

แคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาไหลนา (*Monopterus albus*) ด้วยการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแบบนอร์

Standardized karyotype and idiogram of swamp eel (*Monopterus albus*) by conventional staining and Ag-NOR banding techniques

นันทิยา มณีโชติ¹, วาจิณารัตน์ คุวเดย์¹, ชวนพิศ จารัตน์¹, ศรัณย์ จำรัสธนสาร², สราวุธ แก้วศรี², กฤษณ์ ปันทอง³ และ นิชาภา เนตรการ^{1*}

Nuntiya Maneechot¹, Watjanarat Kuandee¹, Chuanpit Jarat¹, Sarun Jumrasthanasan², Sarawut Kaewsri², Krit Pinthong³ and Nichapa Chetrakan^{1*}

Received: 6 December 2023 ; Revised: 23 April 2024 ; Accepted: 17 May 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการรายงานการศึกษาแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาไหลนา (*Monopterus albus*) ที่พบในอำเภอชุมพลบุรี จังหวัดสุรินทร์ ในวงศ์ปลาไหล ซึ่งเป็นปลาท้องถิ่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย โดยได้รวบรวมตัวอย่างจำนวน 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) เตรียมโครโมโซมระยะเมทาเฟสจากเนื้อเยื่อไต ย้อมสีโครโมโซมด้วยการย้อมแถบสีแบบธรรมดาและแบบนอร์ ผลการศึกษาพบว่า ปลาไหลนามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 24 แท่ง เป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 24 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย แคริโอไทป์ประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่ง และขนาดเล็ก 2 แท่ง การศึกษานี้เป็นการรายงานครั้งแรกที่พบตำแหน่งนอร์ 1 ตำแหน่ง (ภาวะพหุสัณฐาน) ในปลาชนิดนี้ บนโครโมโซมคู่ที่ 3 (3a3b) ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ได้ดังนี้ $2n (24) = L_8^t + M_{14}^t + S_2^t$

คำสำคัญ: แคริโอไทป์, อิดิโอแกรม, ปลาไหลนา, ย้อมสีแบบธรรมดา, ย้อมแถบสีแบบนอร์

Abstract

The karyotype and idiogram of swamp eel (*Monopterus albus*) found in Chumphonburi district, Surin Province, belongs to the family Synbranchidae. It is a local fish species that is of economic importance in Thailand. Ten specimens (5 males and 5 females) were collected. The metaphase chromosomes were directly prepared from the kidney tissues and were stained using conventional staining and Ag-NOR banding techniques. The results showed that diploid number ($2n$) of the *M. albus* was 24 chromosomes, all of which telocentric chromosomes. The fundamental number (NF) was 24 in both sexes and the karyotype was composed of 8 large, 14 medium, and 2 small telocentric chromosomes. This is the first report of polymorphism of NORs in *M. albus*, with pair 3 (3a3b) that showed one position of a clearly observable satellite chromosome in both males and females. The karyotype formula for *M. albus* is as follows: $2n (24) = L_8^t + M_{14}^t + S_2^t$

Keywords: Karyotype, Idiogram, *Monopterus albus*, Conventional staining, Ag-NOR banding

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ตำบลนอกเมือง อำเภอเมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ 32000

² คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ถนนจิระ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 31000

³ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์พระนครศรีอยุธยาหัตถา ตำบลหันตรา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

¹ Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University, Nok Mueang Subdistrict, Mueang Surin District, Surin Province 32000

² Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Jira Road, Mueang District, Buriram Province 31000

³ Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamanala University of Technology Suvannabhumhi, Hantra Subdistrict, Phra Nakhon Si Ayutthaya District, Phra Nakhon Si Ayutthaya Province 13000

* Corresponding Author E-mail: nichapa.ch@sru.ac.th

บทนำ

ปลาในวงศ์ Synbranchidae มีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ ปลาไหลนา [*Monopterus albus*, Zuiew (1973)] มีชื่อสามัญ swamp eel, Asian swamp eel ปลาหลด [*Ophisternon bengalense*, McClelland (1845)] มีชื่อสามัญ Bengal eel และปลาไหลแดงหรือปลาหลดย [*Macropterus caligans*, Cantor (1849)] ประเทศไทยพบปลาไหลนาทั่วทุกภาค เป็นปลาประจำถิ่น (native species) ที่พบได้ในเขตร้อน (tropical area) พบกระจายอย่างกว้างขวางตามประเทศต่างๆ เช่น อินเดีย จีน ญี่ปุ่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย และบังกลาเทศ (Talwar & Jhingran, 1992 ; Froese & Pauly, 2010 ; Guan et al., 1996) มักอาศัยตามพื้นดินโคลนที่มีซากพืชและซากสัตว์เน่าเปื่อยสะสมอยู่ หรือบริเวณที่ปกคลุมด้วยวัชพืช (วิรัช จิวแฮม, 2551) อำเภอ ชุมพลบุรี จังหวัดสุรินทร์ เป็นแหล่งที่พบปลาไหลในสภาพแวดล้อมทั่วไปและในแหล่งน้ำธรรมชาติ (นิชากา เจริญการ และคณะ, 2564 ; นันทิยา มณีโชติ และคณะ, 2563) ลักษณะทั่วไปของปลาไหลนาแสดงดัง Figure 1 ลักษณะลำตัวกลมยาวคล้ายงู ส่วนหางแบนทางด้านข้างเรียวและสั้นกว่าส่วนที่เป็นลำตัว ไม่มีเกล็ดริมฝีปากบนหนาคลุมริมฝีปากล่าง ตาค่อนข้างเล็ก มีหนังคลุม (Nichols, 1943 ; Jayaram, 1981 ; Talwar & Jhingran, 1992 ; Kottelat, 1998) ด้านบนลำตัวมีสีน้ำตาล ส่วนด้านล่างมีสีน้ำตาลอ่อนหรือขาวมีจุดดำเล็กๆ ด้านข้างลำตัว บางครั้งพบด้านล่างของลำตัว (Inger & Kong, 1962) สามารถหายใจโดยใช้แก๊สออกซิเจนจากอากาศได้โดยตรง (Nelson, 1994) นอกจากนี้ยังพบทางตะวันตกของแอฟริกา อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ (Nelson, 1994 ; Collins et al., 2002) ซึ่งประชากรในแถบนี้ถือว่าปลาไหลเป็นอาหารที่ให้โปรตีนหลักรวมทั้งให้รสชาติที่ดีสำหรับประเทศไทยปลาไหลนาเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ให้โปรตีนสูง และมีไขมันต่ำ (Muslimatun et al., 2018) มีราคาแพง เป็นที่นิยมบริโภคของคนไทยและมีแนวโน้มที่ดีสำหรับการส่งออก (สุวรรณดี ขวัญเมือง, 2533 ; วิรัช จิวแฮม และคณะ, 2547) และสามารถสร้างรายได้ให้กับชุมชน

การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาไหลน่ายังมีน้อยมาก จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีความแปรผันของจำนวนโครโมโซมสูง (Supiwong et al., 2019 ; ภาณุพน ถวิลประวัตติ, 2556 ; ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น, 2539) ดังนั้นการศึกษาดังนี้จึงเป็นการศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาไหลนาทั้งการย้อมสีแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์ ซึ่งการย้อมสีแบบธรรมดาสามารถบอกจำนวนและชนิดของโครโมโซมประจำสิ่งมีชีวิตนั้นๆ

ได้และอาจบอกลักษณะบางอย่างของโครโมโซม เช่น รอยคอดที่ 1 หรือ รอยคอดที่ 2 เป็นต้น และการย้อมแถบสีแบบนอร์เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจหา NORs ซึ่งในสัตว์มีกระดูกสันหลังมียืนสำหรับสังเคราะห์ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA) ชนิด 18S และ 28S อยู่ ผลที่ได้จากการศึกษาดังนี้จะ เป็นข้อมูลในการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านพันธุศาสตร์ขั้นสูงและความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลาไหลนาที่พบในวงศ์ Synbranchidae ในจังหวัดสุรินทร์ ประเทศไทย นอกจากนี้ยังเป็นการรายงานครั้งแรกที่พบตำแหน่งนอร์ที่มีลักษณะภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) ทั้งนี้ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์ การผสมข้ามพันธุ์ และการอนุรักษ์พันธุ์ เป็นต้น (อลงกลด แทนอมทอง, 2554) เพื่อให้ได้ลักษณะพันธุ์ที่ดีตามความต้องการและเป็นประโยชน์ให้กับกลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาไหลนาและผู้ที่สนใจต่อไป

วิธีการศึกษา

การรวบรวมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างปลาไหลนาจากตำบลศรีณรงค์ อำเภอชุมพลบุรี จังหวัดสุรินทร์ นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนทดลอง 7 วัน โดยใช้ตัวอย่างปลาเพศผู้ 5 ตัว (ขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 55-60 เซนติเมตร) และเพศเมีย 5 ตัว (ขนาดความยาวลำตัว เฉลี่ย 35-50 เซนติเมตร) โดยจะสังเกตจากลักษณะรูปร่างร่วมด้วย โดยในปลาไหลเพศผู้จะมีลำตัวยาวเรียวสีเข้มกว่าเพศเมีย ส่วนเพศเมียจะมีลักษณะลำตัวอ้วนอ้วน และความยาวลำตัวสั้น และนอกจากนั้นปลาไหลน่ายังมีลักษณะอวัยวะเพศแตกต่างกัน โดยเพศผู้จะมีลักษณะอวัยวะเพศว่า มีสีซีด Figure 2 (A) และเพศเมียจะมีลักษณะหนูน มีสีแดงเรื่อ Figure 2 (B) จากนั้นนำตัวอย่างปลาไหลมาชั่งน้ำหนักและบันทึกผล



Figure 1 Characteristics of the swamp eel (*Monopterus albus*).



Figure 2 Swamp eel (*Monopterus albus*) breeding parents that have perfect sexual characteristics male (A) and female (B), arrows indicate sexual characteristics.

งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ เลขที่ AE651004 วันที่ 15 ธันวาคม 2565

การเตรียมโครโมโซมจากไต (วิธีการเตรียมดัดแปลงจากวิธีของ Chen & Ebeling (1968))

เตรียมสารละลายโคลชิซิน (colchicine) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ฉีดเข้าบริเวณช่องท้องของปลา ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัมน้ำหนักตัว ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำมาทำการ การุณยฆาต (AVMA, 2020) และผ่าตัดเพื่อเก็บเอาส่วนไต นำไปบดขยี้ให้ละเอียดในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ จากนั้นย้ายตัวอย่างเซลล์ไปลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร บ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เตรียมโครโมโซมด้วยเทคนิค ไฮโปโทนิกฟิกเซชัน-แอร์-ดรายอิง (hypotonic-fixation-air-drying) ตามวิธีของศรีนัย จารัสธนสาร และประวีร์ณ สุพรรณอ่วม (2561) โดยหยดสารละลายเซลล์แขวนลอยลงบนสไลด์ที่สะอาด ปล่อยให้สไลด์ให้แห้งในอากาศ

การย้อมสีโครโมโซม

สไลด์ที่หยดสารละลายเซลล์แล้วปล่อยให้แห้ง นำมาย้อมด้วยสีจิมซ่าความเข้มข้น ร้อยละ 20 โดยเตรียมจาก stock giemsa's solution ใน Sorensen buffer pH 6.8 นาน 30 นาที จากนั้นล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปาให้สะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า สำหรับการย้อมแถบสีแบบ NOR จัดแปลงจากวิธีของ Howell & Black (1980) โดยอบสไลด์ที่ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 วัน จากนั้นหยดซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate) ร้อยละ 50 และหยดเจลาติน (Gelatin) ร้อยละ 4 ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

นาน 5 นาที (หรือจนกว่าสไลด์จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม) ล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งสไลด์ให้แห้งแล้วนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

การจัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน

จัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน จากเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) นำภาพที่ได้มาจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน พร้อมทั้งวัดค่าต่างๆ ของโครโมโซม ได้แก่ ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (short arm ; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (long arm ; Li) และคำนวณหาความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (total length ; LT, $LT = Li + Ls$) จากนั้นคำนวณหาความยาวสัมพัทธ์ของโครโมโซม (relative length ; RL, $RL = LT / \sum LT$) ค่า centromeric index (CI, $CI = LT / Li$) นำค่า RL และ CI มาหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) เพื่อระบุขนาด (size) และชนิดของโครโมโซม (type of chromosome) นำค่าที่ได้ทั้งหมดไปใช้ประกอบในการจัดทำแคโรไทป์และสร้างอิดิโอแกรมมาตรฐานต่อไป และหาสูตรแคโรไทป์ ตามวิธีของ Turpin & Lejeune, 1965 ; กันยารัตน์ไชยสุต (2532) และอลงกลด แทนอมทอง (2554) กำหนดชนิดของโครโมโซมเป็น เมทาเซนทริก (metacentric, m), ซับเมทาเซนทริก (submetacentric, sm), อะโครเซนทริก (acrocentric, a) และ เทโลเซนทริก (telocentric, t) ส่วนขนาดโครโมโซม กำหนดโครโมโซมขนาดใหญ่ (large, L), โครโมโซมขนาดกลาง (medium, M) และโครโมโซมขนาดเล็ก (small, S) จัดเรียงแคโรไทป์ตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ประยุกต์โฟโตชอป (photoshop) ใส่หมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ไว้ด้านล่าง และจัดทำอิดิโอแกรม โดยใช้เซลล์ระยะเมทาเฟสจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาอย่างละ 30 เซลล์ มาจัดแคโรไทป์ วัดความยาว

ของแขนโครโมโซมทุกคู่ด้วยไมโครเรดเวอร์เนีย (vernier) จัดทำภาพวาดอิตโอแกรมด้วยคอมพิวเตอร์โดยการนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาสร้างกราฟโดยใช้โปรแกรม Microsoft excel XP/2003 ให้แกนตั้ง (Y) เป็นความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดไปหาคู่ที่เล็กที่สุด

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

การศึกษาโครโมโซมของปลาไหลนาจากอำเภอยะนิง จังหวัดสุรินทร์ โดยการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (Figure 3) พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ $2n = 24$ แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 24 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย แคริโอไทป์ ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 8 แห่ง ขนาดกลาง 14 แห่ง และขนาดเล็ก 2 แห่ง (Figure 3) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปลาไหลนา โดยรัช ดอนสกุล และวิเชียร มากต่น (2539) ; ภาณุพนธ์ ถวิลประวีติ (2556), และ Supiwong et al., (2019) พบว่าปลาไหลในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ $2n = 24$ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกทั้งหมด จำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 24 ซึ่งโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกเป็นโครโมโซมชนิดเดียวกันกับโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกที่รายงานครั้งนี้ โดยการจำแนกชนิดของโครโมโซมสามารถจำแนกได้ทั้งตามวิธีของ Levan et al., (1964) (จำแนกชนิดโครโมโซมเป็น m, sm, st, a/t) และ Turpin & Lejeune, (1965) (จำแนกชนิดโครโมโซมเป็น m, sm, a, t) และนอกจากนั้นการพบแคริโอไทป์เซลล์ร่างกายทั้งเพศผู้และเพศเมียที่มีชนิดโครโมโซมแบบเดียวกันทั้งหมด ลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะไม่สมมาตร (asymmetrical karyotype) โดยมีโครโมโซมเพียงชนิดเดียว คือโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด และถือเป็นลักษณะดึกดำบรรพ์ (ancestral) ซึ่งสังเกตพบได้ในปลาเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น (Molina & Galetti, 2004) อาจพบได้ในปลาทะเล *Pomacentrus coelestis* (Arai & Inoue, 1976), *Chromis chromis* (Alvarez et al., 1980) และ *C. multilineata* (Molina & Galetti, 2002) หรือพบได้ในปลาน้ำจืด เช่น พบได้ในปลาวงศ์ปลากราย (Notopteridae) เช่น ปลาดองลาย (*Chitala blanci*) (รัช ดอนสกุล และวิเชียร มากต่น, 2533 ; Maneechot et al., 2014) ปลาสลัด (*Notopterus notopterus*) (Rishi & Singh, 1983 ; Khuda-Bukhsh & Barat, 1987 ; Rishi & Thind, 1994 ; Silawong et al., 2012) ที่พบจำนวนโครโมโซม ดิพลอยด์ในปลาดองลายเท่ากับ 42 แห่ง และเป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด (Maneechot et al., 2014) ซึ่งมีลักษณะโครโมโซมแบบ asymmetrical karyotype และนอกจากนั้น Supiwong et al., (2019) ; รัช ดอนสกุล และวิเชียร มากต่น (2539)

ยังพบจำนวนโครโมโซม ดิพลอยด์ของปลาไหลในภาคกลางของประเทศไทย $2n = 18$ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 6 แห่ง และอะโครเซนทริกจำนวน 12 แห่ง จำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 24 อย่างไรก็ตามปลาชนิดเดียวกันแต่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์แตกต่างกันได้ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่แตกต่างกัน จึงอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครโมโซมเกิดขึ้น อาจเกิดจากการฟิชชัน (fission) หรือการฟิวชัน (fusion) ก็เป็นไปได้ (รัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากต่น, 2539 ; Getlekha et al., 2016 ; Supiwong et al., 2019) ปลาไหลจากภาคตะวันออกเฉียงเหนืออาจจะโบราณกว่าปลาไหลในภาคกลาง ทั้งนี้ปลาที่มีโครโมโซมแขนเดียว (แบบเทโลเซนทริก/อะโครเซนทริก) มากกว่าจะโบราณมากกว่าปลาที่มีโครโมโซมแบบสองแขน (Denton, 1973)

การย้อมสีโครโมโซมด้วยการย้อมแถบสีแบบนอร์ซึ่งเป็นบริเวณที่ติดสีเข้มคือตำแหน่งที่ตั้งของนิวคลีโอลัส (nucleolus) พบตำแหน่งนอร์ 1 ตำแหน่ง บนโครโมโซมคู่ที่ 3 (3a3b) ที่แขนข้างยาว (q) (Figure 4) บริเวณใกล้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ (pericentromeric region) ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย การศึกษาค้นครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกของการพบตำแหน่งนอร์ 1 แห่ง ซึ่งเป็นลักษณะภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) ในปลาไหลนา ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Supiwong et al., (2019) ที่พบตำแหน่งนอร์ของปลาไหล 1 คู่บริเวณใกล้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ บนโครโมโซมคู่ที่ 7 ซึ่งจำนวนและตำแหน่งนอร์บนโครโมโซมสามารถบ่งบอกวิวัฒนาการของโครโมโซมได้ กล่าวคือปลาโดยส่วนใหญ่จะมีนอร์ขนาดเล็กที่โครโมโซมเพียง 1 คู่ เท่านั้น การที่มีมากกว่า 2 ตำแหน่งนั้น อาจเกิดจากการเกิดทรานสโลเคชัน (translocation) บางส่วนของโครโมโซมที่มีนอร์ไปยังโครโมโซมแท่งอื่นๆ (วิระยุทธ สุภวิงค์ และพรพิมล เจียรนัยปริเปรม, 2552)

ทั้งนี้ การย้อมสีแบบนอร์เพื่อที่จะตรวจสอบตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซม (18S และ 28S ribosomal RNA) ซึ่งบริเวณนี้เรียกบริเวณนิวคลีโอลาออร์แกไนเซอร์ หรือนอร์ (nucleolar organizer regions, NORs) และเป็นตำแหน่งโครโมโซมเครื่องหมาย (chromosome marker) จัดเป็น satellite chromosome การพบนอร์ 1 ตำแหน่งในสิ่งมีชีวิต อาจเป็นลักษณะดั้งเดิมของบรรพบุรุษของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ (plesiomorphic) (Amemiya & Gold, 1990) ซึ่งเป็นลักษณะแบบโบราณ (primitive) มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ (Choosangjaew et al., 2015) การย้อมด้วยแถบสีแบบนอร์ สามารถยืนยันตำแหน่งเดียวกันกับการย้อมด้วยเทคนิคการย้อมขั้นสูงด้วยเทคนิค FISH (fluorescence in situ hybridization) ด้วยโพรบ 18S rDNA (Getlekha et al., 2017 ; Supiwong et al., 2017) ได้ด้วย

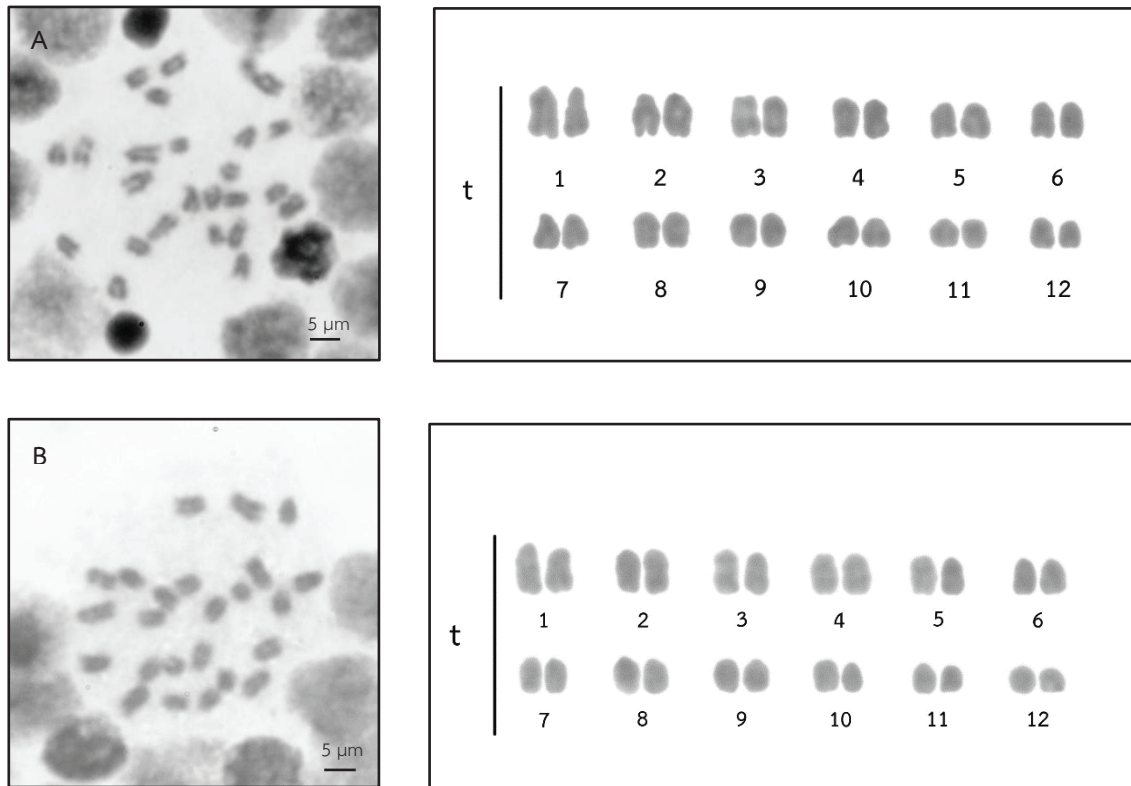


Figure 3 Metaphase chromosome plates and karyotypes of the swamp eel (*M. albus*) male (A) and female (B), $2n$ (diploid) = 24 by conventional staining technique (scale bar indicates 5 μ m).

ยีนไรโบโซม 18S rDNA ยังเป็นเครื่องหมายที่ถูกใช้ในปลา *Hoplias malabaricus* เพื่อแยกแต่ละประชากรออกจากกันได้ (Cioffi *et al.*, 2009 ; Vicari *et al.*, 2005) โครโมโซมเครื่องหมายจากการย้อมย้อมยังสามารถนำมาเป็นเครื่องหมายจีโนมเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบหรือยืนยันลักษณะลูกผสมของปลาได้อีกด้วย (Maneechot *et al.*, 2016) เช่น ปลาดุกบิ๊กอุยหรือปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus* x *C. macrocephalus*)

Table 1 แสดงข้อมูลความยาวเฉลี่ยของโครโมโซม ความยาวแกนโครโมโซม ความยาวโครโมโซมแต่ละแท่ง ความยาวสัมพัทธ์ของโครโมโซมค่า relative length และ centrometric index (CI) สามารถสร้างสูตรแคโรไทป์ของปลาไหลนาได้ดังนี้ $2n (24) = L_8^I + M_{14}^I + S_2^I$

การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาไหลนา นอกจากศึกษาจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์แล้ว ยังมีการศึกษารูปร่างโครโมโซม วัดขนาดโครโมโซม นำมาจัดทำแคโรไทป์ สูตรแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานแสดงการจัดเรียงขนาดของโครโมโซมจากคู่ใหญ่ที่สุดไปยังคู่ที่เล็กที่สุดดัง Figure 5 ทั้งนี้ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาเป็นข้อมูลเพื่อศึกษาลำดับวิวัฒนาการของปลาในวงศ์นี้

สำหรับการย้อมแถบสีแบบบอร์ การพบโครโมโซมเครื่องหมายบนตำแหน่งโครโมโซมนี้จะประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ด้านการปรับปรุงพันธุ์ อนุกรมวิธาน การอนุรักษ์ต่อไปและหากมีการย้อมสีบนโครโมโซมด้วยเทคนิค FISH ของปลาไหลนาจากอำเภอชุมพลบุรี จังหวัดสุรินทร์เพื่อศึกษาดำรงของโครโมโซมเครื่องหมายหรือ

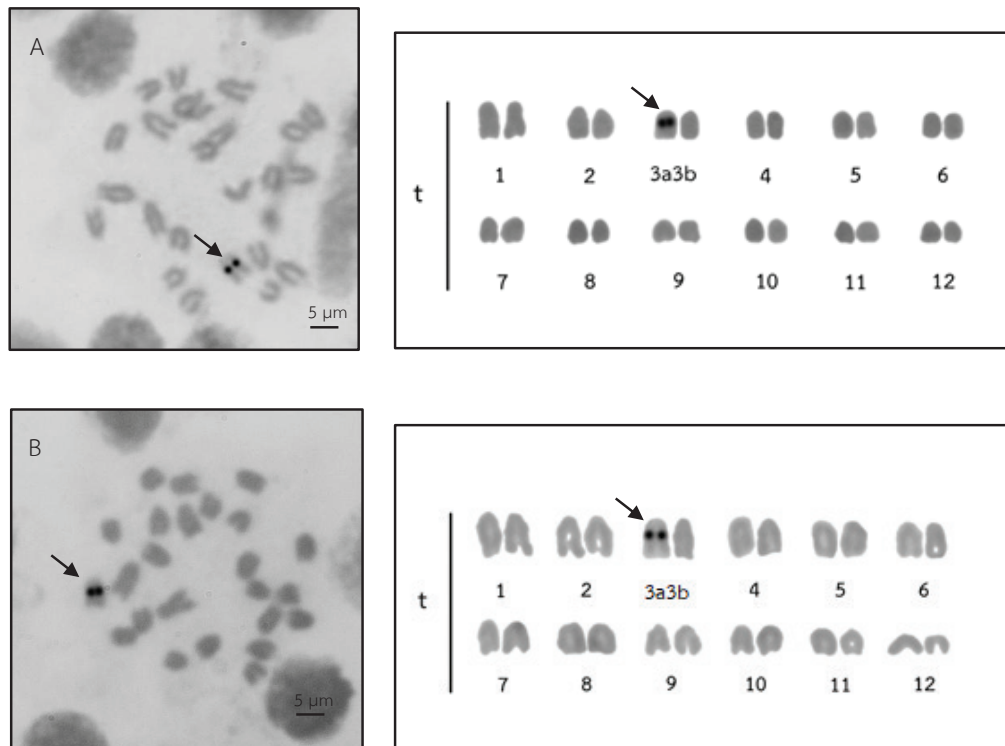


Figure 4 Metaphase chromosome plates and karyotype of the swamp eel (*M. albus*) male (A) and female (B), $2n$ (diploid) = 24 by NOR banding techniques. Arrow indicate the respective different heteromorphic secondary constriction of chromosome pair 3a3b. Scale bars indicates 5 μ m.

ตรวจสอบตำแหน่งความผิดปกติของโครโมโซม
เหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อกลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาไหล
นา กลุ่มผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือเกษตรกร

ผู้สนใจทั่วไป อันเป็นแนวทางที่จะส่งผลต่อการเติบโต
ทางธุรกิจซึ่งเป็นการสำคัญต่อการพัฒนาและผลักดันสู่ความ
ยั่งยืนของเศรษฐกิจฐานรากของไทยในอนาคตต่อไป

Table 1 Mean length of short arm chromosome (Ls), length of long arm chromosome (LI), length total arm chromosome (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL and CI, from 30 metaphase cells of male and female swamp eel (*M. albus*), $2n=24$.

Pair no.	Ls	LI	LT	RL $\pm$ SD	CI $\pm$ SD	Size	Type
1	0.00	133.59	133.59	0.1164 $\pm$ 0.0066	1.0000 $\pm$ 0.0000	Large	telocentric
2	0.00	116.58	116.58	0.1015 $\pm$ 0.0032	1.0000 $\pm$ 0.0000	Large	telocentric
3*	0.00	110.96	110.96	0.0966 $\pm$ 0.0028	1.0000 $\pm$ 0.0000	Large	telocentric
4	0.00	106.64	106.64	0.0929 $\pm$ 0.0035	1.0000 $\pm$ 0.0000	Large	telocentric
5	0.00	99.71	99.71	0.0868 $\pm$ 0.0010	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
6	0.00	94.96	94.96	0.0827 $\pm$ 0.0022	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
7	0.00	93.51	93.51	0.0815 $\pm$ 0.0017	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
8	0.00	89.28	89.28	0.0778 $\pm$ 0.0020	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
9	0.00	84.10	84.10	0.0733 $\pm$ 0.0027	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
10	0.00	79.09	79.09	0.0689 $\pm$ 0.0033	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
11	0.00	73.50	73.50	0.0640 $\pm$ 0.0018	1.0000 $\pm$ 0.0000	Medium	telocentric
12	0.00	66.15	66.15	0.0576 $\pm$ 0.0060	1.0000 $\pm$ 0.0000	Small	telocentric

Remark * NOR-bearing chromosome 1 position

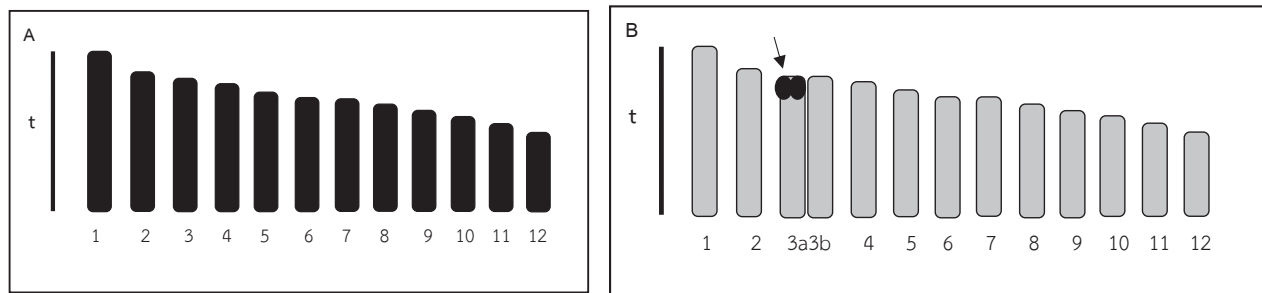


Figure 5 Idiogram of the swamp eel (*M. albus*), $2n=24$, by conventional staining technique (A) and Ag-NOR banding technique (B). Arrow indicates polymorphism of NORs on pairs 3 (3a3b).

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาไหลนา โดยเตรียมโครโมโซมจากเนื้อเยื่อไตในระยะเมทาเฟส ย้อมสีโครโมโซมด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา และการย้อมสีแบบนอร์ พบว่าปลาไหลนามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 24 แท่ง เป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 24 แท่งในเพศผู้และเพศเมีย แคโรไทป์ประกอบด้วยชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่ง และขนาดเล็ก 2 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย เมื่อย้อมแถบสีแบบนอร์พบตำแหน่งนอร์ 1 ตำแหน่งในโครโมโซมคู่ที่ 3 (3a3b) ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย สามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ ดังนี้

$$2n (24) = L_8^t + M_{14}^t + S_2^t$$

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ขอขอบคุณที่มวิจัยที่ให้คำปรึกษาตลอดจนช่วยเหลือตลอดการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ที่อำนวยความสะดวกวัสดุอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ไชยสุต. (2532). เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธวัช ดอนสกุล, และ วิเชียร มากต่น. (2533). การศึกษาโครโมโซมของปลาทราย ปลาตองลาย และปลาสลาดที่พบในประเทศไทย. ใน, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (น. 459-466).

ธวัช ดอนสกุล, และ วิเชียร มากต่น. (2539). การศึกษาโครโมโซมของปลาไหลในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย. ใน, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (น. 532-538).

นันทิญา มณีโชติ, นิชาภา เนตระการ, และ นิภาศักดิ์ คงงาม. (2563). ความหลากหลายของพันธุ์ปลาในลำน้ำชีสู่ความยั่งยืนของชุมชนในจังหวัดสุรินทร์. วารสาร *PSRU Journal of Science and Technology*, 5(2), 47-58.

นิชาภา เนตระการ, นันทิญา มณีโชติ, ชูจิต สารภาค, และ อารีย์ ไกรสุรย์. (2564). ผลของอาหารที่ต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของบ่อเลี้ยงและการเจริญเติบโตของปลาไหลนา. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 40(4), 364-372.

ภาณุพนธ์ ถวิลประวีติ. (2556). การวิเคราะห์ลักษณะแคโรไทป์ของปลาไหลนา (*Monopterus albus*) ด้วยวิธีทางเซลล์พันธุศาสตร์ในระดับโมเลกุล. *Thai Journal of Genetics*, (Special Issue 1), 428.

วิรัช จิวแหยม. (2551). ชีวิตวิทยาการสืบพันธุ์และการเพาะขยายพันธุ์เบื้องต้นของปลาไหลนา (*Monopterus albus* Zuiew) โดยให้วางไข่ตามธรรมชาติในบ่อคอนกรีต. วารสารวิจัย มช., 13(1), 15-22.

วิรัช จิวแหยม, นำชัย เจริญเทศประสิทธิ์, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดียว, และ สอนง เทียบศรี. (2547). การวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาไหลนาเพื่อการค้า: การอนุบาลและการเลี้ยง. รายงานการวิจัย. ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วีระยุทธ สุวิวงศ์, และ พรพิมล เจียรนัยปรีเปรม. (2552). พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาชะโด (*Channa micropeltes*) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. ใน, การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยขอนแก่น (National graduate research conference) ครั้งที่ 12 (น. 1584-1590).

- ศรันย์ จำรัสชนสาร, และ ประวีร์ณ์ สุพรรณอ่วม. (2561). แครีโอไทป์และไอโดแกรมมาตรฐานของปลากัดจีน (*Betta splendens* 'Veil Tail') ด้วยการย้อมสีแบบจิมซา. วารสารวิทยาศาสตร์ คชศาสตร์, 39, 85-95.
- สุวรรณดี ขวัญเมือง. (2533). การศึกษาเบื้องต้นทางชีววิทยา บางประการและการทดลองเพาะพันธุ์ปลาไหลนา. วารสาร การประมง, 47(6), 491-508.
- อลงกลด แทนอมทอง. (2554). พันธุศาสตร์เซลล์. โรงพิมพ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Ivarez, M. C., Cano, J., & Thode, G. (1980). DNA content and chromosome complement of *Chromis chromis* (Pomacentridae, Perciformes). *Caryologia*, 33, 267-274.
- Amemiya, C. T., & Gold, J. R. (1990). Cytogenetic studies in North American minnows (Cyprinidae): Chromosomal NOR phenotypes of 12 species, with comments on cytosystematic relationships among 50 species. *Hereditas*, 112, 231-247.
- Arai, R., & Inoue, M. (1976). Chromosomes of seven species of Pomacentridae and two species of Acanthuridae from Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series A*, 2, 73-78.
- AVMA. (2020). *Guidelines for the euthanasia of animals* (2020 edition). American Veterinary Medical Association.
- Chen, T. R., & Ebeling, A. W. (1968). Karyological evidence of female heterogamety in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Copeia*, 1, 70-75.
- Chooseangjaew, S., Tanyaros, S., Maneechot, N., Buasriyot, P., Getlekha, N., & Tanomtong, A. (2015). Chromosomal characteristics of the tropical oyster, *Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871 (Ostreoida, Ostreidae) by conventional and Ag-NOR banding techniques. *Cytologia*, 82(1), 3-8.
- Cioffi, M. B., Martins, C., & Bertollo, L. A. C. (2009). Comparative chromosome mapping of repetitive sequences: Implications for genomic evolution in the fish, *Hoplias malabaricus*. *BMC Genetics*, 10, 34.
- Collins, T. M., Trexler, J. C., Nico, L. G., & Rawlings, T. A. (2002). Genetic diversity in a morphologically conservative invasive taxon: Multiple introductions of swamp eels to the Southeastern United States. *Conservation Biology*, 16, 1024-1035.
- Denton, T. E. (1973). *Fish chromosome methodology*. Charles C. Thomas Publisher.
- Froese, R., & Pauly, D. (2010). *FishBase*. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org.
- Getlekha, N., Molina, W. F., Cioffi, M. B., Yano, C. F., Maneechot, N., Bertollo, L. A. C., Supiwong, W., & Tanomtong, A. (2016). Repetitive DNAs highlight the role of chromosomal fusions in the karyotype evolution of *Dascyllus* species (Pomacentridae, Perciformes). *Genetica*, 144(2), 203-211.
- Getlekha, N., Molina, W. F., Cioffi, M. B., Yano, C. F., Maneechot, N., Bertollo, L. A. C., Supiwong, W., Tanomtong, A., & Molina, W. F. (2017). Chromosome mapping of repetitive DNAs in sergeant major fishes (Abudefdufinae, Pomacentridae): A general view on the chromosomal conservatism of the genus. *Genetica*, 144, 567-576.
- Guan, R. Z., Zhou, L. H., Cui, G. H., & Feng, X. H. (1996). Studies on the artificial propagation of *Monopterus albus* (Zuiew). *Aquaculture Research*, 27, 587-596.
- Howell, W. M., & Black, D. A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia*, 36, 1014-1015.
- Inger, R. F., & Kong, C. P. (1962). *The fresh-water fishes of north Borneo*. Fieldiana, Zoology 45, 1-286.
- Jayaram, K. C. (1981). *The freshwater fishes of India, Pakistan, Bangladesh, Burma and Sri Lanka: A handbook*. Zoological Survey of India.
- Khuda-Bukhsh, A. R., & Barat, A. (1987). Chromosomes in fifteen species of Indian teleosts (Pisces). *Caryologia*, 40, 131-144.
- Kottelat, M. (1998). Fish of Nam Theun and Xe Bangfai Basins, Laos, with diagnoses of twenty-two species (Teleostei: Cyprinidae, Balitoridae, Cobitidae, Coiidae and Odontobutidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1, 1-128.
- Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*, 52, 201-220.
- Maneechot, N., Supiwong, W., Jumrasthanasan, S., Siripiyasing, P., Pinthong, K., & Tanomtong, A. (2014). Chromosomal characteristics of the royal knifefish, *Chitala blanci* (Osteoglossiformes, Notopteridae) by conventional and Ag-NOR staining techniques. *Cytologia*, 80(2), 159-166.

- Maneechot, N., Yano, C. F., Bertollo, L. A. C., Getlekha, N., Molina, W. F., Ditcharoen, S., Tenjaroenkul, B., Supiwong, W., Tanomtong, A., & Cioffi, M. B. (2016). Genomic organization of repetitive DNAs highlights chromosomal evolution in the genus *Clarias* (Clariidae, Siluriformes). *Molecular Cytogenetics*, 9, 4.
- Molina, W. F., & Galetti, Jr. P. M. (2002). Robertsonian rearrangements in the reef fish *Chromis* (Perciformes, Pomacentridae) involving chromosomes bearing 5S rRNA genes. *Genetics and Molecular Biology*, 25, 373-377.
- Molina, W. F., & Galetti, Jr. P. M. (2004). Multiple pericentric inversions and chromosomal divergence in the reef fishes *Stegastes* (Perciformes, Pomacentridae). *Genetics and Molecular Biology*, 27(4), 543-548.
- Muslimatun, A., Nor, S. H. M., Hou, C. H., Siew, I. N., Mhd, I., Seng, C. P., & Connie, F. K. (2018). Proximate and mineral compositions of rice field eel *Monopterus albus*. *International Journal of Engineering & Technology*, 7(4.43), 72-77.
- Nelson, J. S. (1994). *Fishes of the world* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- Nichols, J. T. (1943). *The freshwater fishes of China*. Natural history of Central Asia: Volume IX. The American Museum of Natural History.
- Rishi, K. K., & Singh, J. (1983). Chromosomes of *Notopterus notopterus* (Pallas) (Notopteridae: Clupeiformes). *Chromosome Information Service*, 34, 9-10.
- Rishi, K. K., & Thind, A. D. K. (1994). C-heterochromatin and NOR-localization in the chromosomes of *Notopterus notopterus* (Notopteridae: Clupeiformes: Osteichthyes). *Chromosome Information Service*, 57, 20-21.
- Silawong, K., Aoki, S., Supiwong, W., Tanomtong, A., Khakhong, S., & Sanoamuang, L. (2012). The first chromosome characteristics of nucleolar organizer regions (NORs) in grey featherback fish, *Notopterus notopterus* (Osteoglossiformes, Notopteridae) by conventional and Ag-NOR straining technique. *Cytologia*, 77, 279-285.
- Supiwong, W., Jiwyam, W., Sreeputhorn, K., Maneechot, N., Bertollo, L. A. C., Cioffi, M. B., Getlekha, N., & Tanomtong, A. (2017). First report on classical and molecular cytogenetics of archerfish, *Toxotes chatareus* (Perciformes: Toxotidae). *Nucleus*, 60, 349-359.
- Supiwong, W., Pinthong, K., Seetapan, K., Saenjundaeng, P., Bertollo, L. A. C., Oliveira, E. A., Yano, C. F., Liehr, T., Phimphan, S., Tanomtong, A., & Cioffi, M. B. (2019). Karyotype diversity and evolutionary trends in the Asian swamp eel *Monopterus albus* (Synbranchiformes, Synbranchidae): A case of chromosomal speciation. *BMC Evolutionary Biology*, 19, 73.
- Talwar, P. K., & Jhingran, A. G. (1992). *Inland fishes of India and adjacent countries* (Vol. 2). A.A. Balkema.
- Turpin, R., & Lejeune, J. (1965). *Les chromosomes humains*. Gauthier-Villars.
- Vicari, M. R., Artoni, R. F., & Bertollo, L. A. C. (2005). Comparative cytogenetics of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae): A population analysis in adjacent hydrographic basins. *Genetics and Molecular Biology*, 28, 103-110.