วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



การใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ข้ามชนิดในปลาสกุล *Mystus* เพื่อการจัดการพันธุกรรมปลาแขยงกง

Microsatellite cross-species amplification and utility in Genus *Mystus* a valuable resource for genetic management of *Mystus gulio*

เชาวลีย์ ใจสุข[1], พัชรา นิธิโรจน์ภักดี[2]*, กนกสิณี ศิริรักษ์[3], อโนชา กิริยากิจ[2], กิติพงษ์ สุวรรณเกตุ[2], นิภาพร จุฬารมย์[2], บุษบา มะโนแสน[1] และ จิรรัชต์ กันทะขู้[1]

Chaowalee Jaisuk[1], Patchara Nithirojpakdee[2]*, Khanoksinee Sirirak[3], Anocha Kiriyakit[2], Kitipong Suwannaket[2], Nipaporn Churaroum[2], Busaba Manosan[1] and Jirarat Kantakoo[1]

[1] *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน จังหวัดน่าน 55000*
[1] *Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Nan Campus, Nan, 55000, Thailand*
[2] *คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22210*
[2] *Faculty of Argo-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-Ok, Chanthaburi Campus, Chanthaburi, 22210, Thailand*
[3] *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์นนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000*
[3] *Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi Nonthaburi Center, Nonthaburi, 11000, Thailand*

บทคัดย่อ: การจัดการพันธุกรรมประชากรในโรงเพาะฟักเป็นสิ่งสำคัญที่จะส่งผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง ซึ่งในการพัฒนาข้อมูลพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ได้รับความนิยมใช้ในการศึกษา ทั้งนี้การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์มีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง ด้วยคุณสมบัติของไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์ที่พัฒนาในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งสามารถใช้กับอีกสิ่งมีชีวิตหนึ่งที่อยู่ในครอบครัวหรือสกุลเดียวกันได้ การศึกษานี้จึงทดสอบเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) 11 ตำแหน่ง กับปลาแขยงกง (*Mystus gulio*) ซึ่งเป็นปลาที่ได้รับการส่งเสริมเพาะเลี้ยงเพื่อทราบข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับการจัดการประชากรโรงเพาะฟักหนึ่งแห่งในจังหวัดจันทบุรี ผลพบความหลากรูปแบบที่เครื่องหมาย 6 ตำแหน่ง ได้แก่ MnRmCT6-2, MnRmE11-1, Mns432, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62 และ MnBp8-4-43b พบการออกจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กเกือบทุกตำแหน่งยกเว้น MnRmE11-1 ซึ่งการเบี่ยงเบนที่พบเป็นแบบที่มี $H_e > H_o$ แสดงถึงกลุ่มตัวอย่างมีเฮทเทอโรไซโกตน้อยกว่าที่ควรจะเป็นและพบค่า F_{IS} เป็นบวกแสดงถึงประชากรมีระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ต่ำจากการผสมเลือดชิด การประเมิน Effective population size (N_e) พบกลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกงมีจำนวน N_e มากเกินการประเมิน (Infinite) แต่ตรวจพบการมีสภาวะคอขวด ดังนั้นข้อมูลจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้วางแผนการจัดการประชากรพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักเพื่อรักษาระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมและเหมาะสมต่อการผลิตลูกพันธุ์ในการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาแขยงกงอย่างยั่งยืนต่อไป

คำสำคัญ: ไมโครแซทเทลไลท์; การจัดการพันธุกรรม; ปลาแขยงกง; ปลาอีกง

* Corresponding author: patchara_ni@rmutto.ac.th

Received: date; May 26, 2023 Revised date; August 7, 2024

Accepted: date; September 9, 2024 Published: date; February 13, 2025

ABSTRACT: Genetic population management in hatcheries is crucial for the success of aquaculture. Microsatellite markers are popular genetic markers used for studying genetic variation. However, the isolation of these markers requires prior knowledge of the genetic information of the target species, and the cost of developing microsatellite markers is expensive. Fortunately, microsatellite markers are often cross-transferable; markers developed for one species can be used in other closely related species. In this study, we tested for cross-amplification of microsatellite markers from published reports, initially developed for *Mystus nemurus* 11 loci, in *Mystus gulio*, which has been promoted for aquaculture. This study aims to gather genetic information for hatchery population management of hatchery in Chanthaburi Province. The cross-amplification of six loci was successful including MnRmCT6-2, MnRmE11-1, Mns432, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62, and MnBp8-4-43b. Almost all microsatellite loci were found to deviate significantly from Hardy-Weinberg equilibrium except MnRmE11-1. The observed deviation shows that $H_e > H_o$, indicating that the sample has fewer heterozygotes than expected, and a positive F_{IS} value suggests that the population has a low level of heterozygosity due to inbreeding. The evaluation of effective population size (N_e) in the sample group of *M. gulio* fish showed a N_e value that was too large to be accurately estimated (infinite), but evidence of a bottleneck was found. Therefore, the data from this study will be used to plan breeding programs to increase genetic diversity and reduce the risk of bottlenecks in sustainable *M. gulio* farming.
Keywords: Microsatellite; Genetic management; *Mystus gulio*; Long-whiskered catfish

บทนำ

การศึกษาด้านพันธุศาสตร์ประชากรจะได้ข้อมูลสำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อการจัดการพันธุกรรมของสัตว์น้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งนี้ในการศึกษามีเครื่องหมายพันธุกรรมหลายชนิดให้เลือกใช้ซึ่งหนึ่งในจำนวนนั้นไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ (Microsatellite DNA) เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่นิยมใช้เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากร ความหลากหลายทางพันธุกรรม รวมถึงใช้ศึกษาติดตามการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของประชากรในโรงเพาะฟักและการตรวจสอบการผสมเลือดชิดเพื่อใช้ประโยชน์ในการวางแผนจัดการพ่อแม่พันธุ์ กล่าวได้ว่าข้อมูลที่ได้รับจากการศึกษาด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ให้ข้อมูลที่มีประโยชน์และให้รายละเอียดที่ดีต่อการจัดการสต็อกสัตว์น้ำ (Alam and Islam, 2005) ยกตัวอย่างเช่น เครื่องหมายนี้ถูกใช้สำหรับประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งก้ามกรามจากโรงเพาะฟักและจากธรรมชาติ พบว่าประชากรกุ้งก้ามกรามจากโรงเพาะฟักมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมปานกลาง โดยมีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง เท่ากับ 9.40 ค่าเฉลี่ย allelic richness เท่ากับ 8.43 อัลลีล และค่าเฉลี่ยค่าคาดหมายเฮทเทอโรไซโกซิตี้เท่ากับ 0.70 ขณะที่ประชากรกุ้งก้ามกรามจากธรรมชาติ มีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง เท่ากับ 9.36 ค่าเฉลี่ย allelic richness เท่ากับ 8.59 อัลลีล และค่าเฉลี่ยค่าคาดหมายเฮทเทอโรไซโกซิตี้เท่ากับ 0.62 ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวได้แสดงให้เห็นว่ากุ้งก้ามกรามสายพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลางและไม่พบการผสมเลือดชิดในกลุ่มประชากรที่ศึกษา (กัณฑรีย์, 2550)

เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอเป็นบริเวณที่มีการเรียงตัวของลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำช่วงสั้น ๆ ประมาณ 1 - 6 คู่เบสติดต่อกัน ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่มีการแสดงออกเป็นแบบข่มร่วม (codominant) มีสภาวะหลากรูปของยีนที่สูงและมีการถ่ายทอดสู่รุ่นถัดไปเป็นไปตามกฎของเมนเดล (DeWoody and Avise, 2000) ทั้งนี้ในการที่จะได้มาซึ่งตำแหน่งของเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์สำหรับใช้ศึกษากับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดในการเริ่มต้นต้องพัฒนาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ๆ ซึ่งใช้เวลาและค่าใช้จ่ายที่สูง เมื่อพัฒนาได้แล้วไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์ที่พัฒนาในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งสามารถใช้เป็นไพรเมอร์ให้กับอีกสิ่งมีชีวิตหนึ่งที่อยู่ในครอบครัวหรือสกุลเดียวกันได้ เนื่องจากในสิ่งมีชีวิตที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันจะมีลำดับเบสที่เหมือนกัน (conserved sequence) ดังนั้นการนำเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่มีรายงานก่อนหน้ามาทดสอบในปลากลุ่มใกล้ชิดกันจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการหาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์สำหรับใช้ศึกษาได้ (วิศรุต และคณะ, 2562)

การศึกษานี้มีความสนใจในการจัดการพันธุกรรมปลาแขยงกงหรือปลาอีกง (*Mystus gulio*) ปลาแขยงกงมีโอกาสเป็นปลาเศรษฐกิจเนื่องจากเนื้อมีรสชาติดี (นฤเบศร์ และคณะ, 2564) ในปี พ.ศ. 2564 กรมประมงได้จัดให้เป็นปลาประจำถิ่นหายากและใกล้สูญพันธุ์ (กรมประมง, 2564) ในขณะเดียวกันเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาแขยงกงมีข้อสังเกตว่าปัจจุบันปลาแขยงกงมีขนาดเล็กลงจึงมีข้อสงสัยถึงสาเหตุและแนวทางการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแขยงกงจะเป็นประโยชน์ต่อการ

จัดการพันธุกรรมประชากรในการส่งเสริมการเพาะเลี้ยง จึงได้ทำการทดสอบเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่พัฒนาจากปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) จำนวน 11 ตำแหน่ง โดยนำมาทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) กับปลาแขยงกงซึ่งเป็นปลาในสกุลเดียวกัน ผลจากการศึกษาจะเป็นแนวทางในการนำข้อมูลเครื่องหมายพันธุกรรมเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาปลาสกุล *Mystus* ชนิดอื่น ๆ และเป็นการสร้างฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของปลาแขยงกง เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการพันธุกรรมเพื่อการเพิ่มจำนวนประชากรทั้งในส่วนของการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงหรือเพื่อเพิ่มประชากรในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่าง

การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานวิทยาศาสตร์ รหัส RMUTL-IACUC 002/2023 ในการดำเนินงานได้รวบรวมตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ปลาแขยงกงจากโรงเพาะฟักหนึ่งแหล่งในจังหวัดจันทบุรี รวมเป็นจำนวน 95 ตัวอย่าง การดำเนินงานจับและควบคุมปลาโดยการใช้ผ้าชุบน้ำจับและปิดตาปลา แล้วนำมาทำให้สลบโดยใส่ในถังน้ำที่มีน้ำมันกานพลูความเข้มข้น 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อปลาสลบจนสงบนิ่งใช้กรรไกรตัดครีบหางปลาขนาด 0.5 เซนติเมตร หลังจากตัดครีบหางจะทายาโพวิโดนไอโอดีนแล้วนำไปพักรอฟื้นในถังน้ำสะอาดที่มีการให้ออกซิเจนตลอดเวลาและเมื่อปลาฟื้นตัวว่ายน้ำเป็นปกติจึงปล่อยคืนลงบ่อเลี้ยง เก็บรักษาตัวอย่างครีบหางในหลอดไมโครเซนติฟิวขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่มีแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1. รวบรวมข้อมูลการศึกษาการใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ในปลาสกุล *Mystus* ที่สืบค้นได้คือ Usmani et al. (2003) และ Hoh et al. (2008) ซึ่งศึกษาในปลากดเหลือง (*M. nemurus*) โดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่มีความหลากหลายในการศึกษาดังกล่าวมาจำนวนทั้งสิ้น 11 ตำแหน่ง **(Table 1)**

Table 1 Descriptions of primer sequences of microsatellite loci

	Primer name	Primer Sequence (5' to 3')	Ref.
1	MnRmD5-1	F: CATTTCTAGGCCAACATGACAG R: TGTCACAGCTTCATGTATCTTCC	Usmani et al. (2003)
2	MnRmCT6-2	F: TGCAGTCGACCTTAGCACAC R: GCATGGACATCACATCTCTC	
3	MnRmE11-1	F: ATGTTGATGTTGTGGGATGC R: GCCCAAAAAGAAACATCTGG	
4	MnRm11-1	F: CTTTCTCTCTGTTTCGCTGT R: GGAGTGAGCTGGAGGACT	
5	MnRm23-1	F: TTCAGACAATAGCGCTTAGA R: AGTGCCCTTCATCTCTTTCT	
6	Mns432	F: AGTGCGTTAGTGTGAGTGCTTC R: GAACTTTTCCCCTCCCCTTTAT	
7	MnBp8-4-43b	F: CACGTGTGTAAGATAAATAG R: GCACTGAGAAATGTGAGAAA	Hoh et al. (2008)
8	MnBp8-1-60a	F: GTCTCTTTCGTTGTTGTT R: AACCATGTGAGAAAAGGATG	
9	MnBp8-1-30	F: GGCTTATCTGTTGTTGTTG R: TGAATCTTTAGCCTGCTTTG	
10	MnVj2-1-62	F: TTTGGCAGATACGACCAC R: TTCTTCCCCACTCCTCCT	
11	MnBp8-1-61b	F: ACTTCGATTATTGCCTGTGT R: TGCCTTTTTGTTGTTGTTG	

2. สกัดดีเอ็นเอจากครีบปลาด้วยวิธี Salt extraction ดัดแปลงจากวิธีของ Aljanabi and Martinez (1997) วัดคุณภาพและประเมินความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานโดยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีสแบบนอน (BIO-RAD SubcellGT, Italy) และผ่านกระแสไฟฟ้า 70 โวลท์ เป็นเวลาประมาณ 45 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาย้อมด้วยสีย้อมดีเอ็นเอ (FluoroVue Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO, Malaysia) แล้วจึงนำแผ่นเจลไปดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องถ่ายรูปเจล (Gel Documentation System, BIO-RAD, USA)

3. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยพีซีอาร์ ด้วยเครื่อง Thermal cycle (BioRad, MJ Mini Cycler, Italy) โดยหาสภาวะที่เหมาะสมของไพรเมอร์แต่ละตำแหน่งจำนวน 11 ตำแหน่ง โดยเฉพาะการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อไพรเมอร์มาเกาะกับสายดีเอ็นเอตั้งต้นสำหรับทุกไพรเมอร์ (annealing temperature) โดยสารละลายพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นประมาณ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) ใช้สารละลายพีซีอาร์ (i-taq PCR Master mix Solution, iNtRON BIOTECHNOLOGY, Gyeonggi-do, South Korea) 5.0 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ Forward และ Reverse อย่างละ 0.2 ไมโครโมล และน้ำสำหรับทำพีซีอาร์เติมจนครบ 10 ไมโครลิตร วัฏจักรของการเพิ่มลดอุณหภูมิประกอบไปด้วย 1. อุณหภูมิที่ทำให้สายดีเอ็นเอแยกออกจากกัน (Initial denaturation) 94 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 1 รอบ 2. อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที (Denaturation)

3. ทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อให้ไพรเมอร์มาเกาะกับสายดีเอ็นเอตั้งต้น (Annealing temperature; Ta) ที่ไพร์เมอร์แต่ละตำแหน่ง 4. อุณหภูมิที่ Taq Polymerase สามารถซ่อมสายดีเอ็นเอให้สมบูรณ์เป็นดีเอ็นเอเส้นใหม่ (Extension temperature) 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และ 5. อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จำนวน 1 รอบ (Final extension)

4. หลังจากเสร็จสิ้นปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์โดยนำสารละลายพีซีอาร์มาแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีสผ่าน 6 เปอร์เซ็นต์เจลพอลิอะคริลาไมด์ (Polyacrylamide gel) ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าชนิดแนวตั้ง (Mini PROTEAN®Tetra Cell, BIO-RAD, USA) ผ่านกระแสไฟฟ้า 250 โวลท์ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาย้อมด้วยสีย้อมดีเอ็นเอ (FluoroVue Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO, Malaysia) แล้วจึงนำแผ่นเจลไปดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องถ่ายรูปเจล (Gel Documentation System, BIO-RAD, USA) **(Figure 1)** คัดเลือกไพรเมอร์ตำแหน่งที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้โดยจะต้องให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน อ่านผลง่ายและมีความหลากรูปแบบเพื่อนำไปติดแถบสีฟลูโอเรสเซนส์ แล้วจึงเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสโดยไพรเมอร์ดังกล่าว จำนวน 6 ตำแหน่ง ด้วยเครื่อง Thermal cycle (BioRad, MJ Mini Cycler, Italy) โดยมีอุณหภูมิที่ไพรเมอร์มาเกาะกับสายดีเอ็นเอตั้งต้น (Annealing temperature; Ta) ที่ตำแหน่ง MnBp8-4-43b Ta 50 องศาเซลเซียส, MnVj2-1-62 Ta 55 องศาเซลเซียส ตำแหน่ง Mns432, MnRmE11-1, MnRmCT6-2 และ MnBp8-1-30 Ta 60 องศาเซลเซียส **(Table 2)** โดยใช้เวลาในช่วง Annealing temperature นาน 30 วินาที จำนวน 40 รอบ

5. ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์โดยนำสารละลายพีซีอาร์มาแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีสผ่าน 6 เปอร์เซ็นต์เจลพอลิอะคริลาไมด์ ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าชนิดแนวตั้ง (Mini PROTEAN®Tetra Cell, BIO-RAD, USA) ผ่านกระแสไฟฟ้า 250 โวลท์ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาย้อมด้วยสีย้อมดีเอ็นเอ (FluoroVue Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO, Malaysia) แล้วจึงนำแผ่นเจลไปดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องถ่ายรูปเจล (Gel Documentation System, BIO-RAD, USA)

6. ส่งตัวอย่างที่เกิดผลผลิตพีซีอาร์ไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จากไพรเมอร์ที่ติดแถบสีฟลูโอเรสเซนส์ โดยวิธี Fragment analysis แล้วนำข้อมูลที่ได้มาตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอและบันทึกข้อมูลจีโนไทป์ของตัวอย่างที่เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์แต่ละตำแหน่งด้วยโปรแกรม Peak Scanner Software version 1.0 **(Figure 2)**

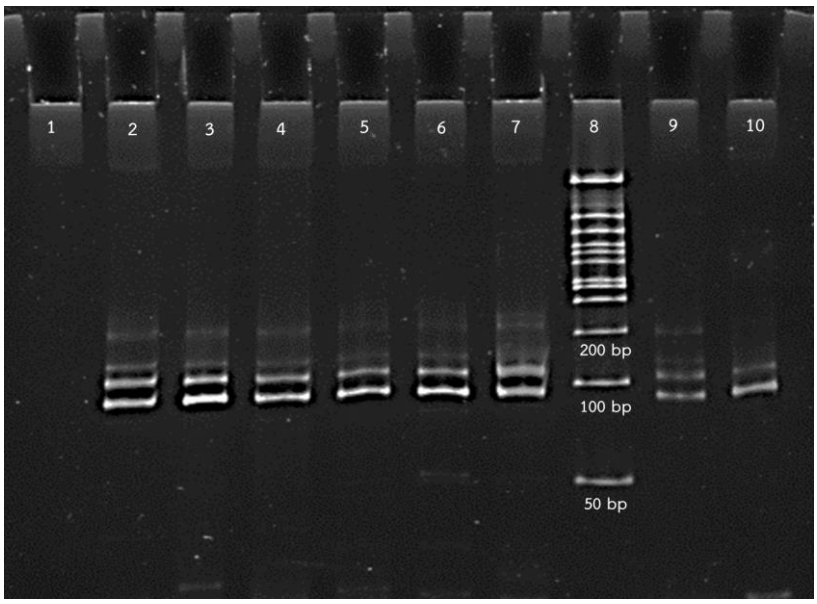


Figure 1 PCR product of locus Mns432, lane 1 : blank; 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 9, 10 : Sample, 8 : DNA Standard 50 bp

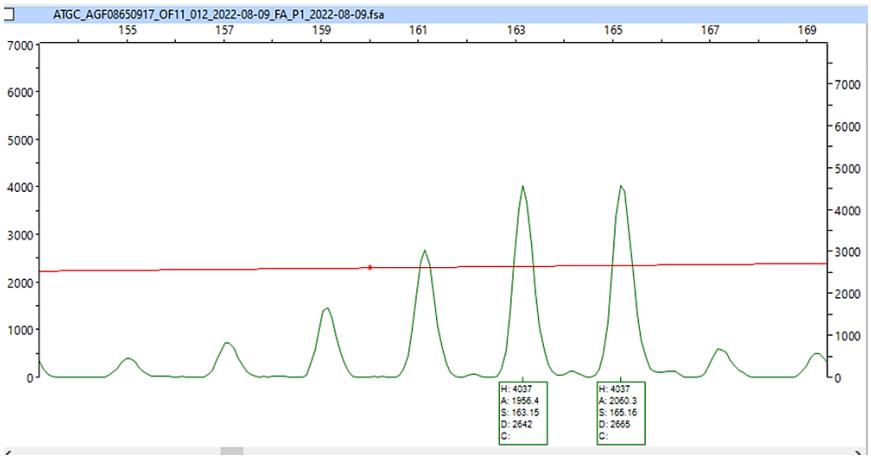


Figure 2 DNA fragment analysis using Peak Scanner Software version 1.0 at a marker named Mns432

การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรจากค่าจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้ด้วยโปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and Smouse, 2006) ค่า allelic richness (A_r) จากโปรแกรม FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001) ทดสอบการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โดยการประเมินค่า exact p-value ด้วยวิธี markov chain ตามวิธีของ Guo and Thompson (1992) ด้วยโปรแกรม GENEPOP version 4 (Rousset, 2008) ปรับระดับความน่าจะเป็น (p-value) วิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วย Bonferroni correction (Rice, 1989) ประเมินจำนวน effective population size (N_e) โดยโปรแกรม NeEstimator version 2.01 (Do et al., 2014) ทดสอบสภาวะคอขวดในกลุ่มตัวอย่างด้วยโปรแกรม Bottleneck version 1.2.02 (Piry et al., 1999)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการทดสอบการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ข้ามชนิดจากการคัดเลือกเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่มีความหลากรูปแบบในปลากดเหลือง จำนวน 11 ตำแหน่ง มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่ในตัวอย่างปลาแขยงกงพบเครื่องหมายที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์และมีความหลากรูปแบบจำนวน 6 ตำแหน่ง ได้แก่ MnRmCT6-2, MnRmE11-1, Mns432, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62 และ MnBp8-4-43b หรือคิดเป็น 54.55 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนเครื่องหมายที่คาดว่าจะให้ผลผลิตพีซีอาร์จากจำนวน 11 ตำแหน่ง โดยพบว่าผลผลิตพีซีอาร์ที่พบในปลาแขยงกง มีขนาดอัลลีลที่ใกล้เคียงกับขนาดอัลลีลที่พบในปลากดเหลืองในการศึกษาของ Usmani et al. (2003) ที่ตำแหน่ง MnRmCT6-2 พบอัลลีลมีขนาด 198 คู่เบส การศึกษานี้พบขนาด 166 - 228 คู่เบส MnRmE11-1 ขนาด 204 คู่เบส การศึกษานี้ 170 - 176 คู่เบส และ Mns432 พบ 150 คู่เบส การศึกษานี้ 148 - 162 คู่เบส และการศึกษาของ Hoh et al. (2008) MnBp8-1-30 พบ 194 คู่เบส การศึกษานี้ 184-204 คู่เบส MnVj2-1-62 พบ 131 คู่เบส การศึกษานี้ 108 - 172 คู่เบส และ MnBp8-4-43b พบ 317 คู่เบส การศึกษานี้ 250 - 316 คู่เบส **(Table 2)** การพบว่าเครื่องหมายบางตำแหน่งไม่สามารถทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้ในปลาแขยงกง พบได้เช่นเดียวกับการศึกษาของ วิศรุต และคณะ (2562) ทดสอบการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 50 ตำแหน่งทำพีซีอาร์ข้ามชนิดในปลาตระกูลตะเพียนจำนวน 16 ชนิด พบว่าเครื่องหมายจำนวน 49 ตำแหน่ง สามารถสร้างผลผลิตพีซีอาร์ได้จำนวน 14 - 32 ตำแหน่งต่อชนิดของปลาและพบเครื่องหมายมีความหลากรูปแบบ (polymorphic) จำนวน 3 - 20 ตำแหน่งต่อชนิด ทั้งนี้การที่เครื่องหมายบางตำแหน่งสามารถทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้เฉพาะกับชนิดของปลาที่พัฒนามา อาจมีสาเหตุจากการกลายพันธุ์บริเวณที่ขนาบข้างลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโครแซทเทลไลท์ (Flanking region) ซึ่งเป็นบริเวณที่ไพรเมอร์มาจับในการทำพีซีอาร์ถ้าบริเวณดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจะทำให้ไพรเมอร์ไม่สามารถเข้ามาจับได้ (Primmer et al., 2005)

โดยรวมผลการทดสอบการใช้เครื่องหมายข้ามชนิดระหว่างปลากดเหลืองกับปลาแขยงกงทำให้ทราบถึงเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ที่สามารถใช้ได้ร่วมกันระหว่างปลาทั้งสองชนิด ซึ่งการใช้เครื่องหมายพันธุกรรมชนิดนี้ข้ามชนิดสัตว์พบว่าสามารถใช้ได้ดีอย่างน้อยในระดับสกุลเดียวกัน โดยหากมีความสัมพันธ์ใกล้กันยิ่งมีโอกาสที่จะใช้เครื่องหมายร่วมกันได้ดี (Morelli et al., 2006) เครื่องหมายที่ทดสอบได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์สำหรับการใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรและผลการศึกษาเป็นข้อมูลที่สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการจัดการพันธุกรรมซึ่งจำเป็นสำหรับการกำหนดความหลากหลายทางพันธุกรรม การสืบพันธุ์ และการสร้างโปรแกรมการคัดเลือก (Araneda et al., 2017)

Table 2 Cross-species amplification of the 6 microsatellites among 2 *Mystus*, descriptions of primer sequences, annealing temperature (Ta) (°C) Fluorescence labeled and allele size of microsatellite loci analyzed

Primer name	Primer Sequence ('5 to 3')	Ta (°C)	Allele size in *M. gulio* (bp)	Allele size in *M. nemurus* (bp)	Ref.
MnRmCT6-2	F: TGCAGTCGACCTTAGCACAC ^{FAM}	60	166 - 228	198	Usmani et al. (2003)
	R: GCATGGACATCACATCTCTC				
MnRmE11-1	F: ATGTTGATGTTGTGGGATGC ^{HEX}	60	170 - 176	204	
	R: GCCCAAAAAGAAACATCTGG				
Mns432	F: AGTGCGTTAGTGTGAGTGCTTC ^{HEX}	60	148 - 162	150	
	R: GAACTTTTCCCCTCCCCTTTAT				
MnBp8-1-30	F: GGCTTATCTGTTGTTGTTG ^{TAMRA}	60	184 - 204	194	Hoh et al. (2008)
	R: TGAATCTTTAGCCTGCTTTG				
MnVj2-1-62	F: TTTGGCAGATACGACCAC ^{FAM}	55	108 - 172	131	
	R: TTCTTCCCCACTCCTCCT				
MnBp8-4-43b	F: CACGTGTGTAAGATAAATAG ^{FAM}	50	250 - 316	317	
	R: GCACTGAGAAATGTGAGAAA				

Superscript is fluorescence labeled

ความหลากหลายภายในประชากรของกลุ่มตัวอย่าง

ความหลากรูปแบบของเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 6 ตำแหน่ง ได้แก่ Mns432, MnRmE11-1, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62, MnRmCT6-2 และ MnBp8-4-43b ในปลาแขยงกงจำนวน 95 ตัวอย่าง ซึ่งในบางตำแหน่งมีบางตัวอย่างที่ไม่เกิดผลผลิตพีซีอาร์ จำนวนตัวอย่าง (*N*) จึงมี 87 - 95 ตัวอย่างและมีค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอย่างเป็น 92.50 ตัวอย่าง พบมีรายละเอียดดังนี้ จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (*A*) มีค่าอยู่ระหว่าง 4 - 21 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnBp8-4-43b) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.67 ± 6.56 อัลลีล ค่า Effective number of allele (A_e) 1.99 - 6.32 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) เฉลี่ย 3.73 ± 1.60 อัลลีล ค่า Allelic richness (A_r) 3.91 - 21.00 อัลลีล (MnRmE11-1 - MnBp8-4-43b) เฉลี่ย 11.53 ± 6.55 อัลลีล ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการสังเกต (Observed heterozygosity: H_o) 0.25 - 0.66 (MnVj2-1-62 - Mns432) เฉลี่ย 0.42 ± 0.16 และค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการคาดหวัง (Expected heterozygosity: H_e) 0.50 - 0.84 (MnRmE11-1 - MnRmCT6-2) เฉลี่ย 0.69 ± 0.13 และการทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) พบความเบี่ยงเบนของสัดส่วนจีโนไทป์ที่สังเกตได้กับค่าที่คาดหวังตามสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในกลุ่มตัวอย่าง พบการไม่อยู่ในสมดุลในเกือบทุกตำแหน่งยกเว้นตำแหน่ง MnRmE11-1 โดยในตำแหน่งที่พบการออกจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กเป็นการเบี่ยงเบนออกโดยที่มีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการคาดหวังมากกว่าค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการสังเกต

($H_e > H_o$) ซึ่งแสดงถึงกลุ่มตัวอย่างมีเฮทเทอโรไซโกตน้อยกว่าที่ควรจะเป็น และจากค่าฟิกเซชัน อินเด็กซ์ (fixation index; F_{IS}) ซึ่งเป็นค่าบ่งบอกถึงการลดลงของระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ของประชากรหรือการผสมเลือดชิด ซึ่งค่า F_{IS} มีค่าเป็นบวกหรือลบ การศึกษานี้พบค่าบวกในตำแหน่งที่มีการเบี่ยงเบนออกจากสมดุล หมายถึงประชากรมีระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ต่ำจากการผสมเลือดชิด และมีค่าเป็นลบในตำแหน่ง MnRmE11-1 แสดงถึงการมีระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ที่สูงและไม่มีอิทธิพลของการผสมเลือดชิดที่ตำแหน่งดังกล่าว **(Table 3)** สำหรับการประเมิน Effective population size (N_e) และสภาวะคอขวด (Bottleneck) ในกลุ่มตัวอย่างพบว่ากลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกงที่ศึกษามีจำนวน N_e มากเกินการประเมิน (Infinite) แต่ตรวจพบการมีสภาวะคอขวดในกลุ่มตัวอย่าง P = 0.047 เมื่อเทียบกับปลาสกุล *Mystus* ชนิดอื่น เช่น ปลากดเหลืองในการศึกษาของ Hoh et al. (2008) จากปลาจำนวน 90 ตัวอย่าง ที่ตำแหน่ง MnVj2-1-62 พบมีค่า *A* จำนวน 6 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.6167 และ ค่า H_e เท่ากับ 0.7232 ตำแหน่ง MnBp8-4-43b พบค่า *A* 12 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.6279 และ ค่า H_e เท่ากับ 0.8317 และที่ตำแหน่ง MnBp8-1-30 พบมีค่า *A* จำนวน 9 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.3429 และ H_e เท่ากับ 0.6288 และในการศึกษาของ Usmani et al. (2003) ปลากดเหลืองจำนวนเฉลี่ย 24.5 ตัวอย่าง พบตำแหน่ง MnRmCT6-2 พบมีค่า *A* จำนวน 8 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.72 และค่า H_e เท่ากับ 0.75 ตำแหน่ง MnRmE11-1 พบมีค่า *A* จำนวน 10 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.76 และค่า H_e เท่ากับ 0.83 และตำแหน่ง Mns432 พบมีค่า *A* จำนวน 9 อัลลีล ค่า H_o เท่ากับ 0.66 และค่า H_e เท่ากับ 0.73 ผลการศึกษาระดับพันธุกรรมของกลุ่มตัวอย่างปลาแขยงกงในครั้งนี้ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรม 6 ตำแหน่งพบมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยรวมใกล้เคียงกับปลากดเหลือง ทั้งในการศึกษาของ Hoh et al., (2008) และ Usmani et al., (2003) **(Table 4)** แสดงถึงเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 6 ตำแหน่งสามารถใช้ข้ามชนิดกับปลาแขยงกงได้ดี

Table 3 Average allelic variability at 6 microsatellite loci of *M. gulio*. The indices included the sample size (*N*), number of alleles per locus (*A*), effective number of alleles (A_e), allelic richness (A_r), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and fixation index (F_{IS})

Sample	Locus	*N*	*A*	A_e	A_r	H_o	H_e	F_{IS}
M. gulio	Mns432	95	6.00	3.42	5.92	0.66	0.71	0.06
	MnRmE11-1	95	4.00	1.99	3.91	0.58	0.50	-0.16
	MnBp8-1-30	88	9.00	2.34	8.98	0.30	0.57	0.48
	MnVj2-1-62	95	13.00	3.55	12.57	0.25	0.72	0.65
	MnRmCT6-2	95	17.00	6.32	16.81	0.42	0.84	0.50
	MnBp8-4-43b	87	21.00	4.75	21.00	0.33	0.79	0.58
	Average	92.50	11.67	3.73	11.53	0.42	0.69	0.35
	SD	3.89	6.56	1.60	6.55	0.16	0.13	0.32

F_{IS} values and probability of significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (*p*) are given for each population and locus. Values underlined indicate statistical significance, $p < 0.0833$, after Bonferroni correction = 0.05/6 (Rice, 1989)

Table 4 Average allelic variability microsatellite loci of *M. nemurus*. The indices included the sample size (*N*), number of alleles per locus (*A*), observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e)

Sample	Locus	*N*	*A*	H_o	H_e	Ref.
M. nemurus	MnVj2-1-62	90	6	0.6167	0.7232	Hoh et al. (2008)
	MnBp8-4-43b	90	12	0.6279	0.8317	
	MnBp8-1-30	90	9	0.3429	0.6288	
M. nemurus	MnRmCT6-2	24.5	8	0.72	0.75	Usmani et al. (2003)
	MnRmE11-1	24.5	10	0.76	0.83	
	Mns432	24.5	9	0.66	0.73	

ทั้งนี้จากข้อมูลระดับพันธุกรรมของปลาแขยงกงที่พบว่ามีระดับความหลากหลายในระดับหนึ่งแต่มีการตรวจพบการมีสภาวะคอขวดในกลุ่มตัวอย่าง มีค่าเฮทเทอโรไซโกตน้อยกว่าที่ควรจะเป็นและค่าฟิกเซชัน อินเด็กซ์ (F_{IS}) มีค่าบวกในตำแหน่งที่มีการเบี่ยงเบนออกจากสมดุลหมายถึงประชากรมีระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ต่ำจากการผสมเลือดชิด แสดงถึงความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการวางแผนในการจัดการพันธุกรรมประชากรปลาแขยงกงในโรงเพาะฟักดังกล่าว เช่น การคัดพันธุ์ที่ส่งผลต่อจำนวนประชากรที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ในโรงเพาะฟักที่อาจส่งผลต่อการลดลงของเฮทเทอโรไซโกตของประชากรโรงพาะฟัก ดังตัวอย่างที่พบในการศึกษาของ Loukovitis et al. (2015) ศึกษาระดับพันธุกรรมประชากรของปลา European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) ในฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งใน Greek เทียบกับปลาจาก 3 แหล่งน้ำธรรมชาติจาก Greece และ France ด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 5 ตำแหน่งพบว่ากลุ่มตัวอย่างประชากรในโรงเพาะฟักมีค่า H_o ใกล้เคียงกับประชากรจากแหล่งน้ำธรรมชาติ แต่มีค่า A_r และค่า H_e ต่ำกว่าประชากรจากแหล่งน้ำธรรมชาติ และยังพบว่าโดยรวมแล้วประชากรในโรงเพาะฟักมีการลดลงของค่าเฉลี่ยอัลลีลต่อตำแหน่งเป็น 37 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับประชากรธรรมชาติ ผลการศึกษาดังกล่าวเป็นการสะท้อนถึงการให้ความสำคัญต่อจัดการพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก เช่นเดียวกับการศึกษาในปลาดุกอุย วิศรุต และคณะ (2563) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง ในฟาร์มปลาดุกอุยแห่งหนึ่งพบการเบี่ยงออกจากสมดุลอาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ตรวจพบปรากฏการณ์คอขวด และมีค่า N_e เท่ากับ 28.1 มีค่าอยู่ในช่วง 13.2 - 81.4 ซึ่งเป็นประเด็นที่แสดงถึงแนวทางการสร้างประชากรเริ่มต้นในโรงเพาะฟักควรเริ่มต้นจากการมีฐานพันธุกรรมกว้างและหากมีประชากรเริ่มต้นมากกว่าหนึ่งประชากร ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบสมรรถนะของปลาในแต่ละประชากรเพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวางแผนงานสร้างประชากรเริ่มต้นให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ปรับปรุงพันธุ์เพื่อส่งเสริมการเพาะเลี้ยง ดังการศึกษาของ พนม และคณะ (2556) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปลายี่สกเทศ ประชากรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาฬสินธุ์ และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำอุตรดิตถ์ และประชากรจากธรรมชาติ ได้แก่ แม่น้ำมูล จังหวัดอุบลราชธานี บึงสีไฟ จังหวัดพิจิตร และแม่น้ำเมย จังหวัดตาก โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 8 ตำแหน่ง พบค่า N_e ในแต่ละประชากรมีค่าอยู่ระหว่าง 1.5 - 109.5 โดยค่าต่ำสุดอยู่ที่ประชากรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาฬสินธุ์ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวได้ให้ความสำคัญและดูแลการวางแผนดำเนินงานในโรงเพาะฟักอย่างเคร่งครัดเพื่อเพิ่มระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมและป้องกันการเกิดเลือดชิดในประชากร

จากตัวอย่างการใช้ประโยชน์ข้อมูลแสดงถึงความสำคัญในการนำผลข้อมูลระดับพันธุกรรมไปใช้ในการดำเนินงานส่งเสริมการเพาะเลี้ยงโดยคำนึงถึงการวางแผนงานตั้งแต่การสร้างประชากรตั้งต้น การใช้จำนวนพ่อแม่พันธุ์ในจำนวนที่มากพอต่อการรักษาระดับความหลากหลายทางพันธุกรรม การคัดพันธุ์มีแผนการเลือกหรือแผนการคัดพันธุ์ที่เหมาะสม เนื่องจากในกระบวนการคัดพันธุ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมหลายประการ ได้แก่ ความถี่อัลลีลเปลี่ยนแปลงไปจากประชากรเดิม ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง ลักษณะทางพันธุกรรมของประชากรเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีทิศทาง และอาจเกิดการผสมเลือดชิด ทั้งนี้เพื่อให้การจัดการประชากรโรงเพาะฟักที่ดีควรดำเนินงานตามแนวทางปฏิบัติในการสร้างประชากรโรงเพาะฟัก เช่น ใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนมาก โดยค่า N_e ไม่ต่ำกว่า

50 ตัว ระวังให้เกิดการผสมเลือดชิดน้อยที่สุด เมื่อความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลงมากควรนำพ่อแม่พันธุ์จากประชากรอื่นมาผสม โดยประชากรดังกล่าวต้องมีค่าเฉลี่ยของลักษณะทางเศรษฐกิจที่สำคัญไม่ด้อยกว่าประชากรเดิม ประชากรที่นำมาใหม่อาจเป็นประชากรจากธรรมชาติ ประชากรจากโรงเพาะฟักอื่น หรืออาจจะเลี้ยงปลาสายพันธุ์ต่าง ๆ ไว้อย่างน้อย 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละไม่ต่ำกว่า 100 ตัว (อุทัยรัตน์, 2543) หรือใช้หลักปฏิบัติตามหลักการเบื้องต้น คือ การใช้จำนวนพ่อแม่พันธุ์ให้จำนวนมากที่สุดเท่าที่จะทำได้และมีการวางแผนจัดการที่เหมาะสม เช่น การเก็บบันทึกข้อมูลพันธุ์ประวัติของประชากรปลาในโรงเพาะฟักไว้เพื่อป้องกันการผสมระหว่างปลาที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (อุทัยรัตน์, 2551) ดังนั้นผลจากการใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ศึกษาระดับพันธุกรรมของปลาแขยงกงทำให้ทราบถึงข้อมูลระดับพันธุกรรมที่สะท้อนถึงผลที่เกิดกับประชากรในโรงเพาะฟัก และข้อมูลที่ได้มีประโยชน์เพื่อการแก้ปัญหาและปรับปรุงกระบวนการจัดการปลาแขยงกงในโรงเพาะฟักให้ดีขึ้น โดยมีแนวทางดำเนินงานคือการ เพิ่มจำนวนประชากรพ่อแม่พันธุ์เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม ลดโอกาสการเกิดเลือดชิด และสภาวะคอขวด นอกจากนั้นต้องมีการจัดการสายพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ มีข้อมูลพันธุ์ประวัติของสายพันธุ์ เพื่อความสำเร็จในการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาแขยงกงอย่างยั่งยืน

สรุป

ผลการทดสอบการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ข้ามชนิดจากปลากดเหลืองนำมาใช้ศึกษาในปลาแขยงกง พบเครื่องหมายที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์และมีความหลากรูปแบบจำนวน 6 ตำแหน่ง ได้แก่ MnRmCT6-2, MnRmE11-1, Mns432, MnBp8-1-30, MnVj2-1-62 และ MnBp8-4-43b หรือคิดเป็น 54.55 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ในปลาแขยงกงข้อมูลที่วิเคราะห์ได้สามารถสรุปได้ว่าปลาแขยงกงมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมอยู่ในระดับปานกลาง การทดสอบการออกจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก มีเครื่องหมายที่ตำแหน่ง MnRmE11-1 เพียงตำแหน่งเดียวที่ไม่ออกจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โดยในตำแหน่งที่ออกจากสมดุลจะเป็นการออกจากสมดุลโดยมีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการคาดหวังมากกว่าค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้จากการสังเกต และมีค่า F_{IS} เป็นบวกแสดงถึงประชากรมีระดับเฮทเทอโรไซโกซิตี้ต่ำจากการผสมเลือดชิด ตรวจพบปรากฏการณ์คอขวด แสดงถึงความจำเป็นที่จะต้องมีการให้ความสำคัญต่อการวางแผนเพื่อแก้ไขสภาวะดังกล่าวโดยการเพิ่มจำนวนประชากรตั้งต้นในการสร้างประชากรโรงเพาะฟักและเพื่อเพิ่มความหลากหลายของระดับพันธุกรรมในประชากร ควรต้องมีการนำประชากรปลาแขยงกงจากแหล่งอื่นซึ่งอาจจะเป็นปลาจากโรงเพาะฟักอื่นหรือจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการสร้างประชากรรุ่นต่อไป

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ 2565 อุปกรณ์ และครุภัณฑ์ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาและ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2564. รายงานประจำปี 2564. กรมประมง. กรุงเทพฯ.

กัณฑรีย์ เจริญทวี. 2550. ความหลากหลายทางไมโครแซทเทลไลท์พันธุกรรมในประชากรกุ้งก้ามกรามจากโรงเพาะฟักและธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

นฤเบศร์ กลิ่นมาลัย, พีรณัฐ รานบัว และรุ่งกานต์ กล้าหาญ. 2564. ผลของการอดอาหารและการกลับมาให้อาหารต่อการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาอีกง (*Mystus gulio*). แก่นเกษตร. 47: 1259-1264.

พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข, ศรีจรรยา เข็มกลัด, วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์, ศรีรัตน์ สอดศุข, พลชาติ ผิวเณร และทองอยู่ อุดเลิศ. 2556. ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปลายี่สกเทศของไทยที่มาจากการเพาะเลี้ยงปรับปรุงพันธุ์และแหล่งน้ำธรรมชาติ. Thai Journal of Genetics. 6: 150-167.

วิศรุต ชัยเลิศฤทธิ์, อนงค์ นิ่มละมัย, พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข, คงภพ อำพลศักดิ์ และอุดม สาระชาติ. 2562. การสำรวจเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ในปลาตระกูลตะเพียนโดยวิธีการทดสอบพีซีอาร์ข้ามชนิด. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 13: 88-103.

วิศรุต ชัยเลิศฤทธิ์, สมบูรณ์ สุนทรโชติ, คงภพ อำพลศักดิ์, พุทธรัตน์ เบ้าประเสริฐกุล, ธชาทัช ธีรติเดชากุล, ประจักษ์ บัวเนียม และชัยติศักดิ์ บริบูรณ์. 2563. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และสมรรถนะของประชากรปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) จากโรงเพาะฟัก. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 14: 32-47.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2551. ประชากรเริ่มต้นเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและ Domestication selection. หน้า 78-93, ใน: อุทัยรัตน์ ณ นคร และวงศ์ปฐม กมลรัตน์ (บรรณาธิการ). พันธุศาสตร์ประชากรและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ.

Alam, S., and S. Islam. 2005. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture. 246: 151-160.

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

Araneda, C., N. Lam, P. Turra, F. Jilberto, V. Cordova, and P. Gallardo. 2017. Utility of five SSR markers for genetic diversity and paternity exclusion analysis in the Patagonian toothfish. Latin American Journal of Aquatic Research. 45: 188-192.

DeWoody, J. A., and J. C. Avise. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology. 56: 461-473.

Do, C., R. S. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett, and J. R. Ovenden. 2014. NeEstimator v2: reimplementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. Molecular Ecology Resources. 14: 209-214.

Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indice (version2.9.3). (Computer software). University of Lausanne, Switzerland.

Guo, S. W., and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. Biometrics. 48: 361-372.

Hoh, P. B., S. S. Siraj, S. G. Tan, and Y. Yusoff. 2008. Isolation of Trinucleotide Microsatellite Markers for *Mystus nemurus*. Russian Journal of Genetics. 44: 369-371.

Loukovitis, D., B. Ioannidi, D. Chatziplis, G. Kotoulas, A. Magoulas, and C. S. Tsigenopoulos. 2015. Loss of genetic variation in Greek hatchery populations of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) as revealed by microsatellite DNA analysis. Mediterranean Marine Science. 16: 197-200.

Morelli, K. A., E. Revaldaves, C. Oliveira, and F. Foresti. 2006. Isolation and characterization of eight microsatellite loci in *Leporinus macrocephalus* (Characiformes: Anostomidae) and cross-species amplification. Molecular Ecology Notes. 7: 32-34.

Peakall, R., and P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.

Piry, S., G. Luikart, and J. M. Cornuet. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. Journal of Heredity. 90: 502-503.

Primmer, C. R., J. N. Painter, M. T. Koskinen, J. U. Palo, and J. Merilä. 2005. Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. Journal of Avian Biology. 36: 348-360.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical test. Evolution. 43: 223-225.

Rousset, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. Molecular Ecology Resources. 8: 103-106.

Usmani, S., S. G. Tan, S. S. Siraj, and K. Yusoff. 2003. Population structure of the Southeast Asian river catfish *Mystus nemurus*. International Society for Animal Genetics, Animal Genetics. 34: 462-464.