3	1	2	40	0	53

ตารางที่ 3 จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) คาร์ิโอไทป์และจำนวนแขนโครโมโซม (FN) ของปลาสดิกและปลาแรก

ชื่อปลา	2n	m	sm	st	t	FN
สดิก	46	0	0	0	46	46
แรก	48	0	0	0	48	48



รูปที่ 3 แสดงการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในระยะเมทาเฟสของปลาสลิก $2n = 46$ (A) ปลาแรก $2n = 48$ (B) และการจัดการไอโทพของปลาสลิก (C) และปลาแรก (D) สเกลมีค่าเท่ากับ 5μ

สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

ผลการทดลองพบสรุปได้ว่า ปลาสลิกและปลาแรดมีรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ความยาวมาตรฐานของปลาที่จับทดลองมีขนาดใกล้เคียงกัน ปลาสลิกมีจำนวนโครโมโซม $2n = 46$ โครโมโซมเป็นแบบอะโคร เซนตริก 23 คู่ จำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 46 ส่วนปลาแรดมีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ โครโมโซมเป็นแบบอะโคร เซนตริกทั้งหมดจำนวน 24 คู่ จำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 48

อภิปรายผล

ปลาสลิกและปลาแรดที่นำมาใช้ในการทดลองมีความยาวมาตรฐานและความยาวเหยียดใกล้เคียงกัน ถึงแม้จะมีจำนวนเส้นครีบ เกณฑ์ตามเส้นข้างตัวแตกต่างกันก็ตาม แต่ปลาทั้งสองชนิดต่างก็มีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกัน คือ ปลาสลิกมีจำนวนโครโมโซม $2n = 46$ ปลาแรดมีโครโมโซม $2n = 48$ โครโมโซมดังกล่าวต่างก็เป็นแบบอะโคร-เซนตริกด้วยกัน และจำนวนแขนโครโมโซมก็มีจำนวนใกล้เคียงกันมากคือ ปลาสลิกมีจำนวนแขน 46 ปลาแรดมีจำนวนแขน 48 จำนวนโครโมโซมของปลาทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวนี้ต่างก็มีจำนวนโครโมโซมอยู่ในเกณฑ์ของปลาในวงศ์เดียวกัน ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ $2n = 42$ ขึ้นไปจนถึง $2n = 48$ (Denton, 1973., Gyldenholm, and Scheel, 1971., ชวัช และวิเชียร., 2531) สำหรับปลาสลิกนั้นมีจำนวนโครโมโซมตรงกับที่ ชวัช วิเชียร และอุระ (2530) ศึกษาไว้ทุกประการจึงเป็นข้อมูลที่น่าเชื่อถือได้ สำหรับปลาแรดนั้นยังไม่ปรากฏมีรายงานว่ามีผู้ใดศึกษามาก่อนในประเทศไทยและในต่างประเทศ แต่จำนวนโครโมโซมดังกล่าวก็อยู่ในเกณฑ์ของปลาในวงศ์นี้ จึงเป็นข้อมูลที่น่าถูกต้องเช่นเดียวกัน และเนื่องจากปลาทั้งสองชนิดดังกล่าวมานี้มีโครโมโซมใกล้เคียงกันมากจึงน่าเป็นที่เชื่อได้ว่าปลาทั้งสองนี้ถึงแม้จะเป็นคนละชนิดและคนละสกุลกัน แต่คงมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด และน่าจะเหมาะสมดีแล้วที่จัดเอาไว้ในอนุวงศ์ (subfamily) เดียวกัน และน่าจะสนใจขยายขอบเขตการศึกษาทางด้านโครโมโซมหรือคาร์ิโอไทป์กับปลาชนิดอื่น ๆ ในวงศ์เดียวกันนี้ให้กว้างขวางยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากข้อมูลเกี่ยวกับโครโมโซมของปลาสติกและปลาแรดยังมีค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะปลาสติกซึ่งเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ตลอดจนเป็นปลาพื้นบ้านของไทยเรา มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย เท่าที่ผู้วิจัยพบเห็นปลาสติกในแต่ละท้องถิ่นมีขนาดและสีสรรแตกต่างกัน จึงน่าจะได้มีการศึกษาว่า ปลาสติกที่มีขนาดสีสรรแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น หรือในแต่ละภาคของประเทศไทยมีโครโมโซมแตกต่างกันหรือไม่ ส่วนปลาแรคนั้นก็น่าสนใจในการศึกษาในลักษณะทำนองเดียวกันนี้ด้วย นอกจากนี้ควรจะขยายขอบเขตการศึกษาออกไปสู่ปลาน้ำจืดและปลาน้ำเค็มในวงศ์อื่น ๆ กันต่อไปด้วย

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน ที่ให้ความสนใจเกี่ยวกับการวิจัยวิทยาศาสตร์ขั้นพื้นฐาน และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในเรื่องนี้ นอกจากนี้ยังขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธานี ทับทิมโต รองอธิการบดี ที่เห็นความสำคัญ สนับสนุนการก่อสร้างสถานเพาะพันธุ์ปลาน้ำจืดและห้องปฏิบัติการเทคนิคโครโมโซม ซึ่งผู้วิจัยได้ใช้เป็นห้องปฏิบัติการในการศึกษาครั้งนี้ด้วย นอกจากนี้ยังขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สนิท ทองสง่า ที่ให้คำแนะนำในการศึกษา และ Dr. Royichi Arai แห่ง Natural Science Museum, Tokyo ประเทศญี่ปุ่น ที่ได้ให้เอกสารอ้างอิง และสนับสนุนการศึกษาโครโมโซมของปลาน้ำจืดเมืองไทย

เอกสารอ้างอิง

ชวัช คอนสกุล วิเชียร มากตุน และ ฮีโรชิ อุวะ "การศึกษาคาร์ริโอไทป์ของปลากระต๊าม และปลาสลิดของไทย" เรื่องได้มาประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาวิทยาศาสตร์ 3-6 กุมภาพันธ์ 111-117 2530

ชวัช คอนสกุล และวิเชียร มากตุน "การศึกษาโครโมโซมของปลาดมไทยและปลาดมอิตาลี" รายงานผลงานวิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26 สาขาสัตวศาสตร์ สัตวแพทย์ ประมง 3-5 กุมภาพันธ์ 213-218 2531

Denton, Thomas E. Fish Chromosome Methodology. Illinois, Chales C Thomas Publischer, 1973. 166 p.

Frey, Hans, Illustrated dictionary of tropical fishes. New Jersey, T.H.F Publications Inc., 1961. 768 p.

Glyldenholm, A.O., and Scheel, J.J., "Chromosome numbers of Fishes I." J. Fish. Biol. 3:479-486, 1971.

Ida, Hitoshi and Kyo, Yunokawa, "Karyotypic variation found among five species of the family Platycephalidae." Jap. J. Ichthyology. 27:122-128, 1980.

Kaur, Dr., and Srivastava, M.D.L., "The structure and behavior of Chromosomes in five fresh-water teleosts." Carynologia. 18(2):181, 1965.

Levan, A., Fredga K., and Sanberg A.A., "Nomenclature for Centromeric position on Chromosomes" Hereditas, 52:201-220, 1964.

Nayyar, R.P., "Karyotypes studies in thirteen species of fishes." Genetica, 37:78, 1966.

Smith, H.M., The fres-water fishes of Siam, or Thailand. Bull.

U.S. Nat. Mus. 188:16-22, 1945.

Svardson, G., and Wickbom T., "The Chromosome of two species of Anabantidae (Teleosts) with a new case of sex reversal."

Hereditas, 28:212, 1942.

Uwa, H., and Ojima, Yoshio, "Detailed and banding Karyotype analysis of the medaka, Oryzias latipes, in culture cells."

Proc. Jap. Acad. 57B:39-43, 1981.