



รายงานการวิจัย

โครงการ การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ
ในการจัดระบบผสมพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว
Utilization of Microsatellite DNA Marker in False Clown Anemone Fish
(*Amphiprion ocellaris*) Mating System

โดย

นายวรุฒิ เกิดปราง

กุมภาพันธ์ พุทธศักราช 2554

รายงานการวิจัย

โครงการ การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ
ในการจัดระบบผสมพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว
Utilization of Microsatellite DNA Marker in False Clown Anemone Fish
(*Amphiprion ocellaris*) Mating System

นายวรวุฒิ เกิดปราง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สนับสนุนโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ที่จำเป็นต่าง ๆ ในการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ และนักศึกษาที่ช่วยเหลือในการทำการวิจัยครั้งนี้

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5080116
ชื่อโครงการ : การใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในการจัดระบบผสมพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว
ื่อนักวิจัย : นายวรวุฒิ เกิดปราง
E- mail Address : worawut2000@hotmail.com
ระยะเวลาโครงการ : ธันวาคม 2549 – ธันวาคม 2553

ปลาการ์ตูนส้มขาวเป็นปลาทะเลที่ได้รับความนิยมนำมาเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม ซึ่งในปัจจุบันปลาการ์ตูนส้มขาว สามารถเพาะพันธุ์ได้ในโรงเพาะฟักเพื่อหลีกเลี่ยงการจับปลาจากแนวปะการัง อย่างไรก็ตามผู้เลี้ยงมักเลี้ยงปลาเหล่านี้และเก็บปลาบางส่วนไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในรุ่นต่อไป ซึ่งอาจก่อให้เกิดการผสมพันธุ์ในสายเลือดขึ้น และทำให้เกิดลักษณะด้วยขึ้นในลูกปลารุ่นต่อ ๆ ไป ดังนั้นเพื่อป้องกันการเกิดการผสมเลือดชิด การศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอไพรมเมอร์ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้ามาใช้ในการจัดการระบบการผสมพันธุ์ และจากการศึกษาพบว่า ไมโครแซทเทลไลท์ไพรมเมอร์จากปลาปลาการ์ตูนอานม้าสามารถใช้สังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปลาการ์ตูนส้มขาวได้ ได้เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาวที่รวบรวมจากธรรมชาติจำนวน 6 คู่ พบว่า พ่อแม่พันธุ์ปลาแต่ละคู่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง 0-0.385 ผลการศึกษาการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาวแต่พ่อแม่พันธุ์แต่ละคู่พบว่า อัตราการฟักไข่ อัตราการตายภายหลังจากการฟัก 1 วัน การเจริญเติบโตด้านความยาว และอัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวจากทั้งพ่อแม่พันธุ์ที่มีความสัมพันธ์และไม่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ในการจัดการผสมพันธุ์ควรมีการนำไปใช้ศึกษาการแสดงออกลักษณะของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวที่เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ปลาในรุ่นต่อไป และผลจากการศึกษาจะสามารถนำไปใช้ในการจัดการผสมพันธุ์ได้อย่างเหมาะสม เพื่อรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาการ์ตูนส้มขาวที่นำมาเลี้ยง

คำสำคัญ : ปลาการ์ตูนส้มขาว ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ระบบผสมพันธุ์

Abstract

Project Code : MRG5080116

Project Title : Utilization of Microsatellite DNA Marker in False Clown Anemone Fish (*Amphiprion ocellaris*) Mating System

Investigator : Worawut Koedprang

E-mail Address : worawut2000@hotmail.com

Project Period : December 2006 – December 2010

The false clown anemonefish or false clownfish (*Amphiprion ocellaris*) is the one most typically seen in the tropical marine fish aquarium. Nowadays, false clownfish can tank bred to reduce the amount taken from the reef. However, the tank-bred fish were initially produced from a small number of the natural brooders and some of them were kept for next brooder. To prevent inbreeding effects from mating between related fish, the mating system management should be concern. This study the microsatellite DNA primers which developed from saddleback clownfish (*A. polymnus*) by Quenouille et.al (2004) were used for mating management. The result showed microsatellite primers from saddleback clownfish are possible to cross species amplification (PCR) with false clownfish. The genetic relatedness which investigated in 6 pairs of parent from natural water were 0 - 0.385. The performances; hatching rate, 1st day post hatching mortality rate, total length and survival rate at 45th day of the progenies were measured. They were found that non statistical significant difference among related and unrelated parents in this study. However, the mating system under microsatellite DNA base should apply to new generation of the false clownfish to observe the respond of management. The result would be useful for mating design to maintenance the genetic diversity and quality of aquarium false clownfish.

Keywords : anemonefish, *Amphiprion ocellaris*, microsatellite DNA, mating system

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
บทนำ	1
วิธีการทดลอง	2
ผลการทดลอง	5
วิจารณ์ผลการทดลอง	17
สรุปผลการทดลอง	22
ข้อเสนอแนะ	22
เอกสารอ้างอิง	22

สารบัญตาราง

หน้า

Table 1.	Variability of 6 microsatellite loci in False Clown anemonefish	5
Table 2.	Genetic relatedness between 6 parents of False Clown anemonefish	6
Table 3.	The average ($\pm$ SD) of number of egg in each spawning, hatching and 1 st day post hatching mortality rates of False Clown anemonefish in hatching tank	8
Table 4.	The total length (centimeter) of False Clown anemonefish at 1 st , 15 th and 45 th day	13
Table 5.	The survival rate of False Clown anemonefish at 45 th day	15

สารบาภาพ

หน้า

Figure 1.	The average of number of egg in each spawning of False Clown anemonefish from 6 parents	9
Figure 2.	The average of hatching and post hatching mortality rates of False Clown anemonefish from 6 parents	10
Figure 3.	The abnormal False Clown anemonefish post hatched larvae	11
Figure 4.	The total length (centimeter) of False Clown anemonefish at 1 st , 15 th and 45 th day	14
Figure 5.	The survival rate of False Clown anemonefish at 45 th day	16

บทนำ

การเลี้ยงปลาสวยงามได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย เพื่อให้เกิดความเพลิดเพลิน และความสวยงามในการประดับตกแต่งสถานที่ต่าง ๆ เมื่อก่อนการเลี้ยงปลาสวยงามส่วนใหญ่จะกล่าวถึงการเลี้ยงปลาสวยงามน้ำจืด แต่ปัจจุบันเกิดกระแสความนิยมในการเลี้ยงปลาทะเลสวยงามมากขึ้น อาจเนื่องมาจากการที่สื่อต่าง ๆ ได้เสนอถึงความสวยงามและความน่ารักของปลาทะเล ไม่ว่าจะเป็น ภาพยนต์ โฆษณา ตลอดจนการจัดแสดงปลาทะเลสวยงามในสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำต่าง ๆ ทำให้ผู้พบเห็นเกิดความสนใจ และต้องการที่จะนำมาเลี้ยงบ้าง ปลาทะเลสวยงามจำนวนมากจึงถูกจับมาจากธรรมชาติเพื่อตอบสนองความต้องการดังกล่าว

ปลาการ์ตูน เป็นปลาทะเลสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับการนิยม หรือเป็นปลาทะเลสวยงามพื้นฐานที่ผู้เลี้ยงหรือผู้ที่จะเริ่มเลี้ยงคิดถึงเป็นอันดับต้น ๆ เสมอ ปลาการ์ตูนจึงถูกจับจากทะเลจำนวนมากทำให้ประชากรของปลาการ์ตูนชนิดต่าง ๆ ได้ลดจำนวนลงน้อยลง และมีปริมาณไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้เลี้ยง จากรายงานของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ (2547) พบว่าประเทศไทยมีร้านค้าที่จำหน่ายปลาทะเลและสัตว์ทะเลอื่น ๆ ประมาณ 40-60 ร้าน มูลค่าการขายรวมกันประมาณ 25-50 ล้านบาทต่อปี และในจำนวนนี้เป็นมูลค่าของปลาการ์ตูนประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 8-12 ล้านบาทต่อปี สำหรับปลาการ์ตูนของไทยคาดว่าจะรองรับได้ประมาณ 120,000-240,000 ตัวต่อปี แต่ปัจจุบัน จำนวนปลาการ์ตูนยังไม่เพียงพอความต้องการ จึงต้องอาศัยการนำเข้าจากต่างประเทศโดยมีมูลค่าการนำเข้ารวมของปลาทะเลและสัตว์ทะเลอื่น ๆ ประมาณ 12-24 ล้านบาทต่อปี โดยในจำนวนนี้ปลาการ์ตูนประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณ

ปลาการ์ตูนส้มขาว (False Clown anemonefish ; *Amphiprion ocellaris*) เป็นปลาการ์ตูนที่ได้รับการนิยมนำมาเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายมากที่สุด ลำตัวมีสีส้มเข้ม มีแถบสีขาว 3 แถบ โดยแถบแรกพาดบริเวณส่วนหัวลงทางด้านหลังตา แถบที่ 2 พาดบริเวณกลางลำตัวระหว่างรอยเว้าของครีบท้อง ด้านหน้าของแถบนี้จะโค้งขึ้นไปทางแถบแรก ส่วนแถบที่ 3 อยู่บริเวณคอดหาง แถวขาวแต่ละแถบจะมีเส้นสีดำตัดบริเวณขอบรวมไปถึงบริเวณของครีบต่าง ๆ ครีบหางของปลาการ์ตูนส้มขาวจะมีลักษณะกลม ครีบท้องมีลักษณะเว้าบริเวณตรงกลางลำตัว จึงทำให้ดูมีลักษณะคล้ายครีบท้องแบ่งออกเป็น 2 ตอน มีก้านครีบท้องจำนวน 11 ก้าน ซึ่งจำนวนก้านครีบท้องนี้จะช่วยในการจำแนกชนิดระหว่างปลาการ์ตูนส้มขาวกับปลาการ์ตูนเพอร์คูลา ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะในช่วงที่ปลายังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ หรือยังมีสีส้มไม่ชัดเจน ปลาการ์ตูนส้มขาวมีขนาดลำตัวยาวสุดเท่ากับ 11

เซนติเมตร พบในบริเวณที่มีความลึกตั้งแต่ 1-15 เมตร อาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลหลายชนิด เช่น *Heteractis magnifica*, *Stichodactyla gigantean* และ *S. mertensii* เป็นต้น ปลาการ์ตูนส้มขาวพบได้ในประเทศไทยทางฝั่งทะเลอันดามัน และพบได้เช่นกันในฝั่งอ่าวไทยบริเวณเกาะโลซิน จังหวัดนราธิวาส นอกจากนี้ยังแพร่กระจายบริเวณหมู่เกาะนิโคบาร์ ฟิลิปปินส์ และทางฝั่งตะวันตกเฉียงเหนือของออสเตรเลีย (วรุณ, 2549; Lieske และ Myers, 2001)

ปัจจุบันมีหน่วยงานต่างๆ ได้เล็งเห็นความสำคัญในจุดนี้ได้ทำการศึกษาพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนขึ้นเพื่อสนองความต้องการเลี้ยงปลาการ์ตูน และเป็นการลดปริมาณการจับปลาการ์ตูนจากธรรมชาติ ซึ่งอาจเชื่อมโยงไปถึงการทำลายแหล่งปะการังที่เป็นแหล่งอาศัยของสัตว์น้ำ โดยตั้งใจหรือไม่ตั้งใจในระหว่าง การจับปลา ตลอดจนเป็นการลดการนำเข้าปลาการ์ตูนจากต่างประเทศ และอาจเป็นแนวทางในการส่งเสริมอาชีพให้กับคนในชุมชน ตลอดจนการอนุรักษ์สายพันธุ์ปลาการ์ตูนต่อไปในอนาคต แต่อย่างไรก็ตามการดำเนินกิจกรรมดังกล่าวยังขาดการจัดการที่เหมาะสม เช่น การจัดการระบบพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งในระยะแรกจำเป็นต้องนำพ่อแม่พันธุ์ปลามาจากธรรมชาติซึ่งมีจำนวนคู่ผสมพันธุ์ไม่มากนัก หลังจากนั้นผู้เพาะเลี้ยงอาจคัดลูกปลาการ์ตูนที่เพาะพันธุ์ได้ไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์อีกต่อไป โดยอาจไม่ได้คำนึงถึงผลกระทบของการผสมเลือดชิด ซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะของปลาการ์ตูนที่เลี้ยงต่อไป

ดังนั้นการจัดการระบบเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูน โดยการจัดการระบบการผสมพันธุ์ ด้วยการใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ (molecular genetic) เข้าช่วยจะทำให้สามารถเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนในการผสมพันธุ์แต่ละครั้งได้อย่างเหมาะสม อีกทั้งยังสามารถผลิตปลาการ์ตูนที่มีลักษณะที่ดีได้ตามต้องการ และหากมีการพัฒนาได้อย่างต่อเนื่องก็ไม่จำเป็นต้องอาศัยพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนจากธรรมชาติอีกต่อไป ปัญหาการลดจำนวนลงของประชากรปลาการ์ตูนในธรรมชาติก็จะหมดไป

การทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนต่างชนิด ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ต่อการแสดงออกของลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาว

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนต่างชนิด

ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของปลาการ์ตูนส้มขาว

1.1 รวบรวมพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาวจากธรรมชาติบริเวณทะเลจังหวัดตรัง เก็บเนื้อเยื่อส่วนปลายครีบหางของปลาการ์ตูนส้มขาว เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอ ด้วยวิธี ฟีนอล-คลอโรฟอร์ม

1.2 สังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้า (Saddleback anemonefish, *A. polymnus*) โดย Quenouille และคณะ (2004) จำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) ; 2* (AY523936), 44* (AY523937), 45* (AY523934), 61* (AY523932), 65* (AY523940) and 79* (AY523933)

1.3 นำไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) ไปแยกขนาดด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ใน polyacrylamide gel ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์

1.4 ย้อมแถบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Silver stain และอ่านผลลักษณะทางพันธุกรรมของปลาการ์ตูนส้มขาว

2. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ต่อการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาวโดยการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

2.1 จัดเตรียมพ่อแม่พันธุ์ที่จับคู่พร้อมที่จะผสมพันธุ์แล้ว ซึ่งเป็นพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนที่จับคู่กันเองตามธรรมชาติ โดยการปล่อยพ่อแม่พันธุ์แต่ละคู่ลงในตู้เพาะพันธุ์ที่มีระบบกรองน้ำได้ทรายและเตรียมแผ่นกระเบื้องเพื่อใช้เป็นที่พักวางไข่

2.2 ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อบริเวณปลายครีบหาง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ (genetic relatedness; r_{xy}) โดยการศึกษาความแตกต่างของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ (microsatellite DNA) ตามวิธีการของ Sugaya และคณะ (2002)

2.3 หลังจากพ่อแม่พันธุ์ผสมพันธุ์วางไข่แล้ว ย้ายไข่ปลาไปพักในตู้พักไข่ที่มีปริมาตรน้ำ 150 ลิตร ทำการบันทึกข้อมูลลักษณะของลูกปลาในแต่ละครอบครัว เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะแสดงออกต่อความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ โดยบันทึกข้อมูล อัตราการพัก

อัตราการรอดตาย ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวแต่ละครอกจากแต่ละกลุ่มผสม และศึกษาอัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวสุด (total length ; TL) ในโหลแก้ว ปริมาตรน้ำ 12 ลิตร ปล่อยลูกปลาจำนวนโหลละ 10 ตัว และทำการเลี้ยงลูกปลาครอกละ 3 ซ้ำ

2.4 ทำการเก็บข้อมูลจากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 6 กลุ่มผสม และวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-Way ANOVA)

ผลการทดลอง

1. การศึกษาการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนต่างชนิด ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของปลาการ์ตูนส้มขาว

ผลการใช้เครื่องหมายพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้า (Saddleback anemonefish, *A. polymnus*) จำนวน 6 ตำแหน่ง พบว่า ไพรเมอร์ทุกตำแหน่งที่ทำการศึกษาสามารถสังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ ในปลาการ์ตูนส้มขาวได้ ดังแสดงใน Table 1. จึงนำไพรเมอร์ทั้ง 6 ตำแหน่ง ไปศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ต่อการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาวต่อไป

Table 1. Variability of 6 microsatellite loci in False Clown anemonefish

Locus	2*	44*	45*	61*	65*	79*
No. of samples	60	60	57	53	59	60
No. of alleles	3	8	6	21	4	30
<i>He</i>	0.546	0.758	0.793	0.918	0.733	0.937
<i>Ho</i>	1	1	1	0.981	1	1

He = expected heterozygosity, *Ho* = observed heterozygosity

2. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ต่อการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาวโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

2.1 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลากการ์ตูนส้มขาว

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลากการ์ตูนส้มขาว จำนวน 6 คู่ โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ไพรมอร์ จำนวน 6 ตำแหน่ง ที่สามารถสังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปลากการ์ตูนส้มขาวได้ พบว่า จากพ่อแม่ปลากการ์ตูนส้มขาวจำนวน 2 คู่ ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยมีค่า r_{xy} เท่ากับ 0.189 และ 0.358 หรือที่ระดับ 18.90 และ 38.50 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ส่วนอีก 4 คู่ พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม ดังแสดงใน Table 2.

Table 2. Genetic relatedness between 6 parents of False Clown anemonefish

Parent No.	Genetic relatedness (r_{xy})	Relatedness percentage
1	0.189	18.90
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0.385	38.50

2.2 การศึกษาการแสดงออกของลักษณะของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่พันธุ์ปลาแต่ละคู่

2.2.1 จำนวนไข่ อัตราการฟัก และอัตราการตายหลังจากการฟัก

ผลการศึกษาจำนวนไข่ อัตราการฟัก และอัตราการตายหลังจากการฟัก ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 6 คู่ โดยแต่ละคู่เก็บจากจำนวน 5, 3, 3, 10, 3 และ 4 ครอก ตามลำดับ มีผลการศึกษาดังนี้

จำนวนไข่ของแม่ปลาแต่ละตัว มีจำนวนไข่เฉลี่ยต่อครั้ง เท่ากับ 650, 577, 628, 1,227, 818 และ 614 ฟอง ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3. และ Figure 1. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าจำนวนไข่ต่อครั้งเฉลี่ย ของแม่ปลาแต่ละตัวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ยกเว้นแม่ปลาจากคู่ที่ 4 ที่มีจำนวนไข่ต่อครั้งเฉลี่ยแตกต่างจากแม่ปลาตัวอื่น ๆ ($P<0.01$)

อัตราการฟักไข่ (hatching rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่มีอัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 52.03, 73.65, 74.44, 67.82, 79.33 และ 69.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3. และ Figure 2. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการฟักเฉลี่ยของลูกปลา จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

อัตราการตายหลังจากการฟัก (post hatching mortality rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว ภายใน 1 วัน มีอัตราการตายเฉลี่ยเท่ากับ 5.15, 3.79, 6.85, 10.64, 50.86 และ 20.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3. และ Figure 2. โดยลูกปลาการ์ตูนส้มขาวที่ตายหลังจากการฟักออกเป็นตัว จะตายหลักจากฟักออกจากไข่ หรือตายภายใน 1-2 วัน และส่วนใหญ่จะมีลักษณะฟิการ ลำตัวคดงอ (Figure 3.) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการตายแรกฟักเฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

Table 3. The average ($\pm$ SD) of number of egg in each spawning, hatching and 1st day post hatching mortality rates of False Clown anemonefish in hatching tank

Parent No.	No. of batch	No. of egg	Hatching (%)	Post hatching mortality (%)
1	5	650 $\pm$ 127.70 ^a	52.03 $\pm$ 19.79 ^a	5.15 $\pm$ 3.53 ^a
2	3	577 $\pm$ 41.40 ^a	73.65 $\pm$ 35.28 ^a	3.79 $\pm$ 0.79 ^a
3	3	628 $\pm$ 120.20 ^a	74.44 $\pm$ 1.96 ^a	6.85 $\pm$ 9.39 ^a
4	10	1,227 $\pm$ 381.03 ^b	67.82 $\pm$ 24.61 ^a	10.64 $\pm$ 11.33 ^a
5	3	818 $\pm$ 380.28 ^a	79.33 $\pm$ 29.85 ^a	50.68 $\pm$ 42.06 ^b
6	4	614 $\pm$ 316.426 ^a	69.79 $\pm$ 41.41 ^a	20.87 $\pm$ 18.65 ^a

* The difference of alphabet in each column presented the statistic significant difference ($P < 0.01$)

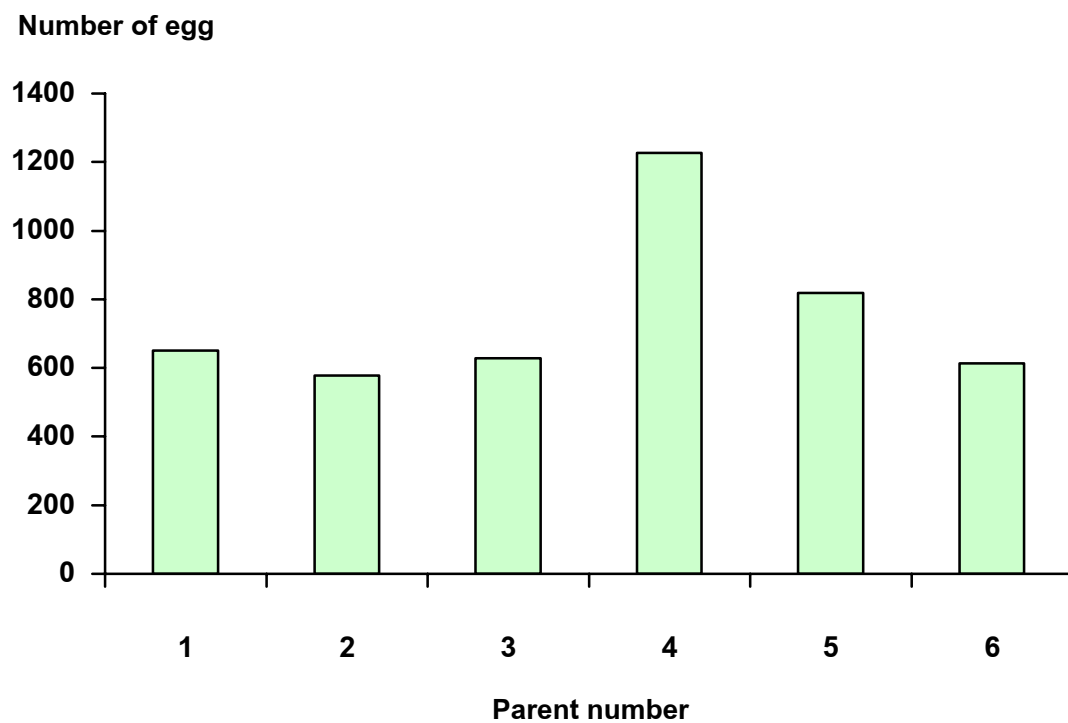


Figure 1. The average of number of egg in each spawning of False Clown anemonefish from 6 parents

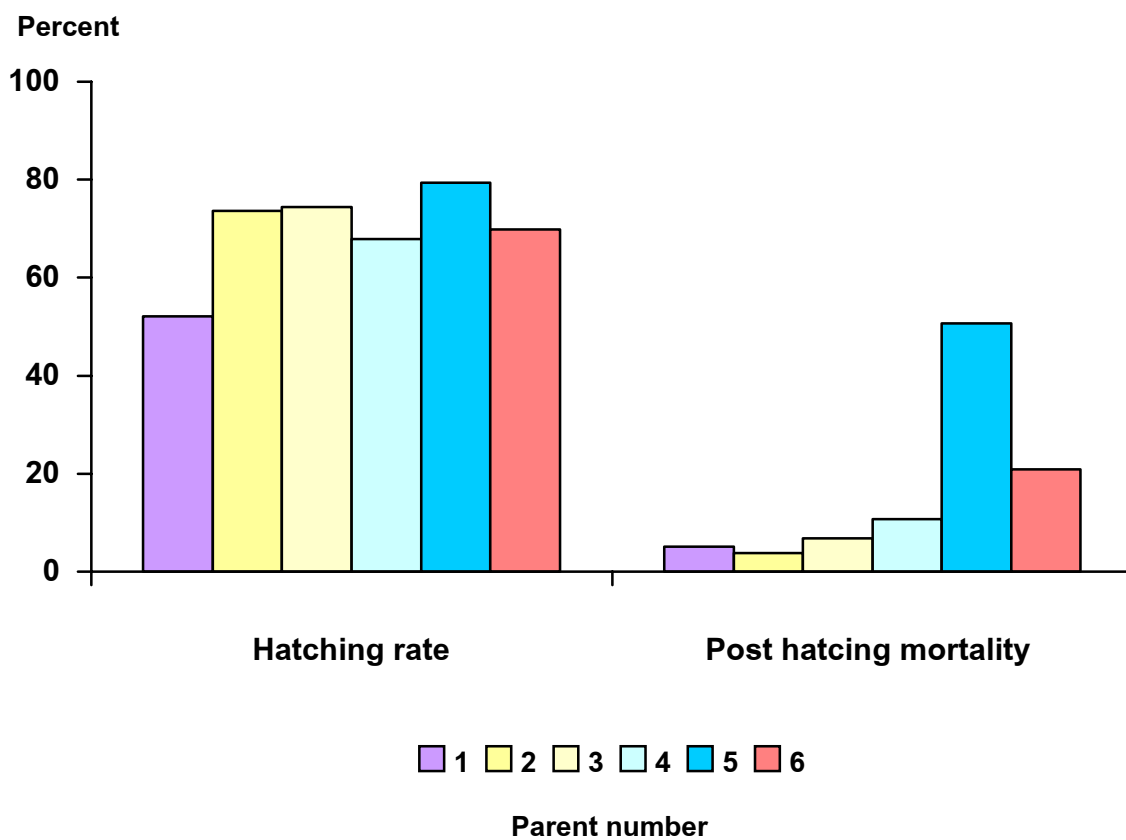


Figure 2. The average of hatching and post hatching mortality rates of False Clown anemonefish from 6 parents

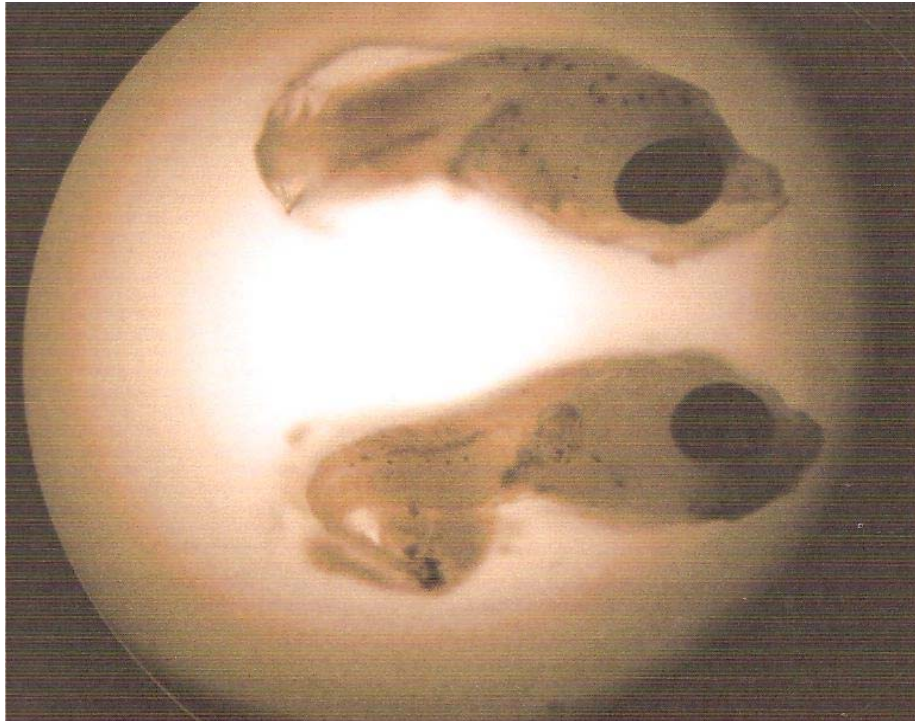


Figure 3. The abnormal False Clown anemonefish post hatched larvae

2.2.2 การเจริญเติบโตด้านความยาว

ผลการศึกษากการเจริญเติบโตด้านความยาว (เซนติเมตร) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 6 คู่ โดยแต่ละคู่เก็บจากจำนวน 3, 3, 2, 3, 2 และ 2 ครอก ตามลำดับ มีผลการศึกษาดังนี้

ความยาวสุด (TL) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว เมื่อเริ่มการทดลอง อายุ 1 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.420, 0.428, 0.394, 0.414, 0.419 และ 0.416 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 4. และ Figure 4. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าความยาวเริ่มต้นที่อายุ 1 วัน เฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ความยาวสุด (TL) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว อายุ 15 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.976, 1.043, 0.962, 0.926, 0.980 และ 0.931 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 4. และ Figure 5. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าความยาวที่อายุ 15 วัน เฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ความยาวสุด (TL) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว อายุ 45 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 1.433, 1.625, 1.460, 1.483, 1.605 และ 1.575 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 4. และ Figure 5. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าความยาวที่อายุ 45 วัน เฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

2.2.3 อัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน

ผลการศึกษาอัตราการรอดตาย (survival rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว ที่อายุ 45 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 88.77, 80.00, 91.65, 85.00, 88.35 และ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 5. และ Figure 5. เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน เฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

Table 4. The total length (centimeter) of False Clown anemonefish at 1st, 15th and 45th day

Parent No.	No. of batch	1 st day	15 th day	45 th day
1	3	0.420 ± 0.019 ^a	0.976 ± 0.057 ^a	1.433 ± 0.046 ^a
2	3	0.428 ± 0.005 ^a	1.043 ± 0.066 ^a	1.625 ± 0.055 ^a
3	2	0.394 ± 0.020 ^a	0.962 ± 0.033 ^a	1.460 ± 0.050 ^a
4	3	0.414 ± 0.004 ^a	0.926 ± 0.092 ^a	1.483 ± 0.044 ^a
5	2	0.419 ± 0.011 ^a	0.980 ± 0.086 ^a	1.605 ± 0.055 ^a
6	2	0.416 ± 0.036 ^a	0.931 ± 0.059 ^a	1.575 ± 0.035 ^a

* The similarity of alphabet presented in each column the non statistic significant difference ($P>0.05$)

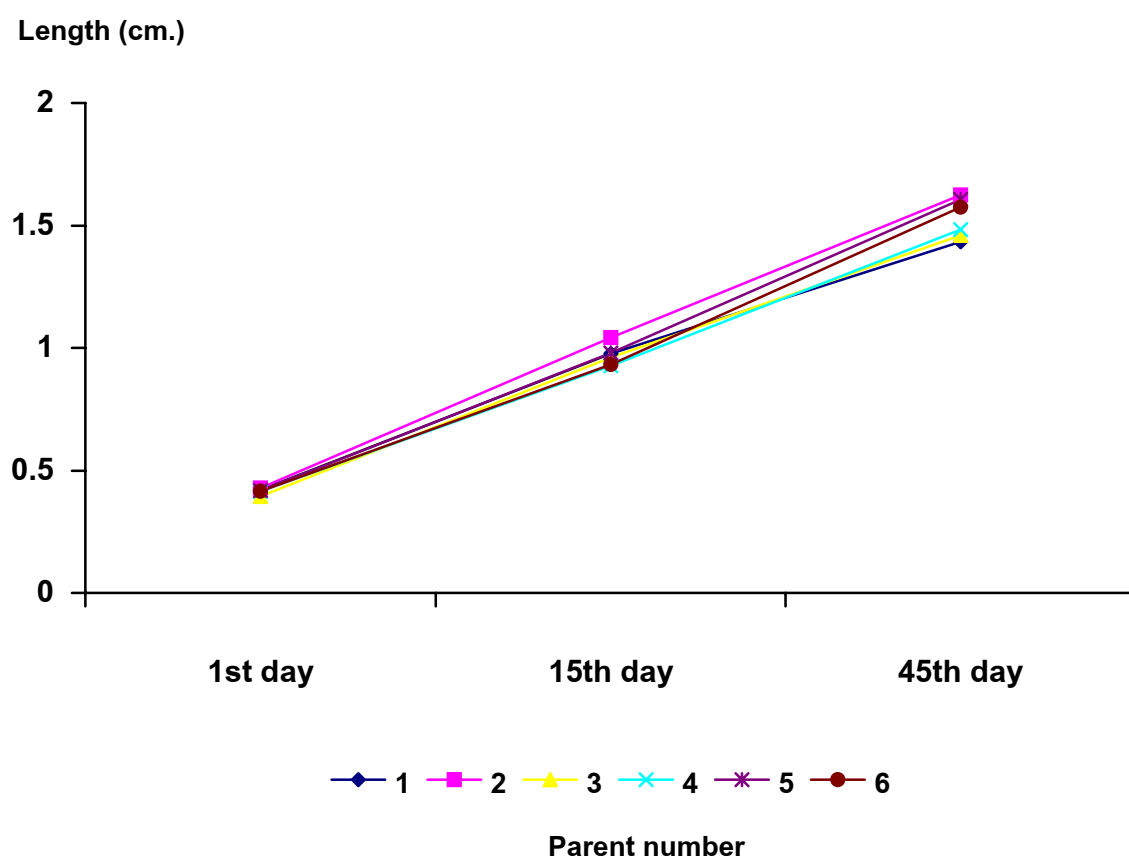


Figure 4. The total length (centimeter) of False Clown anemonefish at 1st, 15th and 45th day

Table 5. The survival rate of False Clown anemonefish at 45th day

Parent No.	No. of batch	Survival rate (%)
1	3	87.77 ± 15.75 ^a
2	3	80.00 ± 9.47 ^a
3	2	91.65 ± 2.33 ^a
4	3	85.00 ± 13.23 ^a
5	2	88.35 ± 2.33 ^a
6	2	87.50 ± 17.68 ^a

* The similarity of alphabet presented in each column the non statistic significant difference ($P>0.05$)

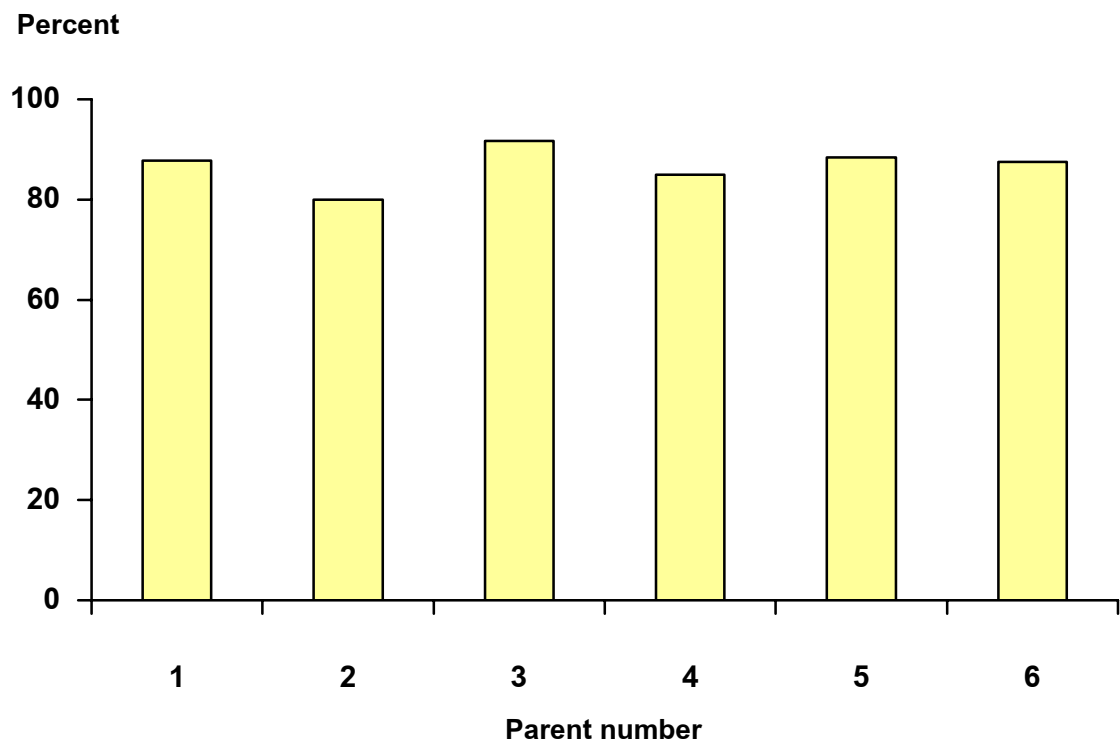


Figure 5. The survival rate of False Clown anemonefish at 45th day

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนต่างชนิด

ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของปลาการ์ตูนส้มขาว

จากผลการศึกษาพบว่า ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ไพรเมอร์ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้า (Saddleback anemonefish, *A. polymnus*) จำนวน 6 ตำแหน่ง สามารถใช้ในการสังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ในปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ซึ่งแสดงว่าไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถใช้ในปลาการ์ตูนต่างสายพันธุ์ (cross-species) ได้ เช่นเดียวกับ Nugroho และคณะ (1998) และ Koedprang และคณะ (2007) รายงานว่า ไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์ ที่พัฒนาจากปลากะรัง *Epinephelus merra* สามารถใช้สังเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ใน ปลากะรังสายพันธุ์อื่น ๆ ได้ และ Kim และคณะ (2009) รายงานการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์ ที่พัฒนาจากปลา Brown sole flatfish, *Pleuronectes herzensteini* ในปลา flatfish ครอบครัว (family) Pleuronectidae ชนิดอื่น ๆ ทั้งปลาที่ต่างชนิด (genus) และต่างสายพันธุ์ (species)

2. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ต่อการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาวโดยการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

2.1 การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว จำนวน 6 คู่ โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์ จำนวน 6 ตำแหน่ง ที่ พบว่า จากพ่อแม่ปลาการ์ตูนส้มขาวจำนวน 2 คู่ ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยมีค่า r_{xy} เท่ากับ 0.189 และ 0.358 หรือที่ระดับ 18.90 และ 38.50 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ส่วนอีก 4 คู่ พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม โดยมีค่า r_{xy} เท่ากับ 0 ตามที่ Queller และ Goodnight (1989) กล่าวว่า ค่าความสัมพันธ์ (r) ที่เท่ากับ 0 แสดงว่า ปลาไม่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม ส่วนค่าความสัมพันธ์ที่เท่ากับ 0.25 จัดเป็นปลาที่มีความสัมพันธ์ในระดับที่มีพ่อหรือแม่ร่วมกัน (half siblings) และค่าความสัมพันธ์ที่เท่ากับ 0.50 จัดเป็นปลาที่มีความสัมพันธ์ในระดับที่มีพ่อและแม่ร่วมกัน (full siblings)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาวจำนวน 4 คู่ ไม่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม และ พ่อแม่พันธุ์ปลาจำนวน 1 คู่ ที่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม แต่ค่า

กว่าระดับจะจัดว่าเป็นปลาที่มีพ่อหรือแม่ร่วมกัน ส่วนอีก 1 คู่ ที่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม ในระดับที่จัดว่าเป็นปลาที่มีพ่อหรือแม่ร่วมกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาการ์ตูนส้มขาวส่วนใหญ่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรมหรือมีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ อาจเนื่องจากพ่อแม่ปลาการ์ตูนส้มขาวที่นำมาใช้ในครั้งนี้เป็นปลาที่จับมาจากธรรมชาติ และจากพฤติกรรมการผสมพันธุ์และการพัฒนาของลูกปลาที่หลังจากการฟักออกเป็นตัว ลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนจะล่องลอย และดำรงชีวิตไปตามกระแสน้ำ คล้ายแพลงก์ตอน (planktonic dispersal period) ก่อนที่จะลงไปอาศัยอยู่ในดอกไม้ทะเล ทำให้โอกาสน้อยที่ลูกปลาที่เกิดจากพ่อแม่เดียวกัน หรือมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจะอาศัยอยู่ด้วยกันเนื่องจากการกระจัดกระจายไปตามกระแสน้ำในทะเล และนอกจากนั้น Mitchell (2003) รายงานว่า พฤติกรรมการอาศัยในดอกไม้ทะเลของปลาการ์ตูน จะมีปลาการ์ตูนเพียงกลุ่มเดียวที่อาศัยอยู่ในดอกไม้ทะเล และในกลุ่มจะประกอบด้วย ปลาการ์ตูนที่มีขนาดใหญ่สุดซึ่งเป็นเพศเมียที่พร้อมที่จะสืบพันธุ์ และปลาขนาดเล็กลงมาจะเป็นปลาเพศผู้ที่สามารถสืบพันธุ์ได้ นอกจากนี้จะมีปลาการ์ตูนขนาดเล็กไม่มีการเจริญพันธุ์อาศัยร่วมอยู่ด้วย ซึ่งปลาการ์ตูนขนาดเล็กเหล่านี้จะพัฒนาระบบสืบพันธุ์ได้ก็ต่อเมื่อปลาการ์ตูนเพศเมียบางตัวใหญ่สูญหายไปจากกลุ่มเท่านั้น และขณะที่ลูกปลาการ์ตูนลงอาศัยในดอกไม้ทะเลหากดอกไม้ทะเลนั้นไม่มีปลาการ์ตูนอาศัยอยู่ก่อนลูกปลาจะสามารถเจริญเติบโตและเจริญพันธุ์ได้ แต่ส่วนใหญ่แล้วดอกไม้ทะเลมักจะมีปลาการ์ตูนอาศัยอยู่ก่อนแล้ว ดังนั้นลูกปลาการ์ตูนจึงลงอาศัยในดอกไม้ทะเล และเป็นสมาชิกในกลุ่มของปลาการ์ตูน โดยจะดำรงชีวิตเป็นปลาการ์ตูนขนาดเล็กที่ไม่มีการเจริญพันธุ์ จึงทำให้ปลาการ์ตูนที่อาศัยอยู่ในดอกไม้ทะเลเดียวกันมีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรมได้น้อยมาก หรือไม่มีความสัมพันธ์กันเลย ปลาพ่อและแม่พันธุ์เป็นปลาที่เกิดคนละรุ่นกัน และลักษณะพฤติกรรมการผสมพันธุ์ดังที่กล่าว ไม่มีผลมาจากขนาดของประชากรที่มีจำนวนน้อยที่อาศัยอยู่ในดอกไม้ทะเลเดียวกัน และไม่ส่งผลถึงการผสมพันธุ์แบบเลือดชิด (inbreeding)

2.2 การศึกษาการแสดงออกของลักษณะของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่พันธุ์ปลาแต่ละคู่

2.2.1 จำนวนไข่ อัตราการฟัก และอัตราการตายหลังจากการฟัก

ผลการศึกษาจำนวนไข่ อัตราการฟัก และอัตราการตายหลังจากการฟัก ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 6 คู่ พบว่า แม่ปลาวางไข่เฉลี่ยสูงสุด 1,227 ฟอง และวางไข่เฉลี่ยต่ำสุด 614 ฟอง เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าจำนวนไข่ต่อครั้งเฉลี่ย ของแม่ปลาแต่ละตัวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ยกเว้นแม่ปลาจากคู่ที่ 4 ที่มีจำนวนไข่ต่อครั้งเฉลี่ยแต่

ต่างจากแม่ปลาตัวอื่น ๆ ($P < 0.01$) ซึ่งจำนวนไข่จากแม่ปลาการ์ตูนส้มขาวแต่ละตัว ไม่น่าจะเป็นผลจากระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อและแม่ปลา แต่ขึ้นอยู่กับอายุและความสมบูรณ์ของแม่พันธุ์ปลามากกว่า อุ่นจิต (2537) รายงานค่าเฉลี่ยการวางไข่ของปลาการ์ตูนส้มขาวแต่ละครั้งเท่ากับ 876 ฟอง โดยมีจำนวนไข่ต่อครั้งมากที่สุดเท่ากับ 1,827 ฟอง และต่ำสุดเท่ากับ 145 ฟอง และธรรณ (2544) กล่าวว่า แม่พันธุ์ปลาการ์ตูนที่เคยวางไข่มาหลังครั้งแล้ว จะวางไข่ได้ไม่ต่ำกว่า 1,000 ฟองต่อครั้ง แต่ถ้าเป็นแม่พันธุ์ที่เพิ่งโตเต็มวัยเป็นครั้งแรก จะวางไข่ได้ประมาณ 300-500 ฟองต่อครั้ง

อัตราการฟักไข่ (hatching rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่มีอัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 52.03, 73.65, 74.44, 67.82, 79.33 และ 69.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ อติเรก และกมล (2549) พบว่าปลาการ์ตูนส้มขาวมีอัตราการฟักไข่สูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 99.10 และ 30.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 77.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการฟักเฉลี่ยของลูกปลา จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) อัตราการฟักไข่ในครั้งนี้น่าจะเป็นผลจากความสมบูรณ์ของไข่ที่แตกต่างกันของแม่พันธุ์แต่ละตัวมากกว่า ผลของระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ถึงแม้ว่าพ่อแม่ปลาคู่ที่ 1 และคู่ที่ 6 ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเท่ากับ 18.90 และ 38.50 ตามลำดับ และมีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 52.03 และ 69.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราการฟักที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์ปลาคู่อื่น ๆ แต่ก็ไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นอัตราการฟักไข่ในครั้งนี้น่าจะเป็นผลจากปัจจัยอื่น ๆ มากกว่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อและแม่พันธุ์ปลา เช่น อายุของแม่พันธุ์ปลา ความสมบูรณ์ของไข่ และสภาพแวดล้อมในการดูแลไข่ระหว่างการฟัก เป็นต้น

อัตราการตายหลังจากการฟัก (post hatching mortality rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว ภายใน 1 วัน มีอัตราการตายเฉลี่ยเท่ากับ 5.15, 3.79, 6.85, 10.64, 50.86 และ 20.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาของ อติเรก และกมล (2549) พบว่าอัตราการตายหลังจากฟักภายใน 1 ของปลาการ์ตูนส้มขาวสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 53.00 และ 1.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการตายแรกฟักเฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลของระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ถึงแม้ว่าพ่อแม่ปลาคู่ที่ 1 และคู่ที่ 6 ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเท่ากับ 18.90 และ 38.50 ตามลำดับ และมีอัตราการตายหลังจากการฟักเท่ากับ 5.15 และ 20.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราการตายหลังจากการฟักที่ต่ำกว่าเมื่อ

เปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์ปลาอื่น ๆ แต่ก็ไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อัตราการตายหลังจากการฟักของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวภายใน 1 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีผลจากระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลา โดย อุ่นจิต (2537) กล่าวว่า อัตราการตายในช่วง 3 แรกจะสูง เป็นผลเนื่องมาจากลูกปลาที่เกิดจากพ่อแม่ที่ไม่แข็งแรงมักจะอ่อนแอ ไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลง และมักตายหลังจากฟักออกเป็นตัว อีกทั้งการย้ายไข่และการโบกพัดไข่ขณะการฟักไข่ด้วยแรงดันของน้ำ ไข่บางฟองได้รับแรงโบกมากเกินไป อาจเป็นสาเหตุให้อวัยวะบางส่วนของลูกปลาพิการและตายได้

2.2.2 การเจริญเติบโตด้านความยาว

ความยาวสุด (TL) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว เมื่อเริ่มการทดลอง อายุ 1 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.420, 0.428, 0.394, 0.414, 0.419 และ 0.416 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวที่ อายุ 15 วัน มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.976, 1.043, 0.962, 0.926, 0.980 และ 0.931 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวที่ อายุ 45 วัน มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 1.433, 1.625, 1.460, 1.483, 1.605 และ 1.575 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าความยาวสุดเฉลี่ยที่อายุ 1 วัน, 15 วัน และ 45 วัน ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ความยาวของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวในการทดลองครั้งนี้ สอดคล้องกับรายงานของ อุ่นจิต (2537) ที่รายงานว่าความยาวของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 1 วัน มีความยาวสุดได้ประมาณ 0.426 เซนติเมตร และ วรเทพ (2545) รายงานว่าลูกปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 3-4 สัปดาห์ มีขนาดความยาวประมาณ 0.8-1.0 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความยาวสุด (TL) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวที่อายุ 1 วัน, 15 วัน และ 45 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีผลจากระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลา แต่วิธีการดูแลลูกปลาขณะเจริญเติบโต ไม่ว่าจะเป็นการจัดการเรื่องอาหาร หรือคุณภาพน้ำ มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวมากกว่า

2.2.3 อัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน

ผลการศึกษาอัตราการรอดตาย (survival rate) ของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว ที่อายุ 45 วัน จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 88.77, 80.00, 91.65, 85.00, 88.35 และ 87.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน เฉลี่ยของลูกปลาการ์ตูนส้มขาว จากพ่อแม่ปลาแต่ละคู่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อัตราการรอดตายของลูกปลาการ์ตูนส้มขาวที่อายุ 45 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีผลจากระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปลา อันจิต ((2537) รายงานว่าในช่วงแรก ๆ ลูกปลาการ์ตูนส้มขาวจะมีอัตราการตายสูง และลดลงเรื่อย ๆ เมื่อลูกปลาโตขึ้น และจะมีอัตราการตายต่ำกว่า 0.95 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากที่ลูกปลามีอายุ 23 วัน

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการใช้ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ ไพโรมอร์ ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้า ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ ต่อการแสดงออกลักษณะในลูกปลาการ์ตูน ส้มขาว ครั้งนี้ พบว่า

1. ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอไพโรมอร์ที่พัฒนาจากปลาการ์ตูนอานม้า สามารถใช้สังเคราะห์ ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ ในปลาการ์ตูนส้มขาวได้
2. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว ซึ่งรวบรวมมาจากธรรมชาติ พบว่าจากจำนวนพ่อแม่พันธุ์ปลา 6 คู่ มีเพียง 2 คู่ ที่มีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม แต่ยังจัดว่าอยู่ในระดับต่ำ
3. ผลการศึกษาระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว ไม่มีผลต่อการแสดงออกของลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาว ทั้งจำนวนไข่ อัตราการฟักไข่ อัตราการตาย หลังจากการฟักภายใน 1 วัน การเจริญเติบโตด้านความยาว และอัตราการรอดตายที่อายุ 45 วัน

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูน ส้มขาว ไม่มีผลต่อการแสดงออกของลักษณะในลูกปลาการ์ตูนส้มขาว อาจเนื่องจากพ่อแม่พันธุ์ปลา การ์ตูนส้มขาวที่ใช้ในครั้งนี้เป็นปลาที่รวบรวมจากธรรมชาติ และยังมีระดับความสัมพันธ์ทางพันธุ กรรมที่ต่ำ จึงควรมีการศึกษา โดยการนำพ่อแม่พันธุ์ปลาที่มีระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่สูง กว่านี้ โดยการใช้พ่อแม่พันธุ์ปลาที่มีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม เช่น พ่อแม่พันธุ์ที่มาจาก ครอบครัวเดียวกัน หรือมาจากพ่อแม่เดียวกันเดียวกัน เพื่อให้เห็นผลของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ต่อการแสดงออกของลักษณะต่าง ๆ มากกว่าและชัดเจนขึ้นกว่าการศึกษาครั้งนี้ และสามารถนำไปใช้ ประโยชน์ในการจัดการระบบการผสมพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว ต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2547. นวัตกรรมปลาการ์ตูน; การเพาะพันธุ์และการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่เกษตรกร. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 77 น.
- วรฤทธิ เกิดปราง. 2549. การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลาการ์ตูน. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. 120 น.
- วรเทพ มุฑรธรณ. 2545. การเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูน. เอกสารเผยแพร่งานวิจัย. หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยง, สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา. จ. 2/2545. 2 น.
- ธรณ์ ชำรงค์นาวาสวัสดิ์. 2544. ปะปำ ปลาการ์ตูน. แอดวานซ์ไทยแลนด์ จีโอกราฟฟิก. 6(46): 248-290.
- อดิเรก ชูชื่น และ กมล กาญจนไพหาร. 2549. การศึกษาวิธีการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. ตรัง. 31 น.
- อุ้นจิต ปาติยเสวี. 2537. ศึกษาพฤติกรรมการวางไข่และการเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนส้มขาว (False Clown Anemonefish, *Amphiprion ocellaris*). ใน : รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537, กรมประมง, กรุงเทพมหานคร. น. 393-412.
- Kim, S.G., K. Morishima and K. Arai. 2009. Cross-species amplification of microsatellite markers for brown sole in the family Pleuronectidae. Fish. Sci. 75:1103-1107.
- Koedprang, W., U. Na-nakorn, M. Nakajima and N. Taniguchi. 2007. Evaluation of genetic diversity of eight grouper species *Epinephelus* spp. Based on microsatellite variations. Fish. Sci. 73:227-236.
- Lieske, E. and R. Myers. 2001. Reef Fishes of The World. Berkeley Books, Singapore. 400 p.
- Mitchell, J. 2005. Queue selection and switching by false clown anemone fish, *Amphiprion ocellaris*. Animal Behaviour 69:643-652.
- Queller, D.C. and K. F. Goodnight. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. Evolution 43:258-275.

- Quenouille, B., Y. Bouchenak-Khelladi, C. Hervet and S. Planes. 2004. Eleven microsatellite loci for the saddleback clownfish *Amphiprion polymnus*. *Molecular Ecology Notes* 4:291-293.
- Sugaya, T., M. Ikeda and N. Tahiguchi. 2002. Relatedness structure estimated by microsatellites DNA polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms analyses in the wild population of kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Fish. Sci.* 68:793-802.