



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาสถานภาพงานวิจัยในประเทศไทยเกี่ยวกับ
การใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ

โดย ศาสตราจารย์ ดร. อุทัยรัตน์ ณ นคร

กันยายน 2543

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาสถานภาพงานวิจัยในประเทศไทยเกี่ยวกับ การใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ

ผู้วิจัย

สังกัด

ศาสตราจารย์ ดร. อุทัยรัตน์ ณ นคร

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

คณะประมง

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

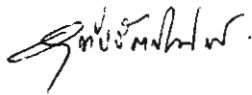
ชุดโครงการอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านที่ได้กรุณากรอแบบสอบถามและมอบ reprint ผลงาน ดิฉันได้รับความอนุเคราะห์เป็นอย่างดีในการเยี่ยมชมหน่วยงาน 3 แห่งคือ สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และห้องปฏิบัติการ Cryopreservation และ chromosome-set manipulation ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงใคร่ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ผู้ที่จะมีเสียไม่ได้ คือ นิสิตปริญญาโท ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์สัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ช่วยค้นข้อมูล ตลอดจนเตรียมตารางบางส่วน

ขอขอบคุณ คุณพิไลลักษณ์ พันธุ์ประพันธ์ และคุณศรีจรรยา สุขมนโนมนต์ ผู้พิมพ์รายงานฉบับนี้



(ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร)

20 กันยายน 2543

สารบัญ

คำนำ	1
1.1 ความหมายของเทคโนโลยีชีวภาพ	1
1.2 ขอบเขตและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
วิธีการศึกษา	3
ผลการศึกษา	4
1. สถานภาพการวิจัยด้านพันธุวิศวกรรม	4
1.1 หลักการของการถ่ายยีน	4
1.2 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย	5
1.3 ข้อเสนอแนะ	7
1.4 กลุ่มผู้วิจัย	7
1.5 เอกสารอ้างอิง	9
2. สถานภาพการวิจัยด้านการจัดการชุดโครโมโซม	11
2.1 การเหนี่ยวนำ polyploidy	11
2.1.1 ประโยชน์ของ polyploid	11
2.1.2 หลักการในการเหนี่ยวนำ polyploid	12
2.1.3 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย	12
2.1.4 ข้อเสนอแนะ	16
2.1.5 กลุ่มผู้วิจัย	17
2.2 การเหนี่ยวนำ gynogenesis และ androgenesis	18
2.2.1 ประโยชน์ของ gynogenesis/androgenesis	18
2.2.2 หลักการในการเหนี่ยวนำ gynogenesis/androgenesis	19
2.2.3 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย	20
2.2.4 ข้อเสนอแนะ	23
2.2.5 กลุ่มผู้วิจัย	23
2.3 เอกสารอ้างอิง	25
3. สถานภาพการวิจัยด้านการศึกษา Karyotypes	30
3.1 ความหมายและประโยชน์	30
3.2 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย	30
3.2.1 จำนวนชนิดที่ศึกษา	30

3.2.2	เทคนิคที่ใช้	43
3.2.3	คุณภาพของรายงาน	43
3.2.4	ข้อเสนอแนะ	43
3.2.5	กลุ่มผู้วิจัย	44
3.3	เอกสารอ้างอิง	46
4.	สถานภาพการวิจัยด้านการควบคุมเพศ	53
4.1	หลักการ	53
4.1.1	การใช้ฮอร์โมนแปลงเพศ	53
4.1.2	เทคโนโลยี super male (YY male) และ neomale (XX male)	53
4.2	สถานะภาพการศึกษาในประเทศไทย	54
4.2.1	การใช้ฮอร์โมนแปลงเพศ	54
4.2.2	เทคโนโลยี supermale และ neomale	54
4.2.3	การตีพิมพ์ผลงาน	55
4.3	ข้อเสนอแนะ	59
4.4	กลุ่มผู้วิจัย	59
4.5	เอกสารอ้างอิง	61
5.	สถานภาพการวิจัยด้านเก็บรักษาน้ำเชื้อ/ตัวอ่อน	63
5.1	หลักการ	63
5.2	สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย	64
5.3	ข้อเสนอแนะ	68
5.4	กลุ่มผู้วิจัย	68
5.5	เอกสารอ้างอิง	69
6.	ภาคผนวก	72
6.1	ตารางสรุปข้อมูลผลการสืบค้นเอกสาร สิ่งตีพิมพ์	73
6.2	แบบสอบถามที่ใช้ในการสำรวจข้อมูล	74
6.3	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานทางพันธุศาสตร์สัตว์น้ำ	76
6.4	ภาพการเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการต่าง ๆ	79

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานทางพันธุวิศวกรรม และ/หรือ วางแผนที่จะดำเนินการในอนาคต	7
ตารางที่ 2	สรุปผลการเหนี่ยวนำ polyploid ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย	14
ตารางที่ 3	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการเหนี่ยวนำ polyploid และงานวิจัยที่จะดำเนินการในอนาคต	17
ตารางที่ 4	สรุปผลการเหนี่ยวนำ gynogenesis และ androgenesis ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย	21
ตารางที่ 5	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการเหนี่ยวนำ gynogenesis / androgenesis และงานวิจัยที่จะดำเนินการในอนาคต	24
ตารางที่ 6	สรุปผลการศึกษา karyotype ในสัตว์น้ำ สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดในประเทศไทย	31
ตารางที่ 7	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการศึกษา karyotype ของสัตว์น้ำและ งานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป (ในสัตว์น้ำ)	44
ตารางที่ 8	ผลการแปลงเพศโดยใช้ฮอร์โมนเฉพาะการทดลองที่ทำใน ประเทศไทย	56
ตารางที่ 9	รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการควบคุมเพศในปลาและงานวิจัยที่ กำลังจะดำเนินการในอนาคต	60
ตารางที่ 10	molarity ของ electrolyte อนินทรีย์, osmolality (mOsmol/kg) และความเป็นกรด-ด่างของ blood serum และ seminal plasma ของปลาบึกและปลาสวาย (Mongkonpunya และคณะ, 2000b)	65

การศึกษสถานภาพงานวิจัยในประเทศไทยเกี่ยวกับการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ

คำนำ

เทคโนโลยีชีวภาพได้เข้ามามีบทบาทอย่างสูงในการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์ในศตวรรษที่ผ่านมา และคาดว่าจะยังคงมีความสำคัญอย่างต่อเนื่อง ในศาสตร์ของการปรับปรุงพันธุ์ก็เช่นเดียวกัน เทคโนโลยีชีวภาพได้เปิดมิติใหม่ของการปรับปรุงพันธุ์ ที่มนุษย์จะสามารถนำความรู้ในสาขาต่าง ๆ อาทิ ชีวเคมี เซลพันธุศาสตร์ อนุพันธุศาสตร์ ฯลฯ มาผสมผสานและประยุกต์ใช้นอกเหนือจากวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม เป็นผลให้มีทางเลือกในการปรับปรุงพันธุ์หลากหลายขึ้น และ/หรือเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีการดั้งเดิม ประการสำคัญ คือ มนุษย์จะสามารถสร้างสายพันธุ์ที่มีลักษณะตามที่ต้องการได้โดยแทบจะไม่มีขีดจำกัด

1.1 ความหมายของเทคโนโลยีชีวภาพ

อย่างไรก็ตามคำว่า เทคโนโลยีชีวภาพมีความหมายกว้างมากและยังเป็นข้อถกเถียงกันอยู่ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน Prave และคณะ (1987)^{1/} ให้คำจำกัดความว่า “the use of biological process within the framework of technical operations and industrial production”

The United States Office of Technology Assessment ให้คำจำกัดความคำว่า เทคโนโลยีชีวภาพว่า “those techniques that use living organisms to make or modify products, to improve plants or animals, or to develop microorganisms for specific uses” (Savage และคณะ, 1993)^{2/}

^{1/} Prave, P., U. Faust, W. Sitting and D.A. Sukatsch (eds) 1987. Fundamentals of Biotechnology. Akademische Verlagsgesellschaft, Germany.

^{2/} Savage, E.N., A.G. Rossner and G.D. Finks. 1993. Bio-Related Technology. Delmar Publishers Inc., New York.

ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พยายามทำให้ความหมายของเทคโนโลยีชีวภาพแคบลง โดยแบ่งเทคโนโลยีชีวภาพออกเป็น 2 ประเภท คือ “traditional biotechnology” ซึ่งหมายถึงวิธีการดั้งเดิมที่ใช้กันมานานนับศตวรรษในการผลิตเบียร์ ไวน์ เนยแข็ง และอาหารอื่นๆ ส่วน “new biotechnology” หมายถึง “วิธีการทุกวิธีในการดัดแปลงพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค DNA สายผสมและการเชื่อมเซลล์ รวมถึงพัฒนาการสมัยใหม่ของกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพแบบดั้งเดิม” (all method of genetic modification by recombinant DNA and cell fusion techniques, together with the modern developments of traditional biotechnological processes) (Smith, 1996)^{3/}

1.2 ขอบเขตและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

รายงานฉบับนี้ มีขอบเขตของการศึกษาคครอบคลุม การปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำโดยวิธีการนอกเหนือจากวิธีดั้งเดิม (การตัดพันธุ์และระบบการผสมพันธุ์) และรวมถึงเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องหรือเป็นส่วนหนึ่งของวิธีการ อาทิ การศึกษา karyotypes และการแปลงเพศโดยใช้ฮอร์โมน เป็นต้น ทั้งนี้โดยจะครอบคลุมเฉพาะการศึกษาที่ทำในประเทศไทย

การศึกษาคครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะรวบรวมสถานภาพการศึกษาวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ โดยวิธีเทคโนโลยีชีวภาพตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน แยกแยะปัญหา หาแนวทางแก้ไข และจัดทำข้อเสนอแนะแก่ สกว. ต่อไป

^{3/} Smith, J.E. 1996. Biotechnology (3 ed.). Cambridge University Press, Cambridge.

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาโดยการสืบค้นข้อมูลจากวารสารวิชาการ วิทยานิพนธ์ รายงานของหน่วยงาน และรายงานที่เสนอต่อแหล่งทุน จำนวนเอกสารทั้งสิ้น 112 ฉบับ โดยมีรายละเอียดเอกสารจำแนกตามประเภทดังแสดงในภาคผนวกที่ 1 นอกจากนั้นยังได้ส่งแบบสอบถาม (ภาคผนวกที่ 2) เพื่อขอข้อมูลการวิจัยที่กำลังดำเนินการจากนักวิจัยทั่วประเทศจำนวน 28 ราย (ภาคผนวกที่ 3) และในขั้นสุดท้ายได้เดินทางไปสัมภาษณ์ และเยี่ยมห้องปฏิบัติการที่มีผลงานเด่นในสาขาต่าง ๆ 4 แห่ง ดังต่อไปนี้

1. ห้องปฏิบัติการ cryopreservation และ chromosome-set manipulation
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการ รศ.ดร.กฤษณ์ มงคลปัญญา
2. ห้องปฏิบัติการ DNA Technology
สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ
กรมประมง
ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการ/ผู้อำนวยการสถาบัน ฯ ดร.นวลมณี พงศ์ธนา
3. สถาบันอนุชีววิทยาและพันธุศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้อำนวยการ ศาสตราจารย์ ดร.สกล พันธุ์ยิ้ม
4. ห้องปฏิบัติการ พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ
ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการ ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร

(ภาคผนวกที่ 4)

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาจำแนกตามหัวข้อต่าง ๆ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. สถานภาพการวิจัยด้านพันธุวิศวกรรม

การปรับปรุงพันธุ์ โดยวิธีการทางพันธุวิศวกรรมได้เข้ามามีบทบาทในพืชและสัตว์กว่า 20 ปีมาแล้ว ในปลานั้นได้มีการศึกษาในเรื่องนี้อย่างกว้างขวางโดยมีการถ่ายยีนสำเร็จในปลาอย่างน้อย 35 ชนิด เช่น ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) channel catfish (*Ictalurus punctatus*) Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp) ในปัจจุบันมีปลาแปลงยีนที่พร้อมจะเลี้ยงเป็นการค้าได้แล้วหลายชนิด เช่น Atlantic salmon (*Salmo salar*) ซึ่งได้รับ growth hormone gene จาก Pacific chinook salmon (*O. tshawytscha*) ผลิตโดยเอกชนในประเทศแคนาดา และปลา rainbow trout (*O. mykiss*)

เมื่อนาคคทางการค้าของปลาแปลงยีนจะยังไม่แน่นอน เนื่องจากสาธารณชนเกรงว่าจะมีผลกระทบด้านลบต่อระบบนิเวศและผู้บริโภค (จนถึงกับเรียกปลาแปลงยีนนี้ว่า “Frankenfish”) เช่น ปลาแปลงยีนอาจแพร่ยีนแปลกปลอมไปสู่ปลาในธรรมชาติเมื่อเกิดการผสมพันธุ์ หรืออาจจะแย่งอาหารปลารรรมชาติจนต้องสูญพันธุ์ไปในที่สุด ทั้งนี้เพราะพบว่าปลาแปลงยีนกินอาหารมากกว่าปลารรรมดา ความจำเป็นทางเศรษฐกิจอาจเป็นปัจจัยบังคับให้มีการเลี้ยงปลาแปลงยีนเป็นการค้า เนื่องจากมีผลตอบแทนมากกว่าเพราะปลาแปลงยีนเจริญเติบโตดีกว่าปลาปกติหลายเท่า ดังนั้นประเทศไทยจึงไม่ควรละเลยการศึกษาในแขนงนี้

1.1 หลักการของการถ่ายยีน

การถ่ายยีนอาศัยหลักการของการตัดต่อยีนโดยตัดต่อยีนโครงสร้างที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการ อาทิ growth hormone gene, disease resistance gene เข้ากับยีน promotor จากนั้นก็นำไปเพิ่มจำนวนโดยการ clone โดยใช้เทคนิคมาตรฐานทาง molecular genetics แล้วนำยีนที่โคลนได้ไปสอดใส่เข้าไปปลาที่ปฏิสนธิแล้ว จากนั้นก็ต้องตรวจสอบต่อไปว่ายีนใหม่นี้ได้สอดแทรกเข้าสู่จีโนมของปลาแปลงยีน หรือไม่ ยีนนั้นสามารถแสดงออกได้หรือไม่ และยีนนั้นสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้หรือไม่ ลักษณะต่าง ๆ ของปลาแปลงยีนเป็นอย่างไร ขั้นตอนต่าง ๆ เหล่านี้อาจต้องใช้เวลานานับ 10 ปี จึงจะได้สายพันธุ์ปลาแปลงยีนที่อยู่ตัว

1.2 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย

1.2.1 การ clone ยีนจากสัตว์น้ำ

ในการถ่ายยีนนั้น แม้จะสามารถใช้ยีนจากสัตว์ประเภทใดก็ได้ แต่พบว่าการใช้ยีนของสัตว์หรือสิ่งมีชีวิตต่างกลุ่มจะยิ่งเพิ่มความกังวลให้แก่ผู้บริโภคมมากขึ้น จึงควรใช้ยีนจากปลาเพื่อถ่ายเข้าสู่ปลาด้วยกัน ยีนจากปลานั้นได้มีการ clone ได้มากมาย ซึ่งได้ทดลองนำมาใช้เป็นยีนโครงสร้างเป็นส่วนใหญ่ แต่ก็มียีน เช่น antifreeze gene จากปลา winter flounder พบว่านำมาใช้เป็น promotor ได้ดี

ในประเทศไทยนั้นสามารถ clone gene ของสัตว์น้ำได้บ้างแล้ว เช่น

(1) cDNA ของ growth hormone gene ของปลานิล (gc GH cDNA) (Lemaire และคณะ, 1994) ซึ่งพบว่าแสดงออกได้ใน *E. coli* (Promdonkoy, 1993 ; Svasti และคณะ, 1998) และ Cyanobacteria (Svasti, 1998) ในยีสต์ *Pichia pastoris* (Bangrak, 1999) และในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Piyawiriyakul, 1999)

(2) growth hormone gene ของปลาดุกเทศขาว ซึ่ง express ได้ใน *E. coli* (Warit, 1992)

(3) cDNA ของยีนในกลุ่ม CHH/MIH/GIH ในกึ่งกุลาดำ (Udomkit และคณะ, 2000)

นอกจากนั้น ยังมีการหาลำดับ clone และ sequence ยีนของกึ่งกุลาดำอีกหลายยีน (Boonchuoy และคณะ, 1999 ; Boonyawan, 1999 ; Wongsantichon, 1999) โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะเก็บเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป ตัวอย่างยีนที่ clone และ sequence แล้ว เช่น cDNA ของ phosphopyruvate hydratase (enolase) (Boonchuoy และคณะ, 1999) และในขณะนี้ สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์มี sequence ของ cDNA ประมาณ 500 sequences (บุรชัย, การติดตามต่อส่วนตัว) ทั้งนี้โดยมีเป้าหมายหลักในการศึกษา signal transduction

1.2.2 การทดลองถ่ายยีน

ในประเทศไทยมีการทดลองถ่ายยีนเพียง 1 การทดลอง โดยในปี 2538 สุรินทร์ (2538) ได้ทดลองถ่าย cDNA ของยีนควบคุมการสร้าง growth hormone ของคน (hGH) เข้าสู่ไข่ปลาดุกที่ผสมกับน้ำเชื้อแล้ว โดยใช้ mouse Methylothionin-I (mMT-I) เป็นยีน promotor การถ่ายยีนทำโดยวิธี microinjection เข้าสู่ blastomere ของคัพภะระยะ 1 หรือ 2 หรือ 4 เซลล์ ปลาดุกที่ได้รับการถ่ายยีนมีอัตราการฟัก 26-31 % อัตรารอด 34-52 % ปลาที่ได้รับการถ่ายยีนในระยะ 1 หรือ 2 เซลล์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุม สามารถตรวจพบยีนใหม่ในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาดุกถ่ายยีน โดยพบว่าเป็น mosaic

อย่างไรก็ตาม นับตั้งแต่ปี 2538 ยังไม่เคยมีการทดลองถ่ายยีนอีกเลย ทั้ง ๆ ที่ในระยะหลังได้มีการ clone ยีนควบคุมการเจริญเติบโตจากปลาได้ โดยเฉพาะปลานิลซึ่งเป็นปลาที่มี

ขนาดใหญ่ และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงมาก จึงน่าจะมีศักยภาพในการปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตของปลาชนิดอื่น ๆ

ข้อสังเกตประการหนึ่งที่ได้จากผลการทดลองคือ มีความแปรปรวนของอัตราพักและอัตราการอดมาก ซึ่งอาจเกิดจากผู้ทดลองขาดความชำนาญในการเพาะเลี้ยงปลา ปัจจัยเหล่านี้มีผลอย่างยิ่งต่ออัตราการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้สรุปผลคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง สิ่งนี้เป็นข้อเตือนใจว่า การทดลองในเรื่องนี้ต้องอาศัยความร่วมมืออย่างใกล้ชิด ระหว่างนัก molecular genetics และนักเพาะเลี้ยง

1.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ

ปรานีต (2541) ได้ทำการแยกเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ในกึ่งก้ามกราม สามารถแยกเซลล์ดังกล่าวได้โดยใช้วิธี percoll discontinuous gradient เซลล์สามารถนำไปเลี้ยงในอาหาร Dulbecco modified Eagle's medium ที่มี 15 % fetal calf serum ได้ถึง 72 ชั่วโมง แต่ไม่เพิ่มจำนวนเซลล์ การ transfection เซลล์ต้นกำเนิด ฯ นี้เข้าสู่ศัพพะระยะต้นยังได้ผลไม่ดี ส่วนการทดลองเพาะเลี้ยงศัพพะแบบ *in vitro* ยังอยู่ในระยะเริ่มต้น การถ่ายยีนโดยถ่ายผ่านเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ หากทำได้สำเร็จจะปรับปรุงประสิทธิภาพของการถ่ายยีนได้

1.2.4 การตีพิมพ์ผลงาน

ในแง่การตีพิมพ์ผลงาน พบว่า ผลงาน 31 % (4 เรื่อง) ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ส่วนที่เหลือ 61 % เป็นวิทยานิพนธ์ (8 เรื่อง) และ 8 % (1 เรื่อง) เป็นรายงานการวิจัย

กล่าวโดยสรุปว่า งานด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ โดยวิธีการทางพันธุวิศวกรรมยังล่าช้ากว่าการศึกษาในพืชอยู่มาก โดยในพืชนั้น มีพืชแปลงยีนที่เป็นผลงานของนักวิทยาศาสตร์ไทยอยู่หลายชนิด เช่น มะละกอ และพริก ความล่าช้านี้ไม่ได้มีสาเหตุจากเทคโนโลยี เพราะเทคโนโลยีที่ใช้ก็มีหลักการเช่นเดียวกับการถ่ายยีนในพืช แต่น่าจะเกิดจากยังขาดความรู้พื้นฐาน อาทิ ความรู้พื้นฐานของจีโนมของสัตว์น้ำ และ gene expression เป็นต้น

1.3 ข้อเสนอแนะ

1.3.1 แม้ว่ากระแสความกังวลเรื่องผลกระทบของ Genetically Modified Organisms (GMOs) ต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภคยังคงมีอยู่ แต่ก็ไม่ใช่เหตุผลที่ต้องยุติการศึกษาการถ่ายยีนลงอย่างสิ้นเชิง แต่ควรจะนำกระแสดังกล่าวมาเป็นประเด็นหนึ่งที่ต้องพิจารณาในการวางแผนการศึกษาไปพร้อมๆ กับการสร้างมาตรการควบคุมผลกระทบที่อาจจะเกิดจาก GMOs เช่น ควรจะรวมวิธีการทำ GMOs ให้เป็นหมั่นไว้ในโครงการ เป็นต้น

1.3.2 วัตถุประสงค์ของโครงการถ่ายยีน ควรจะเป็นการทำเพื่อแก้ปัญหาที่ค่อนข้างรุนแรง (เช่นปัญหาโรคระบาดที่แก้ไขโดยวิธีอื่นๆ ยาก, ผู้เรียบเรียง) (สกล, การติดต่อส่วนตัว) ทั้งนี้ เพราะเป็นเทคนิคที่มีราคาแพง นอกจากนั้นความจำเป็นในการแก้ปัญหามักช่วยให้สังคมคลายความรังเกียจ GMOs ลง

1.3.3 ควรให้โอกาสการศึกษาเรื่องการถ่ายยีน เพื่อเป็นการศึกษาการควบคุมการแสดงออกของยีนใน *in vivo*

1.3 กลุ่มผู้วิจัย

กลุ่มนักวิจัยที่มีผลงานด้านพันธุวิศวกรรมของสัตว์น้ำอย่างต่อเนื่องคือ สถาบันอนุชีววิทยาและพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นอกจากนั้นยังมีสถาบันอื่นๆ สนใจที่จะทำการศึกษา ด้านนี้บ้าง ดังมีรายละเอียดใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายนามนักวิจัยที่มีผลงานทางพันธุวิศวกรรม และ/หรือ วางแผนที่จะดำเนินการ ในอนาคต

สถาบัน	นักวิจัย	สัตว์ที่ศึกษา	งานวิจัยที่กำลังจะดำเนินการ
สถาบันวิจัยอนุชีววิทยา และพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	ศ.ดร.สกล พันธุ์ยิ้ม ผศ.ดร.บุรชัย สอนยานนท์ อ.ดร.อภิรักษ์ อุดมกิจ	ปลาน้ำจืด, ปลาดุก, ปลานิล ขาว กุ้งกุลาดำ	ยีนควบคุมกลุ่มฮอร์โมนในด้าน signal transduction ในกุ้งกุลาดำ
	ดร.ลลิตา เอื้อวิไลจิตร (นักวิจัยสังกัดสำนักงาน พัฒนาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งชาติ)	สัตว์น้ำ	Expression ของยีน ระบบ expression ต่างๆ
ภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล	รศ.ดร.ประณีต ดำรงผล	กุ้งก้ามกราม	

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สถาบัน	นักวิจัย	สัตว์ที่ศึกษา	งานวิจัยที่กำลังจะดำเนินการ
สถาบันวิจัยและพัฒนา พันธกรรมสัตว์น้ำ	ดร.นวลมณี พงศ์ธนา นายคงภพ อ่ำพลศักดิ์	ปลาดุกอุย	การถ่ายยีน*
ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	รศ.ดร. อัญชลี ทัศนชาจร	กิ้งกูดดำ	Anti-bacterial peptides และ Proteinase inhibitors

หมายเหตุ : * มีเครื่องมือพร้อมแต่ยังขาดความชำนาญ

1.5 เอกสารอ้างอิง

- บุรชัย สอนยานนท์. สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, ศาลายา. การติดต่อส่วนตัว.
- * ปราณิต ดำรงผล. 2541. การย้ายเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์สืบพันธุ์ในกุ้งก้ามกรามเพื่อนำไปสู่การถ่ายโอนยีน. รายงานการวิจัยได้รับทุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ปี 2538-2541). 37 หน้า.
- สกล พันธุ์ยิ้ม. สถาบันอณูชีววิทยาและพันธุศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, ศาลายา. การติดต่อส่วนตัว.
- * สุรินทร์ บุญอนันตสาร. 2538. การถ่ายยีนส์เร่งการเจริญเติบโตเข้าสู่ไข่ของปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ที่ได้รับการผสมแล้วโดยวิธีไมโครอินเจกชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- * Bangrak, P. 1999. Expression and secretion of giant catfish growth hormone in methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- * Boonchuoy, C., B. Boonyawan, S. Panyim and B. Sonthayanon. 1999. A cDNA sequence of phosphopyruvate hydratase (enolase) from black tiger prawn, *Penaeus monodon*. As. Pac. J. Molec. Biol. Biotechnol., 7(1) : 89-94.
- * Boonyawan, B. 1999. Sequence characterization of randomly isolated cDNA from black tiger prawn (*Penaeus monodon*). M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- * Lemaire, C., S. Warit and S. Panyim. 1994. Giant catfish *Pangasianodon gigas* growth hormone-encoding cDNA : cloning and sequencing by one-sided polymerase chain reaction. Gene 149 : 271-276.
- * Piyawiriyakul, P. 1999. Production of whole yeast cells containing a high level of intracellular expression of giant catfish growth hormone. M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- * Promdonkoy, B. 1993. A high level expression of biologically active fish growth hormone in *Escherichia coli*. M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.

- * Svasti, S. 1998. Studies on expression of giant catfish (*Pangasianodon gigas*) growth hormone gene in *Escherichia coli* and cyanobacteria. Ph.D. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- * Svasti, S., W. Chungjatupornchai and S. Panyim. 1998. Influence of the mRNA structures on the expression of a giant catfish *Pangasianodon gigas* growth hormone gene in *E. coli*. As. Pac. J. Molec. Biol. Biotechnol. 6 : 21-27.
- * Udomkit, A., S. Chooluck, B. Santhayanon and S. Panyim. 2000. Molecular cloning of a cDNA encoding a member of CHH/MIH/GIH family from *Penaeus monodon* and analysis of its gene structure. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 244 : 145-156.
- * Warit, S. 1992. Cloning and expression of *P. gonionotus* growth hormone cDNA in *E. coli* by the polymerase chain reaction (PCR) method. M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- * Wongsantichon, J. 1999. cDNA library construction and nucleotide sequence characterization of selected cDNA clones from hemocytes of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.

หมายเหตุ : * งานวิจัยที่ทำในประเทศไทย

2. สถานภาพการวิจัยด้านการจัดการชุดโครโมโซม

การจัดการชุดโครโมโซมในสัตว์น้ำหมายถึงการเหนี่ยวนำให้สัตว์น้ำมีจำนวนชุดหรือลักษณะของชุดของโครโมโซมเปลี่ยนแปลงไปจากธรรมชาติ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ การเหนี่ยวนำ polyploidy และการเหนี่ยวนำ gynogenesis หรือ androgenesis ซึ่งเป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดคัพภะโดยปราศจากการปฏิสนธิ สัตว์น้ำที่ได้ก็จะมีโครโมโซมที่ได้รับจากแม่หรือพ่อเท่านั้น

2.1 การเหนี่ยวนำ polyploidy

2.1.1 ประโยชน์ของ polyploid

นักวิทยาศาสตร์สนใจที่จะเหนี่ยวนำ polyploidy ในสัตว์น้ำ โดยคาดหวังประโยชน์ 3 ประการ คือ

(1) เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตก่อนวัยเจริญพันธุ์ สัตว์น้ำ polyploid อาจจะมีการเจริญเติบโตดีกว่า diploid เนื่องจากชุดของโครโมโซมและขนาดของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาในรอบ 20 ปีที่ผ่านมา พบว่ามีรายงานเพียง 2 ฉบับ ที่แสดงว่าปลา triploid มีอัตราการเจริญเติบโตก่อนระยะเจริญพันธุ์ดีกว่า diploid เป็นรายงานในปลา blue tilapia (*Oreochromis aureus*) (Valenti, 1975) และปลา European catfish (*Silurus glanis*) (Krasznai และ Marian, 1986) ส่วนในหอยนางรม (*Cassostrea gigas*) และหอยมุก (*Pinctada martensii*) พบว่า triploid เจริญเติบโตดีกว่า diploid แม้ในระยะก่อนการเจริญพันธุ์ (Stanley และคณะ, 1984 ; Jiang และคณะ, 1993)

(2) เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตหลังวัยเจริญพันธุ์ สัตว์น้ำ triploid จะเป็นหมัน จึงน่าจะมีการเจริญเติบโตหลังวัยเจริญพันธุ์ดีกว่า diploid เนื่องจากไม่ต้องใช้พลังงานไปในการสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาในปลาและหอยอย่างน้อย 14 ชนิด พบว่ามีเพียง 4 ชนิด ที่มีรายงานว่า triploid มีการเจริญเติบโตหลังวัยเจริญพันธุ์ดีกว่า diploid (อุทัยรัตน์, 2543) อนึ่ง ในเรื่องความเป็นหมันนั้น การศึกษาส่วนใหญ่จะพบว่า triploid เพศผู้มักจะสร้าง gamete ได้บ้าง ในขณะที่เพศเมียเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ (Lincoln และ Scott, 1984 ; Kavumpurath และ Pandian, 1992 ; Koedprang and Na-Nakorn, 2000)

(3) เพื่อสร้างปลา tetraploid ซึ่งเมื่อนำมาผสมกับ diploid จะได้ปลา triploid ที่ไม่ผ่านการช็อค ทั้งนี้เพราะพบว่าในปลาบางชนิด เช่น perch (*Perca flavescens*) ซึ่ง triploid เจริญเติบโตช้ากว่า diploid ชุดควบคุม แต่พบว่าปลาที่ผ่านการช็อคแต่ยังคงเป็น diploid ก็เจริญเติบโตช้าเช่นกัน (Malison และคณะ, 1993) ผู้วิจัยจึงสันนิษฐานว่าการที่ปลา triploid เจริญเติบโตช้ากว่าที่

ควร อาจมีสาเหตุมาจากการสร้าง heat shock protein ซึ่งปลาสรางขึ้นเนื่องจากการถูกช็อค ดังนั้น การสร้าง triploid โดยการนำพ่อ-แม่ tetraploid มาผสมกับ diploid น่าจะเป็นทางออกที่ดี

2.1.2 หลักการในการเหนี่ยวนำ polyploidy

Polyploid สามารถเหนี่ยวนำได้โดยการยับยั้งการกำจัด polar body หรือการยับยั้ง การแบ่งเซลล์ครั้งแรกของ zygote ซึ่งจะให้ polyploid ต่างชนิด โดยการช็อคแบบแรกจะได้ triploid ($3n$) และแบบที่สองจะให้ tetraploid ($4n$) ดังนั้น จึงจำเป็นต้องเริ่มการช็อคในเวลาที่เหมาะสม (กำหนดโดยนับระยะเวลาตั้งแต่ไข่ผสมกับเชื้อตัวผู้จนถึงเวลาเริ่มช็อค)

การช็อคอาจทำได้โดยการใช้อุณหภูมิสูง อุณหภูมิต่ำ แรงดันน้ำ (ระดับสูง) และแช่ใน สารเคมีหรือแก๊สบางประเภท ซึ่งจากการเปรียบเทียบพบว่า การช็อคด้วยความดันจะได้ผลดีกว่า และ แน่นนอนกว่าการช็อคด้วยอุณหภูมิ แต่การช็อคด้วยอุณหภูมิเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด เพราะไม่ ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ และได้ผลอยู่ในเกณฑ์ดี เพียงแต่เปอร์เซ็นต์การเกิด polyploid จะค่อนข้างผัน แปร การช็อคด้วยสารเคมีและแก๊สนิยมใช้กับหอย (อุทัยรัตน์, 2543)

จากผลการศึกษาที่ทำกันทั่วโลก พบว่า polyploid ที่เหนี่ยวนำสำเร็จแทบทั้งหมด เป็น triploid ทั้งนี้เพราะการยับยั้งการแบ่งเซลล์ครั้งแรกของ zygote ทำได้ยากมาก ในปัจจุบัน triploid หลายชนิดได้ถูกนำมาเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในต่างประเทศ เช่น rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) หอยนางรม (*Crassostrea gigas*) ส่วนปลาฉลาม (*Ctenopharyngodon idellus*) นั้นในสหรัฐอเมริกา นิยมเลี้ยงไว้กำจัดวัชพืช โดยมีข้อบังคับให้เลี้ยงเฉพาะปลา triploid เพื่อจำกัดการขยายพันธุ์

2.1.3 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย

ในประเทศไทยนั้น นักวิทยาศาสตร์ได้ให้ความสนใจที่จะนำเทคนิคนี้มาช่วยเพิ่มผล ผลิตในปลา (3 ชนิด) และหอย (3 ชนิด) โดยมีภาพรวมในประเด็นต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.1.3.1 วัตถุประสงค์

(1) การเจริญเติบโต การศึกษาส่วนใหญ่ต้องการปลา/หอย triploid ที่มี อัตราการเจริญเติบโตดีกว่า diploid เช่น ในปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) (Na-Nakorn และ Lakhaanantakun, 1993 ; Fast และคณะ, 1995) ซึ่งพบว่าได้ผลการศึกษาต่างกัน ในการ ทดลองแรกนั้น ปลา triploid และ diploid เจริญเติบโตไม่ต่างกัน ส่วนในการทดลองหลังนั้น triploid เจริญเติบโตช้ากว่าและอัตราการรอดต่ำกว่า diploid ส่วนความต้านทานโรค อัตราแลกเนื้อ (food conversion ratio) และเปอร์เซ็นต์ซากไม่แตกต่างกัน (ศึกษาในปลาอายุ 9 เดือน)

ในปลาตะเพียนขาว, *Puntius gonionotus* (Koedprang และ Na-Nakorn, 2000) พบว่าปลา triploid มีอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดและเปอร์เซ็นต์ซากไม่แตกต่างกับปลา diploid

ทั้ง ๆ ที่ปลา triploid เป็นหมัน ส่วนปลาไน, *Cyprinus carpio* พบว่า triploid มีอัตราการเจริญเติบโต (จนถึงอายุ 6 สัปดาห์) ต่ำกว่า diploid (Thanh, 1988)

ส่วนการศึกษาในหอยนั้น ยังอยู่ในระยะเริ่มต้น ยังไม่มีการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่าง triploid กับ diploid อย่างจริงจัง อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าในหอยนางรมปากจับ การเจริญเติบโตจนถึง 6 เดือนของ triploid และ diploid ไม่แตกต่างกัน (จินตนา, 2538)

(2) เพื่อปรับปรุงลักษณะบางลักษณะ

หากเหนี่ยวนำ triploid ในลูกผสมระหว่างปลาต่างชนิด จะได้ allotriploid ซึ่งมีโครโมโซมจากชนิดแม่ 2 ชุด และจากชนิดพ่อ 1 ชุด allotriploid นี้จะมีลักษณะคล้ายชนิดแม่มากขึ้น

ชงโค (2538) ได้เหนี่ยวนำ triploidy ในการผสมระหว่างไข่ปลาดุกอุยกับน้ำเชื้อปลาดุกยักษ์ ซึ่งลูกผสม (diploid) ระหว่างปลา 2 ชนิดนี้ (หรือที่นิยมเรียกกันว่า บิ๊กอุย) นิยมเลี้ยงกันแพร่หลายในประเทศไทย เพราะสามารถแก้ปัญหาโตช้า และไม่ต้านทานโรค ให้เกษตรกรที่เคยเลี้ยงปลาดุกอุยได้ แต่อย่างไรก็ตามลักษณะของเนื้อปลายังดีไม่เท่าปลาดุกอุย จากการทดลองพบว่า ปลา triploid และ diploid ไม่แตกต่างกันในคุณสมบัติต่าง ๆ คือ การเจริญเติบโต ปริมาณ carotenoid ในเนื้อปลา และการยอมรับของผู้บริโภคโดยการชิม

(3) เพื่อป้องกันการขยายพันธุ์

การเหนี่ยวนำ triploid ในปลาลูกผสมอาจมีประโยชน์ ในแง่การลดผลกระทบของการเลี้ยงปลาลูกผสมต่อพันธุกรรมของปลาพื้นเมืองในกรณีที่ลูกผสมไม่เป็นหมัน ซึ่งเป็นปัญหาที่ประเทศไทยกำลังเผชิญอยู่ เนื่องจากลูกผสมบิ๊กอุยสามารถผสมกลับกับพ่อ/แม่ได้ (สุจินต์และคณะ, 2533) จึงทำให้เกิดความกังวลว่าปลาลูกผสมจะทำให้ยีนของปลาดุกยักษ์เข้าไปปนเปื้อนใน genome ของปลาดุกอุย หรือปลาดุกพื้นเมืองชนิดอื่น ๆ เนื่องจากการผสมกลับ (back-cross)

ซ้ำ ๆ หลายชั่วอายุ หรือที่เรียกว่า introgressive hybridization อุทัยรัตน์และอัครพงษ์ (การติดต่อส่วนตัว) กำลังทำการทดลองเพื่อศึกษาความเป็นหมันของ allotriploid ที่เกิดจากการซื้อไข่ปลาดุกอุยที่ผสมกับน้ำเชื้อปลาดุกยักษ์ ตลอดจนศึกษาการเจริญเติบโตและอัตราการรอด โดยคาดหวังว่าหากปลาที่ได้เป็นหมัน และมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดไม่แตกต่างจากปลาลูกผสมชุดควบคุม ก็จะสามารถแนะนำให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงปลา allotriploid แทนลูกผสมธรรมดา

2.1.3.2 วิธีการและสภาพในการซื้อ

การศึกษาส่วนใหญ่ใช้วิธีการซื้อด้วยอุณหภูมิต่ำ (ตารางที่ 2) ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิต่ำ หรือต่ำทั้ง ๆ ที่พบว่าเป็นวิธีการที่ให้ผลไม่คงที่ (อุทัยรัตน์, 2543) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่ไม่สามารถหาเครื่องมือซื้อด้วยแรงดันน้ำ ซึ่งทราบกันดีว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่าได้ ส่วนการ

ตารางที่ 2 สรุปผลการเหนี่ยวนำ polyploid ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย (I = วารสารวิชาการ / รายงานนานาชาติ ; L = วารสารวิชาการในประเทศ ; N = รายงาน, วิทยานิพนธ์

ชนิด	วิธีชัก	สภาพการชัก	วิธีทดสอบ polyploid	% triploid	การเจริญเติบโต	ความเป็นพื้น	ลักษณะอื่น ๆ	การตีพิมพ์	เอกสารอ้างอิง
ปลาอุกอุย Clarias macrocephalus	ความเย็น	5°C; 2 min a.f.; ชักนาน 30 min.	นับ chro. Rbc volume	100 %	2n = 3n	-	-	I (2)	Vijaratpimol และ Pewnim (1990) ; Fast และคณะ (1995)
		7°C; 0 min a.f.; ชักนาน 20 min.	นับ chro.	80 %	3n<2n	GSI (3n<2n)	FCR	I	Na-Nakorn และ Lakhaanantakun (1993)
ปลาตะเพียนขาว Puntius gonionotus	ความเย็น	2°C; 1.5 min a.f.; ชักนาน 10 นาที	นับ chro. + Rbc volume	60-100 %	3n = 2n	พบ sperm ในเพศผู้	-	I	Koedprang และ Na-Nakorn (2000)
		7°C; ไม่ระบุ min a.f.; ชักนาน 20 min.	นับ chro.	80 %	3n = 2n	-	ความชอบของผู้บริโภค ; % carotenoid	N	ชงโค (2538)
ปลาอุกอุย x ปลาดุกยักษ์	ความเย็น	7°C; 4.5 min a.f.; ชักนาน 14 min.	Isozyme	?	?	?	?	O	อุทัยรัตน์และ อัครพงษ์ (ติดต่อด่วน)
	ความร้อน	41°C; 4 min. a.f.; ชักนาน 1.5 min.	DNA microfluoro metry + DAPI Staining	11-30 %	3n<2n	-	-	N	Thanh (1998)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิด	วิธีชัก	สภาพการชัก ¹	วิธีทดสอบ polyploid	% triploid	การเจริญเติบโต	ความเป็นหมัน	ลักษณะอื่น ๆ	การตีพิมพ์	เอกสารอ้างอิง
หอยตะไกรม <i>Crassostrea belcheri</i>	ความร้อน	38, 40°C ; 10, 30, 40 min a.f. ; ชักนาน 5, 10 นาที	นับ chro.	0-43 %	-	-	-	N	Silapajarn (1993)
หอยนางรม <i>C. lugubris</i>	Cytochalasin-B	0.1 mg/l ; 15 min.a.f. ; ชักนาน 15 min	DNA micro- fluorometry + DAPI staining	77 %	-	-	-	L	Roongratri and Youngvanichset (1991)
หอยนางรม <i>Saccostrea Cucullata</i>	Cytochalasin-B	0.5 millimolar ; 15 min a.f. ; ชักนาน 15 min.	นับ chro.	45.3 % (trochophore) 3.55 % (6 mon.)	3n<2n	-	-	N	จินตนา (2538)
หอยลาย <i>Paphia Undulata</i>	Cytochalasin-B	0.1 ppm ; 10 min a.f. ชักนาน 10 min.	DNA micro- fluorometry + DAPI staining	75 %	-	-	-	L	Roongratri (1991)

min af. = เวลา (นาที) นับตั้งแต่กระตุ้น sperm ด้วยน้ำจนถึงเริ่มชัก

ซ็อกในหอยใช้วิธีการซ็อกด้วยสาร Cytochalasin-B (Roongratri และ Youngvanichset, 1991 ; จินตนา, 2538)

นอกจากนั้นการศึกษาทั้งหมดไม่ได้ศึกษาสภาพการซ็อกที่เหมาะสม (ซึ่งหมายถึงระดับของอุณหภูมิ เวลาที่เริ่มซ็อก และระยะเวลาในการซ็อก) มาก่อน แม้จะมีการทดลองในเรื่องเหล่านี้บ้างก็เป็นการทดลองอย่างหยาบ ๆ ทำให้การซ็อกที่ใช้มีประสิทธิภาพต่ำ คือได้เปอร์เซ็นต์สัตว์ triploid ไม่ถึง 100% (Na-Nakorn และ Lakaanantakul, 1993; Thanh, 1998 ; Koedprang และ Na-Nakorn, 2000) ส่วนในหอยนางรม 3 ชนิด เหนียวน่าได้ต่ำกว่า 50 % (ตรวจสอบในระยะ trochophore) ยิ่งเมื่อเลี้ยงไปจนโตจะพบสัดส่วนของ triploid น้อยลง (Silapajarn, 1993 ; Roongratri และ Youngvanichset , 1991 ; จินตนา, 2538) ซึ่งอาจเกิดจาก triploid มีอัตราการรอดตายสูงกว่า diploid

2.1.3.3 วิธีการตรวจสอบผล

การตรวจสอบผลส่วนใหญ่จะใช้วิธีการตรวจนับจำนวนโครโมโซม เช่น ในปลาดุกอุย (Na-Nakorn และ Lakhaanantakul, 1993) ปลาดุกลูกผสม (ชงโค, 2538) ซึ่งแม้จะเป็นวิธีการที่ได้ผลแน่นอนแต่ก็เสียเวลามาก ในหอยมีการตรวจสอบสภาพ ploidy ในลูกหอยระยะ trochophore ด้วยวิธี DNA microfluorometry และย้อมด้วย DAPI (Silapajarn, 1993 ; Roongratri และ Youngvanichset, 1991) ซึ่ง Thanh (1988) ก็ใช้วิธีนี้ตรวจสอบผลการซ็อกในปลาไน นอกจากนี้แล้ว Koedprang และ Na-Nakorn (2000) ใช้วิธีวัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงเพื่อตรวจสอบสภาพ triploidy ในปลาตะเพียนขาว โดยเปรียบเทียบผลกับการนับโครโมโซมพบว่าได้ผลดีมาก อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจสอบโดยใช้ genetic markers อาทิ isozyme หรือ DNA markers ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ผลแน่นอนและสามารถตรวจสอบได้ที่ละมาก ๆ ยังไม่มีการนำมาใช้

2.1.3.4 การตีพิมพ์ผลงาน

ผลการวิจัยที่เสร็จสมบูรณ์แล้ว 9 เรื่อง ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ 2 เรื่อง (22.2 %) วารสารวิชาการภายในประเทศ 2 เรื่อง (22.2 %) เป็นรายงานในการประชุมนานาชาติ 2 เรื่อง (22.2 %) และไม่มีการตีพิมพ์ 3 เรื่อง (33.3 %)

2.1.4. ข้อเสนอแนะ

การวิจัยในเรื่องนี้นับว่ามีความก้าวหน้าพอสมควร ทั้งยังมีศักยภาพสูงทั้งในแง่การนำมาใช้ประโยชน์ และการสร้างผลงานวิจัยที่มีคุณภาพในระดับนานาชาติ จึงสมควรจะทำการศึกษาต่อไป โดยเน้นการศึกษาในสัตว์น้ำที่มีข้อมูลพื้นฐานเพียงพอ และมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ อาทิ ปลาดุกอุย ปลาดุกตะเพียนและหอยนางรม ทั้งนี้มุ่งประเด็นหาสาเหตุที่ triploid เจริญเติบโตได้ดีกว่า diploid ตามแนวทางต่อไปนี้

(1) ทดลองเหนี่ยวนำ triploidy ในหลาย ๆ คู่ผสมซึ่งนำมาจากปลาต่างประชากร ทั้งนี้มีรายงานในปลาบางชนิดว่าพันธุกรรมของพ่อแม่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของ triploid ด้วยเช่นกัน (Taniguchi และคณะ, 1986)

(2) ศึกษากระบวนการสร้าง heat shock proteins ในปลาที่ผ่านการซื้อค/ไม่ผ่าน การศึกษานี้อาจนำไปสู่องค์ความรู้ใหม่

(3) หากทฤษฎีเกี่ยวกับการสร้าง heat-shock protein เป็นจริง ก็จำเป็นต้องทดลองเหนี่ยวนำ tetraploid เพื่อนำมาใช้เป็นพ่อหรือแม่เพื่อสร้างปลา triploid

นอกจากนั้นควรศึกษาการเหนี่ยวนำ triploidy ในปลาที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อเลี้ยงเป็นการค้า เพื่อลดผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย เช่น ปลาเป็ด, *Colossoma* sp.

2.1.5 กลุ่มผู้วิจัย

กลุ่มนักวิจัยที่มีผลงานปรากฏตามเอกสารมี 5 กลุ่ม จาก 4 สถาบัน โดยกลุ่มที่มีผลงานมากที่สุด คือ ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร ซึ่งในปัจจุบันก็ยังทำการวิจัยในเรื่องนี้อยู่ รายชื่อนักวิจัยและข้อมูลอื่น ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 **รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการเหนี่ยวนำ polyploidy และงานวิจัยที่จะดำเนินการในอนาคต**

สถาบัน	นักวิจัย	สัตว์ที่ศึกษา	งานวิจัยที่กำลังจะดำเนินการ
ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร	ปลาดุกอุย ปลาคะเพียนขาว	ศึกษาความเป็นหมันของ allotriploid ดุกอุย x ดุกยักษ์
สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตตรัง	อ.วรวิมล เกิดปราง	ปลาคะเพียนขาว	-
สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตบางพระ	อ. ชงโค แซ่ตั้ง	allotriploid ดุกอุย x ดุกยักษ์	androgenesis
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	รศ.ดร.เมตติศักดิ์ จารยะพันธุ์	หอยนางรม	-
สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์ กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง	ดร.นวลมณี พงศ์ธนา นายทวีศักดิ์ ยังวิเศษเศรษฐ์	หอยนางรม หอยลาย	เหนี่ยวนำ triploidy ในปลา

2.2 การเหนี่ยวนำ gynogenesis และ androgenesis

2.2.1 ประโยชน์ของ gynogenesis/androgenesis

(1) เพื่อผลิตลูกปลาที่มี gene ในสภาพ homozygous

แนวทางหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ ก็คือการผสมข้ามสายพันธุ์ ซึ่งพบว่าหากใช้สายพันธุ์พ่อแม่ที่เป็น inbred lines จะทำให้ลูกผสมที่ได้มีลักษณะสม่ำเสมอทั้งประชากร นอกจากนั้นการผลิต inbred lines จะมีผลให้แต่ละสายพันธุ์มีพันธุกรรมแตกต่างกันมากขึ้น (Falconer, 1981) จึงเพิ่มโอกาสที่จะเกิด heterosis ให้มากขึ้นด้วย นักปรับปรุงพันธุ์ปลาจึงเกิดแนวความคิดที่จะนำการเหนี่ยวนำ gynogenesis/androgenesis มาใช้เพื่อสร้าง inbred lines ดังกล่าว เพราะพบว่า การเหนี่ยวนำเพียง 1 ครั้ง จะมีผลให้เกิด homozygote เพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับการผสมพันธุ์ภายในครอบครัวเดียวกันถึง 7-12ชั่วอายุ (Nagy และคณะ, 1979 ; Thomson, 1983)

อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเหนี่ยวนำ gynogenesis นั้น ลูกที่ได้จะมีระดับ homozygosity สูงหรือต่ำเพียงใด ขึ้นกับขั้นตอนการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม โดยพบว่า ถ้าเป็นการชักเพื่อเก็บรักษา polar body (meiotic gynogenesis) (อาจเป็น first หรือ second polar body ในหอยและ second polar body เท่านั้นในปลา) gynogens ที่ได้ จะมียีนจำนวนหนึ่งอยู่ในสภาพ heterozygous โดยเปอร์เซ็นต์จะสูงต่ำเพียงใดขึ้นกับระยะระหว่างยีนนั้นกับ centromere (Thorgarrd และคณะ, 1983) gynogens ที่มียีนทุกตำแหน่งในสภาพ homozygous จะได้จากการเหนี่ยวนำโดยการยับยั้ง first cleavage หรือที่เรียกว่า mitotic gynogenesis เท่านั้น (Streisinger และคณะ, 1981 ; Komen และคณะ, 1992 ; Taniguchi และคณะ, 1990) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันแนวความคิดของการสร้าง inbred lines โดยการเหนี่ยวนำ gynogenesis นั้น ได้รับความสนใจน้อยลงมาก เพราะ inbred จากการเหนี่ยวนำ gynogenesis เพิ่มระดับ homozygosity เร็วมาก ทำให้ธรรมชาติไม่มีโอกาสกำจัดยีนเลวออกไป gynogens ในปลาหลาย ๆ ชนิดจึงมีอัตรารอดต่ำ (Suzuki และคณะ, 1985 ; Chourrout และ Quinlet, 1982) ยิ่งถ้าเป็นการเหนี่ยวนำ mitotic gynogenesis ด้วยแล้ว นอกจากจะมีโอกาสทำได้สำเร็จยากแล้ว ลูกปลาที่ได้ก็จะอ่อนแอ มีอัตราการรอดต่ำมาก

(2) เพื่อผลิต clone ของปลา

clone หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่มีพันธุกรรมเหมือนกันทุกประการ มีประโยชน์ในการทดลองทางวิทยาศาสตร์ที่ละเอียดอ่อน ซึ่งเหนี่ยวนำได้โดยวิธี mitotic gynogenesis หรืออาจใช้วิธี androgenesis (Bonger และคณะ, 1994) ซึ่งจะได้ลูกปลา gynogens ที่อยู่ในสภาพ 100 % homozygote แต่พันธุกรรมของปลาแต่ละตัวจะแตกต่างกัน จากนั้นเมื่อนำปลาแต่ละตัวไปเหนี่ยวนำ meiotic gynogenesis ก็จะสามารถสร้าง clone ของปลาได้ ในปัจจุบันมีรายงานการสร้าง

clone ในปลาหลายชนิด เช่น ปลาม้าลาย, *Brachydanio rario* (Streisinger และคณะ, 1981) ปลา ayu, *Plecoglossus altivelis* (Taniguchi และคณะ, 1990) ปลาไน (Bongers และคณะ, 1994) ฯลฯ

(3) เพื่อสร้างปลาเพศเมียล้วน การเหนี่ยวนำ gynogenesis จะให้ลูกเพศเมียล้วนในปลาที่มีการควบคุมเพศระบบ female homogamety (เพศเมีย XX) เท่านั้น เช่นที่พบในปลาตุ๊กตาสี (Na-Nakorn, 1995) ปลาไนและปลาเฉา (Golovinskaya และคณะ, 1974) coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Refstie และคณะ, 1982) ปลาดุกเพี้ยน (Pongthana และคณะ, 1995) ปลาเพศเมียล้วนนี้จะช่วยให้การสร้าง sex-reversed male ทำได้สะดวกขึ้น (Pongthana, และคณะ, 1995)

(4) เพื่อศึกษาระยะระหว่าง gene-centromere เมื่อเหนี่ยวนำ meiotic gynogenesis สัดส่วนของ heterozygote ที่พบ ณ ยีนตำแหน่งใด ๆ จะเท่ากับสัดส่วนการเกิด crossing over ดังนั้นจึงสามารถศึกษาระยะระหว่าง gene-centromere ได้ โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ heterozygote นารด้วย 2 (Thorgaard และคณะ, 1983) ระยะระหว่าง gene-centromere นี้จะเป็นประโยชน์ในการทำแผนที่ยีนในอนาคต

(5) ประโยชน์ในการอนุรักษ์ การเก็บรักษาไข่และ/หรือ น้ำเชื้อเป็นวิธีการอนุรักษ์ที่ได้รับ ความสนใจเป็นอย่างสูง แต่ในปัจจุบันดูเหมือนว่าการเก็บรักษาไข่ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าไรนัก ในขณะที่การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยการแช่แข็งสามารถยืดอายุน้ำเชื้อไว้ได้เป็นเวลานานนับปี ดังนั้นจึง จำเป็นต้องมีวิธีการเหนี่ยวนำให้น้ำเชื้อเหล่านั้นเจริญเป็นตัวได้ โดยการเหนี่ยวนำ androgenesis (Mongkonpunya และคณะ, 2000)

2.2.2 หลักการในการเหนี่ยวนำ gynogenesis/androgenesis

gynogenesis หมายถึงกระบวนการที่ไข่ เจริญเป็นตัวโดยไม่เกิดการปฏิสนธิ ดังนั้น ด้พบจะได้รับสารพันธุกรรมจากแม่เท่านั้น gynogenesis สามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น ที่พบใน ปลา Amazon molly, *Poecilia latipina* การเหนี่ยวนำ gynogenesis ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

(1) การทำลายสารพันธุกรรมของเชื้อตัวผู้โดยไม่ทำให้เชื้อตัวผู้ตาย (sperm inactivation) ซึ่งสามารถทำได้โดยการฉายรังสีในระดับที่เหมาะสมแก่น้ำเชื้อ แล้วนำไปผสมกับไข่ หากปล่อยให้ไข่เจริญเป็นตัวอ่อนโดยไม่ผ่านการเหนี่ยวนำให้เพิ่มชุดโครโมโซม ก็จะได้ด้พบ haploid (n) ซึ่งในที่สุดจะตาย ดังนั้น หากต้องการ diploid gynogens ก็จำเป็นต้องผ่านการชัก

(2) การเหนี่ยวนำเพื่อเพิ่มชุดโครโมโซม ใช้หลักการเช่นเดียวกับการเหนี่ยวนำ polyploidy โดยการเหนี่ยวนำที่เริ่มช้าหรือเร็วต่างกัน จะมีผลต่อระดับ homozygote ของปลา gynogens ที่ได้ โดยถ้าเหนี่ยวนำโดยการยับยั้งการกำจัด polar body (meiotic gynogenesis) ก็

ได้ลูกปลาที่เป็น heterozygous ระดับหนึ่ง ส่วนการเหนี่ยวนำ mitotic gynogenesis จะได้ลูกปลาที่มียืนทุกตำแหน่งในสภาพ homozygote ซึ่งการเหนี่ยวนำแบบนี้ประสบความสำเร็จค่อนข้างน้อย

การเหนี่ยวนำ androgenesis ก็ใช้หลักการเดียวกันเพียงแต่ต้องฉายรังสีไข่แทนที่จะเป็นน้ำเชื้อ และการเพิ่มชุดโครโมโซม ทำโดยการยับยั้ง first cleavage เท่านั้น

2.2.3 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย

เทคนิคการเหนี่ยวนำ gynogenesis ได้รับความสนใจพอสมควร โดยได้มีการศึกษาในปลา 2 ชนิด คือ ปลาดุกอุย (Na-Nakorn และคณะ, 1993a ; Na-Nakorn, 1995) และปลาตะเพียนขาว (Pongthana และคณะ, 1995) ส่วนการเหนี่ยวนำ androgenesis มีการศึกษาในปลาดุกอุยและปลาสวาย (Mongkonpunya และคณะ, 1997a, b) ผลการศึกษาได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 4 โดยมีภาพรวมในประเด็นต่าง ๆ ดังนี้

2.2.3.1 วัตถุประสงค์

การเหนี่ยวนำ gynogenesis ในปลาดุกอุยนั้น มีวัตถุประสงค์ที่จะสร้าง inbred lines เพื่อการทดลองผสมข้ามสายพันธุ์ต่อไป เมื่อพบว่าลูกปลาที่ได้ทั้งหมดเป็นเพศเมีย (Na-Nakorn, 1995) ผู้วิจัยจึงได้พยายามศึกษาวิธีการแปลงเพศจากเพศเมียเป็นเพศผู้ไปพร้อม ๆ กัน แต่พบว่ายังทำไม่ได้ผล (Na-Nakorn และคณะ, 1993b) คณะผู้วิจัยจึงได้เสนอแนะที่จะใช้ปลาเพศเมียล้วนเหล่านี้เพื่อเป็นแม่ปลา ซึ่งในปัจจุบันมีราคาแพงมาก อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาก็ยังไม่ได้นำไปใช้ในระดับเกษตรกร เพราะแม่ปลา gynogens จะมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดไม่แตกต่างจากปลาปกติ แต่มีแนวโน้มว่าจะมีความดกของไข่ต่ำกว่า (Na-Nakorn, 1995) การผลิตก็ค่อนข้างยุ่งยาก

ในปลาตะเพียนนั้น ลูกปลา gynogenesis ได้ถูกนำไปใช้ในการสร้างประชากรปลาเพศเมียล้วนโดยนำไปแปลงเป็นเพศผู้ จากนั้นปลาเพศผู้ที่มีพันธุกรรมเป็นเพศเมีย (XX) จะถูกนำไปผสมกับปลาเพศเมียตามธรรมชาติ สามารถสร้างปลาเพศเมียล้วนและนำไปเลี้ยงเป็นการค้าได้ (Pongthana และคณะ, 1999)

ตารางที่ 4 สรุปผลการเหนี่ยวนำ gynogenesis และ androgenesis ที่ทำการศึกษาในประเทศไทย (I = วารสารวิชาการนานาชาติ, L = วารสารวิชาการในประเทศไทย, N = วิทยานิพนธ์)

ประเภทการเหนี่ยวนำ	ชนิด	แหล่งน้ำเชื้อ/ไข่	วิธีฉายรังสี ²	วิธีชัก ²	วิธีตรวจสอบ	% รอด	เพศ	% heterozygosity	สิ่งตีพิมพ์	เอกสารอ้างอิง
Gynogenesis	ปลาตุ๋น <i>Clarias</i> <i>Macrocephalus</i>	ปลาทราย <i>Pangasius</i> <i>hypophthalmus</i>	UV 4.8 x 10 ⁴ ergs/mm ²	ความเย็น 7°C; 4.5 min a.f.; รื้อคนาน 4 min.	ดูลักษณะ ภายนอก	60	เพศเมีย ล้วน	53.10 % (3 isozyme loci)	I (3)	Na-Nakorn และคณะ (1993b) Na-Nakorn และคณะ (1994) Na-Nakorn (1995) Na-Nakorn (1998)
	ปลาตะเพียนขาว <i>Puntius</i> <i>Goniotoilus</i>	ชนิดเดียวกัน	UV (11.8 mJcm ⁻²)	ความเย็น 2±0.1°C; 10 min a.f.; รื้อคนาน 10 min.	-	61.3	เพศเมีย ล้วน	-	I	Pongthana และคณะ(1995)
Androgenesis	ปลาตุ๋น	ปลาดุกยักษ์	UV (0.3J cm ⁻²)	-	-	-	-	-	L	Mongkonpunya และคณะ (1997b)
	ปลาทราย	ปลาดุกยักษ์	UV (240 mJcm ⁻²)	ความเย็น(15°C); 30-35 min a.f. ; รื้อคนาน 10-20 min. ความร้อน (38°C) ; 30-35 min a.f. ; รื้อคนาน 15-45 sec.	DNA marker	ลูกปลา 10 ตัว	-	-	L	Mongkonpunya และคณะ (1997a)

Note : 1/ แหล่งของเชื้อตัวผู้ในกรณีเหนี่ยวนำ gynogenesis และแหล่งของไข่ในกรณีเหนี่ยวนำ androgenesis
2/ a.f. = after fertilization

นอกจากนั้นยังมีความสนใจที่จะผลิตกุ้งกุลาดำเพศเมียล้วน โดยกรเหนียวนำ gynogenesis (บุญเสริม, การติดต่อดวงตัว) ซึ่งการเหนียวนำในกุ้งยังต้องการความรู้ความชำนาญเบื้องต้นอีกหลายประการ อาทิ เทคนิคการผสมเทียม นอกจากนั้นแล้ว ยังไม่อาจคาดการณ์ได้ว่าจะได้ลูกเพศเมียล้วนหรือไม่ เนื่องจากยังไม่ทราบแบบแผนพันธุกรรมการควบคุมเพศของกุ้งกุลาดำ

สำหรับการเหนียวนำ androgenesis นั้น มีวัตถุประสงค์ในการอนุรักษปลาปักโดยนักวิทยาศาสตร์สามารถเก็บน้ำเชื้อปลาปักโดยการแช่แข็งสำเร็จในระดับหนึ่ง (Mongkonpunya และคณะ, 2000) หากสามารถเหนียวนำน้ำเชื้อให้เจริญเป็นตัวปลาได้ก็จะอนุรักษปลาปักไว้ได้อย่างน้อยก็ในระดับยีน อย่างไรก็ตามในเบื้องต้นมีรายงานการเหนียวนำ androgenesis ในปลาดุกอุยและปลาสวาย โดยใช้ไข่ปลาดุกยักษ์ที่ผ่านการฉายรังสี คาดว่าวัตถุประสงค์ที่แท้จริงอาจเป็นเพียงการหาวิธีการ inactivate ไข่ของปลาดุกยักษ์เพื่อจะนำมาใช้ในการเหนียวนำ androgenesis ในปลาปักต่อไป การเหนียวนำในปลาสวาย แม้จะได้ลูกปลาที่ตรวจสอบแล้วว่าเป็น androgens จริงๆ แต่การทดลองก็ยังอยู่ในระยะแรก ยังไม่มีรายงานว่าสามารถผลิต androgens และเลี้ยงไว้จนโต

2.2.3.2 วิธีการและสภาพในการซื้อค

การเหนียวนำ gynogenesis นับว่าได้ผลดี แม้วิธีการและสภาพการซื้อค อาจไม่ใช่สภาพที่เหมาะสมที่สุด

ส่วนการเหนียวนำ androgenesis นั้นยังได้ผลไม่ดีนัก ซึ่งผลการทดลองทั่วโลกก็ให้ผลคล้าย ๆ กัน โดยปัญหาจะเกิดจากไม่สามารถเหนียวนำให้โครโมโซมของ androgens เพิ่มเป็น 2 ชุดได้ ดังนั้นหากสามารถแก้ปัญหาโดยใช้ sperm ที่มีโครโมโซม 2 ชุด (ได้จาก tetraploid) (Thorgaard และคณะ, 1990) หรือเหนียวนำให้นิวเคลียสของ sperm 2 ตัวรวมกันได้ก็จะทำให้การเหนียวนำ diploid androgenesis ประสบความสำเร็จได้ (Thorgaard และคณะ, 2000)

2.2.3.3 การตรวจสอบผล

การตรวจสอบว่าลูกปลาที่ได้เกิดจาก gynogenesis หรือ androgenesis อาจทำได้ง่าย โดยดูจากลักษณะภายนอกเมื่อใช้น้ำเชื้อหรือไข่จากปลาต่างชนิด อย่างไรก็ตาม อาจเป็นไปได้ว่าบางส่วนของ genome จากเพศตรงกันข้ามอาจหลงเหลืออยู่ใน gynogens (Thorgaard และคณะ, 1985) หรือ androgens ดังนั้นการตรวจสอบ DNA อย่างละเอียด เช่น การใช้ microsatellite อย่างน้อย 2 loci หรือทำ multi-locus fingerprinting น่าจะ

เป็นวิธีการที่ดี ในการเหนี่ยวนำ androgenesis ในปลาทราย ใช้ DNA marker เพียง 1 ตำแหน่งในการตรวจสอบ ซึ่งไม่เพียงพอ

2.2.3.4 การตีพิมพ์ผลงาน

เช่นเดียวกับการเหนี่ยวนำ polyploid งานวิจัยเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำ gynogenesis / androgenesis แม้จะมีจำนวนน้อย แต่มีอัตราการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติค่อนข้างสูง (4 จาก 6 เรื่อง) ส่วนอีก 2 เรื่องตีพิมพ์ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

2.2.4 ข้อเสนอแนะ

(1) แม้ว่าเทคนิค gynogenesis ดูเหมือนจะไม่สามารถนำไปให้เกษตรกรใช้ประโยชน์ได้โดยตรง แต่เทคนิคนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาพื้นฐานอื่น ๆ อาทิ การศึกษาทางพันธุศาสตร์ปริมาณ ตัวอย่างที่ดีคือ การศึกษาในปลา ayu โดยใช้ clone ของปลาเป็นสัตว์ทดลอง (Taniguchi และคณะ, 1995)

(2) นอกจากนั้น clone ของปลาอาจเป็นที่ต้องการเพื่อใช้ในการทดลองที่ละเอียดอ่อน ดังนั้นจึงควรส่งเสริมให้มีการผลิต clone ของปลาชนิดต่าง ๆ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดที่มีข้อมูลพื้นฐานอยู่แล้ว) เพื่อประโยชน์ดังที่กล่าวมา

(3) ควรศึกษาการเหนี่ยวนำ androgenesis โดยการใช้ sperm จากปลา tetraploid และ/หรือเหนี่ยวนำ diploid โดยการทำให้ sperm 2 ตัวเข้ารวมกัน

2.2.5 กลุ่มผู้วิจัย

กลุ่มนักวิจัยที่มีผลงานปรากฏตามเอกสารมี 3 กลุ่ม จาก 3 หน่วยงาน คือ สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง และภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับนักวิจัยแสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 รายนามนักวิจัยที่มีผลงานการเหนี่ยวนำ gynogenesis/androgenesis และงานวิจัยที่จะดำเนินการในอนาคต

สถาบัน	นักวิจัย	สัตว์ที่ศึกษา	งานวิจัยที่กำลังจะดำเนินการ
ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร	ปลาดุกอุย (gyno.)	Gene - centromere mapping
สถาบันวิจัยและพัฒนา พันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง	ดร.นวลมณี พงศ์ธนา	ปลาตะเพียนขาว (gyno.)	
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป	รศ.ดร.กฤษณ์ มงคลปัญญา	บึก สวาย ดุก (andro.)	
สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตบางพระ	ผศ.ชงโค แซ่ตั้ง	สวาย	androgenesis (วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก)

2.3 เอกสารอ้างอิง

- * จินตนา จินดาลิขิต. 2538. การเหนี่ยวนำทริพลอยดีในหอยนางรมปากจีบ *Saccostrea cucullata*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ ฯ.
- * ชงโค แซ่ตั้ง. 2538. ผลของการเพิ่มชุดโครโมโซมที่มีต่อลักษณะของปลาดุกลูกผสมระหว่างปลาดุกอุยกับปลาดุกเทศ. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพฯ ฯ.
- บุญเสริม วิทยชำนาญกุล. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. การติดต่อส่วนตัว
- สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยุตติ, มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และปรัชชัย วีรสิทธิ์. 2533. การเพาะพันธุ์ปลาดุกอุยและดุกเทศ. หน้า 529-544, ใน รายงานผลการวิจัยสาขาสัตวศาสตร์แพทยและประมง การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ ฯ.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ ฯ.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร และอัศวพงษ์ สวัสดิพงษ์. การเหนี่ยวนำ allotriploid ในลูกผสมระหว่างปลาดุกอุยและปลาดุกออฟริกัน. งานวิจัยกำลังดำเนินการ. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bongers, A.B.J., E.P.C. in't Veld, K. Abo-Hashema, I.M. Bremmer, E.H. Eding, J. Komen and C.J.J. Richter. 1994. Androgenesis in common carp, (*Cyprinus carpio* L.) using UV irradiation in a synthetic ovarian fluid and heat shocks, *Aquaculture*, 122 : 119-132.
- Chourrout, D. and E. Quinlet. 1982. Induced gynogenesis in the rainbow trout : Sex and survival of progenies. Production of all-triploid populations. *Theor. Appl. Genet.*, 63 : 201-205.
- Falconer, D.S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*. 2nd ed. Longman, London. 340 p.
- * Fast, A.W., T. Pewnim, R. Kaewtabtim, S. Rungarun, F.T.Te and R. Vejaratpimol. 1995. Comparative growth of diploid and triploid Asian catfish *Clarias macrocephalus* in Thailand. *J. World Aqua. Soc.* 26 (4):390-395.
- Golovinskaya, K.A., N.B. Cherfas and L.I. Tsvetkova. 1974. Results of evaluation of the reproductive function in gynogenetic common carp females. *Cited*

- after Kirpichnikov, V.S. 1981. Genetic Bases of Fish Selection. Springer Verlag, New York. 410 p.
- Jiang, W., G.Li, G. Xu, Y. Lin and N. Qing. 1993. Growth of the induced triploid pearl oyster, *Pinctada martensii* (D.). Aquaculture, 111 : 245-254.
- Kavumpurath, S. and T.J. Pandian. 1992. Effects of induced triploidy on aggressive display in the fighting fish, *Betta splendens* Regan. Aqua. and Fish. Manage., 23 : 281-290.
- * Koedprang, W. and U. Na-Nakorn. 2000. Preliminary study on performance of triploid Thai silver barb, *Puntius gonionotus*. Aquaculture, 190 : 211-221.
- Komen, J., G.F. Wiegertjes, V.J.T. Van Ginneken, E.H. Eding and C.J.J. Richter. 1992. Gynogenesis in common carp (*Cyprinus carpio* L). III. The effects of inbreeding on gonadal development of heterozygous and homozygous gynogenetic offspring. Aquaculture, 104 : 51-66.
- Krasznai, Z. and T. Marian. 1986. Shock-induced triploidy and its effect on growth and gonad development of the European catfish, *Silurus glanis* L. J. Fish Biol., 29 : 519-527,
- Lincoln, R.F. and A.P. Scott. 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol., 25 : 385-392.
- Malison, J.A., L.S. Procarione, J.A. Held, T.B. Kayes and C.H. Amundson. 1993. The influence of triploidy and heat and hydrostatic pressure shocks on the growth and reproduction development of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). Aquaculture, 116 : 121-133.
- * Mongkonpunya, K., Roomratanapun, S., Rungsin, W., Senawong, C., Saetung, C., Thongpan, A. and T.R. Tiersch. 1997a. Androgenetic *Pangasius hypophthalmus* produced by UV irradiation of eggs of *Clarias gariepinus* and temperature shocks. Thai J. Agric. Sci., 30 : 435-446.
- * Mongkonpunya, K., Senawong, C., Rungsin, W., Thongpan, A., Thinchant, S. and T.R. Tiersch. 1997b. Morphology, chromosome counts and genomic analysis of abnormal haploid clariids (*Clarias macrocephalus*). Thai. J. Agric. Sci., 30 : 423-433.
- Mongkonpunya, K., T. Pupipat and T.R. Tiersch. 2000a. Cryopreservation of sperm of the Mekong catfish. pp. 290-291, In T.R. Tiersch and P.M.

- Mazik (eds.) Cryopreservation in Aquatic Species. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- Nagy, A., K. Rajki, J. Bakos and V. Csanyi. 1979. Genetic analysis in carp (*Cyprinus carpio*) using gynogenesis. *Heredity*, 43 :35-40.
- * Na-Nakorn, U.1995. Comparison of cold and heat shocks to induce diploid gynogenesis in Thai walking catfish (*Clarias macrocephalus*) and performance of gynogens. *Aquat. Living Resour*, 8(4) : 333-341.
- * Na-Nakorn, U. and A. Lakhaanantakun. 1993. Comparison between the performance of diploid and triploid *Clarias macrocephalus*. *BIOTROP Spec. Publ.*, 52 : 79-86.
- Na-Nakorn, U.,A. Dunham and P.Tabthipwon. 1993b. Effects of 17-alpha-methyltestosterone on growth, survival and sex reversal of Thai walking catfish, *Clarias macrocephalus*. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*27,: 369-375.
- * Na-Nakorn, U., W. Rangsin and S. Witchasunkul. 1993a. Suitable conditions for induction of gynogenesis in the catfish, *Clarias macrocephalus*, using sperm of *Pangasius sutchi*. *Aquaculture*, 118 : 53-62.
- * Na-Nakorn, U., W. Louangpromporn and R.A. Dunham. 1994. Induction of gynogenesis in *Clarias macrocephalus* eggs using irradiated sperm of *Pangasius sutchi* and cold shock. pp. 536-539, In L.M. Chou, A.D. Munro, T.J. Lam, T.W. Chen, L.K.K. Cheong, J.K. Ding, K.K. Hooi, H.W. Khoo, V.P.E. Phang, K.F. Shim and C.H. Tan (eds.). *Proceedings of the Third Asian Fisheries Forum*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Pongthana, N., D.J. Penman, J. Karnasuta and B.J. McAndrew. 1995. Induced gynogenesis in the silver barb (*Puntius gonionotus* Bleeker) and evidence for female homogamety. *Aquaculture*, 135 : 267-276.
- Pongthana, N., D.J. Penman, P. Baoprasertkul, M.G. Hussain, MS. Islam, S.F. Powell and B.J. McAndrew. 1999. Monosex female production in the silver barb (*Puntius gonionotus* Bleeker). *Aquaculture*, 173 : 247-256.
- Refstie, T., J. Stoss and E.M. Donaldson. 1982. Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock. *Aquaculture*, 29 : 67-82.

- * Roongratri, N. 1991. Induced triploidy in the short-necked clam, *Paphia undulata*. Thai Fisheries Gazette, 44 : 141-144.
- * Roongratri, N. and T. Youngvanichset. 1991. Triploidy induction in the mangrove oyster (*Crassostrea lugubris*) with cytochalasin B. Thai Fisheries Gazette, 44 : 223-227.
- * Silapajarn, K. 1993. The Study on Polyploid Induction in Takrom Oyster *Crassostrea belcheri* by Thermal Shock. M.Sc. Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Bangkok.
- Stanley, J.G., H. Hidu and S.K. Allen Jr. 1984. Growth of American oysters increased by polyploidy induced by blocking meiosis 1 but not meiosis II. Aquaculture, 37 : 147-155.
- Streisinger, G., C. Walker, N. Dower, D. Nnauber and F. Singer. 1981. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). Nature, 291 : 293-296.
- Suzuki, R., T. Oshiro and T. Nakanishi. 1985. Survival, growth and fertility of gynogenetic diploids induced in the cyprinid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. Aquaculture, 48 : 45-55.
- Taniguchi, N., A. Kijima, T. Tamura, K. Takegami and I. Yamazaki. 1986. Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp. Aquaculture, 57 : 321-328.
- Taniguchi, N., H. Hatanaka and S. Seki. 1990. Genetic variation in quantitative characters of meiotic-and mitotic-gynogenetic diploid ayu, *Plecoglossus altivelis*. Aquaculture, 85 : 223-233.
- Taniguchi, N., M. Yamasaki, M. Takagi and A. Tsujimura. 1995. Genetic and environmental variances of body size and morphological traits in communally reared clonal lines from gynogenetic diploid ayu, *Plecoglossus altivelis*. Aquaculture, 140 : 333-341.
- * Thanh, N., M. 1998. Methods for Induction of Triploidy in Common Carp, *Cyprinus carpio*. Master of Science Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok.
- Thomson, D. 1983. The efficiency of induced diploid gynogenesis in inbreeding. Aquaculture, 33 : 237-244.

- Thorgaard, G.H., F.W. Allendorf and K.L. Knudsen. 1983. Gene-centromere mapping in rainbow trout : high interference over long map distance. *Genetics*, 103 : 771-783.
- Thorgaard, G.H., P.D. Scheerer and J.E. Parsons. 1985. Residual paternal inheritance in gynogenetic rainbow trout : implications for gene transfer. *Theor. Appl. Genet.*, 71 : 119-121.
- Thorgaard, G.H., P.D. Scheerer, W.K. Hershberger and J.M. Myers. 1990. Androgenetic rainbow trout produced using sperm from tetraploid males show improved survival. *Aquaculture*, 85 : 215-221.
- Thorgaard, G.H., P.A. Wheeler and R.D. Fields. 2000. Utilization of androgenesis for strain recovery from cryopreserved sperm. pp. 305-309, In T.R. Tiersch and P.M. Mazik (eds.). *Advance in World Aquaculture, Volume 7*. The World Aquaculture Society, Louisiana.
- Valenti, R.J. 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *J. Fish Biol.*, 7 : 519-528.
- * Vejaratpimol, R. and T. Pewnimi. 1990. Induction of triploidy in *Clarias macrocephalus* by cold shock. pp. 531-534, In R. Hirano and I. Hanyu (eds.) *Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum*. Manila.

หมายเหตุ : * การศึกษาเกี่ยวกับ Chromosome-set manipulation ที่ทำในประเทศไทย

3. สถานภาพการวิจัยด้านการศึกษา KARYOTYPES

3.1 ความหมายและประโยชน์

การศึกษา karyotype หมายถึงการศึกษาจำนวน ขนาดและลักษณะของชุดโครโมโซมในเซลล์หนึ่ง ๆ

การศึกษา karyotype ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในแง่การศึกษาวิวัฒนาการ (Banerjee และคณะ, 1988) อนุกรมวิธาน (ศุภาภรณ์, 2519) ความแตกต่างระหว่างเพศ การตรวจสอบระดับ polyploid (Na-Nakorn และ Lakhaanantakun, 1993 ; Koedprang และ Na-Nakorn, 2000) การตรวจสอบผลของการผสมข้ามชนิด (Na-Nakorn และคณะ, 1993) นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลสนับสนุนในการศึกษาอื่น ๆ อาทิ การทำแผนที่ยีน (gene mapping)

3.2 สถานภาพการศึกษาในประเทศไทย

การศึกษา karyotypes ในสัตว์น้ำเริ่มได้รับความสนใจมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2519 (ศุภาภรณ์, 2519) ซึ่งสามารถประมวลสถานภาพในประเด็นต่าง ๆ ได้ดังต่อไปนี้

3.2.1 จำนวนชนิดที่ศึกษา

จากการรวบรวมเอกสาร 55 ฉบับ พบว่ามีการศึกษาคาร์ิโอไทป์ในปลา 24 ครอบครัว 53 สกุล 88 ชนิด และอีก 7 ชนิด รายงานเฉพาะจำนวนโครโมโซมโดยไม่แสดงคาร์ิโอไทป์ ปลาที่ศึกษาแทบทั้งหมดเป็นปลาน้ำจืด (เป็นปลาทะเลเพียง 5 ชนิด) (ตารางที่ 6)

การศึกษาในสัตว์กลุ่ม Amphibians ครอบคลุมกบ, เขียด คางคก รวม 3 ครอบครัว 5 สกุล 1 ชนิด

ในสัตว์กลุ่มหอยครอบคลุมหอยน้ำจืด 1 ครอบครัว (6 สกุล 6 ชนิด) หอยทะเล 4 ครอบครัว (6 สกุล 9 ชนิด)

นอกจากนั้นแล้วมีการศึกษาคาร์ิโอไทป์ในสัตว์เลื้อยคลาน (จระเข้) 2 ชนิด ซึ่งอยู่ในสกุลเดียวกัน

ในแง่ปริมาณจะเห็นว่าการศึกษายังครอบคลุมเพียงส่วนน้อยของปลาและสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำที่มีอยู่ในประเทศไทย เป็นที่น่าสังเกตว่าไม่พบรายงานการศึกษาในกิ้งก่าทุกชนิด

ตารางที่ ๕ สรุปผลการศึกษา karyotype ในสัตว์น้ำ สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดในประเทศไทย

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	คาริโอไทป์	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
Notopteridae				
ทราย <i>Notopterus chitala</i>	42(42)	2SM, 40T	ธวัชและวิเชียร (2533a)	Proceedings
ทองลาย <i>Notopterus blanci</i>	42(42)	42T	ธวัชและวิเชียร (2533a)	Proceedings
สลาด <i>Notopterus notopterus</i>	42(42)	42T	ธวัชและวิเชียร (2533a)	Proceedings
Cyprinidae				
กระโห้ <i>Catlocarpio siamensis</i>	96(168)	18M, 54SM, 6ST, 18T	วิเชียรและธวัช (2532)	Proceedings
ยี่สกไทย <i>Probarbus jullieni</i>	96(132)	22M, 14SM, 14T	วิเชียรและธวัช (2532)	Proceedings
พลวงหิน <i>Tor soro</i>	100(132)	18M, 62SM	วิเชียรและธวัช (2533)	Proceedings
แก้มตุ้ม <i>Puntius orphoides</i>	50(74)	14M, 16SM, 4ST, 16T	วิเชียรและธวัช (2533)	Proceedings
ปลก <i>Puntius stoliczkanus</i>	50(68)	12M, 6SM, 32T	วิเชียรและธวัช (2535)	Proceedings
ตะเพียนขาว <i>Puntius gonionotus</i>	50(94)	22M, 22SM, 4ST, 2T	วิเชียรและธวัช (2533)	Proceedings
กระแหทอง <i>Puntius schwanenfeldii</i>	50(74*, 74**)	16M, 8SM, 26T	ธวัชและวิเชียร (2540a)	Local journal
อีกรอง <i>Puntius lateristriga</i>	50(74)	6M, 18SM, 10ST, 16T	วิเชียรและธวัช (2535)	Proceedings
ตะเพียนสมพงษ์ <i>Puntius somphongsei</i>	50(82*, 84**)	28M, 4SM, 2ST, 16T	ธวัชและวิเชียร (2540a)	Local journal
กะมั่ง <i>Puntioplites proctozysron</i>	50(76)	20M, 6SM, 8ST, 16T	ธวัช (2537)	Abstract
	50(76)	18M, 8SM, 10ST, 14T	ธวัช (2537)	Abstract
	50(76)	20SM, 6ST, 18T	ธวัชและวิเชียร (2538b)	Proceedings

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	โครโมโซม	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
กาแดง <i>Labeo erythrurus</i>	48(72)	14M, 10SM, 8ST, 16T	ธวัชและวิเชียร (2536a)	Proceedings
ทรงเครื่อง <i>Labeo bicolor</i>	50(74)	20M, 4SM, 2ST, 24T	ธวัชและวิเชียร (2536a)	Proceedings
ยี่สกเทศ <i>Labeo rohita</i> (ปลาน้ำเค็ม)	50(70)	14M, 6SM, 4ST, 26T	ธวัชและวิเชียร (2536a)	Proceedings
ตะเพียนพราย <i>Cyclocheilichthys armatus</i>	50(76)	16M, 10SM, 4ST, 8T	ธวัชและวิเชียร (2538a)	Abstract
ตะโกก <i>Cyclocheilichthys enoplos</i>	50(72)	14M, 8SM, 10ST, 18T	ธวัชและวิเชียร (2538a)	Abstract
พรม <i>Osteocheilus melanoptera</i>	50(96)	36M, 10SM, 2ST, 2T	ธวัชและวิเชียร (2538b)	Proceedings
ร่องไม้ต้น <i>Osteocheilus vittatus</i>	50(86)	26M, 10SM, 14T	ธวัช (2540)	Proceedings
แม่ปลา <i>Paralabrus rivieri</i>	48(82)	16M, 4ST, 10T	ธวัชและวิเชียร (2538b)	Proceedings
ชีวาควาย <i>Rasbora sumatrana</i>	50(92)	26M, 16SM, 2ST, 6T	ธวัชและวิเชียร (2538b)	Proceedings
สร้อยขาว <i>Cirrhinus jullieni</i>	50(92)	36M, 6SM, 2ST, 6T	ธวัช (2540)	Proceedings
นวลจันทร์น้ำจืด <i>Cirrhinus microlepis</i>	50(80*,88**)	22M, 8SM, 8ST, 12T	ธวัชและวิเชียร (2540a)	Local journal
เขยา <i>Acrossocheilus deauratus</i>	50(68)	12M, 6SM, 8ST, 24T	ธวัช (2540)	Proceedings
ชีวาโป่ง <i>Danio regina</i>	50(74)	14M, 10SM, 16ST, 10T	ธวัช (2540)	Proceedings
น้ำ <i>Leptobarbus hoeveni</i>	50(84*,86**)	28M, 6SM, 2ST, 14T	ธวัชและวิเชียร (2540a)	Local journal
สร้อยลูกกล้วย <i>Labiobarbus spilopleura</i>	50(88*,90**)	34M, 4SM, 2ST, 10T	ธวัชและวิเชียร (2540a)	Local journal

*NF1 : 2 แถวน-metacentric, submetacentric 1 แถวน-subtelocentric

**NF2 : 2 แถวน-metacentric, submetacentric, subtelocentric

1 แถวน-acrocentric

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ครอบครัว - ชนิด	2ก(จำนวนแขน)	คำอธิบาย	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
Cobitidae	50(64)	ปล้องอ้อย <i>Acanthopthalmus kuhlii</i>	วิทย (2541)	Proceedings
Siluridae	92(100)	เนื้ออ่อน <i>Kryptopterus cryptopterus</i>	วิทย (2535)	Abstract
	64(90)	แดง <i>Kryptopterus bleekeri</i>	วิทย (2535)	Abstract
	64(94)	ก้างพระร่วง <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	วิทย (2539)	Proceedings
	50(86)	ตะโพน <i>Ompok bimaculatus</i>	วิทย (2535)	Abstract
	56(86)	เค้ด้า <i>Wallago miosoma</i>	วิทย (2539)	Proceedings
	88(106)	เค้ด้าขาว <i>Wallago attu</i>	วิทย (2539)	Proceedings
Bagridae	62(92)	คางเบื่อน <i>Wallago dinema</i>	วิทย (2539)	Proceedings
	56(98)	เขยงใบข้าว <i>Mystus cavasius</i>	วิทย (2520)	Thesis
	52(98)	เขยงข้างลาย <i>Mystus mystecetus</i>	วิทย (2520)	Thesis
	58(104)	กตขาว <i>Mystus nemurus</i>	วิทย (2520)	Thesis
	54(84)	กตม้อ <i>Mystus wyckii</i>	วิทย และคณะ(มปป)	Proceedings

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	คาริโอไทป์	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
เขียงแถบขาว <i>Mytus albolineatus</i> เขียงนวล <i>Mystus wolffii</i> เขียงคิ้ว <i>Bagroides macracanthus</i> เขียงธง <i>Heterobagrus bocourti</i> Schilbeidae (Pangasiidae)	56(90)	28M, 6SM, 12ST, 10T	ธวัช (2543)	Proceedings
	58(94)	26M, 10SM, 6ST, 16T	ธวัช (2543)	Proceedings
	50(92)	30M, 12SM, 2ST, 6T	วิเชียร และคณะ(มปป)	Proceedings
	56(98)	24M, 18SM, 6ST, 8T	ธวัช (2543)	Proceedings
สายยู <i>Pangasius nasutus</i> สวาย <i>Pangasius pangasius</i> (ปัจจุบัน <i>P. hypophthalmus</i>) สวาย <i>Pangasius sutchi</i> (ปัจจุบัน <i>P. hypophthalmus</i>)	58(96)	-	วีณา (2520)	Thesis
	60(100)	-	วีณา (2520)	Thesis
	60(92)	20M, 12SM, 4ST, 24T	Magtoon และ Donsakul (1987)	International journal
	60(98)	-	วีณา (2520)	Thesis
เทโพ <i>Pangasius larnaudii</i> เทโพ <i>Pangasius larnaudii</i> สังกะวาด <i>Pangasius siamensis</i> บึก <i>Pangasius gigas</i> เพพา <i>Pangasius sanitwongsei</i>	60(104)	24M, 20SM, 4ST, 12T	Magtoon และ Donsakul (1987)	International journal
	60(98)	-	-	Thesis
	60(100)	32M, 8SM, 12ST, 8T	ธวัชและวิเชียร (2542b)	Proceedings
	60(86)	20M, 6SM, 18ST, 16T	ธวัชและวิเชียร (2542b)	Proceedings
Clariidae ดุกลุย <i>Clarias macrocephalus</i>	54(96)	30M, 12SM, 4ST, 8T	ธวัชและวิเชียร (2532c)	Proceedings

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	คาริโอไทป์	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
ดูกด้าน <i>Clarias batrachus</i> ดูเทศ <i>Clarias gariepinus</i> (ปลาน้ำจืด)	100(108) 56(92)	4M, 4SM, 2ST, 90T 30M, 6SM, 6ST, 14T	รัชและวิเชียร (2532c) รัชและวิเชียร (2534b)	Proceedings Proceedings
Cyprinodontidae ปลาข้าวสาร <i>Oryzias minutillus</i> กรุงเทพมหานคร เชียงใหม่	34(44) 30(44)	8M, 2SM, 24T 12M, 2SM, 16T	MagtoonและUwa (1985) MagtoonและUwa (1985)	International journal International journal
หมายเหตุ : ศึกษาปริมาณ DNA ; ศึกษาจาก cell culture ได้/ตะวันออกเฉียงเหนือ	42(42)	}		
กลาง/เหนือ	28-34(44)		Magtoonและคณะ (1992)	International journal
ตะวันออก	40-42(44)			
หมายเหตุ : Nor banding; ศึกษาจาก cell culture <i>Oryzias mekongensis</i>	48(58)		UwaและMagtoon (1986)	International journal
หมายเหตุ : Nor banding ; ศึกษาปริมาณ DNA หัวตะกั่ว <i>Aplocheilichthys panchax</i>	40(52)	8M, 8SM, 28T	วิเชียรและรัช (2538)	Proceedings
Syngnathidae จิ้งหรีดทะเล <i>Microphis boaja</i>	36(44)	4M, 4SM, 6ST, 22T	รัช (2541)	Proceedings

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	คาริโอไทป์	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
Channidae				
ช้อน <i>Channa striata</i>	44(48)	2M, 2SM, 40T	ฉวัดและวิเชียร (2534a)	Proceedings
ชะโด <i>Channa micropeltes</i>	44(46)	2SM, 42T	ฉวัดและวิเชียร (2534a)	Proceedings
ช้อนงูเห่า <i>Channa marulius</i>	44(48)	4M, 4ST, 36T	ฉวัดและวิเชียร (2534a)	Proceedings
กะสง <i>Channa lucius</i>	48(48)	2M, 2ST, 38T	ฉวัดและวิเชียร (2534a)	Proceedings
ก้าง <i>Channa gachua</i>	112(116)	4M, 2ST, 106T	ฉวัดและวิเชียร (2534a)	Proceedings
Centropomidae				
แม่น้ำ <i>Chanda siamensis</i>	40(44)	4M, 6ST, 30T	ฉวัด (2541)	Proceedings
กะพงขาว <i>Lates calcarifer</i>	48(54)	2M, 4SM, 42T	ฉวัดและวิเชียร (2542a)	Proceedings
Lobotidae				
เลื้อยคอบ <i>Datnioides microlepis</i>	48(50)	2M, 4ST, 42T	ฉวัดและวิเชียร (2536b)	Abstract
กะพงลาย <i>Datnioides quadrfasciatus</i>	46(46)	2ST, 44T	ฉวัดและวิเชียร (2536b)	Abstract
Lutjanidae				
กะพงแดงเกล็ดห่าง <i>Lutjanus johnei</i>	48(48)	48T	ฉวัดและวิเชียร (2542a)	Abstract
Toxotidae				
เสือพ่นน้ำ <i>Toxotes chatareus</i>	46(48)	2M, 44T	ฉวัดและวิเชียร (2539)	Abstract

ครอบครัว - ชนิด	2n(จำนวนแขน)	คาริโอไทป์	เอกสารอ้างอิง	ลักษณะเอกสาร
Scatophagidae				
ตะกั่ว Scatophagus argus	48(48)	48T	รวิษและวิเชียร (2541)	Abstract
Pristolepidae				
หม้อข้างเหยียบ Pristolepis fasciatus	46(46)	46T	รวิษและวิเชียร (2539)	Abstract
Chiclidae				
ออสการ์ Astronotus ocellatus (ปลาน้ำเข้า)	48(80)	14M, 18SM, 6ST, 10T	รวิษและวิเชียร (2532b)	Proceedings
หม้อแดงไทย Melanochromis auratus (ปลาน้ำเข้า)	44(66)	10M, 2SM, 8ST, 24T	รวิษและวิเชียร (2532b)	Proceedings
เทวดา Pterophyllum scalare (ปลาน้ำเข้า)	48(70)	8M, 14SM, 12ST, 14T	รวิษและวิเชียร (2533c)	Proceedings
หม้อม้ายาย Cichlasoma nigrofasciatum (ปลาน้ำเข้า)	48(56)	6M, 6ST, 36T	รวิษและวิเชียร (2533c)	Proceedings
นิล Oreochromis niloticus (ปลาน้ำเข้า)	44(50)	4M, 2SM, 10ST, 28T	รวิษและวิเชียร (2541)	Abstract
Anabantidae				
ก้านไทย Betta splendens Regan	42(56)	14SM, 28T	ศุภภากรณ์ (2519)	Thesis
กระดี่มุก Trichogaster leeri	46(46)	46T	รวิษและวิเชียร (2531a)	Abstract
กระดี่แคระ Colisa lania	48(84)	28M, 8SM, 2ST, 10T	รวิษและวิเชียร (2531a)	Abstract
สลิด Trichogaster pectoralis	46(46)	46T	รวิษและวิเชียร (2531b)	Abstract
แรด Osphronemus goramy	48(48)	48T	รวิษและวิเชียร (2531b)	Abstract
หม้อไทย Anabas testudineus	46(48)	2SM, 44T	รวิษและวิเชียร (2531c)	Proceedings