

## คาริโอไทป์และอิดิโอแกรมของปลาปักเป้ากล่องเขาวัว

(*Lactoria cornuta* Linnaeus, 1758) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์

Karyotype and Idiogram of Longhorn Cowfish (*Lactoria cornuta* Linnaeus, 1758)

by Conventional Staining and Ag-NORs Banding Techniques

วิวรรณ แสงภักดี

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 64 ถ.ทหาร ต.หมากแข้ง อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000

Corresponding author, E-mail: wiwatsang@gmail.com

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาคาริโอไทป์และอิดิโอแกรมของปลาปักเป้ากล่องเขาวัว (*Lactoria cornuta* Linnaeus, 1758) ใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 1 ตัว จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต เตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรงจากไตด้วยวิธีการสับให้ละเอียด ย้อมสีโครโมโซมด้วยสี Giemsa's และย้อมแถบสีแบบบอร์ ผลการศึกษาพบว่า ปลาปักเป้ากล่องเขาวัวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number, NF) เท่ากับ 54 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย คาริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 12 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 28 แห่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง เป็นรายงานแรกที่พบตำแหน่งนอร์ (NORs) บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 2 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ มีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้  $2n (48) = L^m_2 + L^a_4 + L^t_{12} + M^t_{28} + S^t_2$

**คำสำคัญ:** ปลาปักเป้ากล่องเขาวัว โครโมโซม คาริโอไทป์ อิดิโอแกรม

### Abstract

This research aimed to examine karyotype and idiogram of longhorn cowfish (*Lactoria cornuta* Linnaeus, 1758) which obtained from Phuket Costal Fisheries Research and Development. The kidney cells from each male and female individual were gently minced using direct method for metaphase chromosome preparation. The conventional staining and Ag-NORs staining techniques were applied to stain the chromosomes. The results showed that the numbers of diploid chromosome (2n) of longhorn cowfish are 48 and fundamental number are 54 in both male and female. The karyotype was composed of large metacentric (2), large acrocentric (4), large telocentric (12), medium telocentric (28) and small telocentric chromosomes (2). Moreover, we found that the NORs bearing chromosome were detected on the short arm of the large acrocentric chromosome pairs 2. The karyotype formula is as follows:  $2n (48) = L^m_2 + L^a_4 + L^t_{12} + M^t_{28} + S^t_2$ .

**Keywords:** Longhorn cowfish (*Lactoria cornuta*), chromosome, karyotype, idiogram

## คำนำ

ปลาปักเป้ากล่องเขาวัว (*Lactoria cornuta* Linnaeus, 1758) เป็นปลาที่มีขนาดเล็ก ลำตัวมีสีเหลืองมีจุดสีฟ้ากระจายทั่วลำตัวยกเว้นส่วนท้องและครีบ ลำตัวมีลักษณะเหลี่ยมคล้ายกล่อง มีลักษณะเด่นคือบริเวณหัวและที่สันขอบด้านท้องท้ายสุดของลำตัวจะมียางค์แหลมลักษณะคล้ายเขาสัตว์ยื่นออกมา 1 คู่ จัดอยู่ในอันดับ (Order) Tetraodontiformes วงศ์ปลาปักเป้ากล่อง (family Ostraciidae) มักพบในทะเลเขตร้อน มีการกระจายพันธุ์ตามแนวปะการังใกล้ปากแม่น้ำบริเวณมหาสมุทรอินเดียฝั่งตะวันตกไปจนถึงมหาสมุทรแปซิฟิก (Goren and Dor, 1994) ในน่านน้ำไทยพบได้ทั้งภาคใต้ฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย จากรายงานวิจัยพบว่าทั่วโลกมีปลาปักเป้าทั้งหมด 19 สกุล (Genus) 121 ชนิด (Species) (Nelson, 1994) ส่วนในประเทศไทย Smith (1945) และ Vidthayanon *et al.* (1997) รายงานว่ามีปลาปักเป้าที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดจำนวน 12 ชนิด ในจำนวนนี้มีพิษที่เรียกว่า Tetrodotoxin ซึ่งทำให้ระบบประสาทล้มเหลวและเสียชีวิตได้

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ยังมีรายงานการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาปักเป้าไม่กี่ชนิด ซึ่งประเทศญี่ปุ่น Arai and Nakaiwa (1976) ศึกษาปลาปักเป้ากล่องชนิด *Lactoria diaphana* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม  $2n=36$  แห่ง ขณะที่ Iwami *et al.* (1992) ศึกษาปลาปักเป้ากล่อง 3 ชนิด ได้แก่ *L. cornuta*, *L. diaphana* และ *L. fornasini* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม  $2n=48$ , 48 และ 34 ตามลำดับ ในประเทศไทย Donsakul *et al.* (2008) ได้รายงานการศึกษาคาริโอไทป์ปลาปักเป้า 4 ชนิด ได้แก่ *Monotretre baileyi*, *M. fangi*, *M. nigroviridis* และ *M. palembangensis* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม  $2n=40$ , 40, 42 และ 36 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเป็นที่มาของผู้วิจัยที่ต้องการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาปักเป้าชนิด *L. cornuta* ไว้เป็นรายงานครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งจะทำได้ข้อมูลพื้นฐานนำไปประยุกต์ใช้ในด้านเซลล์อนุกรมวิธาน (cytotaxonomy) และใช้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลาในกลุ่มนี้ที่พบในประเทศไทย

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลาเพศผู้ 1 ตัว และเพศเมีย 1 ตัว โดยได้รับความอนุเคราะห์จากเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต นำปลามาเลี้ยงไว้ในตู้อย่างน้อยเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาได้ปรับสภาพร่างกาย จากนั้นทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ปลาเพื่อทำการระบุชนิดกับฐานข้อมูลออนไลน์ FishBase

### 2. การเตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรง (direct method)

อวัยวะที่ใช้ คือ ไต เนื่องจากเป็นอวัยวะที่มีการแบ่งเซลล์ตลอดเวลา วิธีการเตรียมดัดแปลงจากวิธีของ Chen and Ebeling (1968) และ Nanda *et al.* (1995) โดยสังเขป คือ ชั่งน้ำหนักปลาจากนั้นฉีดสารโคลชิซิน (Colchicine) เข็มข้น 0.05% (ฉีด 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักปลา 100 กรัม) ปลอ่ยปลาให้ว่ายน้ำปกติ 1 ชั่วโมง จากนั้นสลบปลาด้วยน้ำแข็ง และผ่าเอาไตโดยนำมาสับให้ละเอียดในสารละลาย KCl เข็มข้น 0.075 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใน Petri dish ภายใน 10 นาที ย้ายเซลล์สารละลายใส่หลอดนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบ

ต่อมาที่เป็นเวลา 8 นาที ปั่นเสร็จเทส่วนผสมทิ้งแล้วเติมน้ำยาคงสภาพ (Canoy's fixative) ที่ละน้อยจนได้ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและเวลาเท่าเดิม จากนั้นเทสารละลายส่วนบนทิ้ง แล้วเติมน้ำยาคงสภาพอีกในปริมาตรเท่าเดิม ทำซ้ำจนกว่าสารละลายจะใส (ประมาณ 3 รอบ) ทำการเจือจางตะกอน เซลล์ในปริมาตรพอเหมาะโดยเติมน้ำยาคงสภาพลงไปปริมาตร 3 เท่าของปริมาณตะกอนเซลล์

### 3. การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

ย้อมสไลด์โครโมโซมด้วยสีจิมซาความเข้มข้น 20% ที่เตรียมจาก stock Giemsa's solution ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) pH 6.8 เป็นเวลา 45 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในอากาศ นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

### 4. การย้อมแถบสีแบบบอร์

ดัดแปลงจากวิธีการของ Howell and Black (1980) ดังนี้ อบสไลด์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชั่วโมง หยดซิลเวอร์ไนเตรท 50% (50% AgNO<sub>3</sub>) ลงบนสไลด์ 2 หยด และหยดเจลาติน 2% (2% Gelatin) 4 หยด ลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที ล้างซิลเวอร์ไนเตรทส่วนเกินออกด้วยน้ำประปา ผึ่งสไลด์ให้แห้ง ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ส่วนการตรวจสอบโครโมโซม การจัดคาริโอไทป์ และการทำอิดิโอแกรม ดัดแปลงจากวิธีการของ Levan *et al.* (1964)

## ผลการวิจัย

### 1. ผลการตรวจสอบและนับจำนวนโครโมโซม

จากการนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟสจำนวน 100 เซลล์ พบว่าปลาปักเป้ากล่องเขาวัว (*L. cornuta*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แห่ง เนื่องจากเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 48 แห่ง มีความถี่มากที่สุด คือ 62 เซลล์ (Table 1)

### 2. คาริโอไทป์ และอิดิโอแกรม โดยการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบบอร์

จากการนำค่าที่ได้จากการวัดความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง และการจำแนกชนิดของโครโมโซม โดยยึดค่า Centromeric index (CI) ทำให้สามารถจัดทำคาริโอไทป์ของปลาเทศผู้ (Figure 1) และปลาเทศเมีย (Figure 2) ได้และพบว่าปลาปักเป้ากล่องมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number, NF) เท่ากันในทั้งสองเพศ คือ 54 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 12 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 28 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง (Table 2) เมื่อนำค่าจากการวัดขนาดของโครโมโซม 10 เซลล์ มาเฉลี่ยทำให้สามารถทำอิดิโอแกรม (Figure 3) ของปลาชนิดนี้ได้ ซึ่งมีประโยชน์ในการวิเคราะห์โครโมโซมได้สะดวกมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาจากคาริโอไทป์

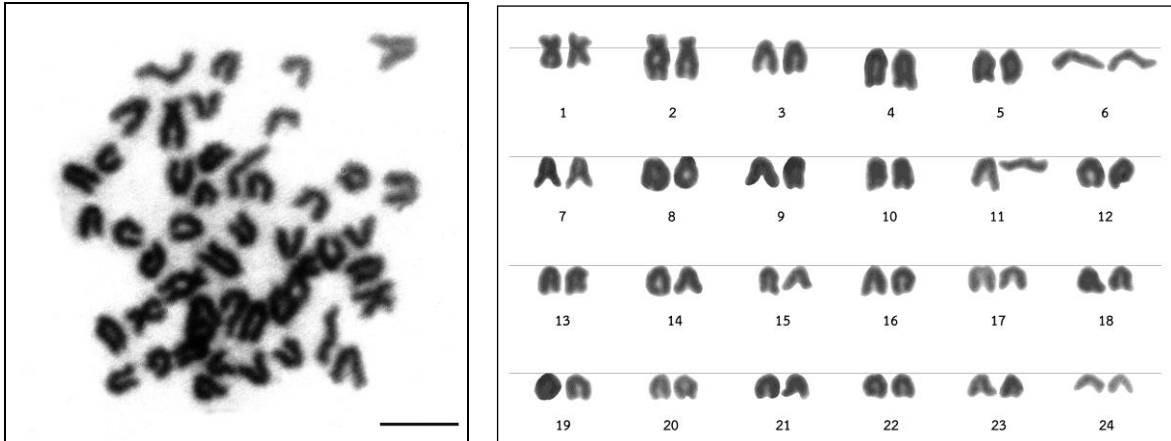
นอกจากนี้การรายงานครั้งนี้ถือเป็นการครั้งแรกที่พบตำแหน่งนอร์ (NORs) บริเวณปลายเทโลเมียร์ (telomere) บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 2 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ (Figure 4) แต่ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศ การศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้สูตรคาริโอไทป์ของปลาปักเป้ากล่องเขาวัว ดังนี้

$$2n (48) = L^m_2 + L^a_4 + L^t_{12} + M^t_{28} + S^t_2$$

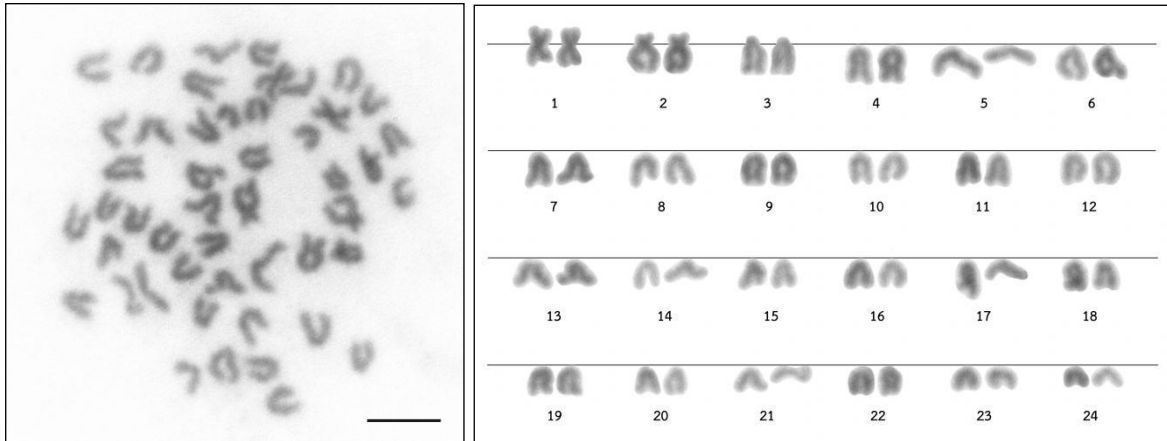
**Table 1** The result of chromosome counting from the total of 100 Metaphase cells.

Number of chromosome	Number of cell (cell)
46	12
47	15
48	62*
>48	11
<b>Total</b>	<b>100</b>

\* The highest frequency of cells which have 48 chromosomes.



**Figure 1** Metaphase plate cell (left) and karyotype of male Longhorn cowfish (*L. cornuta*)  $2n = 48$  by conventional staining (right). Scale bar indicates 5 micrometer.



**Figure 2** Metaphase plate cell (left) and karyotype of female Longhorn cowfish (*L. cornuta*)  $2n = 48$  by conventional staining (right). Scale bar indicates 5 micrometer.

**Table 2** Length of short arm (Ls), length of long arm (LI), length of total chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI), standard deviation (SD) of RL and CI, Size and chromosomes type from means of 10 metaphase chromosomes of *L. cornuta*

Pairs	LS	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Sizes	Types
1	1.13	1.50	2.64	0.05±0.002	0.57±0.026	Large	Metacentric
*2	0.82	2.31	3.14	0.06±0.006	0.73±0.029	Large	Acrocentric
3	0.31	2.21	2.52	0.04±0.005	0.87±0.028	Large	Acrocentric
4	0.00	2.72	2.72	0.05±0.003	1.00±0.000	Large	Telocentric
5	0.00	2.54	2.54	0.04±0.001	1.00±0.000	Large	Telocentric
6	0.00	2.46	2.46	0.04±0.001	1.00±0.000	Large	Telocentric
7	0.00	2.41	2.41	0.04±0.001	1.00±0.000	Large	Telocentric
8	0.00	2.39	2.39	0.04±0.001	1.00±0.000	Large	Telocentric
9	0.00	2.33	2.33	0.04±0.001	1.00±0.000	Large	Telocentric
10	0.00	2.30	2.30	0.04±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
11	0.00	2.25	2.25	0.04±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
12	0.00	2.22	2.22	0.04±0.000	1.00±0.000	Medium	Telocentric
13	0.00	2.17	2.17	0.04±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric

Pairs	LS	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Sizes	Types
14	0.00	2.13	2.13	0.04±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
15	0.00	2.10	2.10	0.04±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
16	0.00	2.04	2.04	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
17	0.00	2.00	2.00	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
18	0.00	1.95	1.95	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
19	0.00	1.90	1.90	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
20	0.00	1.86	1.86	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
21	0.00	1.80	1.80	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
22	0.00	1.70	1.70	0.03±0.001	1.00±0.000	Medium	Telocentric
23	0.00	1.59	1.59	0.03±0.002	1.00±0.000	Medium	Telocentric
24	0.00	1.49	1.49	0.02±0.002	1.00±0.000	Small	Telocentric

\* NORs bearing chromosomes

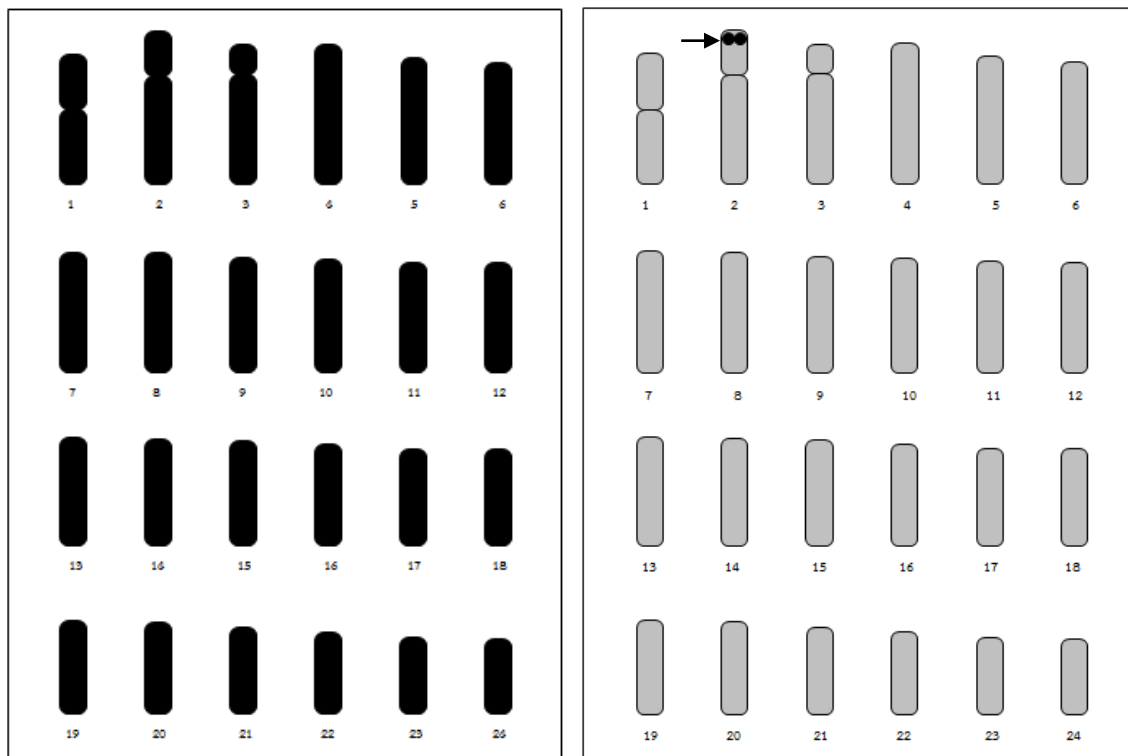


Figure 3 Idiogram of *L. cornuta* demonstrated the haploid set ( $n = 24$ ) by conventional staining (left) and Ag-NORs staining techniques (right). Arrow indicates NORs location.

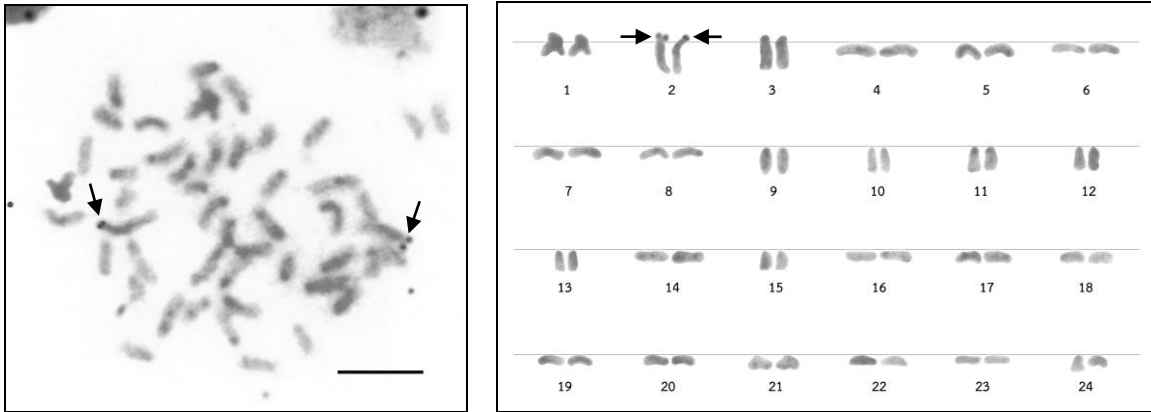


Figure 4 Metaphase plate cell (left) and karyotype of longhorn cowfish (*L. cornuta*)  $2n = 48$  by Ag-NORs staining (right). Scale bar indicates 5 micrometer. Arrows indicate NORs location.

### สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ปลาปักเป้ากล่องสกุล *Lactoria* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ คือ 34, 36 และ 48 แห่ง การศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาปักเป้ากล่องเขาวัว (*L. cornuta*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 48 แห่ง (24 คู่) สอดคล้องกับรายงานของ Iwami *et al.* (1992) ซึ่งรายงานไว้เท่ากัน แต่มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 54 ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ Iwami *et al.* (1992) ที่รายงานไว้ว่าปลาปักเป้ากล่องเขาวัวมีโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 52 เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ได้จัดโครโมโซมคู่ที่ 3 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก (อ้างอิงจากค่า Centromeric index) ทำให้จำนวนโครโมโซมพื้นฐานมีค่าที่แตกต่างกัน สาเหตุดังกล่าวอาจเนื่องมาจากปลาที่นำมาศึกษาครั้งนี้เป็นปลาต่างกลุ่มประชากรกัน เช่น การศึกษาของ Stivari and Matins-Santos (2004) พบว่าปลา *Rhamdia quelen* ที่ศึกษาจากสองแหล่งน้ำในประเทศบราซิล มีคาริโอไทป์ที่แตกต่างกันในขณะที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ  $2n=58$  แห่ง

จากการวิเคราะห์คาริโอไทป์ของปลาปักเป้ากล่องเขาวัวในครั้งนี้ พบว่ามีโครโมโซมจัดเป็น 3 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ (คู่ที่ 1 - 9) ขนาดกลาง (คู่ที่ 10 - 23) และขนาดเล็ก (คู่ที่ 24) และสามารถแบ่งโครโมโซมได้เป็น 3 ชนิด คือ เมทาเซนทริก (คู่ที่ 1) อะโครเซนทริก (คู่ที่ 2 และ 3) และเทโลเซนทริก (คู่ที่ 4 - 24) ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาของ Arai and Nakaiwa (1976) และ Iwami *et al.* (1992) รายงานว่าพบโครโมโซมชนิด เมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก และเทโลเซนทริก ซึ่งพบว่ามีรายงานความแตกต่างของคาริโอไทป์ที่เกิดกับปลาชนิดเดียวกันในลักษณะนี้เช่นกัน ได้แก่ ปลาพรม (*Osteochilus melanopleura*) คาริโอไทป์ประกอบด้วย  $36m+10sm+2st+2a$  (Donsakul and Magtoon, 2538) และ  $36m+10sm+4t$  (Donsakul *et al.*, 2544) ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasselti*) คาริโอไทป์ประกอบด้วย  $30m+14sm+6st$  (Magtoon and Arai, 1990) และ  $26m+14sm+6st+4a$  (Donsakul *et al.*, 2544) และปลาร่องไม้ตับ (*O. vittatus*) คาริโอไทป์ประกอบด้วย  $16m+30sm+4t$  (Magtoon and Arai, 1990) และ  $26m+10sm+14a$  (Donsakul, 2540) ซึ่ง คาริโอไทป์ที่

แตกต่างกันนี้มาจากการศึกษาในปลาต่างกลุ่มประชากรกัน และการศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่พบตำแหน่งของนอร์บนแซนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 2 บริเวณเทโลเมียร์อีกด้วย การศึกษาคาร์ิโอไทป์ครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งจากการตรวจสอบพบว่ายังไม่มีผู้ใดรายงานถึงโครโมโซมเพศในปลาชนิดนี้เช่นกัน

อย่างไรก็ตามการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาปักเป้าสกุล *Lactoria* และสกุลอื่น ๆ ในประเทศไทย ยังมีรายงานไม่มากนัก จึงควรมีการวิจัยเพิ่มเติมกับปลาปักเป้าชนิดอื่น ๆ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านเซลล์อนุกรมวิธานและการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลาปักเป้า

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี และศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ สาระเคมี และตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- Arai, R. and Nagaiwa, K. 1976. Chromosomes of tetraodontiform fishes from Japan. Bulletin of the National Science Museum Tokyo 2: 59-72.
- Chen, T. R. and Ebeling, A. W. 1968. Karyological evidence of female heterogamety in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. Copeia 1: 70-75.
- Donsakul, T. 1997. A chromosome study on four species of Cyprinid fishes, *Cirrhinus jullieni*, *Osteochilus vittatus*, *Acrossocheilus deauratus* and *Danio regina*, from Thailand. In: 35<sup>th</sup> Conference of Kasetsart University, Fisheries: 155-164. [in Thai]
- Donsakul, T. and Magtoon, W. 1995. Karyotypes of four Cyprinid fishes, *Osteochilus melanopleura*, *Puntioplites proctozysron*, *Paralaubuca riveroi* and *Rasbora sumatrana* from Thailand. In: 33<sup>rd</sup> Conference of Kasetsart University, Fisheries: 128-138. [in Thai]
- Donsakul, T., Magtoon, W. and Phupittayasathaporn, A. 2001. Karyotypes of *Cirrhinus jullieni*, *Mystus multiradiatus*, *Osteochilus hasseltii* and *Osteochilus melanopleura* in Thailand. In: 12<sup>nd</sup> Genetics seminar Kasetsart University, Bangkok: 218-221. [in Thai]
- Donsakul, T., Rangsiruji, A. and Magtoon, W. 2008. Karyotypes of pufferfishes (Tetraodontidae): *Monotrete baileyi*, *M. fangi*, *M. nigroviridis* and *M. palembangensis* from Thailand. In: 34<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand. [in Thai]
- Goren, M. and Dor, M. 1994. An updated checklist of the fishes of the Red Sea CLOFRES II. 1<sup>st</sup>ed. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, Israel.



- Howell, W. M. and Black, D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia (Basel.)* 36: 1014-1015.
- Iwami, T., Ogawa, A. and Matsuura, K. 1992. Karyotypes in three species of the boxfish genus *Lactoria*. In: Advance Abstracts for 25<sup>th</sup> Annual Meeting 1992. The Ichthyological Society of Japan. Japan, p. 50.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Magtoon, W. and Arai, R. 1990. Karyotype of three Cyprinid fishes, *Osteochilus husselti*, *O. vittatus* and *Labiobarbus lineatus*, from Thailand. *Japan. J. Ichthyol.* 36(4): 483-486. [in Thai]
- Nanda, I., Schsrtil, M., Feichtinger, W., Schlupp, I., Parzefall, J. and Schmid, M. 1995. Chromosomal evidence for laboratory synthesis of triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia formosa* and its host species. *Journal of Fish Biology* 47: 619-623.
- Nelson, J. S. 1994. *Fishes of the World*. 3<sup>rd</sup>. John Wiley & Sons., New York. 600 p.
- Smith, H. M. 1945. *The Fresh-water fishes of Siam, or Thailand*. Jersey. T.F.H. Publication, Inc.
- Stivari, M. K. and Martins-Santos, I. C. 2004. Karyotype diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). *Cytologia*. 69 (1): 25-34.
- Vidthayanon, C., Karnasuta, J. and Nabhitabhata, J. 1997. Diversity of freshwater fishes in Thailand. Integrated promotion technology Company Ltd., Bangkok. 102 p. [in Thai]