บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับปลาดุกลำพัน

ปลาดุกลำพัน เป็นตระกูลปลาหนัง (Family Clariidae) มีชื่อสามัญว่า Nieuhof' s Walking Catfish (พิพัฒน์ รักษ์เจริญ. 2548 : 80) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhofii* จัดเป็นปลาที่หายากและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ในประเทศไทยมีรายงานการพบปลาดุกลำพันทั้งหมด 2 ชนิด คือ *Clarias nieuhofii* (ปลาดุกลำพัน) (เดิมมีชื่อว่า *Prophagorus nieuhofii*) และ *Clarias cataractus* (ปลาดุกลำพันภูเขา) (ชื่อเดิมคือ *Prophagorus cataractus*)โดยแตกต่างกันที่ *C. nieuhofii* มีความลึกของลำตัวประมาณ 8.0 – 9.3 เท่าของความยาวมาตรฐาน ส่วน *C. cataractus* มีความลึกของลำตัว 6.5 เท่าของความยาวมาตรฐานเท่านั้น และจะพบเฉพาะบริเวณน้ำ ตกหรือต้นน้ำลำธาร เท่านั้น (ศราวุธ เจะโส๊ะ, สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว. 2538 : 329 - 348) ปัจจุบันพบปลาดุกลำพันชนิด *Clarias nieuhofii* มีขนาดประมาณ 30 – 40 เซนติเมตร โดยพบขนาดใหญ่ที่สุด 60 เซนติเมตร (ชวลิต วิทยานนท์. 2548 : 83) มีรูปร่างลักษณะคล้ายปลาดุกอุยหรือปลาดุกด้าน มีลำตัวค่อนข้างยาวเรียว กระดูกท้ายทอยป้าน หัว มีขนาดเล็กสั้น และมีลักษณะทู่ มีหนวด 4 คู่ ครีบหูเล็ก มีเงี่ยงเหมือนปลาดุกทั่วไป ครีบหลัง ครีบหาง และครีบก้นเชื่อ มต่อกัน ครีบอกมีลักษณะสั้น กลม แข็งเรียบ และมีจุดเป็นแนวตั้งตลอดทั้งตัว (ภาพที่ 2.1) อีกทั้งยังมีอวัยวะพิเศษช่วยหายใจ เรียกว่า เดนไ ดรท์ (Dendrite) (Sudarto, Teugels and Pouyaud. 2004 : 8) จึงสามารถดำรงชีวิตในสภาพน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำได้ดี ลักษณะสีของลำตัวจะเปลี่ยนไปตามอายุ ขนาด และสภาพแวดล้อม ตัวโตเต็มวัยจะมีลำตัวสีเข้ม (วิศรา ไชยสาลี. 2546 : 457)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)
ถ่ายเมื่อวันที่ 2 สิงหาคม พ.ศ. 2551

แหล่งที่อยู่อาศัย

จากข้อมูลการสำรวจชนิดพันธุ์และเก็บตัวอย่างในอดีต พบว่าปลาดุกลำพันมีการแพร่กระจายกว้างขวาง พบทั้งในแม่น้ำลำคลอง พื้นที่น้ำท่วมถึงทั่วไป (สุภฎา คีรีรัฐนิคม. 2551 : 6) และในเขตป่าพรุ ที่รกทึบ มีกระแสน้ำไหลเอื่อยๆ หรือเป็นแอ่งน้ำค่อนข้างนิ่งมีต้นไม้ปกคลุม อยู่ในสภาพดินหรือน้ำที่เป็นกรด มีซากวัชพืชหรือใบไม้ทับถม มักพบปลาดุกลำพันหลบซ่อนและหาอาหารในบริเวณป่าเสม็ ด ป่าสาคู หลุมพี กระจูด หรือหญ้าทรงกระเทียม หญ้าคมบาง และป่ากก ฯลฯ (สัมพันธ์ จันทร์ดำ. 2545 : 4 - 5) ปัจจุบันสามารถพบปลาดุกลำพันตามป่าพรุต่างๆ

ซูดาร์โต และคณะ (Sudarto, *et al.* 2004 : 8 - 19) พบปลาดุกลำพันแพร่กระจายในทวีปแอฟริกา อินเดีย เอเชีย ทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ของเอเชี ย ไทย พม่า เวียดนาม รวมถึงในประเทศมาเลเซียถึงบอร์เนียว ในประเทศไทยพบเฉพาะในภาคตะวันออก เช่นจังหวัดจันทบุรี แล ะภาคใต้ พบตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงมา เช่นพื้นที่อำเภอหลังสวน จังหวัดชุมพร พรุควนเคร็ง ซึ่งเป็นรอยต่อของ 3 จังหวัดประกอบด้วย อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง และ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา พรุกระจูด อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา พรุน้ำดำ อำเภอทุ่งยางแดง จังหวัดปัตตานี พรุท่าธง พรุนางพญา อำ เภอรามัน จังหวัดยะลา พรุคอกช้าง อำ เภอเมือง จังหวัดยะลา พรุโต๊ะแดง พรุบาเจาะ พรุสะปอม พรุกาบ พรุปลักปลา และพรุปิเหล็ง จังหวัดนราธิวาส ฯลฯ (วิศรา ไชยสาลี. 2546 : 457)

การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของปลา

การบอกความแตกต่ างของสิ่งมีชีวิต สิ่งแรกที่มีความจำเป็นต้องทำเป็นอันดับต้นๆ คือ การใช้วิธีเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยา ซึ่งสภาพที่อยู่อาศัยและความเป็นอยู่ของปลาสามารถวินิจฉัยได้จากรูปทรงของปลา เช่น ปลาที่มีรูปทรงเพรียวส่วนมากเป็นปลาที่ว่ายน้ำเร็ว และอาศัยอยู่ในที่ กว้างๆ ไม่มีสิ่งกีดขวาง และจากการที่ปลามีการแพร่กระจายกว้างขวางมากทำให้ต้องพบกับสภาวะแวดล้อมต่างๆ จึงมีวิวัฒนาการของรูปทรงออกไปเป็นแบบต่างๆ เพื่อให้เหมาะสมที่จะมีชีวิตรอดในสภาพแวดล้อม (วิมล เหมะจันทร. 2540 : 20)

เคลวิน หลิม และอึ้ง (Kelvin, Lim and Ng. 1999 : 157 - 167) ศึกษาชนิดของปลา *Clarias batu* ที่พบในประเทศมาเลเซีย โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าปลาชนิดนี้ มีรูปร่างยาวเพรียว มีความลึกของลำตัวอยู่ในช่วง 9.0 – 11.4 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน ครีบหางแยกออกจากครีบหลังและครีบก้นอย่างชัดเจน ระยะห่างระหว่างกะโหลกถึงก้านครีบหลังอยู่ในช่วง 9.9

– 11.8 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน และลำตัวมีสีน้ำตาลเข้ม มีจุดเล็กๆ เป็นแถบที่มีลักษณะสีครีมอยู่เหนือเส้นข้างตัว

อึ้ง (Ng. 2003 : 393 - 398) ศึกษาลักษณะสัณฐานของปลา *Clarias nigricans* ซึ่งเป็นปลาชนิดใหม่ที่พบในแม่น้ำ Mahakam ในทิศตะวันออกของประเทศบอร์เนียว โดยศึกษาจากการวัดลักษณะต่างๆ 29 ลักษณะ และนับจำนวนก้านครีบต่างๆ พบว่าปลาชนิดนี้เป็นปลาที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับปลาดุกลำพัน ซึ่งมีลำตัว ขนาดใหญ่ มีก้านครีบหลังจำนวน 87 - 108 ก้าน ก้านครีบก้นจำนวน 74 - 91 ก้าน และมีกระดูกสันหลังจำนวน 74 - 82 อัน ปลา *Clarias nigricans* มีหัวขนาดเล็กที่เป็นจุดเด่น มีขนาด 11.7 - 12.3 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน มีระยะห่างระหว่างกะโหลกถึงก้านครีบหลัง 8.1 - 9.8 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน เงี่ยงมีลักษณะเป็นฟันเลื่อย มีลำตัวสีน้ำตาลเข้ม มีจุดสีขาวเล็กๆ บนลำตัว

ซูดาร์โต ทัวเจลส์ และ เปาว์ยาอุด (Sudarto, Teugels and Pouyaaud. 2003 : 153 - 161) ศึกษาลักษณะสัณฐานของปลา Catfish 2 ชนิด คือ *Clarias pseudoleiacanthus* และ *Clarias kapuasensis* ที่พบในประเทศบอร์เนียว พบว่า *C. pseudoleiacanthus* มีลำตัวสั้น ระยะห่างระหว่างกะโหลกถึงก้านครีบหลังอยู่ในช่วง 4.5 - 5.6 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน มี ความกว้างของฐานท้ายทอยที่เล็กมาก ปากมีลักษณะกลมและแคบมีขนาด 5.7 - 8.0 เปอร์เซ็นต์ของความยาวหัว เงี่ยงมีลักษณะเรียบ มีซี่เงือกจำนวน 17 - 19 ซี่/ก้าน ครีบก้นมีลักษณะสั้น เมื่อเทียบกับปลาดุกลำพันที่มีขนาด 59.7 - 66.8 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน จะมีก้านครีบ 55 - 57 ก้าน และปลา *C. kapuasensis* มีลักษณะกะโหลกสั้นและกว้าง ปากมีลักษณะกลมขนาด 5.2 - 6.6 เปอร์เซ็นต์ของความยาวหัว ระยะห่างระหว่างกะโหลกและครีบหลังค่อนข้างยาว เท่ากับ 6.4 - 8.7 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน เงี่ยงมีลักษณะเรียบ มีจำนวนซี่เหงือก 21 - 22 ซี่/ก้าน ครีบก้นถ้าเทียบกับปลาดุกลำพันที่มีขนาด 59.7 - 66.8 เปอร์เซ็นต์ของความยาวมาตรฐาน มีก้านครีบ 51 - 60 ก้าน

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก

การวิเคราะ ห์ข้อมูลด้วยวิธีวิเคราะห์ตัวประกอบหลัก (การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Multivariate Morphometric Analysis) เป็นการหา ไอเก็นเวกเตอร์ (Eigenvactors) และค่าไอเก็น (Eigenvalues) จากเมทริกซ์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation matrix) ที่วิเคราะห์ได้หลังจากการปรับข้อมู ลให้อยู่ในรูปมาตรฐานเชิงเส้น (Linear standardization) ค่าทั้งสองได้มาจากการคำนวณซ้ำๆ ซึ่งเวกเตอร์จะถูกลองใช้และทดสอบเปรียบเทียบกันตามเกณฑ์ เวกเตอร์แรกจะคำนวณปรับเป็นเวกเตอร์ที่สองเพื่อเปรียบเทียบกัน กระทำเช่นนี้เรื่อยๆ จนกระทั้งพบความสอดคล้องกันระหว่างเวกเ ตอร์ และเวกเตอร์สุดท้ายจะเป็น ไอเก็นเวกเตอร์แรกของเมตริกซ์ ซึ่งส่วนประกอบ

สำคัญส่วนแรกจะถูกสกัดออกมาจากผลคูณระหว่างรากที่สองของไอเก็นกับค่าแต่ละค่า ในเวกเตอร์เป็นค่าน้ำหนักองค์ประกอบของแต่ละตัวแปรที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบ ส่วนประกอบสำคัญส่วนแรก คือ องค์ประกอบทั่ วไปที่อธิบายความแปรปรวนในเมตริกซ์สหสัมพันธ์ได้มากที่สุด ส่วนประกอบสำคัญที่สกัดออกมาทุกส่วนแสดงให้เห็นว่าความแปรปรวนทั้งหมดในเมตริกซ์สหสัมพันธ์อธิบายได้ด้วยผลรวมค่าเฉลี่ยของค่าน้ำ หนักองค์ประกอบกำลังสองในแต่ละองค์ประกอบและสัดส่วนของความแปรปรวนในเมตริกซ์จะอธิบายได้ด้วยส่วนประกอบหลัก

ไอเก็นเวกเตอร์ (The characteristic vactor of the matrix : Latent vactors : Eigenvactors) เป็นคอลัมน์หรือแถวของน้ำหนักของแต่ละตัวแปรในเมตริกซ์ ซึ่งค่าน้ำหนักองค์ประกอบ (Factor loading) ที่สอดคล้อง (Corresponding) กับองค์ประกอบต่างๆ จะได้มาจากแต่ละค่าของเวกเตอร์คูณด้วยรากที่สองของของค่าไอเก็นขององค์ประกอบนั้น

ค่าไอเก็น (The characteristic roots : Latent roots : Latent roots : Eigenvalues) คือ ผลรวมกำลังสองของค่าน้ำหนักองค์ประกอบแต่ละองค์ประกอบ ซึ่งถ้านำมาหาค่าเฉลี่ยจะบอกสัดส่วนของความแปรปรวนที่อธิบายโดยองค์ประกอบนั้น ผลรวมเฉลี่ยดังกล่าวในองค์ประกอบใดมีค่าสูงองค์ประกอบนั้นก็อธิบายได้มาก องค์ประกอบหรือส่วนประกอบแรกที่ถูกสกัดออกมาจะมีค่าสูงที่สุด ซึ่งค่าไอเก็น เป็นค่าบ่งบอกถึงความสามารถของอ งค์ประกอบที่อธิบายความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1 ซึ่งผลที่ได้จะ ต้องมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ย และ เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนรวมของตัวประกอบหลักที่ 1 (PC1) ตัวประกอบหลักที่ 2 (PC2) และตัวประกอบที่ 3 (PC3) จะต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงจะสามารถใช้เป็นตัวแทนเพื่ออธิบายความแปรผันของลักษณะสัณฐานได้ (กัลยา วานิชย์บัญชา. 2552 : 589)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรม หมายถึง การที่สิ่งมีชีวิตมีพันธุกรรม ที่แตกต่างกันในระดับหนึ่ง รวมถึงความหลากหลายภายในประชากร และระหว่างประชากร ในธรรมชาติ ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประช ากรเกิดจากกลไกการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของยีน (Crossing Over) และการรวมตัวกันของยีนที่เกิดระหว่างการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (Meiosis) และนอกจากนี้ยังเกิดจากการรวมตัวระหว่างเซลล์สืบพันธุ์จากเพศผู้และเพศเมีย ส่วนความหลากหลายทางพันธุ กรรมระหว่างประชากรเกิดเมื่อสมาชิกของประชากร แต่ละประชากรมีการแยกตัวจากประชากรเดิมทำให้ความถี่ของอัลลีลเปลี่ยนไป และระยะต่อมาประชากรที่แยกจากกันจะมีลักษณะของวิวัฒนาการที่แตกต่างออกไป (King and Stansfield. 1990 : 1 - 188)

ประชากรของปลา น้ำจืดส่วนใหญ่มักแบ่งอ ออกเป็นประชากรย่อยๆ ซึ่งหมายถึงกลุ่มของปลาที่มีการผสมพันธุ์กันภายในกลุ่ม โดยอาจผสมพันธุ์ข้ามกลุ่มบ้างเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ซึ่งการผสมข้ามกลุ่มนี้จะเปิดโอกาสให้มีการแลกเปลี่ยนยีนกัน เรียกว่า เกิดการถ่ายเทยีน (Gene Flow) ถ้ามีการถ่ายเทของยีนมากประชากรจะแตกต่าง กันน้อย ถ้ามีการถ่ายเทน้อยหรือไม่มีเลยประชากรก็จะแตกต่างกันมากขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่สองประชากรเริ่มแยกกลุ่มผสมพันธุ์ เมื่อประชากรเริ่มแยกกลุ่มผสมพันธุ์หรืออีกนัยหนึ่งคือลดการถ่ายเทของยีน ประชากรเหล่านั้นจะแตกต่างกันมากน้อยเพียงใดก็ขึ้นกับปัจจัยอีก 3 ประการคือ การคัดเลือก (Selection) เจเนติก ดริพท์ (Genetic Drift) และการกลาย (Mutation) (อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543 : 203)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นรากฐานสำ คัญต่อความอยู่รอดของชนิดพันธุ์ ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเพื่อที่จะเอื้ออำนวยให้สิ่งมีชีวิตสามารถดำรง ชีวิตให้สอดคล้องกับสภาพการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งหลีกเลี่ยงศัตรูหรือต่อต้านโรคภัยไข้เจ็บ สิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ จะไม่สามารถปรับตัวได้หากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนั้นความหลากหลายที่ต่ำ จะนำไปสู่การผสมเลือดชิด ซึ่งมีผลให้ลักษณะที่จำเป็นต่อการอยู่รอด เสื่อมถอยลง ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงเป็นแหล่งพันธุกรรมเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปได้ (Smith. 1994 : 977 - 983) โดยความหลากหลายระหว่างประชากร จะนำไปสู่การวิวัฒนาการเกิดเป็นชนิด (Speciation) ดังนั้นในการอนุรักษ์จึงจำเป็นต้องรักษาความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไว้ ซึ่งจะทำได้ก็ต่อเมื่อมีข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเป้าหมาย

ค่าที่บอกความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายใ นประชากร สามารถบอกได้ด้วยข้อมูลหลายลักษณะได้แก่

1) เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งโพลีมอร์ฟิก (Percent Polymorphic Loci) คือสัดส่วนของยีนที่มีอัลลีลมากกว่า 1 อัลลีล คิดเป็นร้อยละของจำนวนยีนที่ศึกษาทั้งหมด

2) จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (Average Number of Alleles Per Locus) โดยนับจำนวนอัลลีลทั้งหมดทุกตำแหน่งแล้วนำมาหารด้วยจำนวนตำแหน่งของยีนทั้งหมดที่ทำการศึกษา

3) เฮตเทอโรไซโกซิตี (Heterozygosity) หมายถึง ค่าที่แสดงความถี่ของเฮตเทอโรไซโกตต่อยีน 1 ตำแหน่งที่ทำการศึกษาเฉลี่ยใน 1 ตัวอย่าง ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยของปลากระดูกแข็งมีค่า เท่ากับ 0.052 (Hedrick. 1985) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี ประกอบด้วยค่าจากการค่าสังเกต (H_o หรือ Observed Heterozygosity) คือสัดส่วนของเฮตเทอโรไซกัส จีโนไทป์ เฉลี่ยต่อตำแหน่ง คำนวณได้

จากข้อมูลจริง และค่าคาดหมาย (H_e หรือ Expected Heterozygosity) เป็นค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี ที่ได้จากการคำนวณ โดยอาศัยหลักที่ว่าประชากรนั้นอยู่ในสภาพสมดุลของฮาร์ดีไวน์เบิร์ก

ปัจจุบันมีโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปที่ช่วยคำนวณค่าต่างๆ เหล่านี้ได้ เช่น โปรแกรม POPGENE (Yeh, Yang and Boyle. 1999.) โปรแกรม FSTAT (Goudet, 2002)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากรเป็นความแปรปรวนที่เกิดขึ้นของสมาชิกต่างประชากร สามารถประเมินได้ โดยการเปรียบเ ทียบความแตกต่างของความถี่ของยีน หรือจีโนไทพ์ของสมาชิกต่างประชากร ความหลากหลายทางพั นธุกรรมระหว่างประชากร ในภาพรวมสามารถวัดได้จากค่า F_{ST} ซึ่งถ้าค่านี้แตกต่างจากศูนย์ แสดงว่ามีประชากรอย่างน้อยหนึ่งคู่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม จากนั้นจึงคำนวณค่าที่แสดงความแตกต่างระหว่างประชากร ดังนี้

1) Population Differentiation เป็นการศึกษาความแตกต่างของประชากรโดยใช้การกระจายตัวของอัลลีลในแต่ละประชากรเป็นตัวทดสอบ

2) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic Distance) เป็นค่าที่บอกจำนวนยีนหรือโคดอน (Codon) ที่มีการเปลี่ยนแปลงไปภายในยีนแต่ละตำแหน่ง หลังจากที่ประชากรทั้งสองเริ่มแยกจากกัน ซึ่งค่าระยะห่างทางพันธุกรรมจะบอกถึงความถี่ และปริมาณของการถ่ายเทยีนระหว่างประชากร โดยปกติแล้วค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรที่อยู่ใกล้ชิดกันมีค่าต่ำ แต่ถ้ามีสิ่งกีดขวางตามสภาพภูมิศาสตร์ จะมีค่าสูงขึ้น (Nei. 1978 : 583 - 590)

3) Pairwise F_{ST} เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัล ลีลในทุกคู่ประชากร และใช้สนับสนุนการทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากร

การคำนวณมีโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปที่ช่วยคำนวณเช่น TFPGA (Miller. 1997) PHYLIP (Felsenstein. 1993) เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม GENEPOP (Raymond and Rousset. 2003 : 248 – 249) เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างและโครงสร้างประชากร

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์น้ำ

เนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นพื้นฐานที่สำคัญต่อความอยู่รอดของชนิดพันธุ์ (Species) โดยสิ่งมีชีวิตที่มี ความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ จะไม่สามารถปรับตัวได้หากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ก็จะนำไปสู่การสูญพันธุ์ นอกจากนั้นความหลากหลายที่ต่ำหากเป็นผลจากจำนวนพ่อแม่พันธุ์ทางพันธุกรรม (Effective Population Size, N_e) น้อย จะนำไปสู่การผสม

เลือดชิด ซึ่งมีผลให้ลักษณะที่จำเป็นต่อการอยู่รอด เสื่อมถอยลง มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* (Klinbunga, Siludjai, Wuthijinda, Tassanakajon, Jarayabhand and Menasveta. 2001 : 428 - 438), หอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina* (Klinbunga, Pripue, Khamnamtong, Puanglarp, Tassanakajon, Jarayabhand, Hirono, Aoki and Menasveta. 2003 : 505 - 517) กุ้ง *Acetes japonicus* (Aziz, Siraj, Arshad, NurulAmin and Harmin. 2010 : 355 - 361) ปลาช่อน *Channa striata* (Ambak, Bolong, Ismail and Tam. 2006 : 104 - 110) ปลา *Mystus vittatus* (Garg, Sairkar, Silawat, Vijay, Batav and Mehrotra. 2009a : 4032 - 4038) ปลา *Heteropneustes fossilis* (Garg, Sairkar, Silawat, Vijay, Batav and Mehrotra. 2009b : 171 - 177) ปลา Yellow Catfish, *Horabagrus brachysoma* (Bagridae) (Muneer, Gopalakrishnan, Musammilu, Mohindra, Lal, Basheer and Lakra. 2009 : 1779 - 1791) ปลาดุกด้าน *Clarias batrachus* (Garg, Sairkar, Silawat, Batav and Mchrotra. 2010 : 749 - 753) ปู *Portunus pelagicus* (Klinbunga, Yuranatemiya, Wongphayak, Khetpu, Menasveta and Khamnamtong. 2010 : 1615 - 1624)

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุ์ในปลาหลายชนิดพบว่า ระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลาทะเลกับปลาน้ำจืดมีความแตกต่างกัน โดยปลาทะเลมีความหลากหลายระหว่างประชากรต่ำ เนื่องจากมีการอพยพไปมาระหว่างประชากร (Gyllensten. 1985 : 691 - 699) นอกจากนั้นการแพร่กระจายปะปนกันของตัวอ่อนก็มีส่วนสำคัญในการลดความแตกต่างระหว่างประชากร (Kijima and Fujio. 1990 : 177 - 206) ส่วนปลาน้ำจืดมีความแตกต่างระหว่างประชากรในระดับสูง เนื่องจากมีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์จำกัดการผสมข้ามระหว่างประช ากร (Gyllensten. 1985 : 691 - 699)

เครื่องหมายพันธุกรรม (Genetic Marker)

เครื่องหมาย (Marker) เป็นตัวบ่งชี้ถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ ซึ่งเครื่องหมายที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างมี 2 ประเภท คือ

1. เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological Marker) คือ การบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต โดยใช้วิธีเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือสรีรวิทยา

2. เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular Marker) เครื่องหมายโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน เป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และร ะดับดีเอ็นเอ ซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

2.1 เครื่องหมายโปรตีน (Protein Marker) เป็นการตรวจสอบโดยใช้ความแตกต่างของโมเลกุลโปรตีนต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะใช้วิธีแยกแถบโปรตีนด้วย อิเล็กโตรโฟรีซีส แล้วนำมาย้อมดูแถบโปรตีน แล ะยังมีการตรวจหาเอนไซม์ด้วย ซึ่งเครื่องหมายโปรตีนสามารถตรวจหาแถบโปรตีนได้หลายตำแหน่งและสามารถแยกโปรตีน แบบโฮโมไซกัสและแบบเฮตเทอโรไซกัสออกจากกันได้ แต่สามารถพบความแตกต่างได้เพียง 30 เปอร์เซ็นต์ของระดับดีเอ็นเอ เท่านั้น (สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552 : 63 - 64)

2.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Marker) เป็นการตรวจสอบโดยใช้ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่อยู่ บนโครโมโซมหรือในออร์แกเนลล์ ดีเอ็นเอจะมีความเสถียรกว่าโปรตีน ทำให้สามารถตรวจดีเอ็นเอได้ทั้งสารพันธุกรรมและปัจจุบันได้มีการนำเครื่องหมายดี เอ็นเอเป็นเครื่องหมายบอกความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดแรกที่นำมาใช้ คือเครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) เมื่อมีการพัฒนาวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR) ทำให้เกิดเทคนิคใหม่ๆ ที่สามารถใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยอาศัยกา รใช้พีซีอาร์เป็นหลัก เช่น เทคนิ คอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) เอเอฟแอลพี (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) มินิแซทเทลไลท์ (Minisatellites) และไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellites)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล

การศึกษาความแตกต่างของชนิดพันธุ์โดย การดูจากลักษณะภายนอก อาจผิดพ ลาดได้เนื่องจากอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะ รูปร่างไปจากเดิม ซึ่งการศึกษาลักษณะความแปรผั นในระดับโมเลกุลจะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ โดยเทคนิคทางชีวโมเลกุลจะเป็นเครื่องมือการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ถึงภายในและระหว่างประชากร เทคนิคทางชีวโมเลกุลได้รับความนิยมอย่างสูงในปัจจุบัน

การศึกษาความแปรผันของอัลโลไซม์เป็นเทคนิคระดับโมเลกุลวิธีแร กที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรในสัตว์น้ำ เช่น อัธยา อรรถอินทรีย์, อุทัยรัตน์ ณ นคร, สมศรี งามวงศ์ชน และพงศ์เชฎฐ์ พิชิตกุล (2544 : 113 - 120) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) ในธรรมชาติที่รวบรวมจาก 18 แหล่ง ได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา พิษณุโลก อำนาจเจริญ มหาสารคาม อุดรธานี สกลนคร สุรินทร์ ขอนแก่น ศรีสะเกษ อุทัยธานี อุทัยธานี2 อยุธยา กาญจนบุรี เพชรบุรี สุราษฎร์ธานี ตรัง และนราธิวาส โดยศึกษายีนควบคุมเอนไซม์/โปรตีน 14 ระบบ เป็นจำนวนยีนทั้ง หมด จำนวน 22 ตำแหน่ง พบว่ าในจำนวนยีนที่ศึกษามี ตำแหน่ง

โพลีมอร์ฟิก (P95) 14 ตำแหน่ง ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรมีค่าค่อนข้างต่ำ ค่าเฉลี่ยจากทุกประชากรมีค่าดังนี้ คือ ค่าเฉลี่ยอัลลี ลต่อโลกัสเท่ากับ 1.33 เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิ ก เฉลี่ย 17.16 เปอร์เซ็นต์ เฮตเทอโรไซโกซิตีจากการแจงนับ (H_o) มีค่าเฉลี่ย 0.025 เฮตเทอโรไซโกซิตี จากการคำนวณ (H_e) มีค่าเฉลี่ย 0.048 แต่พบความแตกต่างระหว่างประชากรอยู่ในระดับสูง (F_{ST} = 0.545) ระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic Distance) มีค่าเฉลี่ย 0.066 เมื่อนำค่าระยะห่างทาง พันธุกรรมไปจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ตามวิธี UPGMA พบว่าประชากรเหล่านี้ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (D = 0.156) คือ กลุ่มประชากรจากภาคใต้ และกลุ่มประชากรจากภาคอื่นๆ โดยในกลุ่มนี้ ประชากรจากสุรินทร์มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากประชากรอื่นๆ (D = 0.053)

ณ นคร, ฮาร่า ทานิกูชิ และ เซกิ (Na-Nakorn, Hara, Taniguchi and Seki. 1998 : 526 – 530) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกอุย 4 ประชากรในประเทศไทย ประกอบด้วย ประชากรจากจังหวัดยะลา ปัตตานี ปราจีนบุรี และเชียงราย โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ 14 ตำแหน่ง ตรวจสอบยีน 19 ตำแหน่ง พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรเฉลี่ยอยู่ในระดับ ปานกลาง (H_o = 0.06, เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิก เท่ากับ 18.4) เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของปลากระดูกแข็ง ประชากรมีการแบ่งเป็นประชากรย่อย ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม เชียงรายกับปราจีนบุรี และกลุ่มปัตตานีกับยะลา

ณ นคร, กมลรัตน์ และงามศิริ (Na-Nakorn, Kamonrat and Ngamsiri. 2004 : 145 - 163) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกอุย จำนวน 25 แหล่งประชากรจากธรรมชาติ และ 1 แหล่งจากโรงเพาะฟัก โดยศึกษาเอนไซม์ /โปรตีน 20 ตำแหน่ง เป็นยีนที่ควบคุมจำนวน 18 ตำแหน่ง พบโพลีมอร์ฟิกจำนวน 8 ตำแหน่ง ค่าเฉลี่ยอัลลีลต่อโลกัสของทุกประชากรเท่ากับ 1.33 ± 0.16 เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเฉลี่ยในทุกประชากรเท่ากับ 17.12 ± 7.5 และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจาก การแจงนับ (H_o) มีค่าเฉลี่ย 0.043 ± 0.1777 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคำนวณ (H_e) มีค่าเฉลี่ย 0.038 ± 0.012 แสดงว่าประชากรปลาดุกอุยจากธรรมชาติและโรงเพาะฟักมีความหลากหลายทาง พันธุกรรมค่อนข้างสูง (F_{ST} = 0.163)

มูนีร์, กอปาลาครีสนัน, ลัล และโมฮินดรา (Muneer, Gopalakrishnan, Lal and Mohindra. 2007 : 637 - 645) ศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของปลา Yellow Catfish (*Horabagrus brachysoma*) ในธรรมชาติที่รวบรวมจาก 3 แหล่งประชากรของประเทศอินเดีย ได้แก่ Chalakkudy Nethravathi และ Meenacill โดยศึกษายีนควบคุมเอนไซม์ /โปรตีน 14 ตำแหน่ง เป็นยีนที่ควบคุมจำนวน 14 ตำแหน่ง มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ภายในชนิด ค่อนข้างสู ง ค่าเฉลี่ยของอัลลีลต่อโลกัส เท่ากับ 2.357 และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการแจงนับ (H_o) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.178 ค่าเฮตเทอโร ไซโกซิตีจากการคำนวณ (H_e) เฉลี่ย 0.428 ความแตกต่างระหว่างประชากรอยู่ในระดับ สูง (F_{ST} =

0.154) ระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic Distance) มีค่า 0.0299 – 0.0927 เมื่อนำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมไปจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ตามวิธี UPGMA พบว่าประชากรเหล่านี้ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (D = 0.05) คือ กลุ่มประชากรจาก Meenacill กับ Chalakkudy และกลุ่มประชากรจาก Nethravathi

โมฮินดรา, สิงห์, ปาลานิชามาย์, ปอนนีอะห์ และ ลัล (Mohindra, Singh, Palanichamy, Ponniah. and Lal. 2007. : 104 - 109) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกด้าน และปลาดุกยักษ์จากประเทศอินเดีย จำนวน 44 และ 42 ตัวอย่าง ตามลำดับ ปลาดุกยักษ์และปลาดุกอุยจากประเทศไทย จำนวน 7 และ 8 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยวิเคราะห์อัลโลไซม์และอาร์เอฟแอลพี พบว่าจากการศึกษาเอนไซม์ /โปรตีน 12 ตำแหน่ง เป็นยีนที่ควบคุมจำนวน 16 ตำแหน่ง พบยีนที่มีโพลีมอร์ฟิก 4 ตำแหน่ง ค่าเฉลี่ยของอัลลีลต่อโลกัสทั้งหมด 1.19 – 1.75 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการแจงนับ (H_o) ในปลาดุกยักษ์จากประเทศอินเดีย เท่ากับ 0.149 และจากประเทศไทยเท่ากับ 0.152 ส่วนในปลาดุกด้านและปลาดุกอุยมีค่าเท่ากับ 0.05 และ 0.08 ตามลำดับ แสดงว่าความแตกต่างระหว่างประชากรของปลาดุกด้านและปลาดุกอุยอยู่ในระดับสูง และจากการศึกษาไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอโดยย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 6 ชนิด เพื่อวิเคราะห์อาร์เอฟแอลพี พบว่า แฮพโพลไทด์ (Haplotype) ปรากฏร่วมกัน เนื่องจากแฮพโพลไทด์ หลักมีการกระจายตัวอยู่ใน ปลาทุกชนิด และจากการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ตามวิธี UPGMA สามารถแบ่งกลุ่มประชากรได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรก คือ ปลาดุกด้านกับปลาดุกยักษ์ทั้งสองแหล่งประชากร และกลุ่มที่สองคือกลุ่มปลาดุกอุย

จากผลการศึกษาดังกล่าวบอกถึงความหลากหลายของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนหรือไอโซไซม์ ซึ่งตรวจสอบได้โดยดูจากชนิดของโปรตีนหรือไอโซไซม์ที่เป็นผลผลิตของยีนนั้น และการศึกษาดังกล่าวไม่อาจบอกความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในดีเอ็ นเอทั้งหมดได้ เพราะการเปลี่ยนแปลงของเบสบางตำแหน่ง อาจจะไม่ทำให้สายโพลีเป็บไทด์ที่สร้างเปลี่ยนไป หรือที่เรียกว่าไซเลนท์มิวเตชัน (Silent Mutation) นอกจากนั้นแล้วการเปลี่ยนแปลงในส่วนของดีเอ็นเอ ที่ไม่เป็นรหัสควบคุมการสร้างโปรตีนหรือที่เรียกว่านันโคดดิงดีเอ็นเ อ (Non-Coding DNA) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอส่วนใหญ่ในจีโนมก็ไม่อาจตรวจสอบได้โดยการศึกษาไอโซไซม์ (อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543 : 272)

ในปัจจุบันจึงนิยมใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในการหาความสัมพันธ์และความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต ใช้บ่งชี้และจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตทั้ งในระดับชนิดและระดับประชากร โดยอาศัยความแตกต่างในระดับยีนหรือดีเอ็นเอ กันมากขึ้น เนื่องจากดีเอ็นเอ กระจายอยู่ทั่วจีโนม สามารถเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอได้จากเนื้อเยื่อเพียงเล็กน้อยโดยไม่จำเป็นต้องฆ่าตัวอย่าง และดีเอ็นเอยังเป็นโมเลกุลที่มีความเสถียร จึงสามารถศึก ษาได้จากเนื้อเยื่อที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลานาน ซึ่งเป็นข้อดีอย่างยิ่งสำหรับการศึกษาในสิ่งมีชีวิตที่หายากหรือใกล้สูญพันธุ์ นอกจากนั้นยังปลอดจาก

ผลของการคัดพันธุ์ตามธรรมชาติ (ยกเว้นดีเอ็นเอที่ควบคุมการสร้างโปรตีน) (Selectively Neutral Genetic Markers)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์น้ำ ได้แก่ เทคนิคอาร์เอฟแอลพี อาร์เอพีดี เอเอฟแอลพีและเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์

เทคนิคอาร์เอฟแอลพี เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในยุคเริ่มแรกของการพัฒนาดีเอ็นเอเครื่องหมาย ก่อนที่เทคนิคพีซีอาร์จะถูกพัฒนาขึ้นมา การตรวจสอบความแตกต่างจะอาศัยหลักการของความสามารถในการจับ (Hybridize) ของชิ้นส่วน ดีเอ็นเอ ที่เหมือนกันควบคู่กับหลักขอ งความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งที่ตัดของ เอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction Enzyme) ในจีโนมของสิ่งมีชีวิตแต่ละตัว

บวร ตันติวรชัย และอำนวย จรด้วง (2550 : 237 - 245) ใช้เทคนิคอาร์เอฟแอลพีในการศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรปลาดุกด้าน จากจังหวัดศรีสะเกษและอุบลราชธานี โดยรวบรวมตัวอย่างจากธรรมชาติ ทั้งหมด 10 อำเภอ (จังหวัดศรีสะเกษประกอบด้วย อำเภอโพธิ์สุวรรณ ราศีไศล ยางชุมน้อย เมืองศรีสะเกษ และกันทรารมย์ ส่วนจังหวัดอุบลราชธานี ประกอบด้วยอำเภอรินชำราบ เมืองอุบลราชธานี ตระการพืชผล ตาลสุม และพิบูลมังสาหาร) จำนวน 200 ตัว นำเนื้อเยื่อปลามาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ คอนทรอลรีเชียน (Control Region) และยีน *16S rRNA* ในไมโตดอนเดรียดีเอ็นเ อ นำผลผลิตพีซีอาร์ไปย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิด เพื่อวิเคราะห์อาร์เอฟแอลพี พบว่าปลาดุกด้านจากต่างอำเภอมีแฮพโพลไทด์ (Haplotype) ปรากฏร่วมกัน เนื่องจากแฮพโพลไทด์ หลักมีการกระจายตัวออกไปอยู่ใน ปลาของทุกๆ อำเภอที่ศึกษา ได้ค่า Nucleotide Diversity ของคอนทรอลรีเชียน และยีน *16S rRNA* อยู่ในช่วง 0.0156 ถึง 0.0504 และได้ค่า Nucleotide Divergence ระหว่างอำเภอมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.014 ถึง 0.493 ค่า Nucleotide Diversity ที่ได้มีค่าค่อนข้างต่ำ แต่ค่า Nucleotide Divergence ที่ได้มีค่าค่อนข้างสูงและจำนวนปลาดุกด้านในธรรมชาติลดลง ทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง และเมื่อนำค่า Nucleotide Divergence ไปสร้าง Phylogenetic Tree พบว่าประชากรเหล่านี้ถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกเป็นประชากรจากอำเภอวารินชำราบ กลุ่มที่สองเป็นประชากรจากอำเภอเมืองอุบลราชธานีและพิบูลมังสาหาร และกลุ่มที่สามเป็นประชากรจากอีก 7 อำเภอที่ศึกษา

เตรียนลาฟีล์ลิดิส อะบัทซอปาวโลส์ และ อีกอนอมิดิส (Trianlafyllidis, Abatzopoulos and Economidis. 1999 : 503 - 509) ใช้เทคนิคอาร์เอฟแอลพีในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลา *Silurus glanis* และ *Silurus aristotelis* จากประเทศกรีซ โดยรวบรวมประชากรปลา *S. glanis* จำนวน 7 แหล่ง และ *S. aristotelis* จำนวน 3 แหล่ง นำดีเอ็นเอไปเพิ่มปริมาณบริเวณคอนทรอลรีเชียน (Control Region) จำนวน 4 ตำแหน่ง นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ไปย่อยด้วยเอนไซม์

ตัดจำเพาะ 18 ชนิด เพื่อวิเคราะห์อาร์เอฟแอลพี พบว่าประชากร ปลา *S. glanis* และ *S. aristotelis* มีแฮพโพลไทด์ (Haplotype) จำนวน 10 และ 9 ตามลำดับ แต่ไม่พบแฮพโพลไทด์ ที่ปรากฏร่วมกันระหว่างปลาทั้งสองชนิด ซึ่งแสดงว่าการกระจายตัวของแฮพโพลไทด์ ที่ปรากฏมีความเกี่ยวข้องกับภูมิศาสตร์ ดังนั้นแฮพโพลไทด์สามารถบอกถึงหลักฐานการคุ้มกันของสารพันธุกรรม ค่าแฮพโพลไทด์บ่งบอกถึงความหลากหลายของประชากร ปลา *S. glanis* ในประเทศกรีซว่ามีค่าต่ำ เนื่องจากแม่น้ำมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาจึงส่งผลให้ปลามีขนาดเล็ก ค่า Nucleotide Diversity มีค่าค่อนข้างต่ำ (ประชากรปลา *S. glanis* มีค่าเท่ากับ 0.00 – 0.52 เปอร์เซ็นต์ และประชากร ปลา *S. aristotelis* มีค่าเท่ากับ 0.00 – 0.11 เปอร์เซ็นต์) ส่วนค่า Nucleotide Divergence ของปลาทั้งสองชนิด มีค่าเท่ากับ 6.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำค่าที่ได้ไปสร้าง Phylogenetic Tree พบว่าประชากรถูกแบ่งเป็นสองกลุ่มอย่างชัดเจน

หวัง ซูว์ เย เวห์ และ วู (Wang, Zhou, Ye, Wei and Wu. 2006 : 455 - 463) ศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร ของปลา *Leiocassis longirotris* ด้าน Upstream และ Mid-Stream จากลุ่มแม่น้ำ Yangtze ของประเทศจีน โดยนำดีเอ็นเอไปเพิ่มปริมาณบริเวณ ND5/6 ไซโตโครม บี (Cytochrome b) และคอนทรอลรีเชียน ในไมโตคอนเดรียดีเอ็นเอ นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ไปย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 10 ชนิด เพื่อวิเคราะห์อาร์เอฟแอลพี สุ่มเลือกชิ้นส่วนคอนทรอลรีเชียนหรือดีลูป (D-Loop) 23 ชิ้นไปหาลำดับเบส พบว่าจากการวิเคราะห์ อาร์เอฟแอลพีและจากการหาลำดับเบสของประชากรปลา *L. longirotris* ด้าน Upstream และ Mid-Stream พบแฮพโพลไทด์ (Haplotypes) จำนวน 10 และ 18 ตามลำดับ และสามารถแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็นสองกลุ่มอย่างชัดเจน โดยระยะห่างทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.008 และ 0.010 ตามลำดับ แสดงว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลา *L. longirotris* มีค่าต่ำ และการลดลงของพันธุกรรมส่งผลให้ประชากรปลา *L. longirotris* จัดอยู่ในภาวะใกล้สูญพันธุ์

จากผลการศึกษาดังกล่าวจะบอกถึงความหลากหลายของ ขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจา กการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เนื่องจากข้อ มูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตจะเก็บอยู่ในนิวเคลียสและออร์แกเนลล์บางชนิดและมีคุณสมบัติอย่างถูกต้อง ไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องการตรวจสอบจะเจาะจงที่ยีนหรือตำแหน่งที่แน่นอนบนโครโมโซม สามารถทำซ้ำได้ผลเหมือนเดิม นอกจากนี้เทคนิค อาร์เอฟแ อลพียังแสดงการข่มร่วมกัน ซึ่งจะช่วยให้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตระหว่างกลุ่มที่เป็นโฮโมไซกั สและเฮตเทอโรไซกัสได้ ถึงแม้เทคนิค อาร์เอฟแอลพีจะมีข้อดีจำนวนมาก แต่พบว่าข้อจำกัดที่สำคัญ คือมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ซับซ้อน และใช้เวลานาน อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานสูง ดีเอ็นเอที่ใช้ต้องมีปริมาณมากและต้องทำให้บริสุทธิ์ ไม่เช่นนั้นจะไม่สามารถตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะได้ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 : 68 - 73)

เทคนิคอาร์เอพีดี เป็นวิธีตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์แบบหนึ่งที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับของดีเอ็นเอเป้าหมาย โดยพลชาติ ผิวเณร (2545 : 1 - 77) หาความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาดุก 5 ชนิด คือ ปลาดุกอุย ปลาดุกยักษ์ ปลาดุกด้าน ปลาดัก และปลาดุกลำพัน พบว่ามี 7 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่สามารถทำซ้ำได้ คือ OPA-02, OPA-08, OPA-17, OPB-04, OPB-05, OPB-06 และ OPB-10 เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 121 แถบ โดยเกิดแถบเฉพาะชนิด 74 แถบ (61.2%) แถบร่วมระหว่างชนิด 26 แถบ (21.5%) และแถบที่มีความผันแปรภายในชนิด 34 แถบ (28.9%) ค่า Shannon's Information Index ซึ่งแสดงดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ระ หว่าง 0.000 ± 0.000 ในปลาดัก ถึง 0.0776 ± 0.0540 ในปลาดุกยักษ์ ค่าความหลากหลายของยีน (G_{ST}) เฉลี่ยในทุกไพรเมอร์มีค่าในระดับสูง (0.9198 ± 0.0660) ค่าดัชนีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมและระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.5283 – 0.6791 และ 0.3909 – 0.6385 ตามลำดับ เมื่อนำระยะห่างพันธุกรรมไปสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA (Unweighted Pair Groups With Arithmetric Means) พบว่าปลาดุก 5 ชนิดมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมลดหลั่นกันไป ไม่แบ่งออกเป็นกลุ่ม โดยปลาดุกด้านและปลาดุกลำพันมีความสัมพันธ์ทา งพันธุกรรมมากที่สุด ถัดมาได้แก่ปลาดัก ปลาดุกยักษ์ และปลาดุกอุย ตามลำดับ โดยมีค่า Bootstrap อยู่ระหว่าง 42.1 - 58.6 เปอร์เซ็นต์

เกตการณ์, เรดดีย์, แมน, ราวินเดอร์ และมูซัมดาร์ (Khedkar, Reddy, Mann, Ravinder and Muzumdar. 2010 : 1355 - 1362) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) ในแม่น้ำ Banaras, Bhubaneshwar และ Hussainabad ของประเทศอินเดีย โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี 6 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอขนาด 100 – 1200 bp จำนวน 462 แถบ เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกของทุกประชากรมีค่า 26.5 – 30.5 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกภายในประชากรมีค่า 25.0 – 35.7 เปอร์เซ็นต์ ระยะห่างภายในประชากร Hussainabad มีค่าประมาณ 0.125 – 0.842 ค่า Band Sharing (BS) ในประชากร Banaras, Bhubaneshwar และ Hussainabad มีค่า 0.26 ± 0.021, 0.60 ± 0.033 และ 0.377 ± 0.058 ตามลำดับ แสดงว่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร Bhubaneshwar กับ Hussainabad มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดมากกว่าประชากร Banaras อาจจะเป็นเพราะประชากร Bhubaneshwar และ Hussainabad มีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่อยู่ใกล้กับ โรงเพาะฟัก ทำให้สิ่งแวดล้อมรอบๆ มีการเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิ ดการอพยพและมีการผสมระหว่างพันธุ์ ทำให้ลูกที่ได้มีความหลากหลายที่ต่ำ

จากผลการศึกษาดังกล่าวจะบอกถึงความหลากหลายของ ดีเอ็นเอที่มีโพลี มอร์ฟิก ซึ่งเกิดในลักษณะการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ มากกว่าการเปลี่ยนขนาดของแถบดีเอ็นเอ ข้อดีของเทคนิคอาร์เอพีดีสามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว และได้ข้อมูลมาก แต่มีข้อเสียในการทดลองซ้ำ

บางครั้งได้ผลที่ต่างจากเดิม เนื่องจากเทคนิค อาร์เอพีดีมีความไวต่อการเปลี่ยนสภาวะต่างๆ จึงต้องระมัดระวังและควบคุมสภาพการทดลองให้คงที่ นอกจากนี้แถบดีเอ็นเอที่เกิดจากอาร์เอพีดียังแสดงการข่มต่อการ ไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ซึ่งทำให้ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกตและเฮเทอโรไซโกตได้ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 : 94 - 95)

เทคนิคเอเอฟแอลพี เป็นการรวมความน่าเชื่อถือของเทคนิคอาร์เอฟแอลพี และประสิทธิภาพของพีซีอาร์เข้าด้วยกัน คือ เป็นการตรวจสอบความแตกต่าง ของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Vos, Hogers, Bleeker, Reijans, Lee, Hornes, Frijters, Pot, Peleman and Kuiper. 1995 : 4407 - 4414) สารพันธุกรรมจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะสองชนิดที่มีตำ แหน่งจดจำแตกต่างกัน ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะถูกต่อเข้ากับชิ้นดีเอ็นเอสังเคราะห์ที่ทราบรหัส (Adapter) สองชนิด จากนั้นหากมีการเข้าคู่ที่เฉพาะเจาะจงระหว่างชิ้นดีเอ็นเอรหัสเริ่มต้นจำลองตัว (Primer) กับชิ้นดีเอ็นเอสังเคราะห์ที่ทราบรหัส และเบสคัดเลือก (N)ในชิ้นดีเอ็ นเอเป้าหมาย จะทำให้ดีเอ็นเอมีการเพิ่มปริมาณขึ้น เรียกขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะนี้ว่า Selective Amplification ต่อจากนั้นจึงนำ ไปแยกด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโพรีซีสใน Denaturing Polyacrylamide Gel Electrophoresis แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มปริมาณดี เอ็นเอโดยใช้เอเอฟแอลพีไพรเมอร์ (AFLP Primer) คู่หนึ่งๆ เรียกว่าลายพิมพ์เอเอฟแอลพี (AFLP Fingerprint) (สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552 : 103 - 127) ดังนั้นเทคนิคเอเอฟแอลพีจึงเป็นวิธีตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเออีกวิธีหนึ่ง แถบดีเอ็นเอในลายพิมพ์ของแต่ละตัวอย่างที่ ตรวจสอบ จะบ่งบอกถึงความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ตัด ด้วยเอนไซม์ตัดจำเ พาะดังนั้นจึงใช้เป็นเทคนิคดีเอ็นเอได้

เทคนิคเอเอฟแอลพีเป็นเทคนิคที่คล้ายกับเทค นิคอาร์เอฟแอลพี แต่โพลีมอร์ฟิ กที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอเหมือนในอาร์เอฟแอลพี แต่จะเกิดจากการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณขึ้น อย่างไรก็ตามเอเอฟแอลพีเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาด้านพันธุศาสตร์เช่นเดียวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบอื่น ๆ เช่น การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร ศึกษาเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ความสั มพันธ์ทางวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพ โดยมีข้อได้เปรียบกว่าเทคนิคอื่น คือ ไม่ต้องการข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอเช่นเดียวกับเทคนิคอาร์เอพีดี จึงทำได้อย่างกว้างขวาง ใช้กับสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนมขนาดใดก็ได้ ทำได้รวดเร็ว ใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นจำนวนน้อย ในการทำปฏิกิริยาครั้งหนึ่งๆ สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง (Multilocus) พร้อมกัน ในหนึ่งปฏิกิริยาจะให้แถบดีเอ็นเอมากกว่าอาร์เอพีดีประมาณ 4 เท่า จึงสามารถใช้บอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวอย่างได้ดี (สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552 : 111 - 112)

สุภาวดี พุ่มพวง และวงศ์ปฐม กมลรัตน์ (2544 : 184 - 190) ศึกษาความแตกต่างระหว่างชนิดของปลาดุกอุยและปลาดุกยักษ์ โดยใช้เอเอฟแอลพี 10 คู่ไพรเมอร์ สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอ 376 แถบ เฉลี่ยหนึ่งคู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอ 19 แถบทั้งในปลาดุกอุยและปลาดุกยักษ์เป็นแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน (Polymorphic bands) 118 แถบ มีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเท่ากับ 31.40 เปอร์เซ็นต์ โดยแถบที่ต่างกันที่พบเฉพาะในปลาดุกอุย 57 แถบ มีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเท่ากับ 50.30 เปอร์เซ็นต์ และพบเฉพาะในปลาดุกยักษ์ 38 แถบ มีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเท่ากับ 49.70 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับความหลากหลายระหว่างปลาดุกสองชนิด (Interspecific Polymorphism) เท่ากับ 68.60 เปอร์เซ็นต์

สมนึก คงทรัตน์, พลชาติ ผิวเณร และถาวร จันหมิก (2547 : 579 - 584) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม ของปลาแรด จำนวน 5 แหล่งประชากร จากจังหวัดอุทัยธานี นครปฐม พิษณุโลก ตาก และสุราษฎร์ธานี โดยใช้เอเอฟแอลพี 4 คู่ไพรเมอร์ เกิดแถบที่มีความผันแปรภายในและระหว่างประชากรปลาแรด 24 แถบ โดยมีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิก เท่ากับ 10.8 - 14.37 เปอร์เซ็นต์ มีระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.0029 - 0.0110 เมื่อนำไปสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ พบว่าปลาแรด 5 ประชากรมีความสัมพันธ์ลดหลั่นกันไป โดยปลาแรดจากจังหวัดอุทัยธานีกับจังหวัดนครปฐม มีความสัมพันธ์กันมากที่สุด ส่วนประชากรจากจังหวัดพิษณุโลก จังหวัดตาก และ จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีความแตกต่างทางพันธุกรรมลดหลั่นกันไป

สุไหลหมาน หมาดโหยด และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี (2553 : 84 - 93) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรูปแบบหางในปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) จำนวน 10 รูปแบบหาง คือ Pin Spade, Bottom Sword Tail, Round Spade, Top Sword Tail, Double Sword Tail, Swallow Fin, Spear Spade, Ribbon Tail, V - Tail และ Lyre - Tail โดยใช้เอเอฟแอลพี 10 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 100 – 500 คู่เบส จำนวน 43 - 93 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ และมีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันจำนวน 18 – 78 แถบ เท่ากับ 41.9 – 87.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA พบว่าประชากรปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกัน ซึ่งมีค่าอยู่ช่วง 67 – 80 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มที่หนึ่ง ประกอบด้วยรูปแบบหาง Pin Spade, Bottom Sword Tail และ Round Spade กลุ่มที่สอง ประกอบด้วยรูปแบบหาง Double Sword Tail, Swallow Fin และ Ribbon Tail กลุ่มที่สาม ประกอบด้วยรูปแบบหาง V - Tail และ Lyre - Tail และกลุ่มที่สี่ ประกอบด้วยรูปแบบหาง Top Sword Tail และ Spear Spade ผลการศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าปลาหางนกยูงทั้ง 10 รูปแบบหางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ โดยปลาหางนกยูงรูปแบบหาง Bottom Sword Tail และ Round Spade มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด

หลิว, นิโชลส์, ลิ และ ดูนฮัม (Liu, Nichols, Li and Dunham. 1998 : 260 - 268) ศึกษาลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของประชากร ปลา Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) และ Blue Catfish (*I. furcatus*) สู่รุ่นลูก F_1 และ F_2 โดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี 8 คู่ไพรเมอร์ พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปลา Catfish ทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะต่ำ เฉลี่ยหนึ่งคู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอ 20 แถบ และพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรมีลักษณะสูง มีเปอร์เซ็นต์โ พลีมอร์ฟิกระหว่างประชากรเท่ากับ 38.6 – 75.7 เปอร์เซ็นต์ จากการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ (Channel Catfish x Blue Catfish) ที่มีความหลากหลายสูงผสมพันธุ์กัน พบว่าได้ลูกรุ่น F_1 และ F_2 เป็นไปตามกฎของเมนเดลทุกประการ และพบอัลลีล 2 ตำแหน่ง ในรุ่น F_2 มีความสัมพันธ์ที่ต่ำลง และจากการผสมข้ามพันธุ์ส่งผลให้เกิดอัตรารอดมากยิ่งขึ้น แสดงให้เห็นว่าการใช้ เทคนิค เอเอฟแอลพีมีประโยชน์อย่างยิ่งในการวิ เคราะห์พันธุกรรมของปลา Catfish โดยเฉพาะในการทำแผนที่ยีนและการคัดเลือกพันธุ์

โฉง, ตัน, ยูซุฟ และ สิรัจ (Chong, Tan, Yusoff and Siraj. 2000 : 67 - 76) ศึกษาความหลากหลายของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) จำนวน 5 แหล่งประชากร ได้แก่ Kedah, Johor, Perak, Universiti Putra Malaysia และ Serawak โดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพีและอาร์เอพีดี ปรากฏว่าจากการวิเคราะห์เอเอฟแอลพี 4 คู่ไพรเมอร์ พบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 158 แถบ มีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเฉลี่ย 85.1 เปอร์เซ็นต์ และอาร์เอพีดี 9 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่ ต่างกัน 42 แถบ มีเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเฉลี่ย 84.8 เปอร์เซ็นต์ จาก 5 แหล่งประชากรพบความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงสุดในประชากร Sarawak รองลงมาคือประชากรจาก Universiti Putra Malaysia ส่วนประชากรจาก Kedah, Johor และ Perak พบแถบดีเอ็นเอเฉพาะในเครื่องหมายเอเอฟแอลพี เท่านั้น ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับตัวอย่างจาก Serawak แสดงว่าเทคนิคเอเอฟแอลพีมีประสิทธิภาพกว่าเทคนิคอาร์เอพีดีในการแยกลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

หวัง, จายาซันกัร , คูฮ์, นากามูระ , ซูมานตาดีเนต , คาร์มาน และโอกาโมโตะ (Wang, Jayasankar, Khoo, Nakamura, Sumantadinate, Carman and Okamoto. 2000 : 139 – 147) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาคาร์ฟในโรงเพาะฟักของประเทศอินโดนีเซีย โดยใช้เอเอฟแอลพี 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 299 แถบ แถบดีเอ็นเอที่ ต่างกัน 198 แถบ เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเท่ากับ 66.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบความหลากหลายสูงในโรงเพาะฟัก Majalaya Carp

มิคเคทท์, มอร์ทอน, เฟง, ลิ, สิมมอนส์ ,คาว, ดูนฮัม และ หลิว (Mickett, Morton, Feng, Li, Simmons, Cao, Dunham and Liu. 2003 : 91 – 105) ใช้เทคนิคเอเอฟแอลพีในการวิเคราะห์ความหลากหลายของปลา Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) โดยศึกษาทั้งหมด 16 ประชากร จากโรง

เพาะฟัก ในประเทศสหรัฐอเมริกา จากการใช้เอเอฟแอลพี 5 คู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอ 454 แถบ เกิดความแปรผันทางพันธุกรรม 282 แถบ ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.135 เปอร์เซ็นต์ความแปรผันอยู่ในช่วง 18.26 – 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำ ค่า F_{ST} เฉลี่ยทุกตำแหน่งเท่ากับ 0.4456 ยกเว้นประชากรโรงเพาะฟักของ Hicks มีเปอร์เซ็นต์ความแปรผันสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเท่ากับ 0.2071

หวัง, ฉวย และ ชู (Wang, Tsui and Chu. 2004 : 399 - 407) ได้ศึกษาพันธุกรรมของกุ้ง 6 ชนิด คือ *Penaues monodon*, *P. chinensis*, *P. merguiensis*, *P. latisulcayus*, *P. canaliculatus* และ *P. japonicas* โดยใช้เอเอฟแอลพี 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 80 – 550 คู่เบส จำนวน 443 แถบ 8 แถบที่พบในทุกชนิด คิดเป็น 1.8 เปอร์เซ็นต์ และ 3 แถบที่พบในทุกประชากร คิดเป็น 0.7 เปอร์เซ็นต์ พบความหลากหลายระหว่างประชากรมีค่าอยู่ในช่วง 24.6 – 60.8 เปอร์เซ็นต์ ระยะห่างระหว่างประชากรมีค่า 0.0023 – 0.0068 และระยะห่างระหว่างชนิดมีค่า 0.0207 – 0.0324 จากการทำ Phylogenetic Tree สามารถแบ่งประชากรกุ้ง Penaeid Shrimp ออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกได้แก่ *Penaues monodon*,*P. chinensis* และ*P. merguiensis* กลุ่มที่สอง ได้แก่ *P. latisulcayus*, *P. canaliculatus* และ *P.japonicas* ซึ่งข้อมูลที่ได้ในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาโดยใช้ ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA)

สิมมอนส์ และคณะ (Simmons, *et al*. 2006 : 133 - 146) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลา Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) จากธรรมชาติ เปรียบเทียบกับประชากรจากโรงเพาะฟัก ในรัฐ อัลบามา โดยใช้เอเอฟแอลพี 5 คู่ไพรเมอร์ พบว่าประชากร ปลา Channel Catfish จากธรรมชาติ จำนวน 14 แหล่งประชากร ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 396 แถบ เป็นแถบที่ต่างกัน 269 แถบ ค่าเฮตเทอ ไซโกซิตีจากการคำนวณ (H_e) เท่ากับ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ค่าเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกระหว่างประชากรเท่ากับ 32.2 – 85.0 เปอร์เซ็นต์ ค่า F_{ST} เฉลี่ยเท่ากับ 0.36 และมีค่าความคล้ายคลึงกันเท่ากับ 88 เปอร์เซ็นต์ ประชากรจากโรงเพาะฟักจำนวน 31 แหล่งประชากร ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 396 แถบ เป็นแถบที่ ต่างกันเท่ากับ 191 แถบ พบว่าภายในประชากรมีการแสดงออกของค่า เปอร์เซ็นต์ โพลีมอร์ฟิก และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีสูง แสดงว่าลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรมมีความเกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของตัวอย่างในแต่ละภูมิศาสตร์ ซึ่งมีลักษะของแม่น้ำที่มีความสัมพันธ์กัน และมีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์ Phylogenetic Tree

กลิ่นบุหงา, เกตุภู่, คำน้ำทอง และเมนะเศวต (Klinbunga, Khetpu, Khamnamtong and Menasveta. 2007 : 725 - 736) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปูม้าจากจังหวัดระนอง กระบี่ จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี โดยใช้เอเอฟแอลพี 4 คู่ไพรเมอร์ ได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 100 – 600 คู่เบส จำนวน 227 แถบ ได้เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกมีค่าอยู่ในช่วง 66.19 – 94.38

เปอร์เซ็นต์ โดยพบสูงสุดในประชากรจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และต่ำสุดในประชากรจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ระยะห่างระหว่างประชากรมีค่า 0.1151 – 0.2440 จากภูมิศาสตร์ที่ต่างกัน แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างภายในประชากรปูม้ามีค่า N_{em} เท่ากับ 0.26 – 0.76 แสดงว่าประชากรปูม้าในประเทศไทยอยู่ในระดับการถ่ายเทยีน (Gene Flow)

อะดีปูตรา, ฮูซ และจีโว (Adiputra, Hsu and Gwo. 2009 : 101 - 112) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากระพงขาวในโรงเพาะฟัก 3 แหล่ง คือประชากรจากประเทศอินโดนีเซีย ไต้หวัน และประเทศไทย โดยใช้เอเอฟแอลพี 8 คู่ไพรเมอร์ ได้แถบดีเอ็นเอ 206 แถบ มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 107 แถบ เท่ากับ 52 เปอร์เซ็นต์ พบสูงที่สุดในประชากรจากประเทศไทย มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 62 แถบ เท่ากับ 32.47 เปอร์เซ็นต์ และพบต่ำสุดในประชากรประเทศไต้หวัน พบ 53 แถบ เท่ากับ 29.78 เปอร์เซ็นต์ และจากการ วิเคราะห์ AMOVA พบว่าประชากรปลากระพง-ขาวมีความหลากหลายภายในประชากรเท่ากับ 10.244 และความหลากหลายระหว่างประชากรเท่ากับ 6.856 ระยะห่างระหว่างประชากรอยู่ในช่วง 0.060 – 0.096 โดยประชากรจากประเทศอินโดนีเซียกับ ประเทศไทยมีระยะห่างมากที่สุด (0.096) ส่วนประชากรจากป ระเทศไต้หวันกับประเทศไทยมีระยะห่างน้อยที่สุด (0.060) จากผลการ ศึกษาแสดงให้เห็นว่าเทคนิค เอเอฟแอลพีมีประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากระพงขาวที่มาจากแหล่งที่แตกต่างกัน และสามารถแยกประชากรออกจากแหล่งต่างๆ ได้อย่างชัดเจน

อรรถอินทรีย์, แหลมคม, จูทาเกต และ จันทร์ดำ (Arthainsee, Leamkom, Jutagate and Chundum. 2010 : 761 – 766) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลา หมู (*Yasuhikotakia*) จำนวน 5 ชนิด คือ *Yasuhikotakia sidthimunki*, *Y. nigrolineata*, *Y. morleti*, *Y. modesta* และ *Y. lecontei* โดยใช้เอเอฟแอลพี 4 คู่ไพรเมอร์ ได้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 228 แถบ แถบดีเอ็นเอที่ต่างกันเท่ากับ 74.79 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี เท่ากับ 0.19 ระยะห่างระหว่างประชากรอยู่ในช่วง 0.0409 – 0.4378 เมื่อนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA สามารถแบ่งประชากรปลาหมูออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกประกอบด้วย *Y. sidthimunki* และ*Y. Nigrolineata* กลุ่มที่สองประกอบด้วย *Y. morleti, Y. modesta* และ *Y. lecontei*

จากผล การศึกษาดังกล่าวจะบอกถึงความหลากหลายของ ดีเอ็นเอที่มีโพลีมอร์ฟิซึม สามารถทำซ้ำได้ผลคงเดิม และสามารถเลือกคู่ผสมของไพรเมอร์ได้หลายแบบ ทำให้เกิดลายพิมพ์ที่แตกต่างกันจำนวนมาก จึงสามารถใช้บอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวอย่างได้ดี แต่มีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง วิธีการใช้ค่อนข้างซับซ้อนเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอาร์เอพีดี แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่แสดงการข่มแบบ Dominance ซึ่งทำให้วิเคราะห์ผลได้ยาก (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 : 103 - 111)

เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบจำเพาะ ตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละ 1 ตำแหน่ง ศรีจรรยา สุขมโนมนต์ (2546 : 1 - 104) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในปลาดุกอุยจากจังหวัดนครสวรรค์ สุโขทัย พิษณุโลก (อำเภอบางระกำกับอำเภอโบสถ์) และจังหวัดอุตรดิตถ์ โดยใช้ ไมโครแซทเทลไลท์ 5 คู่ไพรเมอร์ ปรากฏว่าจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งมีค่าระหว่าง 8.4 – 13.6 ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง มีค่าระหว่าง 6.0 และ 8.5 ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.64 – 0.76 พบว่าทุกประชากรในปลาดุกอุยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ความแตกต่างระหว่างประชากรอยู่ในระดับปานกลาง สามารถแบ่งประชากรปลาดุกอุยได้ 2 กลุ่ม คือกลุ่มประชากร จากจังหวัดสุโขทัย พิษณุโลก (อำเภอบางระกำ) และจังหวัดนครสวรรค์ และอีกกลุ่มคือประชากรจากจังหวัดพิษณุโลก (อำเภอวัดโบสถ์) และจังหวัดอุตรดิตถ์

ทักขิณา เหมยคำ และ อุทัยรัตน์ ณ นคร (2550 : 63 - 69) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) จากโรงเพาะฟักที่เลี้ยงในประเทศไทย จำนวน 5 แหล่ง และประชากรจากธรรมชาติ 3 แหล่ง โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ จำนวน 5 ตำแหน่ง พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรโรงเพาะฟัก (Allelic Richness = 6.28 ± 1.13, H_o = 0.67 ± 0.07, H_e= 0.77 ± 0.04) มีค่าไม่แตกต่างจากประชากรจากธรรมชาติ (Allelic Richness = 5.27 ± 0.61, H_o = 0.71 ± 0.09, H_e= 0.74 ± 0.02) เมื่อนำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมไปจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ตามวิธี Neighbor Joining พบว่าประชากรโรงเพาะฟักแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ และแยกออกจากประชากรธรรมชาติอย่างชัดเจน โดยมีความคล้ายคลึงกับประชากรจากแม่น้ำเจ้าพระยามากกว่าแม่น้ำโขง จากผลการศึกษาแสดงว่าประชากรปลาสวายในโรงเพาะฟักยังมีความหลากหลายในระดับสูง และมีความแตกต่างระหว่างประชากรมากพอที่จะใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืน

ณ นคร, ทานิคูชิ, นูโครโฮ, เสกิ และ กมลรัตน์ (Na-Nakron, Taniguchi, Nugroho, Seki and Kamorat. 1999 : 520 – 526) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์ 4 คู่ไพรเมอร์ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) 4 แหล่งประชากรจากธรรมชาติในประเทศไทย ได้แก่จังหวัดปัตตานี พัทลุง เชียงราย และปราณจีนบุรี พบว่าไพรเมอร์ Cma-1 ให้แถบดีเอ็นเอที่เป็นโมโนมอร์ฟิก ส่วนไพรเมอร์ Cma-2, Cma-3 และ Cma-4 ให้แถบดีเอ็นเอที่เป็น โพลีมอร์ฟิก ได้จำนวนอัลลีลต่อโลกัสเท่ากับ 5, 14 และ 30 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยอัลลีลต่อโลกัสในประชากรจังหวัดปัตตานี พัทลุง เชียงรายและปราณจีนบุรี มีค่าเท่ากับ 8.0, 8.7, 6.0 และ 10.0 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีเท่ากับ 0.744, 0.765, 0.718 และ 0.810 ตามลำดับ ระยะห่างระหว่างพันธุกรรมแสดงให้เห็นว่าประชากรจากปัตตานีกับ ปราณจีนบุรีมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (0.230) ส่วน

ประชากรจากพัทลุงกับ เชียงรายมีความสัมพันธ์ที่ห่างกัน (0.535) จากค่าของระยะห่างระหว่างพันธุกรรมในการศึกษานี้แสดงว่าระยะห่างทางพันธุกรรมไม่สอดคล้องกับลักษณะทางภูมิศาสตร์

การศึกษาลักษณะสัณฐานและความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลา Catfish

การตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตจากลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียวอาจผิดพลาดได้หากสิ่งมีชีวิตนั้นมีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกันมาก ดังนั้น การตรวจสอบความแตกต่างลักษณะทางสัณฐานควบคู่กับการใช้เครื่องหมายทางโมเลกุลในการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมทำให้เกิดความน่านับถือมากยิ่งขึ้น

สัมพันธ์ จันทร์ดำ (2545 : 1 - 49) ศึกษาความผันแปรของลักษณะภายนอกและความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกลำพัน จำนวน 5 ประชากร ในภาคใต้ของประเทศไทย คือ 1. ประชากรจากพรุควนเคร็ง อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง 2.ประชากรพรุฉวาง อำเภอฉวาง จังหวัดนครศรีธรรมราช 3.ประชากรพรุลาว อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 4.ประชากรพรุบาเจาะ อำเภอบาเจาะ จังหวัดนราธิวาส และ 5.ประชากรพรุโต๊ะแดง อำเภอสุไหงโกลก จังหวัดนราธิวาส โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ ผลการศึกษาความผันแปรของลักษณะภายนอก พบว่าปลาดุกลำพันบางประชากรมีลักษณะภายนอก คือ ค่าสัดส่วนของลำตัว จำนวนข้อของกระดูกสันหลัง และจำนวนครีบก้น แตกต่างจากประชากรอื่นๆ จากข้อมูลลักษณะภายนอกสามารถแบ่งประชากรปลาดุกลำพันออกเป็น 3 กลุ่มคือ 1.ประชากรพรุควนเคร็ง -พรุโต๊ะแดง 2.ประชากรพรุโต๊ะแดง -พรุลาว และ 3. ประชากรพรุฉวาง ซึ่งมีความแตกต่างจากประชากรอื่นๆ มากที่สุด และจากผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคไอโซไซม์ โดยศึกษาเอนไซม์/โปรตีน 13 ตำแหน่ง เป็นยีนที่ควบคุม 20 ตำแหน่ง พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรม ภายในประชากร มีค่าเฉลี่ยอัลลีลต่อโลกัส เท่ากับ 1.4 ± 0.1 เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกเฉลี่ย 22.0 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างระหว่างประชากรในระดับสูง ระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าเฉลี่ย 0.08 เมื่อนำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมไปจัดแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ ตามวิธี UPGMA พบว่าประชากรพรุโต๊ะแดง และพรุควนเคร็งมีพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันมากที่สุด ประชากรจากพรุฉวางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากประชากรอื่นๆ มากที่สุด

โงงัน, ทูวเจลส์, กูโยมาดร์, จาลบูเสรา, แอนดริมาง, โวลคาเอด และแอนเนส (Rognon, Teugels, Guyomard, Galbusera, Andrimang, Volckaerd and Agnese. 1998 : 192 - 207) ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความแปรผันทางพันธุกรรมของปลา *Clarias gariepinus* และ *Clarais anguillaris* โดยเทคนิคอัลโลไซม์ ผลการศึกษาพบ ว่า จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐาน

วิทยาของปลา *C. gariepinus* และ *C. anguillaris* จากแหล่งธรรมชาติ โดยรวบรวมประชากรปลา *C. gariepinus* และประชากรปลา *C. anguillaris* จำนวน 9 และ 7 ตัว ตามลำดับ วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 13 ลักษณะ สามารถแยกประชากรออกเป็นสองประชากรอ ย่างชัดเจน และจากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปลาสองชนิด โดยมีปลา *Clarias albopunctatus* และ *Heterobranchus longilis* เป็น Outgroup โดยวิธีอัลโลไซม์ 23 ตำแหน่ง เป็นยีนที่ควบคุมในประชากรปลา *C. gariepinus* จำนวน 18 ตำแหน่ง *C. anguillaris* จำนวน 16 ตำแหน่ง *C. albopunctatus* และ *H. longilis* จำนวน 4 ตำแหน่ง เปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกของประชากรปลา *C. gariepinus, C. anguillaris, C. albopunctatus* และ *H. longilis* มีค่าเท่ากับ 12 - 48 เปอร์เซ็นต์, 16 - 28 เปอร์เซ็นต์, 12 เปอร์เซ็นต์ และ 8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับความหลากหลายภายในประชากรปลา *C. gariepinus, C. anguillaris* มีค่าเท่ากับ 11.2 เปอร์เซ็นต์ และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างปลา 2 ชนิด เท่ากับ 0.207 ± 0.081 และระยะห่างภายในประชากร ปลา *C. gariepinus* และ *C. anguillaris* มีค่าเท่ากับ 0.147 ± 0.075 และ 0.022 ± 0.012 ตามลำดับ ระยะห่างระหว่าง *C. albopunctatus* กับประชากรอีก 3 ชนิดมีค่า 0.713 ± 1.232 เมื่อนำระยะห่างทางพันธุกรรมไปจัดกลุ่มความสัมพันธ์ตามวิธี UPGMA พบว่า *C. albopunctatus* แยกกลุ่มจาก *C. gariepinus* และ *C. anguillaris* มากกว่า *H. longilis*

คาร์ง และคณะ (Garg, *et al*. 2010 : 749 - 753) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความหลากหลายพันธุกรรมของปลาดุกด้านจำนวน 9 ประชากร (UL-1B, UL-2A, UL-3A, LL-2A, LL-2B, SL-1A, SL-2B และ SL-3A) จากลุ่มแม่น้ำ Upper Lake, Lower Lake และShahpura ในรัฐ Bhopal ประเทศอินเดีย โดยใช้เ ทคนิคอาร์เอพีดี ผลการศึกษาลั กษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลา ดุกด้านทั้งสามแหล่งมีความสำคัญต่อ การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรม และจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยวิเคราะห์อาร์เอพีดี 5 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดระหว่าง 172 – 1677 คู่เบส จำนวน 72 แถบ พบแถบที่ต่างกัน 68 แถบ เปอร์เซ็นต์โพลี มอร์ฟิกเท่ากับ 86.66 เปอร์เซ็นต์ แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA แสดงประชากรปลาดุกด้านทั้งหมด แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกประชากรจาก กลุ่ม A ได้แก่ SL-3A, SL-1A, LL-2B, UL-1B (Shahpura Lake, Lower Lake, Upper Lake) กับกลุ่ม B ได้แก่ LL-1A, LL-2A, UL-3A, UL-2A (Lower Lake, Upper Lake) กลุ่มที่ 2 คือ SL-2B (Shahpura Lake) (D = 0.413)