

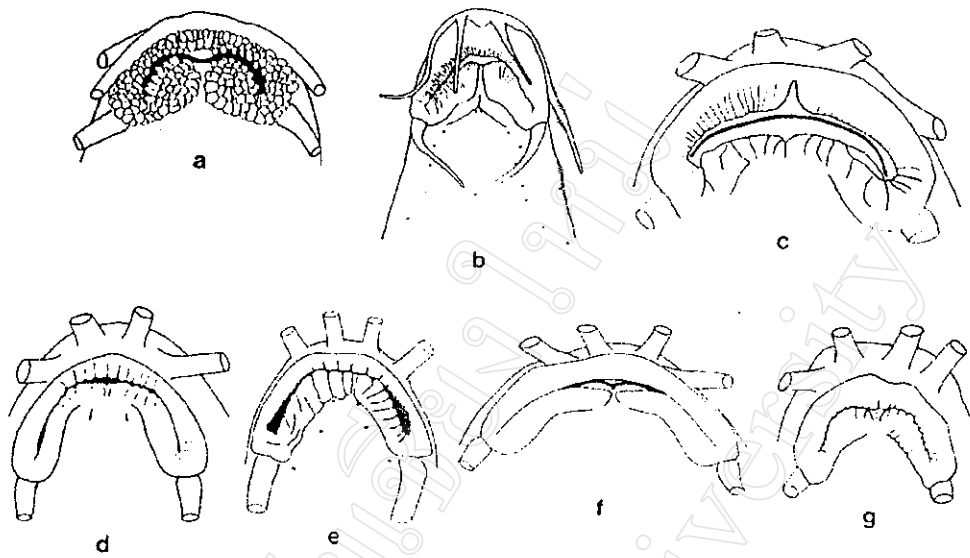
บทที่ 2

บททวนเอกสาร

การจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธานของปลาคือสกุล *Schistura*

ปลาคือสกุล *Schistura* ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Balitoridae อยู่ในวงศ์ย่อย (subfamily) Nemacheilinae มีหัวค่อนข้างกลม ลำตัวเรียวยาว ด้านท้ายของลำตัวแบนข้าง มีเกล็ดแบบ cycloid ซึ่งมีขนาดเล็กมาก มีเกล็ดที่บริเวณ ลำตัว ที่ขากรรไกรและบนเพดานปากไม่มีฟัน มีช่องเปิดเหงือกขนาดเล็กอยู่ทางด้านบนของครีบทู หรือมีขนาดปานกลางแผ่ออกทางแนวระนาบเล็กน้อย ครีบทูและครีบท้องอยู่ในแนวระนาบมีก้านครีบเดี่ยวเพียงก้านเดียว ที่คอคหางมี adipose-like fin อยู่ในบางชนิด มีกระดูก prepalatine ไม่มีหนาม (spines) ใต้ตา มีหนวด 3 คู่อยู่ใกล้ปาก ที่ตำแหน่ง rostral 2 คู่ และมีที่ตำแหน่ง maxillary 1 คู่ มีปากอยู่ค่อนข้างทางด้านล่าง เป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็ก อาศัยอยู่ในบริเวณน้ำไหลค่อนข้างแรง เป็นสัตว์ที่เป็นสาขาย่อยของลำน้ำขนาดใหญ่ สามารถพบได้ในบริเวณที่เป็นแหล่งน้ำที่ไม่มีปลาชนิดอื่นอาศัยอยู่เลย เช่น ต้นน้ำของน้ำแม่ คงซึ่งเป็นต้นน้ำของน้ำแม่ปิง จะพบเฉพาะปลากลุ่มนี้เท่านั้น อุณหภูมิของน้ำค่อนข้างต่ำอันเนื่องมาจากเป็นพื้นที่ที่อยู่สูงกว่าระดับน้ำทะเลมาก พื้นที่ของน้ำมีลักษณะเป็นกรวด หินทรายหรือหิน พบในประเทศพม่า ไทย ลาว กัมพูชา ทางตอนใต้ของเวียดนาม ทางตะวันตกของมาเลเซีย และในอินเดียบ้างเล็กน้อย พบว่ามีอยู่บางชนิดที่อาศัยอยู่ในถ้ำ เช่น *Schistura jarutanini*, *S. oedipus* และ *S. troglotactaractus*

ลักษณะเด่นของปลาในสกุล *Schistura* คือ ปากค่อนข้างโค้ง มีความกว้างมากกว่าความยาวประมาณ 2.0-3.5 เท่า ริมฝีปากล่างมีร่องแยก (รูป 1) รูปแบบของสีในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ปกติมักเป็นสีดำ และมักจะมีแถบดำที่คอคหาง ฐานครีบหลังมักจะมีจุด 1-2 จุด ปกติครีบหางเป็นแบบ emarginated แต่ในบางชนิดอาจจะเป็น forked (Kottelat, 1990) มีเกล็ดขนาดเล็ก ตำแหน่งของรูทวารอยู่ใกล้ครีบก้นมากกว่าครีบท้อง (Rainboth, 1996)



รูป 1 ลักษณะปากของปลาในกลุ่ม nemacheiline a) *Acanthocobitis*, b) *Neonemacheilus*, c) *Sectoria*, d) *Nemacheilus binotatus*, e) *Nemacheilus selangoricus*, f) *Schistura*, g) *Physoschistura* (ที่มา: Kottelat, 1990)

การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

Order

Cypriniformes

Superfamily

Cobitoidea

Family

Balitoridae

Subfamily

Nemacheilinae

Genus

Aborichthys Chaudhuri, 1913

Acanthocobitis Peters, 1861

Nemacheilus Bleeker, 1863

Neonemacheilus Zhu & Guo, 1985

Physoschistura Banareescu & Nalbant, 1982

Schistura McClelland, 1838

Sectoria Kottelat, 1990

Tuberoschistura Kottelat, 1990

Yunnanilus Nichols, 1925

คัดแปลงจาก Kottelat (1990) และ Nelson (1994)

ปลาซีกสกล *Schistura* เป็นปลาที่ได้มีการจัดจำแนกถึงระดับ ชนิด (species) ไว้เป็นจำนวนมาก มีรายงานว่าในประเทศไทยมีปลาซีกสกลนี้อยู่ทั้งหมด 29 ชนิด และอีก 2 ชนิดยังไม่ได้มีการจัดจำแนก (ชวลิต และคณะ, 2540) อย่างไรก็ตามปลาซีกสกลในสกุลนี้หลายชนิดที่ยังไม่สามารถจัดจำแนกได้อย่างชัดเจน และปลาซีกสกลนี้มีความแปรปรวนของสีบนลำตัวค่อนข้างมาก

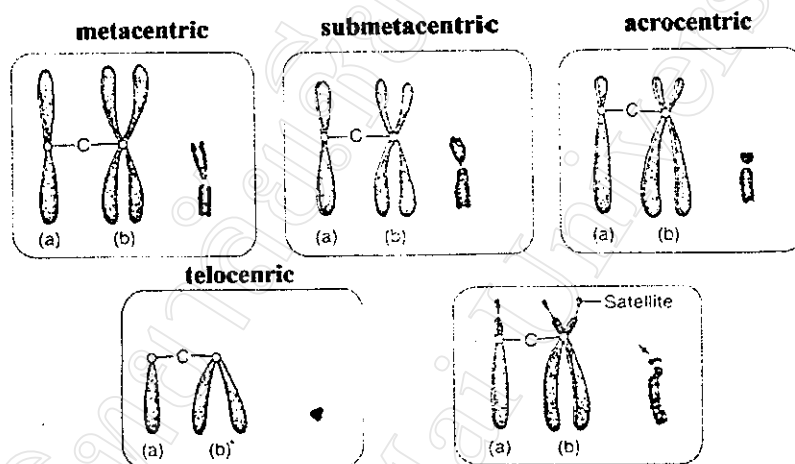
การศึกษาทางอนุกรมวิธานของปลาซีกสกลที่ผ่านมามีส่วนใหญ่มักจะใช้วิธีการพิจารณาจากรูปร่าง และลักษณะสีสันภายนอกของปลา ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันมานานมาแล้วและในบางครั้งอาจเกิดการผิดพลาดขึ้นได้ โดยเฉพาะเรื่องสีซึ่งมีความผันแปรได้ง่าย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาวิธีอื่นๆ ที่จะนำมาช่วยในการจัดจำแนกให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

การศึกษาคาริโอไทป์ (Karyotype)

คาริโอไทป์เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของโครโมโซมในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด โดยศึกษาจำนวน และขนาดของโครโมโซมในระยะ metaphase การศึกษาด้านโครโมโซมเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยให้งานด้านอนุกรมวิธานสมบูรณ์ยิ่งขึ้นเนื่องจากลักษณะดังกล่าวเป็นข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น การกินอาหาร แหล่งที่อยู่อาศัย เป็นต้น จะมีอิทธิพลต่อคาริโอไทป์น้อยมาก นอกจากนี้คาริโอไทป์ยังเป็นลักษณะเฉพาะและคงที่สำหรับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด จากสาเหตุดังกล่าวการศึกษาคาริโอไทป์ของปลาซีกสกลน่าจะนำมาใช้ประกอบการจัดจำแนกชนิดของปลาซีกสกลได้ และข้อมูลที่ได้อีกยังให้ความกระจ่างชัดเกี่ยวกับระดับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในระดับที่ใกล้ชิดกันหรือห่างกัน และความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันแต่มีแหล่งที่อยู่อาศัยตามสภาพภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันได้ (White, 1973)

การจัดทำคาริโอไทป์ หมายถึง การนำเอาโครโมโซมแต่ละอันจากเซลล์ในระยะ metaphase (โดยอาศัยจากเซลล์ใดเซลล์หนึ่งเท่านั้น) มาเรียงเป็นคู่ homologous เรียงตามลำดับจากใหญ่จนถึงเล็ก การวางโครโมโซมวางโดยให้แขนข้างสั้นตั้งขึ้นและนิยมนำโครโมโซมเพศอยู่ที่มุมล่างขวาสุดของภาพ โครโมโซมที่พบโดยทั่วไปจะมีอยู่ 4 แบบ คือ metacentric (m) เป็นโครโมโซมที่มีแขนทั้งสองข้างยาวเท่ากัน submetacentric (sm) เป็นโครโมโซมที่มีแขนทั้งสองข้างไม่เท่ากัน acrocentric (a) มี centromere อยู่ค่อนข้างปลายของโครโมโซม และ telocentric (t) มีแขนเพียงข้างเดียวทั้งนี้ เพราะมี centromere อยู่ตรงปลายของโครโมโซม นอกจากนี้ยังอาจจะพบตำแหน่งรอยคอดทุติยภูมิ (secondary constriction) บนแท่งโครโมโซมในตำแหน่งที่คงที่ ในโครโมโซมบางแท่งตำแหน่งของรอยคอดทุติยภูมิอยู่ค่อนข้างปลายด้านใดด้านหนึ่งของแท่ง ทำให้ปรากฏเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นดั่งรูปร่างกลมหรือรีขึ้นอยู่ที่ปลายแท่งโครโมโซม เรียกว่า satellite (รูป 2) นอกจากนั้นยังมีการหาค่า fundamental number (FN หรือ NF) ซึ่งเป็นตัวเลขที่เกิดจากผลรวมของแขนของ

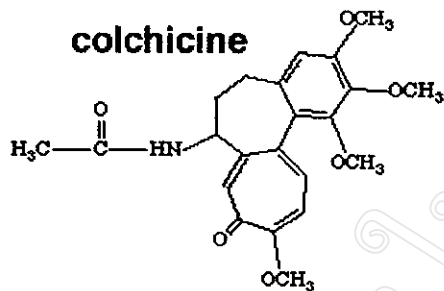
โครโมโซมทุกอันใน 1 เซลล์ คำนี้นิยมที่จะหาไว้เป็นคุณสมบัติประจำของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด การทำคาร์ิโอไทป์ต้องมีการย้อมสีโครโมโซมโดยใช้สีย้อมติดกรดนิวคลีอิก เช่น สี orcein, carmine และ Giemsa จะทำให้โครโมโซมติดสีเข้มตลอดแท่ง การย้อมเช่นนี้สามารถบอกจำนวนและชนิดของโครโมโซมประจำสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นได้ (อมรธา, 2536)



รูป 2 ลักษณะรูปร่างของโครโมโซมแบบต่างๆ ตามตำแหน่งของ centromere

a) chromatid, b) chromosome c) centromere (ที่มา: วิสุทธิ, 2533)

การศึกษาคาร์ิโอไทป์จำเป็นต้องใช้สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของสปินเดิลไฟเบอร์ (spindle fiber) ที่ประกอบด้วยไมโครทิวบูล (microtubule) ทำให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวอยู่ในระยะ metaphase ซึ่งสารที่ใช้กันมีหลายชนิดได้แก่ โคลซิมีด (colcimide) โคลชิซิน (colchicine) เป็นต้น โดยสารที่เลือกใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ โคลชิซินซึ่งเป็นสารประกอบ alkaloid (รูป 3) ที่สกัดจากพืชสกุล *Colchicum* ซึ่งโคลชิซินทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์ โดยยับยั้งการสร้าง spindle fiber ซึ่งทำหน้าที่ดึงโครโมโซมไปยังขั้วของเซลล์ ดังนั้นโครโมโซมจึงไม่ถูกดึงไปที่ขั้วทั้งสองของเซลล์ ทำให้โครโมโซมหยุดอยู่ที่ระยะ metaphase ซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมมีการขดตัวสั้นที่สุด (จัตนาริ, 2539; นิตยศรี, 2541)



รูป 3 สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน (ที่มา: Geocities, Nodate)

ประมาณปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา การย้อมสีแท่งโครโมโซมได้มีการพัฒนาอย่างมาก มีการค้นพบวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบใหม่ๆ ซึ่งวิธีการเหล่านี้ทำให้เกิดแถบตามขวางของแท่งโครโมโซม เรียกว่า แถบโครโมโซม โครโมโซมแต่ละแท่งมีจำนวนแถบและแบบอย่างของแถบที่เป็นลักษณะเฉพาะของโครโมโซมนั้นๆ และแถบดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะนำโครโมโซมนั้นๆ มาจากเซลล์ชนิดใด (สุมิตรา, 2537)

การย้อม Q-banding เป็นวิธีการย้อมแถบโครโมโซมวิธีแรกที่นับเป็นจุดเริ่มต้นของวิธีการย้อมแถบโครโมโซมค้นพบโดยนักเซลล์พันธุศาสตร์ชื่อ Caspersson โดยการนำโครโมโซมที่ถูกรักษาให้คงสภาพแล้วมาย้อมด้วยสียฟลูออโรโครม (fluorochrome) สียฟลูออโรโครมเป็นสีที่มีการเรืองแสง (fluorescence) เมื่อกระทบกับรังสีอัลตราไวโอเลต สีที่นิยมใช้ในการย้อม Q-banding คือ ควินาคริน (quinacrine) นอกจากนี้สามารถใช้ฟลูออโรโครมอื่นๆ เช่น quinacrine mustard, 33258 Hoechst ได้เช่นกัน เมื่อนำโครโมโซมดังกล่าวมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent microscope) บริเวณที่ติดสียฟลูออโรโครมจะปรากฏแถบขาวแสงตามขวางของแท่งโครโมโซม การติดสีบนแท่งของโครโมโซมจะขึ้นกับความแตกต่างของปริมาณของคู่เบส ได้แก่ A-T และ C-G ของ DNA ส่วนที่มี A-T มากจะติดสีเข้มกว่าส่วนที่มี C-G มาก นอกจากนี้ยังอาจขึ้นกับการเรียงตัวของเบส และปริมาณของโปรตีนที่โครโมโซมส่วนนั้นๆ ด้วย เรียกแถบโครโมโซมนี้ว่า แถบคิว (Q-banding หรือ Quinacrine bands) (วิสุทธิ, 2533; สุมิตรา, 2537; อมรา, 2540)

การย้อม G-banding (Giemsa bands) การย้อมวิธีนี้จะย้อมโครโมโซมด้วยเอ็นไซม์ย่อยโปรตีนคือ Trypsin โดยอาศัยหลักการที่ส่วนต่างๆ ของโครโมโซมแต่ละแท่งมีการจัดตัวของโครมาติน (chromatin) แตกต่างกัน บริเวณที่มีโครมาตินจับตัวกันหนาแน่นบริเวณนั้นโปรตีนจะถูกย่อยออกน้อย เมื่อย้อมด้วยสี Giemsa บริเวณนั้นจะติดสีเข้ม ส่วนของโครโมโซมที่โครมาตินจับตัวกันไม่หนาแน่นบริเวณนั้นโปรตีนจะถูกย่อยออกไปมาก เมื่อย้อมด้วยสี Giemsa จะติดสีจาง เกิดเป็น

band ซึ่งมีลักษณะเฉพาะบนโครโมโซมแต่ละคู่ที่เป็น homologous chromosome กัน (วิสุทธิ์, 2533)

การย้อม C-banding (Constitutive heterochromatin bands) การย้อมวิธีนี้จะทำให้เกิด denature DNA ของบริเวณที่ไม่ใช่ C-banding ด้วยกรด (HCl) และด่าง (NaOH หรือ $\text{Ba}[\text{OH}]_2$) นอกจากนี้การนำไป incubate ใน Saline Sodium Citrate (SSC) ก็ทำให้เกิดการทำลาย DNA เป็นชิ้นเล็กๆ และหลุดลงไปในสารละลาย ส่วนกลไกที่ช่วยไม่ให้ส่วน C-band ถูก denature ไปด้วยนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าบริเวณนี้มี nonhistone protein จับกับ satellite DNAs อยู่ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการต้านทานต่อกรดและด่างที่ใช้ในกระบวนการย้อม C-banding (วัชรวิ, 2541) จากนั้นย้อมด้วยสี Giemsa ซึ่งสีชนิดนี้จะย้อมติดกรดนิวคลีอิก และพบว่าโครโมโซมมนุษย์ตำแหน่ง centromere ของ autosome และแขนข้างยาวของโครโมโซม Y ทั้งหมดติดสีน้ำเงินเข้ม (อมรา, 2536)

นอกจากนี้ยังมีเทคนิคการศึกษาโครโมโซมโดยใช้สีที่ต่างไปจากสี Giemsa เช่น เทคนิค NOR banding (Silver-staining for Nucleolus Organizer Region) จะย้อมติดบริเวณ Nucleolus Organizer Region (NOR) ซึ่งจะอยู่บริเวณใกล้ satellite เทคนิคนี้จะใช้สารละลาย silver nitrate เป็นสารย้อมโครโมโซม แถบที่ปรากฏเรียก NOR-band เรียกเทคนิคนี้ว่า silver (NOR) staining พบว่าโครโมโซมที่มี satellite (ปลายตั้ง โครโมโซมที่พบปลายแขนข้างสั้น) จะเป็นโครโมโซมที่มีตำแหน่งของ ribosomal gene (rDNA) ปรากฏอยู่ โดยที่ rDNA จะอยู่บริเวณใกล้ satellite ซึ่งเป็นตำแหน่งของ nucleolus organizer region (NOR) (อมรา, 2536; อมรา, 2540)

การศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาทำกันอย่างกว้างขวางในปลากว่า 2000 ชนิด พบว่าจำนวนโครโมโซมของปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในช่วงกว้าง โดยมีจำนวนโครโมโซมต่ำที่สุดเท่ากับ 12 แท่ง ในปลา *Gonostoma bathyphilum* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Gonostomatidae และปลาที่มีจำนวนโครโมโซมมากที่สุดเท่ากับ 250 แท่ง ซึ่งพบในวงศ์ของปลาสเตอร์เจียน (family Acipenseridae) จำนวนโครโมโซมของคันตระกูลปลาปัจจุบันเท่ากับ 48-52 (Ohno, 1970 อ้างตาม อุทัยรัตน์, 2538) สำหรับปลาพื้นเมืองของไทยนั้นมีการศึกษาคาร์ิโอไทป์ไว้อย่างน้อย 34 ชนิด (9วงศ์) (อุทัยรัตน์, 2538)

การศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลานั้นได้มีการศึกษาทั้งในปลาทะเล และปลาน้ำจืด Ida *et al.* (1986) ได้ทำการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาฉลาม 2 ชนิดคือ *Chlamydoselachus anguineus* มีจำนวนโครโมโซม $2n=100$ คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วย metacentric หรือ submetacentric chromosome 6 คู่ (ขนาด 3-8 μm) และ acrocentric chromosome 44 คู่ (ขนาด 1-7 μm) ส่วน *Heterodontus japonicus* มีจำนวนโครโมโซม $2n=102$ คาร์ิโอไทป์ประกอบด้วย metacentric หรือ submetacentric chromosome 5 คู่ (ขนาด 4-10 μm) และ acrocentric chromosome 46 คู่ (ขนาด 1-8 μm)

การศึกษาคาริโอไทป์ในปลาน้ำจืดมีการศึกษากันไว้มาก่อนข้างมาก ได้แก่ ปลาอันดับ Perciformes วงศ์ Channidae ปลาในวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมส่วนมากอยู่ในช่วง $2n=32$ ถึง $2n=44$ และมีบางชนิดมีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง $2n=78$ ถึง $2n=112$ ลักษณะคาริโอไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมแบบ metacentric, submetacentric และ telocentric ซึ่งโครโมโซมแบบ telocentric จะพบมากที่สุด และ NF มีค่าอยู่ในช่วง 46 ถึง 116 (ธวัช และวิเชียร, 2534; Banerjee *et al.*, 1988)

ปลาอันดับ Beloniformes ในวงศ์ Oryziidae ที่มีการศึกษาคาริโอไทป์แล้วมีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง $2n=36$ ถึง $2n=48$ และ NF มีค่าอยู่ในช่วง 48 ถึง 96 (Uwa, 1986)

ปลาอันดับ Cypriniformes ในวงศ์ Siluridae ที่มีการศึกษาคาริโอไทป์แล้วมีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง $2n=40$ ถึง $2n=92$ ลักษณะคาริโอไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมแบบ metacentric, submetacentric, acrocentric และ telocentric และ NF มีค่าอยู่ในช่วง 86 ถึง 106 (ธวัช, 2534; Nayyar, 1966)

ปลาในวงศ์ Cyprinidae เป็นปลาที่มีการศึกษาไว้มาก่อนข้างมากเพราะปลาในวงศ์นี้มีจำนวนมาก คาริโอไทป์ของปลาในวงศ์นี้มีโครโมโซมอยู่ในช่วง $2n=50$ ถึง $2n=166$ ซึ่งปลาในวงศ์นี้ที่มีการศึกษาคาริโอไทป์ไว้นั้นส่วนมากจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=50$ ลักษณะคาริโอไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมแบบ metacentric, submetacentric, acrocentric และ telocentric และ NF มีค่าอยู่ในช่วง 76 ถึง 238 (Magtoon and Arai, 1990; Magtoon and Arai, 1994; Minrong *et al.*, 1996)

ปลาในวงศ์ Cobitidae ที่มีการศึกษาได้แก่ปลา *Botia dario* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=98$ โครโมโซมมีขนาด $0.66-2.17 \mu m$ คาริโอไทป์ประกอบด้วย $16m+3sm+30t$ และสำหรับการศึกษาคาริโอไทป์ของปลาในวงศ์ Balitoridae (เดิมถูกจัดอยู่ในวงศ์ Cobitidae) มีการศึกษาในปลาชื่อสกุล *Nemacheilus* 2 ชนิดในอินเดีย พบว่า *N. aureus* มีจำนวนโครโมโซม $2n=50$ ซึ่งโครโมโซมมีขนาดอยู่ระหว่าง $0.62-2.19 \mu m$ คาริโอไทป์ประกอบด้วย $14m+2sm+9t$ คู่ และ $NF=82$ และ *N. savona* มีจำนวนโครโมโซม $2n=36$ ซึ่งโครโมโซมมีขนาดอยู่ระหว่าง $0.8-3.26 \mu m$ ในปลาเพศผู้ และ $0.7-2.56 \mu m$ ในปลาเพศเมีย คาริโอไทป์ประกอบด้วย $10m+3sm+1a+4t$ คู่ และ $NF=64$ (Khuda-Bukhsh *et al.*, 1986) ต่อมา Collares-Pereira *et al.* (1995) ศึกษา *N. barbatulus* รายงานว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=50$ แต่ไม่ได้กล่าวไว้ว่ามีคาริโอไทป์แบบใด

สำหรับการศึกษาโครโมโซมของปลาโดยการย้อมแถบสีนั้น วิธีที่นิยมใช้กันมากคือการย้อม nucleolus organizer region (NOR) ที่ย้อมด้วย silver nitrate ซึ่งสีย้อมจะติดโครโมโซมตรงบริเวณ 18S และ 28S ribosomal RNA (Klinkhardt, 1998) ซึ่งมีการศึกษาในปลาแล้วไม่น้อยกว่า 200 ชนิด (Gold *et al.*, 1990) Uwa and Ojima (1981) ได้ศึกษา NOR band ในปลา *Oryzias latipes* พบว่ามี

โครโมโซมขนาดเล็กแบบ submetacentric 1 คู่ มี NOR band อยู่ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่นั้น หลังจากนั้น Takai and Ojima (1986) ได้ศึกษาปลาประมาณ 40 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยปลาในวงศ์ Cyprinidae, Pomacentridae และปลากลุ่มอื่นๆ ศึกษาโดยใช้ silver staining technique ทำให้ทราบว่าปลาส่วนมากมี NOR band ขนาดเล็กจำนวน 1 คู่ แต่ในกลุ่มปลาตะเพียนหลายชนิดจะมี NOR band มากกว่า 1 คู่ ซึ่งจะพบอยู่ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซม และกลุ่มปลาตะเพียนบางชนิดก็มี NOR band ขนาดใหญ่ จำนวนของ NOR band และตำแหน่งของ NOR band ที่ปรากฏจะบอกให้ทราบถึงความแตกต่างของปลาแต่ละชนิด ในปีเดียวกัน Magtoon (1986) ศึกษาปลาชีวข้าวสารแคะ (*Oryzias minutillus*) ซึ่งตัวอย่างมาจากกรุงเทพฯ และเชียงใหม่ และ *Oryzias* sp. พบว่าปลาทั้ง 3 ชนิดมี NOR band จำนวน 1 คู่ คือปลาชีวข้าวสารแคะจากกรุงเทพฯ มีจำนวนโครโมโซม $2n=34$ พบ NOR band ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมแบบ submetacentric และปลาชีวข้าวสารแคะจากเชียงใหม่มีจำนวนโครโมโซม $2n=30$ พบ NOR band ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมแบบ submetacentric เช่นเดียวกัน ส่วน *Oryzias* sp. มีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ พบ NOR band ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมแบบ acrocentric นอกจากนี้ Uwa (1986) ได้ศึกษาปลาชีวข้าวสารน้ำกร่อย (*O. melastigma*) และปลาชีวข้าวสารขาว (*O. javanicus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ เหมือนกัน และพบ NOR band ที่โครโมโซมแบบ acrocentric จำนวน 1 คู่ เช่นเดียวกันทั้ง 2 ชนิด และในปีเดียวกัน Uwa and Magtoon (1986) ศึกษา NOR band ในปลา *O. curvinotus* พบ NOR band 1 คู่ ที่โครโมโซมแบบ acrocentric และในปลา *O. luzonensis* มี NOR band 1 คู่ ซึ่งจะพบในโครโมโซมแบบ submetacentric ต่อมา Garcia *et al.* (1995) ศึกษาปลา *Cynolebias adloffi* พบ NOR band 1 คู่ ที่ตำแหน่ง terminal ของโครโมโซมคู่ที่ 6 ปลา *C. affinis* พบ NOR band 2 คู่ โดย NOR band คู่แรกพบที่ตำแหน่ง terminal ของโครโมโซมคู่ที่ 3 ที่เหลือพบที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 7 ซึ่งตำแหน่งดังกล่าวพบ C-heterochromatic เช่นเดียวกับการย้อมสีแบบ C-banding ปลา *C. duraznensis* พบ NOR band 3 จุด ซึ่ง พบที่โครโมโซมคู่ที่ 7 บริเวณ terminal จำนวน NOR band 1 จุด และพบที่โครโมโซมคู่ที่ 10 จำนวน NOR band 2 จุด และปลา *C. gymnoventris* พบ NOR band ที่โครโมโซมคู่ที่ 11 บนแขนข้างสั้นของโครโมโซม นอกจากนี้ Jankun *et al.* (1998) ได้ศึกษาปลา northern pike (*Esox lucius*) พบ NOR band บริเวณใกล้กับตำแหน่งของ centromere ของโครโมโซมคู่ที่ 11 ซึ่งทราบได้จากการย้อมสีแบบ C-band หลังจากนั้นในปีเดียวกัน Woznicki *et al.* (1998) ศึกษาปลา *Salmo trutta morpha lacustris* จากทะเลสาบ Wdzydze พบ NOR band ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 11 ซึ่งอยู่ติดกับบริเวณของ heterochromatin ซึ่งบริเวณนี้ยืนยันโดยการย้อมสีแบบ C-banding ต่อมาจันทิมา (2542) ได้ทำการศึกษาการกระจายของบริเวณ NOR ของปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*), ปลาแก้มขี้ (*Systemus orphoides*), ปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*), และ

ปลาตะพาก (*Hypsibarbus wetmorei*) พบว่าปลาทั้ง 4 ชนิดมีจำนวนโครโมโซม $2n=50$ เหมือนกัน แต่ชนิดของโครโมโซม จำนวนและตำแหน่งของ NOR band แตกต่างกันคือ ปลาตะเพียนทรายมี คาริโอไทป์แบบ $2m+2sm+2a+44t$ และมี NOR band 1 คู่ พบที่ส่วนปลายสุดของแขนข้างสั้นของ โครโมโซมแบบ acrocentric ปลาแก้มขี้มามีคาริโอไทป์แบบ $12m+20sm+4a+14t$ และมี NOR band 1 คู่ พบที่ส่วนปลายสุดของแขนข้างสั้นของโครโมโซมแบบ submetacentric ปลาตะเพียนขาวมี คาริโอไทป์แบบ $6m+16sm+6a+22t$ และมี NOR band 2 คู่ พบที่ส่วนปลายสุดของแขนข้างสั้นของ โครโมโซมแบบ submetacentric 1 คู่ และส่วนปลายสุดบริเวณ centromere ของโครโมโซมแบบ telocentric 1 คู่ และปลาตะพากมีคาริโอไทป์แบบ $12m+12sm+4a+22t$ และมี NOR band 1 คู่ พบที่ ส่วนปลายสุดของแขนโครโมโซมแบบ telocentric

การศึกษาโครโมโซมโดยการย้อมสีแบบ C-banding นั้นได้ทำการศึกษาในปลาไว้แล้วมากกว่า 50 ชนิด (Gold *et al.*, 1990) Gregury *et al.* (1980) ทำการศึกษา C-band ในปลาทะเล 3 ชนิด พบว่าปลา silver perch (*Bairdiella chrysura*) จะปรากฏแถบสีบริเวณ centromere ในทุกโครโมโซมแต่มีโครโมโซมแบบ telocentric 1 คู่ติดสีตลอดทั้งแท่ง ปลา sheepshead (*Archosargus probatocephalus*) มีโครโมโซมแบบ telocentric และ acrocentric มาก และมี metacentric ที่มีขนาดใหญ่จำนวน 1 คู่ จากการย้อมสี C-band พบว่าโครโมโซมแบบ acrocentric 3 คู่แรกติดสีบริเวณ centromere และในคู่ที่ 1 บริเวณแขนข้างสั้นพบ satellites นอกจากนั้นโครโมโซมคู่ที่ 10, 11 และ 12 ที่มี heterochromatin ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซม และสำหรับคู่ที่เหลือติดสีเฉพาะบริเวณ centromere ในปลา blue striped grunt (*Haemulon sciurus*) โครโมโซมแบบ telocentric ทุกคู่ติดสีบริเวณ centromere ทุกแท่งยกเว้นโครโมโซมแบบ metacentric จะไม่ติดสีในบริเวณ centromere ต่อมา Uwa and Ojima (1981) ได้ทำการศึกษา C-band ในปลาข้าวสาร (*Oryzias latipes*) พบแถบสีปรากฏที่บริเวณ centromere เกือบทุกโครโมโซม ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับ Ojima (1983) ซึ่งศึกษาในปลา *Stephanolepis cirrhifer*, ปลากินยุง (*Gambusia affinis*), ปลาอมไข่ (*Apogon notatus*), *Carassius auratus auratus* และ *C. a. cuvieri* พบว่าโครโมโซมส่วนใหญ่จะติดสีบริเวณ centromere หลังจากนั้น Ren *et al.* (1992) ศึกษาปลา Chinese cyprinid จำนวน 10 ชนิด พบว่าปลาบางชนิดมีจำนวน C-band มาก และบางชนิดมี C-band น้อย ซึ่งใช้แยกความแตกต่างของปลาแต่ละชนิดได้ Khuda-Bukhsa and Chakraborty (1994) รายงานการศึกษาในปลานวลจันทร์เทศ (*Cirrhinus mrigala*) และปลาอีสกเทศ (*Labeo rohita*) ผลปรากฏว่าโครโมโซมส่วนใหญ่จะติดสีที่ตำแหน่ง centromere แต่ก็มีบางโครโมโซมไม่ติดสีหรือติดสีตรงส่วนปลายของโครโมโซม หลังจากนั้น Almeida-Toledo *et al.* (1995) พบว่าในปลาชัง (*Aristichthys nobilis*) จะพบ C-band ชัดเจนเฉพาะที่ตำแหน่ง interstitial 1 จุด และ terminal 1 จุด ที่โครโมโซมคู่ที่ 13 และในปลาถิ่น

(*Hypophthalmichthys molitrix*) ไม่พบ C-band ในปีเดียวกัน Garcla *et al.* (1995) รายงานไว้ว่าจากการย้อมสีโครโมโซมแบบ C-band พบว่าโครโมโซมจะติดสี 3 ตำแหน่งคือ บริเวณ centromere, interstitial และ telomere ในปลา *Cynolebias adloffii* จะติดสีเพียงเล็กน้อยที่บริเวณ centromere และ telomere ปลา *C. affinis* จะย้อมติดสีบริเวณ centromere และ telomere อย่างสม่ำเสมอ ปลา *C. duraznensis* พบว่ามีโครโมโซม 3 คู่มี C-band ขนาดใหญ่ 3 คู่ ปลา *C. alexandrii* และ *C. gymnoventris* โครโมโซมติดสีเล็กน้อยทั้ง 3 บริเวณคือ centromeric, interstitial และ telomeric ต่อมา Campos *et al.* (1997) ศึกษาในปลา *Diplomyater camposensis* และ *D. nahuelbutaensis* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n=56$ เท่ากัน แต่ *D. camposensis* มีคาริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมแบบ $16m+24as+8a+8t$ และพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 7, 24 และ 25 มีการติดสีแบบ C-banding อย่างชัดเจน โดยที่โครโมโซมคู่ที่ 7 มี C-band ที่แขนของโครโมโซม 1 ข้าง คู่ที่ 24 มี C-band ตลอดทั้งแขนของโครโมโซม และคู่ที่ 25 พบ C-band ที่บริเวณ centromere ส่วนปลา *D. nahuelbutaensis* C-band ที่โครโมโซมคู่ที่ 5, 6 และ 7 ที่บริเวณ centromere นอกจากนั้นยังพบที่โครโมโซมคู่ที่ 23, 24, 27 และ 28 ตลอดทั้งแขนของโครโมโซม

สำหรับการย้อมสีแบบ G-banding นั้น มีการศึกษาค่อนข้างน้อยอาจเนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ ปัจจัยที่เห็นได้ชัดได้แก่ ปลาส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมค่อนข้างมาก และโครโมโซมมีขนาดเล็ก (Gold *et al.*, 1990) ที่มีการศึกษาไว้บ้างแล้วเช่นปลา *Salmo salar* โดย Purdom (1993) ซึ่งปลาดังกล่าวมีจำนวนโครโมโซม $2n=58$ และผลที่ได้ช่วยทำให้การจับคู่คาริโอไทป์ของโครโมโซมทำได้ง่ายขึ้น ต่อมา Khuda-Buksh and Tiwary (1994) ได้ทำการย้อมสีแบบ G-banding ในปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) และปลาช่อนเทศ (*Labeo rohita*) แต่ผลออกมาไม่ชัดเจน

นอกจากนี้ Medrano *et al.* (1988) ยังได้ทำการย้อมสีแบบ Q- และ R-banding ในปลาตุหนา (*Anguilla anguilla*) (อันดับ Anguilliformes), ปลาเก๋า (*Epinephelus guttatus*) (อันดับ Perciformes) และปลาทรงเครื่อง (*Labeo bicolor*) (อันดับ Cypriniformes) พบว่าปลาตุหนาโครโมโซมคู่ที่ 8 เมื่อย้อมแบบ Q-banding เกิด heteromorphic ที่แขนข้างสั้นของโครโมโซมแบบ submetacentric ซึ่งบริเวณนี้เกิดแถบสว่างเมื่อย้อมแบบ R-banding แต่สำหรับปลาเก๋า และปลาทรงเครื่องเมื่อย้อมด้วยวิธี Q- และ R-banding ด้วยวิธีเดียวกันไม่พบการติดสี

จุดประสงค์ในการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาคือสกุล *Schistura* ครั้งนี้มุ่งที่จะศึกษาเปรียบเทียบจำนวน ชนิด ลักษณะโครโมโซม และรูปแบบคาร์ิโอไทป์ของปลาคือในแต่ละชนิดเพื่อเป็นความรู้พื้นฐานทางด้าน cytotaxonomy ของปลา