

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง

Allozyme-based analysis of genetic variation among 3 cultured stocks of snakehead fish, *Channa striata* (BLOCH, 1797)

พนม กระจ่างพจน์ สอดสุข^{1*} ประชุม ดวนใหญ่² ศรีรัตน์ สอดสุข¹ สุภัทรา อุไรวรรณ¹
และ สมศักดิ์ รุ่งทองใบสุรีย์²

Panom K. Sodsuk^{1*}, Prachum Duanyai², Srirat Sodsuk¹, Supattra Uraiwan¹ and
Somsak Rungtongbaisuree²

¹สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง ปทุมธานี 12120

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำบุรีรัมย์ สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง บุรีรัมย์
31000

¹Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute, Department of Fisheries, Pathum
Thani 12120, Thailand

²Buri Ram Aquaculture Genetics Research and Development Center, Aquatic Animal Genetics
Research and Development Institute, Department of Fisheries, Buri Ram 31000, Thailand

*Corresponding author: panomks@yahoo.com

บทคัดย่อ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมใน
ประชากรพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง คือ
ฟาร์มเอกชนจังหวัดสุพรรณบุรี ฟาร์มเอกชนจังหวัด
นครราชสีมา และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรม
สัตว์น้ำบุรีรัมย์ โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรม
อัลโลไซม์ วิเคราะห์ที่ 22 ตำแหน่ง พบ 7 ตำแหน่ง
มีความหลากหลายรูปแบบทางพันธุกรรม และได้ข้อมูลค่า
ความแปรปรวนทางพันธุกรรม ประกอบด้วยค่า
average number of alleles (N_a), effective
number of alleles (A_e), allelic richness (R) และ
เฮเทอโรไซโกซิตีทั้งในรูปค่าสังเกต (H_o) และค่า
คาดคะเน (H_e) ดังนี้คือ $N_a = 1.242$ (1.136–

1.318), $A_e = 1.032$ (1.019–1.049), $R = 1.235$
(1.136–1.308), $H_o = 0.024$ (0.012–0.037) และ
 $H_e = 0.026$ (0.017–0.038) ตามลำดับ ประชากรทั้ง
3 แหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในการเบี่ยงเบนจากสมดุล
ฮาร์ดีไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} > 0.05$) เมื่อวิเคราะห์รวมทุก
ตำแหน่ง (22 ตำแหน่ง) และข้อมูลค่า N_a , H_o และ
 H_e ที่ได้ อยู่ในระดับเดียวกับค่าที่ปรากฏใน
ประชากรธรรมชาติ ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง
ระหว่างประชากรปลาช่อนทั้ง 3 แหล่งเพาะเลี้ยงไม่
แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่ง
กันและกัน ($P > 0.02$) ผลการศึกษาทั้งหมดระบุว่า
ประชากรปลาช่อนทั้ง 3 แหล่งเพาะเลี้ยงมี
พันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกัน โดยแต่ละแหล่งมี

ศักยภาพเพียงพอ และตัดเทียมกันสำหรับใช้เป็นประชากรพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ ผลการศึกษาโดยข้อมูลพันธุกรรมในครั้งนี้ ผนวกกับผลการศึกษาโดยข้อมูลการเจริญเติบโตที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ ระบุว่าประชากรพันธุ์ปลาช่อนของศูนย์ฯ บุรีรัมย์ มีความเหมาะสมที่สุดที่จะนำมาใช้สำหรับการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ปลาช่อนที่มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือต่อไป

ABSTRACT

Genetic variation based on allozyme markers was analysed and compared among three cultured stocks (Suphan Buri, Nakhon Ratchasima and Buri Ram) of snakehead fish, *Channa striata* (BLOCH, 1797). Out of 22 allozyme loci screened, 7 polymorphic loci were found. Genetic variabilities including average number of alleles (N_a), effective number of alleles (A_e), allelic richness (R), observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e) were 1.242 (1.136–1.318), 1.032 (1.019–1.049), 1.235 (1.136–1.308), 0.024 (0.012–0.037) and 0.026 (0.017–0.038), respectively. All three cultured stocks did not exhibit significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium ($P_{HWE} > 0.05$) when all 22 loci were analysed. In addition, the N_a , H_o and H_e values of these cultured stocks were comparable to those from the wild population. Moreover, genetic differentiation analysis revealed that these cultured stocks are not genetically different ($P > 0.02$). Altogether, the results

suggested that the three cultured stocks have equally good potential for using as a broodstock population and selective breeding. Genetic data from this study combined with growth performance data from the previous study, suggest that the Buri Ram stock, which is specifically from the Buri Ram Aquaculture Genetics Research and Development Center, is the most suitable one to be used in selective breeding program of snakehead fish, in order to have the most suitable strain for the Northeastern region.

คำสำคัญ: ความแปรปรวนทางพันธุกรรม อัลโลไซม์ ปลาช่อน (*Channa striata*)

Key words: genetic variation, allozyme, snake head fish (*Channa striata*)

บทนำ

ปลาช่อน หรือ snakehead fish, *Channa striata* (BLOCH, 1797) (ชวลิต และคณะ, 2540) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของไทยที่ตลาดมีความต้องการสูง ไม่ว่าจะเป็นในรูปของปลาสด หรือแปรรูปเป็นปลาร้าหรือปลาแห้ง ปัจจุบันผลผลิตปลาช่อนจากธรรมชาติมีปริมาณลดลง และมีแนวโน้มที่จะลดลงอย่างต่อเนื่อง การเพาะเลี้ยงปลาช่อนจึงมีบทบาทสำคัญ ในการช่วยเพิ่มผลผลิตปลาช่อนให้เพียงพอต่อความต้องการบริโภค การเลี้ยงปลาช่อนของเกษตรกรแต่เดิม ทำโดยการซื้อลูกพันธุ์ที่รวบรวมจากธรรมชาติมาอนุบาลและเลี้ยงต่อ ซึ่งไม่มีความแน่นอนทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของลูกปลา จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2544 สถานีประมงน้ำจืดสิงห์บุรี ประสบผลสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปลาช่อนจากพ่อแม่พันธุ์ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ และ

สามารถอนุบาลลูกปลาในบ่อดินได้ในปริมาณมาก จึงทำให้การผลิตลูกพันธุ์ปลาช่อนจากแหล่งเพาะเลี้ยงทั้งของภาครัฐและเอกชนได้แพร่หลายขึ้น นับแต่นั้นเป็นต้นมา ซึ่งนอกจากจะช่วยทดแทนการใช้ลูกพันธุ์จากธรรมชาติโดยตรงแล้ว ยังช่วยให้เกษตรกรมีแหล่งลูกพันธุ์สำหรับนำไปเลี้ยงต่อที่มีความแน่นอนยิ่งขึ้น

การเลี้ยงปลาช่อนอยู่ในความสนใจของเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยเช่นกัน ซึ่งนอกจากการใช้ลูกพันธุ์จากแหล่งธรรมชาติแล้ว เกษตรกรนิยมซื้อลูกพันธุ์จากแหล่งเพาะเลี้ยงหรือฟาร์มเอกชนทั้งจากจังหวัดสุพรรณบุรีและสิงห์บุรีในภาคกลาง และนครราชสีมาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมทั้งจากหน่วยงานของกรมประมงเองด้วย และด้วยเหตุนี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำบุรีรัมย์ ในสังกัดสถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ จึงได้เปรียบเทียบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยง (aquacultural trait performance) เช่น การเจริญเติบโต และความทนทานหรืออ่อนแอต่อสภาพแวดล้อม (ซึ่งแสดงออกโดยอัตราการรอด) ของพันธุ์ปลาช่อนจากแหล่งต่างๆ ที่มีการนำมาเลี้ยงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ พันธุ์จากฟาร์มเอกชนจังหวัดนครราชสีมา พันธุ์จากฟาร์มเอกชนจังหวัดสุพรรณบุรี และพันธุ์ของศูนย์ฯ บุรีรัมย์เอง ภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงของศูนย์ฯ เพื่อให้ได้พันธุ์ปลาช่อนที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ประชุม และคณะ, 2553)

อย่างไรก็ตาม นอกจากการทดสอบโดยเลี้ยงเปรียบเทียบเพื่อให้ได้ข้อมูลของลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยงที่ปรากฏให้เห็นภายนอกแล้ว สมควรวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรพันธุ์ปลาช่อนนั้นควบคู่กันไปด้วย เพราะข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม เป็น

ข้อมูลที่สำคัญถึงศักยภาพในการวิวัฒนาการของประชากร (Allendorf, 1986) ดังนั้นการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงทำให้ได้ข้อมูลที่ระบุคุณภาพของสายพันธุ์ และศักยภาพของประชากรที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น สำหรับในปลาช่อนของไทยนั้น ได้มีการศึกษาข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ทั้งภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือไว้แล้วโดย Hara *et al.* (1998) ซึ่งได้ศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ และได้ผลการศึกษาที่สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อเทียบเคียงกับผลการศึกษาที่จะได้จากการศึกษาในประชากรปลาช่อนจากแหล่งเพาะเลี้ยงได้เป็นอย่างดี

งานวิจัยนี้จึงต้องการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ในพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง ควบคู่ไปกับการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยงของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำบุรีรัมย์ เพื่อให้ได้ข้อมูลของประชากรพันธุ์ปลาช่อนที่สมบูรณ์ และได้พันธุ์ปลาช่อนที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับศูนย์วิจัย แห่งนี้ที่จะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นของการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างปลาช่อนที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ เป็นตัวอย่างจากประชากรเดียวกันกับที่อยู่ในการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยงของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำบุรีรัมย์ (ประชุม และคณะ, 2553) ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง ได้แก่ ฟาร์มเอกชนจังหวัดนครราชสีมา ฟาร์มเอกชนจังหวัดสุพรรณบุรี

และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำบุรีรัมย์ สำหรับพันธุ์ของศูนย์ฯ บุรีรัมย์ เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากสถานีประมงน้ำจืดจังหวัดสิงห์บุรีเมื่อปี พ.ศ. 2547 โดยนำลูกปลาขนาด 2-3 เซนติเมตรมาเลี้ยง และได้ผลิตเป็นพ่อแม่พันธุ์แล้ว 2 รุ่น สำหรับปลาที่ใช้ในการศึกษาทดลอง เป็นลูกพันธุ์ของพ่อแม่รุ่นที่ 2 (ประชุม และคณะ, 2553)

เก็บตัวอย่างปลาช่อน 30 ตัวจากประชากรของแต่ละแหล่งเพาะเลี้ยง นำมาตัดชิ้นเนื้อจากอวัยวะส่วนต่างๆ (ครีบ กล้ามเนื้อ ตับ ไต หัวใจ ม้าม ฯลฯ) แยกใส่ใน microtube 1 หลอด/ชิ้นเนื้อ/ตัวอย่าง แล้วนำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่ -70°C วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ที่จำนวนอัลโลไซม์โลไซ (allozyme loci) 22 ตำแหน่ง ตามวิธีการของ พนม (2539) และ Sodsuk (1993)

การคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล

รวบรวมข้อมูลพันธุกรรมที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทั้งหมด มาคำนวณและตรวจวัดค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variabilities) ต่างๆ ได้แก่ ค่า average number of alleles (N_a), ค่า effective number of alleles (A_e), ค่า allelic richness (R), ค่าเฮเทอโรไซโกซิตี ทั้งในรูปค่าสังเกต (observed heterozygosity, H_o) และค่าคาดคะเน (expected heterozygosity, H_e) แล้วทดสอบสมมติฐานฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) โดยการวิเคราะห์ ณ แต่ละตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (polymorphic locus) ด้วยวิธี likelihood ratio test (Yeh *et al.*, 1999) และวิเคราะห์รวมทั้ง 22 ตำแหน่ง ด้วยวิธี Chi-square test (Smouse *et al.*, 1983) คำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ของ Nei (1972) พร้อมทั้งวิเคราะห์

โครงสร้างความสัมพันธ์ระหว่างประชากรด้วยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic averaging (UPGMA) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 1.2 (Goudet, 1995) และ POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999)

วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรโดย analysis of molecular variance (AMOVA) โดยคำนวณค่า fixation index หรือ F_{st} จากค่า variance components ที่ประกอบด้วยค่าระหว่างประชากร (V_a) ค่าภายในประชากร (V_b) และค่าทั้งหมด (V) และโดยการเฉลี่ยจากค่า F_{st} ที่คำนวณเฉพาะของแต่ละประชากร (population specific F_{st}) แล้วทดสอบโดยการวิเคราะห์ค่า P ของ F_{st} เพื่อตรวจสอบความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งหมดในทุกคู่ประชากร โดยใช้ค่า P ที่ระดับ 0.02 (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) ในการพิจารณาผลการตรวจสอบว่ามีหรือไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนนี้ใช้โปรแกรม Arlequin ver 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ข้อมูลความความแปรปรวนทางพันธุกรรม และผลการทดสอบสมมติฐานฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในประชากรพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง (สุพรรณบุรี นครราชสีมา และศูนย์ฯ บุรีรัมย์) พบตำแหน่งของยีนที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม หรือมีความหลากหลายของแอลลีล จำนวน 7 ตำแหน่ง จาก 22 ตำแหน่ง ข้อมูลความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพันธุ์ปลาช่อนทั้ง 3 แหล่งเพาะเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยต่อโลกัสต่อประชากร คือ $N_a = 1.242$ (1.136–1.318), $A_e = 1.032$ (1.019–1.049), $R =$

1.235 (1.136–1.308), $H_o = 0.024$ (0.012–0.037) และ $H_e = 0.026$ (0.017–0.038) ตามลำดับ (Table 1) ผลการทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (P_{HWE}) ที่แต่ละตำแหน่งของ 7 ตำแหน่งที่มีความหลากหลายรูปแบบทางพันธุกรรม (Table 1) แสดงให้เห็นว่า ส่วนใหญ่ไม่มีนัยสำคัญในการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} > 0.05$) หรือกล่าวอีก

Table 1 Genetic variabilities (N_a , A_e , R , H_o and H_e) and the P -values of Hardy-Weinberg equilibrium tests (P_{HWE}) of the 7 polymorphic loci from 3 cultured stocks of snakehead fish (Suphan Buri, Nakhon Ratchasima and Buri Ram), out of 22 allozyme loci analysed.

Allozyme locus	Genetic variabilities & P_{HWE}	Suphan Buri	Nakhon Ratchasima	Buri Ram	Average
ACP*	N_a	2.000	3.000	1.000	2.000
	A_e	1.034	1.070	1.000	1.035
	R	1.933	2.867	1.000	1.933
	H_o	0.033	0.067	0	0.033
	H_e	0.033	0.066	0	0.033
	P_{HWE}	1.000	0.998	-	-
ADH*	N_a	2.000	2.000	2.000	2.000
	A_e	1.427	1.220	1.342	1.330
	R	2.000	2.000	2.000	2.000
	H_o	0.367	0.067	0.300	0.245
	H_e	0.305	0.183	0.259	0.249
	P_{HWE}	0.132	0.005	0.233	-
GPI-3*	N_a	2.000	2.000	2.000	2.000
	A_e	1.415	1.034	1.194	1.214
	R	2.000	1.933	2.000	1.978
	H_o	0.214	0.033	0.107	0.118
	H_e	0.299	0.033	0.166	0.166
	P_{HWE}	0.155	1.000	0.117	-
MEP-3*	N_a	2.000	2.000	2.000	2.000
	A_e	1.069	1.034	1.105	1.069
	R	1.997	1.933	2.000	1.977
	H_o	0.067	0.033	0.100	0.067
	H_e	0.066	0.033	0.097	0.065
	P_{HWE}	0.852	1.000	0.746	-

Table 1 (continued).

Allozyme locus	Genetic variabilities & P_{HWE}	Suphan Buri	Nakhon Ratchasima	Buri Ram	Average
MPI-2*	N_a	2.000	1.000	1.000	1.333
	A_e	1.034	1.000	1.000	1.011
	R	1.933	1.000	1.000	1.311
	H_o	0.033	0	0	0.011
	H_e	0.033	0	0	0.011
	P_{HWE}	1.000	-	-	-
PGDH-2*	N_a	2.000	2.000	1.000	1.667
	A_e	1.069	1.069	1.000	1.046
	R	1.997	1.997	1.000	1.665
	H_o	0.067	0.067	0	0.045
	H_e	0.066	0.066	0	0.044
	P_{HWE}	0.853	0.853	-	-
PGM*	N_a	2.000	1.000	1.000	1.333
	A_e	1.034	1.000	1.000	1.011
	R	1.933	1.000	1.000	1.311
	H_o	0.033	0	0	0.011
	H_e	0.033	0	0	0.011
	P_{HWE}	1.000	-	-	-
Per locus	N_a	1.318	1.273	1.136	1.242
averaged	A_e	1.049	1.019	1.029	1.032
overall 22 loci	R	1.308	1.260	1.136	1.235
	H_o	0.037	0.012	0.023	0.024
	H_e	0.038	0.017	0.024	0.026
	P_{HWE}	1.000	1.000	1.000	-

$P_{HWE} > 0.05$: The difference between the observed H_o and the expected H_e is not significant, under the HWE theory

นัยหนึ่งคือ ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างค่าสังเกต H_o และค่าคาดหวัง H_e ซึ่งถูกคาดหวังภายใต้สมมติฐานดี-ไวน์เบิร์ก ยกเว้นที่ประชากรแหล่งเพาะเลี้ยงจังหวัดนครราชสีมาประชากรเดียวที่พบว่ามีความสำคัญในการเบี่ยงเบนจากสมมติฐานดี-

ไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} < 0.05$) อยู่ที่ ADH* เพียงตำแหน่งเดียว โดยผลที่แสดงออกมาเป็นแบบที่มีเฮเทอโรไซโกตปรากฏในประชากรน้อยกว่าที่ควรจะเป็น (heterozygote deficiency, $H_o < H_e$) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้เสมอในประชากรโรงเพาะฟัก

(hatchery stock)หรือประชากรจากแหล่งเพาะเลี้ยง (พนม และคณะ, 2553; Chareontawee *et al.*, 2007) เพราะเป็นประชากรที่มักจะมีการคัดเลือกเข้าไปเกี่ยวข้องทั้งโดยตรงและโดยอ้อม หรือมีการเพาะพันธุ์โดยใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อย หรือมีการนำประชากรจากต่างโรงเพาะฟักเข้ามาปะปนกัน (Allendorf and Ryman, 1987) อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์รวมทั้ง 22 ตำแหน่ง (Table 1) ด้วยวิธีของ Smouse *et al.* (1983) ไม่แสดงนัยสำคัญในการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดีไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} > 0.05$) ในทุกประชากร

Hara *et al.* (1998) ได้ใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปลาช่อนจากแหล่งธรรมชาติของไทยไว้ก่อนหน้านี้ เมื่อนำผลการ

ศึกษานี้ไปเปรียบเทียบจะเห็นได้ว่า ข้อมูลความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากทั้งสองการศึกษาอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงหรือคาบเกี่ยวกัน (Table 2) แม้ว่าการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นการศึกษาในประชากรจากแหล่งเพาะเลี้ยง และมีจำนวนตำแหน่งของยีนที่ศึกษามากกว่าก็ตาม (22 ตำแหน่ง) ซึ่งหากเปรียบเทียบที่จำนวนตำแหน่งเท่ากัน (17 ตำแหน่ง) จะได้ข้อมูลความแปรปรวนทางพันธุกรรม (N_a , H_o , H_e) ในรูปค่าเฉลี่ยต่อตำแหน่งในประชากรแหล่งเพาะเลี้ยงของการศึกษานี้คือ $N_a = 1.3$ (1.2–1.4), $H_o = 0.031$ (0.016–0.048) และ $H_e = 0.034$ (0.022–0.049) ซึ่งมีความใกล้เคียงกับค่าในประชากรธรรมชาติของ Hara *et al.* (1998) มากยิ่งขึ้นไปอีก หรืออาจกล่าวได้ว่าอยู่ในระดับเดียวกัน

Table 2 Genetic information data of Thai wild snakehead fish population by Hara *et al.* (1998), compared with data from the present study.

Study	No. of loci screened	No. of polymorphic loci found	Per locus averages		
			N_a	H_o	H_e
Hara <i>et al.</i> (1998)	17	6	1.3 (1.2–1.5)	0.039 (0.023–0.059)	0.037 (0.022–0.052)
The present study	22	7	1.2 (1.1–1.3)	0.024 (0.012–0.037)	0.026 (0.017–0.038)

Per locus averages in the table were shown as 'averaged value (minimum – maximum)'.

ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยเฉพาะค่าเฮเทอโรไซโกซิตีและจำนวนแอลลีลต่อโลกัส เป็นข้อมูลอีกด้านหนึ่งที่ระบุคุณภาพของสายพันธุ์ได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น เพราะสามารถสื่อถึงศักยภาพในการวิวัฒนาการของประชากรได้ โดยค่าเฮเทอโรไซโกซิตี ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการคัดเลือกทั้งโดยมนุษย์และการคัดเลือกตามธรรมชาติ จะมี

ความสำคัญต่อการปรับตัวในระยะสั้น ขณะที่ความหลากหลายของแอลลีล (จำนวนแอลลีลต่อโลกัส) จะเกี่ยวข้องกับความอยู่รอดในระยะยาว (Allendorf, 1986) โดยเฉพาะในประชากรขนาดเล็ก (อย่างเช่นประชากรโรงเพาะฟัก) การลดลงของความหลากหลายทางพันธุกรรม อาจส่งผลกระทบต่อความอยู่รอดของประชากรในอนาคตได้ (Frankham *et al.*, 2002) ด้วยเหตุนี้ความหลากหลายทาง

พันธุกรรมจึงเป็นแหล่งทรัพยากรทางพันธุกรรมพื้นฐาน ที่จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ ซึ่งจะประสบผลสำเร็จหรือไม่เพียงใดขึ้นอยู่กับแหล่งทรัพยากรนี้เป็นสำคัญ แต่การคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ก็สามารถทำให้องค์ประกอบพันธุกรรมของประชากรพื้นฐาน (base population) เปลี่ยนไปด้วยเช่นกัน โดยจะมีปริมาณลดลงทุกครั้งที่มีการเพาะพันธุ์แต่ละรุ่น (Allendorf and Ryman, 1987) ดังนั้นการดำเนินงานจึงจำเป็นต้องเริ่มต้นจากประชากรพ่อแม่พันธุ์ (ประชากรพื้นฐาน) ที่มีปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงพอสมควร ซึ่งจากการศึกษาในกึ่งกุลาดำ (พนม และคณะ, 2548) ระบุว่า ปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรเริ่มต้น อย่างน้อยที่สุดไม่ควรจะต่ำกว่า หรืออยู่ในระดับเดียวกับค่าที่ปรากฏในประชากรธรรมชาติ จากการศึกษาในประชากรปลาช่อน 3 แหล่งเพาะเลี้ยงในครั้งนี้ ได้ผลที่ระบุว่า ปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยรวม ยังไม่ลดลงจากค่าที่ควรจะเป็นตามทฤษฎีสอดดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($P_{HWE} > 0.05$, Table 1) และยังคงอยู่ในระดับเดียวกันกับค่าที่ปรากฏในประชากรธรรมชาติ

(Hara *et al.*, 1998; Table 2) แม้ว่าจะผ่านการเพาะพันธุ์มาแล้วไม่ต่ำกว่า 2 รุ่น (ประชุม และคณะ, 2553) จึงกล่าวได้ว่าประชากรปลาช่อนทั้ง 3 แหล่งเพาะเลี้ยง มีศักยภาพเพียงพอสำหรับใช้เป็นประชากรพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ ภายใต้ข้อมูลความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่ปรากฏจากการศึกษาในครั้งนี้

ความแตกต่างและโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

ข้อมูลแสดงความแตกต่าง หรือความใกล้ชิดหรือห่างกันทางพันธุกรรมระหว่างประชากรจากการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ F_{st} ซึ่งมีค่า = 0.0213 (0.0142–0.0279) (Table 3) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ประชากร ซึ่งมีค่า 0.0005–0.0015 (Table 4, below diagonal) และโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรที่สร้างจากข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรม (Figure 1) ทั้งหมดล้วนแสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรที่มีน้อยมาก หรือแทบไม่มีเลย

Table 3 Variance components (V_a , V_b and V), population specific F_{st} and F_{st} P -value of the analysis of population difference among populations.

Variance component	V_a	V_b	$V = V_a + V_b$	$F_{st} = V_a/V$	F_{st} P -value
	0.00700	0.32166	0.32866	0.02130	0.07527
Population specific F_{st}	Suphan Buri	Nakhon Ratchasima	Buri Ram	Averaged F_{st}	
	0.01423	0.02794	0.02172	0.02130	

Table 4 F_{st} P -values of the analysis of population difference from each pair of populations (above diagonal), and genetic distances of Nei (1972) (below diagonal).

Population/stock	Suphan Buri	Nakhon Ratchasima	Buri Ram
Suphan Buri	---	0.0270	0.5676
Nakhon Ratchasima	0.0015	---	0.1261
Buri Ram	0.0005	0.0005	---

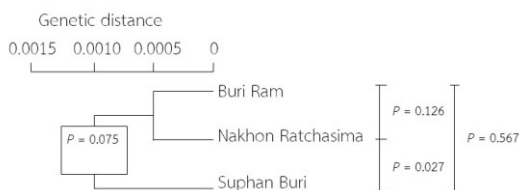


Figure 1 Population genetic structure (dendrogram) of the 3 cultured stocks constructed by UPGMA method and Nei (1972) genetic distance. The F_{st} P -values of the difference analyses among populations (Table 3) and within each pair of populations (Table 4, above diagonal) were also shown in the figure; $P > 0.02$, differences among and/or between populations were not significant (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006).

โดยปกติแล้ว F_{st} จะมีค่าน้อยที่สุดตามทฤษฎีเป็น 0 และมากที่สุดตามทฤษฎีเท่ากับ 1 แต่ในความเป็นจริงมักพบเสมอว่า F_{st} ที่สูงที่สุดนั้นก็ยังมีค่าต่ำกว่า 1 มาก (Hartl, 1988) Wright (1978) ได้ให้แนวทางในการตีความหมายค่า F_{st} ระดับต่ำไว้ว่า ค่า F_{st} ระหว่าง 0 ถึง 0.05 แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่มีน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับค่า F_{st} ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่แสดงโดยค่า P ของ F_{st} ภายใต้การพิจารณาว่ามีนัยสำคัญในความแตกต่างเมื่อ P มีค่าต่ำกว่า 0.02; Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) ระบุว่าไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างทั้งในระหว่างประชากรทั้งหมด (Table 3, $P = 0.075$) และในระหว่างคู่ประชากรทุกคู่ (Table 4, above diagonal, $P = 0.027-0.567$) ซึ่งแสดงว่า ประชากรปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง (สุพรรณบุรี นครราชสีมา และศูนย์ฯ บุรีรัมย์) มีพันธุกรรมที่ยังไม่ปรากฏว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.02$, ภายใต้ข้อมูลที่ได้จากการ

วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์)

จากรายงานของ Hara *et al.* (1998) ในด้านความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปลาช่อน (ภายใต้การศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้) สรุปได้ว่า ประชากรปลาช่อนในแหล่งธรรมชาติของภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยนั้น มีการแบ่งแยกโดยพันธุกรรมที่แตกต่างกันออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มประชากรภาคเหนือ-กลาง และกลุ่มประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตามการแบ่งแยกของระบบแม่น้ำ (river systems) 2 ระบบใหญ่ในพื้นที่ของแต่ละกลุ่มประชากรนั้น คือ ระบบแม่น้ำเจ้าพระยา และระบบแม่น้ำโขง ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าปลาช่อนที่อยู่ในกลุ่มประชากรใหญ่คนละกลุ่มกันจะมีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน แต่ผลการศึกษาครั้งนี้ระบุว่าไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปลาช่อนจากจังหวัดสุพรรณบุรี (ภาคกลาง) กับประชากรปลาช่อนจากจังหวัดนครราชสีมาและบุรีรัมย์ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ที่เป็นเช่นนี้ก็เพราะประชากรปลาช่อนทั้ง 3 แห่งเป็นประชากรจากแหล่งเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นไปได้อย่างยิ่งที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงจะมีการนำเข้าพันธุ์จากต่างพื้นที่ เพื่อใช้เป็นประชากรเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงของแต่ละฟาร์ม ดังเช่นประชากรปลาช่อนของศูนย์ฯ บุรีรัมย์ ซึ่งมีประวัติการนำเข้าพันธุ์เริ่มต้นจากจังหวัดสิงห์บุรีในภาคกลาง (ประชุม และคณะ, 2553) ดังนั้นจึงไม่น่าแปลกใจที่จะพบว่าประชากรปลาช่อนจากแหล่งเพาะเลี้ยงทั้ง 3 แหล่งในการศึกษาครั้งนี้ แม้จะอยู่ในต่างพื้นที่แต่ก็ไม่แสดงความแตกต่างกันทางพันธุกรรม

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากการศึกษาครั้งนี้ ระบุ

ว่าไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างปลาช่อนทั้ง 3 แหล่งเพาะเลี้ยง โดยแต่ละแหล่งมีศักยภาพเพียงพอ และตัดเทียมกันสำหรับใช้เป็นประชากรพ่อแม่พันธุ์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ แต่จากการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยงระหว่างประชากรปลาช่อน 3 แหล่งเพาะเลี้ยง โดย ประชุม และคณะ (2553) ซึ่งเป็นการศึกษาในประชากรเดียวกันกับการศึกษาครั้งนี้ ปรากฏว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการเจริญเติบโตระหว่างปลาช่อนของศูนย์ฯ บุรีรัมย์กับนครราชสีมา และระหว่างนครราชสีมากับสุพรรณบุรี แต่กลับพบว่าปลาช่อนของศูนย์ฯ บุรีรัมย์มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาช่อนจากสุพรรณบุรีอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างและมีศักยภาพตัดเทียมกัน แต่มีข้อมูลการแสดงออกซึ่งการเจริญเติบโตที่ดีกว่า จึงสมควรที่ศูนย์ฯ บุรีรัมย์จะเลือกประชากรปลาช่อนของศูนย์ฯ มาเป็นประชากรพื้นฐานของการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ปลาช่อนที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมโมเลกุลสัตว์น้ำ สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากกรมประมง ในส่วนกิจกรรมพัฒนาการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ภายใต้โครงการ “วิเคราะห์เปรียบเทียบความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในพันธุ์ปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง” รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 52-0600-52067

เอกสารอ้างอิง

- ชวลิต วิทยานนท์ จรัสชาติา กรรณสูต และ จารุจินต์ นภิตะภักฎ. 2540. ความหลากหลายชนิดของปลาหน้าจืดในประเทศไทย. สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ.
- ประชุม ดวนใหญ่ สมศักดิ์ รุ่งทองใบสุรีย์ สุภัทรา อุไรวรรณ พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข และ บุญโฮม เอี่ยมสะอาด. 2553. เปรียบเทียบลักษณะเชิงเพาะเลี้ยงของปลาช่อนจาก 3 แหล่งเพาะเลี้ยง. ใน: รายงานการประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2553, กรมประมง. หน้า 198-208.
- พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข. 2539. ความแตกต่างทางพันธุกรรมในปลากลุ่มปลานิล 4 ชนิดที่เคยนำเข้าประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข สุภัทรา อุไรวรรณ และ ศรีรัตน์ สอดศุข. 2548. วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายในกระบวนการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์กุ่มกูดดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2548 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข ศรีรัตน์ สอดศุข พลชาติ ผิวเณร และ สุภัทรา อุไรวรรณ. 2553. การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์และการทดสอบยืนยันโดยใช้วิเคราะห์ พ่อแม่-ลูก ในกุ่มกุ่มกรม. *Thai J Genet* 3: 137–148.
- Allendorf, F.W. 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biol* 5: 181–190.
- Allendorf, F.W. and Ryman, N. 1987. Genetic

- management of hatchery stocks. In: N. Ryman and F. Utter (eds.). *Population Genetics & Fisheries Management*. University of Washington Press, Seattle. pp. 141–159.
- Charoentawe, K., Poopuang, S., Na-Nakorn, U. and Kamonrat, W. 2007. Genetic diversity of hatchery stocks of giant freshwater prawn (*Macrobrachium resenberghii*) in Thailand. *Aquaculture* 271: 121–129.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2006. *Arlequin ver 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis*. Institute of Zoology, University of Berne, Bern, Switzerland.
- Frankham, R., Ballou, J.D. and Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915–925.
- Goudet, J. 1995. FSTAT version 1.2: a computer program to calculate F statistics. *J Hered* 86: 485–486.
- Hara, M., Sekino, M. and Na-Nakorn, U. 1998. Genetic differentiation of natural populations of the snake-head fish, *Channa striatus*, in Thailand. *Fisheries Sci* 64: 882–885.
- Hartl, D.L. 1988. *A Primer of Population Genetics* (2nd Ed.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer Nat* 106: 283–292.
- Smouse, P.E., Neel, J.V. and Liu, W. 1983. Multiple-locus departures from panmictic equilibrium within and between village gene pools of Amerindian Tribes at different stages of agglomeration. *Genetics* 104: 133–153.
- Sodsuk, P.K. 1993. *Molecular genetics and systematics of tilapiine cichlids using allozymes and morphological characters*. Ph.D. Thesis, University of Stirling, Scotland.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 4: Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago.
- Yeh, F.C., Yang, R. and Boyle, T. 1999. *POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis*. (URL: http://ualberta.ca/~fyeh/pop_gene_info.html).