



ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพ่อ แม่พันธุ์ปลาเลียหิน (*Garra cambodgiensis*)
เพื่อการฟื้นฟูประชากรในแม่น้ำคอน จ.น่าน

Genetic Variation of Broodstocks Stonelapping Minnow (*Garra cambodgiensis*) for Population Restoration in Kon River, Nan Province

ชาวลีลย์ ใจสุข^{1*} อมรชัย ล้อทองคำ¹ และพัชรา นิธิโรจน์ภักดี²

Received: March, 2017; Accepted: May, 2017

บทคัดย่อ

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมเป็นข้อมูลสำคัญที่จะเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานการอนุรักษ์และฟื้นฟูประชากรปลาท้องถิ่นในแหล่งน้ำธรรมชาติ การศึกษานี้จึงประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกลุ่มตัวอย่างพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเลียหินที่นำมาเพาะพันธุ์เพื่อปล่อยลูกพันธุ์สู่แหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณลำน้ำคอน (ลำน้ำสาขาของแม่น้ำน่านตอนบน) โดยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง ผลการศึกษาพบว่าเครื่องหมายทั้ง 5 ตำแหน่ง มีความหลากหลายรูปแบบ (Polymorphic) โดยพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ มีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (A) 10.4 และ 10.2 ค่า Allelic richness (A_r) 10.31 และ 9.96 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (H_o) 0.58 และ 0.67 และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคาดหมาย (H_e) 0.82 และ 0.83 ผลรวมที่เครื่องหมายทุกตำแหน่งกลุ่มตัวอย่างพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก สำหรับผลการวิเคราะห์ความต่างทางพันธุกรรมพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ มีค่าระยะทางพันธุกรรม 0.512 และมีค่าสัมประสิทธิ์เอฟ F_{ST} 0.0621 (95 % CI 0.039 - 0.091) ผลการประเมินจำนวน Effective Population Size (N_e) ทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่างมี N_e ไม่จำกัด ผลจากการศึกษานี้แสดงถึงประชากรปลาเลียหินในลำน้ำคอนมีความเหมาะสมต่อการนำมาเพาะพันธุ์เพื่อการฟื้นฟูประชากรธรรมชาติในพื้นที่ศึกษา

คำสำคัญ : แม่น้ำคอน; ปลาเลียหิน; ความแปรปรวนทางพันธุกรรม

¹ Faculty of Sciences and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna

² Faculty of Agro-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chantaburi Campus

* Corresponding Author E - mail Address: chaowalee2009@hotmail.com

Abstract

The genetic variation is the important data for restoration and conservation of local fish population. This study evaluated the genetic variation of *Garra cambodgiensis* broodstocks in Kon River, the tributary of upper Nan River. The finding showed that all of the five microsatellite loci were polymorphic. The genetic variation within male and female populations were not different, the average number of allele per locus (A) 10.4, 10.2, allelic richness (A_r) 10.31, 9.96, observed heterozygosity (H_o) 0.58, 0.67 and expected heterozygosity (H_e) 0.82, 0.83 for male and female respectively. At all loci both populations were in Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic differentiation between male and female, the genetic distance = 0.512 and F_{ST} = 0.0621 respectively (95 % CI 0.039 - 0.091). Moreover, the effective population size (N_e) in both samples were infinite. Based on the results of this study, the broodstock are suitable for breeding plan and population restoration in Kon River.

Keywords: Kon River; *Garra cambodgiensis*; Genetic Variation

บทนำ

การศึกษานี้ให้ความสำคัญต่อการอนุรักษ์และพันธุกรรมของปลาท้องถิ่น เนื่องจากปัจจุบันปลาท้องถิ่นมีจำนวนลดลงอย่างมากและบางชนิดได้หายไปจากแหล่งน้ำธรรมชาติ อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัยทั้งที่เกิดจากมนุษย์ เช่น การจับปลามากเกินกำลังผลิตทดแทน การนิยมบริโภคปลาในฤดูผสมพันธุ์วางไข่ การจัดการทรัพยากรแหล่งน้ำที่อาจยังไม่เหมาะสม และผลจากภัยธรรมชาติที่เกิดน้ำท่วมไหลหลากเกิดการพัดพาปลาไปยังแหล่งที่อยู่ที่ไม่เหมาะต่อการอยู่อาศัย จากการดำเนินงานวิจัยในพื้นที่ลุ่มแม่น้ำน่านตอนบนมาเป็นเวลามากกว่า 3 ปี (2554 - 2557) ทำให้ได้ข้อมูลและทราบสถานการณ์ที่เกิดขึ้นในชุมชนปัจจุบันทั้งชุมชนและหน่วยงานของรัฐมีแนวทางการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรปลาท้องถิ่นโดยการปล่อยลูกพันธุ์ปลาที่ได้จากการเพาะพันธุ์ลงสู่แหล่งน้ำ ทั้งนี้การฟื้นฟูประชากรโดยการปล่อยลูกพันธุ์ลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติควรคำนึงถึงการไม่ทำลายความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลาท้องถิ่นจากการแลกเปลี่ยนข้อมูลกับชุมชนถึงความหลากหลายทางชีวภาพของปลาท้องถิ่นและเกิดความร่วมมือในการเพาะพันธุ์ปลาท้องถิ่นเพื่อปล่อยคืนแหล่งน้ำ ปลาเลียหิน (*Garra cambodgiensis*) ชื่อท้องถิ่นคือปลาแมน เป็นปลาท้องถิ่นชนิดที่ชุมชนให้ความสนใจเพาะพันธุ์แล้วปล่อยคืนธรรมชาติ เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติอร่อยโดยเฉพาะช่วงผสมพันธุ์วางไข่ปลาเลียหินมีราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 500 บาท และมีความต้องการซื้อของคนในชุมชนค่อนข้างมาก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลให้ปลาชนิดนี้มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนั้นปลาเลียหินมีความสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำเนื่องจากเป็นปลาที่จะพบได้ในแหล่งน้ำสะอาดและมีอาหารสมบูรณ์ บริเวณที่มีปลาเลียหินอาศัยอยู่จะมีปลาชนิดอื่น ๆ อาศัยอยู่ชุกชุม

การศึกษานี้จึงทำการศึกษาเพื่อทราบถึงระดับความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปลาเลียหิน โดยเฉพาะพ่อ แม่พันธุ์ที่ใช้ในการดำเนินการเพาะพันธุ์เพื่อปล่อยลูกพันธุ์คืนธรรมชาติในบริเวณลำน้ำกอน (ลำน้ำสาขาของแม่น้ำน่าน) โดยศึกษาจากเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่มีความหลากหลายสูงสามารถใช้ศึกษาประชากรที่มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยได้ดี [1] เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในการดำเนินงานเพาะพันธุ์ปลาเลียหินและปล่อยลูกพันธุ์คืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อเพิ่มจำนวนปลาในลำน้ำกอน ซึ่งเป็นกิจกรรมที่ช่วยสร้างจิตสำนึกให้กับเยาวชน เกิดเครือข่ายความร่วมมือในการอนุรักษ์ปลาท้องถิ่นในระดับชุมชนและหน่วยงานของรัฐ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดคือการคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพของปลาท้องถิ่น

วิธีดำเนินการ

1. รวบรวมตัวอย่างพ่อและแม่พันธุ์ปลาเลียหิน (*G. cambodgiensis*) อย่างละ 48 ตัวอย่าง ในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่จากบริเวณลำน้ำกอน อ.เชียงกลาง จ.น่าน (รูปที่ 1) ตัดครีบหางขนาด 0.5 เซนติเมตร แล้วปล่อยปลาคืนแหล่งน้ำ สำหรับตัวอย่างครีบปลาเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 95 % ก่อนนำมาสกัดดีเอ็นเอ
2. ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปลาเลียหิน โดยตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไมโครแซทเทลไลท์ ไพรมอร์ 5 ตำแหน่ง (ตารางที่ 1) รายละเอียดดังนี้
 - 2.1 สกัดดีเอ็นเอครีบโดยวิธี Salt Extraction [2]
 - 2.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสที่ไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง ได้แก่ GC203 และ GC187 [3] และ Gar3 Gar6 และ Gar13 [4]
 - 2.3 ตรวจสอบดีเอ็นเอผ่าน 6% denaturing polyacrylamide gel ด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิสแนวตั้ง (SCIE-PLAS SEQ3341, United Kingdom) ย้อมดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Silver Staining (Promega, USA) อ่านขนาดอัลลีล (Base Pair, bp) โดยเทียบมาตรฐานของลำดับเบส pGEM - 3Zf (+) Vector (Promega, USA)
 - 2.4 วิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร จากจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (Number of Alleles Per Locus) ค่าเฮเทอโรไซโกซิตี (Heterozygosity) และค่าระยะทางทางพันธุกรรม (Genetic Distance) โปรแกรม GenAlEx version 6.1 [5] ค่า Allelic Richness โดยโปรแกรม FSTAT version 2.9.3 [6] ทดสอบการอยู่ในสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์ก โดยการประเมินค่า exact p - value ด้วยวิธี markov chain โดยโปรแกรม GENEPOP version 4 [7] ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F - Coefficients) โดยโปรแกรม FSTAT version 2.9.3 [6] และประเมินค่า Effective Population Size (Ne) โดยโปรแกรม NeEstimator version 2.01 [8]

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลต์ 5 ตำแหน่ง และ Annealing Temperature (T_a °C)

ตำแหน่ง	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ (5' → 3')	T_a (°C)
GC203	F : GTTCTCCAGGTGTGGATTCTC R : AACATACACTCACAGTTTGGCCT	54
GC187	F : GTGGACTACCTGCTGAGAAACC R : GCGTGGACTAACTTTGCTTTTAG	54
Gar3	F : ATTACTGATGCTCCCG R : GTTGCTGCTCTTGCTCC	54
Gar6	F : GCTTTACCTCCATCGC R : GTCACCTCCACCAACCC	54
Gar13	F : ACTCACGCAGACTCGC R : GACTACAGAAATAGGGTT	54



(ก) ปลาเลียหิน (*Garra cambodgiensis*)

(ข) จุดรวบรวมตัวอย่าง

รูปที่ 1 ปลาเลียหิน (*Garra cambodgiensis*) และจุดรวบรวมตัวอย่าง

ผลการวิจัย

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเลียหินในธรรมชาติบริเวณลำน้ำกอน อ.เชียงกลาง จ.น่าน จากเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 5 ตำแหน่ง พบว่าเครื่องหมายทั้ง 5 ตำแหน่ง มีสภาวะหลากหลายรูปแบบในกลุ่มตัวอย่าง สำหรับความหลากหลายภายในกลุ่มตัวอย่างพบมีค่าเฉลี่ยที่ทุกตำแหน่ง ดังนี้ พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์มีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง 10.4 และ 10.2 ค่า Allelic richness (A_r) 10.31 และ 9.96 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (H_o) 0.58 และ 0.67 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคาดการณ์ (H_e) 0.82 และ 0.83 ผลทดสอบการอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก พบว่ากลุ่มตัวอย่าง พ่อพันธุ์ไม่อยู่ในสมดุลที่ตำแหน่ง Gar3 Gar6 และ Gar13 ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างแม่พันธุ์ไม่อยู่ในสมดุลที่ตำแหน่ง GC187 และ Gar13 โดยการเบี่ยงจากสมดุลเป็นไปในทิศทางที่มี H_e มากกว่า H_o ซึ่งผลรวมที่ทุกตำแหน่งพบว่ากลุ่มตัวอย่างทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์อยู่ในสมดุล และไม่มี Null allele ในทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง

(ตารางที่ 2) ผลการประเมิน Effective Population size (N_e) จากกลุ่มตัวอย่างพบว่า N_e ในประชากรแม่น้ำก่อนมีไม่จำกัด สำหรับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ พบค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic Distance) 0.512 และมีค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F -coefficient) F_{ST} มีค่าเท่ากับ 0.0621 ที่ 95 % ช่วงความเชื่อมั่น 0.039 - 0.091 ซึ่งแสดงถึงพ่อแม่พันธุ์ปลาเลียหินมีความต่างทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์ 5 ตำแหน่ง ในกลุ่มตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ปลาเลียหิน ดัชนีแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนตัวอย่าง (N) จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (A), Allelic richness (A_r) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (H_o) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคาดหมาย (H_e) ค่า Fixation index (F_{is}) และค่า p-value (P)

เพศ	ตำแหน่ง	N	A	A_r	H_o	H_e	F_{is}	P
M	GC187	44	9	8.932	0.636	0.713	0.107	0.054
	Gar3	43	10	10.00	0.535	0.86	0.378	0.000*
	Gar6	46	14	13.735	0.587	0.861	0.318	0.000*
	Gar13	47	11	10.914	0.447	0.832	0.463	0.000*
	GC203	46	8	8.00	0.674	0.827	0.185	0.015
	All loci	45.2	10.4	10.31	0.58	0.82	0.29	0.014
F	GC187	44	10	10.00	0.659	0.877	0.249	0.002*
	Gar3	45	11	10.95	0.778	0.828	0.061	0.253
	Gar6	48	13	12.895	0.771	0.897	0.14	0.029
	Gar13	46	10	9.931	0.37	0.827	0.553	0.000*
	GC203	48	7	7.00	0.792	0.745	-0.063	0.367
	All loci	46.2	10.2	9.96	0.67	0.83	0.19	0.130

หมายเหตุ : M คือ พ่อพันธุ์ (Male)

F คือ แม่พันธุ์ (Female)

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $P < 0.005$ หลังจากที่มีการปรับระดับความน่าจะเป็น (p-value) ด้วย Bonferroni correction: 0.05/10

อภิปรายผล

ระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเลียหินในบริเวณลำน้ำก่อน มีค่าที่ค่อนข้างสูง โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง 10.4 และ 10.2 ค่า A_r 10.31 และ 9.96 ค่า H_o 0.58 และ 0.67 ค่า H_e 0.82 และ 0.83 เมื่อเทียบกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาเลียหิน

(*G. cambodgiensis*) บริเวณลำห้วยกะทะ ซึ่งเป็นลำห้วยในพื้นที่ อ.บ่อเกลือ จ.น่าน จากไมโครแซทเทลไลท์ 3 ตำแหน่ง พบปลาที่มีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง 4-7 อัลลีล ค่า H_o 0.750-0.867 ค่า H_e 0.715-0.827 [3] นอกจากนี้ระดับความหลากหลายที่พบในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับและปลาสกุล *Garra* อื่น ๆ เช่น ปลา *Garra orientalis* ในแม่น้ำ Wanquan, Hainan Island, ประเทศจีน จากไมโครแซทเทลไลท์ 14 ตำแหน่ง พบมีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง 8-25 อัลลีล ค่า H_o 0.5652-1.0000 ค่า H_e 0.7179-0.9585 [4] และ ปลา *Garra rufa* ในจังหวัด Kermanshah และ Bushehr ประเทศอิหร่าน จากไมโครแซทเทลไลท์ 6 ตำแหน่ง พบปลาที่มีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง 6-14 อัลลีล ค่า H_o 0.529 และค่า H_e 0.826 [9]

ดังนั้นจากผลการศึกษาที่พบว่ากลุ่มตัวอย่างพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเลียหินในบริเวณลำน้ำกอน ความหลากหลายทางพันธุกรรมและอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก แสดงถึงความเหมาะสมต่อการนำมาทำการเพาะพันธุ์ เพื่อปล่อยลูกพันธุ์คืนสู่ธรรมชาติตามแนวทางการฟื้นฟูประชากรในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งแนวทางการฟื้นฟูประชากรโดยการเพาะพันธุ์และปล่อยลูกพันธุ์คืนสู่ธรรมชาติมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องตระหนักถึงความเหมาะสมที่จะไม่ทำลายความหลากหลายทางพันธุกรรมหรือโครงสร้างประชากรของประชากรในธรรมชาติ ซึ่งการเพาะพันธุ์เพื่อการปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ปลาที่จะปล่อยต้องมีพันธุกรรม คล้ายคลึงกับประชากรธรรมชาติมากที่สุด เพื่อไม่ให้แหล่งพันธุกรรมตามธรรมชาติเปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดการผสมพันธุ์กับประชากรใหม่ และเพื่อความอยู่รอดได้ดีในสภาพธรรมชาติซึ่งมีความแปรปรวนสูง จากแนวทางข้างต้นแสดงถึงข้อควรระวังในการนำปลาธรรมชาติที่มีความต่างทางพันธุกรรมไปปล่อยลงสู่ธรรมชาติในต่างกลุ่มประชากรอาจมีผลต่อการทำลายโครงสร้างประชากรในธรรมชาติได้ [10] นอกจากนี้การคัดเลือกพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อนำมาทำการเพาะพันธุ์เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่จะส่งผลต่อการลดความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งหากไม่มีการบริหารจัดการพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่ดีพันธุกรรมจะเสื่อมลง ในปลารุ่นถัดไป [11] ดังที่พบได้จากประเมินความหลากหลายและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร ปลาตะเพียนขาวและปลาสวายขาวในลำน้ำมูลระยะก่อนและหลังการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำ พบว่าการปล่อยพันธุ์ปลามีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะและโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลาสวายขาว โดยผลกลุ่มตัวอย่างปลาตะเพียนขาวการเปลี่ยนแปลงพบได้เล็กน้อยในความถี่ยีนในเครื่องหมายตำแหน่ง ที่ศึกษาจนถึงมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรธรรมชาติ ในขณะที่ปลาสวายขาวพบการปล่อยพันธุ์ปลามีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการดำเนินงานวางแผนเพาะพันธุ์ปลาตะเพียนขาวมีข้อมูลพันธุ์ประวัติช่วยในการจัดการพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ มากกว่าปลาสวายขาว [12] ดังนั้นสำหรับการศึกษาที่นอกจากผลการศึกษาที่ทราบถึงระดับความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปลาเลียหินเพื่อประโยชน์ต่อการจัดการพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์เพื่อการอนุรักษ์และฟื้นฟูประชากรในลำน้ำกอนแล้วยังมีความจำเป็นที่ควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงโครงสร้างพันธุกรรมปลาเลียหินและปลาอื่น ๆ ให้ครอบคลุมระบบกลุ่มแม่น้ำน่าน เพื่อการคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์และนำมาใช้ประโยชน์ได้ดียิ่งขึ้น

สรุปผลการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเลียหินในลำน้ำก่อนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูง กลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม อยู่ในสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์ก และมีค่า Effective Population Size ที่ไม่จำกัดแสดงถึงความเหมาะสมของการเป็นแหล่งพันธุกรรมที่ดีในการนำมาเพาะพันธุ์ในโรงเพาะฟักเพื่อปล่อยลูกพันธุ์คืนสู่แหล่งน้ำในพื้นที่ลำน้ำก่อน ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าข้อมูลระดับความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปลาเลียหินที่ทราบจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่อการจัดการพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์เพื่อการอนุรักษ์และฟื้นฟูประชากรในลำน้ำก่อน นอกจากนี้ยังมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงโครงสร้างพันธุกรรมปลาเลียหินในลำน้ำสาขาให้ครอบคลุมระบบลุ่มน้ำน่านตอนบน และนอกจากนั้นควรจะมีการศึกษาระดับพันธุกรรมของปลาท้องถิ่นชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เพื่อสร้างฐานข้อมูลพันธุกรรมที่จะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์และวางแผนเพาะพันธุ์เพื่อการฟื้นฟูประชากรปลาท้องถิ่น โดยคำนึงถึงความเหมาะสมตามหลักการทางพันธุกรรม ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการอนุรักษ์ประชากรธรรมชาติทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และขอขอบคุณเครื่องมือเพื่อการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

References

- [1] Chistiakov, D.A., Hellemans, B, and Volckaert, A. M. (2006). Microsatellites and Their Genomic Distribution, Evolution, Function and Applications: A Review with Special Reference to Fish Genetics. *Aquaculture*. Vol. 255. Issues 1-4. pp. 1-29
- [2] Salah M. Aljanabi and Iciar Martinez. (1997). Universal and Rapid Salt-Extraction of High Quality Genomic DNA for PCR-Based Techniques. *Nucleic Acids Research*. Vol. 25. No. 22. pp. 4692-4693
- [3] Jaisuk, C., Lothongkum, A., Keereelang, J. and Sriyam, S. (2014). Development of Microsatellite Primers for Genetic Diversity Assessment of Local Fishes in Nan River. *Rajabhat Journal of Science, Humanities and Social Sciences*. Vol. 15. No. 2. pp. 12-22 (in Thai)
- [4] Su L.W., Liu Z.Z., Wang C.T., Zeng Z., Liu A.Y., Tang W.Q., Yang J.Q. (2013). Isolation and Characterization of Polymorphic Microsatellite Markers in the Fish *Garra orientalis* (oriental sucking barb). *Conservation Genetic Resource*. Vol. 5. pp. 231-233

- [5] Peakall, R. and Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 6. Issue 1. pp. 288-295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- [6] Goudet, J. (2001). FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (version 2.9.3). (Computer Software). Switzerland: University of Lausanne.
- [7] Rousset, F. (2008). GENEPOP'007: A Complete Reimplementation of the GENEPOP Software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*. Vol. 8. pp. 103-106. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x
- [8] Do, C., Waples, R.S., Peel, D., Macbeth, G.M., Tillett, B.J. and Ovenden, J.R. (2014). NeEstimator V2: Re-Implementation of Software for the Estimation of Contemporary Effective Population Size (N_e) from Genetic Data. *Molecular Ecology Resources*. Vol. 14. Issue 1. pp. 209-214. DOI: 10.1111/1755-0998.12157
- [9] Shabani, A., Askari, G. and Moradi, A. (2013). Genetic Variation of *Garra rufa* fish in Kermanshah and Bushehr Provinces, Iran, Using SSR Microsatellite Markers. *Molecular Biology Research Communications*. Vol. 2. No. 3. pp. 81-88
- [10] Na-Nakorn, U. (2000). *Genetics of Aquatic Animals*. 2nd ed. Bangkok: Kasetsart University Publisher. (in Thai)
- [11] Sodsuk, K. P., Praipanapong, S., Sainin, N., Sodsuk, S. and Pewnain, P. (2012). Microsatellite-Based Analysis of Genetic Variation in Hatchery Populations of Asian seabass, *Lates Calcarifer* (BLOCH, 1790). *Thai Journal of Genetics*. Vol. 5. No. 2. pp. 166-182 (in Thai)
- [12] Kamonrat, W. (255). Genetic Diversity of *Barbonymus Gonionotus* and *Henicorhynchus Siamensis* Populations in the Lower Mun River After Restocking Programme: A Case Study in Pak-Mun Dam. *Thai Fisheries Gazette*. Vol. 61. No. 6. pp. 493-497 (in Thai)