เปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญเชิงเพาะเลี้ยง และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปลากาดำจาก 4 แหล่ง

Comparison on Aquacultural Traits and Genetic Diversity Study among 4 Populations of Black Shark Minnow *Labeo chrysophekadion* (Bleeker, 1849)

จริญญา สุวรรณนาคะ[1*] โกศล ขำแสง[2] ยุทธภูมิ สุวรรอาชา[3] และ วิศรุต ชัยเลิศฤทธิ์[4]

Jarinya Suwannaka[1]* Kosol Khamsaeng[2] Yutthapoom Suwanarcha[3] and Visarut Chailertlit[4]

[1]ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

[1]Uttaradit Aquatic Animal Genetics Research and Development Center,

Aquatic Animal Genetics Research and Development Division, Department of Fisheries.

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดสุพรรณบุรี กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง

[2]Suphan Buri Inland Aquaculture Research and Development Center,

Inland Aquaculture Research and Development Division, Department of Fisheries.

[3]สำนักงานประมงจังหวัดสระแก้ว กรมประมง

[3]Sa Kaeo Fisheries Provincial Office, Department of Fisheries.

[4]ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำปทุมธานี กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

[4]Pathum Thani Aquatic Animal Genetics Research and Development Center,

Aquatic Animal Genetics Research and Development Division, Department of Fisheries.

*Corresponding author: genetic.uttaradit@gmail.com

Received: Apr. 5, 2022

Revised: Apr. 22, 2022

Accepted: Nov. 10, 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญเชิงเพาะเลี้ยง และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปลากาดำ (*Labeo chrysophekadion*) จาก 4 แหล่ง คือ ประชากรพ่อแม่พันธุ์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดสุพรรณบุรี (ศพจ.สุพรรณบุรี) ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุบลราชธานี (ศปจ.อุบลราชธานี) ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาญจนบุรี (ศปจ.กาญจนบุรี) และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ (ศพก.อุตรดิตถ์) โดยดำเนินการเลี้ยงทดสอบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำปทุมธานี ดำเนินการศึกษาวิจัยระหว่างเดือน ตุลาคม 2561 ถึง กันยายน 2563 ผลการเปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญเชิงเพาะเลี้ยง พบว่า ความยาวเฉลี่ยสุดท้ายมีค่าระหว่าง 13.74 - 14.58 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายมีค่าระหว่าง 34.80 - 40.82 กรัม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) มีค่าระหว่าง 1.71 - 1.88 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และค่า condition factor (K) มีค่าระหว่าง 1.25 - 1.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับข้อมูล

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำ โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 8 ตำแหน่ง พบว่าจำนวนแอลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (A_a) มีค่าระหว่าง 5.13 - 6.13 ค่า effective number of alleles (A_e) มีค่าระหว่าง 2.92 - 4.08 ค่า Observed heterozygosities (H_o) มีค่าระหว่าง 0.63 - 0.67 และค่า Expected heterozygosities (H_e) มีค่าระหว่าง 0.60 - 0.66 โดยความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปลากาดำจาก 4 แหล่ง มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาค่า F_{ST} พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.057 แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปานกลาง จากการศึกษาครั้งนี้บ่งบอกถึงความผันแปรของลักษณะที่สำคัญเชิงเพาะเลี้ยง และความแตกต่างทางพันธุกรรม จึงควรนำปลาจากทั้ง 4 แหล่งมาสร้างเป็นประชากรพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

คำสำคัญ: ไมโครแซทเทลไลท์ การเจริญเติบโต อัตรารอด Condition factor

Abstract

This study aimed to compare growth traits and genetic diversity among 4 populations of Black Shark Minnow, *Labeo chrysophekadion*, from the broodstocks of Suphan Buri Inland Aquaculture Research and Development Center (Sp), Ubon Ratchathani Inland Fisheries Research and Development Center (Ub), Kanchanaburi Inland Fisheries Research and Development Center (Kc) and Uttaradit Aquatic Animal Genetics Research and Development Center (Ut). A study on growth performance was conducted at Ut, but genetic diversity was studied at Pathum Thani Aquatic Animal Genetics Research and Development Center between October 2018 to September 2020. For the growth traits, the average final body length (FTL ranged from 13.74 - 14.58 cm.), the average final body weight (FBW ranged from 34.80 - 40.82 g.), specific growth rate (SGR ranged from 1.71 - 1.88 %/day) and condition factor (K ranged from 1.25 – 1.36 %), were significantly different between populations ($P < 0.05$). Eight microsatellite loci were used to assess genetic diversity. The genetic diversity among 4 populations, the average number of alleles per locus (A_a ranged from = 5.13 - 6.13), the average number of effective alleles per locus (A_e ranged from = 2.92 - 4.08), observed heterozygosities (H_o ranged from = 0.63 – 0.67) and expected heterozygosities (H_e ranged from = 0.60 – 0.66), were not significantly different ($P > 0.05$). There was a moderate genetic difference between the population (F_{ST} = 0.057). The results of this experiment showed variation between four populations of Black Shark Minnow in aquacultural traits and genetic differentiation. Therefore, these populations are invaluable germplasm for genetic improvement program whereby they should be mixed to create a best population for further selection program.

Keywords: Microsatellite, Growth, Survival rate, Condition factor

คำนำ

ปลากาดำ (Black Shark Minnow) เป็นปลาพื้นเมืองของไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Labeo chrysophekadion* (Bleeker, 1849) อยู่ในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) มีชื่อที่เรียกแตกต่างออกไปตามภาษาถิ่น เช่น เพี้ย ในภาษาเหนือ อีตู๋ หรือ อีก่ำ ในภาษาอีสาน มีขนาดโตเต็มที่ประมาณ 60 เซนติเมตร หากินตามพื้นท้องน้ำ โดยการแทะเล็มตะไคร่หรือสาหร่าย พบในแม่น้ำขนาดใหญ่และแหล่งน้ำนิ่งต่าง ๆ ทั่วประเทศ ยกเว้นภาคใต้ ปลากาดำเป็นปลาพื้นเมืองของไทยที่สำคัญและมีมูลค่าทางเศรษฐกิจ ประชาชนทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมบริโภค เนื่องจากมีรสชาติดี โดยนิยมนำมาปรุงสดเป็นลาบหรือน้ำยา และยังนำปลากาดำมาแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์ปลาส้ม แจ่วบอง และปลาร้า ซึ่งเป็นสินค้า OTOP ที่ขึ้นชื่อของวิสาหกิจชุมชน บ้านด่านใหม่ ตำบลโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี ทำให้สินค้ามีมูลค่าทางการตลาดมากขึ้น (OTOPKHONGCHAIM Shop: online)

ปัจจุบันผลผลิตปลากาดำส่วนใหญ่ได้มาจากการจับจากธรรมชาติ แต่เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง ประกอบกับการทำประมงเกินกำลังการผลิตของแหล่งน้ำ และการทำการประมงที่ผิดกฎหมาย เป็นสาเหตุให้ปลาในธรรมชาติเริ่มลดลงเรื่อย ๆ จึงควรส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะเลี้ยง เพื่อลดการจับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ เพิ่มโอกาสการแพร่พันธุ์ปลากาดำในแหล่งน้ำธรรมชาติให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ปัญหาสำคัญที่ทำให้เกษตรกรไม่นิยมเลี้ยง เนื่องมาจากปลากาดำมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ จึงจำเป็นต้องปรับปรุงพันธุ์ปลากาดำให้มีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามประชากรพื้นฐานที่ดีควรมีฐานพันธุกรรมกว้าง (Gjedrem, 2005; Chailertrit *et al*., 2020) จึงจำเป็นต้องศึกษาเปรียบเทียบลักษณะเชิงเพาะเลี้ยง และความหลากหลายของปลาในแต่ละแหล่ง เพื่อดูความผันแปรของประชากร ซึ่งมีปลาหลายชนิดที่ประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ประชากรจากหลายแหล่งที่มีความแตกต่างกัน เช่นในปลานิลแดงปทุมธานี 1 (Red Tilapia) (Pongthana *et al*., 2009) และปลาสลิด (snakeskin gourami) (Sutthakiet *et al*., 2019) เป็นต้น

งานวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ค่า condition factor อัตรารอดตาย และความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลากาดำ 4 แหล่ง คือ ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดสุพรรณบุรี ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุบลราชธานี ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาญจนบุรี และประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ เพื่อนำไปสร้างประชากรพื้นฐานในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ สำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ผลิตและกระจายพันธุ์สู่หน่วยงานงานของกรมประมง และเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงต่อไป

วิธีดำเนินการ

การเพาะพันธุ์ปลากาดำ

เตรียมปลาพ่อแม่พันธุ์โดยนำปลากาดำจาก 4 แหล่งคือ ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดสุพรรณบุรี (ศพจ.สุพรรณบุรี; Sp) ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุบลราชธานี (ศปจ.อุบลราชธานี; Ub) ประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาญจนบุรี (ศปจ.

กาญจนบุรี; Kc) และประชากรของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ (ศพก.อุตรดิตถ์; Ut) ซึ่งนำมาจากแม่น้ำน่าน ปี พศ. 2557 จากนั้นนำประชากรทั้ง 4 แหล่ง มาเลี้ยงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ ณ ศพก. อุตรดิตถ์ จนถึงวัยเจริญพันธุ์ นำมาเพาะพันธุ์โดยวิธีการผสมเทียมในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1 : 1 จำนวน 15 ครอบครัวต่อแหล่ง นำไข่ที่ได้ไปแยกฟักในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร ครอบครัวละ 1 ถัง เมื่อลูกปลาฟักเป็นตัว ทำการอนุบาลด้วยไข่แดงบดละเอียดและอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนจนลูกปลากาดำอายุครบ 1 สัปดาห์ และหลังจากนั้นสุ่มลูกปลาจากแต่ละครอบครัว จำนวน 3,000 ตัวต่อครอบครัว นำไปเลี้ยงรวมกับปลากาดำที่มาจากแหล่งเดียวกัน ในบ่อดิน ขนาด 600 ตารางเมตร ทำการอนุบาลด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ จนอายุครบ 45 วัน จึงนำไปใช้ทดสอบเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การเลี้ยงทดสอบเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลากาดำ

สุ่มลูกปลากาดำอายุ 45 วัน มาเลี้ยงทดสอบในกระชังขนาดตา 2 เซนติเมตร ขนาด 2x5x1.5 เมตร ในบ่อดินขนาด 1,200 ตารางเมตร จำนวน 3 กระชังต่อแหล่ง กระชังละ 150 ตัว เลี้ยงต่อเป็นระยะเวลา 10 เดือน (อายุปลา 11 เดือน 15 วัน) เมื่อเริ่มต้นการทดลองเก็บข้อมูลความยาวและน้ำหนัก และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บข้อมูลความยาว น้ำหนัก และจำนวนปลาที่รอดตายในแต่ละกระชัง นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นและสุดท้าย (กรัม) ความยาวเฉลี่ยเริ่มต้นและสุดท้าย (เซนติเมตร) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR, %/day) ค่า condition factor (K) และอัตราการรอด (%) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี One – way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Games - Howell test

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำ

สุ่มเก็บครีบหางปลากาดำทั้ง 4 แหล่ง แหล่งละ 50 ตัว มาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธี salt extraction (Aljanabi and Martinez, 1997) ทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่ได้มาจากการศึกษาของ Chailertrit *et al.* (2019) จำนวน 8 ตำแหน่ง ได้แก่ Bgon75, MFW26, LcF10, LcF12, LcG03, LcG09, Lr3 และ Lr24 (Table 1) นำมาทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตรรวม 10 µl โดยมีดีเอ็นเอต้นแบบ 10 ng, forward และ reverse ไพรเมอร์อย่างละ 0.5 µM, 1x PCR buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs (Biotechrabbit, Hennigsdorf, Germany), 0.5 U Taq DNA polymerase (Promega, Madison, WI, USA) ใช้อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 denaturation 95 องศาเซลเซียส 5 นาที ขั้นตอนที่ 2 denaturation 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที annealing ที่ T_a องศาเซลเซียส (Table 1) 30 วินาที extension 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอนที่ 3 extension 72 องศาเซลเซียส 5 นาที นำผลผลิตพีซีอาร์ไปแยกขนาดด้วยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis และย้อมสีด้วยวิธี silver stain (Benbouza *et al.*, 2006) นำข้อมูลมาคำนวณค่า Apparent alleles (A_a), Effective number of alleles (A_e), Observed heterozygosities (H_o), Expected heterozygosities (H_e) และ ทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium โดยใช้โปรแกรม Popgen V.1.31 (Yeh *et al.* 1999) วิเคราะห์ค่า effective population size (N_e) โดยใช้โปรแกรม NeEstimator V2

(Do *et al*., 2014) วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ F (Fixation index) โดยใช้โปรแกรม FSTAT (Goudet, 2001) และค่า Pairwise F_{ST} โดยใช้โปรแกรม arlequin version 3.1 (Excoffier *et al*., 2006)

Table 1 Eight microsatellite markers used in this study

Locus	Primer sequences (5'-3')	T_a (°C)	Allele size (bp)	Species (Reference)
Bgon75	F: CTGGTAAAGACTTCAGATGC R: GCATGCAAAATGAGAAAGGCT	53	96 - 118	*Barbodes gonionotus* (Kamonrat *et al*., 2002)
MFW26	F: CCCTGAGATAGAAACCACTG R: CACCATGCTTGGATGCAAAAG	55	136	*Cyprinus carpio* (Crooijmans *et al*., 1997)
LcF10	F: CCAGAGAGATGCACCAATCA R: CTCTATGCTGCAGGGGATTC	57	207 - 273	*Labeo chrysophekadion* (Nguyen, in press)
LcF12	F: TGCGAGACATTTTGAAGGACT R: GGATGTCCCCAGTAGGGAGT	57	120 - 154	
LcG03	F: TGTGGGAGTGTGCGACTAAG R: ACGTCACAATGCACTTCACA	57	95 - 113	
LcG09	F: GCATGAATAGCGGGAGACAT R: CTGCTGATGAGATCCCTGGT	57	274 - 296	
Lr3	F: ATCTGGCTGCCTATTCACC R: CATCGGCGACTGCACTGGA	58	152	*Labeo rohital* (Das *et al*., 2005)
Lr24	F: CAAGGCCAAAAGTGTCCAT R: AGGAAATTGGTAAAGTGTTTC	56	170	

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลากาดำ

ก่อนเริ่มต้นการทดลองได้สุ่มปลากาดำอายุ 45 วัน เพื่อเก็บข้อมูลความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น (ITL) และน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (IBW) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่อายุ 11 เดือน 15 วัน พบว่าความยาวเฉลี่ยสุดท้าย (FTL) น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (FBW) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และค่า condition factor (K) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีเพียงอัตรารอด (SUR) ที่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 2)

จากข้อมูลข้างต้นพบว่า น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (IBW) ความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น (ITL) และน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (FBW) ของปลากาดำจาก ศปจ.อุบลราชธานี (Ub) สูงกว่าประชากรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปลากาดำของ ศปจ.อุบลราชธานี (Ub) เมื่อเริ่มต้นการทดลอง (อายุ 45 วัน) และสิ้นสุดการทดลอง (อายุ 11 เดือน 15 วัน) มีลักษณะการแสดงออกด้านการเจริญเติบโตที่สูงกว่าประชากรอื่น และเมื่อพิจารณาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) พบว่าประชากรปลากาดำของ ศพก.อุตรดิตถ์ (Ut) สูงกว่าอีก 3 แหล่ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากปลากาดำของ ศพก.อุตรดิตถ์ ถูกนำมาเลี้ยงเป็นพ่อแม่พันธุ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 ทำให้สามารถปรับตัวเข้ากับระบบการเพาะเลี้ยงใน

สภาพแวดล้อมของ ศพก.อุตรดิตถ์ ได้ดีกว่าจากแหล่งอื่น ที่มีการนำมาเพาะพันธุ์และเลี้ยงสำหรับการทดสอบที่ ศพก.อุตรดิตถ์ เพียง 1 รุ่น เนื่องจากปลาที่ผ่านขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานในพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่งจัดได้ว่าเป็นพันธุ์เพาะเลี้ยงที่สมบูรณ์ (domesticated stock) ในพื้นที่นั้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Duanyai *et al*. (2010) ที่นำปลาช่อนจากจังหวัดสิงห์บุรีมาเลี้ยงที่จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นเวลา 5 ปี และมีการนำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์มากกว่า 2 รุ่น มีการเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีกว่าปลาช่อนในแหล่งเพาะเลี้ยงจากจังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมา และงานวิจัยของ Popradit *et al*. (2021) ทดลองเลี้ยงปลาหมอชุมพร 1 ที่ทำการปรับปรุงพันธุ์ ในสิ่งแวดล้อมของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำชุมพร มีความยาว น้ำหนัก น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ดีกว่าในสิ่งแวดล้อมของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเชียงราย และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดมหาสารคาม

เมื่อพิจารณาค่า condition factor (K) พบว่าประชากรจาก ศพจ.สุพรรณบุรี (Sp) มีค่าสูงกว่าประชากรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สามารถบ่งบอกได้ว่าปลามีรูปร่างป้อมสั้นกว่าประชากรอื่น ขณะที่ประชากรจาก ศพก.อุตรดิตถ์ (Ut) มีค่าต่ำกว่าประชากรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งบ่งบอกได้ว่าปลามีรูปร่างที่เพรียวยาวกว่าประชากรอื่น (Froese, 2006; Nash *et al*., 2006) จากการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลากาดำ พบว่าประชากรปลากาดำทั้ง 4 แหล่ง มีอัตราการเจริญเติบโต และค่า condition factor แตกต่างกัน ซึ่งบ่งบอกถึงความผันแปรของประชากรปลากาดำทั้ง 4 แหล่งได้เป็นอย่างดี

Table 2 Growth performance of initial total length (ITL, cm), initial total weight (IBW, gm), final total length (FTL, cm), final body weight (FBW, g), specific growth rate (SGR, %/day), condition factor (K) and survival rate (SUR, %) of *Labeo chrysophekadion* from Suphan Buri Inland Aquaculture Research and Development Center (Sp), Ubon Ratchathani Inland Fisheries Research and Development Center (Ub), Kanchanaburi Inland Fisheries Research and Development Center (Kc) and Uttaradit Aquatic Animal Genetics Research and Development Center (Ut)

Growth performance	Sp	Ub	Kc	Ut
ITL (cm)	2.21*[c] (2.173 - 2.244)	2.62*[a] (2.566 - 2.672)	2.43*[b] (2.398 - 2.469)	2.22*[c] (2.187 - 2.259)
IBW (g)	0.14*[b] (0.132 - 0.151)	0.22*[a] (0.211 - 0.237)	0.15*[b] (0.138 - 0.154)	0.11*[c] (0.106 - 0.124)
FTL (cm)	13.74*[b] (13.492 - 13.982)	14.58*[a] (14.359 -14.802)	13.82*[b] (13.613 -14.024)	14.38*[a] (14.130 -14.626)
FBW (g)	35.42*[b] (33.771- 37.072)	40.82*[a] (39.176 - 42.469)	34.80*[b] (33.405 –36.195)	37.43*[b] (35.729 - 39.137)
SGR (%/day)	1.81*[b] (1.791 - 1.823)	1.71*[c] (1.696 - 1.723)	1.80*[b] (1.783 - 1.811)	1.88*[a] (1.864 - 1.895)

Table 2 (Continue)

Growth performance	Sp	Ub	Kc	Ut
K (%)	1.36*[a] (1.347 - 1.381)	1.31*[b] (1.297 – 1.325)	1.31*[b] (1.293 – 1.322)	1.25*[c] (1.238 - 1.269)
SUR (%)	72.67 (54.765 - 87.575)	59.78 (42.066 - 77.487)	72.00 (50.090 - 93.910)	65.11 (51.626 - 78.594)

Note: Asterisks denote detransforming mean, parentheses show 95% confidence interval for mean and mean with different superscripts in each row differ significantly from each other ($P < 0.05$)

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำ

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 8 ตำแหน่ง ในปลากาดำจำนวน 4 แหล่ง คือ ประชากรของ ศพจ.สุพรรณบุรี (Sp) ศปจ.อุบลราชธานี (Ub) ศปจ.กาญจนบุรี (Kc) และ ศพก.อุตรดิตถ์ (Ut) พบว่า จำนวนแอลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (A_a) ค่า effective number of alleles (A_e) ค่า Observed heterozygosities (H_o) และค่า Expected heterozygosities (H_e) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อพิจารณาค่าสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) โดยการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่า H_o และ H_e ในแต่ละตำแหน่งด้วยวิธี Chi-square test พบว่าประชากรของ ศพจ.สุพรรณบุรี (Sp) เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} < 0.05$) ส่วนค่า effective population size (N_e) มีค่าอยู่ระหว่าง 16.4 - 119.0 โดยค่าต่ำสุดปรากฏที่ประชากรของ ศปจ.กาญจนบุรี (Kc) (Table 3)

เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างของประชากรปลากาดำ จากค่าสัมประสิทธิ์ F (Fixation index) พบว่าค่า F_{ST} ที่บอกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีค่ารวมทุกตำแหน่งเท่ากับ 0.057 ค่า F_{IS} หรือค่าสัมประสิทธิ์การผสมเลือดชิด (inbreeding coefficient) ที่บ่งบอกระดับการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ของประชากรย่อย มีค่าอยู่ระหว่าง -0.077 - 0.002 และมีค่ารวมทุกตำแหน่งเท่ากับ -0.039 ค่า F_{IT} ที่บ่งบอกระดับการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรทั้งหมด มีค่ารวมในทุกตำแหน่งเท่ากับ 0.021 (Table 4)

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าค่าจำนวนแอลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (A_a) ของทั้ง 4 แหล่ง ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาในแต่ละประชากรพบว่า ศปจ.อุบลราชธานี (Ub) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 6.13±1.202 ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Hanpongkittikul *et al.* (2012) ที่ศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่าง และแม่น้ำโขง จังหวัดอุบลราชธานี โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 5 ตำแหน่ง พบจำนวนแอลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งอยู่ในช่วง 12.4 - 17.0 ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาดังกล่าวได้ใช้ตัวอย่างปลากาดำจากธรรมชาติ ซึ่งมีความหลากหลายมากกว่าในโรงเพาะฟัก อีกทั้งยังใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมต่างตำแหน่งกัน ซึ่งแต่ละตำแหน่งของเครื่องหมายจะมีความหลากหลายของแอลลีลที่ไม่เหมือนกัน ทำให้ยากต่อการเปรียบเทียบ

ประชากรพ่อแม่พันธุ์ที่มาจากการเพาะเลี้ยงควรมีพ่อแม่พันธุ์จำนวนมากหรือมีค่า N_e สูง เพื่อป้องกันการผสมเลือดชิด พบว่าประชากรของ ศพก.อุตรดิตถ์ (Ut) มีค่า N_e สูงสุด คือ 119.0 รองลงมา คือ ประชากรปลากาดำของ ศปจ.อุบลราชธานี (Ub) พบว่ามีค่า 54.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hanpongkittikul *et al.* (2012) ที่พบว่าค่า N_e ในประชากรปลากาดำธรรมชาติในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขงมีค่าอยู่ระหว่าง 36.3 - 93.1 ดังนั้น หากต้องการเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากาดำของ ศปจ.อุบลราชธานี จึงควรมีการนำเข้าปลากาดำจากแหล่งน้ำธรรมชาติในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ สำหรับประชากรจาก ศพจ.สุพรรณบุรี และ ศปจ.กาญจนบุรี มีค่า N_e น้อยกว่าที่ควรจะเป็น ที่ N_e เท่ากับ 50 (Tave, 1993) แต่เมื่อพิจารณาค่า F_{IS} ของทั้ง 2 ประชากรนี้ (Table 3) พบว่ายังไม่เกิดภาวะการผสมเลือดชิด อย่างไรก็ตามเพื่อป้องกันปัญหาการผสมเลือดชิดที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคตจากค่า N_e ที่น้อย จึงควรมีแผนบริหารจัดการพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักต่อไป

จากค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F_{ST}) โดย Wright (1978) กล่าวว่าค่า F_{ST}= 0.01 - 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ ค่า F_{ST}= 0.05 - 0.15 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมปานกลาง ค่า F_{ST}= 0.15 - 0.25 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง และค่า F_{ST}> 0.25 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงมาก ซึ่งการศึกษานี้ พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.057 และมีช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.025 - 0.089 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมปานกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P_{FST} < 0.05) นอกจากนี้เมื่อทดสอบ Pairwise F_{ST} ที่บ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมของแต่ละคู่ประชากร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกคู่ประชากร (P_{FST} < 0.05) (Table 5) หากต้องการสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมให้สูงขึ้น ควรวางแผนนำประชากรแต่ละแหล่งมาผสมข้ามกัน และวางแผนการจัดการพ่อแม่พันธุ์ตามหลักพันธุศาสตร์เพื่อป้องกันการผสมเลือดชิด (inbreeding) และการสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไป

Table 3 Genetic variation based on eight microsatellite loci of *Labeo chrysophekadion* from SuphanBuri Inland Aquaculture Research and Development Center (Sp), UbonRatchathani Inland Fisheries Research and Development Center (Ub), Kanchanaburi Inland Fisheries Research and Development Center (Kc) and Uttaradit Aquatic Animal Genetics Research and Development Center (Ut)

Population	A_a (±SE)	A_e (±SE)	H_o (±SE)	H_e (±SE)	P_{HWE}	F_{IS}	N_e (95% CI)
Sp	5.25 (0.881)	3.17 (0.482)	0.67 (0.072)	0.62 (0.070)	0.046	-0.077	32.3 (21.6 - 52.4)
Ub	6.13 (1.202)	4.08 (0.793)	0.66 (0.058)	0.66 (0.071)	0.599	0.002	54.2 (34.8 - 99.8)
Kc	6.00 (1.165)	3.38 (0.623)	0.63 (0.082)	0.62 (0.080)	0.192	-0.027	16.4 (12.5 - 21.8)

Table 3 (Continue)

Population	A_a (±SE)	A_e (±SE)	H_o (±SE)	H_e (±SE)	P_{HWE}	F_{IS}	N_e (95% CI)
Ut	5.13 (0.934)	2.92 (0.623)	0.63 (0.082)	0.60 (0.072)	0.905	-0.056	119.0 (51.4 - inf.)
P - value	0.8719	0.5622	0.9753	0.9375			

Note: apparent alleles (A_a), effective number of alleles (A_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), P-value for Hardy-Weinberg equilibrium (P_{HWE}), effective population size (N_e) and P - value for t-test between the population means (P-value).

Table 4 Fixation index (F_{IS}, F_{IT} and F_{ST}) of *Labeo chrysophekadion* for all loci

	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
F-statistics	-0.039	0.021	0.057
95% CI	-0.101 - 0.023	-0.052 - 0.084	0.025 - 0.089
P - value	0.9898	0.3489	0.0000

Table 5 Pairwise F_{ST} between populations of *Labeo chrysophekadion*

	Sp	Ub	Kc	Ut
Sp	-			
Ub	0.0409*	-		
Kc	0.0684*	0.0310*	-	
Ut	0.0889*	0.0546*	0.0557*	-

Note: * significant difference ($P < 0.05$)

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลากาดำจากทั้ง 4 แหล่ง มีลักษณะเชิงเพาะเลี้ยง (ความยาว น้ำหนัก การเจริญเติบโตจำเพาะ และค่า condition factor) ที่แตกต่างกัน และมีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปลากาดำอยู่ในระดับปานกลาง (F_{ST}=0.057) ซึ่งบ่งบอกถึงความผันแปร (variation) ของประชากรปลากาดำทั้ง 4 แหล่ง ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นควรใช้พันธุ์ปลากาดำจากทั้ง 4 แหล่ง นำมาสร้างเป็นประชากรพื้นฐาน สำหรับปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกรมประมง ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัยโครงการนี้ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดสุพรรณบุรี ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุบลราชธานี ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาญจนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ปลากาดำที่ใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณข้าราชการ เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำปทุมธานี และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ ที่เป็นกำลังสำคัญในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

Aljanabi, S.M., and Martinez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research. 25: 4692 - 4693.

Benbouza, H., Jacquemin, J.M., Baudin, J.P., and Mergeai. G. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotech. Agron. Soc. Environ. 10: 77–81.

Chailertrit, V., Nimlamai, A., Sodsuk, P.K., Ampolsak, K., and Saracharti, U. 2019. Microsatellite markers investigation in Cyprinid species by cross-species PCR. Journal of Fisheries Technology Research. 13(1): 88 - 104. [in Thai]

Chailertrit, V., Suntornchot, S, Umpolsak, K., Baoprasertkul, P., Theeratidechakul, T., Buaneam, P., and Borriboon, C. 2020. Genetic Diversity and Performance in Hatchery Stocks of Günther's Walking Catfish, *Clarias macrocephalus*. Journal of Fisheries Technology Research. 14(2): 32 - 47. [in Thai]

Crooijmans, R.P.M.A., Bierbooms, V.A.F., Komen, J., Van der Poel, J.J., and Groenen, M.A.M. 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Animal Genetics 28: 129–134.

Das, P., Barat, A., Meher, P.K., Ray, P.P., and Majumdar, D. 2005. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite in *Labeo rohita* and their cross-species amplification in related species. Mol. Ecol. Notes. 5: 231 – 233.

Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., and Ovenden, J. R. 2014. NeEstimator V2: reimplementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. Molecular Ecology Resources. 14(1): 209-214.

Duanyai, P., Rungtongbaisuree, S., Uraiwan, S., Sodsuk, P.K., and Eiamsaard, B. 2010. Aquacultural Traits Comparison among 3 Stocks of Snakehead fish, *Channa striatus* (Bloch, 1797). Technical Paper no. 4. Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute. Bangkok. 18 pp. [in Thai]

Excoffier, L., Laval, G., and Schneider, S. 2006. Arlequin version 3.1. An integrated software package for population genetics data analysis. Institute of Zoology, Univ. of Berne, Bern, Switzerland.

Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationship: history, meta-analysis and recommendations. J. Appl. Ichthyol. 22: 241 - 253.

Gjedrem, T., 2005. Breeding plans. In: T Gjedrem (ed) Selection and Breeding Programs in Aquaculture, Springer, Dordrecht. pp. 251– 278.

Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). [Online]. Available from http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html. [2014, January 9].

Hanpongkittikul, A., Kownaruemit, A., Kamonrat, W., and Reekanong. Y. 2012. Genetic Inventory Survey and Migration of *Labeo chrysophekadion* Population in Lower part of Mun River Using Microsatellite Marker. Thai Fisheries Gazette. 65(2): 111 - 119 [in Thai]

Kamonrat, W., McConnell, S.K.J. and Cook, D.I. 2002. Polymorphic microsatellite loci from the Southeast Asian cyprinid, *Barbodes gonionotus* (Bleeker). Mol. Ecol. Notes. 2: 89–90.

OTOPKHONGCHAIM Shop. [Online] Available from http://ftiebusiness.com/shop4/home.php?uid=44348 [2022. August, 4]

Nash, R.D.M., Valencia, A.H., and Geffen, A.J. 2006. The original of Fulton's condition factor: Setting the record straight. Fisheries. 31(5):236 - 238.

Nguyen, T.T.T. in press. Characterization of microsatellite DNA markers for the black shark minnow, *Labeo hrysophekadion* (Cyprinidae). Molecular Ecology Resources. in press.

Pongthana, N., Oakdang, N., Tongsagha, M., and Buaneam, P. 2009. Selective breeding for salinity tolerance in Red Tilapia. Thai Fisheries Gazette. 62(5): 412 - 420 [in Thai]

Popradit, M., Jul-a-dung, S., Leesanga, S., Duangwongsa J., Kaewla-aid, S., and Jantharachit, P. 2021. The effect of environment to growth rate of Climbing Perch, *Anabas testudineus* (Bloch, 1792), Chumphon 1 strain. Technical Paper no. 2. Aquatic Animal Genetics Research and Development Division. Bangkok. 16 pp. [in Thai]

Sutthakiet, O., Koonawootrittriron, S., Chatchaiphan, S., Thaitungchin, C., and Na-Nakorn, U. 2019. Genetic parameters of a snakeskin gourami (*Trichopodus pectoralis*, Regan 1910) base population created from crossing three hatchery stocks. Aquaculture. 512: 734358. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734358.

Tave, D. 1993. Genetics of fish hatchery management. 2nd ed. Kluwer Academic Publishers, Boston. 415 pp.

Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Vol.4: Variability within and among natural populations. Chicago: University of Chicago Press.

Yeh, F.C., Yang, R., and Boyle, T. 1999. POPGENE version 1.31. Microsoft Window–based Freeware for Population Genetic Analysis. (http://www.ualberta.ca/~fyeh/).

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY
คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
FACULTY OF FISHERIES TECHNOLOGY AND AQUATIC RESOURCES