ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาหมอไทยโดยใช้เทคนิค RAPD

Genetic diversity of climbing perch (*Anabas testudineus*) by RAPD technique

สุกัญญา คำหล้า[1*], โฆษิต ศรีภูธร[1], นัยนา เสนาศรี[1] และศิริพร หันแดง[2]

Sugunya Kumla[1] Kosit Sriphuthorn[1] Naiyana Senasri [1] and Siriporn Hundaeng[2]

[1] คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

[2] นักศึกษาปริญญาตรี คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

E-mail: sugunyakumla@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาหมอไทยด้วยเทคนิค RAPD ของตัวอย่างประชากรปลาจาก 3 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ได้แก่ สกลนคร นครพนม และอุบลราชธานี จากการทดลองทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ 5 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนและสามารถทำซ้ำได้ คือ OPA-01, OPA-02, OPB-07, OPB-10 และ OPC-02 ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งสิ้น 42 แถบ มีขนาดตั้งแต่ 300 ถึง 2500 bp ปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากรมีค่าเปอร์เซนต์ polymorphic loci อยู่ระหว่าง 18.92-26.83 ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (Nei's gene diversity; H) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.05-0.09 ค่าดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรม (Shannon's information index; SI) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.08-0.14 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (Coefficient of differentiation; G_{ST}) และค่าการถ่ายเทยีน (Gene flow; N_m) รวมทั้งหมดทุกประชากรมีค่าเท่ากับ 0.25 และ 1.46 ตามลำดับ และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance ; D) มีค่าระหว่าง 0.02-0.10 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ประชากรสกลนคร และประชากรอุบลราชธานี และกลุ่มที่ 2 ประชากรนครพนม โดยประชากรปลาหมอไทยนครพนมแยกจากประชากรกลุ่มอื่น ๆ

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรม ปลาหมอไทย เทคนิค RAPD

Abstract

RAPD technique was applied for genetic diversity of climbing perch, *Anabas testudineus,* from Sakon Nakhon (SK), Nakhon Panom (NK) and Ubon Ratchathani (UB) located in the northeastern part of Thailand. RAPDs generated by 5 primers: OPA-01, OPA-02, OPB-07, OPB-10 and OPC-02 produced 42 distinguishable and reproducible bands with sizes ranged from 300-2500 bp. Percentage of polymorphic loci of three populations ranged from 18.92 to 26.83. Nei's gene diversity (H) and Shannon's information index (SI) were ranged from 0.05 to 0.09 and 0.08 to 0.14, respectively. Coefficient of differentiation (G_{ST}) and gene flow (N_m) were 0.25 and 1.46, respectively. Genetic distance (D) ranged

from 0.02 to 0.10. Phylogenetic tree analysis by UPGMA showed two clusters between SK/UB and NK. NK population was separated from the other populations.

Keywords: Genetic diversity, Climbing perch, RAPD technique

คำนำ

ปลาหมอ (climbing perch) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Anabas testudineus* เป็นปลาน้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่นิยมเลี้ยงมากในประเทศไทยมีถิ่นอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไปทุกภาคของประเทศ มีรายงานการแพร่กระจายในประเทศจีนตอนใต้ มาเลเซีย ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ และหมู่เกาะอินโด-ออสเตรเลีย (Smith, 1945) และมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในแถบภาคอีสาน ได้แก่ จังหวัดสกลนคร นครพนม อุบลราชธานี และจังหวัดใกล้เคียง เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติดี สามารถเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตดี มีผลกำไรสูง และเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ จากสถิติการประมงในปี 2555 ปริมาณและมูลค่าปลาหมอไทยที่จับได้ทั้งประเทศมีปริมาณ 12,100 เมตริกตัน มูลค่า 582.8 ล้านบาท เป็นผลผลิตปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ 11,783 เมตริกตัน และจากการเพาะเลี้ยง 317 เมตริกตัน โดยนิยมนำมาบริโภคในรูปของปลาสดประมาณร้อยละ 70.84 ปลาร้าร้อยละ 19.34 และทำปลาเค็มตากแห้ง รมควัน และอื่น ๆ อีกประมาณร้อยละ 9.82 (Fishery Statistics Analysis and Research Group, Information Technology Center Department of Fisheries, 2014) ปลาหมอไทยมีการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นเพื่อสนองความต้องการของผู้บริโภค เพื่อช่วยลดปริมาณการจับปลาหมอไทยจากแหล่งน้ำธรรมชาติ การผลิตลูกพันธุ์ปลาหมอไทยเพื่อการเพาะเลี้ยงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีความเหมาะสมทั้งในด้านพันธุกรรมและการพาณิชย์ ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมจะช่วยในการตัดสินใจได้ง่ายขึ้นในการคัดเลือกประชากรที่มีลักษณะดีมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ เพื่อให้ลูกพันธุ์ปลาที่ผลิตได้มีลักษณะดี แข็งแรง และต้านทานโรค

ในปัจจุบันมีความเจริญก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์อย่างรวดเร็ว การศึกษาทางด้านพันธุกรรมในสัตว์น้ำเริ่มมีบทบาทสำคัญมากยิ่งขึ้น มีการศึกษาความผันแปรในระดับโมเลกุลโดยการใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA markers) หรือลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) เพื่อนำไปใช้ในการจัดจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสัตว์น้ำตั้งแต่ระดับภายในชนิด เพื่อนำมาอธิบายความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการของสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี Welsh and McClelland (1990) และWilliams, *et al.* (1990) ได้พัฒนาเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) จากเทคนิคพีซีอาร์แบบมาตรฐาน ซึ่งเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเออีกแบบหนึ่งที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับดีเอ็นเอของตัวอย่างที่จะศึกษามาก่อน รวดเร็ว ประหยัด และมีวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของสัตว์น้ำหลายชนิดได้แก่ ปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*), blue catfish (*I. furcatus*) และปลา catfish (Liu *et al.*,1998; 1999) หอยเชลล์ (*Crassostrea belcheri*) และหอยในกลุ่ม *Littorina* (Klinbunga *et al.*, 2000; Crossland *et al.*, 1993) และกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Tassanakajonn *et al.*, 1998) ในงานวิจัยนี้จึงนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาความ

หลากหลายทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของปลาหมอไทย เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ด้านการจัดการประมง และด้านการอนุรักษ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างปลาหมอไทยทั้งหมด 3 จังหวัด ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ประชากรปลาหมอไทย อ.พังโคน จ.สกลนคร (SK) อ.นาแก จ.นครพนม (NK) และ อ. กุดข้าวปุ้น จ.อุบลราชธานี (UB) เก็บตัวอย่างจังหวัดละ 6 ตัว โดยตัดบริเวณปลายครีบหางปลาแต่ละตัว แช่เนื้อเยื่อครีบปลาใน absolute ethanol จากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อในตู้แช่อุณหภูมิ -40°C เพื่อรอการสกัด DNA

การสกัดดีเอ็นเอดัดแปลงตามวิธีการของ Asahida *et al*. (1996) ด้วยวิธี Proteinase K/Phenol-Chloroform โดยตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อปลาหมอไทยให้มีน้ำหนัก 50 mg ใส่ใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml ที่วางบนน้ำแข็ง จากนั้นเติมบัฟเฟอร์ TNES-Urea [10 mM Tris-HCl (pH 7.5); 125 mM NaCl; 10 mM EDTA (pH 8.0); 0.5% SDS; 4 M Urea] ปริมาตร 700 ml และเติม Proteinase K (800 μg/ml) ปริมาตร 10 μl เพื่อทำการย่อยโปรตีน นำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 ^{0}C เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเก็บส่วนใสที่อยู่ชั้นบน (Aqueous phase) ใส่หลอดใหม่ จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอโดยการเติม Phenol : Chloroform : Isoamyl alcohol (25:24:1) ปริมาตร 500 μl พลิกหลอดไปมาให้เข้ากัน 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเก็บส่วนใสชั้นบนใส่หลอดใหม่ เติม Chloroform : Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 μl พลิกหลอดไปมาให้เข้ากัน 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเก็บส่วนใสชั้นบนใส่ในหลอดใหม่ ทำการตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยการเติม 3M Sodium acetate (pH 5.2) ปริมาตร 0.1 เท่าของปริมาตรที่ดูดเก็บได้ ร่วมกับการเติม Absolute ethanol (เก็บที่ -20 ^{0}C) ปริมาตร 2 เท่า ของปริมาตรที่ดูดเก็บได้ หลังเติม 3M Sodium acetate เมื่อสังเกตจะเห็นตะกอนสีขาวขุ่น (ถ้าไม่มีตะกอนให้นำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 ^{0}C เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายทิ้งให้หมด ทำการล้างตะกอนดีเอ็นเอโดยการเติม 70% Ethanol (เก็บที่ -20 ^{0}C) ปริมาตร 1 ml แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายทิ้งให้หมด วางหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ตะกอนดีเอ็นเอแห้ง จากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE Buffer ปริมาตร 25 μl นำดีเอ็นเอที่สกัดได้บางส่วนไปตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอ เก็บดีเอ็นเอที่เหลือไว้ที่อุณหภูมิ -20 ^{0}C เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค RAPD

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ 5 แบบ (Table 1) ปฏิกิริยารวม 20 μl ประกอบด้วยส่วนผสมต่างๆ คือ แม่แบบดีเอ็นเอ 20 ng, 10 μl Go Taq® Green Master Mix (Promega,USA), 2.5 mM $MgCl_2$, ไพรเมอร์ 0.6 μM และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 20 μl จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องพีซีอาร์ (Gene Amp® PCR system, 9700) ควบคุมอุณหภูมิที่ตั้งไว้ประกอบด้วย 1) 94 ^{0}C นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ 2) 94 ^{0}C นาน 30 วินาที,

อุณหภูมิในการ annealing 40 ^{0}C นาน 1 นาที และ 72 ^{0}C นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ 3) 72 ^{0}C นาน 10 นาที เมื่อสิ้นสุดการทำพีซีอาร์นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาแยกตามขนาดบน 1.8 เปอร์เซ็นต์อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟริซิส ใน 0.5X TAE บัพเฟอร์ และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (1 µg/ml) โดยใช้ 100 bp DNA ladder เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน

Table 1 Primer codes and sequences for RAPD analysis

Primer codes	Sequences (5'-3')
OPA-01	CAGGCCCTTC
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPB-07	GGTGACGCAG
OPB-10	CTGCTGGGAC
OPC-02	GTGAGGCGTC

การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกข้อมูลรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากประชากรปลาหมอไทยในแต่ละจังหวัดของแต่ละไพรเมอร์ ในลักษณะการเกิดและไม่เกิดแถบดีเอ็นเอบนเจลที่ตำแหน่งเดียวกันโดยเปรียบเทียบตำแหน่งกับดีเอ็นเอมาตรฐาน กำหนดสัญลักษณ์ "1" เมื่อเกิดแถบดีเอ็นเอ และ "0" เมื่อไม่เกิดแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกัน โดยใช้โปรแกรม Gene tools (Syngene, USA) ในการวิเคราะห์ แล้วนำข้อมูลการเกิดและไม่เกิดแถบที่บันทึกมาหาค่าต่างๆ คือ ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (Nei's gene diversity; H), ค่าดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรม (Shannon's information index; SI) ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยรวมของประชากรทั้งหมด (Nei's gene diversity among populations; H_T), ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ยภายในประชากร (Nei's gene diversity within subpopulations; H_S), ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (Coefficient of differentiation; G_{ST}) และค่าการถ่ายเทยีน (Gene flow; N_m) โดยใช้โปรแกรม Popgene เวอร์ชั่น 1.32 (Yeh and Yang, 1999) และใช้โปรแกรม NTSYS-pc2.1 ตามวิธีของ Rohlf (2000) ใช้ในการคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance; D) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี unweighted pair group method with arithmetic means (UPGMA)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของปลาหมอไทยทั้งหมด 3 ประชากร ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 5 ไพรเมอร์ คือ OPA-01, OPA-02, OPB-07, OPB-10 และ OPC-02 พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 42 แถบ มี 14 แถบ เป็น polymorphic loci (33.33 %) มีเปอร์เซ็นต์ polymorphic band อยู่ระหว่าง 18.92 – 26.83 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่พบอยู่ระหว่าง 300-2,500 คู่เบส (Fig 1)

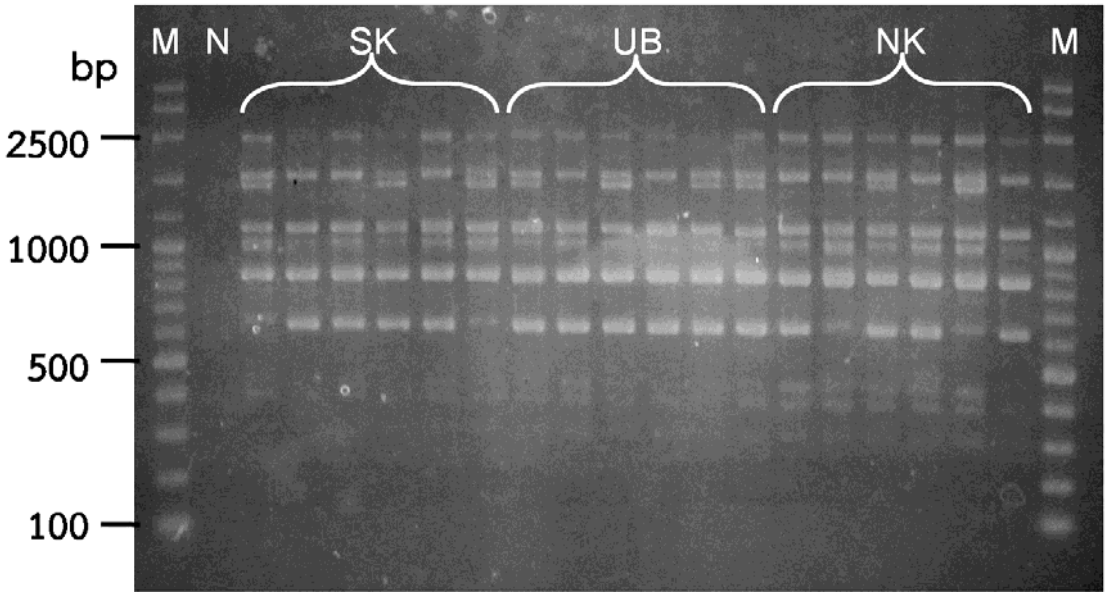

Fig 1 RAPD patterns of *A. testudineus* with primer OPB-07. Lane 1; molecular weight marker -100 bp DNA ladder (M), lane 2; Negative control (N)and lanes 3-8; Sakon Nakhon population (SK), lanes 9-14; Ubon Ratchathani population (UB) and lanes 15-20; Nakhon Panom (NK) population.

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากร พบค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (H) สูงสุดในประชากรสกลนครเท่ากับ 0.09 และต่ำสุดในประชากรนครพนมมีค่าเท่ากับ 0.05 (Table 2) และเมื่อวิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรม (SI) พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเช่นเดียวกัน โดยค่าดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.08 (NK) – 0.14 (SK) (Table 2) แสดงให้เห็นว่าประชากรปลาหมอไทยจากสกลนครมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าประชากรหมอไทยจากนครพนม

Table 2 Genetic diversity in three populations of *A. testudineus* with RAPD

Populations	Total number of	Number of	Percentage of	H	SI
SK	41	11	26.83	0.09	0.14
NK	37	7	18.92	0.05	0.08
UB	40	10	25.00	0.07	0.11
Total	42	14	33.33	0.10	0.15

Remark: SK = Sakon Nakhon population, NK = Nakhon Panom population, UB = Ubon Ratchathani population, H = Nei's gene diversity and SI = Shannon's information index

ความหลากหลายพันธุกรรมโดยรวม (H_T) ของประชากรปลาหมอไทยมีค่าเท่ากับ 0.10±0.02 และมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ยภายในประชากร (H_S) เท่ากับ 0.07±0.01 การถ่ายเทยีน (Nm) ระหว่างประชากรมีค่าเท่ากับ 1.46 (Table 3) ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในปลา *Horabagrus brachysoma* (Muneer *et al*., 2009) และปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) (Kumla *et al*., 2012) ซึ่งมีค่าการถ่ายเทยีน (N_m) เท่ากับ 0.48 ทั้งนี้สาเหตุที่พบการถ่ายเทยีนสูงในการศึกษาครั้งนี้อาจเกิดจากประชากรปลาหมอไทยสามารถเคลื่อนย้ายได้อย่างอิสระโดยไม่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์มาขวางกั้น หรืออาจเกิดจากการถ่ายเทยีนโดยมนุษย์ในการเคลื่อนย้ายประชากรปลาเพื่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจส่งผลให้ปลาแต่ละประชากรมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำสอดคล้องกับค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) ของประชากรปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากร มีค่าเท่ากับ 0.25 (Table 3) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ Muneer *et al*. (2009) และ Kumla *et al*. (2012) ซึ่งมีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) เท่ากับ 0.51

Table 3 Genetic differentiation and population genetic structure for overall populations based on RAPD loci

Primers	Genetic differentiation and population genetic structure (Mean±SD)			
	H_T	H_S	G_{ST}	Nm
OPA-01	0.18±0.06	0.09±0.01	0.48	0.54
OPA-02	0.08±0.02	0.06±0.01	0.24	1.63
OPB-07	0.06±0.02	0.06±0.02	0.05	10.48
OPB-10	0.10±0.02	0.08±0.01	0.23	1.71
OPC-02	0.10±0.03	0.08±0.01	0.23	1.65
Overall populations	0.10±0.02	0.07±0.01	0.25	1.46

Remark: H_T = Nei's gene diversity among populations, H_S = Nei's gene diversity within subpopulations, G_{ST} = Coefficient of differentiation and Nm = Gene flow

การหาค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแบบ dendrograms โดยใช้วิธี UPGMA (Fig 2) ตามวิธีของ Nei and Li (1973) และอาศัยโปรแกรมวิเคราะห์ NTSYS-pc2.1 ตามวิธีของ Rohlf (2000) พบว่า เมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยประชากรสกลนครและประชากรอุบลราชธานี และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยประชากรนครพนม ผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าประชากรปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม โดยประชากรสกลนครและประชากรอุบลราชธานีมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด (Fig 2) ทั้งนี้อาจเกิดจากการเคลื่อนย้ายระหว่างประชากรปลาเพื่อการเพาะเลี้ยงส่งผลให้ประชากรปลาสกลนครมี

ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับประชากรปลาอุบลราชธานีมากกว่าประชากรปลานครพนม ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมทั้ง 3 ประชากร มีค่าอยู่ระหว่าง 0.02-0.10 (Table 4) ซึ่งถือว่ามีค่าต่ำมาก (ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุด (D) = 1.00) และมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) ที่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Sekino and Hara (2000) ซึ่งศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาหมอไทยในแหล่งน้ำธรรมชาติทั้งหมด 7 ประชากร ด้วยเทคนิค allozyme รายงานว่ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.001-0.033

Table 4 Nei's unbiased genetic distance between populations of *A. testudineus*

Populations	SK	UB	NK
SK	****		
UB	0.02	****	
NK	0.10	0.07	****

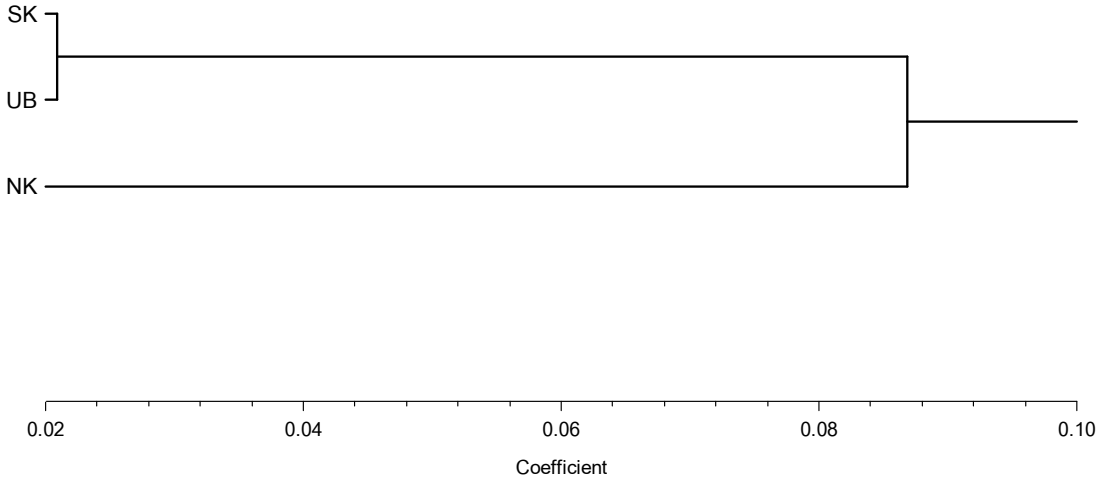

Fig 2 UPGMA dendrogram using Nei's unbiased genetic distance of three populations of *A. testudineus*. SK = Sakon Nakhon population, NK = Nakhon Panom population and UB = Ubon Ratchathani population

สรุปผล

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าประชากรปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากร มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกันค่อนข้างต่ำ สังเกตได้จากค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (H) ค่าดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรม (SI) ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) สามารถสรุปความสัมพันธ์ของปลาหมอไทยทั้ง 3 ประชากร ได้เป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ ๆ คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ประชากรปลาหมอไทยจังหวัดสกลนคร และอุบลราชธานี กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ประชากรปลาหมอไทยจังหวัดนครพนม ซึ่งข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำไปใช้เพื่อพัฒนาและส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาหมอไทยในอนาคต โดยการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อคุณภาพ และเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงปลาหมอไทย อีกทั้งสามารถใช้เพื่อการอนุรักษ์ปลาหมอไทยในแหล่งน้ำธรรมชาติ ให้มีความหลากหลายและสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในธรรมชาติที่มีการเปลี่ยนแปลง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ประจำปีงบประมาณ 2557 ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K. and Nakayama, I. 1996. Tissue preservation and total extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. Fisheries Science 62: 727–730.

Crossland, S., Coates, D., Grahame, J. and Mill, PJ. 1993. Use of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in separating two sibling species of *Littorina*. Marine Ecology Progress Series. 96:301- 305.

Fishery Statistics Analysis and Research Group, Information Technology Center Department of Fisheries. 2014. FISHERIES STATISTICS OF THAILAND 2012. No.9/2014. DEPARTMENT OF FISHERIES. 87 p. (in Thai)

Klinbunga, S., Ampayup, P., Tassanakajon, A., Jarayabhand, P. and Yoosukh, W. 2000. Development of species-specific markers of tropical oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand. Marine Biotechnology. 2:476-484.

Kumla S, Doolgindachbaporn S, Sudmoon R, Sattayasai N. 2012. Genetic variation, population structure and identification of yellow catfish, *Mystus nemurus* (C&V) in Thailand using RAPD, ISSR and SCAR marker. Molecular biology report. 39: 501-510.

Liu, ZJ., Li, P., Argue, B., and Dunham, R. 1998. Inheritance of RAPD markers in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), blue catfish (*I. furcatus*) and their F1, F2 and backcross hybrids. Animal Genetic. 29: 58-62

Liu, ZJ., Li, P., Argue, B., and Dunham, R. 1999. Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation of catfish. Aquaculture. 174: 59-68.

Muneer PM, Gopalakrishnan A, Musammilu KK, Mohindra V, Lal KK, Basheer VS and Lakra WS. 2009. Genetic variation and population structure of endemic yellow catfish, *Horabagrus brachysoma* (Bagridae) among three populations of Western Ghat region using RAPD and microsatellite markers. Mol Biol Rep 36:1779-1791. doi: 10.1007/s11033-008-9381-6

Nei, M. and Li, W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceeding of the National Academy Sciences. 76: 5269-5278.

Rohlf, F.J. 2000. Numerical taxonomy and Multivariate Analysis System. NTSYS-pc. Department of Ecology and Evolution. State University of New York. New York.

Sekino, M. and Hara, M., 2000. Genetic characteristics and relationships of climbing perch *Anabus testudineus* populations in Thailand. Fisheries Science 66: 840-845.

Smith, H.M. 1945. The freshwater fish of Siam or Thailand. United States Government Printing Office, Washington D.C. 622 pp.

Tassanakajon, A., Pongsomboon, S., Jarayabhand, P.and Klinbunga,S. 1998. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Marine Biotechnology. 6:249-254.

Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genome using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research. 18: 7213-7218.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18: 6531-6535.

Yeh FC and Yang RC. 1999. POPGENE VERSION 1.32 Microsoft Window-based freeware for Population Genetic Analysis, Quick User Guide. University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research.