

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

**การศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณและรูปแบบแถบ RAPD-PCR ของปลาไนล
(*Oreochromis* sp.) ที่เลี้ยงใน KMITL'S FISHTECHFARM**

**STUDY ON QUANTITATIVE PHENOTYPES AND RAPD-PCR PATTERNS
OF NILE TILAPIA (*Oreochromis* sp.) CULTURED IN KMITL'S
FISHTECHFARM**



T128547

ดารินทร์ แดงฤทธิ
DARIN DANGRIT

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....128547
วัน,เดือน,ปี.....5.11.2556

b. 1250838X
i.

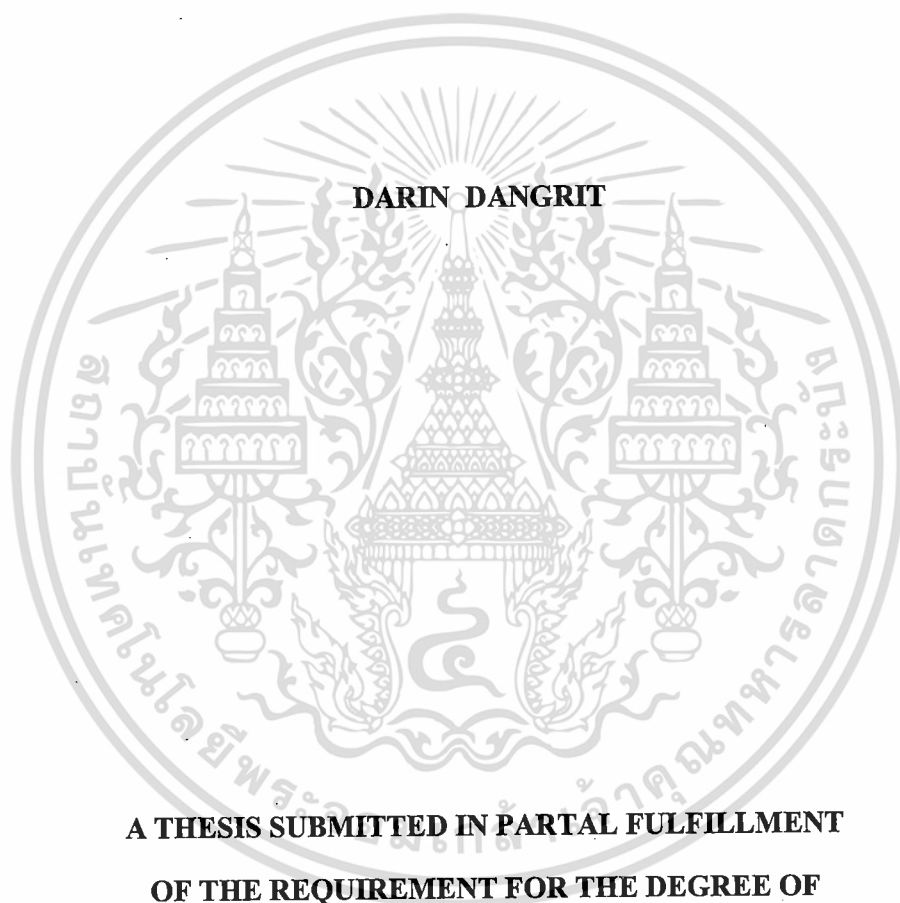
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2556

KMITL-2013-AG-M-101-142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**STUDY ON QUANTITATIVE PHENOTYPES AND RAPD-PCR PATTERNS
OF NILE TILAPIA (*Oreochromis* sp.) CULTURED IN KMITL'S
FISHTECHFARM**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2013

KMITL-2013-AG-M-101-142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2013

FACULTY OF AGRITURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณและรูปแบบแถบ RAPD-PCR ของปลานิล (*Oreochromis sp.*) ที่เลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm
Study on Quantitative Phenotypes and RAPD-PCR Patterns of Nile tilapia (*Oreochromis sp.*) Cultured in KMITL's FishTechFarm

นักศึกษา นางสาวคารินทร์ แดงฤทธิ์

รหัสประจำตัว 51065801

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤกษ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ปวีณา	ทวิกิจการ	2/10/2556
ดร.สรวิศ	เผ่าทองสุข	ผศ.ดร.สรวิศ
ผศ.ดร.อำมร	อินทร์สังข์	ผศ.ดร.อำมร
ผศ.ดร.มณฑล	แก่นมณี	ผศ.ดร.มณฑล
ผศ.ดร.สรัญญา	พันธุ์พฤกษ์	ผศ.ดร.สรัญญา

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 27 พฤษภาคม 2556 เวลา 10.00-13.00 น.
สถานที่สอบ ณ ห้องประชุม A209 (ชั้น 2 อาคารเจ้าคุณทหาร)

คณบดีรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ 31 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2556

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณและรูปแบบแถบ RAPD-PCR ของปลาไนล (<i>Oreochromis sp.</i>) ที่เลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm
นักศึกษา	นางสาวคารินทร์ แดงฤทธิ์
รหัสประจำตัว	51065801
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
พ.ศ.	2556
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกภัย

บทคัดย่อ

ปลาไนลเป็นสัตว์เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในประเทศไทย ในปัจจุบันมีความหลากหลายของสายพันธุ์ของปลาไนลเป็นจำนวนมากในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาทั่วโลก KMITL's FishTechFarm ซึ่งก่อตั้งในปี พ.ศ. 2551 และเป็นแหล่งเก็บรวบรวมและเพาะเลี้ยงปลาไนลสำหรับทำงานวิจัยพื้นฐานและประยุกต์ในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นั้นมีประชากรของปลาไนลที่ทำการเพาะเลี้ยงในระบบของตนเอง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาคุณลักษณะของปลาไนลที่เพาะเลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm เทียบกับปลาไนลจิตรลดา และปลาหมอเทศโดยใช้วิธีการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาระดับโมเลกุล จากผลการทดลองพบว่าลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพ เช่น ลักษณะของปากและลายข้างลำตัว สามารถใช้แยกแยะความแตกต่างระหว่างปลาไนลและปลาหมอเทศได้ชัดเจนกว่าลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ โดยปลาไนลทั้ง 2 แหล่งส่วนใหญ่มีริมฝีปากบน-ล่างเสมอกันและมีลายข้างลำตัว 9-10 ลาย ในขณะที่ปลาหมอเทศส่วนใหญ่มีริมฝีปากล่างยาวกว่าริมฝีปากบนและไม่มีลายข้างลำตัว จากการศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณของปลาทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ค่าอัตราส่วนของความยาวหัวต่อความยาวมาตรฐาน ค่าอัตราส่วนของความกว้างลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน และจำนวนก้านครีบแข็งที่ครีบท้องและที่ครีบก้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่จำนวนก้านครีบแข็งที่ครีบท้องและก้านครีบอ่อนที่ครีบก้นแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ปลาไนลของ KMITL's FishTechFarm มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของจำนวนก้านครีบอ่อนที่ครีบท้อง จำนวนก้านครีบแข็งที่ครีบท้องและจำนวนก้านครีบอ่อนที่ครีบก้นกับปลาไนลจิตรลดา นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค RAPD-PCR ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างปลาต่างสายพันธุ์ รวมทั้งในปลาสายพันธุ์เดียวกัน จากการทำ RAPD-PCR พบว่าไพรเมอร์ 8 ชนิด คือ OPA03, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA09, OPA10 และ OPA13 สามารถใช้เพิ่มปริมาณของแถบผลิตภัณฑ์ RAPD-PCR ได้

แต่ไพรเมอร์ OPA17 และ OPA19 ไม่สามารถใช้เพิ่มปริมาณของแถบผลิตภัณฑ์ RAPD-PCR ของปลานิลและปลาหมอเทศได้ หลังจากนั้น รูปแบบของแถบ RAPD-PCR ที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.01p เพื่อนำไปใช้สร้างแผนภูมิวิวัฒนาการและวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมจากค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง จากการทดลองพบว่ารูปแบบของแถบ RAPD-PCR ของประชากรปลานิลใน KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศแสดงความแปรผันทางพันธุกรรมของปลาแต่ละตัวในสายพันธุ์เดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.48-0.75, 0.46-0.81 และ 0.51-0.79 ตามลำดับ จากแผนภูมิวิวัฒนาการสรุปได้ว่าปลานิลใน KMITL's FishTechFarm มีความแปรผันทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับปลานิลจิตรลดา โดยปลานิลทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มที่ใกล้ชิดกันมากกว่าปลาหมอเทศ



Thesis	Study on Quantitative Phenotypes and RAPD-PCR Patterns of Nile tilapia (<i>Oreochromis</i> sp.) Cultured in KMITL's FishTechFarm
Student	Miss Darin Dangrit
Student ID	51065801
Degree	Master of Science
Program	Agricultural Biotechnology
Year	2013
Thesis Advisor	Assist.Prof.Dr.Saranya Phunpruch

ABSTRACT

Nile tilapia (*Oreochromis* sp.) is one of the important economic animals in Thailand. Nowadays there are a lot of strain-varieties of Nile tilapia in many fish farms worldwide. KMITL's FishTechFarm (established in 2008), a collecting and culturing source of Nile tilapia for doing fundamental and applied research in KMITL, has also an own Nile tilapia population system. This thesis aims to study the typical characteristics of Nile tilapia in KMITL's FishTechFarm using morphological and molecular biological methods compared with Chitralada Nile tilapia and Mossambicus. Results revealed that qualitative phenotype characteristics such as mouth type and light vertical stripes showed obviously more differences between both Nile tilapia and Mossambicus than quantitative phenotype characteristics. It was found that both Nile Tilapia mainly have the terminal mouth and 9-10 light vertical stripes whereas most Mossambicus harbors the superior mouth and no light vertical stripes. From the quantitative phenotypes study, the ratio of head length and standard length (HL/SL), the ratio of body width and standard length (BW/SL), and numbers of pelvic fin spines and anal fin spines did not show much significant differences ($p>0.05$) but a number of dorsal fin spines and anal fin rays showed significant differences ($p<0.05$) among three strains investigated. Nile Tilapia in KMITL's FishTechFarm showed significant differences ($p<0.05$) of numbers of dorsal fin rays, dorsal fin spines, anal fin rays compared with Chitralada Nile Tilapia. In addition, random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) was used to investigate the genetic diversity between and within species. In this study, eight primers including OPA03, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA09, OPA10, and OPA13 could amplify RAPD-PCR patterns but two primers OPA17 and OPA19 were not able to amplify RAPD-PCR patterns of Nile Tilapia and

Mossambicus. All RAPD-PCR band patterns were analyzed by NTSYSpc 2.01p program for construction of phylogenetic trees and determination of the genetic diversity from the similarity coefficients. The results showed that RAPD-PCR patterns of each population of Nile Tilapia in KMITL's FishTechFarm, Chitralada Nile Tilapia, and Mossambicus showed the genetic diversity within the same group with similarity coefficients of 0.48-0.75, 0.46-0.81, and 0.51-0.79, respectively. From phylogenetic tree results, the genetic diversity of Nile Tilapia in KMITL's FishTechFarm was similar to that of Chitralada Nile Tilapia and both Nile Tilapia was obviously shown to separate from Mossambicus.



กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา พันธุ์พฤษย์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์รุ่งตะวัน ยมหล้า ที่คอยช่วยเหลือดูแลการทำวิจัย และให้คำปรึกษาแก่ข้าพเจ้าในทุกเรื่อง

ขอขอบพระคุณ ดร.วรภุต วรรณทกิจ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10p และให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ผลการทดลอง

กราบขอบพระคุณ กรรมการสอบโครงร่างและรูปเล่มวิทยานิพนธ์ และคณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรทุกท่านที่ให้ความรู้ คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์พร้อมแนะนำเทคนิควิธีค้นคว้าในการทดลองที่เป็นประโยชน์อย่างมาก

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และน้องสาว ที่ให้การสนับสนุน และให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดมา ขอขอบคุณ คุณนิพนธ์ จิตตำนาน ที่คอยช่วยเหลือข้าพเจ้าในการหาสัตว์ทดลองและให้คำปรึกษาในทุกเรื่อง คุณสุวิทย์ ศรีจาด และคุณบุปผา จงพัฒน์ ที่ช่วยเหลือเรื่องสารเคมีต่างๆ ขอขอบคุณ พี่สิริพงษ์ วงศ์พรประทีป พี่บุญอนันต์ แจ่มแสงทองที่ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ข้อมูล ขอขอบคุณ คุณสุริยะสิทธิ์ สมนึก น้องเฟิร์น น้องทราย น้องอ้น น้องอ้อม น้องขวัญ และน้องนุ้ม ทุกคนที่ช่วยเหลือการทดลองให้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง และสาขาวิชาชีววิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกและคำแนะนำต่างๆ ในการใช้อุปกรณ์ระหว่างทำการวิจัย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE)

คารินทร์ แดงฤทธิ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญรูป.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	3
1.4 ระยะเวลาดำเนินงาน.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สัตว์ทดลองทางการประมง.....	4
2.1.1 ความหมายของสัตว์ทดลอง.....	4
2.1.2 การใช้สัตว์ทดลอง.....	5
2.1.3 ลักษณะของสัตว์ทดลองที่ดี.....	6
2.1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากสัตว์ทดลอง.....	6
2.2 การใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลอง.....	7
2.2.1 ความสำคัญและประโยชน์ของปลานิล.....	7
2.2.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลอง.....	8
2.2.3 ชีวิตวิทยาของปลานิล.....	9
2.2.3.1 รูปร่างลักษณะ.....	9
2.2.4 สายพันธุ์ปลานิลที่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย.....	12
2.2.5 การนำเข้าปลากลุ่ม Tilapia ของภาครัฐและภาคเอกชน.....	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3 ชีววิทยาของปลาหมอเทศ.....	13
2.4 การศึกษาความหลากหลายด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทาง โมเลกุล.....	14
2.4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	15
2.4.1.1 การศึกษาเชิงคุณภาพ.....	15
2.4.1.2 การศึกษาเชิงปริมาณ.....	16
2.4.2 เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (Molecular marker).....	17
2.4.2.1 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).....	19
2.4.2.2 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).....	19
2.4.2.3 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP).....	19
2.4.2.4 Simple Sequence Repeat (SSR).....	20
2.5 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมสัตว์น้ำโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR...	20
2.5.1 การใช้เทคโนโลยี RFID (Radio Frequency Identification Technology; RFID) ในสัตว์น้ำ.....	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	24
3.1 สัตว์ทดลอง.....	24
3.1.1 ชนิดแหล่งของสัตว์ทดลอง.....	24
3.1.2 การเลี้ยงสัตว์ทดลอง.....	25
3.2 สารเคมี.....	25
3.2.1 เอนไซม์.....	25
3.2.2 ดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	25
3.2.3 เคมีภัณฑ์สำหรับศึกษาดีเอ็นเอ.....	25
3.2.4 ชุดทดสอบ.....	26
3.3 อุปกรณ์.....	26

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 สถานที่ดำเนินการวิจัย.....	27
3.5 วิธีการศึกษา.....	27
3.5.1 วิธีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	27
3.5.1.1 การเก็บข้อมูลสัดส่วนเชิงปริมาณปลาทั้ง 3 แหล่ง.....	27
3.5.1.2 ผลการศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพของปลาทั้ง 3 แหล่ง.....	29
3.5.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลาทั้ง 3 แหล่งด้วยเทคนิค RAPD-PCR.....	29
3.5.2.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อสกัดดีเอ็นเอ.....	29
3.5.2.2 การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ.....	29
3.5.2.3 ตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของแบคทีเรียที่ขึ้น 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction).....	32
3.5.2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction).....	32
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	34
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	35
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	35
4.1.1 ผลการศึกษาข้อมูลสัดส่วนเชิงปริมาณ.....	35
4.1.2 ผลการศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพในปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	42
4.2 ผลการศึกษาทางพันธุกรรม.....	45
4.2.1 ผลของการสกัดดีเอ็นเอ.....	45
4.2.2 ผลของการตรวจสอบการปนเปื้อนขึ้น 16s rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส.....	46
4.2.3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction).....	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.4 ผลของการศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ต่างชนิดกันในปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ ด้วยเทคนิค RAPD- PCR.....	53
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	57
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก.....	65
ภาคผนวก ข.....	77
ภาคผนวก ค.....	85
ประวัติผู้เขียน.....	89
งานวิจัยที่ตีพิมพ์.....	90



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	เปรียบเทียบลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพของปลานิล (<i>O. niloticus</i>) และปลาหมอเทศ (<i>O. mossambicus</i>).....	13
2.2	การเปรียบเทียบเทคนิคของเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่างๆ.....	18
3.1	ส่วนประกอบในการเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA.....	32
3.2	ส่วนประกอบของการเกิดปฏิกิริยา RAPD.....	33
3.3	Single arbitrary primer ที่ใช้ในเทคนิค RAPD.....	33



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ปลาหมอไทย (<i>Branchydanio rerio</i>) ตัวอย่างสัตว์น้ำที่ใช้เป็นสัตว์ทดลองเริ่มต้น.....	5
2.2	กลุ่มประเทศที่ผลิตปลานิลเพื่อการค้า.....	8
2.3	ปริมาณสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ผลิตได้ในปี ค.ศ. 2012.....	8
2.4	สายพันธุ์ปลากลุ่ม Tilapia ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเขตร้อน.....	11
2.5	รูปร่าง และลักษณะของปลาหมอเทศ (<i>Oreochromis mossambicus</i>).....	14
2.6	ตำแหน่ง และลักษณะของปากปลาที่แตกต่างกัน.....	15
2.7	การวัดขนาดและสัดส่วนต่างๆ ของปลา.....	16
2.8	รูปแบบของ RAPD-PCR จากปลากลุ่ม Tilapia ทั้ง 6 species และ subspecies โดยใช้ไพรเมอร์ OPA 04 (a) และ OPA 07 (a) ตรวจสอบผลโดยใช้โพลีออคทาไมด์เจล.....	21
2.9	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR (lane 1, 4, 7: <i>O. niloticus</i> ; lane 2, 5, 8 : <i>O. aureus</i> ; lane 3, 6, 9 : <i>T. zillii</i>).....	22
2.10	รูปแบบของ RAPD-PCR จากไพรเมอร์ต่างชนิดกันในปลานิล (<i>O. niloticus</i>) ที่ทำการ จับจากแหล่งธรรมชาติ 3 แหล่ง และปลานิลที่นำมาจากโรงเพาะเลี้ยง.....	22
2.11	ตัวอย่าง RFID tag ชนิด Passive RFID.....	23
2.12	เครื่องอ่าน RFID Tag.....	23
3.1	ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา (A), ปลานิลที่เลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm (B) และปลาหมอเทศ (C).....	24
3.2	KMITL's FishTechFarm.....	25
3.3	ลักษณะการบันทึกข้อมูลแบบรายตัวในปลานิล.....	28
3.4	ตำแหน่ง และลักษณะของก้านครีบท่ทำการเก็บข้อมูล.....	28

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.1	ลักษณะปรากฏของปลานิล KMITL'S FishTechFarm (A), ปลานิลจิตรลดา (B) และปลาหมอเทศ (C).....	36
4.2	สัดส่วนความยาวหัวต่อความยาวมาตรฐาน (HL/SL) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	37
4.3	สัดส่วนความลึกลำตัวต่อความยาวลำตัว (BH/ST) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	38
4.4	สัดส่วนความกว้างลำตัวต่อความยาวลำตัว (BW/ST) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	38
4.5	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านอ่อน (Dorsal fin ray) ที่ส่วนหลังของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	40
4.6	ค่าเฉลี่ยจำนวนครีบแข็ง (Dorsal fin spines) ที่ส่วนหลังของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	40
4.7	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบอ่อน (Pelvic fin ray) ที่ส่วนท้องของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	41
4.8	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบแข็ง (Pelvic fin spine) ที่ส่วนท้องของปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	41
4.9	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบอ่อน (Anal fin ray) ที่ส่วนก้นของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).....	42
4.10	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบแข็ง (Anal fin spines) ที่ส่วนก้นของปลาทั้ง 3 กลุ่ม	42
4.11	จำนวนค่าเฉลี่ยของลักษณะปากในปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	43
4.12	ลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพในปลาทั้ง 3 กลุ่ม.....	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
4.13 จำนวนค่าเฉลี่ยของลักษณะลายข้างลำตัวของปลาทั้ง 3 กลุ่ม	45
4.14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรมเมอร์ OPA03 ของปลานิล KMITL FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ.....	47
4.15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรมเมอร์ OPA04, OPA05, OPA07 ของปลานิล KMITL'S FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ.....	49
4.16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL'S FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศด้วยไพรมเมอร์ OPA08, OPA09, OPA10.....	51
4.17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ ด้วยไพรมเมอร์ OPA13.....	52
4.18 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลานิล KMITL's FishTechFarm.....	54
4.19 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลานิลจิตรลดา.....	55
4.20 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลาหมอเทศ.....	55
4.21 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลานิล KMITL's FishTecFarm (F) กลุ่มปลานิลจิตรลดา (J) และกลุ่มปลาหมอเทศ (M).....	56

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การใช้สัตว์ทดลองเพื่องานวิจัย การทดสอบ หรือการเรียนการสอนทางด้านวิทยาศาสตร์ ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันล้วนเกี่ยวข้องข้องกับการพัฒนาคุณภาพชีวิตของมนุษย์ทั้งสิ้น ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (2549) ได้ให้นิยามของสัตว์ทดลองว่าสัตว์ทดลองหมายถึง สัตว์ที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงในที่กักขัง สามารถสืบสายพันธุ์ได้ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์เชิงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทุกสาขา ปัจจุบันปลาเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของการใช้สัตว์ทดลองแทนสัตว์ทดลองมาตรฐานประเภทหนูและกระต่าย เนื่องจากปลาเป็นสัตว์ที่มีวงจรชีวิตที่สั้น และปลาบางชนิดยังมีลำตัวโปร่งใสทำให้สะดวกต่อการศึกษาวัยวะหรือโครงสร้างภายในร่างกาย และปลายังมีพันธุกรรมหรือยีนบางตัวที่คล้ายกับมนุษย์ นอกจากนี้ การใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลองจะลดความเสี่ยงจากการแพร่ระบาดของโรคจากสัตว์ทดลองไปสู่มนุษย์ ปลาที่นิยมใช้เป็นสัตว์ทดลองจะเป็นปลาขนาดเล็ก เช่น ปลานิล ปลาหมอสี ปลาชีว และปลากัด เป็นต้น (จุฑาทิพย์ ทิพย์นำภา, 2552) คุณภาพของสัตว์ทดลองนับได้ว่าเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ และส่งผลต่อความแม่นยำของการศึกษาหรือการทดลองให้ได้รับการยอมรับ การใช้ปลาสำหรับทดลองนั้นต้องคำนึงถึงพื้นฐานทางจริยธรรม คุณธรรม และมนุษยธรรม ตลอดจนป้องกันไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2549) สัตว์ทดลองที่ดีนั้นต้องเป็นสัตว์ที่ได้รับการเลี้ยงดูอย่างต่อเนื่อง มีมาตรฐานทั้งทางด้านพันธุกรรม สุขภาพ และวิธีการเลี้ยงมาตรฐานสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะทางด้านการพัฒนาพันธุกรรมสัตว์ให้มีพันธุกรรมคงที่เหมาะสมและเป็นสัตว์ทดลองต้นแบบ (Animal model) ในงานที่เฉพาะ โรคเฉพาะทาง (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2555)

จากการตรวจสอบเอกสาร พบว่านักศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิตสาขาวิทยาศาสตร์การประมง (พ.ศ. 2539-2554) ได้ใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลองในวิชาปัญหาพิเศษถึง 74 เรื่อง (<http://www.lib.kmitl.ac.th/>) ในขณะเดียวกัน ปลานิลได้ถูกนำมาใช้ประกอบการเรียนการสอนวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจัดตั้งแต่ก่อตั้งหลักสูตรจนถึงปัจจุบันเป็นเวลานานกว่า 15 ปี ในช่วงเวลาที่ผ่านมา ได้มีการนำเข้าปลานิลจากฟาร์มต่างๆ เพื่อใช้ทดลองและประกอบการเรียนการสอนอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงมีโอกาที่จะเกิดการปนเปื้อนระหว่างปลานิลที่มีอยู่เดิมตั้งแต่ก่อตั้งหลักสูตร รวมทั้งอาจส่งผลกระทบต่อความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของปลานิลที่เลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) จัดเป็นปลาในกลุ่ม Tilapia ที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืดตามธรรมชาติ เช่น คลอง บึง และแม่น้ำ เป็นต้น (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, 2536) และเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย (FAO, 2012) รวมทั้งนิยมใช้เป็นสัตว์ทดลอง (Bardakci and Skibinski, 1994; Rashed *et al.*, 2008) ปลานิลในกลุ่ม Tilapia สามารถจำแนกได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางโมเลกุล การจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นอาศัยข้อมูลพื้นฐานของลักษณะต่างๆ ที่ปรากฏ ได้แก่ ข้อมูลเชิงปริมาณในลักษณะชั่งตวงหรือวัดได้เป็นตัวเลข และข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น สีผิว ลักษณะปาก และลายข้างลำตัว ส่วนการจำแนกโดยใช้เครื่องหมายทางโมเลกุลนั้นสามารถศึกษาได้ทั้งการศึกษาจากยีนหรือดีเอ็นเอ และการศึกษาโปรตีนในรายตัวหรือตัวแทนกลุ่มประชากร อย่างไรก็ตาม การจำแนกปลากลุ่ม Tilapia โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นบางครั้งอาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคทางโมเลกุล เพื่อให้ผลการศึกษาที่ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น การศึกษาเครื่องหมายระดับโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอที่นิยมศึกษา ได้แก่ เทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) และ AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) เป็นต้น เทคนิคที่สะดวกและนิยมศึกษา คือเทคนิค RAPD (Bardakci, 2001) เนื่องจากมีราคาถูกกว่าเทคนิคอื่นและไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย

ปลานิล KMITL's FishTechFarm เป็นปลาที่เลี้ยงมาเป็นระยะเวลานานจึงไม่ทราบถึงแหล่งที่มาแน่นอนและมีการปะปนของปลานิลจากที่อื่นเข้ามาทดลองในงานของนักศึกษา ซึ่งนำปลานิลจากฟาร์มเอกชนเข้ามาใน KMITL's FishTechFarm นอกจากนี้ ฟาร์มเอกชนหลายรายยังมีการนำปลานิลสายพันธุ์ต่างประเทศเข้ามาปรับปรุงสายพันธุ์ปลานิลที่มีอยู่เดิมในประเทศไทย (ภูมิไทยฟาร์ม, 2551) ทำให้มีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมของปลานิล จึงต้องมีปลานิลจิตรลดาที่เป็นสายพันธุ์แท้จากวังสวนจิตรลดาและปลาหมอเทศเพื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่เลี้ยงอยู่ใน KMITL's FishTechFarm

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาสัดส่วนลักษณะปรากฏเชิงปริมาณเบื้องต้นของปลานิลใน KMITL's FishTechFarm เปรียบเทียบกับปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค RAPD เพื่อประเมินค่า Genetic similarity และสร้าง Dendrogram เพื่อหาความสัมพันธ์ของปลาทั้ง 3 กลุ่ม เพื่อให้ทราบข้อมูลพื้นฐานของประชากรปลานิลที่มีในฟาร์มของสาขาวิชา และประโยชน์ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองมาตรฐานต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลานิลใน KMITL's FishTechFarm เทียบกับปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ
- 1.2.2 เพื่อศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอ RAPD-PCR ของปลานิลใน KMITL's FishTechFarm เทียบกับปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ปลานิลที่ทำการเพาะเลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา ที่นำมาจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา และปลาหมอเทศ ที่สุ่มรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณ โรงไฟฟ้าจังหวัดชลบุรี ปลาแต่ละกลุ่มๆ ละ 30 ตัว ถูกนำมาเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 300 ลิตรที่มีระบบกรองน้ำ ให้อาหารแบบเต็มอิ่มวันละ 2 ครั้ง ตูตตะกอนทุกๆ 3 วัน และปลาทุกตัวจะได้รับการฝังอุปกรณ์ติดตามรายตัว (RFID tag) ตามวิธีการของ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ (2551) การศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ เช่น การนับจำนวนก้านครีบอ่อนและแข็งในตำแหน่งต่างๆ การแยกชนิดโดยใช้ลักษณะปากและลักษณะลายข้างลำตัว นอกจากนี้ ยังใช้เทคนิค RAPD-PCR ในการศึกษาความแปรผันของพันธุกรรมระหว่างปลานิล KMITL's FishTechFarm และปลาหมอเทศ

1.4 ระยะเวลาดำเนินงาน

ใช้ระยะเวลาในการดำเนินงานทั้งสิ้น 1 ปี 9 เดือน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ทราบลักษณะปรากฏของปลานิลใน KMITL's FishTechFarm
- 1.5.2 ทราบถึงลักษณะแถบดีเอ็นเอของปลานิลที่เกิดขึ้นใน KMITL's FishTechFarm
- 1.5.3 ทราบถึงข้อมูลทางด้านพันธุกรรมในปลาทั้ง 3 กลุ่ม เพื่อผลิตเป็นสัตว์ทดลองที่ดีต่อไป

บทที่ 2

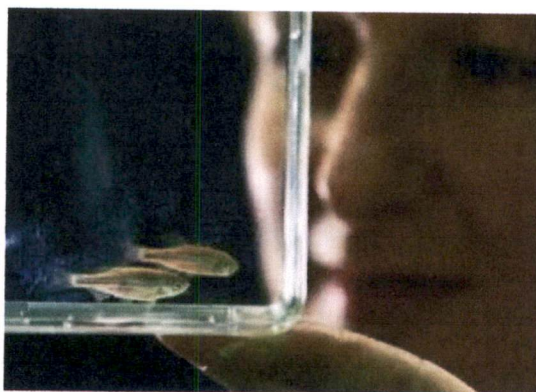
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สัตว์ทดลองทางการประมง

2.1.1 ความหมายของสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ หมายถึง สัตว์ที่นำมาเพาะเลี้ยงในที่กักขังและสามารถสืบพันธุ์ได้ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2549) ในช่วงเริ่มแรก สัตว์ทดลองประเภท หนูตะเภา ไก่ กระจ่าง ได้ถูกนำมาทดลองในงานวิจัยทางการพัฒนาผลิตยา สมุนไพร วัคซีน อาหาร และนาโนเทคโนโลยี ฯลฯ ปัจจุบันการพัฒนาทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ให้ได้มาตรฐานในบางประเทศมีนโยบายการลงทุนเพื่องานทางวิทยาศาสตร์อย่างจริงจัง โดยเฉพาะกลุ่มประเทศในแถบยุโรปจะให้ความสำคัญต่อสัตว์ทดลองไม่ว่าจะเป็นก่อนหรือหลังที่ทำการทดลองรวมถึงวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองซึ่งต้องปฏิบัติตามมาตรฐานทางด้านสุขภาพอนามัยของประเทศยุโรป (Barrera *et al.* 2009) ดังนั้นประเทศไทยจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องสร้างมาตรฐานสัตว์ทดลอง เพื่อการแข่งขันกับตลาดอาเซียนและตลาดโลก (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2552)

การใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลองในต่างประเทศ เริ่มจากการใช้ปลามาทดสอบประสิทธิภาพและผลกระทบของยาที่อาจเกิดอันตรายกับคน Mak (2008) รายงานว่ามีการใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลองถึง 7 เปอร์เซ็นต์จากจำนวนสัตว์ทดลองทุกชนิด สำหรับสัตว์น้ำต้นแบบที่ใช้เพื่อการทดลองคือ ปลาหม้อลาย (*Danio rerio*) (ภาพที่ 2.1) โดย Fleming (2007) รายงานว่า ปลาหม้อลายสามารถใช้เป็นสัตว์ทดลองได้ตั้งแต่เป็นตัวอ่อน (Embryo) และวัยอ่อน (Larvae) โดยใช้ปลาหม้อลายเป็นสัตว์ทดลองต้นแบบแทนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนในงานวิจัยของ Lammer *et al.* (2009) ได้ศึกษาระยะตัวอ่อนปลาหม้อลายที่มีการแบ่งเซลล์ในระยะ 4 เซลล์มาใช้ทดสอบความเป็นพิษในระบบนิเวศ เพราะปลาหม้อลายมีความไวในการทดสอบมากที่สุด และสังเกตได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่นๆ นอกจากนี้การเลือกใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลองยังมีข้อดีในการช่วยเร่งระยะเวลาในการทดลองอีกด้วย เช่น การทดลองของ Lieschke and Currie (2007) ได้ทำการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งระดับให้กับหนูทดลองซึ่งต้องใช้ระยะเวลามากถึง 68 สัปดาห์และให้ลูกเพียง 10-20 ตัว เมื่อเปรียบเทียบกับปลาหม้อลายซึ่งใช้เวลาเพียง 6 สัปดาห์สามารถวางไข่ได้หลายร้อยฟองใน 1 สัปดาห์ในเวลาเท่ากัน นอกจากนี้ ปลาหม้อลายยังมีระบบโครงสร้างการทำงาน และอวัยวะภายในที่คล้ายคลึงกับมนุษย์ จึงทำให้นักวิจัยนิยมใช้ปลาหม้อลายเป็นสัตว์ทดลองทางการแพทย์มากขึ้น



ภาพที่ 2.1 ปลาหม้าย (*Branchydanio rerio*) ตัวอย่างสัตว์น้ำที่ใช้เป็นสัตว์ทดลองเริ่มต้น

ที่มา : <http://t2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQR-S7kOrDMnUsMZo-NgdrnVujfV0iRy-kncW-1jdp2fgbnuIjcBA>

สัตว์น้ำชนิดอื่นที่นำมาศึกษาและวิจัยทางการแพทย์ จัดเป็นสัตว์ทดลองเช่นเดียวกับปลาหม้าย การวิจัยทางการแพทย์มีหลายด้านด้วยกันตั้งแต่การวิจัยระบบเลี้ยง การวิจัยคุณภาพอาหาร และการวิจัยยารักษาโรค เป็นต้น ซึ่งการวัดผลการทดลองนั้นต้องอาศัยสัตว์ทดลองตัวชี้วัด สัตว์น้ำในงานวิจัยทางการแพทย์ส่วนใหญ่จะใช้เป็นสัตว์ทดลองมีทั้งสัตว์น้ำเค็ม และน้ำจืด เช่น กุ้ง ปลา กะพง ปู หอย ปลาคูก และปลานิล ฯลฯ การเลือกสัตว์ทดลองนั้นจัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญ โดยจะต้องพิจารณาความเหมาะสมของสัตว์ที่นำมาเป็นตัวแทน ซึ่งสัตว์ทดลองที่จะนำมาใช้ต้องได้มาตรฐานคุณภาพทางพันธุกรรม และคุณภาพสุขภาพ

2.1.2 การใช้สัตว์ทดลอง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (2552) ได้กำหนดจรรยาบรรณการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์เพื่อการยกระดับงานวิจัยให้เป็นการปฏิบัติแบบสากล งานวิจัยนั้นต้องมีความสำคัญต่อการพัฒนาคุณภาพชีวิตของคน อย่างไรก็ตามในการทดลองแต่ละครั้งผู้ใช้สัตว์ต้องตระหนักถึงค่าของชีวิตสัตว์ และได้พิจารณาอย่างถี่ถ้วนแล้วว่าเป็นประโยชน์และไม่มีการอื่นที่เหมาะสมแล้วจึงได้ใช้สัตว์ทดลอง นอกจากนี้จำนวนของสัตว์ทดลองที่ใช้ในแต่ละการทดลองต้องใช้จำนวนที่น้อยที่สุดที่จะเป็นไปได้ในแต่ละการทดลองโดยไม่กระทบต่อผลการทดลองที่ได้ และเพื่อความแม่นยำในการทดลองผู้ใช้สัตว์ต้องคำนึงถึงคุณสมบัติทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางคุณภาพของสัตว์ที่จะนำมาใช้ให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์และเป้าหมายของการใช้สัตว์ทดลอง เพื่อให้ หากจำเป็นต้องใช้สัตว์ป่าในการทดลอง และต้องไม่ขัดต่อกฎหมายและนโยบายการอนุรักษ์สัตว์ป่า การนำสัตว์ป่ามาใช้เพื่อการทดลองควรกระทำต่อ เฉพาะกรณีที่มีความจำเป็นต่อการศึกษาวิจัย โดยไม่สามารถใช้สัตว์ประเภทอื่นทดแทนได้ นอกจากนี้ ต้องปฏิบัติต่อสัตว์ด้วยความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระมัดระวังทุกขั้นตอนนับตั้งแต่การขนส่ง การใช้วัสดุอุปกรณ์ในการเลี้ยงสัตว์ การจัดการสภาพแวดล้อมของสถานที่เลี้ยง เทคนิคในการเลี้ยง และการปฏิบัติต่อสัตว์โดยไม่ให้สัตว์ได้รับความเจ็บปวด ความเครียด หรือทุกข์ทรมานก่อนการทดลอง รวมทั้งบันทึกข้อมูลการปฏิบัติต่อสัตว์ไว้เป็นหลักฐานอย่างครบถ้วน ผู้ใช้สัตว์ต้องปฏิบัติต่อสัตว์ตรงตามวิธีการที่เสนอไว้ในโครงการ และต้องจดบันทึกไว้เป็นหลักฐานอย่างละเอียดครบถ้วนพร้อมที่จะเปิดเผยหรือชี้แจงได้ทุกโอกาส

2.1.3 ลักษณะของสัตว์ทดลองที่ดี

สัตว์ทดลองที่ดีตามมาตรฐานสากลกำหนดต้องผ่านการควบคุมการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง และมีวิธีการเลี้ยงตามมาตรฐานสากล ได้แก่ การดูแลสุขภาพสัตว์ทดลอง การจัดการทางพันธุกรรมของสัตว์ที่นำมาทดลอง เป็นต้น (จอมจิน จันทรสกุล, 2553) เพื่อที่จะมั่นใจได้ว่าผลงานที่ได้จากการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์นั้นทำให้เกิดความแม่นยำของผลการทดลองที่เป็นที่ยอมรับ และนำไปใช้พัฒนาเชิงอุตสาหกรรมต่อไป เช่นเดียวกับวัคซีนที่มีการผลิตออกมานั้นก่อนที่จำหน่ายในตลาด ต้องผ่านการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยที่ให้ผลแม่นยำเพื่อที่จะมั่นใจได้ว่าเมื่อนำไปใช้จะไม่เป็นโทษต่อชีวิตของประชาชนหรือสัตว์ การพัฒนาพันธุกรรมสัตว์เพื่อให้เหมาะสมเป็นสัตว์ทดลองต้นแบบ (Animal model) เฉพาะ โรค เฉพาะทาง การสืบสายพันธุ์ การอนุรักษ์สายพันธุ์และการเพาะขยายพันธุ์สัตว์ที่พัฒนาพันธุ์ได้จะส่งผลให้งานทางด้านวิทยาศาสตร์มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2549)

ลักษณะงานทดลองทางการประมงนั้นจำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลองปริมาณมากในการทดลองแต่ละครั้งและควรทำการคัดเลือกสัตว์ทดลองที่มีความเหมือนกันหรือใกล้เคียงกันมากที่สุด เช่น การเลือกสัตว์ทดลองที่มาจากคอกเดียวกันเพื่อให้ความแปรปรวนทางด้านพันธุกรรมให้น้อยที่สุด (จอมจิน จันทรสกุล, 2553)

2.1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากสัตว์ทดลอง

การพัฒนาเทคโนโลยีทางการแพทย์ล้วนแต่เป็นประโยชน์ที่ได้รับจากสัตว์ทดลองแทบทั้งนั้น นอกจากนี้ ยังใช้สัตว์ทดลองในงานวิจัยที่เป็นกระบวนการค้นคว้าหาข้อเท็จจริงจากการตั้งสมมติฐานอย่างมีระบบ เช่น การใช้สัตว์ทดลองเพื่อตรวจสอบผลของสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม ที่ใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลองเพื่อตรวจสอบปริมาณแคดเมียมในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Matta *et al.* 2002) นอกจากนี้ มีการใช้ประโยชน์ของการตัดต่อยีนเรืองแสงในปลาม้าลายเพื่อทดสอบความเป็นพิษในแหล่งน้ำจะพบการเรืองแสงเมื่อมีสารพิษในแหล่งน้ำเท่านั้น การใช้การเรืองแสงเป็นตัวชี้วัดนอกจากเป็นสัญญาณเตือนถึงความคิดปกติเบื้องต้นแล้วยังเป็นการช่วยลดการใช้สารเคมีในการตรวจสอบด้วย (<http://pirun.ku.ac.th/~g5174004/page5.htm>)

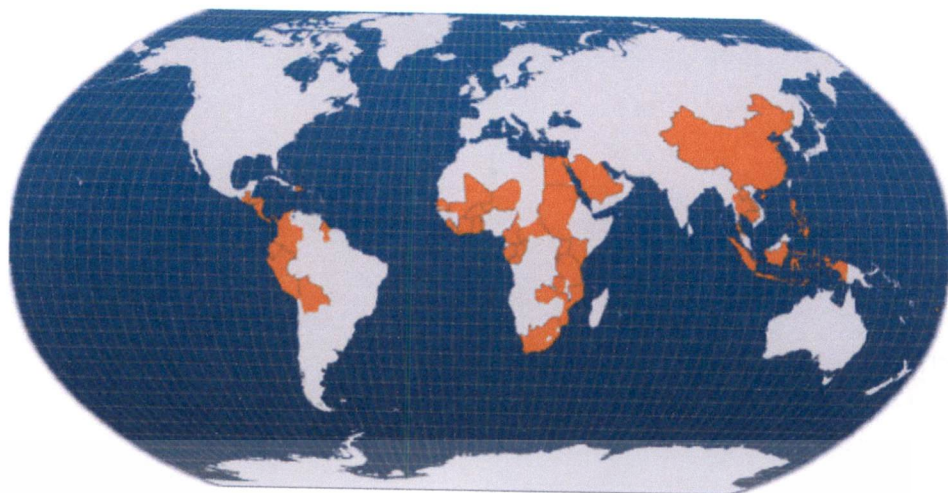
การใช้สัตว์ทดลองในงานวิจัยนั้นก็เพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์ทั้งในด้านอุปโภคและบริโภค รวมถึงการใช้ทดสอบงานทางการแพทย์ ซึ่งการใช้สัตว์ทดลองเพื่อการวิจัยหรือ

ทดลองนั้นควรปฏิบัติเป็นไปตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2555) เพื่อการลดความเจ็บปวดหรือความทรมานของสัตว์ที่นำมาทดลองให้น้อยที่สุด

2.2 การใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลอง

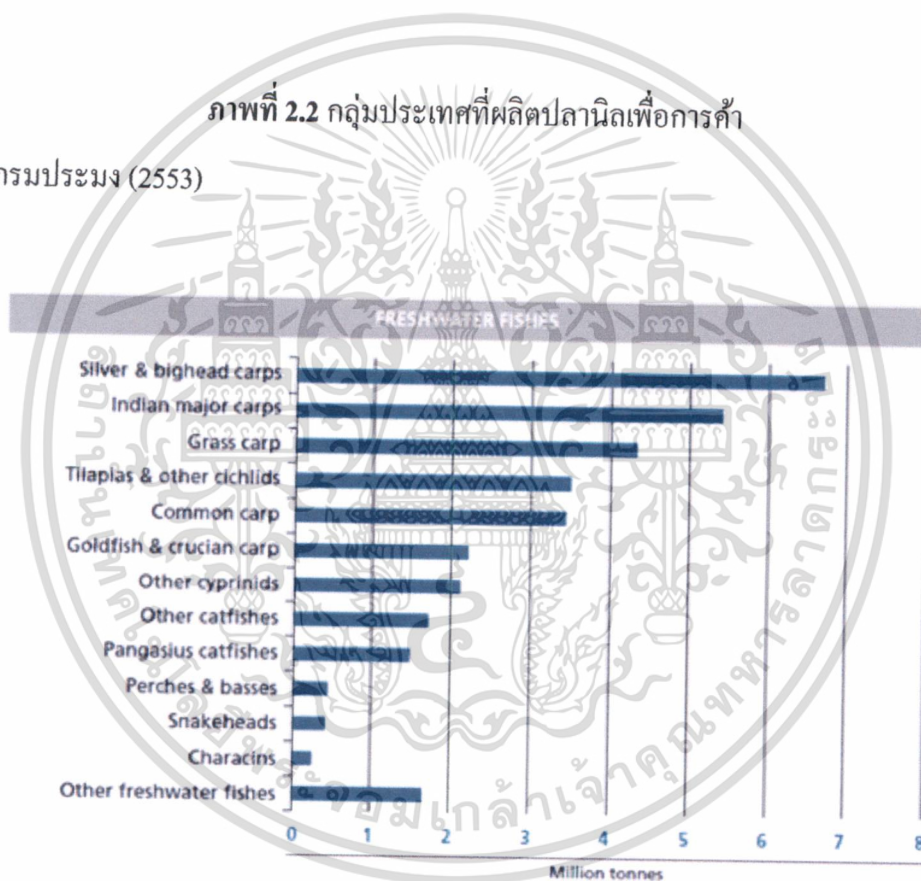
2.2.1 ความสำคัญและประโยชน์ของปลานิล

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดกลุ่ม Tilapia ที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา และตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากเป็นปลาที่มีรสชาติดี มีความแข็งแรง สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทำให้มีการเพาะเลี้ยงปลานิลในหลายประเทศ ทั้งในเขตร้อนและอบอุ่น (Rashed *et al.*, 2008; กรมประมง, 2549) และมีการเลี้ยงปลานิลเพื่อเป็นการค้าอย่างแพร่หลายทั่วโลก (ภาพที่ 2.2) จัดว่าเป็นสัตว์น้ำที่มีกำลังการผลิตสูงเป็นอันดับต้นๆ (ภาพที่ 2.3) นอกจากนี้ ยังพบว่าผลผลิตปลานิลทั่วโลกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 พบว่าผลผลิตปลานิลประมาณ 970,756 ล้านตัน และในปี ค.ศ. 2012 พบว่าผลผลิตมีปริมาณมากถึง 2,334,432 ล้านตัน (FAO, 2012) ปลานิลได้นำเข้าสู่ประเทศไทยครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2508 จำนวน 50 ตัว โดยมณฑลราชกุมารอาเกอิโต แห่งประเทศญี่ปุ่น ได้ทรงจัดส่งเข้ามาทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวต่อมาจึงพระราชทานนามว่า “ปลานิล” โดยทรงให้เลี้ยงในสระที่พระราชวังสวนจิตรลดา และได้พระราชทานพันธุ์ดังกล่าวให้กับกรมประมงเพื่อนำมาขยายพันธุ์และแจกจ่ายแก่พสกนิกรและปล่อยลงตามแหล่งน้ำ (กรมประมง, 2549) ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยนั้น มีอัตราการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นและมีการปรับปรุงสายพันธุ์และพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีลักษณะและคุณภาพตรงกับความต้องการของตลาดต่างประเทศ เช่น ปลานิลแปลงเพส ปลานิลทริลอยด์ และการเลี้ยงปลานิลในน้ำที่มีความเค็มต่ำ เพื่อแก้ไขปัญหากลิ่นสาบโคลน เป็นต้น โดยส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงเพื่อการบริโภคภายในประเทศ



ภาพที่ 2.2 กลุ่มประเทศที่ผลิตปลาเพื่อการค้า

ที่มา : กรมประมง (2553)



ภาพที่ 2.3 ปริมาณสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ผลิตได้ในปี ค.ศ. 2012

ที่มา : FAO (2012)

2.2.2 งานวิจัยที่ใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลอง

เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่นิยมเพาะเลี้ยงอยู่ทั่วโลก จึงพบงานวิจัยที่หลากหลายในการใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลอง Yang (1998) ใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลองต้นแบบแทนปลาชนิดอื่นในระบบการเลี้ยงแบบ Cage-cum-pond เพราะปลานิลเป็นปลาที่ปรับตัวได้ดี นอกจากนี้ Meyer (2001) ยังใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลานิลในการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิลเพื่อเป็นการช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่น พบว่าสูตรอาหารที่มีปริมาณโปรตีน 25 – 30 เปอร์เซ็นต์เหมาะแก่การเลี้ยงปลานิลมากที่สุด Bolivar *et al.* (2002) ทำการคัดเลือกปลานิลเพื่อเป็นสัตว์ทดลองต้นแบบด้วยวิธีการคัดปลานิลทั้งหมด 12 รุ่น โดยปลาที่ได้มีอัตราการเจริญเติบโตขึ้นคือเป็นน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น 2.2 กรัมในแต่ละรุ่น หรือคิดเป็น 12.4 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ปลานิลในการทดสอบผลที่เกิดจากการได้รับสารพิษจำพวกโลหะหนักในแหล่งน้ำอีกด้วย เช่น ในการทดลองของ Almeida *et al.* (2002) ได้ใช้ปลานิลในการทดสอบผลที่เกิดจากความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่ามีการลดลงของไกลโคเจนและกลูโคสในกล้ามเนื้อของปลานิล ส่วน Maurilio *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาประโยชน์ของโปรไบโอติก 3 ชนิด (แบคทีเรีย 2 ชนิด และอีกชนิดเป็นยีสต์) ที่ผสมในอาหารปลานิลเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับโปรไบโอติกแต่ละชนิดกับปลานิลกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก พบว่าปลานิลที่ได้รับยีสต์เป็นโปรไบโอติกมีการเติบโตดีที่สุดที่สุทธองลงมา คือ ปลานิลที่ได้รับแบคทีเรีย และปลานิลกลุ่มควบคุมตามลำดับ ส่วนงานวิจัยของ Wan *et al.* (2004) ทดสอบการต้านทานเชื้อ *Aeromonas sobria* ที่ก่อให้เกิดโรคในปลานิล 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *O. niloticus*, *O. aureus* และปลานิลพันธุ์ผสม (*O. niloticus* x *O. aureus*) พบว่าปลานิลสายพันธุ์ผสมมีการต้านทานเชื้อ *A. sobria* ดีที่สุดรองลงมาคือ *O. niloticus* และ *O. aureus* ตามลำดับ

ในการใช้ปลานิลเป็นสัตว์ทดลองที่เกี่ยวข้องกับงานในระดับโมเลกุลนั้น Rahman (1998) ถ่ายยีน Growth hormone ของปลาแซลมอลให้แก่ปลานิล เพื่อให้มีการเติบโตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ Matta *et al.* (2002) ได้ใช้ปลานิลเป็นปลาต้นแบบ เพื่อทดสอบผลของสาร 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) พบว่าปลานิลที่ได้รับ PTU ในปริมาณ 100 – 500 ppm จะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ช้ากว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ PTU

2.2.3 ชีวิตวิทยาของปลานิล

2.2.3.1 รูปร่างลักษณะ

ปลานิลมีลักษณะลำตัวสั้น แบนข้าง มีริมฝีปากบนและริมฝีปากล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ตรงกลางมีสีเข้ม ที่กระดุกแก้มมีจุดสีเข้ม 1 จุด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกร็ดมีสีเข้ม มีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ครีบหลังเป็นครีบเดี่ยวประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-19 อัน มีเกล็ดบนเส้นข้างลำตัว 33 เกล็ด ทางด้านข้างลำตัวมีเกล็ดเป็นแนวเฉียงจากตอนบนของครีบหลัง จนมาถึงเส้นข้างลำตัว 6 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวถึงส่วนหน้าของครีบกัน 13 เกล็ด บริเวณปลายอ่อนของครีบหลัง ครีบกัน และครีบหางมีจุดสีขาว สีดำตัดขวางอยู่ทั่วไป (ศักดิ์ชัย ชูโชติ, 2536)







สายพันธุ์ปลากลุ่ม Tilapia ประมาณ 77 สายพันธุ์ ล้วนเป็นปลาพื้นเมืองของทวีปแอฟริกา และปาเลสไตน์ ซึ่งพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืดอาทิแม่น้ำ หนอง คลอง บึง และทะเลสาบของ

ประเทศชูดาน (George, 2005) ปลานิสส่วนใหญ่แพร่กระจายอยู่ในทวีปอเมริกากลาง และอเมริกาใต้ ลุ่มแม่น้ำไนล์ ประเทศอียิปต์ และปาเลสไตน์ เครือวัลย์ สถิติรัตน์ (2542) ได้รายงานสายพันธุ์ปลากลุ่ม Tilapia ที่มีการเลี้ยงในแถบเขตร้อน (ภาพที่ 2.4) ได้แก่

- Nile tilapia (*O. niloticus*) เป็นปลานิลซึ่งให้ผลผลิตสูง
- Blue tilapia (*O. aureus*) เป็นสายพันธุ์ที่ทนความหนาวเย็น
- Mozambique tilapia (*O. mossambicus*)
- Sarotherodon (*Sarotherodon galilaeus*)
- Blackchin tilapia (*Sarotherodon melanotheron*)
- Redbelly tilapia (*Tilapia zillii*)

ปลานิลสายพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงมากที่สุดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มี 2 สายพันธุ์หลักคือ Nile tilapia, red tilapia hybride (FAO, 2012) ในปัจจุบันพบว่าต่างประเทศได้มีการใช้โปรแกรม เช่น GIFT, GMT/YY-supermale, IDRC และ SEAFDEC ในการจัดการพันธุกรรมปลานิล เพื่อผลิตปลานิลที่มีคุณภาพเหมาะแก่การเพาะเลี้ยงในฟาร์ม (Rashed *et al.*, 2009; Khaw *et al.*, 2009)



สายพันธุ์	ลักษณะ	ที่มา
<i>O. niloticus</i>		http://www.pharon.4t.com/photo.html
<i>O. aureus</i>		http://www.pharon.4t.com/photo.html
<i>O. mossambicus</i>		http://www.aquapages.fr/poissons/dossier_51_o_reochromis+mossambicus.html
<i>S. galilaeus</i>		http://www.pharon.4t.com/photo.html
<i>S. melanotheron</i>		http://fishbase.sinica.edu.tw/Summary/SpeciesSummary
<i>Tilapia zillii</i>		http://www.pharon.4t.com/photo.html

ภาพที่ 2.4 สายพันธุ์ปลากลุ่ม Tilapia ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเขตร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 สายพันธุ์ปลานิลที่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย

สายพันธุ์ปลานิลในประเทศไทยนั้น กรมประมงได้พัฒนาและปรับปรุงใช้ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาเป็นลำดับ เช่น ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 1 จิตรลดา 2 และจิตรลดา 3 เป็นต้น ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 1 เดิมเป็นปลานิลที่ปรับปรุงสายพันธุ์แบบคัดเลือกภายในครอบครัว (Within family selection) เริ่มดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ในปี พ.ศ. 2528 จนถึงปัจจุบันเป็นรุ่นที่ 7 มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าปลานิลจิตรลดา 1 ที่ยังไม่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์โดยมีอัตราเพิ่มขึ้น ส่วนปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 เป็นปลานิลที่พัฒนาพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา โดยการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมในพ่อพันธุ์ให้มีโครโมโซมเป็น "YY" ที่เรียกว่า "YY - Male" หรือซูเปอร์เมล ซึ่งเมื่อนำพ่อพันธุ์ดังกล่าวไปผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ปกติจะได้ลูกปลานิลเพศผู้ที่มีลักษณะเด่นคือ เป็นเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพศเป็น "XY" ส่วนหัวเล็กลำตัวกว้าง สีขาวนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี อายุ 6-8 เดือน สามารถเติบโตได้ขนาด 2-3 ตัวต่อกิโลกรัม และปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากการนำปลานิลพันธุ์ผสมกลุ่มต่างๆ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา และ ปลานิลสายพันธุ์อื่นๆ อีก 7 สายพันธุ์จากประเทศต่างๆ ได้แก่ อียิปต์ กานา เคนยา สิงคโปร์ เซเนกัล อิสราเอล และไต้หวัน ซึ่งมีการเติบโตเร็วและมีอัตราการอยู่รอดสูงในสภาพแวดล้อมการเลี้ยงต่างๆ มาผลิตเป็นประชากรพื้นฐาน จากนั้นจึงดำเนินการคัดพันธุ์ในประชากรพื้นฐานโดยวิธีแยกแบบลักษณะครอบครัวร่วมกับวิธีแยกแบบลักษณะภายในครอบครัว ปลานิลชั่วอายุที่ 1-5 ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์โดยหน่วยงาน ICLARM ในประเทศฟิลิปปินส์ จากนั้นจึงนำลูกปลาชั่วอายุที่ 5 เข้ามาในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2538 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำจึงได้ปรับปรุงปลาพันธุ์ดังกล่าวต่อโดยวิธีการเดิมจนในปัจจุบันได้ 2 ชั่วอายุ ปลานิลสายพันธุ์นี้มีลักษณะเด่น คือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีเหลืองนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี อายุ 6-8 เดือน สามารถเติบโตได้ขนาด 3-4 ตัวต่อกิโลกรัม (ภูมิไทยฟาร์ม, 2551; กรมประมง, 2549)

2.2.5 การนำเข้าปลากลุ่ม Tilapia ของภาครัฐและภาคเอกชน

ปัจจุบันสายพันธุ์ปลานิลในประเทศไทยถูกพัฒนาอยู่ในระดับแถวหน้าของโลก ปลานิลสายพันธุ์ของทั้งภาครัฐและเอกชนแทบไม่แตกต่างกันมากนัก แต่การจัดการและคัดเลือกปลา เพื่อนำไปเป็น พ่อ-แม่พันธุ์ที่ดี ขึ้นอยู่กับเทคนิคและมาตรฐานของแต่ละฟาร์มเป็นตัวกำหนด ซึ่งการนำเข้าสายพันธุ์อื่นมาผสมกับสายพันธุ์ที่มีอยู่เดิมนั้นเพื่อป้องกันการเกิดเลือดชิด (ภูมิไทยฟาร์ม, 2551) ส่วนในภาครัฐมีการนำเข้าปลานิลจากศูนย์ WorldFish Center เป็นปลานิลสายพันธุ์ GIFT รุ่นที่ 9 จากประเทศมาเลเซีย เพื่อนำมาผสมข้ามสายพันธุ์กับปลานิลจิตรลดา 4 ในประเทศไทย (นวลมณี พงศ์ธนา และคณะ, 2550) ผลของการผสมข้ามสายพันธุ์จะได้ลูกพันธุ์ที่มีลักษณะดีจากพ่อแม่ เช่น มีการเติบโตที่รวดเร็ว อัตราการแลกเนื้อต่ำ และมีความต้านทานโรคสูง เป็นต้น (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2536)

2.3 ชีวิตวิทยาของปลาหมอเทศ




ปลาหมอเทศ (*O. mosambicus*) เป็นปลาในตระกูล *Oreochromis* เช่นเดียวกับปลานิล เดิมเป็นปลาพื้นเมืองของประเทศแอฟริกา พบได้ตามปากแม่น้ำชายฝั่งทะเลสาบ(ภาพที่ 2.5) นำเข้ามาในประเทศไทยก่อนหน้าปลานิลในปี พ.ศ. 2544 มีลักษณะคล้ายกับปลานิล (ตารางที่ 2.1) แต่ไม่นิยมบริโภค เนื่องจากเนื้อแข็งกว่าปลานิล และมีคุณภาพของซากดำหิวโตและอัตราการเจริญเติบโตช้า เกษตรกรจึงเลิกเพาะเลี้ยงไป การปล่อยปลาหมอเทศลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทำให้มีการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลานิลและปลาหมอเทศ ลูกผสมที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะค่อนข้างไปทางปลาหมอเทศ มีลักษณะของหัวที่โตกว่าปลานิล ตัวมีสีเข้มค่อนข้างดำ การเจริญเติบโตช้ากว่าปลานิลสายพันธุ์แท้ (สุภัทรา อุไรวรรณ, 2531; มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2536)

ปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) มีลักษณะลำตัวแบนข้าง ปากล่างยาวกว่าปากบน และตัวผู้จะมีปากใหญ่กว่าตัวเมีย มีก้านครีบแข็งที่ส่วนหลัง 15-18 อัน และก้านครีบอ่อน 10-13 ส่วนครีบกันมีก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9-10 อัน ตัวผู้จะมีขอบหางสีส้มหรือแดง พบปลาหมอเทศได้บริเวณป่าชายเลนหรือบริเวณปากน้ำใกล้ชายฝั่ง นอกจากนี้ ยังพบว่ามีการแพร่กระจายของปลาหมอเทศในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้อีกหลายประเทศ (FAO, 2012)

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพของปลานิล (*O. niloticus*) และปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*)

ชนิด	ปลานิล (<i>O. niloticus</i>)	ปลาหมอเทศ (<i>O. mossambicus</i>)
Dorsal fin (spines)	มี 16-17 อัน	มี 15-18 อัน
Dorsal fin (rays)	มี 11-15 อัน	มี 10-13 อัน
Anal fin (spines)	มี 3 อัน	มี 3 อัน
Anal fin (rays)	มี 10-11 อัน	มี 9-10 อัน
ปาก (Mouth)	ปากบนเสมอปากล่าง	ปากล่างยาวกว่าปากบน
ลาย (Skin)	มีลายข้างลำตัว	ไม่มีลายข้างลำตัว

ที่มา : ดัดแปลงจาก FAO (2012)

ปลาหมอเทศ (<i>O. mossambicus</i>)	ที่มา
	http://library.thinkquest.org/03oct/00946/accounts/fish.htm
	http://www.monsterfishhkeepers.com/forums/showthread.php?263447-Oreochromis-mossambicus
	http://www.jcu.edu.au/archive/actfr_old_Projects/Pestfish/Profiles/Tilapia/OmossambicusPhotos.htm

ภาพที่ 2.5 รูปร่าง และลักษณะของปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*)

2.4 การศึกษาความหลากหลายด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางโมเลกุล

ความหลากหลายทางพันธุกรรมนั้นเป็นส่วนหนึ่งของความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศที่มี 3 ประเภท ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) ความหลากหลายของชนิด (Species diversity) และความหลากหลายของที่อยู่อาศัย (Habitat diversity) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจำเป็นต้องทำการศึกษาคำเครื่องหมาย (Marker) เพื่อบ่งชี้ความแตกต่างของความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ โดยอาจเป็นการจำแนกความแตกต่างทั้งในระหว่างและภายในสปีชีส์ ระหว่างภายในประชากรหรือระหว่างแต่ละตัว เครื่องหมายที่ใช้ศึกษา คือ เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางพันธุกรรมระดับโมเลกุล

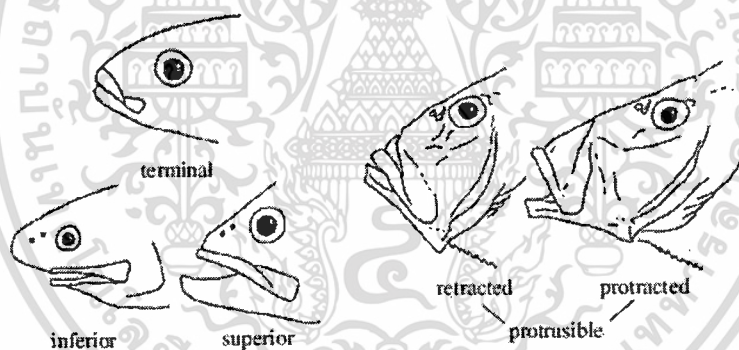
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในการใช้วิธีเปรียบเทียบ ลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือทางสรีรวิทยา การตรวจสอบเหล่านี้มักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อม ทำให้ตรวจสอบผลผิดพลาดได้ และในบางครั้งต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ ต้องบอกเงื่อนไขที่ตรวจสอบได้ ในการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยายังมีความจำเป็นอันดับแรกที่ใช้ในการจำแนกชนิดของสัตว์ที่เราทำการศึกษาแล้วจึงใช้วิธีอื่นประกอบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความน่าเชื่อถือมากขึ้น ลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือสรีรวิทยาอาจแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือ

2.4.1.1 การศึกษาเชิงคุณภาพ

การศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพนั้นเป็นการดูลักษณะปรากฏ เช่น ลายขางลำตัว สี ลักษณะของปาก เป็นต้น (ภาพที่ 2.6) ลักษณะของปลาส่วนใหญ่เมื่อโตเต็มวัยจะมีรูปร่างแบบสมมาตร ร่างกายแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว เริ่มตั้งแต่ปลายสุดของจงอยปาก จนถึงส่วนริมสุดของกระดูกกระดูกซี่โครง ส่วนนี้เป็นที่รวมของอวัยวะรับความรู้สึก ได้แก่ ตา หู ปาก จมูก ในปลาบางชนิดจะมีหนวดด้วย ภายในช่องปากจะมีเหงือกและฟัน ส่วนของกะโหลกศีรษะจะเป็นจุดกำเนิดของสมองและเส้นประสาทสำคัญต่างๆ



ภาพที่ 2.6 ตำแหน่ง และลักษณะของปากที่แตกต่างกัน

ที่มา : Carpenter and Niem (1999)

ลำตัว ส่วนของลำตัวเริ่มจากส่วนปลายสุดของกระดูกกระดูกซี่โครงจนถึงระดับรูทวาร ส่วนลำตัวของปลาที่มีเกล็ดจะเป็นส่วนที่มีเกล็ดหนาแน่นที่สุด เพื่อช่วยในการปกคลุมลำตัวป้องกันอันตรายจากภายนอก มีเส้นข้างตัว มีครีบช่วยในการทรงตัวและเคลื่อนไหว เป็นที่ตั้งของระบบอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินโลหิต ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์ ฯลฯ

ส่วนหาง ส่วนสุดท้ายของตัวปลา โดยเริ่มจากรูทวารเป็นต้นไปจนจรดปลายสุดของลำตัว เป็นส่วนที่มีเกล็ดปกคลุมอยู่และมีกล้ามเนื้อหนาแน่น เพื่อใช้ในการว่ายน้ำ มีครีบหางช่วยในการหันเหทิศทางการล่้ายกับหางเสือ และช่วยในการทรงตัว

2.4.1.2 การศึกษาเชิงปริมาณ

การศึกษาเชิงปริมาณ ได้จากการวัดขนาดของตัวปลาไม่ได้มีแต่การวัดความยาวและความกว้างเท่านั้น ทุกๆ ส่วนภายในร่างกายปลานั้น สามารถนำมาวัดได้ทั้งสิ้น เช่น ความยาวของส่วนหัว ความสูงของก้านครีบ ความกว้างของตา และความยาวของกระดูกขากรรไกร เป็นต้น การวัดขนาดของปลา แบ่งออกได้ ดังนี้ (ภาพที่ 2.7)

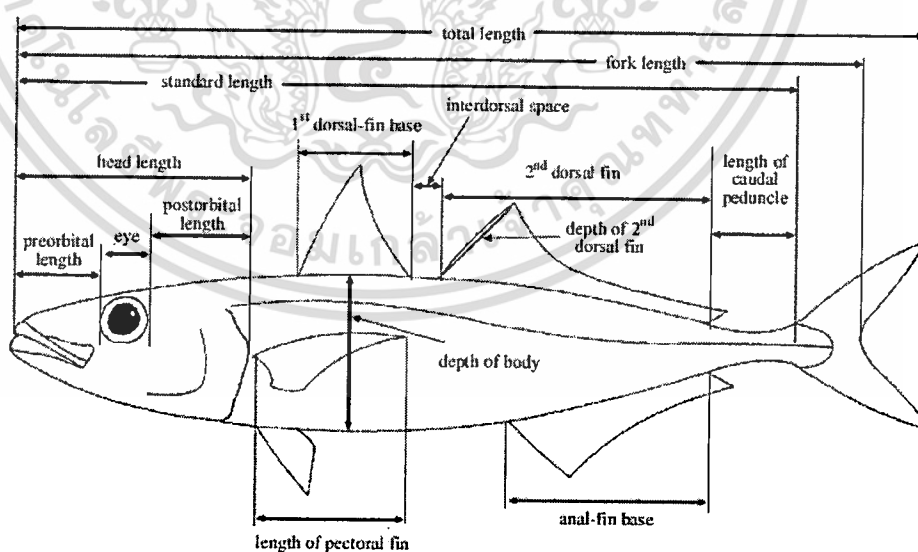
(ก) การวัดความยาวทั้งสิ้นหรือความยาวเหยียด (Total length) หมายถึง การวัดความยาวเป็นเส้นตรงจากส่วนปลายสุดของจะงอยปากจนถึงปลายสุดของครีบหาง

(ข) การวัดความยาวมาตรฐาน (Standard length) หมายถึง การวัดความยาวเป็นเส้นตรงจากส่วนปลายสุดจนถึงจะงอยปาก จนถึงฐานครีบหางซึ่งเป็นส่วนสุดท้ายของกระดูก Hypural plate ทราบได้โดยการงอส่วนหางของปลาขึ้น รอยหักตรงบริเวณคอคอดหาง ถือเป็นส่วนสุดท้ายของกระดูกชิ้นนี้

(ค) การวัดความลึก (Body depth) หมายถึง การวัดในแนวตั้งลงมาเป็นเส้นตรงจากส่วนบนสุดของตัวปลาเมื่อหุบครีบแล้วจนถึงส่วนท้องของตัวปลา

(ง) การวัดความกว้าง (Body width) หมายถึง การวัดระยะทางจากด้านข้าง ด้านใดด้านหนึ่ง ไปจนถึงด้านข้างอีกด้านหนึ่ง

(จ) น้ำหนักตัว (Body weight) หมายถึง น้ำหนักมวลรวมที่ชั่งได้



ภาพที่ 2.7 การวัดขนาดและสัดส่วนต่างๆ ของปลา

ที่มา : Carpenter and Niem (1999)

สาเหตุที่มีการศึกษาด้านปริมาณหลายแบบนั้น เนื่องจากปลามีรูปร่างต่างๆ มากมาย บางครั้งต้องอาศัยการศึกษาที่ต่างกัน เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ และหาข้อมูลทางสถิติเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์ชนิด และประโยชน์ทางการประมง เช่น งานทดลองของ Roman *et al.* (2007) ที่รายงานว่าการจำแนกทางสัณฐานวิทยา ทางชีววิทยา และสรีรวิทยาของกลุ่มปลาที่เลี้ยงมีประโยชน์ในการเป็นข้อมูลภูมิหลังสำหรับการศึกษาต่อยอดในงานทดลอง นอกจากนี้ El-Zaeem *et al.* (2012) ได้ศึกษาปลานิลจากแหล่งน้ำธรรมชาติ 3 แหล่ง เทียบกับปลานิลที่เลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยง ด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของลักษณะเชิงปรากฏของแต่ละแหล่งเพื่อใช้ข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างของปลานิลแต่ละแหล่งที่มา พบว่าปลานิลทั้ง 2 แหล่งมีความแตกต่างของลักษณะสัณฐานวิทยา โดยมีความแตกต่างของสัดส่วนลำตัวของปลานิลจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่เล็กกว่าปลานิลที่เลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังพบว่าปลานิลในโรงเพาะเลี้ยงมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าปลานิลตามแหล่งน้ำธรรมชาติอีกด้วย

2.4.2 เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (Molecular marker)

เครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน ซึ่งเป็นการตรวจสอบโมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และระดับดีเอ็นเอ ซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552) เทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาระดับดีเอ็นเอ ได้แก่ เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ซึ่งเป็นการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นได้จากการตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme) ดังนั้นเมื่อทำการตัดดีเอ็นเอเป้าหมายโมเลกุลหนึ่งด้วยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดหนึ่ง จะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ แต่ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแบบใดแบบหนึ่งที่เกิดขึ้นในตำแหน่งดีเอ็นเอ จะได้ขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ต่างกัน เทคนิค Random Amplified Polymorphic Polymorphic DNA (RAPD) เป็นการประยุกต์เทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นๆ เพียงชนิดเดียวสุมเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากหลายตำแหน่งพร้อมๆ กัน เนื่องจากเป็นไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้นจึงสามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ (Template) ได้หลายตำแหน่ง และเป็นเทคนิคที่ไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา ส่วนเทคนิค AFLP คล้ายกับเทคนิค RFLP แต่ต่างกันตรงที่นำชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ตัดแล้วมาเพิ่มปริมาณบ้างชิ้นส่วนที่สนใจด้วยเทคนิค PCR ซึ่งการเลือกใช้เทคนิคต่างๆ ที่กล่าวมาขึ้นอยู่กับระดับของงานที่เราสนใจศึกษาตามตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบเทคนิคของเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่างๆ

	RFLP	RAPD	AFLP	SSR
หลักการ	ตัดด้วยเอนไซม์ ตัดจำเพาะและทำ Southern blot hybridization	เพิ่มปริมาณโดย PCR ใช้ไพร เมอร์แบบสุ่ม	เพิ่มปริมาณดี เอ็นเอที่ตัดด้วย เอนไซม์ตัด จำเพาะบางส่วน โดย PCR	เพิ่มปริมาณส่วน ไมโครแซเทล ไลท์โดย PCR
โอกาสพบในจี โนม	สูง	สูงมาก	สูง	ปานกลาง
ระดับพอลิมอร์- ฟิซึม	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	สูง
การข่ม	Codominance	Dominance	Dominance เป็นส่วนใหญ่	Codominance
ปริมาณดีเอ็นเอที่ ใช้	2-10 μ g	10-50 ng	1-2 μ g	10-50 ng
ต้องทราบข้อมูล ลำดับเบส	ไม่ต้องการ	ไม่ต้องการ	ไม่ต้องการ	ต้องการ
ใช้สาร กัมมันตรังสี	ใช้หรือไม่ใช้ก็ได้	ไม่ใช้	ใช้หรือไม่ใช้ก็ ได้	ใช้หรือไม่ใช้ก็ ได้
ค่าใช้จ่ายในการ พัฒนา	ปานกลาง	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
ค่าใช้จ่ายเริ่มต้น	ปานกลาง-สูง	ต่ำ	ปานกลาง	สูง

ที่มา : ดัดแปลงจากสุรินทร์ ปิยะ โชคณากุล (2552)

2.4.2.1 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

RFLP เป็นการหาความหลากหลายของดีเอ็นเอด้วยการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่แยกได้จากแบคทีเรีย และจะตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งที่มีการเรียงตัวของเบสแบบจำเพาะเรียกว่าตำแหน่งจดจำ (Recognition site) ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์แต่ละชนิดประกอบด้วยเบส 4 ถึง 8 คู่เบส ดังนั้นเมื่อใช้เอนไซม์ชนิดหนึ่งตัดดีเอ็นเอเป้าหมายโมเลกุลหนึ่ง จะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ ถ้าดีเอ็นเอเป้าหมายมาจากแหล่งต่างกันและมีลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อทำการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกันแล้วจะได้ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอไม่เท่าเดิม เมื่อทำการตรวจสอบผลด้วยวิธีการเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

2.4.2.2 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

RAPD วิธีนี้คิดค้นโดย Williams *et al.* (1990) เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม RAPD เป็นเทคนิค PCR แบบหนึ่งที่น่าสนใจในการจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น type หรือ subtype โดยอาศัยหลักการแยกในระดับดีเอ็นเอ ไพรมเมอร์จะเข้าจับกับตำแหน่งที่เป็นเบสคู่สม (Complementary base) บนสายดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งอาจจะกระจายอยู่ที่วบบนจีโนม เรียกไพรมเมอร์ลักษณะนี้ว่า Single arbitrary primer เป็นไพรมเมอร์ที่มีขนาดสั้นๆ นิยมใช้ 10 นิวคลีโอไทด์ และมี GC content ค่อนข้างสูงประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ (ต่ำสุด 50 เปอร์เซ็นต์) ไพรมเมอร์เหล่านี้เป็นไพรมเมอร์ที่มีการจับกับดีเอ็นเอแบบสุ่ม มีการสุ่มหาลำดับเบสเป้าหมาย ที่กระจายอยู่ใน Genomic DNA ที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ การจับกันระหว่างไพรมเมอร์กับลำดับเบสเป้าหมายนี้มี 2 กรณีคือ จับกันได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และจับกันได้บางส่วนเนื่องจากชิ้นดีเอ็นเอที่ใช้เป็นรหัสเริ่มต้นมีขนาดสั้น จึงสามารถเข้ากับสารพันธุกรรมได้หลายตำแหน่ง โดยการสุ่มเข้าคู่หากเกิดการเข้าคู่ในทิศทางที่เหมาะสมก็จะทำให้เกิดการจำลองตัวของชิ้นดีเอ็นเอจำนวน และแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากไพรมเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอได้หลายบริเวณซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดก็มีรูปแบบทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันไป

2.4.2.3 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

AFLP เทคนิคนี้เป็นการตัดสายดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ จากนั้นทำการเชื่อมด้วย Adapter ซึ่ง Adapter นี้ประกอบด้วยดีเอ็นเอสายคู่สั้นเล็กๆ ที่มีปลายด้านหนึ่งเป็นปลายเหนียวเหมือนกับปลายของโมเลกุลดีเอ็นเอที่ผ่านการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เลือกใช้ บริเวณที่เชื่อมต่อนี้เป็นตำแหน่งจับของไพรมเมอร์ในการทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ โดยไพรมเมอร์จะมีลำดับที่เป็นคู่สมกับส่วนของ Adapter รวมกับส่วนของเบสที่ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ และมีการเพิ่มเบส 2-3 เบสที่ปลาย 3 เพื่อให้เกิดการเลือกจับได้เฉพาะชิ้นดีเอ็นเอที่มีเบสเป็นคู่สมกันเท่านั้น ทำให้มีการเพิ่มของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป็นบางส่วน และสามารถกำหนดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณได้จากจำนวนเบสที่เพิ่มเข้าไปแล้วจึงนำมาแยกขนาดด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยพอลิเมอร์ซีเอ็มจะเกิดจากการเพิ่ม การลด หรือการจัดเรียงตัวใหม่ของเบสที่ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะทำให้ได้ขนาดของชิ้นดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไป

2.4.2.4 Simple Sequence Repeat (SSR)

SSR หรือ Microsatellite เป็นเทคนิคที่ใช้ประโยชน์จากการซ้ำกันของลำดับเบสในจีโนมของยูคาริโอตมีส่วนของดีเอ็นเอที่มีลักษณะเป็นชุดซ้ำๆ ต่อเนื่องกัน SSR เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบจำเพาะ ตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละ 1 ตำแหน่ง (single-locus marker) และตรวจในตำแหน่งที่เรียกว่าไมโครแซเทลไลท์มักเป็นลำดับเบสจำเพาะที่มีเพียงชุดเดียวในจีโนม แต่ต้องทราบลำดับเบสของตำแหน่งที่อยู่ใกล้เคียงตำแหน่งไมโครแซเทลไลท์ และเป็นเทคนิคที่มีค่าใช้จ่ายสูง

2.5 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมสัตว์น้ำโดยใช้เทคนิค RAPD-PCR

Hassanien *et al.* (2004) รายงานว่า RAPD เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วสามารถทำได้ทั้งในพืช สัตว์ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก มีการทำในปลาหลายชนิดด้วยกัน เช่น ปลานิล ปลาชามอล ปลาเทราท์ และปลากะพง เช่นเดียวกับรายงานของ Ali *et al.* (2004) ที่ทำการรวบรวมเทคนิค RAPD-PCR ในสัตว์น้ำชนิดต่างๆ ได้แก่ ปลาการ์ฟ ปลานิล ปลาอุก ปลาหางนกยูง และปลาทะเลชนิดอื่นๆ

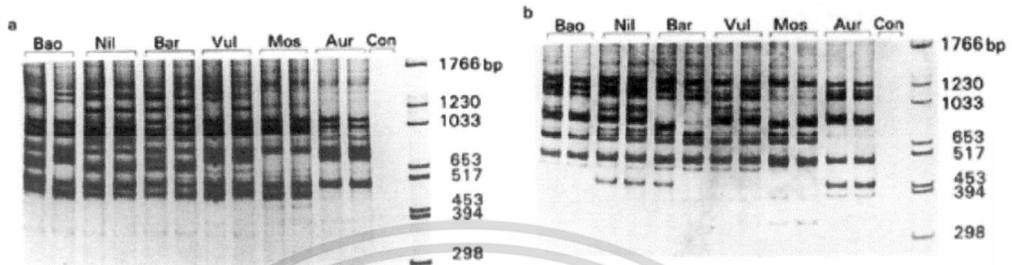
ชวิน ต้นพิทยคุปต์ และอุทัยรัตน์ ณ นคร (2548) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากัดที่พบในประเทศไทย 7 ชนิด (ชนิดละ 20 ตัว) ตัวจากแหล่งน้ำธรรมชาติด้วยเทคนิค RAPD-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 40 ไพรเมอร์ แล้วเลือกเฉพาะไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนมีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมาะสมสามารถทำซ้ำได้ และมีความหลากหลายเพื่อนำไปใช้ในการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ พบว่าไพรเมอร์ที่เกิดแถบดีเอ็นเอได้ดีคือ OPA03 และ OPA09

Rashed *et al.* (2008) เก็บตัวอย่างปลานิลแหล่งละ 20 ตัว และใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 10 ชนิด โดยสกัดดีเอ็นเอจากครีบทางด้วยวิธีการของ Hillis and Moritz (1990) เพื่อดูความหลากหลายของภายในประชากรปลากลุ่มเดียวกัน และดูความหลากหลายระหว่างกลุ่มประชากร พบว่าปลานิลในชูดาน พบว่าปลาแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกัน โดยปลานิลบริเวณ Giza มีความเหมือนกับบริเวณ Aswan แต่ประชากรปลานิลทั้งสองกลับมีความแตกต่างกับบริเวณ Quanter เมื่อทำการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ

Appleyard and Mather (2002) ทำการจำแนกปลานิลที่เพาะเลี้ยงในประเทศฟิจิด้วยเทคนิค RAPD-PCR โดยเปรียบเทียบความหลากหลายทางพันธุกรรมกับปลา 4 แหล่งที่เก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ ได้แก่ *O. niloticus* (สายพันธุ์จิตรลดา), *O. niloticus* (ประเทศอิสราเอล), *O. mossambicus* และปลานิลแดง ใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 7 ชนิดด้วยกันเพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ปลานิลต่อไป

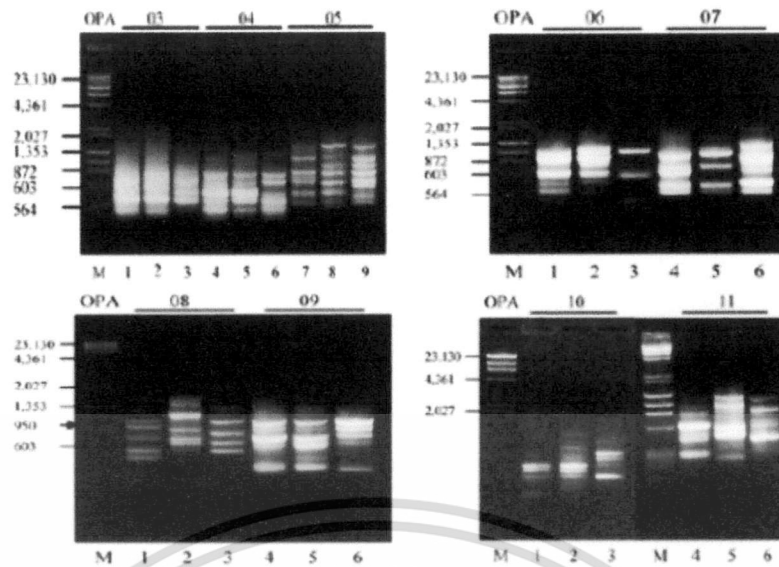
Soufy *et al.* (2009) จำแนกความหลากหลายของสายพันธุ์ปลานิล *O. niloticus*, *S. galilaeus* และ *T. zilli* ใช้ primer ทั้งหมด 7 ชนิดพบว่า *O. niloticus* และ *S. galilaeus* มีความเหมือนกัน 95% ส่วน *O. niloticus* กับ *T. zilli* เหมือนกัน 75% และไพรเมอร์ที่ใช้เกิด band ทุกชนิด

Bardakci and Skibinski (1994) ทำการระบุหา species และ subspecies ของปลานิล (*O. niloticus*) 4 subspecies โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 13 ชนิด (ภาพที่ 2.8) พบว่าความคล้ายภายในประชากร *O. mossambicus* มีมากที่สุด ต่ำสุดคือ *O. niloticus* (baobab) ส่วนความแตกต่างระหว่าง subspecies พบว่า *O. aureus* มีความต่างจากกลุ่มอื่นมากที่สุด รองลงมาเป็น *O. mossambicus*



ภาพที่ 2.8 รูปแบบของ RAPD-PCR จากปลากลุ่ม Tilapia ทั้ง 6 species และ subspecies โดยใช้ไพรเมอร์ OPA 04 (a) และ OPA 07 (a) ตรวจสอบโดยใช้โพลีเอทิลีนไคนด์เจล
ที่มา : Bardakci and Skibinski (1994)

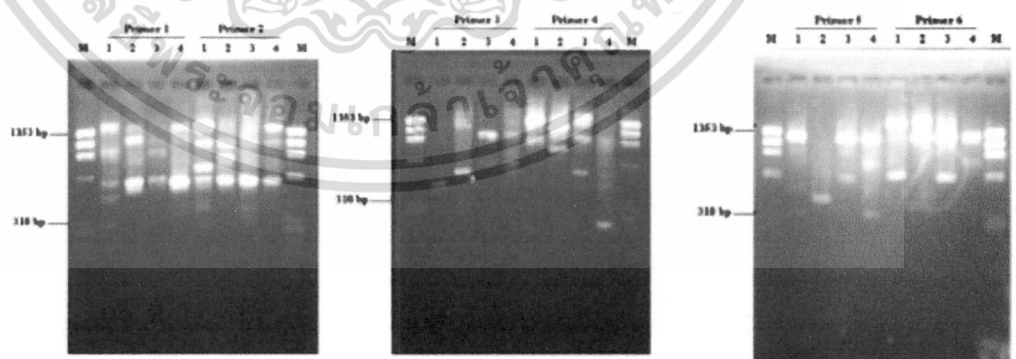
Alfy *et al.* (2009) ทำการทดลองกับปลานิล 3 สายพันธุ์ *O. niloticus*, *O. aureus* และ *T. zillii* ใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 11 ชนิด (ภาพที่ 2.9) คำนวณหาค่า Genetic similarity (S) และทำ Dendrogram หาค่าความสัมพันธ์พบว่า *T. zillii* มีความแตกต่างจาก 2 สายพันธุ์ ส่วนค่า Similarity Coefficient ที่พบใน *O. niloticus* และ *O. aureus* เป็น 61.2% *O. niloticus* และ *T. zillii* เป็น 42.8 เปอร์เซ็นต์ *O. aureus* และ *T. zillii* เป็น 37 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2.9 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR (lane 1, 4, 7: *O. niloticus*; lane 2, 5, 8 : *O. aureus*; lane 3, 6, 9 : *T. zillii*)

ที่มา : Alfy *et al.* (2009)

El -Zaeem *et al.* (2012) ทำการหาความแตกต่างทางลักษณะปรากฏโดยใช้ตัวอย่างปลานิลแหล่งละ 50 ตัวอย่าง และทำการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อตับตามวิธีการของ Bardacki and Skibinski (1994) และนำมาเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ 6 ชนิดตามวิธีการ RAPD-PCR (ภาพที่ 2.10) พบว่าประชากรปลานิลในทะเลสาบ Manzalah และ Eduku มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมสูง (64 เปอร์เซ็นต์) ส่วนค่าความเหมือนทางพันธุกรรมต่ำที่สุด (37 เปอร์เซ็นต์) คือปลานิลในทะเลสาบ Manzalah และประชากรปลานิลที่ได้จากการเพาะเลี้ยง



ภาพที่ 2.10 รูปแบบของ RAPD-PCR จากไพรเมอร์ต่างชนิดกันในปลานิล (*O. niloticus*) ที่ทำการจับจากแหล่งธรรมชาติ 3 แหล่ง และปลานิลที่นำมาจากโรงเพาะเลี้ยง

ที่มา : El-Zaeem *et al.* (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 การใช้เทคโนโลยี RFID (Radio Frequency Identification Technology; RFID) ในสัตว์น้ำ

การติดตามรายตัวในสัตว์น้ำมีหลากหลายวิธีตั้งแต่การติดเบอร์ การทำเครื่องหมายภายนอก และการฝังเครื่องหมายภายในตัวสัตว์น้ำ สำหรับการติดเครื่องหมายหรือติดรหัส (tagging) เป็นการติดวัสดุติดตามลงในตัวอย่างที่ต้องการเก็บข้อมูลเพื่อให้สามารถเก็บข้อมูลได้ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดี (Radio Frequency Identification Technology; RFID) ซึ่งเป็นระบบบ่งชี้อัตโนมัติ (Automatic Identification) โดยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่วิทยุในการติดต่อสื่อสาร (ภาพที่ 2.12) เครื่องอ่าน (Reader) (ภาพที่ 2.13) นำมาศึกษาเพื่อใช้ในการติดตามประชากรปลานิลสายพันธุ์จิตลดา สายพันธุ์ KMITL's FishTechFarm และปลาหมอเทศ โดยสัตว์น้ำทั้งสามกลุ่มจะได้รับการฝัง RFID Tag แล้วเลี้ยงแยกแต่ละบ่อใน KMITL's FishTechFarm ดังนั้นจึงช่วยป้องกันความคลาดเคลื่อนจากการศึกษาโดยการอ่านรหัส RFID ที่ฝังลงในช่องท้องก่อนทำการศึกษาทุกครั้ง



ภาพที่ 2.11 ตัวอย่างของแท็ก RFID tag ชนิด Passive RFID

ที่มา : รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ (2551)



ภาพที่ 2.12 เครื่องอ่าน RFID Tag

ที่มา : รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

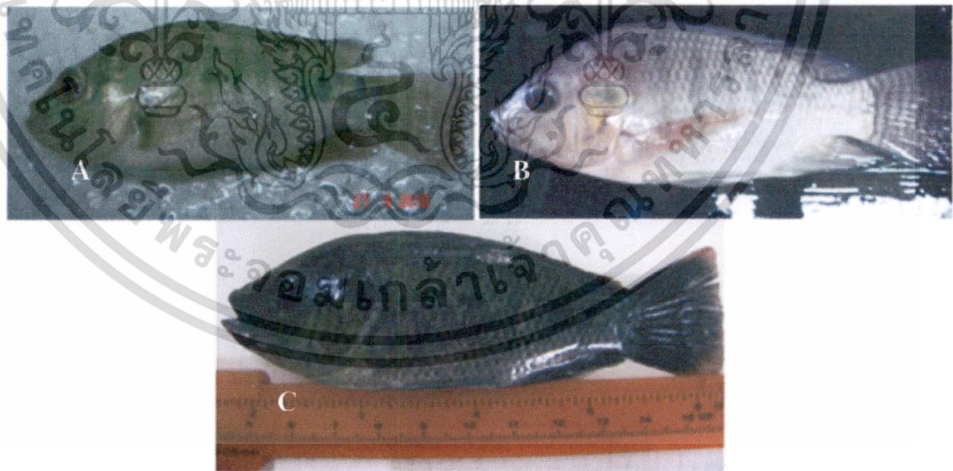
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

3.1.1 ชนิดและแหล่งของสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองมี 2 ชนิด ประกอบด้วยปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) แหล่งที่มาของสัตว์ทดลองมีทั้งหมด 3 แหล่ง ได้แก่ ปลานิลที่เลี้ยงในฟาร์มประมงคณะเทคโนโลยีการเกษตร (KMITL's FishTechFarm) ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา (นำเข้าลูกพันธุ์จากสวนจิตรลดา) นำเข้ามาวันที่ 14 มีนาคม พ.ศ. 2553 และปลาหมอเทศ จากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณศูนย์ฝึกโรงไฟฟ้าจังหวัดบางปะกง ตำบลท่าข้าม จังหวัดฉะเชิงเทรา นำเข้ามาวันที่ 25 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ทำการเลี้ยงปลาแต่ละแหล่งแยกลง 3 ถัง ถังละ 30 ตัว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คูดะกอน และเติมน้ำในถังเลี้ยงทุกๆ 3 วัน และทำการจัดปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศเป็นสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 1, 2, และ 3 ตามลำดับ

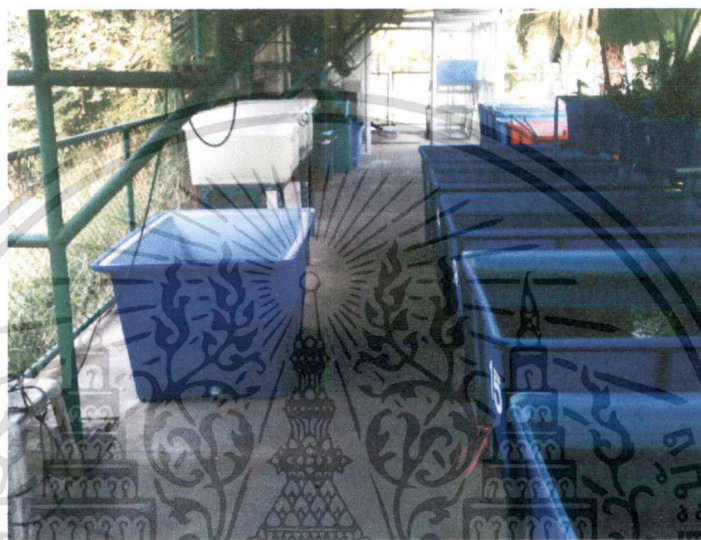


ภาพที่ 3.1 ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา (A), ปลานิลที่เลี้ยงใน KMITL's FishTechFarm (B) และปลาหมอเทศ (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

ปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลสายพันธุ์จิตรดา และปลาหมอเทศจะได้รับการฝังอุปกรณ์ติดตามรายตัว (RFID Tag) กลุ่มละ 30 ตัว ตามวิธีการของ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ (2551) ทำการพักปลาที่ฝัง RFID แล้วเป็นเวลา 2 อาทิตย์ เพื่อให้บาดแผลภายในและภายนอกหาย จากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงไว้ใน KMITL's FishTechFarm (ภาพที่ 3.2) ทำการเลี้ยงในถังที่มีระบบกรองแบบปลูกพืช ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส pH 6.7-7.2



ภาพที่ 3.2 KMITL's FishTechFarm

3.2 สารเคมี

3.2.1 เอนไซม์

3.2.1.1 เอนไซม์ RNaseA (Promega, USA)

3.2.1.2 เอนไซม์ Proteinase K (Promega, USA)

3.2.2 ดีเอ็นเอมาตรฐาน

3.2.2.1 λ HindIII (ขนาด 125, 564, 2,027, 2,322, 4361, 6,557, 9,516 และ 23,130 คู่เบส) (Fermentas, USA)

3.2.2.2 100 bp plus Ladder (ขนาด 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,200, 1,500, 2,000 และ 3,000 คู่เบส) (Fermentas, USA)

3.2.3 เคมีภัณฑ์สำหรับศึกษาดีเอ็นเอ

3.2.3.1 อะกาโรส (Agarose) (BioWhittaker Molecular Application, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.3.2 สีย้อมดีเอ็นเอ (Tracking dye) (ซูโครส 40 เปอร์เซ็นต์, โบรโมไฟีนอลบลู 0.25 เปอร์เซ็นต์ บัฟเฟอร์ Tris-boric-EDTA 1 เท่า)
- 3.2.3.3 เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.3.4 3-aminobenzoic acid ethylester (MS222) (Sigma, USA)
- 3.2.3.5 เอทริเดียมโบรไมด์
- 3.2.3.6 บัฟเฟอร์ Tris-boric-EDTA 10 เท่า (Tris-HCl 10 มิลลิโมลาร์, EDTA 1 มิลลิโมลาร์) (pH 7.4)
- 3.2.3.7 เจลสตาร์ (BioWhittaker Molecular Application, USA)
- 3.2.4 ชุดทดสอบ (Kit)
 - 3.2.4.1 ชุดสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ (Wizard® SV Genomic DNA Purification System)
 - 3.2.4.2 ชุดเพิ่มปริมาณเอ็นด้วยเทคนิค PCR (2x PCR Enzyme mastermix solution)

3.3 อุปกรณ์

- 3.3.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) Hirayama, Hiclave HV-50, Japan
- 3.3.2 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) Mikro 200R-Hettich Zentrifugen, Germany
- 3.3.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Microcentrifuge) Spectrafuge Labnet, 16M, USA
- 3.3.4 เครื่องชั่งสาร AG204, Mettler Toledo, Switzerland
- 3.3.5 ตู้เป่าเชื้อ (Laminar flow) Microflow, Advanced Bio Safety Cabinet, USA
- 3.3.6 เครื่องผสมสาร (Vortex) Genies 2, Scientific Industries, USA
- 3.3.7 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) Shimadzu, UV-1601, Japan
- 3.3.8 คิวเวต
- 3.3.9 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (DNA thermal cycler) Master cycler ep gradient, Eppendorf, USA
- 3.3.10 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (DNA thermal cycler) Multi Gene II, Labnet, USA
- 3.3.11 ชุดอุปกรณ์แยกสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (Electrophoresis system) Advance, Mupid-exu, Japan
- 3.3.12 ชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพอะกาโรสเจล (Gel documentation analysis) Syngene, BTS-20-M, Germany
- 3.3.13 เครื่องบ่มควบคุมอุณหภูมิ (Accublock digital dry bath) Labnet, USA
- 3.3.14 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.3.15 เครื่องแก้วต่างๆ (Glasswares)

- 3.3.16 เครื่องอ่าน (Reader) Silicon Craft Technology Co., Ltd., Thailand
- 3.3.17 อาร์เอฟไอดีแท็ก (RFID Tag) Silicon Craft Technology Co., Ltd., Thailand
- 3.3.18 ตู้กระจก

3.4 สถานที่ดำเนินการวิจัย

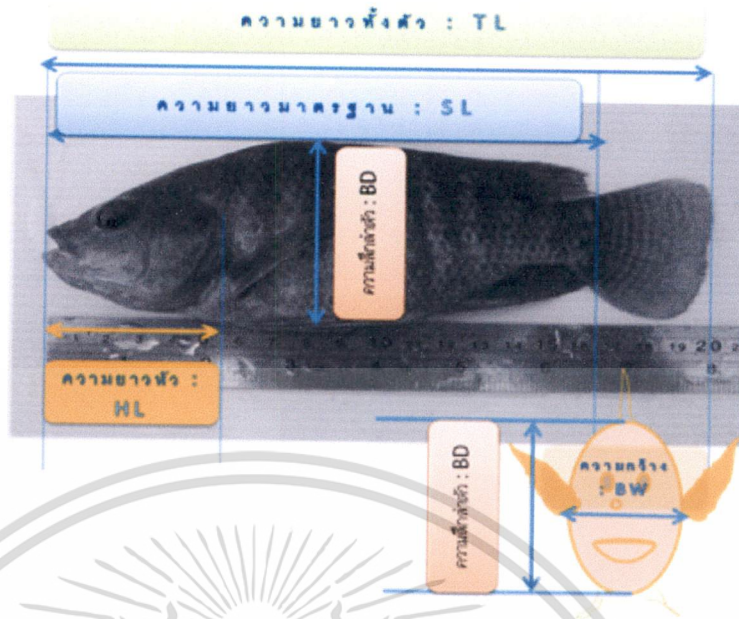
- 3.4.1 เคเอ็มไอทีฟิชเทคฟาร์ม (KMITL's FishTechFarm) สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 3.4.2 ห้องปฏิบัติการโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 3.4.3 ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 3.4.4 ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีการศึกษา

3.5.1 วิธีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

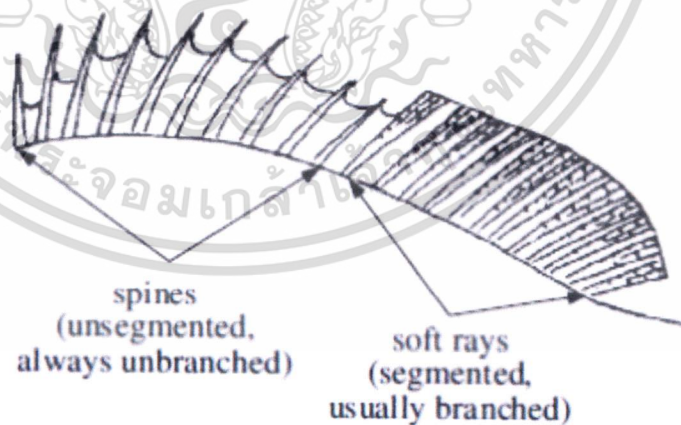
3.5.1.1 วิธีการศึกษาลักษณะเชิงปริมาณของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

ปลาทั้ง 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มที่ผ่านการฝัง RFID Tag และพักฟื้นเป็นเวลา 2 สัปดาห์แล้วนำมาบันทึกข้อมูลเชิงปริมาณกลุ่มละ 30 ตัว โดยใช้โปรแกรม FishTechFarm เวอร์ชัน 2 โดยข้อมูลที่ทำการเก็บบันทึก ได้แก่ รหัสประจำตัว (RFID Tag) น้ำหนักตัว ความยาวหัว (Head length ; HL) ความลึกตัว (Body depth ; BD) ความกว้างลำตัว (Body width ; BW) และความยาวมาตรฐาน (Standard length ; SL) (ภาพที่ 3.4) ตามวิธีการของ El-Zaeem *et al.* (2012); Hamzah *et al.* (2008)



ภาพที่ 3.3 ลักษณะการบันทึกข้อมูลแบบรายตัวในปลาชนิด

นอกจากนี้ นับจำนวนก้านครีบต่างๆ ได้แก่ จำนวนก้านครีบแข็งที่หลัง (Dorsal fin spines count) จำนวนก้านครีบอ่อนที่หลัง (Dorsal fin rays count) (ภาพที่ 3.5) จำนวนก้านครีบแข็งที่ท้อง (Pelvic fin spines count) จำนวนก้านครีบอ่อนที่ท้อง (Pelvic fin rays count) จำนวนก้านครีบแข็งที่ก้น (Anal fin spines count) จำนวนก้านครีบอ่อนที่ก้น (Anal fin rays count) ตามวิธีการของ El-Zaeem *et al.* (2012)



ภาพที่ 3.4 ตำแหน่ง และลักษณะของก้านครีบที่ทำการเก็บข้อมูล

ที่มา : Carpenter and Niem (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1.2 วิธีการศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพของปลาทั้ง 3 แหล่ง

ทำการเก็บข้อมูลลักษณะเชิงคุณภาพของปลาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ เก็บข้อมูลลักษณะปาก กำหนดให้ลักษณะของริมฝีปากแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ ริมฝีปากเสมอกัน (แบบที่ 1) และริมฝีปากล่างยาวกว่าริมฝีปากบน (แบบที่ 2) และเก็บลักษณะของลายข้างลำตัวของปลาทั้ง 3 กลุ่ม แบ่งลักษณะการเก็บเป็นมีลายข้างลำตัวมี 9-10 ลาย (ลายแบบที่ 1), ลายข้างลำตัว 7-8 ลาย (ลายแบบที่ 2) และไม่มีลายข้างลำตัว (ลายแบบที่ 3) ทำการเก็บข้อมูลรายตัวกลุ่มละ 30 ตัว

3.5.2 วิธีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลาทั้ง 3 แหล่งด้วยเทคนิค RAPD-PCR

3.5.2.1 วิธีการสุ่มตัวอย่างเพื่อการสกัดดีเอ็นเอ

สุ่มปลากลุ่มละ 10 ตัวมาทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ใช้ยาสลบ MS-222 ความเข้มข้น 100 ppm ใส่ในตู้กระจก รอ 5 นาทีจึงตัดปลาใส่ลงในตู้กระจก เมื่อปลาสลบแล้วจึงตัดครีบหางให้ได้ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ซึ่งจะมีน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ล้างตัวอย่างด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ออกให้หมดแล้ววางตัวอย่างให้แห้งในตู้ Laminar flow

3.5.2.2 วิธีการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

สกัดจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยชุด Wizard[®] SV Genomic DNA Purification System (Promega, USA) ด้วยการเปิด digestion solution ปริมาตร 275 ไมโครลิตร (Nuclei lysis solution ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 0.5 EDTA (pH 8.0) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร, Proteinase K (20 mg/ml) 20 ไมโครลิตร และ Rnase A solution (4 mg/ml) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร) ใส่ลงในหลอดที่มีเนื้อเยื่อและบ่มใน Heat block ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง (ข้ามคืน) จากนั้นเติมน้ำยา Wizard SV lysis buffer ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex และย้าย Lysate ลงในหลอด Wizard[®] SV minicolumn ที่อยู่ในหลอด Collection tube ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อวินาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นเทส่วนใสที่อยู่ด้านล่างทิ้ง แล้วเติม Wizard[®] SV wash solution ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ลงในหลอด minicolumn ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ล้างอีก 4 รอบ แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงหลอดเปล่าด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที แล้วทำการย้ายหลอด Minicolumn ลงหลอดไมโครเซ็นทริฟิวส์หลอดใหม่ และทำการเติม Nuclease-free water ปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงในหลอดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วัดปริมาณและตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอโดยการวัดความยาวคลื่น 260 และ 280 ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.5.2.3 วิธีการตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยเทคนิคการเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอของยีน 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction)

นำจีโนมดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 3.5.2.2 มาตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 16S rDNA ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ 2x PCR Enzyme Master Mix solution (Intron biotechnology (i-taq), Korea) กับคู่ไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณ ยีน 16S rDNA (ตารางที่ 3.2) ด้วยเครื่อง DNA thermal cycler (Multi Gene II, Labnet) โดยตั้งสภาวะในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 3 ขั้นตอน ดังนี้ (1) initial denaturation step อุณหภูมิ 94 °C เวลา 5 นาที (2) denaturation step อุณหภูมิ 94 °C เวลา 45 วินาที annealing step อุณหภูมิ 50 °C เวลา 60 วินาที extension step อุณหภูมิ 72 °C เวลา 1.30 นาที จำนวน 35 รอบ และ (3) final extension step อุณหภูมิ 72 °C เวลา 5 นาที จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิสที่มีความเข้มข้น อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ย้อมด้วย gelstar nucleic acid gel stain (Biowhittaker molecular applications, USA) หรือ Ethidium bromide แล้วนำไปถ่ายภาพได้แสงอัลตราไวโอเล็ต ถ้ามีการปนเปื้อนจะเกิดแถบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 1,400-15,00 คู่เบส ต้องทำการเก็บตัวอย่างเพื่อสกัดจีโนมดีเอ็นเอใหม่

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบในการเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ไมโครลิตร)
2x PCR Enzyme Master Mix	10
จีโนมดีเอ็นเอ (gDNA 1.5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	2
ไพรเมอร์ forward (5 ไมโครโมลาร์)	2
ไพรเมอร์ reverse (5 ไมโครโมลาร์)	2
น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ	4
ปริมาตรสุทธิ	20

3.5.2.4 วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction)

ส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR 25 ไมโครลิตร (ตารางที่ 3.3) ดีเอ็นเอต้นแบบความเข้มข้น 50 นาโนกรัม ไพรเมอร์ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ และน้ำปราศจาก Nuclease ไพรเมอร์ตาม ตารางที่ 3.4 โดยตั้งการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ตั้งสภาวะไว้ 3 ขั้นตอน ดังนี้ (1) Initial denaturation step อุณหภูมิ 94 °C เวลา 4 นาที (2) Denaturation step อุณหภูมิ 94 °C เวลา 1 นาที Annealing step อุณหภูมิ 36 °C เวลา 1 นาที Extension step อุณหภูมิ 72 °C เวลา 2 นาที จำนวน 40 รอบ (ดัดแปลง จาก Alfy *et al.* 2009) และ (3) Final extension step อุณหภูมิ 72 °C เวลา 10 นาที จากนั้นตรวจสอบ

ผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิสที่มีความเข้มข้น อะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ ย้อมด้วย Gelstar nucleic acid gel stain (Biowhittaker molecular applications, USA) หรือ Ethidium bromide แล้วนำมาถ่ายภาพได้แสงอัลตราไวโอเล็ต

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของการเกิดปฏิกิริยา RAPD

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ไมโครลิตร)
2x PCR Enzyme Master Mix	12.5
จีโนมดีเอ็นเอ (50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	1
ไพรมเมอร์ (5 μ M)	1
น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ	10.5
ปริมาตรสุทธิ	25

ตารางที่ 3.3 Single arbitrary primer ที่ใช้ในเทคนิค RAPD

รหัส	ลำดับเบส	ที่มา
OPA 03	5'-AGTCAGCCAC-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 04	5'-AATCGGGCTG-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 05	5'-GAAACGGGTG-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 07	5'-GAAACGGGTG-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 08	5'-GTGACGTAGG-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 09	5'-GGGTAACGCC-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 10	5'-GTGATCGCAG-3'	Alfy <i>et al.</i> (2009)
OPA 13	5'-CAGCACCCAC-3'	Bardakci and Skibinski (1994)
OPA 17	5'-GACCGCTTGT-3'	Bardakci and Skibinski (1994)
OPA 19	5'-CAAACGTCGG-3'	Bardakci and Skibinski (1994)

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะปรากฏเชิงปริมาณจาก 3.4.1.1 จะนำมาวิเคราะห์หาสัดส่วนต่างๆ ทางสถิติ ได้แก่ สัดส่วนของหัวต่อความยาวมาตรฐาน สัดส่วนของความลึกลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน และ สัดส่วนของความกว้างของลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน ในปลาแต่ละสายพันธุ์ (ลักษณะต่าง ๆ ตาม ภาพที่ 3.4) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 17.0 และทำการนับจำนวนก้านครีบในตำแหน่งต่างๆ ด้วยโปรแกรม Image J[®] ทำการเก็บข้อมูลลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพและลักษณะเชิงปริมาณ จากนั้นตรวจสอบผลผลิต PCR-RAPD ด้วยวิธีการเจลอเล็กโตโฟเรซิส แลบดีเอ็นเอที่ได้นำมาทำการเปรียบเทียบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างเป็นคะแนนนิยมใช้ระบบเลข 1 และ 0 โดย ตัวเลข 1 แสดงการมีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่ง ส่วน 0 แสดงการไม่มีแถบดีเอ็นเอขนาดเดียวกัน จากนั้นใช้โปรแกรม NTSYSpC 2.01p (Exeter software, 1960) สร้าง Phylogenetic tree เพื่อหาความหลากหลายของปลาทั้ง 3 กลุ่มและคำนวณหาค่า Similarity coefficients ภายในประชากร



บทที่ 4

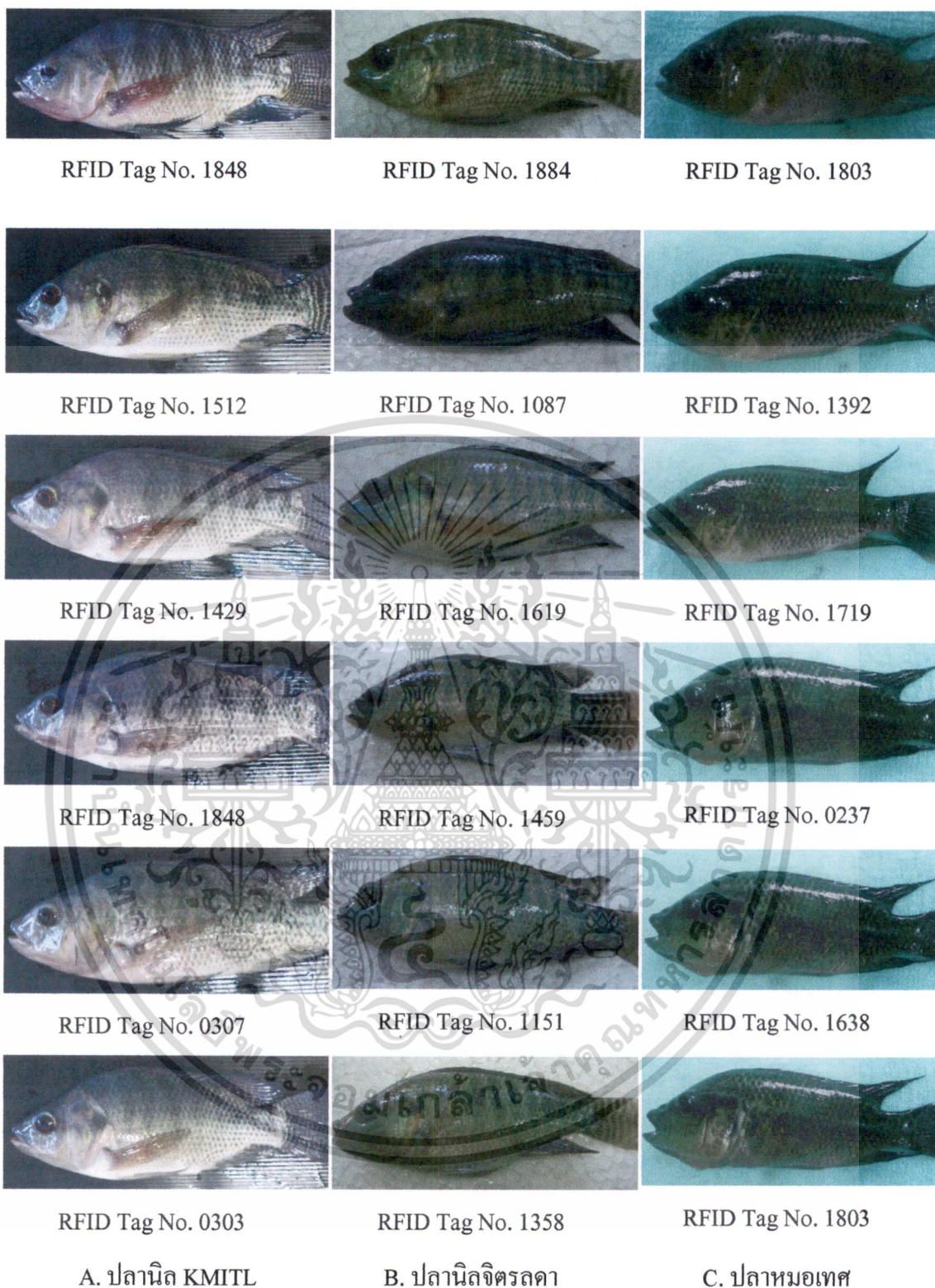
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำปลา 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นปลานิล KMITL'S FishTechFarm กลุ่มที่ 2 ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา และกลุ่มที่ 3 ปลาหมอเทศ จากกลุ่มน้ำธรรมชาติบริเวณศูนย์ฝึกโรงไฟฟ้าบางปะกง ตำบลท่าข้าม จังหวัดฉะเชิงเทรา ปลาทุกกลุ่มได้รับการฝังรหัสประจำตัว (RFID tag) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของปลาแต่ละกลุ่มหลังจากนั้น ได้ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของสัดส่วนเชิงปริมาณและข้อมูลก้านครีบต่างๆ ของปลาแต่ละกลุ่ม ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค RAPD ด้วยการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากครีบหางในปลาแต่ละกลุ่ม และตรวจสอบการปนเปื้อนจีโนมิกดีเอ็นเอของแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR ของยีน 16S rDNA จากนั้นศึกษารูปแบบการปรากฏแถบดีเอ็นเอของ RAPD-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 8 ชนิด หลังจากนั้นใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.01p (Exeter software, 1960) สร้าง Phylogenetic tree และวิเคราะห์ค่า Similarity เพื่อใช้จำแนกแบ่งกลุ่มหรือระบุความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของปลาในแต่ละกลุ่ม

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

4.1.1 ผลการศึกษาข้อมูลสัดส่วนเชิงปริมาณ

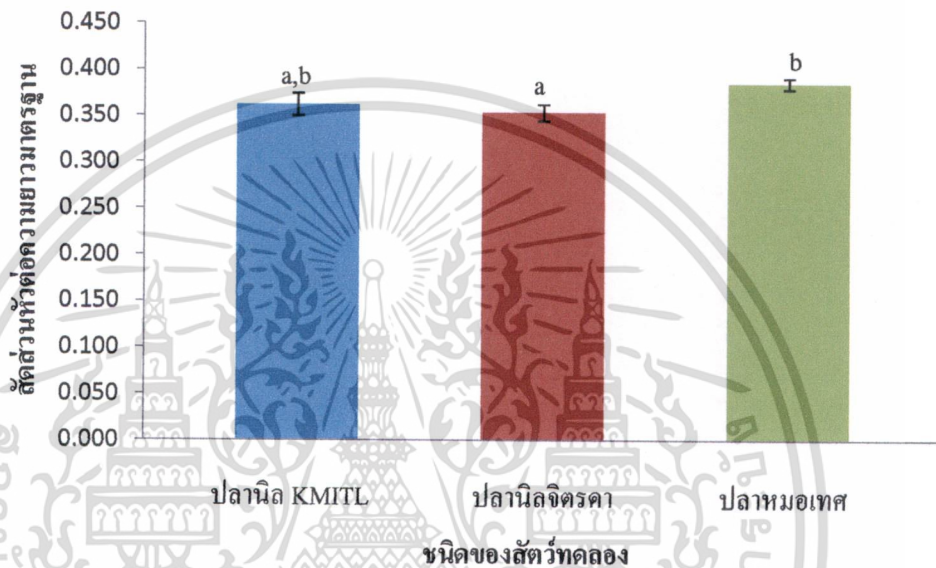
จากการนำสัตว์ทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ได้นำมาเลี้ยงในถังปริมาตร 300 ลิตร และได้รับการฝังรหัสประจำตัว (RFID tag) และผ่านการปรับสภาพเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 4.1) วิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณเบื้องต้น ได้แก่ น้ำหนักตัว ความยาวหัว (HL) ความลึกตัว (BH) ความกว้างลำตัว (BW) และความยาวมาตรฐาน (SL) พบว่าปลานิล KMITL'S FishTechFarm (กลุ่มที่ 1) กับปลานิลจิตรลดา (กลุ่มที่ 2) และปลานิล KMITL'S FishTechFarm กับปลาหมอเทศ (กลุ่มที่ 3) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐานซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.362 ± 0.011 , 0.353 ± 0.086 และ 0.385 ± 0.005 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)



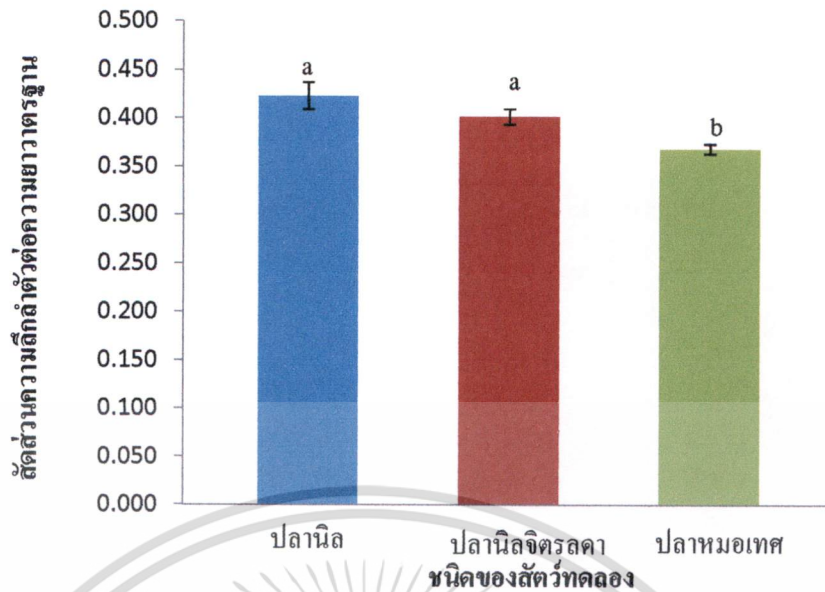
ภาพที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของปลานิล KMITL'S FishTechFarm (A), ปลานิลจิตรลดา (B) และ ปลาหมอเทศ (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานในปลานิลกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เหมือนกันกับค่าสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐานมีค่า 0.362 ± 0.011 และ 0.353 ± 0.008 ตามลำดับ แต่เปรียบเทียบค่าสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐานของปลาหมอเทศ (กลุ่มที่ 3) กับปลานิลทั้ง 2 กลุ่ม (ปลานิล KMITL'S FishTechFarm และปลานิลจิตรลดา) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานของปลาหมอเทศเท่ากับ 0.385 ± 0.005 (ภาพที่ 4.3)

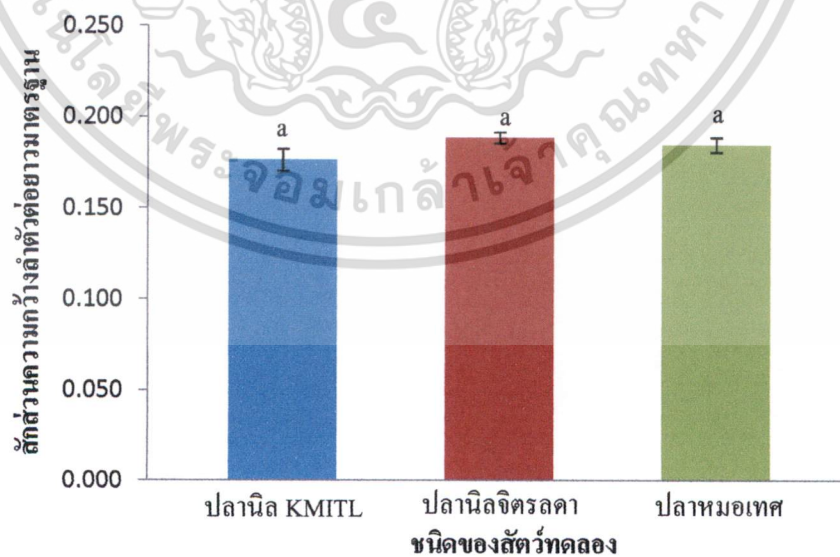


ภาพที่ 4.2 สัดส่วนความยาวหัวต่อความยาวมาตรฐาน (HL/SL) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4.3 สัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวลำตัว (BH/ST) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการคำนวณค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานของปลาทั้ง 3 กลุ่ม (ปลานิล KMITL's FishTechFarm, ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 0.422 ± 0.014 , 0.401 ± 0.007 และ 0.3682 ± 0.005 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 สัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวลำตัว (BW/ST) ในปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

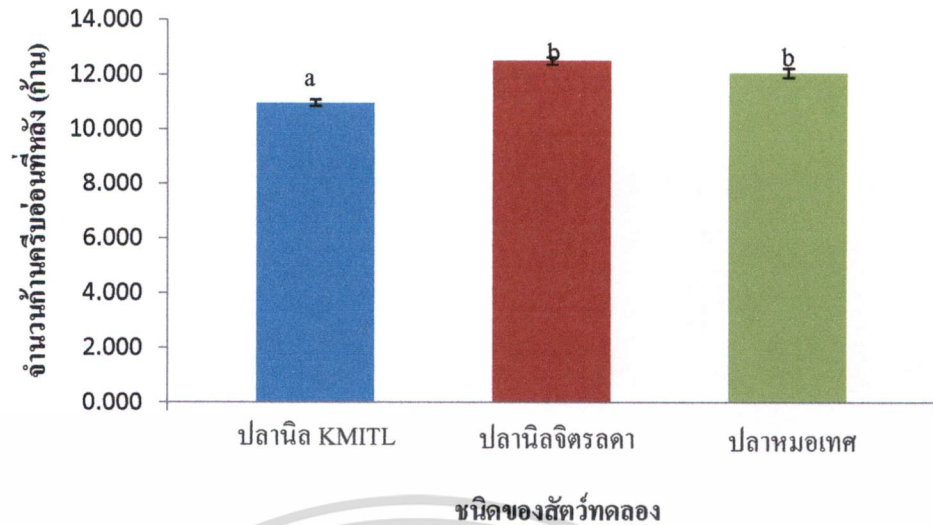
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้จากการทดลองเมื่อใช้ลักษณะปรากฏเชิงปริมาณในการแบ่งปลาทั้ง 3 กลุ่มออกจากกัน พบว่าปลานิล KMITL's FishTechFarm มีค่าสัดส่วนต่างๆ ใกล้เคียงกับปลานิลจิตรลดา มากกว่าปลาหมอเทศ การที่ปลานิล KMITL's FishTechFarm มีสัดส่วนหัวที่เหมือนกับปลาทั้ง 2 กลุ่ม (ภาพที่ 4.1) นั้นคาดว่ามาจากจากการปลานิลที่นำเข้ามาเพื่อทำการทดลองปัญหาพิเศษต่างๆ และเกิดการผสมกันเองตามธรรมชาติ ส่วนมากปลานิลที่ใช้ในการทดลองเป็นปลานิลของฟาร์มเอกชนที่มีการปรับปรุงสายพันธุ์กับปลานิลต่างประเทศเพื่อให้ได้ปลานิลที่มีลักษณะดีเหมาะแก่การเพาะเลี้ยง (เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, 2549) ดังนั้นจึงมีทั้งสัดส่วนของลักษณะปรากฏเชิงปริมาณที่เหมือนและแตกต่างจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา กับปลาหมอเทศที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงพันธุ์

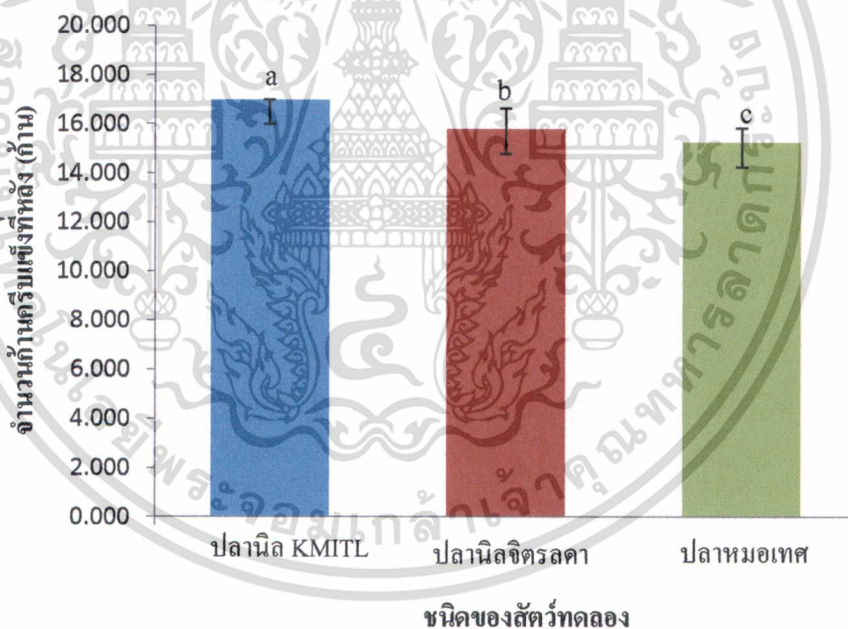
จากการศึกษาจำนวนก้านครีบของปลาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ การเก็บข้อมูลจำนวนก้านครีบหลัง (Dorsal fin) ครีบท้อง (Pelvic fin) ครีบก้น (Anal fin) ซึ่งทำการแบ่งลักษณะของก้านครีบได้ 2 แบบ คือ ส่วนของก้านครีบแข็ง (Spines) และส่วนของก้านครีบอ่อน (Rays) พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนก้านครีบอ่อนที่หลังของปลานิล KMITL's FishTechFarm มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลานิลจิตรลดา ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลาหมอเทศ ($p > 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.000 ± 0.117 , 12.500 ± 0.133 และ 12.066 ± 0.172 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) ส่วนค่าเฉลี่ยของจำนวนก้านครีบแข็งที่หลังของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 17.000 ± 0.00 , 15.800 ± 0.154 และ 15.266 ± 0.106 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

จากการศึกษาค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบอ่อนที่ส่วนท้องของปลานิล KMITL's FishTechFarm พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ แต่ปลานิล KMITL's FishTechFarm กับปลาหมอเทศ มีค่าเฉลี่ยของจำนวนก้านครีบอ่อนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 4.7) ส่วนค่าเฉลี่ยของจำนวนก้านครีบแข็งของครีบท้องในปลาทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) มีค่าเป็น 1.000 ± 0.00 (ภาพที่ 4.8) และค่าเฉลี่ยจำนวนครีบอ่อนที่ก้นของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มีค่าเป็น 8.000 ± 0.166 , 8.400 ± 0.909 และ 10.433 ± 0.920 (ภาพที่ 4.9) ส่วนก้านครีบแข็งที่ก้นของปลาทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) มีค่าเป็น 3.000 ± 0.00 ทั้งสามกลุ่มตัวอย่าง (ภาพที่ 4.10)

เมื่อทำการนับจำนวนก้านครีบอ่อนและแข็งในตำแหน่งต่างๆ ในปลาทั้ง 3 กลุ่ม ได้ค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Carpenter and Niem (1999) ที่ทำการจำแนกลักษณะปรากฏเชิงปริมาณของปลาวงศ์ Cichidae และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปลาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ ปลานิล KMITL's FishTechFarm, ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ โดยทั้งปลาทั้ง 3 กลุ่มมีความแตกต่างกันของจำนวนก้านครีบอ่อนในตำแหน่งต่างๆ ดังนั้นสามารถใช้ลักษณะเชิงปริมาณแบ่งกลุ่มปลาทั้งหมดได้ 3 กลุ่มเมื่อใช้ร่วมกับการวิเคราะห์สัดส่วนเชิงคุณภาพ

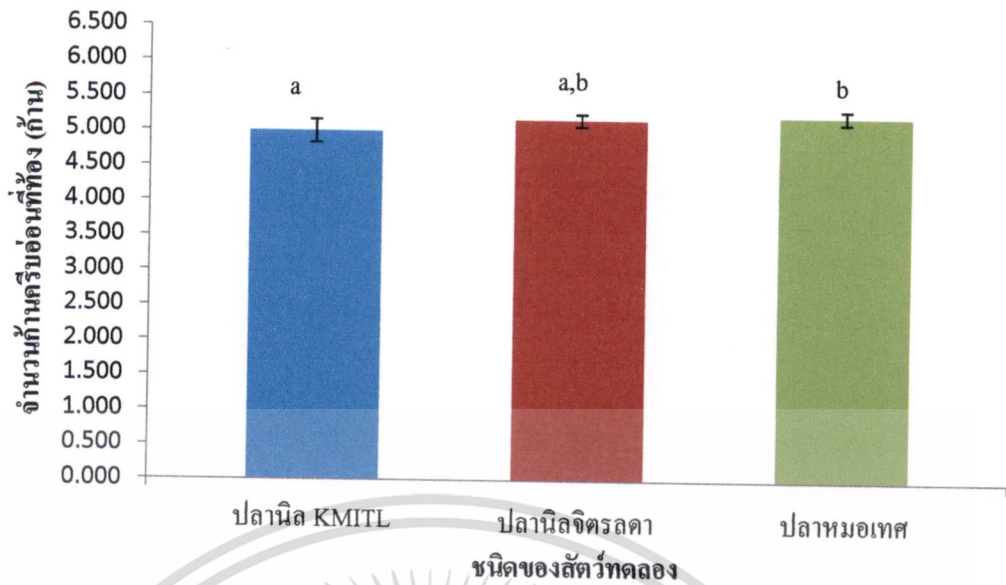


ภาพที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านอ่อน (Dorsal fin ray) ที่ส่วนหลังของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

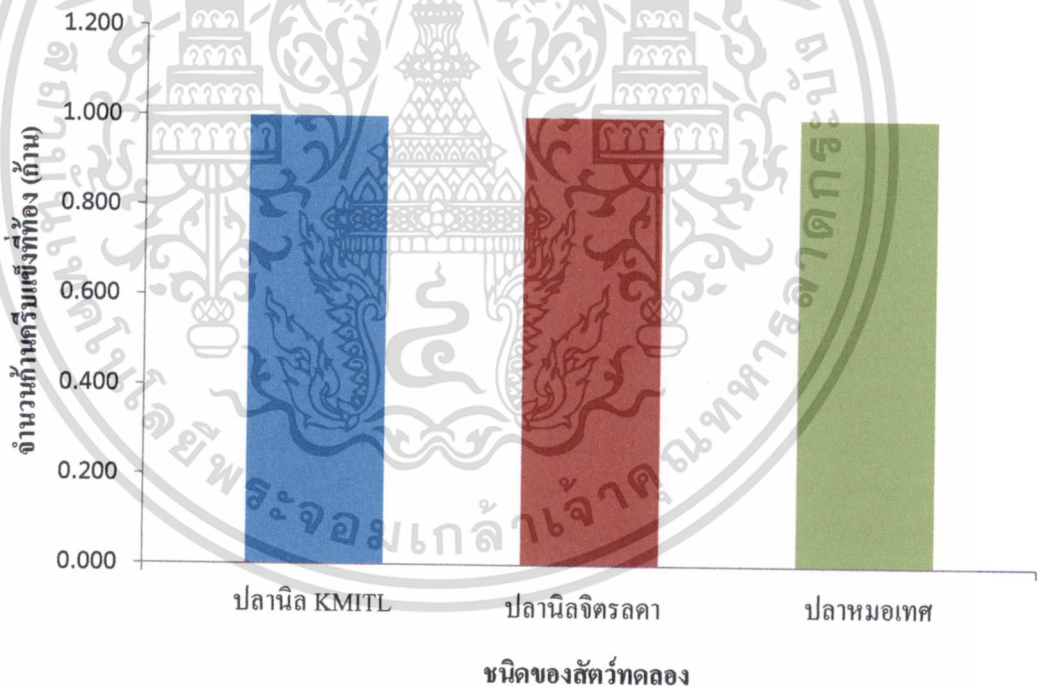


ภาพที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยจำนวนครีบแข็ง (Dorsal fin spines) ที่ส่วนหลังของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

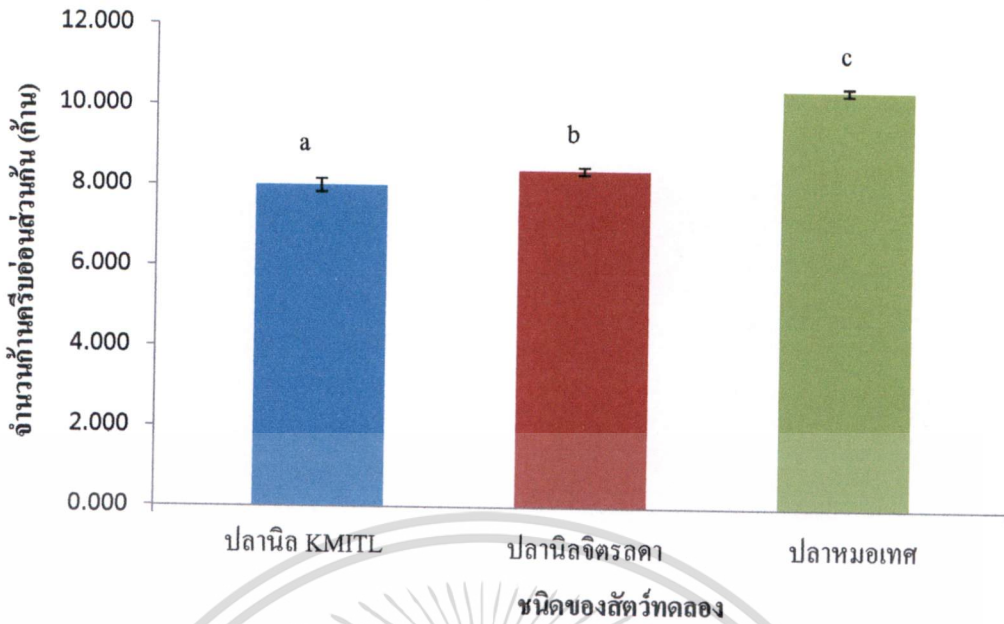


ภาพที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบอ่อน (Pelvic fin ray) ที่ส่วนท้องของปลาทั้ง 3 กลุ่ม โดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

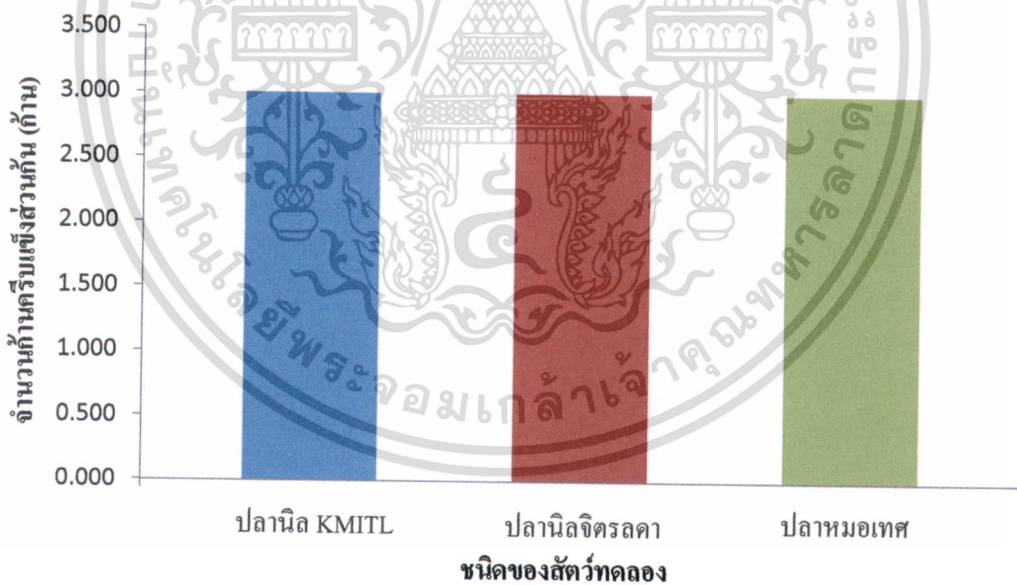


ภาพที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบแข็ง (Pelvic fin spine) ที่ส่วนท้องของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบอ่อน (Anal fin ray) ที่ส่วนกันของปลาทั้ง 3 กลุ่มโดยตัวอักษรที่แสดงต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



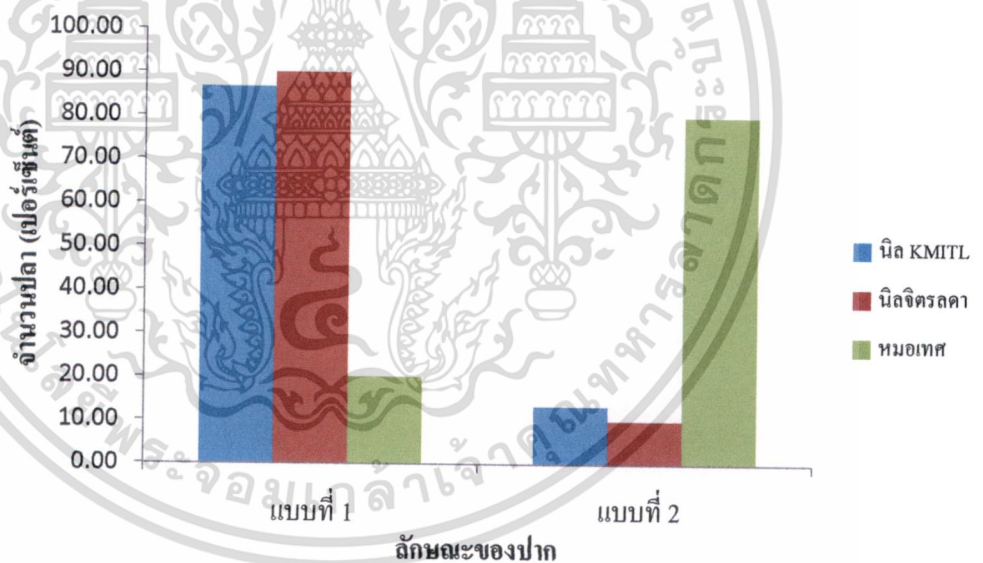
ภาพที่ 4.10 ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านครีบแข็ง (Anal fin spines) ที่ส่วนกันของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

4.1.2 ผลการศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพในปลาทั้ง 3 กลุ่ม

จากการศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพของปลาทั้ง 3 กลุ่ม โดยทำการเก็บข้อมูลลักษณะของริมฝีปากแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ ริมฝีปากเสมอกัน (แบบที่ 1) และริมฝีปากต่ำกว่าริมฝีปากบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(แบบที่ 2) (ตารางที่ 4.1) พบว่ากลุ่มของปลานิล KMITL's FishTechFarm กับปลานิลจิตรลดา มีลักษณะของปากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 4.11) แต่ปลาทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลาหมอเทศ ($p < 0.05$) ที่มีลักษณะของปากเป็นแบบที่ 2 เป็นส่วนใหญ่ (ภาพที่ 4.11) นอกจากนี้ลักษณะของลายข้างลำตัวของปลาทั้ง 3 กลุ่มนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่มีลายข้างลำตัวเป็น 1.566 ± 0.124 , 1.233 ± 0.785 และ 2.70 ± 0.851 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13) โดยทั่วไปแล้วลักษณะของปลานิลมีลักษณะลำตัวสั้นแบนข้าง ครีบหลังเป็นครีบเดี่ยว แตกต่างจากปลาหมอเทศที่มีริมฝีปากบน และริมฝีปากล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ตรงกลางมีสีเข้ม ที่กระดุกแก้มมีจุดสีเข้ม 1 จุด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกร็ดมีสีเข้ม มีลายพาดขวาง 9-10 แถบ (ศักดิ์ชัย ชูโชติ, 2536) การศึกษาลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ พบว่าสามารถแยกปลานิลทั้ง 2 กลุ่มออกจากหมอเทศได้ (ภาพที่ 4.12) ซึ่งสามารถใช้ลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพในการจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมได้



ภาพที่ 4.11 จำนวนค่าเฉลี่ยของลักษณะปากในปลาทั้ง 3 กลุ่ม

ปลานิล KMITL's
FishTechFarm

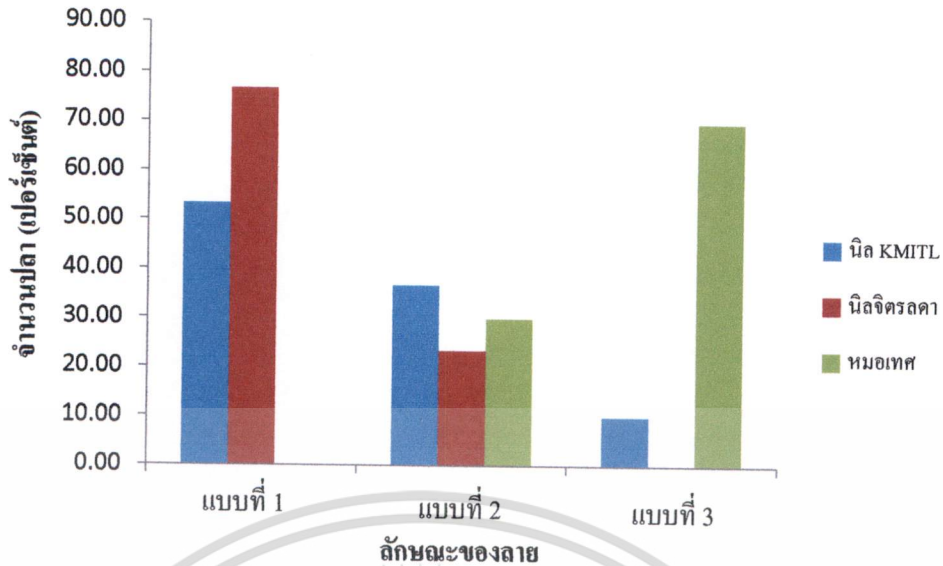
ปลานิลจิตรลดา

ปลาหมอเทศ



ภาพที่ 4.12 ลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพในปลาทั้ง 3 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 จำนวนค่าเฉลี่ยของลักษณะลายข้างลำตัวของปลาทั้ง 3 กลุ่ม

4.2 ผลการศึกษาทางพันธุกรรม

4.2.1 ผลการสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอ

ทำการสุ่มตัดครีบหางของสัตว์ทดลอง ได้แก่ ปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดาและปลาหมอเทศ ในปริมาณ 20 มิลลิกรัม นำมาสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอ แล้วตรวจสอบผลการสกัดด้วย 0.8 เปอร์เซ็นต์อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยให้กระแสไฟฟ้าความต่างศักย์ 8 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 45 นาที เจลที่ย้อมด้วยเอทิลเบรไมด์ส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต และเปรียบเทียบขนาดจีโนมิคดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน λ HindIII พบว่าจีโนมิคดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศมีขนาด 1 แถบที่มีขนาดสูงกว่า 23,130 คู่เบส จากการนำดีเอ็นเอของปลานิล และปลาหมอเทศมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตรพบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ (A_{260}/A_{280}) อยู่ระหว่าง 1.37 ถึง 1.82 ซึ่งดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์นั้นควรมีค่าเท่ากับ 1.8 (Sambrook and Russel, 2001) แต่ดีเอ็นเอที่มีค่าต่ำกว่า 1.5 นั้นแสดงว่ามีการปนเปื้อนของ โปรตีนแต่สามารถใช้ทดลองในเทคนิค RAPD-PCR ได้ เช่น งานของวิรัช จิวแหยม และคณะ (2549) ที่ทำการสกัดดีเอ็นเอจากกบนา นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR พบว่าค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอต่ำสุดที่นำมาใช้คือ 1.37 จากนั้นจึงนำจีโนมิคดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียทำการเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA โดยใช้วิธี PCR ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของยีน 16S rDNA จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอร์

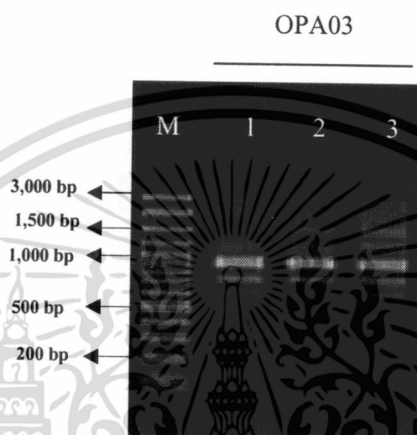
จากการนำจีโนมิคดีเอ็นเอที่สกัดมาเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA ด้วยเทคนิค ปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอร์ (PCR) พบว่าตัวอย่างจีโนมิคดีเอ็นเอปลาไม่ปรากฏการปนเปื้อนดีเอ็นเอแบคทีเรียที่ควรได้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่มีขนาดประมาณ 1,400 คู่เบส เมื่อทำการตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส และส่องผ่านแสงอัลตราไวโอเล็ต ตัวอย่างจีโนมิคดีเอ็นเอที่ผ่านการตรวจด้วยเทคนิค PCR แล้วไม่พบการปนเปื้อนของดีเอ็นเอแบคทีเรียจะนำไปใช้เป็นดีเอ็นเอเริ่มต้นในการทำต่อยังวิธี PCR-RAPD ในการทดลองนี้ใช้ครีบบางของปลาทั้ง 3 กลุ่มมาทำการสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอทำให้มีโอกาสปนเปื้อนแบคทีเรียได้ง่ายอาจปนมากับน้ำที่ใช้เลี้ยงหรือติดอยู่กับเมือกที่ครีบบาง หากผลการตรวจสอบด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสและใช้อากาศเจล 0.8 เปอร์เซ็นต์ถ้าดีเอ็นเอตัวอย่างมีการปนเปื้อนไม่ควรนำมาใช้ในเทคนิค RAPD-PCR การตรวจสอบดีเอ็นเอของแบคทีเรียในตัวอย่างดีเอ็นเอยังพบในงานของ Handschur *et al.* (2009) ใช้วิธีการ 16S rDNA ทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของดีเอ็นเอแบคทีเรียในตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดก่อนนำตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นไปใช้ในงานอื่นต่อไป

4.2.3 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) ด้วยปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอร์ (Polymerase chain reaction)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR โดยเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มด้วยไพรเมอร์เพียง 1 เส้นที่มีขนาด 10 เบสโดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 10 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้มี 8 ชนิด ได้แก่ OPA03, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA09, OPA10 และ OPA13 โดยแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ 8 ชนิด มีขนาดของแถบดีเอ็นเออยู่ในช่วง 400 คู่เบส ถึง 3,000 คู่เบส

จากการใช้ไพรเมอร์ OPA03 ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาทั้ง 3 กลุ่ม (ภาพที่ 4.14) ผลการทดลองพบว่าปลานิล KMITL's FishTechFarm ปรากฏแถบดีเอ็นเอของ RAPD marker จำนวน 6 แถบที่มีขนาด 700, 800, 1,000, 1,200, 1,400 และ 2,100 คู่เบส ซึ่งเครื่องหมายนี้จัดอยู่ในกลุ่มแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความหลากหลาย (Monomorphic band) พบแถบดีเอ็นเอนี้ในปลาทุกตัวในกลุ่ม 2 เครื่องหมาย (1,000 และ 1,400 คู่เบส) แถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) 3 เครื่องหมาย (800, 1,200 และ 2,100 คู่เบส) และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะที่พบเฉพาะปลาตัวใดตัวหนึ่งจำนวน 1 เครื่องหมาย (700 คู่เบส) ปลานิลจិតรลดาเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA03 พบว่าเกิดเครื่องหมาย RAPD marker จำนวน 6 เครื่องหมาย แบ่งได้เป็นกลุ่มแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความหลากหลาย (Monomorphic band) 1 เครื่องหมาย (1,000 คู่เบส) แถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (polymorphic band) 4 เครื่องหมาย (700, 1,200, 1,500 และ 1,900 คู่เบส) และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 1 เครื่องหมาย (3,000 คู่เบส) ผลที่ได้จากไพรเมอร์ OPA03 ของ

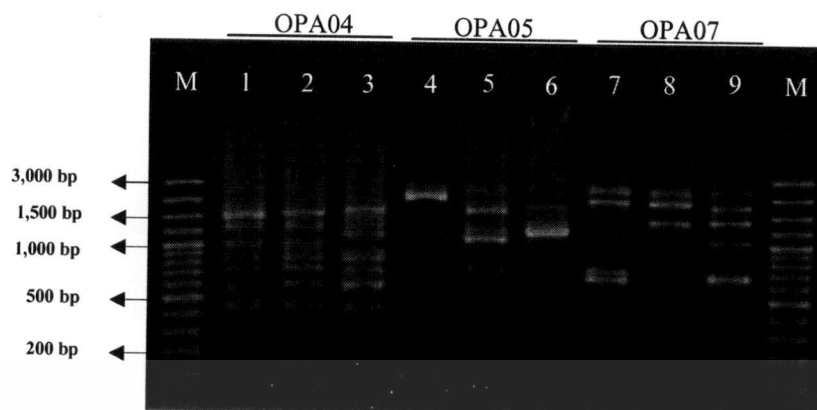
ปลาหมอเทศ พบว่าเกิดเครื่องหมาย RAPD marker จำนวน 7 เครื่องหมาย จำแนกได้เป็น แถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) 5 เครื่องหมาย (1,000, 1,200, 1,500, 1,600 และ 2,100 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 2 เครื่องหมาย (900 และ 3,000 คู่เบส) Soufy *et al.* (2009) ใช้ไพรเมอร์ OPA03 ในการจำแนกความหลากหลายในปลากลุ่ม Tilapia ในประเทศอียิปต์ และใช้ไพรเมอร์ OPA03 กับปลานิล (*O. niloticus*) พบว่าได้แถบดีเอ็นเอจำนวน 6 แถบดีเอ็นเอ เท่ากันกับปลานิล KMITL' FishTechFarm และปลานิลจิตรลดา และพบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 700 คู่เบสเหมือนกัน 1 แถบ



ภาพที่ 4.14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPA03 ของปลานิล KMITL FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ
 M ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส plus ladder
 1 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm (OPA03)
 2 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิลจิตรลดา (OPA03)
 3 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอเทศ (OPA03)

การใช้ไพรเมอร์ OPA04 ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศด้วยเทคนิค RAPD-PCR เท่ากับ 12, 11 และ 10 เครื่องหมาย ตามลำดับ โดยแถบดีเอ็นเอที่พบในปลานิล KMITL'S FishTechFarm มีขนาดเท่ากับ 450, 500, 600, 750, 850, 1,000, 1,200, 1,400, 1,500, 2,000, 2,100 และ 2,500 คู่เบส ในปลานิลจิตรลดาไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 2,100, 850 และ 750 คู่เบส แต่พบแถบดีเอ็นเอขนาด 550, 1,100 และ 1,800 คู่เบส ในปลาหมอเทศ (ภาพที่ 4.15) ในรายงานของ Soufy *et al.* (2009) ที่ใช้ไพรเมอร์ OPA04 ในปลานิล (*O. niloticus*) พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 6 แถบ มีขนาดแถบใกล้เคียงกับปลานิลจิตรลดาทั้งหมด 4 แถบ คือ 450, 500, 750 และ 1,000 คู่เบส

จากการใช้ไพรเมอร์ OPA05 ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยเทคนิค RAPD-PCR พบว่าปลานิล KMITL'S FishTechFarm พบว่าได้ผลของเครื่องหมาย RAPD marker ทั้งหมด 11 เครื่องหมาย ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้คือ 500, 700, 900, 1,000, 1,200, 1,400, 1,500, 1,700, 1,900, 2,100 และ 2,900 คู่เบส ทั้ง 11 เครื่องหมายจัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) ปลานิลจิตรลดาเกิดเครื่องหมาย RAPD marker ทั้งหมด 10 เครื่องหมาย มีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 500, 700, 800, 1,100, 1,200, 1,300, 1,700, 2,000, 2,900 และ 3,000 คู่เบส จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความหลากหลาย (Monomorphic band) 1 เครื่องหมาย (1,700 คู่เบส) แถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (polymorphic band) 8 เครื่องหมาย (500, 800, 1,100, 1,200, 1,300, 2,000, 2,900 และ 3,000 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 1 เครื่องหมาย (700 คู่เบส) เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA04 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอปลาหมอคั่วด้วยวิธีการ RAPD-PCR พบว่าได้ RAPD marker จำนวน 10 เครื่องหมายขนาด 400, 500, 900, 1,000, 1,200, 1,400, 1,700, 2,100, 2,900 และ 3,000 คู่เบส จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) 6 เครื่องหมาย ขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 400, 500, 900, 1,000, 1,200 และ 1,700 คู่เบส และแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 4 เครื่องหมาย ขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 1,400, 2,100, 2,900 และ 3,000 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 4.15)



ภาพที่ 4.15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไพรมเมอร์ OPA04, OPA05, OPA07 ของ
 ปลูกานิล KMITL'S FishTechFarm ปลูกานิลจิตรลดา และปลาหมอตศ
 M ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส plus ladder

- 1 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิล KMITL'S FishTechFarm (OPA04)
- 2 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิลจิตรลดา (OPA04)
- 3 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอตศ (OPA04)
- 4 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิล KMITL FishTechFarm (OPA05)
- 5 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิลจิตรลดา (OPA05)
- 6 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอตศ (OPA05)
- 7 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิล KMITL FishTechFarm (OPA07)
- 8 ลายพิมพ์ DNA ของปลูกานิลจิตรลดา (OPA07)
- 9 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอตศ (OPA07)

เมื่อใช้ไพรมเมอร์ OPA07 ทำการศึกษาปลาทั้ง 3 กลุ่มพบว่าปลูกานิล KMITL'S FishTechFarm ได้ผลของเครื่องหมาย RAPD marker ทั้งหมด 9 เครื่องหมาย (550, 700, 800, 1,100, 1,200, 1,500, 2,000, 2,900 และ 2,000 คู่เบส) (ภาพที่ 4.15) จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) ทั้งหมด ส่วนแถบดีเอ็นเอของปลูกานิลจิตรลดามีทั้งหมด 10 เครื่องหมาย จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) ทั้งหมด 10 เครื่องหมาย (500, 600, 700, 1,000, 1,200, 1,400, 1,500, 1,900, 2,100 และ 2,900 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 2 เครื่องหมาย (500 และ 2,100 คู่เบส) ปลาหมอตศพบเครื่องหมาย RAPD marker 12 เครื่องหมาย จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) ทั้งหมด 9

เครื่องหมาย (550, 650, 800, 1,200, 1,400, 1,500, 1,900, 2,000 และ 2,500 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะ 2 เครื่องหมาย (450 และ 3,000 คู่เบส)

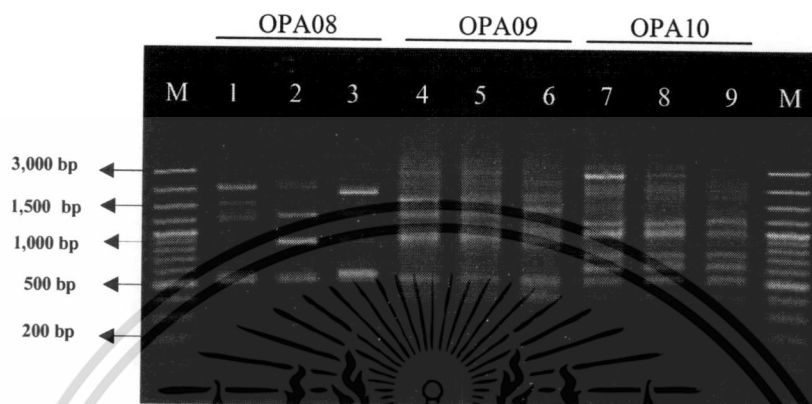
แถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ OPA08 เมื่อใช้กับปลานิล KMITL'S FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 7, 10 และ 8 เครื่องหมาย ตามลำดับ (ภาพที่ 4.16) นอกจากนี้ยังพบว่าปลานิล KMITL's FishTechFarm เกิดแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) 6 เครื่องหมาย (500, 700, 1,000, 1,200, 1,500 และ 2,100 คู่เบส) แถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะ 6 เครื่องหมาย (1,900 คู่เบส) ส่วนปลานิลจิตรลดาเกิดแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย (Polymorphic band) 8 เครื่องหมาย (500, 800, 900, 1,200, 1,400, 1,500, 1,900 และ 3,000 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะ 2 เครื่องหมาย (550 และ 2,100 คู่เบส) และปลาหมอเทศมี 8 เครื่องหมาย (400, 500, 650, 900, 1,200, 1,700, 2,000 และ 2,500 คู่เบส) ทุกเครื่องหมายจัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลายทั้งหมด

ผลที่เกิดจากไพรเมอร์ OPA09 เมื่อใช้กับปลานิล KMITL'S FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีจำนวนเครื่องหมาย RAPD marker เท่ากับ 12, 10 และ 7 เครื่องหมาย (ภาพที่ 4.16) ในปลานิล KMITL's FishTechFarm จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย 8 เครื่องหมาย (400, 900, 1,200, 1,300, 1,900, 2,000, 2,100 และ 3,100 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะ 4 เครื่องหมาย (600, 800, 1,500 และ 3,000 คู่เบส) แถบดีเอ็นเอที่พบในปลานิลจิตรลดา 10 เครื่องหมาย แบ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย 7 เครื่องหมาย (คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะ 3 เครื่องหมาย (400, 550 และ 3,000 คู่เบส) ในปลาหมอเทศแบ่งได้เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย 4 เครื่องหมาย (1,000, 1,300, 1,600, 2,900 และ 3,100 คู่เบส) และแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะ 3 เครื่องหมาย (400, 450 และ 1,000 คู่เบส)

เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA10 ในปลานิล KMITL's FishTechFarm พบว่าเกิดเครื่องหมาย RAPD marker ทั้งหมด 11 เครื่องหมาย จำแนกเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะทั้งสิ้น 9 เครื่องหมาย (650, 800, 1,200, 1,500, 1,900, 2,000, 2,100, 3,000 และ 3,100 คู่เบส) และเครื่องหมายแสดงความจำเพาะ 2 เครื่องหมาย (1,000 และ 500 คู่เบส) ปลานิลจิตรลดา มี 11 เครื่องหมาย (400, 550, 700, 800, 1,000, 1,200, 1,400, 2,000, 2,100, 2,900 และ 3,100 คู่เบส) จัดเป็นแถบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลายทั้งหมดเหมือนกับปลาหมอเทศมีทั้งหมด 12 เครื่องหมาย (500, 650, 750, 800, 1,000, 1,200, 1,400, 1,500, 1,800, 2,000, 2,100 และ 2,900 คู่เบส) (ภาพที่ 4.16)

ไพรเมอร์ OPA13 เมื่อใช้กับปลานิล KMITL's FishTechFarm พบว่าเกิดเครื่องหมาย RAPD marker ทั้งหมด 8 เครื่องหมาย (ภาพที่ 4.17) จัดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลายทั้งหมด 7 เครื่องหมาย (800, 1,000, 1,200, 1,500, 1,700, 2,000 และ 2,900) เครื่องหมายแสดงความจำเพาะ 1 เครื่องหมาย (3,100 คู่เบส) ปลานิลจิตรลดา 6 เครื่องหมาย จัดเป็นแถบดีเอ็นเอแสดงความหลากหลาย 5 เครื่องหมาย (600, 900, 1,000, 1,500 และ 2,900 คู่เบส) แถบเครื่องหมายที่ไม่

แสดงความหลากหลาย 1 เครื่องหมาย (2,000 คู่เบส) ปลาหมอเทศ 9 เครื่องหมาย แบ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความหลากหลาย 8 เครื่องหมาย และแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะ 1 เครื่องหมาย (2,900 คู่เบส) Soufy *et al.* (2009) รายงานว่าพบแถบดีเอ็นเอ 6 แถบเมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA13 และมีแถบดีเอ็นเอที่ใกล้เคียงกับปลานิล KMITL's FishTechFarm จำนวน 1 แถบมีขนาดประมาณ 800 คู่เบส และพบแถบดีเอ็นเอที่ใกล้เคียงกับปลานิลจิตรลดา 2 แถบ คือ 600 และ 900 คู่เบส



ภาพที่ 4.16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL'S FishTechFarm ปลานิลจิตรลดาและปลา

หมอเทศด้วยไพรเมอร์ OPA08, OPA09, OPA10

M ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส plus ladder

1 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิล KMITL'S FishTechFarm (OPA08)

2 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิลจิตรลดา (OPA08)

3 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอเทศ (OPA08)

4 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm (OPA09)

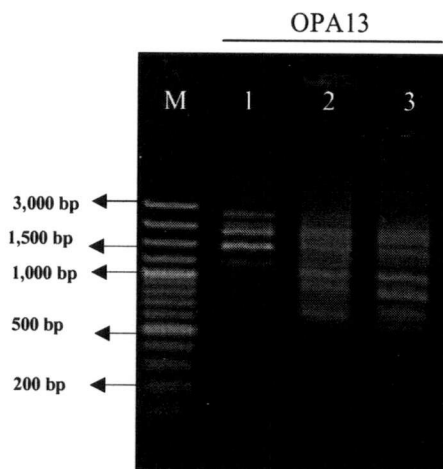
5 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิลจิตรลดา (OPA09)

6 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอเทศ (OPA09)

7 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm (OPA10)

8 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิลจิตรลดา (OPA10)

9 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอเทศ (OPA10)



ภาพที่ 4.17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ ด้วยไพรเมอร์ OPA13

- M ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 คู่เบส plus ladder
 1 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm (OPA13)
 2 ลายพิมพ์ DNA ของปลานิลจิตรลดา (OPA13)
 3 ลายพิมพ์ DNA ของปลาหมอเทศ (OPA13)

จากการนำดีเอ็นเอที่ผ่านการตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียมาดำเนินการต่อในขั้นตอน RAPD-PCR โดยเริ่มจากการเลือกไพรเมอร์สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA03, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA10, OPA13, OPA17 และ OPA19 ผลิตจากบริษัท Operon Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งไพรเมอร์ดังกล่าวเลือกมาจากการวิจัยของ Appleyard and Mather. (2004); Alfy *et al.* (2009) Bardakci and Skibinski (1994); Rashed *et al.* (2009); Hassnine *et al.* (2004) หลังจากทดสอบการจับและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไพรเมอร์แต่ละตัวด้วยเทคนิค RAPD-PCR พบว่ามีไพรเมอร์ 2 ตัวที่คุณสมบัติไม่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เนื่องจากไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในปลาทั้ง 3 กลุ่ม คือไพรเมอร์ OPA17 และ OPA19 ส่วนไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (Polymorphic band) ดีที่สุดจากไพรเมอร์ 8 ตัวที่เหลือคือ OPA05 และ OPA08 ส่วนไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการทดลองซ้ำคือ OPA04 พบในรายงานวิจัยของ Bardakci and Skibinski (1994) ที่ทำการทดลองในปลานิล (*O. niloticus*) Alfy *et al.* (2009) หาความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลากลุ่ม Tilapia (*O. niloticus*, *O. aureus* and *Tilapia Zillii*) พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จากไพรเมอร์ OPA08 และ OPA11 ให้แถบดีเอ็นเอที่คมชัดและแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ดีที่สุด

4.2.4 ผลของการศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรมอร์ต่างชนิดกันในปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ ด้วยเทคนิค RAPD-PCR

จากการนำดีเอ็นเอของปลาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ ปลานิล KMITL's FishTechFarm, ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มาศึกษาด้วยเทคนิค RAPD-PCR และนำแถบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากไพรมอร์ 8 ชนิด นำผลที่ได้จากวิธีเจลอเล็กโตรโฟเรซิสมาวิเคราะห์ผลเป็นตัวเลข 1 กับ 0 ถ้าเกิดแถบดีเอ็นเอให้เป็น 1 คะแนน และไม่เกิดแถบดีเอ็นเอให้เป็น 0 คะแนน นำค่าคะแนน 1 กับ 0 ที่แปลงเรียบร้อยแล้วมาวิเคราะห์ต่อไปในโปรแกรม NTSYSpc 2.01e โดยอาศัยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายตามวิธี Jaccard (1908) และหาค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Similarity coefficients) ใช้อธิบายความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างปลานิลแต่ละกลุ่ม และปลาหมอเทศ

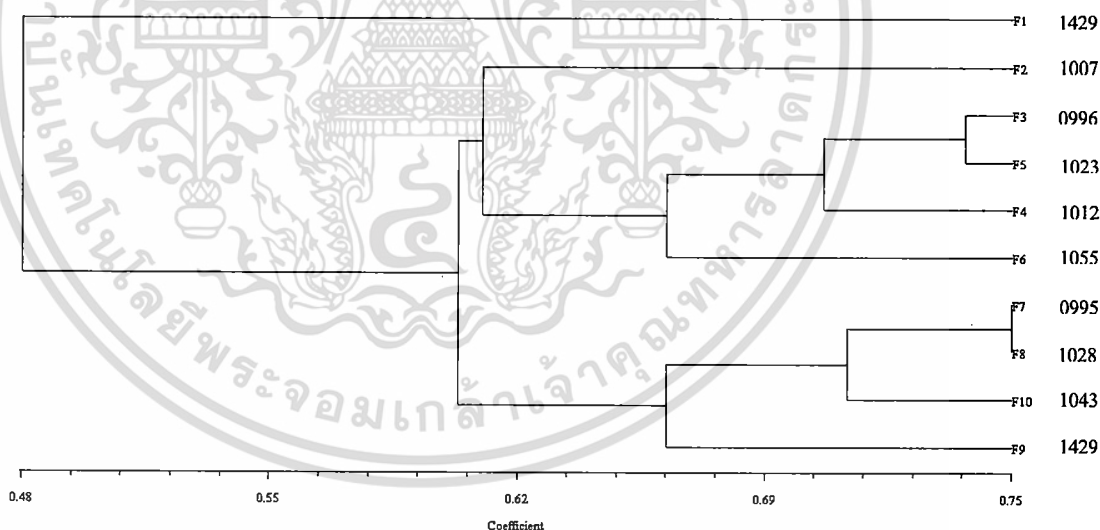
จากการนำแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาวิเคราะห์การปรากฏแถบด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.01p ในการหาค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงตามวิธี Jaccard (1908) โดยใช้วิธี Upweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของปลานิล KMITL's FishTechFarm, ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.48 ถึง 0.75, 0.46 ถึง 0.81 และ 0.51 ถึง 0.79 ตามลำดับ โดยค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันมีค่า 0.5 ขึ้นไปมีความเหมือนกันทางพันธุกรรม 50 เปอร์เซ็นต์จัดได้ว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมหรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ

ผลของการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลานิล KMITL's FishTechFarm, ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ นำค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Similarity coefficient) ที่ได้มาวิเคราะห์การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของปลาทั้ง 3 กลุ่ม Phylogenetic tree ที่เกิดขึ้นในกลุ่มปลานิล KMITL's FishTechFarm พบว่าปลาที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด คือ ปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 0995 กับ 1028 มีความคล้ายกันถึง 0.753 และสามารถแบ่งปลาในกลุ่มได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ ปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 1007, 0996, 1012, 1023 และ 1055 กลุ่มที่ 2 คือ ปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 0995, 1028, 1004, 1043 และกลุ่มที่ 3 คือปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 1429 พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยสุดในกลุ่ม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.48 (ภาพที่ 4.18) ส่วนปลาในกลุ่มปลานิลจิตรลดาที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด คือปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 0922 กับ 1884 ซึ่งมีค่าถึง 0.806 และสามารถแบ่งปลานิลได้เป็น 4กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ ปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 0922, 0990, 1884, 1898, 1563 และ 1896 กลุ่มที่ 2 คือ ปลานิลที่มีรหัส (RFID Tag) 1167 และ 1844 กลุ่มที่ 3 คือ 1151 และกลุ่มที่ 4 คือ 0950 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงต่ำสุดคือ 0.46 (ภาพที่ 4.19) ส่วนปลาในกลุ่มปลาหมอเทศที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ ปลาหมอเทศที่มีรหัส (RFID Tag) 1025 กับ 1260 มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงถึง 0.787 สามารถแบ่งปลาในกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 คือ ปลาหมอเทศที่มีรหัส (RFID Tag) 1797, 0642, 1025, 1260 และ 0978 กลุ่มที่ 2 ปลาหมอเทศที่มีรหัส (RFID Tag) คือ

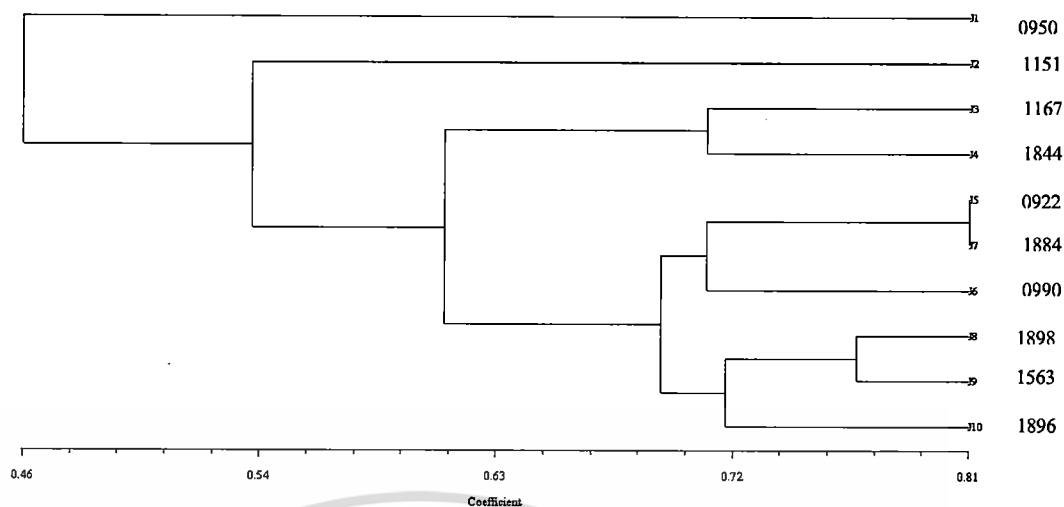
1009, 1607 และ 1039 กลุ่มที่ 3 คือ ปลาหมอเทศที่มีรหัส (RFID Tag) 1050 และกลุ่มที่ 4 คือปลาหมอเทศที่มีรหัส (RFID Tag) 0486 ซึ่งมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมต่ำที่สุดในกลุ่ม และมีค่าเท่ากับ 0.51 (ภาพที่ 4.20)

เมื่อนำประชากรปลาทั้ง 3 กลุ่ม มาทำการสร้าง Phylogenetic tree พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายมีค่าเท่ากับ 0.67 ถึง 0.89 และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของปลานิล KMITL'S FishTechFarm และปลานิลจิตรลดา ส่วนกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มของปลาหมอเทศ โดยมีระยะห่างระหว่างประชากรของกลุ่มที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.672 และ 0.67 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.21)

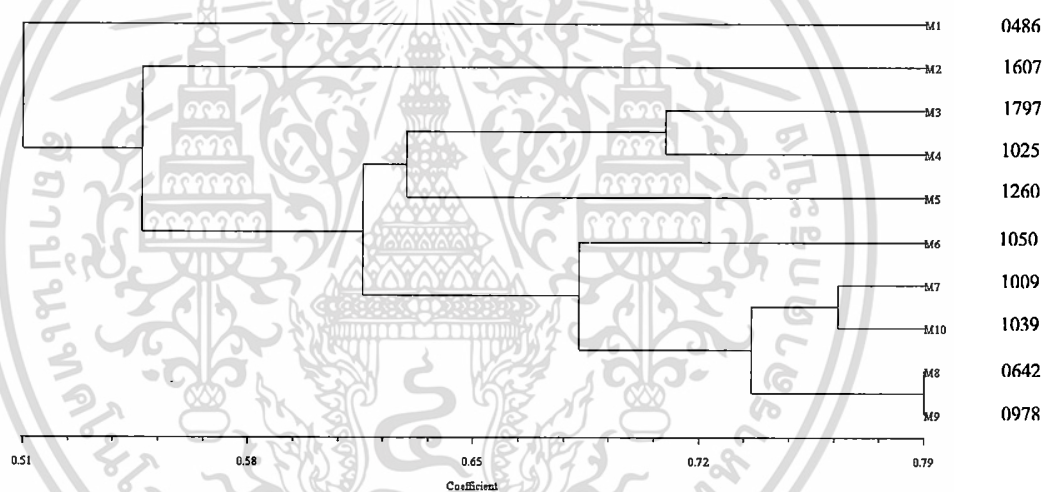
จากการศึกษาปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ โดยใช้เทคนิคทางโมเลกุล (RAPD-PCR) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของปลาในกลุ่มเดียวกันปลานิล KMITL's FishTechFarm สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ส่วนปลาในกลุ่มปลานิลจิตรลดาและปลาหมอเทศ แบ่งได้เป็น 4 กลุ่มเหมือนกัน แต่เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายของปลาในกลุ่มเดียวกัน พบว่ากลุ่มปลาหมอเทศมีความใกล้เคียงกันมากที่สุดทั้งนี้อาจจะมาจากการผสมกันเองของปลาหมอเทศเกิดเป็นการผสมเลือดชิด (Inbreeding) และเมื่อสร้าง Phylogenetic tree จะเห็นได้ว่าปลานิล KMITL's FishTechFarm มีระยะห่างทางพันธุกรรมกับปลานิลจิตรลดาต่ำกว่าปลาหมอเทศ



ภาพที่ 4.18 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลานิล KMITL's FishTechFarm



ภาพที่ 4.19 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลานิลจิตรลดา



ภาพที่ 4.20 Phylogenetic tree ของกลุ่มปลาหมอเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ ลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพ และรูปแบบแถบ RAPD-PCR ของปลานิลใน KMITL's FishTechFarm เทียบกับปลานิลจิตรลดาและปลาหมอเทศ สรุปได้ว่า

5.1 ลักษณะปรากฏเชิงปริมาณของปลานิล KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อพิจารณาจากจำนวนก้านครีบกึ่งที่ครีบล้างและก้านครีบอ่อนที่ครีบก้น

5.2 ลักษณะปรากฏเชิงคุณภาพ เช่น ลักษณะของปากและลายข้างลำตัว สามารถนำไปใช้แยกความแตกต่างของปลานิลกับปลาหมอเทศได้ดีกว่าลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ โดยปลานิลทั้ง 2 แหล่งส่วนใหญ่มีริมฝีปากบน-ล่างเสมอกันและมีลายข้างลำตัว 9-10 ลาย ในขณะที่ปลาหมอเทศส่วนใหญ่มีริมฝีปากล่างยาวกว่าริมฝีปากบนและไม่มีลายข้างลำตัว

5.3 จากการทำ RAPD-PCR พบว่าไพรเมอร์ 8 ชนิด คือ OPA03, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA09, OPA10 และ OPA13 สามารถใช้เพิ่มปริมาณของแถบผลิตภัณฑ์ RAPD-PCR ของปลานิลและปลาหมอเทศได้ แต่ไพรเมอร์ OPA17 และ OPA19 ไม่สามารถใช้เพิ่มปริมาณของแถบผลิตภัณฑ์ RAPD-PCR ได้

5.4 รูปแบบของแถบ RAPD-PCR ของประชากรปลานิลใน KMITL's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศแสดงความแปรผันทางพันธุกรรมของปลาแต่ละตัวในสายพันธุ์เดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงเท่ากับ 0.48-0.75, 0.46-0.81 และ 0.51-0.79 ตามลำดับ

5.5 ปลานิล KMITL's FishTechFarm มีความแปรผันทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับปลานิลจิตรลดา แต่แตกต่างจากปลาหมอเทศ เมื่อพิจารณาจาก Phylogenetic tree ที่ได้จากรูปแบบของแถบ RAPD-PCR

บรรณานุกรม

- กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2549. ปลาที่เพาะเลี้ยงง่าย. เอกสารเผยแพร่ความรู้. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ยุทธศาสตร์การพัฒนาปลานิล. 2553. [Online]. Available: <http://www.fisheries.go.th/freshwater/web3/images/download/yutast.pdf>. 16/05/56.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2534. วิธีการเลี้ยงปลาดุกเทศในนาข้าว ความหวังใหม่ของชาวนา. สำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. วารสารวิจัยและส่งเสริม. ปีที่ 8 (1) : 57-62
- เกรียงวรัญ สติศิริต. 2542. ตลาดสัตว์น้ำตระกูลปลาหมอเทศ/ปลานิล (Tilapia) ในซีกโลกตะวันออก **Tilapia Market in Western World**. วารสารการประมง. ปีที่ 52. ฉบับที่ 3.
- จอมจิน จันทรสกุล. 2553. มาตรฐานการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง. บทความพิเศษวารสาร โลหิตวิทยา และเวชศาสตร์บริการโลหิต. ปีที่ 20. ฉบับที่ 4.
- จุฑาทิพย์ ทิพย์นำภา. 2552. ปลา...สัตว์ทดลองใหม่คู่แข่งตะกวด. หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ. ไอที-นวัตกรรม : วิทยาศาสตร์. [Online]. Available <http://www.bangkokbiznews.com/home/detail/it/science/>. 16/05/56.
- ชวิน ต้นพิทยกุลปต์ และอุทัยรัตน์ ณ นคร. 2548. ความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลากัด (*Betta spp.*) ในประเทศไทยด้วยเทคนิค RAPD-PCR. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. งานประชุมวิชาการครั้งที่ 43 : 185-192.
- นวลมณี พงศ์ธนา นนท์ปวิธ ออกแดง มัลลิกา ทองสง่า และประจักษ์ บัวเนียม. 2550. การคัดพันธุ์ปลานิลสายพันธุ์ GIFT. ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำปทุมธานี. กรมประมง.
- ภูมิไทยฟาร์ม. 2551. ปลานิลในประเทศไทย. [Online]. Available : <http://www.siamtilapia.com/th/farm/nile.php>. 16/05/56.
- มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล พรรณศรี จริโมภาส สุจิน หนูขวัญ กำชัย สาวนัยวุฒิ วีระ วัชรกระโยชิน และ ดร.วิมล จันทโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. **Development of the Nile Tila culturing**. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด.

- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ คุสิต เอื้ออำนวย ปวีณา ทวีกิจการ ตรีญา พันธุ์พฤษ์ และศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2551. การใช้เทคโนโลยี RFID ในสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1 ปทุมธานี : สำนักพิมพ์งานประชาสัมพันธ์พรรคการและสิ่งพิมพ์.
- วิรัช จิวแหยม ชงชัย จำปาศรี จิรัชย์ จันทนะ. 2549. การหาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรกบนาอีสานที่มีการเพาะเลี้ยงโดยการวิเคราะห์ RAPD. วารสารวิจัย มข. 11(1). ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- สุภัทรา อุไรวรรณ. 2531. “การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ปลานิล.” วารสารการประมง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง. ปีที่ 41. ฉบับที่ 6.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2549. จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์. สำนักงานคณะกรรมการวิทยาศาสตร์แห่งชาติ. สมุทรปราการ : อาร์ตแอนด์พาร์ท อพเดท จำกัด.
- สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2552. แนวทางการปฏิบัติ จรรยาบรรณนักวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.). กรุงเทพฯ : พับลิคไฟโต้และโฆษณา จำกัด.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2537. การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ปลา. เอกสารเผยแพร่ประกอบการสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 25 หน้า.
- Alfy, S. H. E., Abdelmordy, M. and Salama, M.S. 2009. “Genetic variation among Nile Tilapiaines fish (Perciformes : Cichlidae) Assessed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis.” **Research Journal of cell and Molecular Biology**. 3(1) : 63-70.
- Ali, A. B., Huang H.T., Qin, N.D. and Wang, M.X. 2004. “A review of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in fish research.” **Reviews in fish biology and Fisheries**. 14 : 443-453.
- Almeida, J. A., Diniz, Y. S., Marques, S. F. G., Faine, L. A., Ribas, B. O., Burneiko, R. C. and Novelli, E. L. B. 2002. “The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile

- tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination.” **Environment International**. 27: 673-679.
- Appleyard, S.A. and Mather, P. B. 2002. “Genetic Characterization of Cultured Tilapia in Fuji Using Allozymes and Random Amplified Polymorphic DNA.” **Asia Fisheries Science**. 15: 249-264.
- Bardakci, F. and Skibinski, D. O. F. 1994. “Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification.” **Heredity**. 73: 117-123.
- Bardakci, F. 2001. “Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers.” **Turk Biol**. 25. 185-196.
- Barrena, R., Artola, A., Vazquez, F. and Sanchez, A. 2009. “The use of composting for the treatment of animal by-products: Experiments at lab scale.” **Journal of Hazardous Materials**. 161. 380-386.
- Bolivar, B. R. and Newkirk, F. G. 2002. “Response to within family selection for body weight in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a single-trait animal model.” **Aquaculture**. 204 : 371-381.
- Carpenter, E.K. and Niem H.V. 1999. “The living marine resources of the western central pacific.” **Food and Agriculture Organization of the United Nation Rome**. Vol. 3. 1020-6868.
- El-Zaeem, Y. S., Ahmed, M. M. M., Salama, E. S. M. and El-kader, A. N. W. 2012. “Phylogenetic differentiation of wild and cultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations based on phenotype and genotype analysis.” **African Journal of agricultural research**. 7(19). 2946-2954.
- Fleming, A. 2007. “Zebrafish as an alternative model organism for disease modeling and drug discovery: implications for the 3Rs.” **National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research**. 8(3): 206-229.
- FAO. 2012. The state of world fisheries and aquaculture. Rome. ISSN: 1020-5489
- George, T. T. 2005. “The Most Recent Nomenclature of Tilapia Species in Canada and the sudan.” **Aquaculture Canada**. 10: 33-37.
- Handschr, M., Karlic, H., Hertel, C., Pfeilstöcker, M. and Haslberger, G. A. 2009. “Preanalytic removal of human DNA eliminates false signals in general 16S rDNA PCR monitoring

- of bacterial pathogens in blood.” **Comparative Immunology; Microbiology and Infectious Diseases**. 32(3): 207-219.
- Hamzah, A., Nguyen, H.N., Ponzoni, W. R., Kamaruzzaman, N. B. and Subha B. 2008. “Perform and Survival of three red Tilapia strain (*Oreochromis spp.*) in pond Environment in kedah stste, Malaysia.” **International Symposium on Tilapia in aquaculture**. 8: 199-211.
- Hassanien, A. H., Elnady, M., Obeida, A. and Itriby H. 2004. “Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD).” **Aquaculture research**. 35: 587-593.
- Hillis, D. M. and Moritz, C. 1990. **Molecular systematic**. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.
- Jaccard, P. 1908. **Nouvelles recherches sur la distribution florale**. Bul. Soc. Vaudoise Sci. Nat. 44: 223–270.
- Khaw, H. L., Bovenhuis, H., Ponzoni, R. W., Rezk, M. A., Charo-Karisa, H. and Komen, H. 2009. “ Genetic analysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Selection line reared in two put environment.” **Aquaculture**. 294: 37-42.
- KMITL Central library. [Online]. Available : <http://www.lib.kmitl.ac.th/>. 16/05/56.
- Lammer, E., Carr, G. J., Wendler, K., Rawlings, J. M., Belanger, S. E. and Braunbeck, Th. 2009. “Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test?” **Comparative Biochemistry and Physiology**. 149: 196-209.
- Lieschke, J. G. and Currie, D. P. 2007. “Animal models of human disease : zebrafish swim into view.” **Nature Reviews Genetics**. 8: 353-368.
- Maria, R., Romana-E, R., Minoru I., Zubaida, U.B., Nobuhiko T. 2004. “Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis.” **Aquaculture**. 236: 135-150.
- Matta, L.P.S., Vilela, A.R.D., Godinho P.H. and Franca, R.L. 2002. “The Goitrogen 6-n-Propyl-2-Thiouracil (PTU) Give during Testis Development Increasas Sertoli and Germ Cell Numbers per Cyst in Fish: The Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Model.” **Endocrinology**. 143(3) : 970-978.

- Maurilio, L. F., Miguel, A. O. N., Beatriz, E. G. M. and Wilberth, L. M. 2003. "Use of bacteria *Streptococcus Faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)." **Aquaculture**. 216: 193-201.
- Mak, N. 2008. "Fish in research and toxicity testing and the need for alternatives." **American Anti-Vivisection society (aavs)**. [Online]. Available :http://www.aavs.org/site/c.bkLTKfOSLhK6E/b.6457219/k.2A40/Model_Fish.htm#.UYemxkoqNKw
- Meyer, E. D. 2001. "Nutrition and feeding of Tilapia." **Panamerican Agriculture School Zamorano Honduras**. 5(3): 27- 36.
- NTSYSpc, Numerical Taxonomy System. 1960 [Online]. Available. <http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>. 17/05/56
- Rashed, M.A., Saad, Y.M., Ibrahim, M.M. and Alia , A El-seoudy. 2008. "Genetic Structure of Natural Egyptian *Oreochromis niloticus* Evaluated Using Dominant DNA Markers." **Global Veterinaria**. 2(2): 87-91.
- Rashed, M.A., Saad, Y.M., Atta, A.H. and Sadek, M.H. 2009. "Genetic Variation and Inheritance of some DNA Markers in Three Constructed *Oreochromis niloticus* Families." **World Applied Sciences Journal**. 6(2): 203-207.
- Rahman, A. M., Mak, R., Ayad, H., Smith, A. and Maclean, N. 1998. "Expresion of a novel piscine growth hormone gene results in growth enhancement in transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*)." **Transgenic Research**. 7: 357-369.
- Roman, W., Boudry, P., Hemmer – Hansen, J., Lubieniecki, P.K., Was, A. and Kause, A. 2007. "What role for genomics in fisheries management and aquaculture?." **Aqutic Living Resoureces**. 20: 241-255.
- Sambrook, J. and Russel, D. 2001. **Molecular Cloning a laboratory manual**. Volume 3 : Third Edition.
- Soufy, H., Laila, A.M. and Iman, M.K.A. 2009. "RAPD-PCR for DNA-fingerprinting of Egyptian tilapia". **New York Science Journal**. 2(2): 1554-0200.
- Wan, Q., Li, S. F. and Ma, J. Y. 2004. "Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their hybrid (female Nile tilapia x male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*." **Aquaculture**. 229: 79-87.

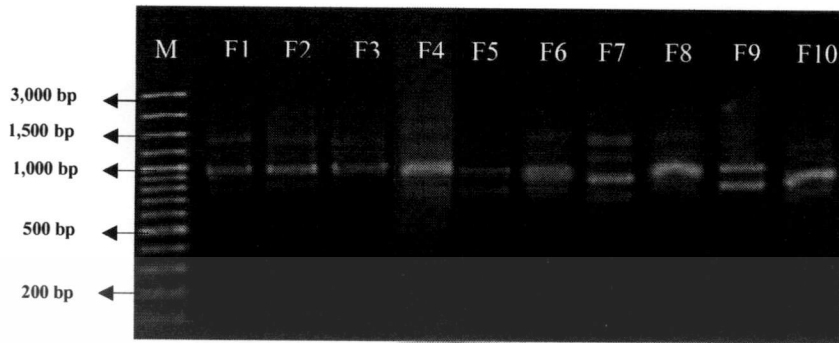
- Wenne, R., Boudry, P., Hansen-Hemmer, J., Lubieniecki, P. K., Was, A. and Kause, A. 2007. "What role for genomeics in fisheries management and aquaculture." **Aquatic Living Resources**. 20: 241-255.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. I., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. "DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers." **Nucl Acids Res**. 18: 6231-6235.
- Yang, Y. 1998. "Modeling growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage-cum-pond intergrated culture system." **Aquacultural Engineering**. 21: 113-133.
- [Online]. Available : <http://t2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQR-S7kOrDMnUsMZo-NgdrnV-ujfV0iRykcW-1jdp2fgbnuljcBA>. 2/04/56.
- [Online]. Availble : http://www.aquapages.fr/poissons/dossier_51_oreochromis+mossambicus.html. 2/04/56.
- [Online]. Available : <http://pirun.ku.ac.th/~g5174004/page5.htm>. 2/04/56.
- [Online]. Available : <http://www.pharon.4t.com/photo.html>. 2/04/56.
- [Online]. Available : <http://fishbase.sinica.edu.tw/Summary/SpeciesSummary>. 2/04/56.
- [Online]. Available : <http://bio1151b.nicerweb.com/Locked/media/ch20/electrophoresis.html>. 2/04/56.
- [Online]. Available : <http://1.bp.blogspot.com/>. 16/05/56.
- [Online]. Available : <http://library.thinkquest.org/03oct/00946/accounts/fish.htm>. 25/05/56.
- [Online]. Available : <http://www.monsterfishkeepers.com/forums/showthread.php?263447-Oreochromis-mossambicus>. 25/05/56.
- [Online]. Available : http://www.jcu.edu.au/archive/actfr_old_Projects/Pestfish/Profiles/Tilapia/OmossambicusPhotos.htm. 29/05/56.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก



ภาพที่ ก 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA03

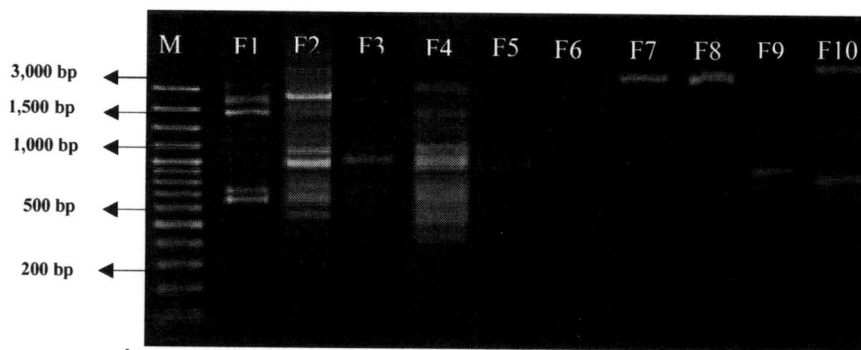


ภาพที่ ก 2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA04



ภาพที่ ก 3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 4 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA07

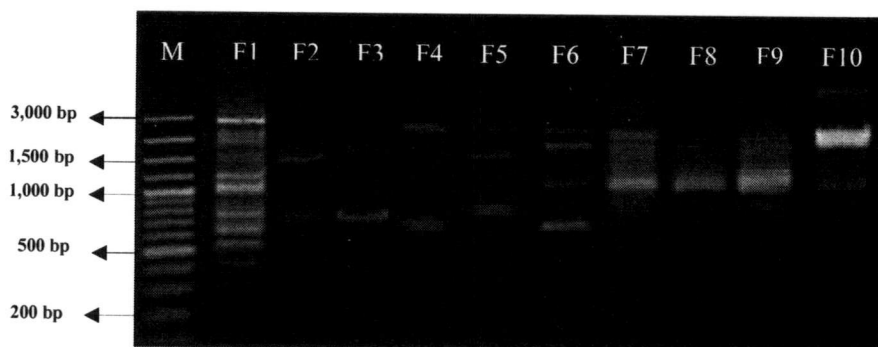


ภาพที่ ก 5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA08



ภาพที่ ก 6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA10

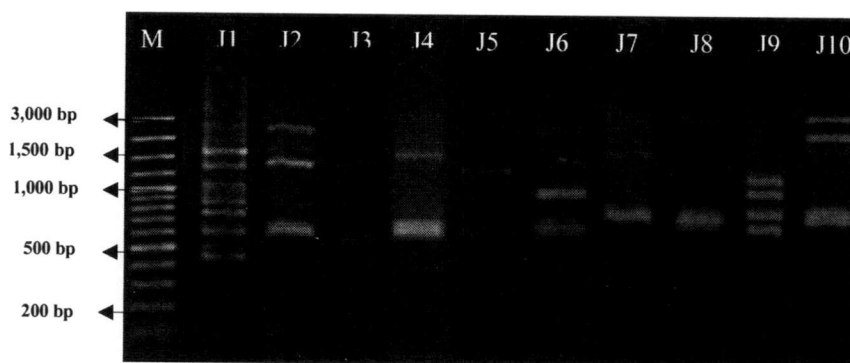


ภาพที่ ก 8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิล KMITL's FishTechFarm ไพรเมอร์ OPA13



ภาพที่ ก 9 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดา ไพรเมอร์ OPA03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 10 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA04

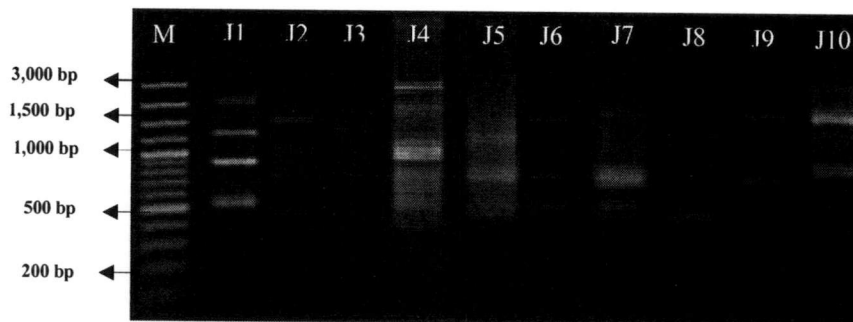


ภาพที่ ก 11 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA05



ภาพที่ ก 12 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 13 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA08



ภาพที่ ก 14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA09

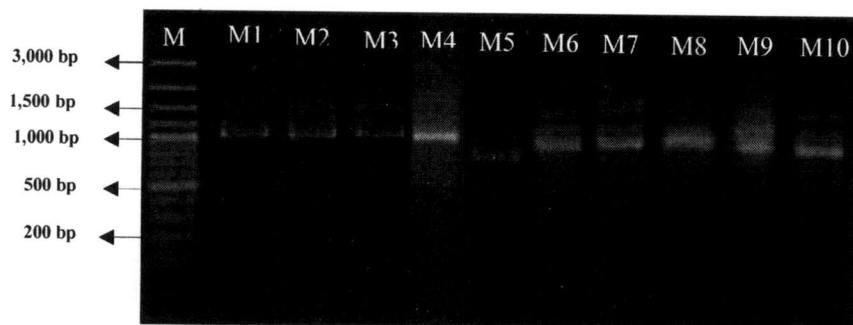


ภาพที่ ก 14 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA10



ภาพที่ ก 15 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลานิลจิตรลดาไพรเมอร์ OPA13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 16 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรเมอร์ OPA03

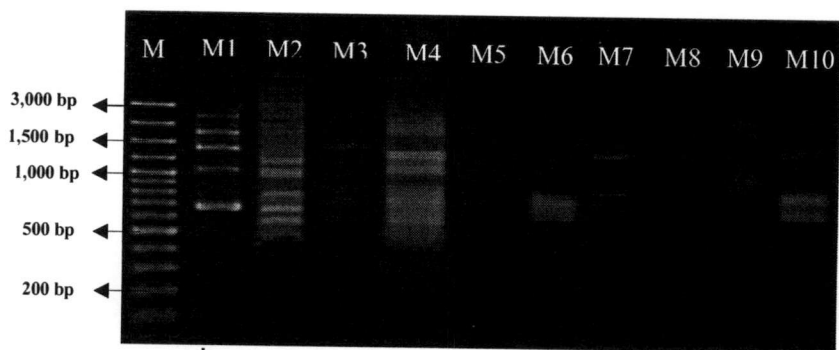


ภาพที่ ก 17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรเมอร์ OPA04



ภาพที่ ก 17 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรเมอร์ OPA05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรมอร์ OPA07

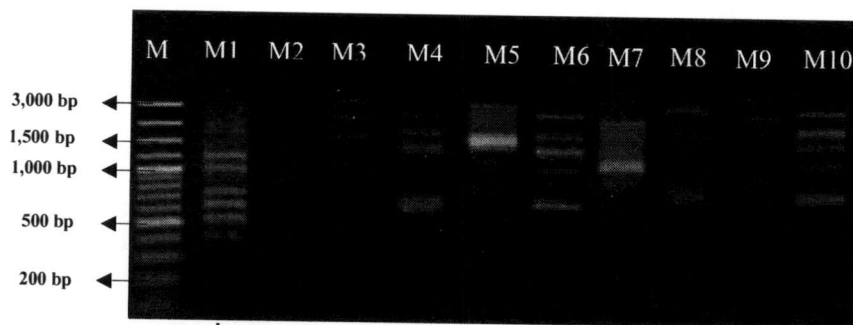


ภาพที่ ก 20 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรมอร์ OPA08

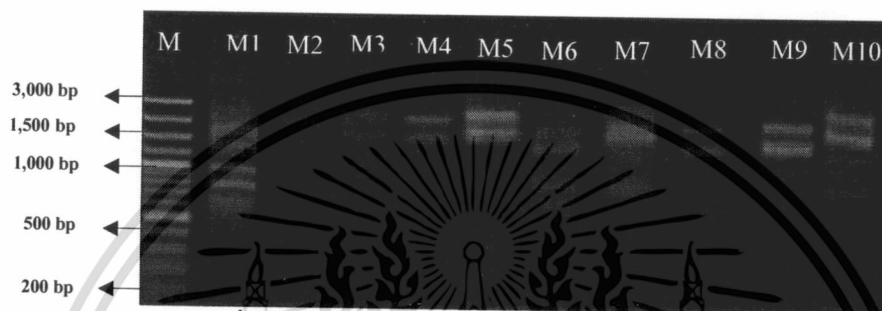


ภาพที่ ก 21 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรมอร์ OPA09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก 22 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรเมอร์ OPA10



ภาพที่ ก 22 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของปลาหมอเทศไพรเมอร์ OPA13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข 1 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm ด้วยไพรเมอร์
OPA03

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F
										1
										0
2100	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1
1400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
800	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
700	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

ตารางที่ ข 2 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm ด้วยไพรเมอร์
OPA04

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
2500	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2100	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
2000	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1500	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
1400	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
1200	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
1000	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
850	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
750	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
600	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
500	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
450	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 3 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA05 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
2900	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
2100	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1900	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0
1700	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
1500	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
1400	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
1200	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
1000	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1
900	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
700	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
500	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 4 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA07 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
3000	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
2900	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1
2000	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1500	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
1200	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1100	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
800	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
700	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
550	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 5 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA08 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
2100	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
1900	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1500	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0
1200	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1
1000	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
700	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
500	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1

ตารางที่ ข 6 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA09 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
3100	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
3000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2100	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
2000	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1
1900	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
1500	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1300	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
1200	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
900	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1
800	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
600	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 7 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA10 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
3100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3000	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
2100	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
2000	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
1900	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
1500	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
1200	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0
650	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 8 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิล KMITL's FishTechFarm จากการใช้ไพรเมอร์
OPA13 ด้วยเทคนิค RAPD

แถบ (bp)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
3100	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2900	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
2000	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1
1700	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0
1500	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1
1200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1000	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
800	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 9 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA03 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
3000	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1900	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1500	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0

ตารางที่ ข 10 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA04 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
2500	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
2000	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1
1500	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
1200	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
1100	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
1000	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
600	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
550	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1
500	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
450	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 11 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA05 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
3000	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1
2900	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
2000	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1300	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
1200	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1100	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
800	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
700	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 12 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA07 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
2900	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
2100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1900	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
1500	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
1400	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1200	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1000	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0
700	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1
600	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
500	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 13 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA08 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
3000	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
2100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1900	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
1500	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1
1400	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
1200	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
900	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
800	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0

ตารางที่ ข 14 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA09 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
3300	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
3100	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
3000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2100	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
2000	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1
1700	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
1400	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0
1200	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

ตารางที่ ข 15 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA10 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
3100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2900	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0
2100	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1
2000	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1400	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1
1200	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
800	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1
700	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
550	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
400	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 16 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลานิลจิตรลดา จากการใช้ไพรเมอร์ OPA13 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
2900	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
2000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1500	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1
1000	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1
900	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
600	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 17 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA03 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
3000	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
2100	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
1500	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
1200	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
1000	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1
900	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 18 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA04 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
2100	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
2000	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0
1800	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1500	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
1200	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
850	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
750	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
600	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1
500	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
450	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 19 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA05 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
3100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2900	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1700	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1400	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1200	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
1000	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0
900	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
500	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
400	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ ข 20 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA07 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
3000	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2500	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
1900	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0
1400	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
1200	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
1100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0
800	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1
650	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1
550	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
450	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 21 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA08 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
2500	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
2000	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
1700	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
1200	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1
650	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
500	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
450	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0

ตารางที่ ข 22 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA09 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
3100	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1
2900	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1
1600	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
1300	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
1000	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
450	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

ตารางที่ ข 23 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA10 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
2500	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
2000	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
1700	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
1200	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1
650	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
500	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
450	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0

ตารางที่ ข 24 ผลสังเคราะห์ DNA ของปลาหมอเทศ จากการใช้ไพรเมอร์ OPA13 ด้วย
เทคนิค RAPD

แถบ (bp)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
2900	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2100	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
2000	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
1900	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
1500	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1
1300	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1
1000	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0
800	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
600	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0

1 เกิดแถบดีเอ็นเอ

0 ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก 1 ผลจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกัน (similarity coefficients) ของแถบลายพิมพ์ DNA ที่ได้จากผลผลิต RAPD-PCR ของไพรเมอร์ ทั้ง 8 ชนิด ในกลุ่มปลานิล KMITL's FishTechFarm คำนวณโดยซอฟต์แวร์ NTSYSpc 2.01e และใช้ UPGMA program

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
F1	1									
F2	0.506	1								
F3	0.403	0.662	1							
F4	0.442	0.623	0.675	1						
F5	0.455	0.636	0.740	0.727	1					
F6	0.480	0.506	0.662	0.623	0.688	1				
F7	0.519	0.571	0.675	0.610	0.623	0.571	1			
F8	0.481	0.558	0.636	0.623	0.610	0.636	0.753	1		
F9	0.532	0.610	0.584	0.493	0.584	0.584	0.623	0.688	1	
F10	0.506	0.558	0.610	0.649	0.610	0.610	0.701	0.714	0.662	1

ตารางที่ ก 2 ผลจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกัน (similarity coefficients) ของแถบลายพิมพ์ DNA ที่ได้จากผลผลิต RAPD-PCR ของไพรเมอร์ ทั้ง 8 ชนิด ในกลุ่มปลานิลจิตรลดา คำนวณโดยซอฟต์แวร์ NTSYSpc 2.01e และใช้ UPGMA program

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
J1	1									
J2	0.50	1								
J3	0.402	0.625	1							
J4	0.444	0.50	0.708	1						
J5	0.458	0.458	0.639	0.625	1					
J6	0.486	0.514	0.611	0.680	0.75	1				
J7	0.486	0.514	0.556	0.597	0.806	0.667	1			
J8	0.458	0.569	0.611	0.597	0.639	0.667	0.778	1		
J9	0.472	0.583	0.653	0.556	0.597	0.708	0.708	0.767	1	
J10	0.389	0.556	0.625	0.583	0.681	0.708	0.736	0.708	0.722	1

ตารางที่ ค3 ผลจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกัน (similarity coefficients) ของแถบลายพิมพ์ DNA ที่ได้จากผลผลิต RAPD-PCR ของไพรเมอร์ ทั้ง 8 ชนิด ในกลุ่มปลาในกลุ่มปลาหมอเทศ คำนวณโดยซอฟต์แวร์ NTSYSpc 2.01e และใช้ UPGMA program

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
M1	1									
M2	0.480	1								
M3	0.493	0.587	1							
M4	0.440	0.587	0.707	1						
M5	0.413	0.587	0.627	0.627	1					
M6	0.587	0.520	0.613	0.587	0.560	1				
M7	0.480	0.520	0.613	0.480	0.667	0.627	1			
M8	0.533	0.520	0.667	0.613	0.613	0.707	0.760	1		
M9	0.560	0.547	0.587	0.560	0.667	0.653	0.707	0.787	1	
M10	0.587	0.493	0.720	0.640	0.613	0.733	0.760	0.787	0.680	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ความเหมือนกัน (similarity coefficients) ของแถบลายพิมพ์ DNA ที่ได้จากผลผลิต RAPD-PCR ของไพรเมอร์
ทั้ง 8 ชนิด ในกลุ่มปลานิล KMUTT's FishTechFarm ปลานิลจิตรลดา และปลาหมอเทศ จำนวนโดยซอฟต์แวร์ NTSYSpc 2.01p และใช้ UPGMA program**

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	
J10	0.64	0.67	0.68	0.68	0.72	0.68	0.72	0.75	0.68	0.73	0.66	0.75	0.79	0.75	0.83	0.82	0.85	0.84	0.83	1											
M1	0.57	0.54	0.59	0.56	0.57	0.64	0.58	0.58	0.58	0.58	0.55	0.55	0.58	0.59	0.55	0.58	0.61	0.63	0.59	0.58	1										
M2	0.59	0.7	0.69	0.68	0.65	0.66	0.63	0.62	0.62	0.64	0.47	0.58	0.64	0.6	0.58	0.56	0.62	0.68	0.64	0.6	0.7	1									
M3	0.53	0.7	0.72	0.71	0.67	0.65	0.65	0.62	0.62	0.68	0.55	0.63	0.65	0.68	0.63	0.64	0.69	0.73	0.69	0.68	0.7	0.75	1								
M4	0.55	0.69	0.68	0.68	0.66	0.65	0.64	0.65	0.62	0.65	0.54	0.61	0.68	0.65	0.62	0.65	0.66	0.74	0.68	0.68	0.68	0.76	0.82	1							
M5	0.57	0.66	0.68	0.7	0.66	0.7	0.67	0.66	0.59	0.69	0.54	0.65	0.71	0.65	0.7	0.68	0.7	0.77	0.68	0.7	0.66	0.76	0.78	0.78	1						
M6	0.58	0.65	0.72	0.7	0.71	0.75	0.68	0.68	0.65	0.71	0.57	0.68	0.71	0.7	0.67	0.72	0.72	0.78	0.75	0.7	0.75	0.73	0.76	0.77	0.75	1					
M7	0.62	0.67	0.72	0.71	0.7	0.75	0.72	0.72	0.66	0.72	0.56	0.66	0.67	0.69	0.68	0.68	0.72	0.79	0.72	0.72	0.7	0.72	0.77	0.7	0.81	0.79	1				
M8	0.62	0.68	0.73	0.72	0.71	0.72	0.71	0.65	0.72	0.58	0.65	0.69	0.7	0.72	0.72	0.72	0.76	0.8	0.75	0.75	0.72	0.72	0.81	0.77	0.77	0.82	0.85	1			
M9	0.58	0.64	0.69	0.68	0.67	0.71	0.72	0.71	0.65	0.72	0.59	0.69	0.73	0.71	0.72	0.7	0.74	0.81	0.72	0.72	0.75	0.74	0.75	0.75	0.81	0.79	0.83	0.87	1		
M10	0.63	0.69	0.75	0.7	0.69	0.73	0.72	0.72	0.68	0.72	0.57	0.65	0.69	0.72	0.65	0.68	0.72	0.77	0.73	0.72	0.74	0.72	0.82	0.78	0.77	0.83	0.87	0.88	0.81	1	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวดารินทร์ แดงฤทธิ์
วัน เดือน ปีเกิด	18 มีนาคม พ.ศ.2529 ที่กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	27/246 ตำบลคูคต อำเภอลำลูกกา จังหวัดปทุมธานี 12130
ประวัติการศึกษา	2550 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปัญหาพิเศษเรื่อง “ความเป็นพิษของ Microcystin-LR ในปลาชุกชุมผสม”
ผลงานวิจัย	ตีพิมพ์งานวิจัยเรื่อง “การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับสัดส่วนเชิงปริมาณเบื้องต้นของปลานิลในเคเอ็มไอทีแอล ฟิชเทคฟาร์มปลานิลจิตรลดาและปลาหมอเทศ” ตีพิมพ์ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงปีที่ 5 ฉบับที่ 2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสัดส่วนเชิงปริมาณเบื้องต้นของปลานิลที่พบในเคเอ็มไอทีแอลฟิชเทคฟาร์ม

Primary Study of Quantitative Ratio of Nile Tilapia Found in KMITL Fish Tech Farm

ดารินทร์ แดงฤทธิ์^{1,2} และ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์³

Darin Dangrit^{1,2} and Rungtawan Pranakunchaiwit³

บทคัดย่อ

การศึกษาสัดส่วนของลักษณะปรากฏเชิงปริมาณของปลา 2 ชนิดจากแหล่งที่มา 3 แหล่ง คือ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) 2 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์เคเอ็มไอทีแอล ซึ่งพบในเคเอ็มไอทีแอลฟิชเทคฟาร์ม และสายพันธุ์จิตรลดา และปลาอีกชนิดหนึ่งคือ ปลานมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) เก็บรวบรวมจากบ่อกุ้งในจังหวัดระยอง เพื่อใช้ข้อมูลดังกล่าวในการจัดการสายพันธุ์ปลาในเคเอ็มไอทีแอลฟิชเทคฟาร์ม ทำการบันทึกข้อมูลเชิงคุณภาพแบบบรรยายตัว พบว่าสัดส่วนความยาวหัวต่อความยาวมาตรฐานของปลานิลไม่มีความแตกต่างระหว่างปลานิลจากแหล่งที่ 1 และ 2 แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 1 และ 2 กับ 3 ($P < 0.05$) และค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานมีแนวโน้มเดียวกับค่าสัดส่วนความยาวหัวต่อความถี่ปลานิล ขณะที่ค่าสัดส่วนความถี่ลำตัวต่อความยาวมาตรฐานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จากผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่าปลานิลที่เคเอ็มไอทีแอลฟิชเทคฟาร์ม และสายพันธุ์จิตรลดา มีลักษณะคล้ายคลึงกัน และมีความแตกต่างจากปลานมอเทศอย่างชัดเจน ซึ่งจะได้ทำการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดังกล่าวเพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตสัตว์น้ำเพื่อทดลองต่อไป

คำสำคัญ:

สัดส่วนลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ ปลานิล เคเอ็มไอทีแอลฟิชเทคฟาร์ม

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

² ศูนย์ด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

³ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ABSTRACT

Study on quantitative traits ratio of 2 strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (KMITL Fish Tech Farm and Chitalada) and Mozambique mouth breeder, *O. mossambicus* (from shrimp pond in Rayong Province). The pedigrees of three strains of tilapia were recorded by using radio frequency identification technique. These ratios showed insignificant difference between Nile tilapia from KMITL Fish Tech Farm and Chitalada but the 2 strains showed significant difference with Mozambique mouth breeder ($P < 0.05$). These ratios showed insignificant difference between Nile tilapia from KMITL Fish Tech Farm and Chitalada but the 2 strains showed significant difference with Mozambique mouth breeder ($P < 0.05$). These ratios showed insignificant difference between 3 strains ($P > 0.05$). The results of this analysis can be concluded that the trend of quantitative trait ratios of Nile tilapia from KMITL Fish Tech Farm and Chitalada were similar, but clearly different with those of the Mozambique mouth breeder. Further investigation will be carried out to study the genetic diversity of these fish for applications of laboratory aquatic animal production.

Keywords:

Quantitative traits ratio, Nile tilapia, KMITL FISH TECH FARM

บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา และตะวันออกกลาง เนื่องจากปลานิลมีความแข็งแรง เลี้ยงง่ายสามารถปรับตัวตามสภาพแวดล้อมได้ดี เจริญเติบโตได้รวดเร็ว และสามารถแพร่พันธุ์ได้เองในธรรมชาติ ปัจจุบันปลานิลกลายเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงในเขตร้อน และเขตอบอุ่น (Rashed et al. 2008) ปลานิลจัดเป็นสัตว์น้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งในประเทศไทย เนื่องจากเป็นปลาที่นิยมนำมาบริโภค จึงมีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในประเทศ และในปัจจุบันกรมประมงได้ส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงปลานิลกันมากขึ้น (กรมประมง, 2553)

ปัญหาที่พบในการเลี้ยงปลานิลนอกจากการเกิดโรค คุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยง และยังมีปัญหาในเรื่องของสายพันธุ์ เนื่องจากปลาในตระกูล *Oreochromis* สามารถผสมข้ามพันธุ์ได้ (Species crossing) ซึ่งปลาในตระกูลนี้ที่ถูกนำเข้ามาก่อนปลานิล คือ ปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) ในสมัยก่อนมีการเลี้ยงกันมาก และแพร่ขยายพันธุ์อยู่ในแหล่งน้ำทั่วไป (เครือวัลย์, 2542) สายพันธุ์ลูกผสมที่เกิดจากปลานิลกับปลาหมอเทศ ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงเพราะเกษตรกรต้องใช้ต้นทุนในการเลี้ยงสูงขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากปลาลูกผสมที่เกิดขึ้นมีอัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตต่ำ ออกลูกบ่อย มีลักษณะปรากฏค่อนข้างไปทางปลาหมอเทศ (สุภัทธา, 2531; มานพ และคณะ, 2536) สายพันธุ์ปลาชนิดที่มีการเลี้ยงกันอยู่ทั่วไปโดยมากจะจำแนกสายพันธุ์จากลักษณะปรากฏ (phenotype) หรือเก็บข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative) ได้แก่ ความยาวส่วนหัว ความลึกตัว ความยาวมาตรฐาน ความหนาตัว ลักษณะของลายบนลำตัว (ภาพที่ 2) ข้อมูลเบื้องต้นที่ทำการเก็บนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ ลักษณะปรากฏที่เกิดขึ้นในรุ่นพ่อแม่จะมีโอกาสถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกซึ่งการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดี มีความแข็งแรงดี จึงมีแนวโน้มว่ารุ่นลูกที่ผลิตออกมาดีตามไปด้วย ซึ่ง George (2005) ได้ทำการจำแนกสายพันธุ์ปลากลุ่ม Tilapia ในประเทศแคนาดาและชูดานซึ่งปลากลุ่มนี้ไม่ใช่ปลาท้องถิ่นของแคนาดาแต่ถูกนำเข้ามาเพื่อเพาะเลี้ยง โดยอาศัยลักษณะปรากฏภายนอก เช่น ลักษณะปาก ลักษณะของไข่ สีผิว และพฤติกรรมการวางไข่ ได้ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Tilapia zillii*, *Sarotherodon galilaeus* และ *Oreochromis niloticus* จากการศึกษาลักษณะเบื้องต้นนี้ข้อมูลดังกล่าวมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ปลากลุ่ม tilapia นอกจากการเก็บข้อมูลลักษณะเชิงปริมาณแล้วยังมีการจำแนกสายพันธุ์ปลาชนิดโดยนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ (อยู่ในขณะการดำเนินงานทดลอง) ได้แก่ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่บ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตหนึ่งหรือตัวหนึ่ง รวมทั้งการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์ (RAPD-PCR) ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fringerprinting) ที่ได้ ใช้บอกความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาที่เรานำมาศึกษาเพื่อทราบพื้นหลังของสายพันธุ์แต่ละแหล่งที่มา (Bardakci et al. 1994.; Rashed et al. 2008.; Rashed et al. 2009.; Soufy et al. 2009)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัดส่วนลักษณะปรากฏเชิงปริมาณเบื้องต้นของปลานิลและปลาหมอเทศในแต่ละแหล่งที่มาและนำข้อมูลที่ได้มาใช้ร่วมกับการศึกษาด้านชีวโมเลกุลที่กำลังดำเนินการศึกษา และนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์ปลานิลเพื่อพัฒนาการเลี้ยงปลานิลอย่างยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1.1 ตัวอย่างสัตว์ทดลอง

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 2 แหล่ง ได้แก่ ปลานิลเคเอ็มไอทีแอลฟิซเทคฟาร์มจำนวน 20 ตัว ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาจำนวน 76 ตัว และปลาหมอเทศ (*Oreochromis niloticus*) จำนวน 31 ตัว จากบ่อเลี้ยงกึ่งจังหวัดระยอง เลี้ยงแยกแต่ละถังให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ดูดตะกอนและเติมน้ำในถังเลี้ยงทุกๆ 3 วัน ปลาแต่ละสายพันธุ์จะพักในบ่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 อาทิตย์ เพื่อลดความเครียดและปรับสภาพสิ่งแวดล้อมก่อนเริ่มทดลอง

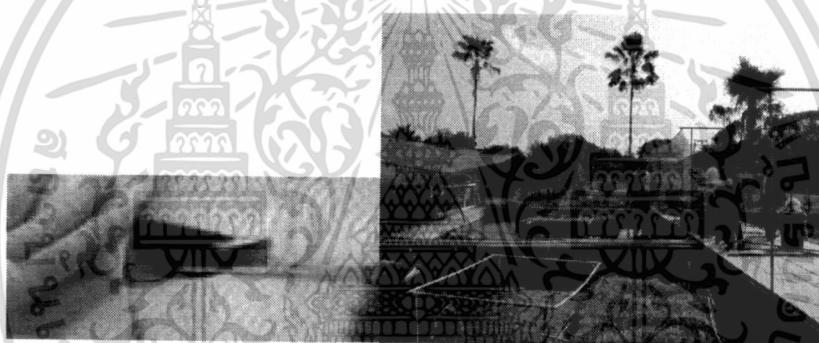
1.2 ทำการฝังอุปกรณ์ติดตามรายตัว (RFID)

ฝัง RFID Tag (ภาพที่ 1) ในปลานิลจาก 1.1 ตามวิธีการของ รุ่งตะวัน และคณะ (2551) แล้วพักปลาอีก 2 อาทิตย์ เพื่อให้แผลหาย ให้อาหารแบบเต็มอิ่มและดูดตะกอนน้ำตามปกติ พักปลาในกระชังที่เขavnไว้ใน KMITL FISH TECH FARM (ภาพที่ 1)

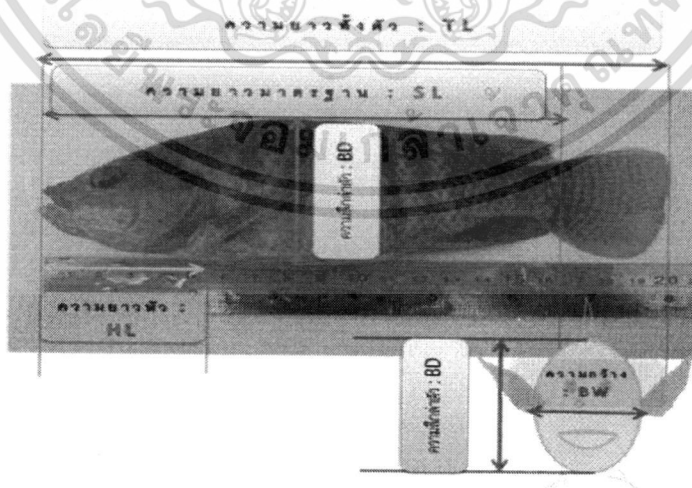
1.3 บันทึกข้อมูลแบบรายตัวด้วยโปรแกรม Fish Tech Farm

ปลาแต่ละสายพันธุ์ที่เลี้ยงไว้ในกระชังจะถูกนำมาชั่งวัดโดยใช้โปรแกรม Fish Tech Farm เวอร์ชัน 2 เพื่อ บันทึกรหัสประจำตัว (RFID Tag) บันทึกน้ำหนักตัว ความยาวหัว (HL) ความลึกตัว (BD) ความกว้างลำตัว (BW) และความยาวมาตรฐาน (SL) (ภาพที่ 3)

1.4 คำนวณสัดส่วนของลักษณะปรากฏเชิงปริมาณ ได้แก่ สัดส่วนของหัวต่อความยาวมาตรฐาน สัดส่วนของความลึกลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน และสัดส่วนของความกว้างลำตัวต่อความยาวมาตรฐานในปลาแต่ละสายพันธุ์ (ลักษณะต่าง ๆ ตาม ภาพที่ 2) หลังจากวิเคราะห์ความแตกต่างของลักษณะสัดส่วนดังกล่าวในปลาทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)

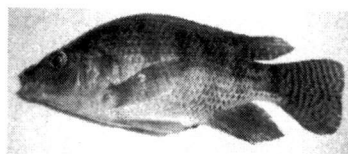


ภาพที่ 1 การติดตั้งเครื่องหมายและ KMITL FISH TECH FARM



ภาพที่ 2 ลักษณะการบันทึกข้อมูลแบบรายตัวในปลานิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



RFID Tag No. 1848



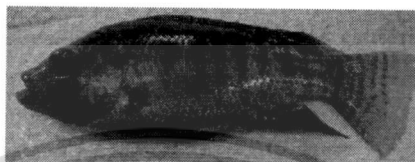
RFID Tag No. 1884



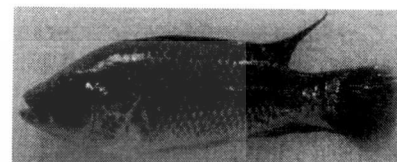
RFID Tag No. 1803



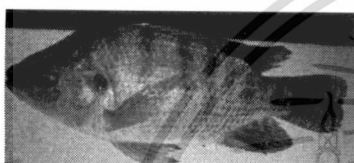
RFID Tag No. 1512



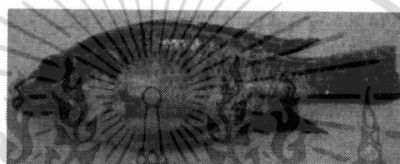
RFID Tag No. 1087



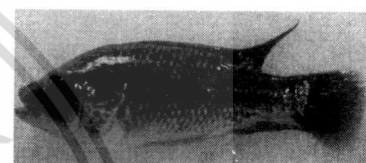
RFID Tag No. 1392



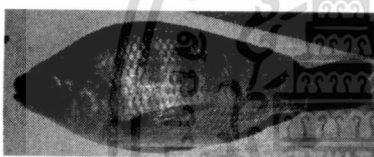
RFID Tag No. 1429



RFID Tag No. 1619



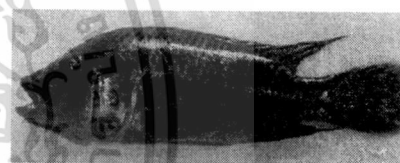
RFID Tag No. 1719



RFID Tag No. 1848



RFID Tag No. 1459



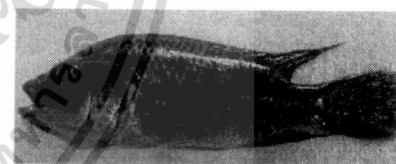
RFID Tag No. 0237



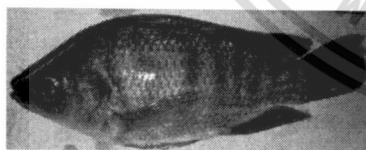
RFID Tag No. 0307



RFID Tag No. 1151



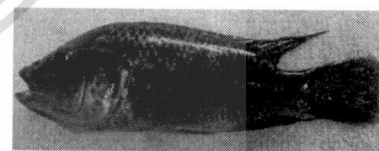
RFID Tag No. 1638



RFID Tag No. 0303



RFID Tag No. 1358



RFID Tag No. 1803

ก. ปลานิล KMITL

ข. ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา

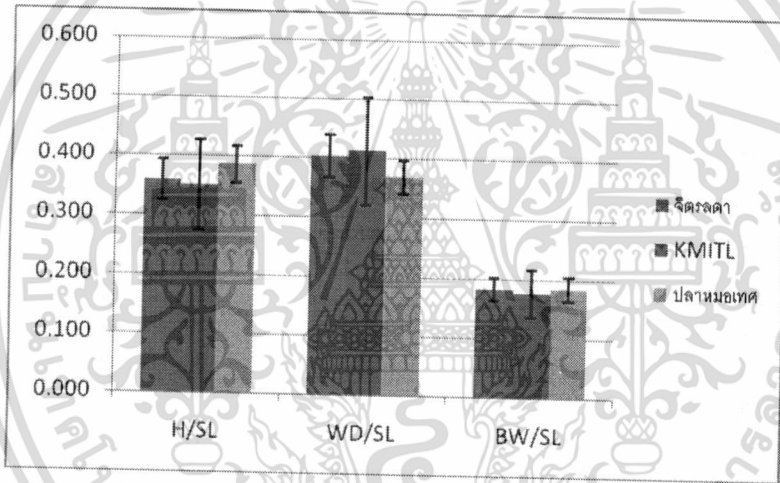
ค. ปลาหมอเทศ

ภาพที่ 3 ลักษณะปรากฏของปลานิลจากทั้ง 3 แหล่งที่มาพร้อมรหัสประจำตัว (RFID Tag) ปลานิล KMITL ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา และปลาหมอเทศ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลวิเคราะห์สัดส่วนของลักษณะปรากฏเชิงปริมาณในปลานิลเคเอ็มไอที่แอลพีชเทคโนโลยีฟาร์ม ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา และปลาหมอเทศ (ตามภาพที่ 4) พบว่าค่าสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐานไม่พบความแตกต่างของสัดส่วนดังกล่าวระหว่างปลาจากแหล่งที่ 1 และ 2 (มีค่าเท่ากับ 0.35 ± 0.076 , 0.36 ± 0.035 ตามลำดับ) แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 1 และ 2 กับ 3 ($P < 0.05$) โดยที่ปลาแหล่งที่ 3 มีค่าสูงกว่าปลาทั้ง 2 แหล่ง โดยมีค่าเท่ากับ 0.39 ± 0.032 ค่าสัดส่วนความลึกลำตัวต่อความยาวมาตรฐานในปลาแหล่งที่ 1 และแหล่งที่ 2 ไม่พบความแตกต่างเช่นเดียวกับค่าสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐาน (มีค่า 0.41 ± 0.092 , 0.40 ± 0.035 ตามลำดับ) แต่พบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปลาแหล่งที่ 3 (มีค่า 0.37 ± 0.028) ส่วนค่าสัดส่วนความหนาลำตัวต่อความยาวมาตรฐานพบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในปลาทั้ง 3 แหล่งมีค่าเท่ากับ 0.18 ± 0.040 , 0.18 ± 0.019 และ 0.18 ± 0.020 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 ความแตกต่างระหว่างสัดส่วนหัวต่อความยาวมาตรฐาน (H/SL), ความลึกลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน (WD/SL) และความหนาลำตัวต่อความยาวมาตรฐาน (BW/SL) เปรียบเทียบกับปลานิล และปลาหมอเทศ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลที่ได้จากการบันทึกข้อมูลปลานิลและปลาหมอเทศรายตัว พบว่าสัดส่วนความยาวหัวต่อความยาวมาตรฐาน และสัดส่วนความลึกลำตัวต่อความยาวมาตรฐานของปลานิลเคเอ็มไอที่แอลพีชเทคโนโลยีฟาร์ม (แหล่งที่ 1) และปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา (แหล่งที่ 2) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปลานิลแหล่งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปลาหมอเทศ (แหล่งที่ 3) เมื่อดูจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 จะพบว่าขนาดของหัวปลาแหล่งที่ 1 และ 2 จะมีขนาดใกล้เคียงกันมีแนวโน้มไปทางหัวขนาดเล็ก โดยความต้องการของตลาดปกติจะต้องการปลาที่มีปริมาณเนื้อเนื้อทำให้เกษตรกรที่ผลิตปลานิลหัวเล็กได้จะขายปลาได้ในราคาสูงและเหมาะที่จะนำเพาะเลี้ยงเป็นพ่อแม่พันธุ์ ต่างจากปลาหมอคอกที่มีขนาดความยาวหัวมากทำให้มีคุณภาพของซากต่ำ (ปริมาณเนื้อน้อย) ส่วนค่าความหนาแน่นต่อความยาวมาตรฐานของปลาทั้ง 3 แหล่ง (ภาพที่ 4) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาทำการทดลองต่อโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการหาโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลานิลจากทั้ง 2 แหล่งที่มาเปรียบเทียบกับปลาหมอคอกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการอุดมศึกษากระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2553. ยุทธศาสตร์การพัฒนาลานิล. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- เครือวัลย์ สถิติรัตน์. 2542. ตลาดสัตว์น้ำตระกูลปลาหมอคอก/ปลานิล (Tilapia) ในซีกโลกตะวันออก Tilapia Market in Western World. วารสารการประมง. ปีที่ 52. ฉบับที่ 3.
- มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจิน หนูขวัญ, กำชัย สวานัญญุฒิ, วีร วัชรกระโยธิน และ ดร.วิมล จันทโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. Development of the Nile Tila culturing. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ ดุสิต เอื้ออำนวย ปวีณา ทวีกิจการ และสรัญญา พันธุ์พฤษ์. 2551. การใช้เทคโนโลยี RFID ในสัตว์น้ำ. ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุภัทรา อุไรวรรณ. 2531. การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ปลานิล. วารสารการประมง. ปีที่ 41. ฉบับที่ 6. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง.
- Bardakci, F. and Skibinski, D.O.F. 1994. "Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification". Heredity. 73: 117-123.
- Rashed, M.A., Saad, Y.M., Ibrahim, M.M. and Alia, A El-seoudy. 2008. "Genetic Structure of Natural Egyptian *Oreochromis niloticus* Evaluated Using Dominant DNA Markers". Global Veterinaria. 2(2): 87-91.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rashed, M.A., Saad, Y.M., Atta, A.H. and Sadek, M.H. 2009. "Genetic Variation and Inheritance of some DNA Markers in Three Constructed *Oreochromis niloticus* Families". World Applied Sciences Journal. 6(2) : 203-207.

Soufy, H., Laila, A.M. and Iman, M.K.A. 2009. "RAPD-PCR for DNA-fingerprinting of Egyptian tilapia." New York Science Journal. 2(2): 1554-0200.

George, T. T. 2005. "The Most Recent Nomenclature of Tilapia Species in Canada and the Sudan." Aquaculture Canada.

Systat 5.02 for Windows. Copyright 1990-1993, Inc., Evanston, IL USA.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้