

การศึกษาแหล่งวางไข่ของปลาบึกในแม่น้ำโขง จังหวัดเชียงราย

ระหว่าง วันที่ 1 – 19 พฤษภาคม 2552

สิริวรรณ สุขศรี อภิรดี หันพงศ์กิตติกุล นคร พิลาคทาวุธ ปานบุญ โสภิต ไชยยาว และ จุฑามาศ จิวาลักษณ์

ปลาบึกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasianodon gigas* อยู่ในวงศ์ Pangasiidae เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกและเป็นปลาค้นเคียวที่พบเฉพาะในแม่น้ำโขง ในปัจจุบันปลาบึกมีจำนวนลดลงเป็นอย่างมาก ปลาบึกที่จับได้จากแม่น้ำโขงบริเวณจังหวัดเชียงรายส่วนใหญ่เป็นปลาที่อยู่ในช่วงเจริญพันธุ์และอยู่ในฤดูผสมพันธุ์วางไข่ คือกลางเดือนเมษายนถึงมิถุนายน ซึ่งอยู่ในช่วงฤดูน้ำหลาก ส่วนปลาบึกขนาดเล็กที่เคยจับได้เท่าที่มีการบันทึกนั้นจับได้ในแม่น้ำมูล จังหวัดอุบลราชธานีมีน้ำหนักประมาณ 30 กิโลกรัม และไม่เคยมีรายงานการพบปลาบึกขนาดเล็กในแม่น้ำโขง ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาไข่และลูกปลาบึกจากธรรมชาติ การศึกษาเกี่ยวกับปลาบึกส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยง ส่วนความรู้ด้านชีวประวัติก็ถือว่ามีน้อยมาก ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาถึงแหล่งวางไข่ในแม่น้ำโขง ซึ่งจะเป็นข้อมูลการวางแผนจัดการอนุรักษ์และบริหารทรัพยากรปลาบึกในธรรมชาติให้ยั่งยืนและอนุรักษ์พื้นที่วางไข่ปลาบึกต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

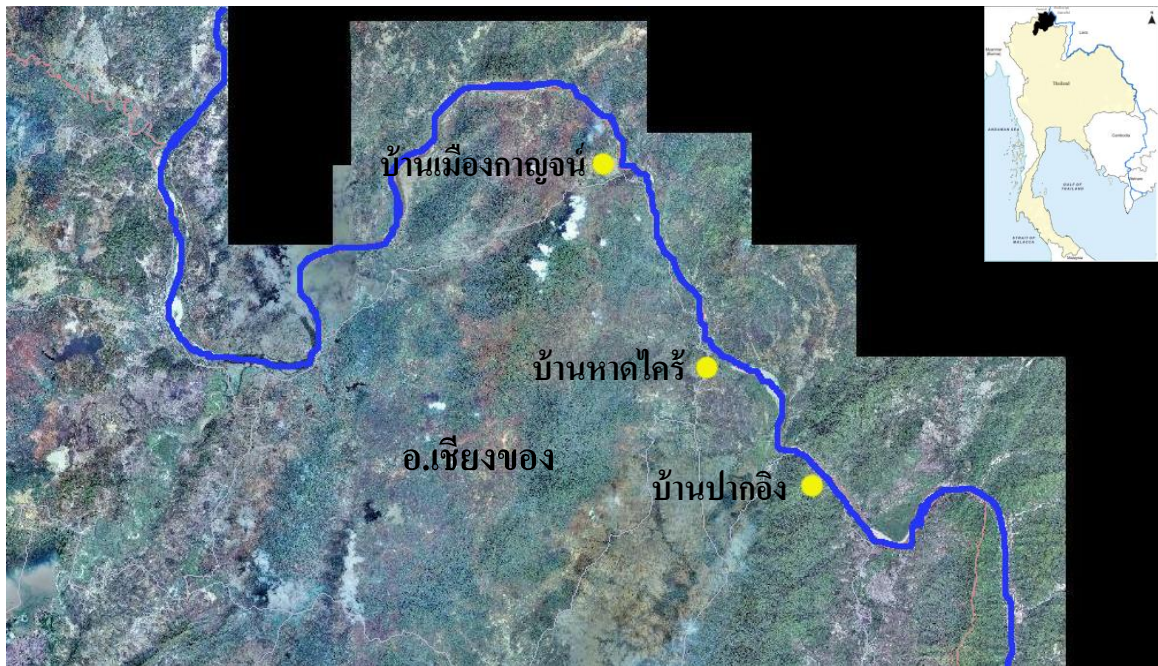
1. เพื่อศึกษาแหล่งวางไข่ของปลาบึกในแม่น้ำโขง จังหวัดเชียงราย
2. จัดเก็บตัวอย่างปลาบึกในธนาคารดีเอ็นเอสัตว์น้ำ กรมประมงเพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิง และติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรในอนาคต

วิธีดำเนินการ

ก. การวางแผนการศึกษา

การศึกษาแหล่งวางไข่ของปลาบึก ได้วางแผนรวบรวมตัวอย่างไข่ปลาและลูกปลาบึกโดยการลากด้วยถุงลากแพลงก์ตอน ในแม่น้ำโขงบริเวณ อำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ระหว่างวันที่ 1 – 19 พฤษภาคม 2552 โดยการสำรวจ 3 สถานี ดังนี้

- สถานีเก็บตัวอย่างที่ 1 บ้านเมืองกาญจน์ ตำบลริมโขง อำเภอเชียงของ
 สถานีเก็บตัวอย่างที่ 2 บ้านปากอิงที่ ตำบลศรีดอนชัย อำเภอเชียงของ
 สถานีเก็บตัวอย่างที่ 3 บ้านหาดไคร้ ตำบลเวียง อำเภอเชียงของ



ภาพที่ 1 แผนที่แสดงสถานีเก็บตัวอย่างไขปลาและลูกปลาบึกในแม่น้ำโขง อ.เชียงของ จ.เชียงราย

ข. การรวบรวมตัวอย่าง

ใช้ถุงลากแพลงก์ตอน ซึ่งมีปากถุงเป็นรูปสามเหลี่ยมด้านเท่า ขนาด $1.2 \times 1.2 \times 1.2$ เมตร และมีขนาดตา 600 ไมครอน ความยาว 4.8 เมตร สุ่มไขปลาและลูกปลาบึกทั้ง 3 สถานี ที่ระดับความลึกประมาณ 2 เมตร จากผิวน้ำ จำนวน 2 ซ้ำ คือ ด้วยการลากทวนกระแสน้ำ ใช้เวลาในการลาก 20 นาที และการวางถุงลากแพลงก์ตอน โดยยึดกับสมอ ที่ระดับความลึกจากผิวน้ำ 2 เมตร จำนวน 3 ครั้ง/วัน ระหว่างวันที่ 1 – 19 พฤษภาคม 2552 โดยกำหนดเวลาในแต่ละสถานีดังนี้

เวลา	สถานี
8.00 - 9.00 น.	บ้านเมืองกาญจน์
17.00 - 18.00 น.	บ้านปากอิง
21.00 - 22.00 น.	บ้านหาดไคร้

จากนั้นทำการคัดแยกตัวอย่าง นำตัวอย่างที่ได้มาเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 99.5 % จากนั้นนำตัวอย่างไขปลาและลูกปลาที่ได้ไปจำแนกชนิดและวิเคราะห์ DNA ในห้องปฏิบัติการ

ก. จำแนกชนิดลูกปลา

1. จำแนกชนิดลูกปลาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ใช้คู่มือจำแนกชนิดลูกปลาของ อภิชาติ (2546,2548), Neira (1998), Okiyama (1988) คู่มือจำแนกชนิดปลาของ Rainboth (1996) และ Kottelet (2001) และจัดระบบทางอนุกรมวิธานโดยใช้ระบบของ Nelson (2006)

2. นำข้อมูลที่รวบรวมได้จากการจำแนกชนิดและนับจำนวน มาวิเคราะห์ความถี่การพบตัวอย่าง เป็นร้อยละ

3. นำตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนที่ผ่านการจำแนกลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในกลุ่มปลาวงศ์ปลาสาวย (Family Pangasidae) มาจำแนกชนิด จำนวน 19 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างครีบ และเนื้อเยื่อ โดยวิธีการ Eyeball Extraction โดยใช้ 100 µl Eyeball buffer (10 mM Tris, 50 mM KCl, 0.5% Tween 20) และ proteinase K (0.1-0.4 µg) นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 45°C 4 ชั่วโมง ตามวิธีของ Jones and Hutchings (2001) ดีเอ็นเอที่ได้นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20 ng/µL ก่อนนำไปวิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ ไพร์เมอร์ที่ใช้ ได้แก่ PSP G509, PSP G427 และ PG9 ซึ่งเป็นไพร์เมอร์ที่พัฒนาสำหรับปลาในวงศ์สาวย (Hogan and May, 2002) ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบโพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยในปฏิกิริยาฟิซอร์ (5 µl) ประกอบด้วย ดีเอ็นเอเริ่มต้น 20 ng 1 µl, 10 µM ไพร์เมอร์ (Forward and Reverse) สายละ 0.25 µl, 0.5 µl 10X PCR buffer (10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 0.01% gelatin), 10 µM dNTPs 0.1 µl, 0.375 µl ddH₂O และ เอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.05 unit 0.025 µl หลังจากนั้นนำไปใส่ในเครื่องฟิซอร์โดยกำหนดโปรแกรมดังนี้ 94 °C 2 นาที แล้วตามด้วย 30 รอบของ 94 °C 30 วินาที, 52 °C 30 วินาที และ 72 °C 1 นาที แล้วตามด้วย 72 °C 5 นาที เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยา เติม loading dye (99% formamide, 10mM NaOH, 0.1% bromophenol blue, 0.1% Xylene cyanol FF) ปริมาตร 5 µl นำไปแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะคริลาไมด์เจล (8% acrylamide gel) ในบัฟเฟอร์ TBE โดยใช้ sequencing gel apparatus (Biorad, USA) ขนาด 30x40 เซนติเมตร ที่ระดับกระแสไฟฟ้า 50 วัตต์ เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง และอ่านขนาดโดยเปรียบเทียบกับเครื่องหมายดีเอ็นเอมาตรฐาน (10bp DNA ladder; Invitrogen) หลังจากย้อมเจลด้วยสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (Cyber Gold[®]) และอ่านผ่านเครื่องอ่านเจล (FluorChem 8000, Alpha Innotech Corp.) แล้วเปรียบเทียบขนาดของอัลลิลกับขนาดอัลลิลของปลาบึกซึ่งเก็บรวบรวมไว้ในธนาคารดีเอ็นเอสัตว์น้ำของกรมประมง

ผลการศึกษา

ผลการจำแนกชนิดปลาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการรวบรวมตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนที่แม่น้ำโขง จำนวน 3 สถานี คือ บ้านเมืองกาญจน์ บ้านปากอิง และบ้านหาดไคร้ (ตามแผนที่แนบ) ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552 ด้วยถุงลากพลาสติกต่อน 2 ระดับความลึก สรุปผลได้ดังนี้ พบไข่ปลาทั้งหมด 180 ฟอง และลูกปลาวัยอ่อนจำนวน 137 ตัว จำแนกได้ 6 อันดับ อันดับที่พบมากที่สุดได้แก่ อันดับ Siluriformes พบทั้งหมด 83 ตัว คิดเป็นร้อยละ 59.7 โดยกลุ่มที่พบมากที่สุดคือลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) จำนวน 51 ตัว (ร้อยละ 36.7) รองลงมาคือลูกปลาในวงศ์ปลาดังอก (Family Sundasalangidae) จำนวน 22 ตัว (ร้อยละ 15.83) และลูกปลาในวงศ์เนื้ออ่อน (Family Siluriidae) จำนวน 17 ตัว (ร้อยละ 12.23) ตามลำดับ ซึ่งบางตัวอย่างไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิดได้โดยจำแนกได้ในระดับอันดับหรือวงศ์เท่านั้น เนื่องจากลักษณะที่ใช้ในการจำแนกปรากฏไม่ชัดเจน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณลูกปลาจากการรวบรวมตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อน โดยถุงเก็บตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในแม่น้ำโขง ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552

อันดับ	วงศ์	ชนิด	จำนวน (ตัว)
Osteoglossiformes	Notopteridae	<i>Notopterus notopterus</i>	2
Cypriniformes	Cyprinidae	Unknown Cyprinid	13
		<i>Esomus metallicus</i>	2
		<i>Rasbora</i> sp.	1
Siluriformes	Cobitidae	<i>Pangio oblonga</i>	2
	-	Unknown Siluriform	2
	Bagridae	<i>Mystus</i> sp.	2
	Pangasiidae	Unknown Pangasiid	51
	Schilbeidae	Unknown Schilbeid	11
	Siluridae	Unknown Siluriid	15
		<i>Micronema</i> sp.	1
		<i>Wallago attu</i>	1
Osmeriformes	Sundasalangidae	<i>Sundasalanx mekongensis</i>	22
Synbranchiiformes	Mastacembelidae	Unknown Mastacembeliid	1
Perciformes	-	Unknown Perciform	2
	Ambassidae	<i>Parambassis wolffi</i>	1
	Gobiidae	Unknown Gobiid	8
		ไข่ปลา	180 ฟอง

ลูกปลาที่พบจากการรวบรวมตัวอย่างจาก 2 ระดับความลึกคือบริเวณกลางน้ำและผิวน้ำ พบว่าบริเวณกลางน้ำพบลูกปลาชนิดเด่นเป็นลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) จำนวน 51 ตัว รองลงมาคือลูกปลาในวงศ์ปลากุ้งออก (Family Sundasalangidae) จำนวน 22 ตัว และลูกปลาในวงศ์เนื้ออ่อน (Family Siluridae) จำนวน 17 ตัว ตามลำดับ ส่วนบริเวณผิวน้ำพบลูกปลาในวงศ์ปลาบู๋ (Family Gobiidae) เพียงวงศ์เดียว จำนวน 2 ตัว (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณลูกปลา (จำนวนตัว) จำแนกตามระดับความลึกและสถานที่ทำการรวบรวมตัวอย่างโดยถูกเก็บตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในแม่น้ำโขง ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552

ชนิด	กลางน้ำ			ผิวน้ำ		
	เมืองกาญจน์	ปากอิง	หาดไคร้	เมืองกาญจน์	ปากอิง	หาดไคร้
Osteoglossiformes						
Notopteridae	<i>Notopterus notopterus</i>	-	1	1	-	-
Cypriniformes						
Cyprinidae	Unknown Cypriniid	5	-	8	-	-
	<i>Esomus metallicus</i>	1	-	1	-	-
	<i>Rasbora</i> sp.	1	-	-	-	-
Cobitidae	<i>Pangio oblonga</i>	1	-	1	-	-
Siluriformes	Unknown Siluriform	3	-	-	-	-
Bagridae	<i>Mystus</i> sp.	-	2	-	-	-
Pangasiidae	Unknown Pangasiid	10	35	6	-	-
Schilbeidae	Unknown Schilbeid	-	11	-	-	-
Siluridae	Unknown Siluriid	-	2	13	-	-
	<i>Micronema</i> sp.	-	1	-	-	-
	<i>Wallago attu</i>	-	1	-	-	-
Osmeriformes						
Sundasalangidae	<i>Sundasalanx mekongensis</i>	3	16	3	-	-
Synbranchiiformes						
Mastacembelidae	Unknown Mastacembeliid	-	-	1	-	-
Perciformes						
	Unknown Perciform	-	-	-	-	1
Ambassidae	<i>Parambassis wolffi</i>	-	1	-	-	-
Gobiidae	Unknown Gobiid	-	4	2	2	-
	รวมตัวอย่างลูกปลา	24	74	36	-	2
	ไข่ปลา	33	28	112	4	-
						3

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณลูกปลา (ร้อยละ) จำแนกตามระดับความลึกและสถานที่ทำการรวบรวมตัวอย่าง โดยดูเก็บตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในแม่น้ำโขง ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552

ชนิด		กลางน้ำ			ผิวน้ำ		
		เมืองกาญจน์	ปากอิง	หาดไคร้	เมืองกาญจน์	ปากอิง	หาดไคร้
Osteoglossiformes							
Notopteridae	<i>Notopterus notopterus</i>	-	0.73	0.73	-	-	-
Cypriniformes							
Cyprinidae	Unknown Cypriniid	3.65	-	5.84	-	-	-
	<i>Esomus metallicus</i>	0.73	-	0.73	-	-	-
	<i>Rasbora</i> sp.	0.73	-	-	-	-	-
Cobitidae	<i>Pangio oblonga</i>	0.73	-	0.73	-	-	-
Siluriformes							
	Unknown Siluriformes	2.19	-	-	-	-	-
Bagridae	<i>Mystus</i> sp.	-	1.46	-	-	-	-
Pangasiidae	Unknown Pangasiid	7.30	25.55	4.38	-	-	-
Schilbeidae	Unknown Schilbeid	-	8.03	-	-	-	-
Siluridae	Unknown Siluriid	-	1.46	9.49	-	-	-
	<i>Micronema</i> sp.	-	0.73	-	-	-	-
	<i>Wallago attu</i>	-	0.73	-	-	-	-
Osmeriformes							
Sundasalangidae	<i>Sundasalanx mekongensis</i>	2.19	11.68	2.19	-	-	-
Synbranchiformes							
Mastacembelidae	Unknown Mastacembeliid	-	-	0.73	-	-	-
Perciformes							
	Unknown Perciform	-	-	0.73	-	-	0.73
Ambassidae	<i>Parambassis wolffi</i>	-	0.73	-	-	-	-
Gobiidae	-	-	2.92	1.46	-	1.46	-

ในแต่ละช่วงเวลาพบลูกปลาปริมาณแตกต่างกัน ช่วงเวลา 17.00-18.00 น. ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างที่สถานีบ้านปากอิงสามารถรวบรวมตัวอย่างได้มากที่สุด จำนวน 78 ตัว (ร้อยละ 56.93) รองลงมาคือ ช่วงเวลา 21.00-22.00 น. ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างที่สถานีบ้านหาดไคร้ พบลูกปลาจำนวน 37 ตัว (ร้อยละ 27.01) และช่วงเวลา 8.00-9.00 น. ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างที่สถานีบ้านเมืองกาญจน์ พบลูกปลาจำนวน 24 ตัว (ร้อยละ 17.52) โดยในทั้งสามช่วงเวลาพบลูกปลาในอันดับ Siluriformes ซึ่งเป็นอันดับของลูกปลาบึก-สวายเป็นลูกปลากลุ่มหลัก (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ชนิดลูกปลาจำแนกตามช่วงเวลาและสถานที่ทำการรวบรวมตัวอย่างโดยถุงเก็บตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในแม่น้ำโขง ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552

อันดับ	8.00-9.00		17.00-18.00		21.00-22.00		รวม	
	เมืองกาญจน์		ปากอิง		หาดไคร้			
	จำนวน (ตัว)	ร้อยละ	จำนวน (ตัว)	ร้อยละ	จำนวน (ตัว)	ร้อยละ	จำนวน (ตัว)	ร้อยละ
Osteoglossiformes	-	-	1	0.73	1	0.73	2	1.46
Cypriniformes	8	5.84	-	-	10	7.30	18	13.14
Siluriformes	13	9.49	52	37.96	19	13.87	84	61.31
Osmeriformes	3	2.19	16	11.68	3	2.19	22	16.06
Synbranchiformes	-	-	-	-	1	0.73	1	0.73
Perciformes	-	-	8	5.84	2	1.46	10	7.30
รวมตัวอย่างลูกปลา	24	17.52	77	56.20	36	26.28	137	100.00
ไข่ปลา	37		28		115		180	

จากปริมาณลูกปลาที่รวบรวมตัวอย่างได้ถ้าพิจารณาเฉพาะวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) พบว่าสถานีสานปากอิง ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างในช่วงเวลา 17.00-18.00 น. พบปริมาณลูกปลามากที่สุด จำนวน 35 ตัว รองลงมาคือ สถานีบ้านเมืองกาญจน์ ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างในช่วงเวลา 8.00-9.00 น. พบลูกปลาจำนวน 10 ตัว และสถานีสานหาดไคร้ ซึ่งทำการรวบรวมตัวอย่างในช่วงเวลา 21.00-22.00 น. พบลูกปลาจำนวน 6 ตัว (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณและความถี่ในการพบลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) ที่ทำการรวบรวมตัวอย่างโดยถุงเก็บตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในแม่น้ำโขง ระหว่างวันที่ 1-19 พฤษภาคม 2552

สถานี	ช่วงเวลา	ระดับ	จำนวน (ตัว)	ร้อยละ	ความถี่ (ร้อยละ)
เมืองกาญจน์	8.00-9.00	กลางน้ำ	10	19.61	9.80
ปากอิง	17.00-18.00	กลางน้ำ	35	68.63	21.57
หาดไคร้	21.00-22.00	กลางน้ำ	6	11.76	7.84

สำหรับไข่ปลาทั้งหมดจำนวน 180 ฟอง สามารถสังเกตเห็นระยะการพัฒนาของไข่ได้จำนวน 57 ฟอง นอกจากนั้นไม่สามารถมองเห็นภายในได้เนื่องจากเชื้อหุ้มเปลือกไข่มีลักษณะขุ่น โดยไข่ปลาที่สามารถสังเกตพัฒนาการได้เป็นไข่ปลาในระยะ *Bastula* จำนวน 8 ฟอง ระยะ *Tail-free* จำนวน 15 ฟอง ระยะ *Tail-bud* จำนวน 14 ฟอง และระยะ *Late Embryo* จำนวน 20 ฟอง

สำหรับลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) จากการเปรียบเทียบตัวอย่างที่รวบรวมได้ในครั้งนี้กับตัวอย่างลูกปลาวัยอ่อนในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) ที่ได้มีการศึกษาไว้จำนวน 5 ชนิด จากจำนวน 12 ชนิดที่มีรายงานการพบในประเทศไทย คือ

1. บึก (*Pangasianodon gigas*)
2. สวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*)
3. เทโพ (*Pangasius larnaudii*)
4. เพาเซ (*Pangasius conchophilus*)
5. โมง (*Pangasius bocourti*)

จากการศึกษาในครั้งนี้จำแนกได้เพียงในระดับวงศ์แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสกุลหรือชนิดใด เนื่องจากลักษณะเด่นที่ใช้ในการจำแนกวงศ์ได้แก่ รูปร่างของถุงอาหารสำรอง ความยาวท่อทางเดินอาหาร รูปร่างลำตัว และจำนวนมัดกล้ามเนื้อ สามารถระบุได้ว่าเป็นลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวาย (Family Pangasiidae) แต่ไม่สามารถจำแนกถึงระดับสกุลและชนิดได้เนื่องจากรูปแบบและตำแหน่งของจุดสีซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ใช้ในการจำแนกจนถึงระดับชนิดของตัวอย่างที่ทำการรวบรวมได้ไม่ปรากฏเด่นชัด

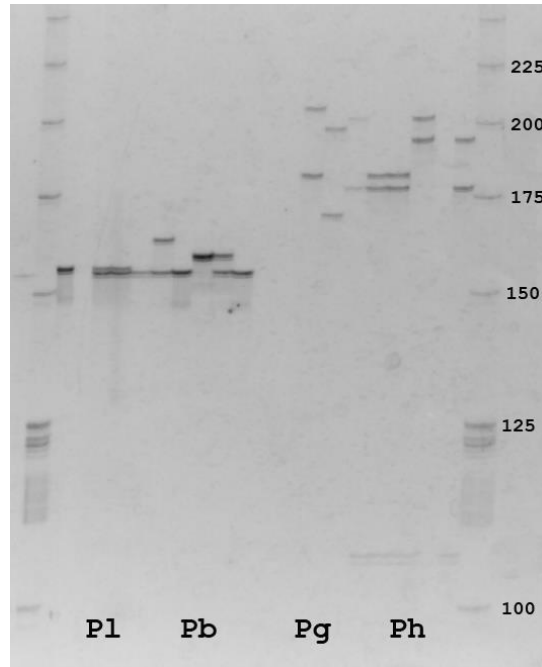
จากการศึกษาพบพัฒนาการของลูกปลาในวงศ์ปลาบึก-สวายใน 2 ระยะคือ ลูกปลาวัยอ่อนระยะที่มีถุงอาหารสำรองปรากฏอยู่ จำนวน 17 ตัว และลูกปลาวัยอ่อนระยะแรก จำนวน 34 ตัว ซึ่งจากการประมาณอายุพบว่าลูกปลาวัยอ่อนระยะที่มีถุงอาหารสำรองปรากฏอยู่ มีอายุประมาณ 6-12 ชั่วโมง และลูกปลาวัยอ่อนระยะแรก มีอายุประมาณ 1-3 วัน

ผลการจำแนกชนิดปลาโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ

การทดสอบด้วยไพรเมอร์ PSP-G 509 ขนาดของไมโครแซทเทลไลต์จะสามารถแยกตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีขนาดอัลลีล 170-220 bp ซึ่งเป็นกลุ่มของปลาบึกและปลาสวาย (*Pangasianodon* spp.) และกลุ่มที่ 2 มีขนาดอัลลีล 154-166 bp ซึ่งเป็นกลุ่มของปลาโมงและปลาเทโพ (*Pangasius* spp.)

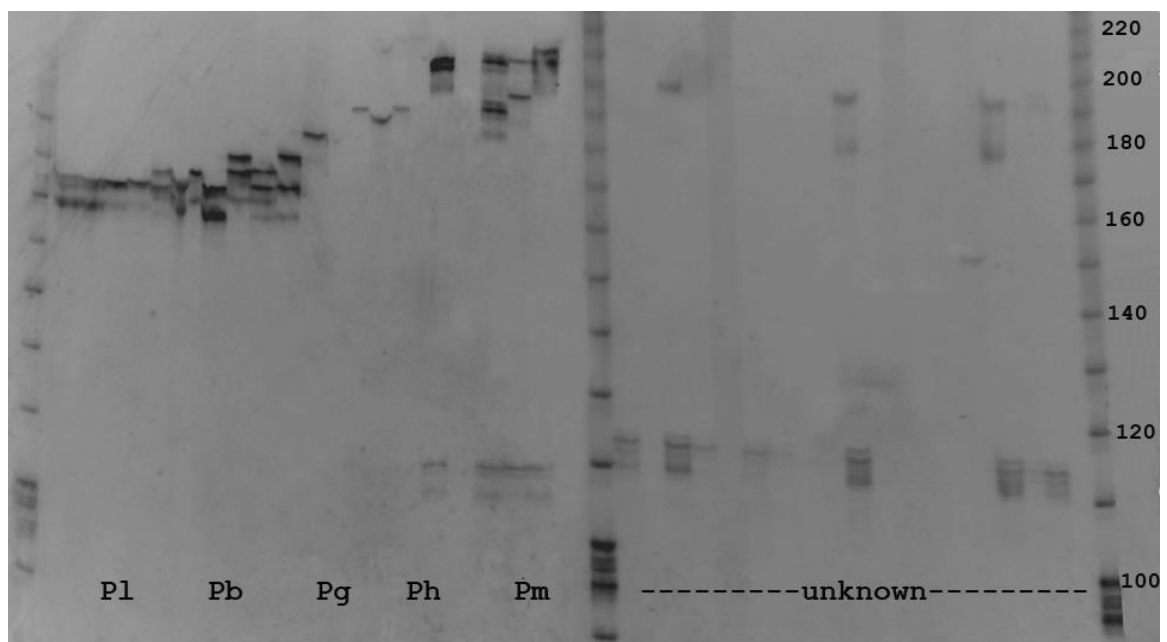
ตัวอย่างลูกปลาที่รวบรวมจากแม่น้ำโขง ดีเอ็นเอที่สกัดได้มีปริมาณน้อยและคุณภาพไม่ดีเท่าที่ควร จึงทดสอบได้แค่เพียงไพรเมอร์เดียวโดยเมื่อทดสอบกับไพรเมอร์ PSP-G 509 แล้วพบว่า ขนาดที่ได้ 190-200 bp ซึ่งอยู่ในขอบเขตของกลุ่มปลาบึกและปลาสวาย แต่เนื่องจากลักษณะอัลลีลที่แสดงออกแตกต่างจากอัลลีลของปลาบึกเนื่องจากเกิด non specific allele ซึ่งถ้าเป็นปลาบึกจะไม่มี non specific allele ที่การทดสอบ

เดียวกัน จึงสรุปว่าไม่ใช่ลูกปลาบึก ทั้งนี้เมื่อนำตัวอย่างปลาช่อน *Pangasius macronema* ซึ่งเป็นปลาชนิดเด่นในแม่น้ำโขงมาทดสอบร่วม ผลการศึกษาพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะเป็นตัวอ่อนของปลาช่อนเนื่องจากขนาดของอัลลีลและลักษณะของอัลลีลใกล้เคียงกับปลาช่อน ซึ่งจะได้ทำการศึกษาไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบแยกปลาบึกกับปลาช่อนออกจากกันให้ชัดเจนต่อไป



ภาพที่ 1 รูปต้นแบบและขนาดของอัลลีลเมื่อทดสอบไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง PSP G509 (Pb:

Pangasius bocourti, Pl: *Pangasius larnardii*, Pg: *Pangasianodon gigas*, Ph: *Pangasianodon hypophthalmus*)



ภาพที่ 2 รูปแบบและขนาดของอัลลิเมนต์ทดสอบไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง PSP G509 จากการวิเคราะห์ตัวอย่างลูกปลาทั้ง 19 ตัวอย่างเทียบกับต้นแบบ (Pb: *Pangasius bocourti*, Pl: *Pangasius larnardii*, Pg: *Pangasianodon gigas*, Ph: *Pangasianodon hypophthalmus*, Pm: *Pangasius macronema*)

สรุปผลการศึกษา

1. พบไข่ปลาทั้งหมด 180 ฟอง และลูกปลาวัยอ่อนจำนวน 137 ตัว จาก 6 อันดับ
2. จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่พบตัวอย่างลูกปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) ซึ่งเป็นเป้าหมายในการศึกษา แต่พบลูกปลาในวงศ์ปลาบึก (Family Pangasiidae) จำนวน 51 ตัวอย่าง
3. ผลการจำแนกชนิดปลาโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ พบว่าตัวอย่างที่นำมาศึกษาไม่ใช่ตัวอย่างปลาบึกเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

1. ตัวอย่างลูกปลาในวงศ์ปลาบึกพบในการศึกษาครั้งนี้ที่บ้านปากอิงมากที่สุด ซึ่งจากการศึกษาในปี 2551 ไม่ได้ทำเก็บตัวอย่างที่สถานีนี้ ดังนั้นการศึกษาในปีต่อไปควรเก็บตัวอย่างที่บ้านปากอิงด้วย
2. ช่วงเวลาที่สามารถรวบรวมตัวอย่างได้ปริมาณมากที่สุดคือช่วงเวลาประมาณ 17.00-18.00 น. ซึ่งจากการศึกษาในปี 2551 สามารถรวบรวมตัวอย่างในช่วงเวลานี้ได้จำนวนมากที่สุดเช่นเดียวกัน จึงควรเพิ่มจำนวนครั้งในการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาดังกล่าว
3. ควรเพิ่มวิธีในการรวบรวมตัวอย่างโดยใช้วนลากหับตลิ่ง เนื่องจากลูกปลาในวงศ์ปลาบึกที่ทำการรวบรวมได้จากการศึกษาทั้งสองปีพบตั้งแต่ระยะลูกปลาวัยอ่อนที่มีถุงอาหารสำรองปรากฏอยู่จนถึงลูกปลาวัยอ่อนระยะหลัง การใช้วนลากหับตลิ่งในพื้นที่ที่เหมาะสมอาจทำให้พบลูกปลาในระยะลูกปลาขนาดเล็กเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรมชลประทาน. 2550. ข้อมูล 25 กลุ่มน้ำ. http://www.rid.go.th/index_wt25.htm. 1 กรกฎาคม 2550.
- ธีระพงศ์ คิ้วดี. 2547. องค์ประกอบชนิดและการแพร่กระจายของปลาวัยอ่อนบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา. ใน; รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2547. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร. หน้า 132-140.
- ประมุข ฤาแก้วมา. 2550. ชนิดและการแพร่กระจายของลูกปลาวัยอ่อน บริเวณปากแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 187 หน้า.

- วิเชียร เปล่งฉวี, วีระ ฐปญา, อรภา นาคจินดา และ เกรียงไกร สหะสยานนท์. 2530. การสำรวจแหล่งวางไข่ของปลาช่อนไทยในแม่น้ำแควน้อย จ.กาญจนบุรี. รายงานประจำปี 2530, สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดกาญจนบุรี, กองประมงน้ำจืด. กรมประมง. หน้า 16-22.
- อภิชาติ เดิมวิชากร. 2546. ลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อน. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด, กรมประมง. 130 หน้า
- อภิชาติ เดิมวิชากร. 2548. ลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อนของประเทศไทย II. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด, กรมประมง. 125 หน้า
- Hogan, Z. S. and B. P. May. 2002. Twenty-seven new microsatellites for the migratory Asian catfish family Pangasiidae. *Molecular Ecology Notes* 2: 38-41.
- IUCN. 2008. Redlist of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org> 23 April 2008.
- Jones, M.W., and J.A. Hutchings. 2001. The influence of male parr body size and mate competition on fertilization success and effective population size in Atlantic salmon. *Heredity* 86: 675-684.
- Kottelat, M. 2001. Fishes of Laos. Leelapatra W., P. Srisakultiew and N. Sukumasavin. 2000. Biology and breeding of indigenous Mekong fish species in Thailand. Component Report 2. Mekong River Commission, 119 pp.
- Ludwig J.A. and F.J. Reynolds. 1988. Statistical ecology : a primer on methods and computing. Wiley Publ Ltd., New York. 337 pp.
- Neira, F.J., A. G. Miskiewicz and T. Trnski. 1998. Laboratory Guide for Larvae Fish Identification. University of Western Australian Press, Australia. 474 pp.
- Nelson, J. S. 2006. Fishes of the World. 4 th ed., John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. 601 pp.
- Rainboth, W. J. 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. Rome. 265 pp.
- Vidthayanon C., 2005. Thailand Red Data : Fish. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 108 pp.