แคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822))

Karyotypes of the Rohu (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822))

จิราภรณ์ มาศพันธ์[1] อริสา ปราณปราชญ์[1] เขมิกา ศรีเบ็ญจา[2] และ นันทพร เกตุเลขา[1*]

Jirapron Martpan[1], Arisa Pranprat[1], Kamika Sribenja[2] and Nuntaporn Getlekha[1*]

[1] สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง

[2] สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[1] Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajabhat University

[2] Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University

*Corresponding author. E-mail: nanthaphonket@mcru.ac.th

(Received: 7 February 2023; Revised: 15 March 2023; Accepted: 30 March 2023)

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822)) ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 6 ตัว เตรียมโครโมโซมด้วยวิธีตรงจากไต ทำการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาโดยใช้สีจิมซ่า 20% ผลการศึกษาพบว่าปลายี่สกเทศ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 76 แคริโอไทป์ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 10 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 14 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แท่ง ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมในปลาทั้งสองเพศ ข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์นี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์พันธุกรรมและข้อมูลสนับสนุนความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการต่อไป

ปลายี่สกเทศมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้ 2n (50) = L^{m}_{6}+L^{sm}_{8}+ L^{a}_{10}+ M^{a}_{2}+M^{t}_{14}+S^{t}_{10}

คำสำคัญ: ปลายี่สกเทศ; โครโมโซม; แคริโอไทป์; อิดิโอแกรม

Abstract

This research aimed to examine standard karyotype and idiogram of the Rohu (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822)). The six male and female fish samples were used. Chromosomes were prepared directly from kidney tissue and then stained with the

conventional dyeing technique (20% Giemsa's stain). The result showed that a diploid chromosome number of *L. rohita* was 2n=50 and the fundamental number (NF) was 76. Karyotypes consist of 6 large metacentric, 8 large submetacentric, 10 large acrocentric, 2 medium acrocentric, 14 medium telocentric and 10 small telocentric chromosomes, respectively. The differences of chromosomes were not found in both sex. In addition, these cytogenetic data could be used for a basic information the conservation of genetic resources and evolutionary relationship of fishes in the further.

The karyotype formula of *L. rohita* is 2n (50) = L^{m}_{6}+L^{sm}_{8}+ L^{a}_{10}+ M^{a}_{2}+M^{t}_{14}+S^{t}_{10}

Keywords: *Labeo rohita*, Chromosome, Karyotype, Idiogram

บทนำ

ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822)) เป็นปลาเกล็ดขนาดใหญ่ชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชียใต้ เกล็ดบนลำตัวและครีบต่าง ๆ มีสีชมพูอมม่วง นิยมเลี้ยงเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารในท้องถิ่น กินอาหารได้ง่ายและโตเร็ว โดยจะกินพืชและสัตว์หน้าดินต่าง ๆ เป็นอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่ทนต่อการเคลื่อนย้าย ลูกพันธุ์ราคาถูก ประเทศไทยนำปลาชนิดนี้เข้ามาเพื่อใช้เป็นปลาเศรษฐกิจ ต่อมาได้ทำการผสมเทียมและปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหลายแห่ง ปลายี่สกเทศเป็นกลุ่มปลาที่ยังไม่มีรายงานว่าสามารถขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย แต่ทั้งภาครัฐและเอกชนยังคงมีการปล่อยปลาชนิดนี้ลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติกันอยู่เรื่อย ๆ (นณณ์ ผาณิตวงศ์, 2563)

ในการศึกษาโครโมโซมมีหลักการที่ว่า สิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีจำนวน ขนาด และรูปร่างของโครโมโซมที่แตกต่างกัน การจัดทำแคริโอไทป์เป็นหนึ่งในวิธีการศึกษาโครโมโซม โดยจะจัดเรียงโครโมโซมให้เป็นหมวดหมู่ ช่วยให้ศึกษารายละเอียดได้ง่ายขึ้น เช่น จำนวนโครโมโซม การจับคู่โครโมโซมคู่เหมือน รูปร่างของโครโมโซม ฯลฯ ประโยชน์ของการศึกษาแคริโอไทป์ คือ ช่วยในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต โดยโครโมโซมเป็นที่อยู่ของยีนซึ่งกำหนดลักษณะทางพันธุกรรม สามารถใช้ในการทำแผนที่ยีน รวมถึงการศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมต่อไป (อุทัยรัตน์ ณ นคร (2543); อมรา คัมภิรานนท์ (2546); อลงกลด แทนออมทอง (2554))

จากการตรวจสอบพบว่า มีรายงานการศึกษาแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศอยู่เพียง 2 รายงาน คือ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536) และ Getlekha et al. (2022) ซึ่งทำการศึกษาเพียงแคริโอไทป์ แต่ไม่ได้มีการจัดทำอิดิโอแกรม สูตร แคริโอไทป์ และตารางวัดค่าความยาวต่าง ๆ ของโครโมโซม การศึกษาครั้งนี้จะเป็นการศึกษาแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลายี่สกเทศ โดยข้อมูลที่ได้

สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนทางด้านอนุกรมวิธาน การระบุชนิด การจัดจำแนก ลักษณะทางพันธุกรรม การปรับปรุงพันธุ์ และการศึกษาวิวัฒนาการกับปลาชนิดอื่น นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีววิทยา เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการขยายพันธุ์ปลาชนิดนี้ในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

ปลายี่สกเทศ (ภาพที่ 1) ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เก็บรวบรวมได้จากร้านจำหน่ายปลาตู้ ตลาดปลาสวยงาม อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี ใส่ตัวอย่างลงในถุงพลาสติกที่มีการอัดแก๊สออกซิเจนลงจนเต็มถุง มัดถุงให้แน่นด้วยยาง นำกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ 946 อาคารศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง เพื่อจำแนกชนิดปลาตามหลักอนุกรมวิธานของ Nelson (2006) โดยใช้เอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Vidthayanon (2008) ภาสกร แสนจันทร์แดง (2557) และ นณณ์ ผาณิตวงศ์ (2563)

ภาพที่ 1 สัณฐานวิทยาภายนอกของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita* (Hamiton, 1822))

2. การเตรียมโครโมโซม

เตรียมโครโมโซมด้วยวิธีตรง ดัดแปลงจากวิธีการของ Sumner (1990) โดยนำปลายี่สกเทศจำนวน 6 ตัว มาฉีดสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.02% (1 มิลลิลิตร/100 กรัม น้ำหนักตัว) เข้าบริเวณช่องท้องของปลา ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ในน้ำที่ให้ออกซิเจนตลอดเวลา ทำการผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อไตไปแช่ในสารละลายไฮโปโทนิค (0.075 M KCl) ใช้กรรไกรสับให้ละเอียด ย้ายตะกอนเซลล์ที่สับละเอียดแล้วบ่มในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายไฮโปโทนิคเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาผ่านการตรึงเซลล์ขั้นแรก (prefixation) โดยค่อย ๆ หยดน้ำยาตรึงเซลล์ (fixative) เมทานอล : กรดอะซิติกเข้มข้น อัตราส่วน 3 : 1 ที่เย็นจัด ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงช้า ๆ พร้อมกับเขย่าหลอดจนได้ปริมาตรในหลอด 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง (supernatance) ทำการตรึงเซลล์อีกครั้ง โดยค่อย ๆ หยดน้ำยาตรึงเซลล์ ที่เย็นลงในหลอดปั่นเหวี่ยงช้า ๆ เขย่าให้ตะกอนเซลล์และน้ำยาตรึงเซลล์ให้ผสมกัน เติมน้ำยาตรึงเซลล์จนได้ปริมาตร ใน

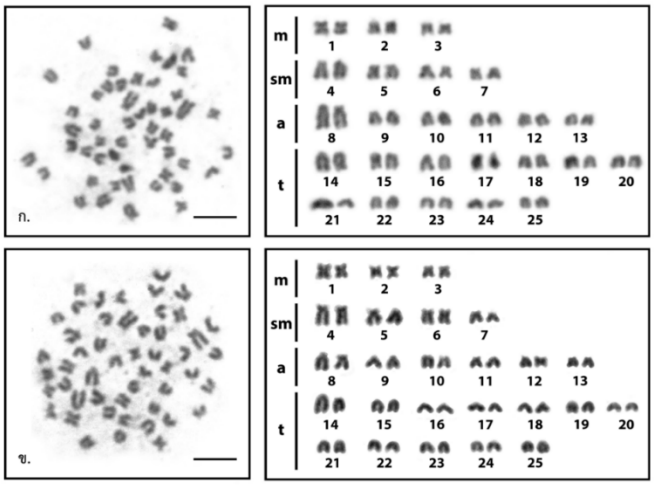
หลอดเป็น 7 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง ทำซ้ำจนได้ตะกอนเซลล์สีขาวขุ่น ดูดน้ำยาตรึงเซลล์ทิ้งให้เหลือไว้ประมาณ 3-4 มิลลิลิตร เขย่าตะกอนเซลล์กับสารละลายที่เหลือให้เข้ากัน ดูดตะกอนเซลล์ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์ที่แห้งและสะอาด ซึ่งวางอยู่บนเครื่องให้ความร้อนอุณหภูมิ 80 °C จำนวน 2 หยดต่อสไลด์ 1 แผ่น ทิ้งสไลด์ให้แห้งแล้วนำไปย้อมด้วยสารละลายสีจิมซ่า 20% จากนั้นตรวจสอบสไลด์และถ่ายภาพ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้งอุปกรณ์ถ่ายภาพ ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

3. จัดทำแคริโอไทป์และอิดิโอแกรม

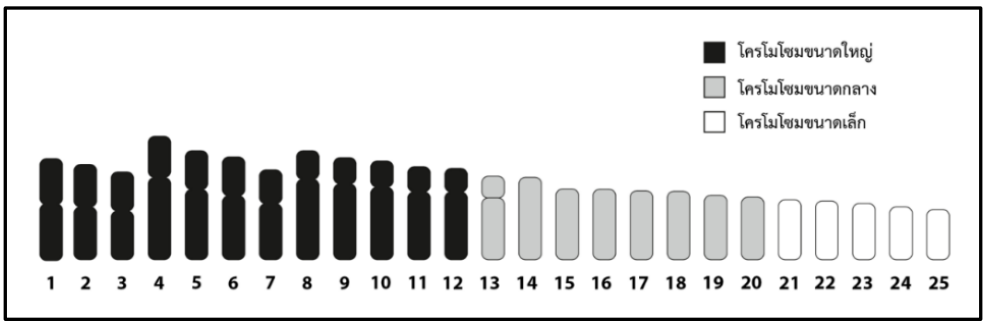
การจัดทำแคริโอไทป์ (karyotype) และอิดิโอแกรม (idiogram) ดัดแปลงจากวิธีการของกันยารัตน์ ไชยสุต (2532) โดยเลือกภาพถ่ายโครโมโซมระยะเมทาเฟส ที่กระจายตัวดีไม่หดสั้นเกินไป มีจำนวนโครโมโซมครบ และสังเกตรูปร่างได้ชัดเจน วัดความยาวของโครโมโซมจากปลาเพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 เซลล์ ได้แก่ ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (short arm; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (long arm; Ll) นำค่า Ls และ Ll มาคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (total length; LT = Ls+Ll) คำนวณหาค่า relative length (RL) โดยคำนวณจากสูตร LT/∑LT และคำนวณหาค่า centromeric index (CI) จากสูตร Ll/LT จากนั้นนำค่า CI มาใช้กำหนดชนิดของโครโมโซม ดังนี้ โครโมโซมที่มีค่า CI อยู่ระหว่าง 0.500-0.599 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.600-0.699 จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทา- เซนทริก ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.700-0.899 จัดเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และ ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.900-1.00 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก แล้วจัดขนาดของโครโมโซม โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซมคู่ที่เล็กที่สุดเป็นคู่สุดท้าย แบ่งออกเป็น 3 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่มีขนาดความยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของผลบวกความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่ที่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด L > 1/2(LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย) โครโมโซมขนาดกลาง (Medium) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่มีขนาดความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของผลบวกความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่ที่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กที่สุด M < 1/2(LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย) โครโมโซมขนาดเล็ก (Small) ได้แก่ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด S < 1/2(LT เฉลี่ยคู่ที่ 1) แล้วสรุปสูตรแคริโอไทป์ของปลายี่สก จากนั้นนำค่าความยาวเฉลี่ยที่วัดได้มาใช้ในการจัดทำอิดิโอแกรมมาตรฐานโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป เพื่อจำแนกรูปร่างและขนาดของโครโมโซม

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การศึกษาแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) พบว่าปลายี่สกเทศ มีโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แท่ง เป็นโครโมโซมที่มีสองแขน (bi-arm) จำนวน 26 แท่ง และโครโมโซมที่มีแขนเดียว (mono-arm) จำนวน 24 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 76 แคริโอไทป์จัดเป็นแบบอะซิมเมตริก (asymmetrical karyotype) ประกอบด้วยโครโมโซมทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก อะโครเซนทริก และเทโลเซนทริก (ภาพที่ 2) สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ ได้ดังนี้ 2n (50) = L^{m}_{6}+L^{sm}_{8}+ L^{a}_{10}+ M^{a}_{2}+M^{t}_{14}+S^{t}_{10}



ภาพที่ 2 ภาพเมทาเฟสและแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita,* 2n=50) ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ตามลำดับสเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร



ภาพที่ 3 อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*, 2n=50) ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ในหน่วยไมโครเมตร ค่า centromeric index (CI) ค่า relative length (RL) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard devation, SD) ของ CI กับ RL ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) จำนวน 20 เซลล์

คู่ที่	Ls	Ll	LT	CI ± SD	RL ± SD	ขนาดโครโมโซม	ชนิดโครโมโซม
1	0.334	0.413	0.747	0.5534±0.0122	0.0510±0.0040	ใหญ่	เมทาเซนทริก
2	0.310	0.383	0.693	0.5472±0.0289	0.0479±0.0050	ใหญ่	เมทาเซนทริก
3	0.284	0.354	0.638	0.5542±0.0219	0.0433±0.0045	ใหญ่	เมทาเซนทริก
4	0.299	0.596	0.895	0.6673±0.0319	0.0610±0.0074	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
5	0.282	0.510	0.792	0.6439±0.0160	0.0546±0.0092	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
6	0.283	0.464	0.748	0.6231±0.0129	0.0515±0.0072	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
7	0.246	0.407	0.653	0.6273±0.0248	0.0449±0.0077	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
8	0.208	0.584	0.792	0.7355±0.0411	0.0525±0.0049	ใหญ่	อะโครเซนทริก
9	0.192	0.550	0.742	0.7446±0.0371	0.0494±0.0055	ใหญ่	อะโครเซนทริก
10	0.191	0.527	0.718	0.7311±0.0356	0.0480±0.0070	ใหญ่	อะโครเซนทริก
11	0.183	0.493	0.677	0.7383±0.0419	0.0447±0.0063	ใหญ่	อะโครเซนทริก
12	0.172	0.492	0.664	0.7506±0.0428	0.0445±0.0028	ใหญ่	อะโครเซนทริก
13	0.159	0.448	0.607	0.7367±0.0320	0.0412±0.0063	กลาง	อะโครเซนทริก
14	0.000	0.597	0.597	1.0000±0.0000	0.0377±0.0128	กลาง	เทโลเซนทริก
15	0.000	0.513	0.513	1.0000±0.0000	0.0343±0.0042	กลาง	เทโลเซนทริก
16	0.000	0.511	0.511	1.0000±0.0000	0.0332±0.0082	กลาง	เทโลเซนทริก
17	0.000	0.499	0.499	1.0000±0.0000	0.0330±0.0046	กลาง	เทโลเซนทริก
18	0.000	0.496	0.496	1.0000±0.0000	0.0331±0.0030	กลาง	เทโลเซนทริก
19	0.000	0.467	0.467	1.0000±0.0000	0.0308±0.0036	กลาง	เทโลเซนทริก
20	0.000	0.453	0.453	1.0000±0.0000	0.0299±0.0055	กลาง	เทโลเซนทริก
21	0.000	0.434	0.434	1.0000±0.0000	0.0290±0.0052	เล็ก	เทโลเซนทริก
22	0.000	0.425	0.425	1.0000±0.0000	0.0273±0.0050	เล็ก	เทโลเซนทริก
23	0.000	0.407	0.407	1.0000±0.0000	0.0268±0.0029	เล็ก	เทโลเซนทริก
24	0.000	0.382	0.382	1.0000±0.0000	0.0262±0.0030	เล็ก	เทโลเซนทริก
25	0.000	0.363	0.363	1.0000±0.0000	0.0240±0.0037	เล็ก	เทโลเซนทริก

จากการวิเคราะห์โครโมโซมระยะเมทาเฟส เพื่อนำมาจัดทำแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน โดยทำการวัดขนาดของโครโมโซมโดยวัดแขนข้างสั้น (Length of short arm, Ls) แขนข้าง

ยาว (Length of long arm, Ll) ความยาวทั้งหมด (Length of total, LT) ค่า centromeric index (CI) ค่า relative length (RL) เพื่อนำมาระบุชนิดและขนาดของโครโมโซม (ตารางที่ 1) ทำให้สามารถจำแนกโครโมโซม ได้ 3 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งมากกว่า 0.629 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1-12 โครโมโซมขนาดกลาง มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งอยู่ระหว่าง 0.448-0.629 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 13-20 และโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งแท่งน้อยกว่า 0.448 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 21-25 (ตารางที่ 1) โดยพบว่าแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 10 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 14 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แท่ง (ภาพที่ 3 และ ตารางที่ 1)

จากการวิเคราะห์แคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) ในครั้งนี้ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แท่ง ซึ่งเท่ากับจำนวนโครโมโซมส่วนใหญ่ที่พบในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) โดยผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536) และ Getlekha et al. (2022) ที่รายงานว่าปลายี่สกเทศมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 (ตารางที่ 2) แต่มีความแตกต่างทั้งในด้านของจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) และลักษณะแคริโอไทป์ โดยจากรายงานของ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536) พบว่าปลายี่สกเทศ จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 70 แคริโอไทป์ประกอบด้วย 14m+6sm+4st+26a ขณะที่ Getlekha et al. (2022) รายงานว่าปลายี่สกเทศ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 80 แคริโอไทป์ประกอบด้วย 8m+14sm+8a+20t ความแปรผันของจำนวนโครโมโซมพื้นฐานและชนิดของโครโมโซม อาจเกิดจากกระบวนการต่อสลับ (inversion) ของโครโมโซม โดยโครโมโซมชนิด 2 แขน ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก และอะโครเซนทริก ต่อสลับ กลายเป็นโครโมโซมชนิดแขนเดียว คือ เทโลเซนทริก (อมรา คัมภิรานนท์ (2546); อลงกลด แทนออมทอง (2554)) นอกจากนี้ยังพบว่า ในปลาชนิดเดียวกันแคริโอไทป์ที่ได้จากการศึกษาของผู้วิจัยแต่ละท่านจะแตกต่างกันมากบ้างน้อยบ้าง ทั้งนี้เนื่องมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาชนิดเดียวกันที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลให้มีจำนวนโครโมโซมและแคริโอไทป์แตกต่างกัน (Denton, 1973) เกณฑ์ที่ใช้ในการจัดจำแนกโครโมโซมเป็นอีกส่วนหนึ่งที่ทำให้ชนิดของโครโมโซมที่ได้จากการศึกษาแตกต่างกัน จากรายงานของ ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536) จะใช้เกณฑ์การจัดจำแนกโครโมโซมตาม Levan et al. (1964) ส่วน Getlekha et al. (2022) และงานวิจัยในครั้งนี้ จะใช้เกณฑ์การจัดจำแนกโครโมโซมตาม Turpin and Lejeune (1965) ตลอดจนเทคนิควิธีการ รวมถึงปริมาณของโคลชิซินที่ใช้ฉีด และระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์ที่แตกต่างกัน อาจทำให้การยืดหดของโครโมโซมไม่เท่ากัน โดยเฉพาะกับโครโมโซมที่มีขนาดเล็ก จึงอาจทำให้เกิดการวัดที่คลาดเคลื่อนไม่เท่ากัน ผลที่ได้อาจทำให้โครโมโซมแตกต่างกันไป

บ้างเล็กน้อย Rab et al. (1996) กล่าวไว้ว่าการศึกษาเกี่ยวกับแคริโอไทป์ของนักวิจัยแต่ละคนในปลาชนิดเดียวกันมักมีข้อมูลที่แตกต่างกันออกไปเสมอ

การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมระหว่างปลายี่สกเทศเพศผู้และเพศเมีย จึงทำให้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศของปลาได้ โดยการกำหนดเพศของปลาอาจถูกกำหนดโดยยีนซึ่งอยู่บนโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่ง ซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ในระดับโครโมโซม (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2543)

จากการรวบรวมข้อมูลพบว่าปลาทุกชนิดในอันดับ Cypriniformes วงศ์ Cyprinidae เป็นปลาน้ำจืดทั้งหมด โดยพบการจัดเรียงตัวใหม่ของโครโมโซมในระดับสูง ซึ่งสามารถทำให้พบโครโมโซมได้ทุกชนิด (Getlekha et al., 2022) จากการรวบรวมข้อมูลโครโมโซมของปลาในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) พบว่ามีโครโมโซม 2n = 44-100 แท่ง แต่ส่วนมากพบรายงานโครโมโซม 2n = 50 แท่ง ซึ่งปลาในวงศ์ปลาตะเพียนส่วนมากที่มีโครโมโซม 2n=50 ถือว่าเป็นกลุ่มปลาที่โบราณมากที่สุด (primitive stage) ที่จะมีโครโมโซมวิวัฒนาการไปเป็นกลุ่มปลาที่มีจำนวนโครโมโซมที่มากหรือน้อยกว่านี้ ทำให้อนุมานได้ว่าปลายี่สกเทศที่ศึกษาในครั้งนี้ จัดอยู่ในกลุ่มปลาโบราณมากที่สุด ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้น ขึ้นอยู่กับรูปแบบการเกิดวิวัฒนาการของโครโมโซม และความสามารถในการปรับตัวของปลาที่นำมาศึกษา ตลอดจนสภาพแวดล้อมถิ่นที่อยู่อาศัยของปลาจากแหล่งนั้น ๆ ซึ่งปลายี่สกเทศมีการกระจายพันธุ์ที่กว้าง พบทั้งในทวีปเอเชียและแอฟริกาเขตร้อน ประเทศไทยนำปลาชนิดนี้เข้ามาเพื่อใช้เป็นปลาเศรษฐกิจ โดยทำการผสมเทียมและปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทำให้ปลายี่สกเทศแพร่กระจายไปยังแหล่งน้ำต่าง ๆ ที่หลากหลาย

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการศึกษาแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*)

ชนิดปลา	2n	NF	ชนิดโครโมโซม					เอกสารอ้างอิง
			m	sm	st	a	t	
ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*)	50	70	14	6	4	26	-	ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2536)
	50	80	8	14	-	8	20	Getlekha et al. (2022)
	50	**76**	**6**	**8**	**-**	**12**	**24**	**งานวิจัยในครั้งนี้**

หมายเหตุ 2n=จำนวนดิพลอยด์, NF=จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน หรือจำนวนแขนโครโมโซม, m=เมทาเซนทริก, sm=ซับเมทาเซนทริก, st = ซับเทโลเซนทริก, a=อะโครเซนทริก และ t=เทโลเซนทริก

การศึกษาครั้งนี้เป็นการรายงานเกี่ยวกับโครโมโซมของปลายี่สกเทศ ซึ่งจัดเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่น เดิมการแพร่กระจายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ มักจะถูกกำหนดด้วยความสามารถในการเคลื่อนที่ ซึ่งข้อจำกัดที่สำคัญของปลาน้ำจืด คือ ทางไหลของน้ำ ทำให้แต่ละลุ่มน้ำมีปลาที่แตกต่างกันออกไป ในปัจจุบันมีการขนส่งปลาหลายชนิดข้ามเขตสัตวภูมิศาสตร์ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น บริโภค เลี้ยงสวยงาม เป็นต้น ปลาหลายชนิดซึ่งเป็นปลาที่ไม่เคยพบในธรรมชาติของประเทศไทยมาก่อน

ถูกปล่อยหรือหลุดลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ก็จะส่งผลกระทบที่มากบ้างน้อยบ้างตามแต่ศักยภาพของปลาแต่ละชนิด ยกตัวอย่างเช่น ปลายี่สกเทศ ซึ่งเป็นปลาขนาดใหญ่ ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำจำนวนมาก โดยในปัจจุบันมีข้อมูลว่าปลาเหล่านี้ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ (นณณ์ ผาณิตวงศ์, 2563) แต่ในอนาคตก็มีความเป็นไปได้ที่อาจพบลูกปลาที่เกิดจากการผสมพันธุ์กันเองตามธรรมชาติ หรือเกิดการผสมข้ามสายพันธุ์ การทราบถึงข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของปลายี่สกเทศจึงมีความจำเป็น โดยโครโมโซมถือเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เพื่อใช้เป็นข้อมูลบ่งบอกถึงรูปแบบการเจริญและพัฒนารวมถึงวิวัฒนาการได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบสำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน การบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ และความแตกต่างทางพันธุกรรมในประชากรของปลาแต่ละชนิด ข้อมูลที่ได้นี้จึงเป็นประโยชน์ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาด้านการปรับปรุงสายพันธุ์ เพื่อการเพาะเลี้ยงและการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมในธรรมชาติต่อไป

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาแคริโอไทป์ของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) ในครั้งนี้ พบว่าปลายี่สกเทศ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 76 ประกอบด้วยโครโมโซมที่มีสองแขน มีจำนวน 26 แท่ง และ โครโมโซมที่มีแขนเดียว มีจำนวน 24 แท่ง ซึ่งเป็นโครโมโซมขนาดใหญ่ 24 แท่ง โครโมโซมขนาดกลาง 16แท่ง และโครโมโซมขนาดเล็ก 10 แท่ง แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซม 4 ชนิด ได้แก่ เมทาเซนทริก 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 8 แท่ง อะโครเซนทริก 12 แท่ง และเทโลเซนทริก 24 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมปลายี่สกเทศทั้งในเพศผู้และเพศเมีย

อย่างไรก็ตามการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาในสกุล *Labeo* ยังมีรายงานไม่มากนัก ควรทำการวิจัยเพิ่มเติมกับปลาชนิดอื่นในสกุลเดียวกันเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ นอกจากนี้ควรเพิ่มเทคนิคการศึกษาครั้งต่อไป เช่น การศึกษาด้วยเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมแบบอื่น ๆ การศึกษาระดับโมเลกุลเพื่อช่วยสนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธาน รวมถึงการพัฒนาสายพันธุ์ปลายี่สกเทศเพื่อใช้ในเชิงเศรษฐกิจต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่และสารเคมีในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุต. (2532). *เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์ อนุกรมวิธานของพืชสกุล Zephyranthes.* ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. (2536). *การศึกษาโครโมโซมของปลากาแดง ปลาทรงเครื่อง และปลายี่สกเทศ*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นณณ์ ผาณิตวงศ์. (2563). *ปลาน้ำจืดไทย*. ภาพพิมพ์.

ภาสกร แสนจันแดง. (2557). *สารานุกรมปลาน้ำจืดของไทย*. คลังนานาวิทยา.

อมรา คัมภิรานนท์. (2546). *พันธุศาสตร์ของเซลล์* (พิมพ์ครั้งที่ 2). ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อลงกลด แทนออมทอง. (2554). *พันธุศาสตร์เซลล์*. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. (2543). *พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Denton, T. E. (1973). *Fish chromosome methodology*. Charles C. Thomas Publisher.

Getlekha, N., Sukchot, P., & Saleetid, K. (2022). Karyological analysis of ten freshwater fish species from Lumphachi river basin, Thailand. *Science Technology and Engineering Journal (STEJ)*, 8(2), 76-85.

Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*, 52, 201-220.

Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the world* (4th ed.) John Wiley and Sons, Inc.

Rab, P., Yiannis, K., More, R. Z., & Panos, S. E. (1996). Banded karyotype of the cyprinid fishes Leuciscus borysthenicus. *Ichthyological Research*, 463-468.

Sumner, A. T. (1990). *Chromosome Banding*. Unwin Hyman, London.

Turpin, R., & Lejeune, J. (1965). *Les Chromosomes Humains*. Gauthier-Pillars.

Vidthayanon, C. (2008). *Field guide to fishes of the Mekong delta*. Mekong River Commission.