



คาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis* Bleeker, 1850)

จากจังหวัดขอนแก่น

Karyotypic of Golden Little Barb, *Puntius brevis* Bleeker, 1850

(Pisces: Cyprinidae) from Khon Kaen Province

ณัฐธา นธิกุลวรรณรงค์^{1*} และ วิไลลักษณ์ เครือเนตร²

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์คาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis* Bleeker, 1850) จากจังหวัดขอนแก่น ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 5 ตัว เตรียมโครโมโซมจากไตด้วยวิธีการตรงจากการฉีดยาโคลชิซิน ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาโดยใช้สีจิมซ่า 20% และแถบสีแบบนอร์ด้วยซิลเวอร์ไนเตรต 50% ผลการศึกษาพบว่าปลาตะเพียนทรายมีโครโมโซมจำนวนดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 62 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 26 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 12 แท่ง จากการย้อมสีแบบนอร์พบตำแหน่งของ nucleolar organization regions (NOR) จำนวน 1 คู่ ที่ตำแหน่งเทโลเมียร์บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกคู่ที่ 6 ปลาตะเพียนทรายมีสูตรคาร์ิโอไทป์ คือ $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_4 + L^a_2 + M^a_2 + M^t_{26} + S^t_{12}$

¹สาขาประมง คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์ วิทยาเขตหนองคาย มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดหนองคาย 43000

²สาขาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์ วิทยาเขตหนองคาย มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดหนองคาย 43000

*Corresponding Author, E-mail: nudtha.n@nkc.kku.ac.th

ABSTRACT

Karyotype analysis of golden little barb (*Puntius brevis* Bleeker, 1850) from Khon Kaen province was done in the present study. Mitotic chromosome was prepared directly from kidney of specimens after *In vivo* colchicines treatment. Conventional staining and Ag-NOR banding techniques were applied to stain the chromosomes accomplished by 20% Giemsa's and 50% silver nitrate solution, respectively. The results showed that the number of diploid chromosome of golden little barb was $2n=50$, the fundamental numbers (NF) was 62 in both male and female. The types of chromosomes consists of 4 large metacentric, 4 large submetacentric, 2 large acrocentric, 2 medium acrocentric, 26 medium telocentric and 12 small telocentric chromosomes. Ag-NOR banding techniques demonstrated that there is 1 pair of NOR exists at telomere region on the short arm of acrocentric chromosome pair 6. The karyotype formula of golden little barb is as follows: $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_4 + L^a_2 + M^a_2 + M^t_{26} + S^t_{12}$

คำสำคัญ: ปลาตะเพียนทราย คาร์ิโอไทป์ อิติโอแกรม นอร์

Keywords: *Puntius brevis*, Karyotype, Idiogram, Nucleolar organization regions (NOR)

บทนำ

ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis* Bleeker, 1850) จัดอยู่ในวงศ์ Cyprinidae ซึ่งเป็นวงศ์ปลาน้ำจืดที่มีความหลากหลายชนิดมากที่สุด เป็นปลาที่มีลักษณะคล้ายปลาตะเพียนแต่ลำตัวป้อมกว่า หัวเล็กปากเล็ก มีหนวด 1 คู่ ลำตัวสีเทาเงิน ครีบหลังมีประสีคล้ำ ก้านครีบหลังอันใหญ่มีขอบด้านท้ายเรียบ ครีบหางเว้าลึกและโคนครีบหางมีแต้มสีคล้ำ ในฤดูกาลสืบพันธุ์แก้มจะมีแต้มสีส้มอ่อน พฤติกรรมอาศัยเป็นฝูงเล็ก ๆ ตามแหล่งน้ำนิ่งที่มีพรรณไม้ น้ำหนาแน่น กินแพลงก์ตอน สัตว์หน้าดินขนาดเล็ก และพืชน้ำเป็นอาหาร (ชวลิต, 2547) ปลาตะเพียนทรายจัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือชนิดหนึ่งเนื่องจากเป็นปลาที่นิยมนำมาแปรรูปอุตสาหกรรมในครัวเรือน เช่นการหมักทำปลาร้า และการทำปลาแห้ง เป็นต้น ซึ่งสามารถสร้างรายได้ให้แก่ชุมชนและครอบครัว

จากรายงานการศึกษา คาร์ิโอไทป์ (karyotype) ของปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ก่อนหน้านี้ (เกรียงไกร, 2550) ใช้วิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining) และพบว่ามี ความแตกต่างของรายงานทั้งจำนวน และชนิดของโครโมโซม ซึ่งคาดว่าเนื่องจากการใช้ตัวอย่างปลาที่มาจากประชากรที่มีแหล่งต่างกัน และจากวิธีการเตรียมโครโมโซมที่มีความชัดเจนแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงจำนวนโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทรายด้วยเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา และย้อมสีแถบสีแบบนอร์ (Ag-NOR banding) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานแรกของการย้อมแถบสีแบบนอร์ การจัดทำอิติโอแกรมมาตรฐาน และการจัดขนาดของโครโมโซมในปลาตะเพียนทราย ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการศึกษาทางด้านเซลล์อนุกรมวิธาน (cytotaxonomy) รวมทั้งสามารถนำไป

ประยุกต์ใช้ในด้านอนุรักษ์ การจำแนกชนิด และ การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลา ตะเพียนทรายที่พบในประเทศไทย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลาตะเพียนทรายจำนวน 10 ตัว มาจำแนกชนิดยึดถือตามแนวของชวลิต (2547) นำมาเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 18×36×8 นิ้ว ที่สาขา ประมง คณะวิทยาศาสตร์ ประยุกต์ และ วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขต หนองคาย ให้ออกซิเจนตลอดเวลา ให้อาหารเม็ด สำเร็จรูปวันละครั้ง จนกว่าจะทำการศึกษา

2. การเตรียมโครโมโซม

วิธีดำเนินการเตรียมโครโมโซมดัดแปลงจาก อลงกลด (2554) โดยนำปลาตะเพียนทรายมาวัดความ ยาวและน้ำหนัก จากนั้นนำปลามาฉีดโคลชิซิน (colchicine) ความเข้มข้น 0.05% (ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักปลา 100 กรัม) เข้าที่บริเวณช่อง ท้องของปลา ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วทำการสลบปลาด้วย น้ำแข็ง จากนั้นทำการเปิดช่องท้องของปลาเพื่อผ่าเอา ไตมาแช่และสับให้ละเอียดในสารละลายโพแทสเซียม คลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ นาน 30 นาที แล้วย้ายลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,250 รอบต่อนาที เป็น เวลา 8 นาที จากนั้นดูดส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำยาตรึง เซลล์ (methanol: glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3:1) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วย ความเร็ว 1,250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที จากนั้น ดูดน้ำยาตรึงเซลล์ด้านบนทิ้ง แล้วเติมน้ำยาตรึงเซลล์ ใหม่ ทำเช่นนี้จนได้สารละลายใส และมีตะกอนขาวอยู่ ที่ก้นหลอด จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้งไปเกือบ หมดเหลือไว้เหนือเซลล์ ประมาณ 0.5–1.0 มิลลิลิตร

เติม น้ำยาตรึงเซลล์อีกประมาณ 1–2 มิลลิลิตร (ขึ้นกับ ปริมาณตะกอนเซลล์) ผสมให้เข้ากันดี

3. การย้อมสีโครโมโซม

3.1 การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

ดูดสารละลายตะกอนเซลล์ที่เตรียมไว้หยดลง บนสไลด์ที่สะอาดและเย็นจัด ประมาณ 1-2 หยด ทิ้งไว้ ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปย้อมด้วย 20% Giemsa ตรวจสอบสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และ ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้ง อุปกรณ์ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (100X)

3.2 การย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบบอร์

ดูดสารละลายตะกอนเซลล์ที่เตรียมไว้หยดลง บนสไลด์ที่สะอาดและเย็นจัดประมาณ 1-2 หยด ทิ้งไว้ ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปย้อมด้วยสารละลาย 50% silver nitrate ลงบนสไลด์โครโมโซม 2 หยด ตามด้วยหยด 50% สารละลาย gelatin 2 หยด ปิด ด้วยกระจกปิดสไลด์ นำสไลด์ไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำสไลด์ออกมา จุ่มในน้ำกลั่นเพื่อให้กระจกปิดหลุดออก ทิ้งไว้ให้แห้งที่ อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้ง อุปกรณ์ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (100X)

4. การจัดทำคาริโอไทป์และอิดิโอแกรม

การจัดทำคาริโอไทป์และอิดิโอแกรมดัดแปลง มาจากวิธีการของกันยารัตน์ (2532) โดยเลือกภาพถ่าย เซลล์ระยะเมทาเฟส 15 เซลล์ที่โครโมโซมกระจายตัวดี ไม่หดสั้นเกินไป มีจำนวนโครโมโซมครบ และสังเกตเห็น รูปร่างได้ชัดเจน มาจัดทำคาริโอไทป์และอิดิโอแกรม

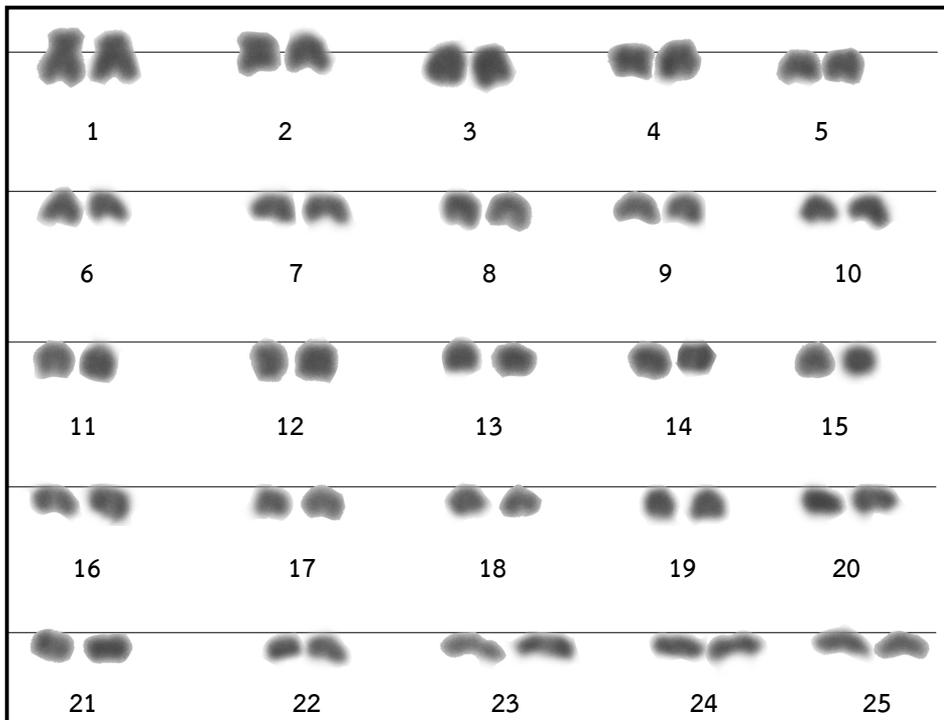
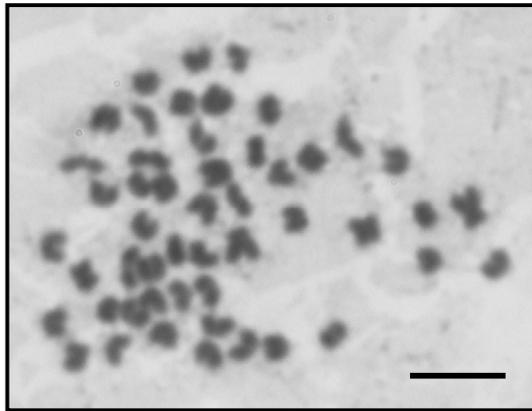
ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์คาริโอไทป์ของปลา ตะเพียนทราย พบว่าปลาตะเพียนทรายมีโครโมโซม-ดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แห่ง มีจำนวนโครโมโซม

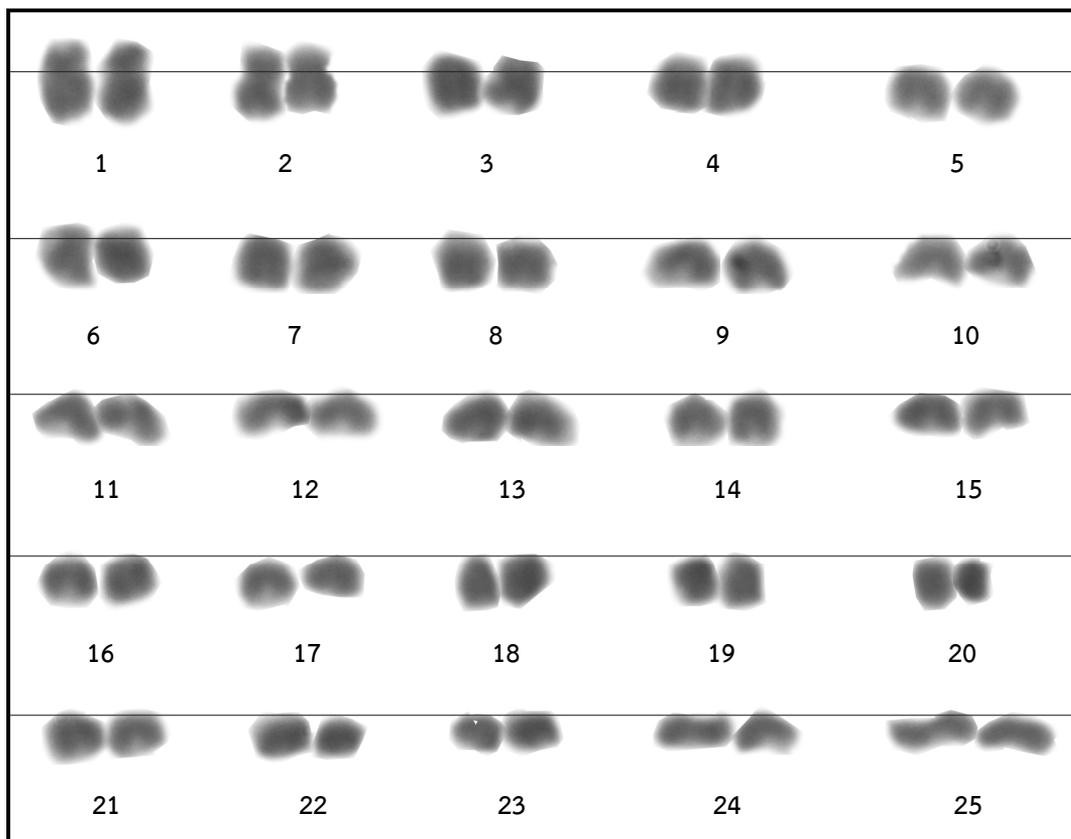
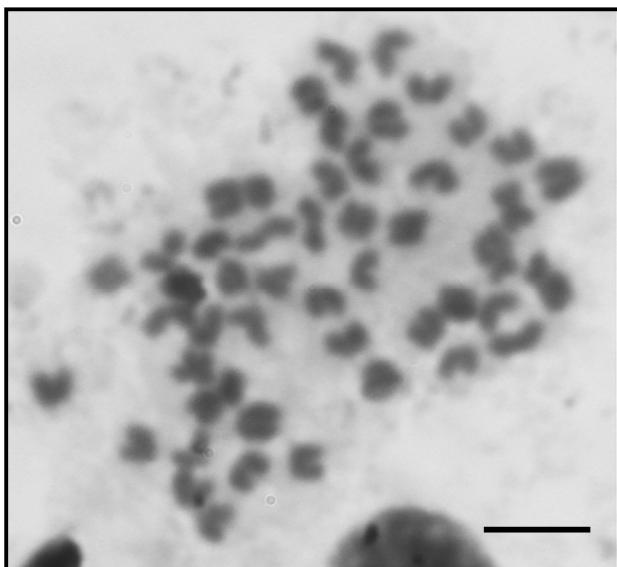
พื้นฐานเท่ากับ 62 ทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมีย คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 26 แท่ง และ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 12 แท่ง (รูปที่ 1 2 3 และ

ตารางที่ 1) และพบตำแหน่งของ nucleolar organization regions (NOR) จำนวน 1 คู่ ที่ตำแหน่งเทโลเมียร์ (teromeric NOR) บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกคู่ที่ 6 (รูปที่ 4 5 และ 6) สูตรคาร์ิโอไทป์มาตรฐานของปลาตะเพียนทราย ดังนี้

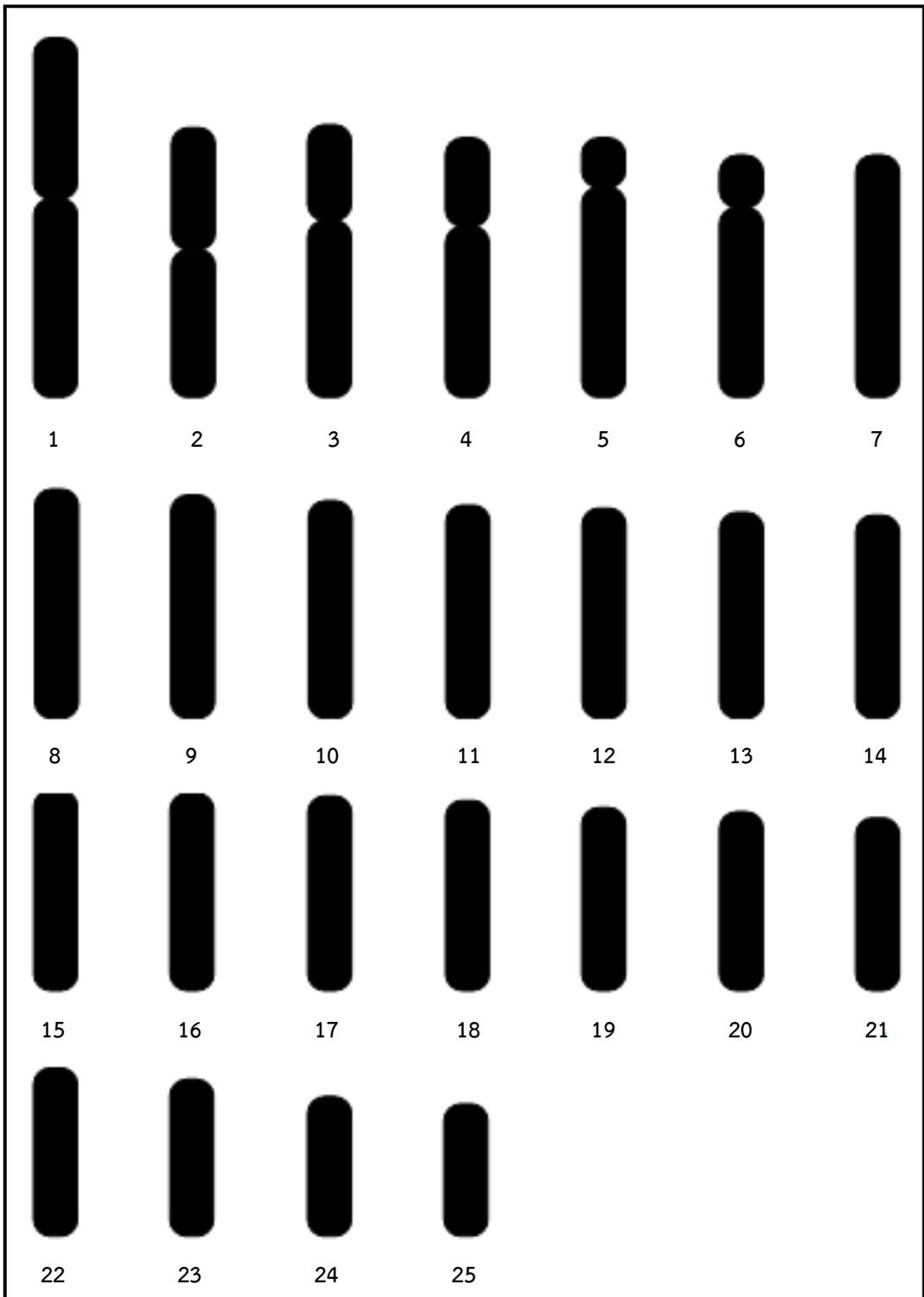
$$2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_4 + L^a_2 + M^a_2 + M^t_{26} + S^t_{12}$$



รูปที่ 1 เซลล์ระยะเมทาเฟส และคาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) เพศผู้ ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกลบาร์ 10 ไมโครเมตร



รูปที่ 2 เซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) เพศเมีย ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา สเกลบาร์ 10 ไมโครเมตร

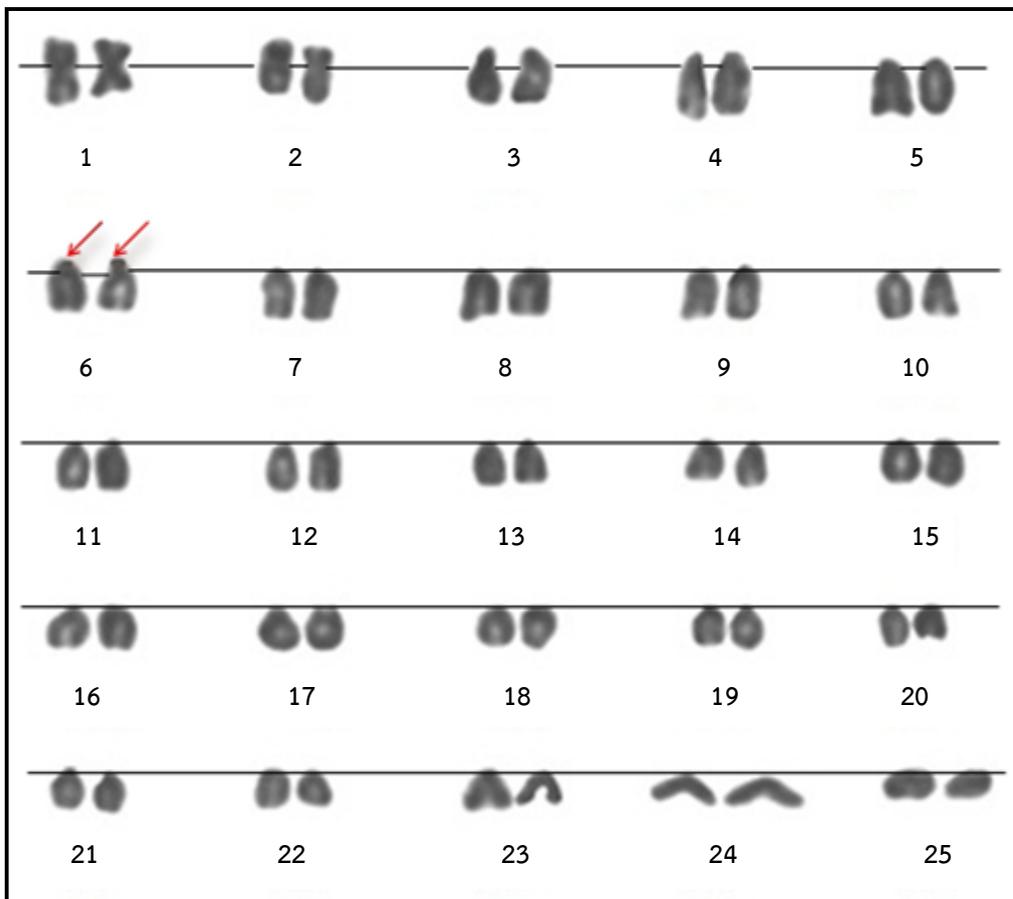
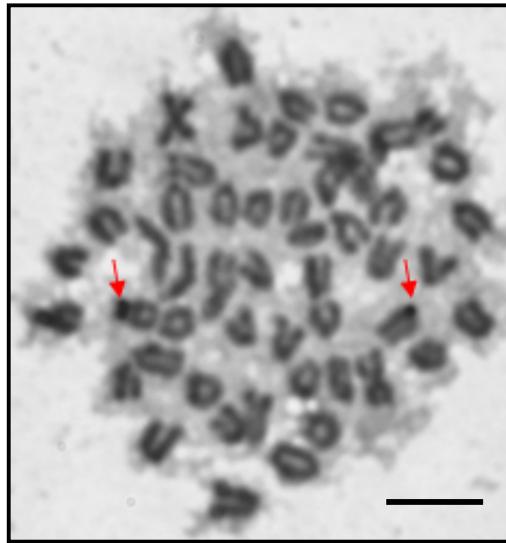


รูปที่ 3 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบ
ธรรมดา

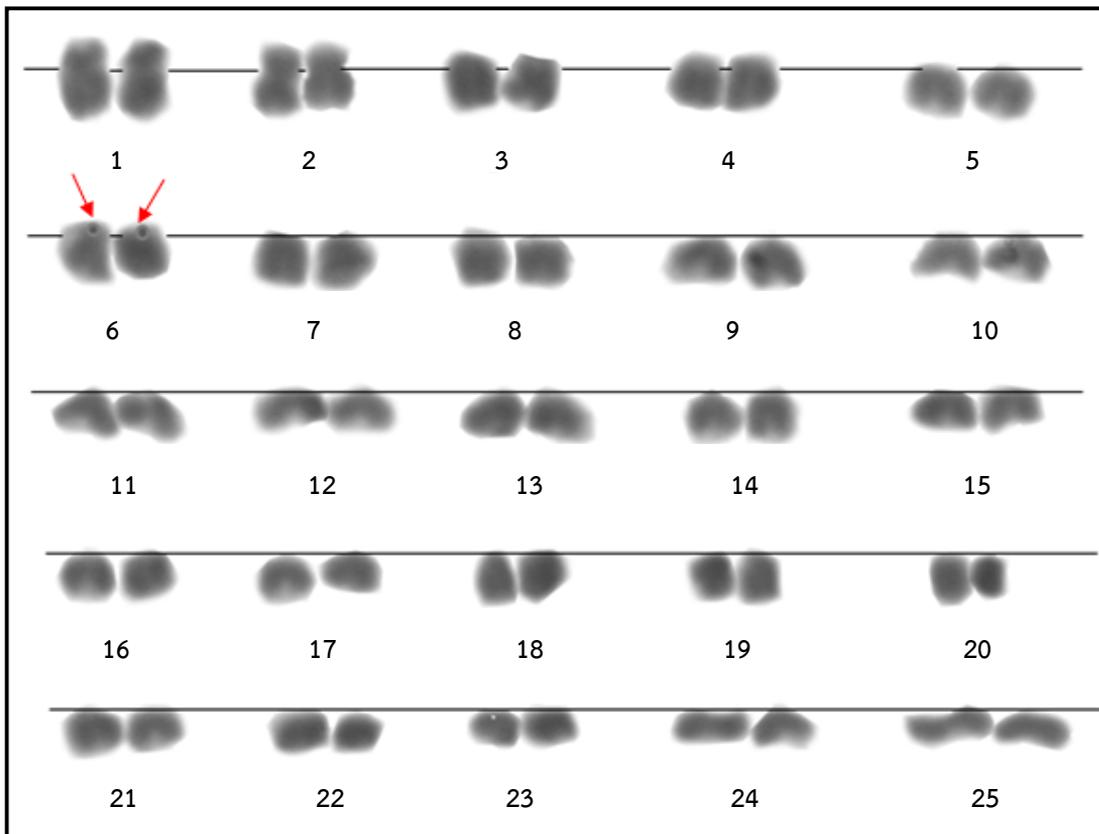
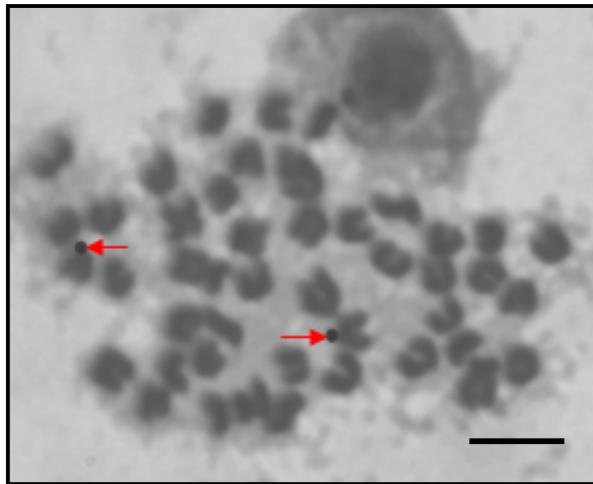
ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น, ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว, ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่, ค่า relative length (RL), ค่า centromeric index (CI), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของ RL และ CI จากเซลล์ระยะเมทาเฟสของเพศผู้และเพศเมีย เพศละ 10 เซลล์ ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*) 2n เท่ากับ 50 แท่ง

คู่ที่	Ls	Ll	LT	RL±SD	CI±SD	ขนาดโครโมโซม	ชนิดโครโมโซม
1	0.980	1.216	2.196	0.067±0.009	0.553±0.152	ใหญ่	เมทาเซนทริก
2	0.739	0.907	1.646	0.050±0.007	0.551±0.134	ใหญ่	เมทาเซนทริก
3	0.585	1.077	1.662	0.051±0.007	0.648±0.108	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
4	0.534	1.049	1.583	0.048±0.006	0.662±0.086	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
5	0.301	1.289	1.590	0.049±0.006	0.810±0.054	ใหญ่	อะโครเซนทริก
6*	0.241	1.162	1.403	0.043±0.006	0.828±0.038	กลาง	อะโครเซนทริก
7	0.000	1.479	1.479	0.045±0.006	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
8	0.000	1.397	1.397	0.043±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
9	0.000	1.365	1.3650	0.042±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
10	0.000	1.333	1.333	0.041±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
11	0.000	1.307	1.307	0.040±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
12	0.000	1.285	1.285	0.039±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
13	0.000	1.255	1.255	0.038±0.005	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
14	0.000	1.239	1.239	0.038±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
15	0.000	1.227	1.227	0.037±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
16	0.000	1.209	1.209	0.037±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
17	0.000	1.189	1.189	0.036±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
18	0.000	1.158	1.158	0.035±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
19	0.000	1.117	1.117	0.034±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนทริก
20	0.000	1.087	1.087	0.033±0.004	1.000±0.000	เล็ก	เทโลเซนทริก
21	0.000	1.056	1.056	0.032±0.003	1.000±0.000	เล็ก	เทโลเซนทริก
22	0.000	1.027	1.027	0.031±0.003	1.000±0.000	เล็ก	เทโลเซนทริก
23	0.000	0.955	0.955	0.029±0.002	1.000±0.000	เล็ก	เทโลเซนทริก
24	0.000	0.850	0.850	0.026±0.001	1.000±0.000	เล็ก	เทโลเซนทริก
25	0.000	0.807	0.807	0.024±0.009	1.000±0.152	เล็ก	เมโลเซนทริก

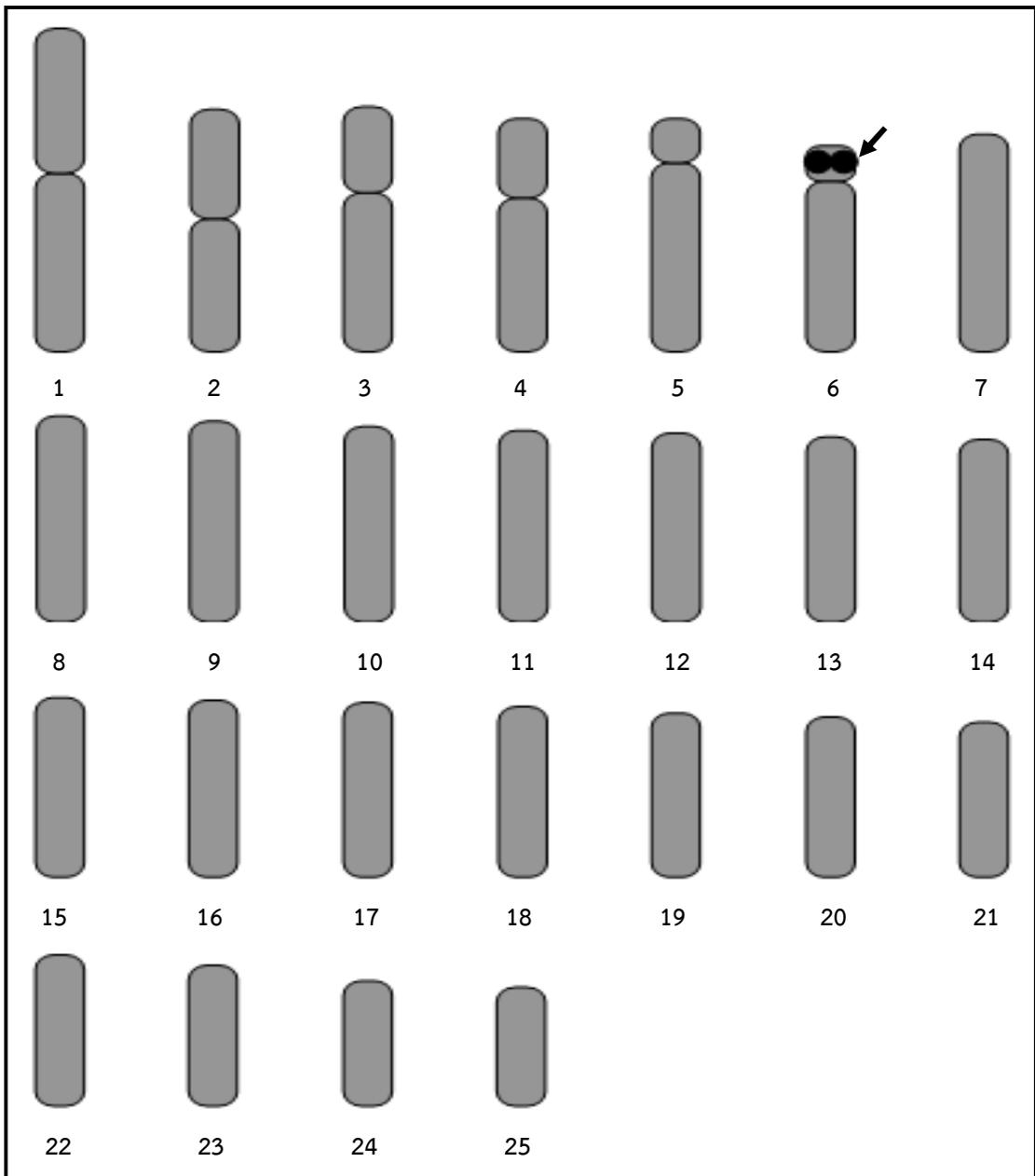
หมายเหตุ: * = โครโมโซมที่มีตำแหน่งของนอร์



รูปที่ 4 เซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) เพศผู้ ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบบอร์ สเกลบาร์ 10 ไมโครเมตร ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์



รูปที่ 5 เซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) เพศเมีย ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบนอร์ สเกลบาร์ 10 ไมโครเมตร ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์



รูปที่ 6 อิติโอแกรมมาตรฐานของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*, $2n = 50$) โดยวิธีการย้อมสีแถบสีแบบ นอร์ ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งนอร์

ตารางที่ 2 แสดงผลการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาในวงศ์ Cyprinidae

รายงานวิจัย	ชนิดปลา	2n	NF	ชนิดโครโมโซม			
				m	sm	a	t
จันทิมา (2542)	ปลาแก้มขี้ (Systemus orphoides)	50	82	12	20	14	4
	ปลาตะเพียนขาว (Barbodes gonionotus)	50	72	6	16	22	6
	ปลาตะพาก (Hypsibarbus wetmorel)	50	74	12	12	22	4
	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	50	54	2	2	44	2
เกรียงไกร (2550)	ปลากระسوبจุด (Hampala dispar)	50	84	3	3	8	11
	ปลาตะเพียนขาว (Barbodes gonionotus)	50	66	1	2	17	5
	ปลากาดำ (Moruliuschry sophekadian)	50	78	2	5	11	7
	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	48	56	1	0	20	3
ธวัชและวิเชียร (2551)	ปลาตะเพียนน้ำตก (Systemus binotatus)	50	88	12	7	6	0
	ปลาจาด (Polopuntius laoensis)	50	74	7	5	8	5
	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	50	54	1	1	22	1
	ปลากระไ้ (Catlocarpio siamensis)	98	150	9	17	10	13
	ปลาเวียน (Tor tambroides)	100	160	18	12	17	3
	ปลาอีสกทอง (Probarbus jullieni)	98	138	13	7	24	5
Ueda et al. (2001)	ปลา Tanakia koreensis	48	96	8	20	0	20
งานวิจัยครั้งนี้	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	50	62	4	4	4	38

หมายเหตุ: 2n = จำนวนดิพลอยด์โครโมโซม, NF = จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน หรือจำนวนแกนโครโมโซม, m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = ซับเมทาเซนทริก, a = อะโครโมเซนทริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

ตารางที่ 3 แสดงจำนวน และตำแหน่งของ Nucleolar organization regions (NOR) ของปลาตะเพียนทราย เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาในวงศ์ Cyprinidae

รายงานการวิจัย	ชนิดปลา	จำนวน (คู่)	ตำแหน่ง
จันทิมา (2542)	ปลาแก้มขี้ (Systemus orphoides)	1	เทโลเมียร์แขนสั้นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก
	ปลาตะเพียนขาว (Barbodes gonionotus)	2	เทโลเมียร์แขนสั้นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก และ อะโครเซนทริก
	ปลาตะพาก (Hypsibarbus wetmorel)	1	เทโลเมียร์แขนสั้นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก และอะโครเซนทริก
	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	1	เทโลเมียร์แขนสั้นโครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริก
งานวิจัยครั้งนี้	ปลาตะเพียนทราย (Puntius brevis)	1	เทโลเมียร์แขนสั้นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

วิจารณ์ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์คาริโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาในปลาวงศ์ Cyprinidae พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แห่ง สอดคล้องกับปลาแก้มซำ (*Systemus orphoides*) ปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) ปลาตะพาก (*Hypsibarbus wetmorei*) (จันทิมา, 2542) ปลากระสูบจุด (*Hampala dispar*) ปลากระแห (*Barbodes schwanenfeldi*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) ปลาเกตุ (*Morulus chrysophekadian*) (เกรียงไกร, 2550) ปลาตะเพียนน้ำตก (*Systemus binotatus*) ปลาจาด (*Poropuntius laoensis*) ปลาสร้อยลูกกล้วย (*Labiobarbus siamensis*) (ธวัชและวิเชียร, 2551) แต่มีความแตกต่างจากรายงานการศึกษาในปลากระโทง (*Catlocarpio siamensis*) ปลายี่สกทอง (*Probarbus jullieni*) (ธวัช และวิเชียร, 2551) ปลา *Rhodeus atremius* และปลา *Tanakia koreensis* (Ueda et al., 2001) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ยังพบว่ามี ความสอดคล้องกับการรายงานของ จันทิมา (2542) ธวัชและวิเชียร (2551) แต่มีความแตกต่างกับการ รายงานของเกรียงไกร (2550) ที่พบว่าปลาตะเพียน ทรายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แห่ง

จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน หรือจำนวนแขน ของโครโมโซมทั้งในเพศผู้และเพศเมียของปลาตะเพียน ทรายเท่ากับ 62 และคาริโอไทป์ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 4 แห่ง อะโครเซนทริก 4 แห่ง และเทโลเซนทริก 38 แห่ง ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาของปลาในวงศ์ Cyprinidae (ตารางที่ 2)

เป็นรายงานครั้งแรกของการย้อมสีโครโมโซม แลกสีแบบนอร์ (NOR-banding) ในปลาตะเพียนทราย

ซึ่งเทคนิคการย้อมแลบสีแบบนอร์นี้จะย้อมติดส่วนของ nucleolar organizer โดยเป็นเทคนิคที่ใช้ในการ ตรวจหา NOR ซึ่งเป็นบริเวณของโครโมโซมที่มียีนที่ เรียกว่า ribosomal gene (rDNA) จะอยู่บริเวณก้าน ของ satellite chromosome ซึ่ง NOR จะมีความผัน แปร (polymorphism) ได้ในโครโมโซมแห่งเดียวกัน ของมนุษย์ต่างบุคคลกัน จึงสามารถใช้เป็นโครโมโซม เครื่องหมายในการติดตามการถ่ายทอดบางลักษณะได้ การติดแลบสีแบบนอร์ 1 คู่ ทำให้บ่งบอกได้ว่าสิ่งมีชีวิต แต่ละชนิดมีวิวัฒนาการของยีน rDNA ที่แตกต่างกัน (อลงกลด, 2554) โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า มี ตำแหน่งของ NOR จำนวน 1 คู่ ที่แขนข้างสั้นของ โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน การศึกษาในปลาตะพาก (*H. wetmorei*) แต่แตกต่าง กับปลาแก้มซำ (*S. orphoides*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) และปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) (จันทิมา, 2542) (ตารางที่ 3)

จากการศึกษาในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาปลาตะเพียนทรายที่ได้จากแหล่งน้ำที่ แตกต่างกันจะพบความแตกต่างทั้งในด้านของจำนวน โครโมโซมดิพลอยด์ จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน และ ลักษณะคาริโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย ได้แก่ ปลา ตะเพียนทรายจากลุ่มน้ำเจ้าพระยาทางภาคกลาง มี $2n=50$ แห่ง (NF=54) มีสูตรคาริโอไทป์ $2m+2sm+44a+2t$ (จันทิมา, 2542) จากกว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา มี $2n=50$ แห่ง (NF=56) มีสูตรคาริโอ- ไทป์ $1m+20a+3t$ (เกรียงไกร, 2550) จากแม่น้ำ ลพบุรี จังหวัดลพบุรี มี $2n=50$ แห่ง (NF=78) มีสูตร คาริโอไทป์ $1m+1sm+22a+1t$ (ธวัชและวิเชียร, 2551) และจากจังหวัดขอนแก่นมี $2n=50$ แห่ง (NF=62) มีสูตรคาริโอไทป์ $4m+4sm+4a+38t$ (งานวิจัยครั้งนี้) นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่อยู่ในวงศ์ เดียวกันแต่ต่างสกุลกันสามารถมีลักษณะคาริโอไทป์ที่

แตกต่างกันได้ โดยปลาในวงศ์ Cyprinidae จะมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา โดยมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง $2n = 44$ ถึง 100 แห่ง โดยส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมเท่ากับ $2n = 50$ แห่ง และถือเป็นปลาพวกที่โบราณ (primitive stage) มากที่สุด (Arai, 1982) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าความแตกต่างของลักษณะคาริโอไทป์ที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากปลาที่นำมาทำการศึกษาเป็นปลาต่างกลุ่มประชากรกัน การเกิดวิวัฒนาการของโครโมโซม และเกณฑ์การจัดจำแนกชนิดของโครโมโซมที่ต่างกัน ดังนั้นคาริโอไทป์ที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความแตกต่างชนิดของปลาได้เป็นอย่างดี

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนทราย พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 62 มีสูตรคาร์ิโอไทป์ได้แก่ $4m+4sm+4a+38t$

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาประมง คณะวิทยาศาสตร์ ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขตหนองคาย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง และขอขอบพระคุณนางสาวกมลรัตน์ เชี่ยวชาญไทรระกุล ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และเอกสารประกอบสำหรับการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงไกร สีตะพันธุ์. (2550). คาร์ิโอไทป์ของปลา 6 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 749-758.
- กันยารัตน์ ไชยสุต. (2532). เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ชวลิต วิทยานนท์. (2547). คู่มือปลาน้ำจืด. สำนักพิมพ์สารคดีในนามบริษัทวิริยะธุรกิจ จำกัด กรุงเทพฯ.
- จันทิมา ปิยะพงษ์. (2542). คาร์ิโอไทป์และการกระจายของบริเวณนิวคลีโอลัสออกาโนเซอร์ของปลาตะเพียน 4 ชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 85 หน้า
- อวิช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. (2551). คาร์ิโอไทป์ของปลาตะเพียนน้ำตก ตะเพียนทราย จาก สร้อยลูกกล้วย กระโท่ เวียน และปลาอีศอกทองที่พบในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 24(2): 79-92.
- อลงกลด แทนอมทอง. (2554). พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 357-364.
- Arai, R. (1982). A chromosome study on two cyprinid fishes *Acrossocheilus labiatus* and *Pseudorasbora pumila* with note on Eurasian cyprinid and their karyotypes. Bulletin of the National Science Museum. Series A 8(3): 131-182.
- Ueda, T., Naoi. And Arai, R. (2001). Flexibility on the karyotype evolution in bilterlings (Pisces, Cyprinidae). Genetica. 111:423-432.

