แคริโอไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา และแถบสีแบบนอร์

Standardized karyotype and idiogram of striped flying barb (*Esomus metallicus*) by conventional staining and Ag-NOR banding techniques

กษมา ด่านวันดี[1], กฤติมา กษมาวุฒิ[1*], สำเนาว์ เสาวกูล[1] และ สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว[2]
Kasama Danwandee[1], Krittima Kasamawut[1*], Samnao Saowakoon[1] and Supatcha Chooseangjaew[2]

Received: 18 October 2022 ; **Revised**: 23 November 2022 ; **Accepted**: 14 December 2022

บทคัดย่อ

การศึกษาแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) รวบรวมปลาซิวหนวดยาวจากอ่างเก็บน้ำห้วยเสนง จังหวัดสุรินทร์ คัดแยกเพศปลาและคัดเลือกปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว ศึกษาโดยเตรียมโครโมโซมจากไตด้วยเทคนิคการบดขยี้ (Squash Technique) ย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา (Conventional Staining Technique) และการย้อมแถบสีแบบนอร์ (Ag-NOR Banding Technique) ผลการศึกษาพบว่าปลาซิวหนวดยาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง และมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 78 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 22 แท่ง พบตำแหน่งนอร์ (NORs) อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย ปลาซิวหนวดยาวมีสูตรแคริโอไทป์ ดังนี้ $2n\ (50) = L^{m}_{2} + L^{a}_{4} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{10} + M^{t}_{22}$

คำสำคัญ: ปลาซิวหนวดยาว แคริโอไทป์ โครโมโซม อิดิโอแกรม

Abstract

Karyotype and standard ideograms of Striped flying barb (*Esomus metallicus*) which were collected from Huai Seng Reservoir, Surin Province were studied. 10 males and 10 females were selected for investigation. Chromosomes were prepared from kidney by squash technique and were stained by conventional staining and Ag-NOR banding techniques. The results showed that the diploid number of Striped flying barb was 2*n*= 50 and the fundamental number (NF) was 78 in both male and female. The karyotype consisted of 2 large submetacentric, 4 large acrocentric, 12 medium submetacentric, 10 medium acrocentric and 22 medium telocentric chromosomes. The NORs bearing chromosomes were detected on the short arm of the large acrocentric chromosome pairs 8^{th} . In addition, there was no difference in the sex chromosomes between male and female. The karyotype formula of Striped flying barb is as follows: $2n\ (50) = L^{m}_{2} + L^{a}_{4} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{10} + M^{t}_{22}$

Keywords: *Esomus metallicus*, Karyotype, Chromosome, Idiogram

[1] คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ต.นอกเมือง อ.เมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000
[2] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ตำบลไม้ฝาด อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150
[1] Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Nok Mueang Subdistrict, mueang District, Surin Province 32000
[2] Faculty of Science and Fishery Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus, Mai Fat Subdistrict, Sikao District, Trang Province 92150
[*] Corresponding Author E-mail Address: krittima.sa@rmuti.ac.th

บทนำ

ปลาซิวหนวดยาว (Striped Flying Barb) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Esomus metallicus* เป็นปลาในวงศ์ย่อย Esominae ที่อยู่ภายในวงศ์ Danionidae ปลาซิวหนวดยาวเป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็กที่พบชุกชุมและรู้จักกันทั่วไป สามารถพบได้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติเกือบทุกภาคของประเทศไทย ชอบว่ายน้ำรวมกันเป็นฝูง และหลบซ่อนตามพรรณไม้น้ำ ลักษณะเด่นของปลาซิวหนวดยาว คือ มีหนวด 2 คู่ โดยหนวดคู่ล่างจะยาวกว่าหนวดคู่บน ปลาเพศผู้หนวดจะยาวไปจนถึงฐานของครีบก้น ส่วนหนวดของปลาเพศเมียความยาวจะไม่เกินฐานครีบท้อง ปลาซิวหนวดยาวมีครีบอกที่มีขนาดใหญ่และแข็งแรงใช้สำหรับทรงตัวและกระโดดขึ้นเหนือผิวน้ำ มีลายพาดกลางลำตัวตั้งแต่หลังตาจนถึงโคนหางอย่างเห็นได้ชัด (Smith, 1945) ปลาซิวหนวดยาวส่วนใหญ่จัดเป็นปลาขนาดเล็กที่เป็นผลพลอยได้จากการทำการประมง ถึงแม้ว่าจะเป็นปลาที่มีขนาดเล็กแต่ก็เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญของชาวไทยในชนบท รวมถึงเป็นปลาที่สามารถบริโภคได้ทั้งตัว ซึ่งจะได้รับแคลเซียมที่สูง นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำ โดยเป็นผู้บริโภคอันดับต้น และเป็นอาหารสำหรับสัตว์ชนิดอื่นๆ อีกด้วย

เนื่องจากปลาซิวมีหลายชนิด บางชนิดมีลักษณะภายนอกที่มีความคล้ายคลึงกันมาก แต่มีลักษณะทางเซลล์อนุกรมวิธานที่แตกต่างกัน การใช้ลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวอาจทำให้เป็นอุปสรรคในการจัดจำแนกชนิด การนำวิธีการทางเซลล์อนุกรมวิธานโดยใช้ความรู้เกี่ยวกับพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์ จึงเป็นวิธีการที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้อย่างแม่นยำ (Esmaeili *et al*., 2008) การศึกษาลักษณะของโครโมโซมของปลาซิวหนวดยาว และการตรวจสอบเครื่องหมายโครโมโซมด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบนอร์ เพื่อดูตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) ซึ่งเป็นประโยชน์ในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานของปลาซิวหนวดยาว และเป็นข้อมูลที่สามารถประยุกต์ใช้ในการศึกษาด้านอื่นๆ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การจำแนกชนิด และการบริหารจัดการและอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม เพื่อก่อให้เกิดความมั่นคงของฐานความหลากหลายทางชีวภาพ

การทดลอง

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ การเก็บตัวอย่างปลาซิวหนวดยาว การเตรียมโครโมโซมและย้อมสีโครโมโซม การตรวจสอบโครโมโซม และการจัดทำ อิดิโอแกรมมาตรฐาน และการสร้างสูตร โดยมีขั้นตอนดำเนินการวิจัย ดังนี้

การเก็บตัวอย่าง

รวบรวมปลาซิวหนวดยาวจากอ่างเก็บน้ำห้วยเสนง จังหวัดสุรินทร์ ในช่วงระหว่างเดือน มีนาคม - เดือนเมษายน 2565 และนำมาเลี้ยง ในโรงเพาะฟักเพื่อลดความเครียดและปรับสภาพปลา จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างปลาซิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว มาทำการศึกษา

การเตรียมโครโมโซม

นำปลาซิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมียจำนวนเพศละ 10 ตัว มาวัดความยาวและทำการชั่งน้ำหนัก แล้วจดบันทึก จากนั้นฉีดสารละลายโคชิซินความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เข้าบริเวณช่องท้องของปลา โดยปริมาณของโคชิซินที่ใช้ฉีดคำนวณจากอัตราส่วนของน้ำหนักตัว ในปริมาณ 100 กรัม น้ำหนักตัว ต่อ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำปลามาทำการการุณยฆาตด้วยความเย็น จากนั้นทำการผ่าตัดบริเวณช่องท้อง ตัดเอาตัวอย่างไตที่อยู่บริเวณกระดูกสันหลังด้านท้ายและบริเวณหัวไตที่อยู่ใกล้หัวใจ แล้วนำมาแช่สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Choride, KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ บดตัวอย่างไตให้ละเอียดแล้วย้ายลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 7 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยง 1,250 รอบ ต่อนาที (Round Per Minute, RPM) เป็นเวลา 8 นาที รักษาสภาพเซลล์ด้วยน้ำยาคงสภาพ (Canoy's Fixative) ปรับปริมาตร 7 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 1,250 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ทำซ้ำ 3-4 รอบ จนได้ตะกอนขาวที่ก้นหลอด จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้งไปเกือบหมดเหลือไว้เหนือเซลล์ประมาณ 0.5-1.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำยาคงสภาพอีกปริมาณ 1-2 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับปริมาณตะกอนเซลล์)

วิธีการหยดเซลล์ลงบนสไลด์แบบอุ่น เตรียมสไลด์ที่แห้งและสะอาด วางลงบนเครื่องให้ความร้อน (Hot Plate) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส แล้วปูด้วยผ้าที่ชุบน้ำเปียกพอประมาณ ผสมสารละลายและตะกอนให้เข้ากันหยดน้ำยาคงสภาพเซลล์ (Fixative) 1-2 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นใช้หลอดหยดหยดเซลล์ลงบนสไลด์และหยดน้ำยาคงสภาพเซลล์ต่ออีก 1-2 หยด รอให้แห้งและนำไปย้อมสีในขั้นตอนต่อไป

การย้อมสีโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ดัดแปลงจาก Rooney (2001) ย้อมสีโครโมโซมด้วยสีจิมซ่า (Giemsa's Staining) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ที่เตรียมจาก Stock Giemsa 's Solution ใน Sorensen's Buffer เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปแผ่นสไลด์ตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การย้อมแถบสีแบบนอร์ ดัดแปลงจากวิธีการ Howell & Black (1980) ดังนี้ อบแผ่นสไลด์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 วัน จากนั้นหยดซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น ร้อยละ 50 (50% $AgNO_3$) ลงบนสไลด์ 4 หยด และหยดเจลลาตินความเข้มข้นร้อยละ 4 (Gelatin) 2 หยด ลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปเข้าตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้าง ซิลเวอร์ไนเตรทส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำไปย้อมด้วยสีจิมซ่าความเข้มข้นร้อยละ 10 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไสลด์ไปตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 400 เท่า

การตรวจสอบโครโมโซม

นำสไลด์ที่ย้อมด้วยสีจิมซ่าความเข้มข้นร้อยละ 20 มาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ตรวจหาเซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มีโครโมโซมไม่ซ้อนทับกันและกระจายดี จากนั้นถ่ายภาพโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้งระบบถ่ายภาพแบบดิจิตอลด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า

การจัดทำแคริโอไทป์

คือ การศึกษารายละเอียดของโครโมโซมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดโดยศึกษาทั้งจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซม การจัดทำจะใช้โครโมโซมในระยะเมทาเฟสจำนวน 20 เซลล์ มาเป็นตัวแทนของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้รูปถ่ายที่ได้มา ใช้ในการจับคู่ของโครโมโซมคู่เหมือน (Homologous Chromosome) จากนั้นวัดค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว และค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น นำค่าที่วัดได้มาใช้ในการจำแนกชนิด และขนาดของโครโมโซม

2) คำนวณหาค่า Relative Length (RL)

$$\frac{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}{\text{ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมทุกแท่ง (}\Sigma\text{LT)}}$$

ค่า RL สามารถช่วยในการจับคู่โครโมโซมได้แม่นยำกว่าการใช้ค่าความยาวของโครโมโซม เพราะค่า RL ของโครโมโซมแต่ละแท่งจะมีค่าคงที่ในทุกเซลล์ ส่วนค่าความยาวของโครโมโซมในแต่ละเซลล์จะมีความแตกต่างกัน

3) คำนวณหาค่า Centromeric Index (CI)

$$\frac{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LI)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}$$

ค่า CI ที่ได้นำมาใช้จัดชนิดของโครโมโซม ดังนี้

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.500-0.599 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.600-0.699 จัดเป็นโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.700-0.899 จัดเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

โครโมโซมที่มี CI อยู่ระหว่าง 0.900-1.000 จัดเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

4) ขนาดของโครโมโซม แบ่งออกเป็น 3 ขนาด โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 และโครโมโซมคู่ที่สั้นที่สุดเป็นโครโมโซมคู่สุดท้าย โดยเกณฑ์ในการจัดจำแนกขนาดของโครโมโซม มีดังนี้

โครโมโซมขนาดใหญ่ (Large = L)

$$L > \frac{\text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดกลาง (Medium = M)

$$M \leq \frac{\text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย}}{2}$$

โครโมโซมขนาดเล็ก (Small = S)

$$S < \frac{\text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1}}{2}$$

5) จัดเรียง โดยแยกชนิดของโครโมโซม แล้วจัดเรียงตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่จากมากไปหาน้อย และบอกหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ไว้ด้านล่าง วางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง และวางแท่งโครโมโซมให้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์อยู่ในระนาบเดียวกัน (Turpin & Leujin, 1965)

การจัดทำอิดิโอแกรม

อิดิโอแกรม เป็นไดอะแกรมแสดงของโครโมโซมหนึ่งชุดแฮพลอยด์ (*n*) โดยใช้ค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ โดยใช้เซลล์ระยะเมทาเฟสจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบนอร์ จำนวน 20 เซลล์ นำมาจัดโดยการแยกชนิด และวัดความยาวของแขนข้างสั้นและแขนข้างยาวของโครโมโซมทุกคู่ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาจัดทำกราฟโดยกำหนดแกนตั้ง (Y) และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดไปหาคู่ที่เล็กที่สุด

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ปลาซิวหนวดยาวในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปลาซิวชนิดอื่นในวงศ์เดียวกัน โดย ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552) ศึกษาในปลาซิวผอม (*Rasbora agilis*) ปลาซิวหลังจุด *(R. dorsiocellata)* ปลาซิวหลังแดง *(R. rubrodorsalis)* ปลาซิวเพชรน้อย *(Boraras maculate)* และปลาซิวหนู *(B. urophthalmoides)* พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง นูรอีน ยีแสม และคณะ (2562) ศึกษาในปลาซิวทอง *(R. einthovenii)* ธวัช ดอนสกุล (2540) ศึกษาในปลาซิวใบไผ่ *(Danio regina)* ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545) ศึกษาในปลาซิวหางดอก *(R. caudimaculata)* ปลาซิว (*R. myersi*) ปลาซิวควายแถบดำ *(R. paviei)* และปลาซิวควาย *(R. retrodorsalis)* นอกจากนี้ เกรียงไกร สีตะพันธุ์ และ ทักขิณา เหมยคำ (2547) ศึกษาในปลาซิวควาย *(R. aurotaenia)* พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่งเช่นกัน (Figure 1)

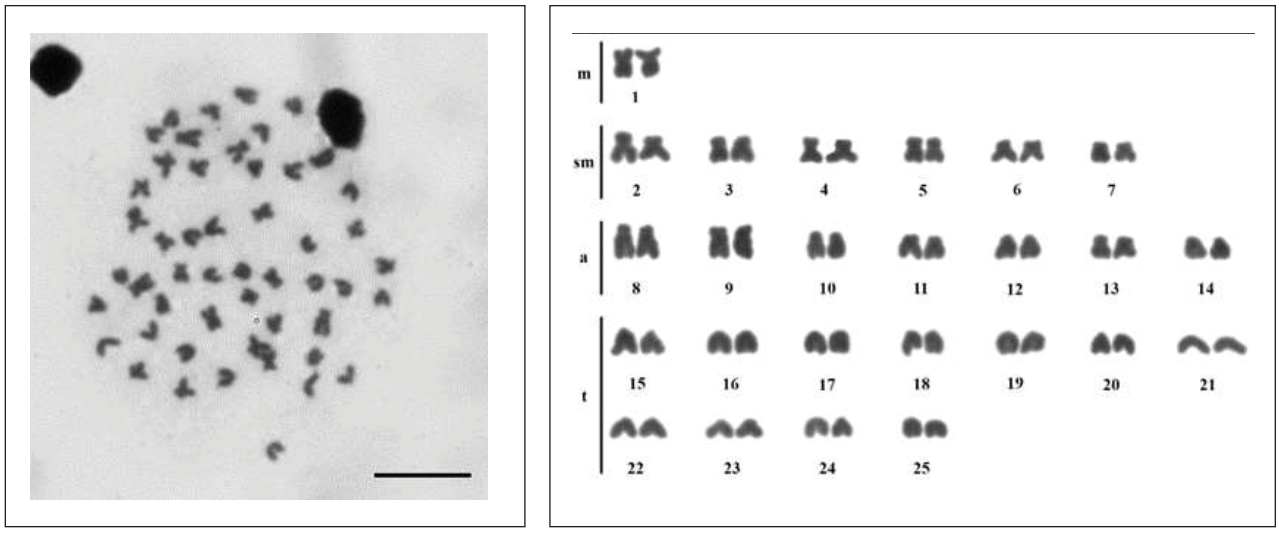

Figure 1 Metaphase chromosome plate of Striped flying barb (*Esomus metallicus*, 2*n* = 50) by conventional staining, scale bar indicates 10 µm.

จากการศึกษาในครั้งนี้ ปลาซิวหนวดยาวมีโครโมโซม 2 ขนาด เป็นจัดเป็นโครโมโซมขนาดใหญ่มีความยาวอยู่ระหว่าง 114.18 - 131.54 เซนติเมตร และโครโมโซมขนาดกลางมีความยาวต่ำกว่า 114.18 เซนติเมตร โดยมีค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว ค่า Relative Length (RL) ค่าCentromeric Index (CI), ขนาด และชนิดของโครโมโซม ของปลาซิวหนวดยาว (Table 1) ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ขนาดกลาง 10 แท่ง และเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 22 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 78 การศึกษาครั้งนี้พบตำแหน่งของนอร์บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 โดยการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาซิวหนวดยาวเพศผู้และเพศเมีย (Figure 2) สอดคล้องกับ Neeratanaphan *et al.* (2017) รายงานว่าปลาซิวหนวดยาวมีโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) จำนวน 50 แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก 22 แท่ง และโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก 14 แท่ง นอกจากนี้ Aiumsumang *et al.* (2021) รายงานโครโมโซมของปลาซิวหนวดยาวที่เก็บตัวอย่างจากแม่น้ำยมและแม่น้ำป่าสัก พบว่า มีโครโมโซมเท่ากับ 50 แท่ง โดยประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซน ทริก 10 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง 30 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง พบตำแหน่งของนอร์อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 7

Table 1 Mean length of short arm (Ls), length of long arm (Ll), length of total length (LT), Relative Length (RL), Centromeric Index (CI), chromosome size and chromosome type of Striped flying barb.

Chromosome Pair	Ls	Ll	LT	RL±SD	CI±SD	Size	Type
1	49.72	64.46	114.18	0.0501±0.0006	0.5645±0.0036	Large	metacentric
2	36.67	61.92	98.60	0.0432±0.0005	0.6280±0.0071	Medium	submetacentric
3	35.70	60.61	96.32	0.0422±0.0005	0.6293±0.0074	Medium	submetacentric
4	32.71	53.28	85.99	0.0377±0.0008	0.6196±0.0076	Medium	submetacentric
5	32.65	52.87	85.52	0.0375±0.0007	0.6182±0.0081	Medium	submetacentric
6	30.85	48.89	79.74	0.0350±0.0008	0.6131±0.0091	Medium	submetacentric
7	25.42	44.39	69.81	0.0306±0.0010	0.6358±0.0119	Medium	submetacentric
8*	23.28	108.25	131.54	0.0577±0.0003	0.8230±0.0135	Large	acrocentric
9	24.68	95.05	119.74	0.0525±0.0006	0.7939±0.0144	Large	acrocentric
10	23.95	80.99	104.94	0.0460±0.0007	0.7718±0.0157	Medium	acrocentric
11	21.62	79.71	101.34	0.0444±0.0004	0.7866±0.0160	Medium	acrocentric
12	20.75	64.29	85.04	0.0373±0.0006	0.7560±0.0173	Medium	acrocentric
13	22.67	58.63	81.31	0.0356±0.0007	0.7211±0.0154	Medium	acrocentric
14	17.79	52.21	70.00	0.0307±0.0011	0.7458±0.0224	Medium	acrocentric
15	0.00	102.69	102.69	0.0450±0.0009	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
16	0.00	99.88	99.88	0.0438±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
17	0.00	98.75	98.75	0.0433±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
18	0.00	91.29	91.29	0.0400±0.0007	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
19	0.00	89.06	89.06	0.0390±0.0008	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
20	0.00	85.52	85.52	0.0375±0.0007	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
21	0.00	82.47	82.47	0.0362±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
22	0.00	79.27	79.27	0.0348±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
23	0.00	80.28	80.28	0.0352±0.0004	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
24	0.00	75.19	75.19	0.0330±0.0005	1.0000±0.0000	Medium	telocentric
25	0.00	72.48	72.48	0.0318±0.0003	1.0000±0.0000	Medium	telocentric

Note: * NOR bearing chromosomes

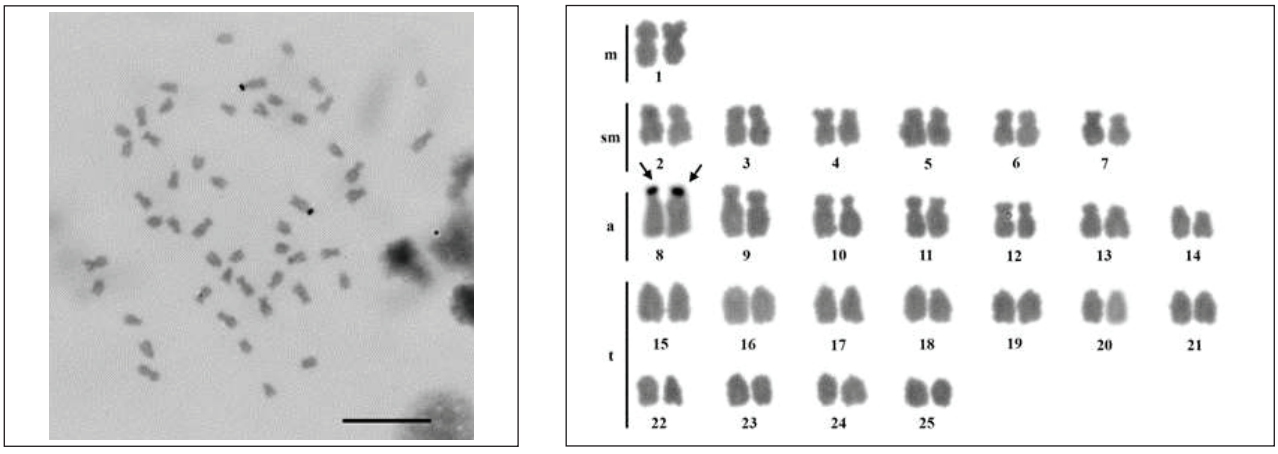

Figure 2 Metaphase chromosome plate of Striped flying barb (*Esomus metallicus*, 2*n* = 50) by Ag-NOR banding technique, scale bar indicates 10 µm, arrows indicate nucleolar organizer regions.

ปลาในวงศ์เดียวกันที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน อาจมีที่แตกต่างกัน ซึ่งของปลาซิวหนวดยาวที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความแตกต่างของชนิดของปลาได้เป็นอย่างดี เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการรายงานผลการศึกษาของปลาในวงศ์ Danionidae เปรียบเทียบผลการศึกษาใน Tabel 2

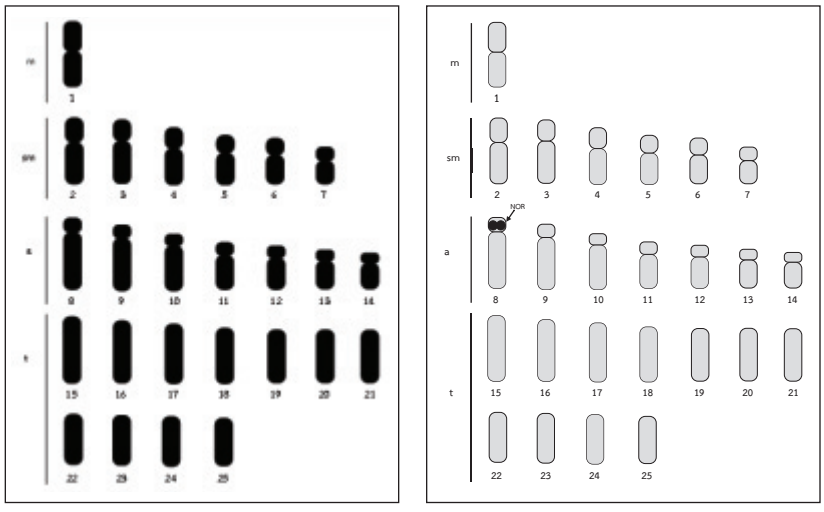

Figure 3 Standard idiograms of Striped flying barb (*Esomus metallicus*, 2*n* = 50) conventional staining and Ag-NOR banding techniques, The clearly observable nucleolar organizer regions/NORs, (arrow).

Tabel 2 Comparative karyological studies of family Danionidae

Species	2n	NF	Karyotype formula	NOR	References
Boraras maculate	50	92	12m+30sm+4st+4t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
B. urophthalmoides	50	94	18m+26sm+2st+4t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
Esomus metallicus	50	86	14m+22sm+14a		Neeratanaphan *et al.* (2017)
E. metallicus	50	68	8m+10sm+30a+2t	2	Aiumsumang *et al.* (2021)
E. metallicus	50	78	2m+12sm+14a+22t	2	การศึกษานี้
Danio regina	50	74	14m+10sm+16st+10a		ธวัช ดอนสกุล (2540)
Devario aequipinnatus	50	96	14m+32sm+4t		Khuda-Bukhsh *et al.* (1986)
D. aequipinnatus	50	96	8m+28sm+10st+4t		Magtoon & Arai (1994)
D. aequipinnatus	50	96	6m+34sm+6st+4t		Sukham *et al.* (2013)
D. devario	50	96	12m+24sm+10st+4t		Khuda-Bukhsh *et al.* (1986)
D. devario	50	100	10m+40st/a		Fontana *et al.* (1970)
D. laoensis	50	66	6m+10sm+34a	2	Aiumsumang *et al.* (2021)
D. malabaricus	50	100	10m+40st		Fontana *et al.* (1970) Hardie & Hebert (2004)
D. regina	50	68	6m+12sm+32a	2	Aiumsumang *et al.* (2021)
D. yuensis	50	98	10m+26sm+12st+2t		Sukham *et al.* (2013)
Rasbora agilis	50	100	24m+26sm		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
R. aurotaenia	50	100	14m+26sm+2st+8a		เกรียงไกร สีตะพันธุ์ และ ทักขิณา เหมยคำ (2547)
R. aurotaenia	50	100	14m+26sm+2st+8a		Seetapan & Moeikum (2004)

Tabel 2 Comparative karyological studies of family Danionidae (cont.)

Species	2n	NF	Karyotype formula	NOR	References
R. borapetensis	50	88	24m+14sm+12t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พู่พิทยาสถาพร (2548)
R. buchanani	50	100	30+m+18sm+2st		Manna & Khuda-Bukhsh (1977)
R. daniconius	50	90	32m+8sm+2st+8t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พู่พิทยาสถาพร (2548)
R. daniconius	50	80	18m+6sm+6st+20t		Khuda-Bukhsh (1979)
R. dorsiocellata	50	92	18m+24sm+8t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
R. einthovenii	50	100	16m+18sm+16a		นูรอีน ยีแสม และคณะ (2562)
R. myersi	50	100	20m+14sm+6st+10a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
R. paviei	50	100	10m+24sm+16st		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
R. retrodorsalis	50	100	26m+10sm+2st+12a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2545)
R. rubrodorsalis	50	82	16m+16sm+18t		ธวัช ดอนสกุล และคณะ (2552)
R. sumatrana	50	92	26m+16sm+2st+6a		ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น (2538)
R. trillineta	50	92	26m+16sm+2st+6t		ธวัช ดอนสกุล และ อนันต์ พู่พิทยาสถาพร (2548)

Abbreviations: diploid chromosome number (2*n*), fundamental number (NF), metacentric (m), submetacentric (sm), acrocentric (a), subtelocentric(st), telocentric (t), Nucleolar Organizer Region (NOR).

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษา และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวหนวดยาว (*E. metallicus*) โดยเตรียมโครโมโซมจากไตด้วยวิธีการบดขยี้เซลล์ ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบสีแบบนอร์ พบว่าปลาซิวหนวดยาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 78 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยของปลาซิวหนวดยาว ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโคร เซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโล เซนทริกขนาดกลาง 22 แท่ง นอกจากนี้พบว่ามีตำแหน่งของนอร์อยู่บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย และปลาซิวหนวดยาวมีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2n$ (50) = L^{m}_{2} + L^{a}_{4} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{10} + M^{t}_{22}

เอกสารอ้างอิง

เกรียงไกร สีตะพันธุ์ และทักขิณา เหมยคำ. (2547). คาริโอไทป์ของปลา 10 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. *วิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*, *22* (ฉบับพิเศษ), 92-101.

ธวัช ดอนสกุล, อัจฉริยา รังษิรุจิ และวิเชียร มากตุ่น. (2552). คาริโอไทป์ของปลาซิวผอม ซิวหลังจุด ซิวหลังแดง ซิวเพชรน้อยและปลาซิวหนูที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47* (น. 320-327). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธวัช ดอนสกุล. (2540). การศึกษาโครโมโซมของปลาสร้อยขาว ปลาร่องไม้ตับ ปลาเขยา และปลาซิวใบไผ่ที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35* (น. 155-164). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น. (2545). คาริโอไทป์ของปลาซิวหางดอก ซิวควายแถบดำ และซิวควายที่พบในประเทศไทย. *การประชุมสัมมนาวิชาการเพื่อเสนอผลงานวิจัย* (น. 1-7). มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น. (2538). คาริโอไทพ์ของปลาพรม ปลากระมัง ปลาแปบ และปลาซิวควายที่พบในประเทศไทย. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33* (น. 128-138). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัช ดอนสกุล และอนันต์ พู่พิทยาสถาพร. (2548). คาริโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพรนิดี 5 ชนิดที่พบในประเทศไทย. *การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติครั้งที่ 14* (น. 217-222). กรุงเทพฯ.

นูรอีน ยีแสม, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์ และพัน ยี่สิ้น. (2562). พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวทอง (Rasbora einthovenii) บริเวณป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 13*(2), 58-68.

Aiumsumang, S., Phimphan, C., Suwannapoom, P., Chaiyasan, W., Supiwong, W., & Tanomtong, A. (2021). A comparative chromosome study on five Minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes) in Thailand. *Caryologia, 74*(1), 89-96.

Esmaeili, H. R., Ebrahimi, M., & Saifali, M. (2008). Karyological analysis of five tooth-carps (Actinopterygii: Cyprinodontidae) from Iran. *Journal of aquaculture, 39*(2), 95-100.

Fontana, F., Chiarelli, B., & Rossi, A. C. (1970). Il Cariotipo di alcune specie di cyprinidae, Centrarchidae, characidae studiate mediante colture in vitro. International journal of cytology, cytosystematics and cytogenetics. *Caryologia, 23*(4), 549-564.

Hardie, D. C., & Hebert, P.D.N. (2004). Genome size evolution in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 61*(9), 1636-1646.

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*(8), 1014-1015.

Khuda-Bukhsh, A. R. (1979). Karyology of two species of hillstream fishes, Barilius bendelisis and Rasbora daniconius (Fam. Cyprinidae). *Current Science, 48*(17), 793-794.

Khuda-Bukhsh, A. R., Chanda, T., & Barat, A. (1986). Karyomorphology and evolution in some Indian hillstream fishes with particular reference to polyploidy in some species. *Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes* (pp. 886-898). Ichthyological Society of Japan.

Magtoon, W., & Arai, R. (1994). Karyotypes of five Rasbora species and one Danio species (Cyprinidae) from Thailand. *Proceedings of the fourth Indo-Pacific fish conference* (pp. 484-496).

Manna, G. K., & Khuda-Bukhsh, A. R. (1977). Karyomorphology of cyprinid fishes and cytological evaluation of the family. *Nucleus, 20*,119-127.

Neeratanaphan, W., Khamlerd, C., Chowrong, S., Intamat, S., Sriuttha, M., & Tengjaroenkul, B. (2017). Cytotoxic assessment of flying barb fish (*Esomus metallicus*) from a gold mine area with heavy metal contamination. *International Journal of Environmental Studies, 74*(4),613-624.

Rooney, D. E. (2001). *Human cytogenetics: constutitional analysis: a practical approach.* Oxford University Press.

Smith, H. M. (1945). *The fresh-water fishes of Siam or Thailand*. Bulletin of the United States National Museum.

Seetapan, K., & Moeikum, T. (2004). Karyotypes of ten Cyprinid fishes (Family Cyprinidae). *Journal of Agricultural Research and Extension, 22*(Special Issue), 92-101.

Sukham, S., Chingakham, B., Thoidingjam, L. & Waikhom, G. (2013). Cytogenetic characterization of Devario aequipinnatus (McClelland, 1839) and Devario yuensis (Arunkumar and Tombi, 1998) (Cypriniformes: Cyprinidae) from Manipur, northeast India. *Journal of Zoology,* 706-712.

Turpin, R., and Lejeune, J. (1965). *Les chromosomes humains.* Gauthier-Villars, Paris.