

## ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรูปแบบหางในปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*)

### โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ เอเอฟแอลพี

#### Phylogenetic Relationship of Tail Patterns in Guppy (*Poecilia reticulata*)

#### Using AFLP Marker

สุไหลหมาน หมาดโหยด<sup>1,2</sup> สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวิ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช 80110

<sup>2</sup>หน่วยวิจัยกุ้ง สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80160

#### บทคัดย่อ

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรูปแบบหางในปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเอเอฟแอลพี ในตัวอย่างปลาหางนกยูง 10 รูปแบบหางคือ Pin spade, Bottom sword tail, Round spade, Top sword tail, Double sword tail, Swallow fin, Spear spade, Ribbon tail, V-tail และ Lyre-tail จากการศึกษาด้วย AFLP จำนวน 10 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดระหว่าง 100-500 คู่เบส จำนวน 43-98 แถบดีเอ็นเอต่อคู่ไพรเมอร์ และมีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง 18-78 แถบดีเอ็นเอ ซึ่งคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ระหว่าง 41.9 - 87.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYSpc พบว่าประชากรปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าระหว่าง 67 - 80 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Pin spade Bottom sword tail และ Round spade กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Double sword tail Swallow fin และ Ribbon tail กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยรูปแบบหาง V-tail และ Lyre-tail และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Top sword tail และ Spear spade ผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยโดยปลาหางนกยูงรูปแบบหาง Bottom sword tail และ Round spade มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมมากที่สุด

#### Abstract

Phylogenetic relationship of tail patterns in guppy (*Poecilia reticulata*) was analyzed using AFLP marker in 10 tail patterns consisting of pin spade, bottom sword tail, round spade, top sword tail, double sword tail, swallow fin, spear spade, ribbon tail, V-tail and lyre-tail. DNA patterns generated from a total of 10 AFLP primer combinations were used to construct phylogenetic dendrogram by UPGMA using NTSYSpc program. Average genetic similarity among tail patterns varied from 67 – 80%. Phylogenetic analysis shows that the ten tail patterns could be divided into

four major clades consisting of a group of Pin spade, Bottom sword tail, Round spade, a group of Double sword tail, Swallow fin, Ribbon tail, a group of V-tail, Lyre-tail and a group of Top sword tail, Spear spade. However, low genetic variation was found under numbers of markers used. This study also established AFLP technology as a feasible approach in trait identification of tail patterns in guppy.

## คำนำ

ปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) เป็นปลาน้ำจืดสวยงามขนาดเล็กชนิดหนึ่ง ที่มีลักษณะเด่นคือ ลำตัวและครีบบีมีลวดลายและสีสันทากหลายรูปแบบ สดสวยสะดุดตา ครีบหางมีขนาดใหญ่มาก โดยเฉพาะในปลาเพศผู้ ซึ่งนอกจากจะมีครีบหางที่ยาวเป็นพวง พริ้วแผ่กว้างสวยงามขณะว่ายน้ำแล้ว ยังมีลักษณะรูปร่างของครีบหางแตกต่างกันออกไปหลายรูปแบบ ทำให้ผู้เพาะขยายพันธุ์มีความเพลิดเพลินตา ในทางธุรกิจปลาหางนกยูงยังสามารถสร้างรายได้ให้กับผู้เพาะขยายพันธุ์ อีกทั้งการขยายพันธุ์ทำได้ง่ายและมักนิยมเพาะขยายข้ามสายพันธุ์ เพื่อให้มีสายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้น จึงทำให้ผู้ประกอบการธุรกิจการเพาะพันธุ์ปลาหางนกยูงได้พยายามใช้หลักวิชาการทางด้านพันธุกรรมดำเนินการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีลักษณะเด่นตามความต้องการมาเพาะพันธุ์ จนได้ปลาหางนกยูงสายพันธุ์แปลกใหม่และสวยงามมากมายหลายสายพันธุ์ การพัฒนาสายพันธุ์ปลาหางนกยูงโดยหลักการพันธุศาสตร์ ปัจจุบันเข้ามามีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ปลาซึ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งสำคัญ

ลักษณะที่สะดุดตาของปลาหางนกยูงนอกจากสีสันทและลวดลายบริเวณลำตัวและหางแล้วลักษณะและรูปแบบของหางมีความน่าสนใจเช่นกัน เนื่องจากครีบหางของปลาหางนกยูงมีขนาดใหญ่ ยาวและมีหลากหลายรูปแบบ

ครีบหางของปลาหางนกยูงเป็นส่วนที่เด่นที่สุด การคัดพันธุ์จึงเน้นที่รูปแบบของหางเป็นสิ่งสำคัญประการหนึ่งและจากการคัดพันธุ์ติดต่อกันมาเป็นเวลานาน ปัจจุบันมีรูปแบบของหางต่างๆ หลายแบบ ซึ่งกรมประมง (มปป.) ได้แบ่งกลุ่มลักษณะหรือรูปแบบหางเพื่อการประกวด คือ

1. Spade tail เป็นรูปแบบที่มีรูปแบบหางคล้ายจอบหรือเสียม ซึ่งแบ่งเป็น 3 แบบ ได้แก่

1.1. Round spade ครีบหางจะมีลักษณะค่อนข้างกลม ปลายมนและสั้น ครีบหลังอาจจะแหลมและกลม

1.2. Pointed spade ครีบหางจะมีรูปร่างค่อนข้างกลมแต่ก้านครีบบริเวณตรงกลางยื่นยาวออกมาตรงจุดกึ่งกลางของปลาครีบหางมีลักษณะแหลมคล้ายปลายพู่กัน

1.3. Spear spade รูปแบบครีบหางที่มีลักษณะคล้ายหอก หรือคล้ายฉมวก(ปลายแหลม) ซึ่งมีลักษณะคล้ายครีบหางพู่กันแต่จะกว้างกว่าเล็กน้อย ครีบหลังจะแผ่ยื่นยาวโดยมีขนาดความยาว 1 ใน 3 ของความยาวครีบหาง

2. Sword tail

2.1 Bottom sword tail ครีบทางเป็นรูปไข่เหมือนกับหางดาบบน (top sword) ก้านครีบทางของครีบทางด้านล่างจะยื่นยาวคล้ายดาบ ครีบทางหลังยื่นยาวเลยครีบทางประมาณ 1 ใน 3 ของครีบทาง

2.2 Top sword tail ครีบทางจะมีลักษณะค่อนข้างกลม ปลายมนและสั้น ครีบทางหลังอาจจะแหลมและกลม ครีบทางจะมีรูปไข่ และครีบทางจะยื่นยาวเฉพาะด้านบน

2.3 ก้านครีบทางทั้งบนและล่างจะยื่นยาวออกมาคล้ายดาบ

2.4 เป็นครีบทางที่มีลักษณะคล้ายตัววี (V) แต่ขอบด้านบนและด้านล่างของครีบทางมีลักษณะโค้ง

2.5 มีลักษณะคล้ายฟินโบราธ เนื่องจากตรงกึ่งกลางปลายครีบทางจะเว้าเข้าไป จัดอยู่ในพวกหางดาบ มีความยาวเป็นเศษ 4 ส่วน 5 ของความยาวลำตัว ครีบทางยาวเศษ 1 ส่วน 3 ของความยาวครีบทาง

3. Wide tail มีลักษณะกว้างและยาวใหญ่ และแบ่งออกเป็น

3.1 Delta tail หรือ Triangle tail มีลักษณะคล้ายรูปสามเหลี่ยมโดยขอบครีบทางด้านบนและล่างจะเป็นเส้นตรงทำมุม 70 องศา ความยาวของครีบทางอย่างน้อยต้องมีความยาวเท่ากับครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว และมุมปลายหางไม่โค้งมน ครีบทางกว้างและปลายครีบทางมีความยาวถึงคอคอดหาง ครีบทางตั้งตรงหรือแผ่กว้าง

3.2 Ribbon tail ครีบทางมีลักษณะยาวมากแต่ขนาดจะไม่กว้างนัก

3.3 Fan tail มุมปลายครีบทางด้านบนและล่างโค้งมนไม่ตัดตรงเหมือนรูปสามเหลี่ยม Fan tail แบ่งเป็น 2 แบบ คือ American fan tail และ European fan tail ทั้ง 2 แบบนี้ ครีบทางจะทำมุม 45 องศากับลำตัว

4. Pintail เป็นหางที่มีลักษณะกลมเช่นเดียวกัน Round tail แต่ก้านครีบทางบริเวณกึ่งกลางของครีบทางจะยื่นยาวออกไปเป็นเส้น

5. Spear tail หรือ Lace tail เป็นครีบทางที่แผ่กว้างออกเล็กน้อย จากบริเวณโคนหาง แล้วค่อยๆ เรียวแหลมไปทางด้านปลายหางลักษณะคล้ายใบโพธิ์

6. Spade tail หรือ Coffer tail คล้าย Spear tail แต่ปลายหางจะไม่เรียวแหลมเหมือน spear tail ส่วนของปลายหางจะมีรูปร่างเหมือนครึ่งหนึ่งของสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน

7. Flag tail ได้แก่ หางที่มีลักษณะยาวเป็นรูปสี่เหลี่ยมคล้ายผืนธง

โดยทั่วไปการปรับปรุงพันธุ์สัตว์จะทำการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะคุณภาพ (qualitative traits) ซึ่งเป็นลักษณะต่างๆที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากผลรวมของการทำงานร่วมกันโปรตีนต่างๆ กระบวนการปรับปรุงพันธุ์เป็นกระบวนการที่นำเอาลักษณะทางพันธุกรรมต่างๆที่ต้องการในสิ่งมีชีวิตมาใช้ และมีความจำเป็นที่ต้องใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำในการแยกความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกในสิ่งมีชีวิตในสายพันธุ์ที่แตกต่างกันได้

ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีเกี่ยวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอในการวิจัยเกี่ยวกับพันธุศาสตร์สัตว์น้ำมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ประโยชน์ของเครื่องหมายดีเอ็นเอโดยทั่วไปที่นิยมศึกษา เช่น กำหนดหรือระบุตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมที่ศึกษา

นอกจากนี้ ยังนำมาใช้เป็นเครื่องหมายติดตามหน่วยพันธุกรรมหรือยีนของสิ่งมีชีวิตได้ ความแตกต่างที่พบจากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอตรวจสอบพันธุกรรมจากสิ่งมีชีวิตต่างชนิดเกิดขึ้นจากการเรียงตัวของลำดับของนิวคลีโอไทด์ในสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีความแตกต่างกัน ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษาได้

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะโดยการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR จึงเป็นการผสมระหว่างวิธี RFLP และเทคนิค PCR เข้าด้วยกัน มีรายงานการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP ในการศึกษาจีโนมิกดีเอ็นเอ (Vos *et al.*, 1995) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำสูงในการตรวจสอบความหลากหลาย มีความไวกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิค RAPD ดังนั้นการค้นหาเครื่องหมายทางดีเอ็นเอ AFLP เพื่อใช้ตรวจสอบการแสดงออกทางพันธุกรรมของรูปแบบทางของปลาหางนกยูง ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของรูปแบบทางจำนวน 10 รูปแบบในปลาหางนกยูง โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP และเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการค้นหายีนที่เกี่ยวข้องกับรูปแบบทางแต่ละรูปแบบของปลาหางนกยูง ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับคือจะได้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมของรูปแบบทางปลาหางนกยูง และได้ข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปใช้ในการสร้างแผนที่พันธุกรรมเพื่อค้นหายีนที่เกี่ยวข้องกับรูปแบบทางแต่ละรูปแบบของปลาหางนกยูงในอนาคตต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### วิธีการวิจัย

#### 1.1 การเตรียมตัวอย่าง

คัดเลือกตัวอย่างปลาหางนกยูงที่มีรูปแบบทางที่แตกต่างกัน จำนวน 10 รูปแบบทาง จากนั้นนำมาสกัดดีเอ็นเอ

#### 1.2 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากลำตัวของปลาหางนกยูง ตามวิธีการของ Wuthisuthimethavee (1999)

#### 1.3 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีอิลคโตรโฟรีซิสบนอกาโรสเจล 1 % เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ( $\lambda$ DNA) ปริมาณ 100, 300, 500 และ 700 ng จาก pool DNA (รวม DNA) และนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP จำนวน 10 primer combinations

#### 1.4 การวิเคราะห์ AFLP

การวิเคราะห์ AFLP โดยดัดแปลงวิธีการของ Vos *et al.* (1995) โดยมีขั้นตอนดังนี้

##### 1.4.1 การตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะและการเชื่อมต่อดีเอ็นเอกับ adapter

##### 1.4.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในขั้นแรก (preamplification)

1.4.3 การคัดเลือกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (selective amplification)

1.4.4 เมื่อสิ้นสุดการคัดเลือกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (selective amplification) นำตัวอย่างที่ได้มา ตรวจสอบด้วย 1% agarose gel ย้อมด้วย ethidium bromide staining และตัวอย่างที่เหลือผสม loading buffer นำไปวิเคราะห์ด้วย 5% denaturing polyacrylamide gel และการย้อมสีด้วยซิลเวอร์ไนเตรท

### การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์

เก็บข้อมูลจากอัลลีลหรือซันดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP ของรูปแบบทางปลาหางนกยูงและคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม ตามวิธีการศึกษาของแวลลี (2545) โดยการนำข้อมูลซึ่งอยู่ในรูปของแถบดีเอ็นเอมาแปลงให้อยู่ในรูปที่จะนำไปวิเคราะห์ (ข้อมูลเชิงปริมาณ) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average) ด้วยโปรแกรม NTSYSpc V. 1.8 (Rohlf, 1995) โดยใช้สูตรของ Nei และ Li (1997) หลังจากวิเคราะห์ผลแล้วจะแสดงผลในรูปของ phylogenetic tree ซึ่งเป็นการแสดงค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

### ผลการวิจัย











#### 1. ความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของปลาหางนกยูงแต่ละรูปแบบทาง

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้จำแนกปลาหางนกยูงตามรูปแบบทางทั้ง 10 รูปแบบทาง (ตารางที่ 1)

#### 2. การสกัดดีเอ็นเอ

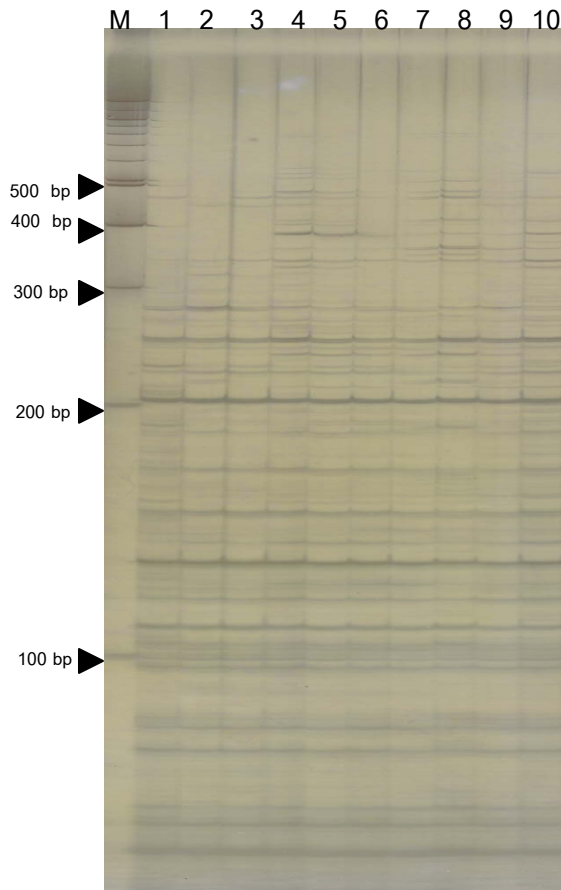
ในการทดลองครั้งนี้ได้สกัดดีเอ็นเอปลาหางนกยูงจากส่วนเนื้อเยื่อของลำตัวโดยใช้ครีโอลำตัว และตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเทคนิคอิลิกโตรโฟรีซิส เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ( $\lambda$ DNA) ที่มีความเข้มข้น 100, 300, 500 และ 1,000 นาโนกรัม พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้ไม่พบดีเอ็นเอที่เสียสภาพ

ตารางที่ 1 รูปแบบหางแต่ละรูปแบบของปลาหางนกยูงที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อ	ลักษณะ	รูปแบบ
1. Pin spade	เป็นหางที่มีลักษณะกลมเช่นเดียวกัน Round tail แต่ก้านครีบบริเวณกึ่งกลางของครีบบางจะยื่นยาวออกไปเป็นเส้น	
2. Bottom sword tail	ครีบบางเป็นรูปไข่เหมือนกับหางดาบบน (top sword) ก้านครีบบางของครีบบางด้านล่างจะยื่นยาวคล้ายดาบ ครีบบางหลังยื่นยาวเลยครีบบางประมาณ 1 ใน 3 ของครีบบาง	
3. Round spade	ครีบบางจะมีลักษณะค่อนข้างกลม ปลายมนและสั้น ครีบบางหลังอาจจะแหลมและกลม	
4. Top sword tail	ครีบบางจะมีรูปไข่ และครีบบางจะยื่นยาวเฉพาะด้านบน	
5. Double sword tail	ก้านครีบบางทั้งบนและล่างจะยื่นยาวออกมาคล้ายดาบ	
6. Swallow fin	ครีบบางจะมีลักษณะฉีกขาดเหมือนถูกขย้ำ	
7. Spear spade	รูปแบบครีบบางที่มีลักษณะคล้ายหอก หรือคล้ายฉมวก(ปลายแหลม) ซึ่งมีลักษณะคล้ายครีบบางฟูกันแต่จะกว้างกว่าเล็กน้อย	
8. Ribbon tail	ครีบบางจะแผ่ยื่นยาวโดยมีขนาดความยาว 1 ใน 3 ของความยาวครีบบาง	
9. V-tail	ครีบบางจะมีลักษณะยาวมาก แต่ขนาดจะไม่กว้างนัก เป็นครีบบางที่มีลักษณะคล้ายตัววี (V) แต่ขอบด้านบนและด้านล่างของครีบบางมีลักษณะโค้ง	
10. Lyre-tail	ลักษณะคล้ายฟินโบราณ เนื่องจากตรงกึ่งกลางปลายครีบบางจะเว้าเข้าไป จัดอยู่ในพวกหางดาบ มีความยาวเป็นเศษ 4 ส่วน 5 ของความยาวลำตัว ครีบบางยาวเศษ 1 ส่วน 3 ของความยาวครีบบาง	

### 3. การวิเคราะห์ AFLP

การศึกษาคความหลากหลายทางพันธุกรรมของรูปแบบทางในปลาหางนกยูงจำนวน 10 รูปแบบทาง ด้วยเทคนิค AFLP จำนวน 10 primer combinations พบแถบดีเอ็นเอมีขนาดระหว่าง 100-500 คู่เบส (ภาพที่ 1) โดยมีจำนวนแถบดีเอ็นเอต่อ primer combination อยู่ระหว่าง 43-98 แถบดีเอ็นเอ และมีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างอยู่ระหว่าง 18-78 แถบดีเอ็นเอซึ่งคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ระหว่าง 41.9 - 87.7 % (ตารางที่ 2)



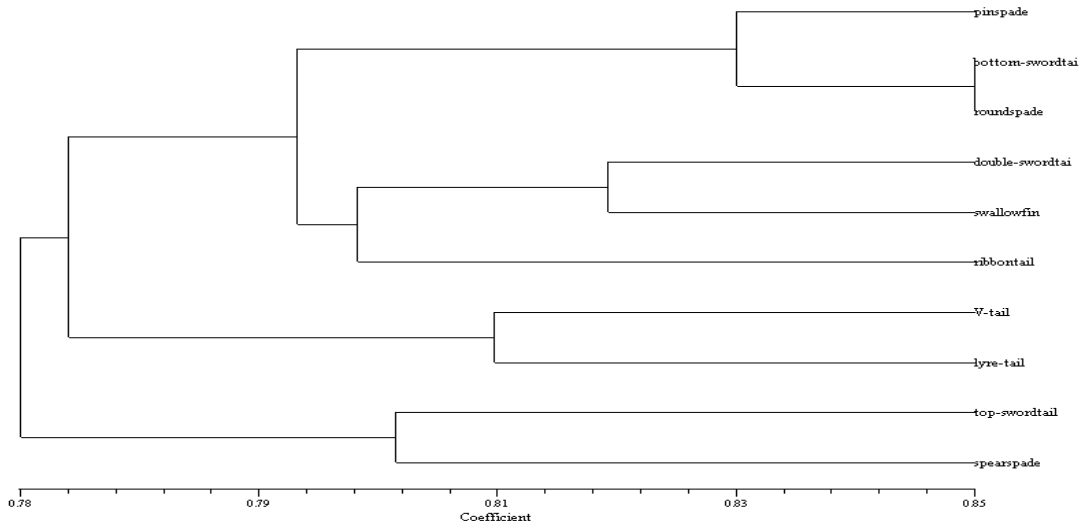
**ภาพที่ 1** ตัวอย่าง AFLP band ของปลาหางนกยูงที่ใช้ AFLP primers combinations E-AGA M-CAT (1-10 = ตัวอย่างปลาหางนกยูงที่ใช้ในการทดลอง M = molecular weight markers)

ตารางที่ 2 สรุปผลการวิเคราะห์ AFLP รูปแบบหางของปลาหางนกยูง 10 รูปแบบ

primers	% polymorphism			
	M-CAC	M-CAT	M-CAA	M-CGA
E-AG	79.6 (78/98)	77.5 (69/89)	87.7 (43/49)	70.9 (39/55)
E-ACA	41.9 (18/43)	72.9 (35/48)	-	-
E-AGA	56.3 (40/71)	62.7 (47/75)	50.0 (25/50)	63.2 (43/68)
เฉลี่ย	67.6 (437/646)			

### แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

จากการนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอมาคำนวณค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYSpc V. 1.80 (Rohlf, 1995) โดยใช้สูตรของ Nei และ Li (1997) พบว่าปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสูงและสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Pin spade Bottom sword tail และ Round spade กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Double sword tail Swallow fin และ Ribbon tail กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยรูปแบบหาง V-tail และ Lyre-tail และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยรูปแบบหาง Top sword tail และ Spear spade ผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย อย่างไรก็ตามปลาหางนกยูงรูปแบบหาง Bottom sword tail และ Round spade มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมปลาหางนกยูง 10 รูปแบบหาง



### สรุปและวิจารณ์ผล

จากการค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับรูปแบบทางของปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) โดยใช้เทคนิค AFLP จำนวน 10 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งใช้ตัวอย่างการทดลองทั้งหมด 10 รูปแบบทาง พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดระหว่าง 100-500 คู่เบส จำนวน 43-98 แถบดีเอ็นเอต่อคู่ไพรเมอร์และมีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง 18-78 แถบดีเอ็นเอซึ่งคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ระหว่าง 41.9 - 87.7 เปอร์เซ็นต์ จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Shen et al. (2007) จากการวิเคราะห์ AFLP สำหรับการสร้าง Genetic linkage map ของปลาหางนกยูง ซึ่งพบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอประมาณ 50 - 60 ต่อคู่ไพรเมอร์

การศึกษาครั้งนี้เป็นงานวิจัยแรกที่มีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรูปแบบทางในปลาหางนกยูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบทางมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก แม้จะเลือกใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ AFLP ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการแยกความแตกต่างในระดับสายพันธุ์ (Vos et al., 1995) อย่างไรก็ตามการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Microsatellites ในปลาหางนกยูงให้ความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงกว่า AFLP (Shen et al., 2007)

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งจากหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และห้องปฏิบัติการอนุพันธุศาสตร์สัตว์น้ำ หน่วยวิจัยกุ้ง สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

### เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. มปป. มาตรฐานสายพันธุ์และเกณฑ์การตัดสินปลาหางนกยูงในประเทศไทย. เอกสารเผยแพร่กรมประมง. กรุงเทพฯ. 42 หน้า.
- แซวลี วิบูลย์กิจ. 2545. ความหลากหลายของชนิดกุ้งสกุล *Penaeus* ที่พบในบริเวณอ่าวไทยตอนบน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 217 หน้า.
- เครือวัลย์ สถิติรัตน์. 2547. การส่งออกและการนำเข้าสินค้าประมงรายไตรมาสปี 2546. วารสารการประมง 57(1) : 88-89.
- คูห์ยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 203 หน้า.
- Nei, M and Li. W. 1997. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76: 5269-5278.
- Rohlf, F.J. 1995. NTSYS-pc numerical taxonomy and and multivariate analysis system, version 1.80. Exeter Software, New York. 244 p.

- Shen, X., Yang G., Liu Y., Liao M., Wang X., Zhu M., Song W., Zou G., Wei Q., Wang D., Chen D. 2007. Construction of genetic linkage maps of guppy (*Poecilia reticulata*) based on AFLP and microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 271: 178–187.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23: 4407–4414.
- Wuthisuthimethavee, S. 1999. DNA Marker Technologies for Biodiversity Study in Shrimp. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. Kasetsart University. 101 p.