

## 231236

เครื่องหมายโมเลกุล 7 ชนิดซึ่งตั้งชื่อว่า KU\_sRUFR1, Mul\_ILS, pfSR\_FLI66, PfSR\_FLL678, pfSR\_FLS108, MulCB\_TT และ TFV\_BciVI ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อระบุชนิดของปลาปักเป้าที่พบในประเทศไทย เครื่องหมาย KU\_sRUFR1 เป็นคู่ไฟรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้จากดีเอ็นเอต้นแบบจากปลาหลายชนิด (universal primer) ผลการใช้เครื่องหมาย KU\_sRUFR1 กับปลาปักเป้าตัวอย่างที่รวบรวมได้ พบว่าสามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์ปลาปักเป้าได้ 11 ชนิด คือ *Diodon hystrix* *D. liturosus* *Chilomycterus orbicularis* *Arothron reticularis* *Lagocephalus spadiceus* *L. lunaris* *L. inermis* *Tetraodon fangi* *T. nigroviridis* *T. fluviatilis* และ *Takifugu oblongus* กับปลาอื่นๆ ที่ไม่ใช่ปลาปักเป้าอีก 13 ชนิด เครื่องหมาย Mul\_ILS ใช้เทคนิค multiplex PCR ประกอบด้วยไฟรเมอร์ 3 คู่ สามารถใช้ระบุชนิดปลาปักเป้าสกุล *Lagocephalus* 3 ชนิด คือ *L. spadiceus* *L. lunaris* และ *L. inermis* เครื่องหมาย pfSR\_FLI66 pfSR\_FLL678 และ pfSR\_FLS108 เป็นคู่ไฟรเมอร์ที่จำเพาะต่อปลาปักเป้าชนิด *L. spadiceus* *L. lunaris* และ *L. inermis* ตามลำดับ เครื่องหมาย MulCB\_TT เป็นเครื่องหมายที่ใช้เทคนิค multiplex PCR มีความจำเพาะต่อปลาปักเป้าสกุล *Tetraodon* และสามารถใช้แยกชนิด *T. nigroviridis* ออกจากกลุ่มของชนิด *T. fluviatilis* – *T. fangi* ได้ เครื่องหมาย TFV\_BciVI เป็นเครื่องหมายที่ใช้เทคนิค PCR-RFLP ใช้ระบุชนิดปลาปักเป้า *T. fluviatilis* และ *T. fangi* เครื่องหมายทุกชนิดผ่านการทดสอบความแม่นยำในการระบุชนิดโดยใช้ตัวอย่างที่ทดสอบเป็นปลาปักเป้าชนิดต่างๆ และปลาที่ไม่ใช่ปลาปักเป้า ผลจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายที่ได้มีความแม่นยำสูงมาก นอกจากนี้เครื่องหมายที่พัฒนาขึ้นยังถูกทดสอบกับดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดจากเนื้อปลาสดและเนื้อปลาแปรรูป (ถูกขีนปลา) พบว่าสามารถระบุชนิดได้ เช่นเดียวกัน

## 231236

Seven types of molecular makers for identification of pufferfish species were developed namely KU\_sRUFR1, Mul\_ILS, pfSR\_FLI66, PfSR\_FLL678, pfSR\_FLS108, MulCB\_TT และ TFV\_BciVI. Marker KU\_sRUFR1 was a pair of universal primers for sequencing eleven species of pufferfish including *Diodon hystrix* *D. liturosus* *Chilomycterus orbicularis* *Arothron reticularis* *Lagocephalus spadiceus* *L. lunaris* *L. inermis* *Tetraodon fangi* *T. nigroviridis* *T. fluviatilis* and *Takifugu oblongus*, and fourteen other fish species. Marker Mul\_ILS, base on multiplex PCR method, was a mixture of six primers using for identification the pufferfish of the genus *Lagocephalus*. Markers pfSR\_FLI66, PfSR\_FLL678 and pfSR\_FLS108 were species-specific primers for *L. inermis*, *L. lunaris* and *L. spadiceus*, respectively. Marker MulCB\_TT, base on multiplex PCR method, was a mixture of three primers for separation *T. nigroviridis* from *T. fluviatilis* – *T. fangi* group. While, marker TFV\_BciVI could segregate *T. fluviatilis* from *T. fangi*. The efficiency of each marker was tested with sample tissues of pufferfish and other fishes. The results showed that all markers have high accuracy for pufferfish identification. Moreover, they worked well with both fresh and cooked tissues.