

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒/๒๕๖๔



Technical Paper No. 2/2021

การถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง (*Premnas biaculeatus*)

Inheritance of Gold Body in Gold Stripe Maroon Clownfish
(*Premnas biaculeatus*)

สามารถ เดชสถิตย์

Samart Detsathit

วรรณเพ็ญ คำมี

Wanpen Khammee

คมสัน ทองแถม

Komsun Thongtaem

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

Coastal Aquaculture Research and
Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒/๒๕๖๔



Technical Paper No. 2/2021

การถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง (*Premnas biaculeatus*)

Inheritance of Gold Body in Gold Stripe Maroon Clownfish
(*Premnas biaculeatus*)

สามารถ เดชสถิตย์

Samart Detsathit

วรรณเพ็ญ คำมี

Wanpen Khammee

คมสัน ทองแถม

Komsun Thongtaem

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งกระบี่

Krabi Coastal Aquaculture Research and
Development Center

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

Coastal Aquaculture Research and
Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๖๔

2021

รหัสทะเบียนวิจัย 63 1 0109 62075 06

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการ	5
ผลการศึกษา	7
วิจารณ์ผลการศึกษา	8
สรุปผลการศึกษา	13
ข้อเสนอแนะ	14
คำขอบคุณ	14
เอกสารอ้างอิง	14

การถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง (*Premnas biaculeatus*)

สามารถ เชนสถิตย์^{1*}, วรเพ็ญ คำมี¹ และ คมสัน ทองแถม²

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งกระบี่

²กลุ่มวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งและพัฒนาธุรกิจ

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง (*Premnas biaculeatus*) โดยศึกษาจากอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในแต่ละแบบของการผสมจำนวนรวม 32 คู่ และทำการทดสอบทางสถิติว่าอัตราส่วนที่ได้จากการทดลองมีความสอดคล้องกับอัตราส่วนทางทฤษฎีหรือไม่ ด้วยการทดสอบภาวะสารูปสนิทธิ (chi-square test goodness of fit)

ผลการศึกษาพบว่า การผสมรุ่นพ่อแม่ระหว่าง สีปกติพันธุ์แท้ x ตัวสีทอง จำนวน 2 คู่ (ครอบครัว) ปลารุ่น F1 มีลักษณะปรากฏเป็นสีปกติทั้งหมด การผสมระหว่าง F1 x F1 ภายในครอบครัวเดียวกันจำนวนรวม 12 คู่ ได้ปลารุ่น F2 ที่มีอัตราส่วน สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 3:1 ($\chi^2 < 3.841$) เป็นไปตามทฤษฎีการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล การผสมทดสอบ (test cross) และการผสมกลับ (back cross) ระหว่าง สีปกติพันธุ์แท้ x ตัวสีทอง จำนวนรวม 13 คู่ ได้ปลารุ่นลูกที่มีอัตราส่วน สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 ($\chi^2 < 3.841$) และเป็นไปตามทฤษฎีการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล ในขณะที่การผสมระหว่าง ตัวสีทอง x ตัวสีทอง จำนวน 5 คู่ ปลารุ่นลูกเป็นตัวสีทองทั้งหมด

สรุปได้ว่า ลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทองถูกควบคุมโดยยีนด้อย 1 คู่ มีตำแหน่งอยู่บนออโตโซม ปฏิกริยาการข่มของยีนเป็นแบบข่มสมบูรณ์ โดยลักษณะสีปกติเป็นลักษณะเด่น

คำสำคัญ: ลักษณะคุณภาพ, การถ่ายทอดลักษณะ, ลักษณะตัวสีทอง, ปลาการ์ตูนทอง

*ผู้รับผิดชอบ: 141 ม.6 ต.ไสไทย อ.เมือง จ.กระบี่ 81000 โทร. 0 7566 2059

E-mail: detsathit@hotmail.com

Inheritance of Gold Body in Gold Stripe Maroon Clownfish (*Premnas biaculeatus*)

Samart Detsathit^{1*}, Wanpen Khammee¹ and Komsun Thongtaem²

¹Krabi Coastal Aquaculture Research and Development Center

²Coastal Aquaculture Research and Business Development Group

Abstract

The objective of this experiment was to study on inheritance of gold body color in gold stripe maroon clownfish, *Premnas biaculeatus*. Segregation patterns observed from the progenies of 32 different crosses were done. Phenotypic data of all progeny were recorded and subjected to chi-square test goodness of fit.

Results show that all of F1 progeny from crosses between wild type (breed true) and gold body parental fishes (2 crosses) were wild type phenotype. Crosses among F1 fishes always resulted in a satisfactory fit to a 3:1 phenotypic ratio of F2 progeny (12 crosses, $\chi^2 < 3.841$) and support the Mendelian inheritance. Both of test cross and back cross between heterozygotes and homozygous recessives (13 crosses) conformed to the expected 1:1 phenotypic ratio based on chi-square test ($\chi^2 < 3.841$). In addition, 5 crosses between gold body and gold body parental fishes always resulted in 100% gold body progeny.

This results clearly demonstrated that gold body phenotype in gold stripe maroon clownfish is controlled by the action of a single autosomal recessive gene, with complete dominant of the allele controlling the wild type phenotype.

Keywords: qualitative trait, inheritance, gold body phenotype, gold strip maroon clownfish, *Premnas biaculeatus*

* Corresponding author: 141 Moo 6 Saithai, Muang, Krabi 81000 Tel. 0 7566 2059

E-mail: detsathit@hotmail.com

คำนำ

ปลาการ์ตูนทองเป็นปลาในวงศ์ pomacentridae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) และมีชื่อสามัญว่า maroon clownfish หรือ spine-cheeked anemonefish ปลาจากธรรมชาติหรือปลาสายพันธุ์ป่าของปลาชนิดนี้มี 2 สายพันธุ์คือ ปลาการ์ตูนทอง (gold stripe maroon clownfish) และปลาการ์ตูนแดง (white stripe maroon clownfish) โดยปลาการ์ตูนทองมีแถบขวางลำตัวเป็นสีทองทั้ง 3 แถบ ในขณะที่ปลาการ์ตูนแดงเป็นแถบสีขาว (Allen, 1991)

ปลาการ์ตูนทองที่ลำตัวเป็นสีทองมีชื่อเรียกในตลาดปลาทะเลสวยงามว่า gold nugget maroon clownfish ปลาสายพันธุ์นี้เกิดขึ้นในโรงเพาะฟักของฟาร์ม Oceans, Reefs & Aquariums (ORA) ประเทศสหรัฐอเมริกา คาดกันว่าเป็นลักษณะที่เกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ถูกนำมาเปิดตัวในงาน aquarama 2013 ที่ประเทศสิงคโปร์ และได้รับความสนใจจากวงการปลาทะเลสวยงามเป็นอย่างมาก (ORA, 2013) ปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาชนิดนี้

ลักษณะสีในปลาสวยงามเป็นลักษณะคุณภาพ (qualitative traits) มักถูกควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ สามารถแยกหมวดหมู่ของลักษณะปรากฏได้ชัดเจนและมีอัตราส่วนแน่นอน สภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะคุณภาพน้อยมาก การถ่ายทอดแบบนี้นิยมเรียกชื่อตามผู้ค้นพบว่า การถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล หรือพันธุศาสตร์แบบเมนเดล (mendelian genetics หรือ mendelism) (อุทัยรัตน์, 2543; สมชัย, 2549; สุทัศน์, 2553; Tave, 1992)

ลักษณะปรากฏหรือฟีโนไทป์ (phenotype) คือลักษณะที่ปรากฏออกมาให้เห็นภายนอก ซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางพันธุกรรมหรือยีนในสิ่งมีชีวิต องค์ประกอบของยีนสำหรับลักษณะหนึ่ง ๆ นี้เรียกว่า ยีนไทป์ (genotype) (จรัส, 2553) ยีนมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม โดยอาจอยู่บนโครโมโซมเพศ (sex linked genes) หรือออโตโซม (autosomal genes) ยีนที่อยู่บนโครโมโซมในตำแหน่ง (locus) เดียวกันมีสภาพต่าง ๆ ได้หลายสภาพ แต่ละสภาพของยีนเรียกว่า อัลลีล (allele) ปรากฏการณ์ที่ยีนไทป์ในตำแหน่งหนึ่งของสัตว์ประกอบด้วยอัลลีล 2 ตัวที่เหมือนกันเรียก homozygous genotype และปรากฏการณ์ที่ยีนไทป์ของสัตว์ประกอบด้วยอัลลีล 2 ตัวที่แตกต่างกันเรียก heterozygous genotype

การถ่ายทอดลักษณะคุณภาพศึกษาได้จากอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ (phenotypic ratio) ในแต่ละแบบของการผสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งลูกในรุ่นที่ 2 (F2) ซึ่งหมายถึงลูกจากการผสมระหว่างพ่อแม่ที่มียีนไทป์เป็นเฮเทอโรไซโกตของยีนที่ต้องการศึกษา (อุทัยรัตน์, 2543) อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติ มักพบเสมอว่าข้อมูลที่ทำการสังเกตหรือได้จากการทดลองมีความแตกต่างหรือเบี่ยงเบนไปจากค่าคาดคะเนตามอัตราส่วนทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการทดสอบทางสถิติ เพื่อวัดความสอดคล้องของอัตราส่วนที่ได้จากการทดลองว่ามีความสอดคล้องหรือแตกต่างไปจากอัตราส่วนทางทฤษฎีหรือไม่ ทั้งนี้มีการกำหนดในทางสถิติว่า ขนาดของความคลาดเคลื่อนที่น้อยที่สุด ที่จะชี้ว่าผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากอัตราส่วนทางทฤษฎีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั้น จะตกอยู่ในช่วง 5% (5 percent level of significant) การทดสอบอัตราส่วนทางพันธุกรรมที่นิยมใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินใจ คือการทดสอบไค-สแควร์ (chi-square test)

goodness of fit) ถ้าค่าไค-สแควร์ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่าค่าไค-สแควร์ในตารางที่ความน่าจะเป็น 0.05 ก็สรุปผลได้ว่า อัตราส่วนที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับอัตราส่วนทางทฤษฎีหรือสมมติฐานที่ตั้งไว้ (สมชัย, 2549; ประดิษฐ์, 2559)

ในการทดสอบยีนโนไทป์ นอกจากใช้การผสมตัวเอง หรือการผสมกันเองของลูกรุ่น F1 แล้ว ยังสามารถใช้วิธีการผสมทดสอบ (test cross) โดยนำพืชหรือสัตว์ที่ต้องการทดสอบยีนโนไทป์นำไปผสมกับพืชหรือสัตว์ที่มียีนโนไทป์เป็นยีนด้อยทั้งหมด (homozygous recessive) (สมชัย, 2549; ประดิษฐ์, 2559) และศึกษาอัตราส่วนของรุ่นลูกว่าเป็นแบบใด

การผสมกลับ (back cross) มีลักษณะใกล้เคียงกับการผสมทดสอบ การผสมกลับหมายถึงการผสมระหว่างลูกกับพ่อหรือแม่พันธุ์ใดพันธุ์หนึ่ง จุดประสงค์ของการผสมกลับอาจเป็นการปรับปรุงพันธุ์ก็ได้ แต่ถ้าเป็นการผสมกลับกับพ่อแม่ที่มีลักษณะด้อย ก็อาจใช้เป็นผลการผสมทดสอบ นั่นคือมีจุดประสงค์เพื่อบอกยีนโนไทป์ (ไพศาล, 2535)

ลักษณะคุณภาพที่ควบคุมด้วยยีนด้อยที่มีการศึกษากันมากได้แก่ยีนที่ควบคุมลักษณะเผือก (albino) เช่น การศึกษาลักษณะเผือกในปลาตุ๊กตาคือ อุทัยรัตน์ (2531) ซึ่งพบว่าปลาปกติมียีนโนไทป์เป็น AA หรือ Aa ส่วนปลาเผือกมียีนโนไทป์เป็น aa ในทำนองเดียวกัน ลักษณะเผือกในปลาเรนโบว์เทราท์ (*Salmo gairdneri*) ก็มียีนควบคุมลักษณะเผือกในทำนองเดียวกันกับปลาตุ๊กตาคือ (Bridges and Limbach, 1972) สำหรับการถ่ายทอดลักษณะสีของลำตัวมีการศึกษาในปลานิลแดงของฟิลิปปินส์พบว่าสีแดงถูกควบคุมด้วยยีนเด่น R ส่วนสีดำถูกควบคุมด้วยยีนด้อย r (Reich *et al.*, 1990) ในทางกลับกัน Tave (1991) กล่าวว่าสีชมพูอ่อนในปลานิล (*Tilapia nilotica*) จากแหล่งกำเนิดประเทศยูกันดาและกานาถูกควบคุมด้วยยีนด้อย b โดยมียีนเด่น B ควบคุมสีปกติและเป็นการข้ามแบบสมบูรณ์

ปลาการ์ตูนทองที่มีแถบขวางลำตัวเป็นสีทองทั้ง 3 แถบ เป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมที่ถูกเพาะขยายพันธุ์ต่อ ๆ กันมาเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 ปี (ประมาณ 4-5 เจเนอเรชัน) โดยไม่เคยแสดงลักษณะปรากฏแบบอื่น จึงมั่นใจได้ว่าเป็นสายพันธุ์แท้ ในขณะที่ลักษณะตัวสีทองยังไม่ทราบแน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าเป็นลักษณะด้อย และถูกควบคุมด้วยยีนเพียงคู่เดียว

การทราบลักษณะการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทองจะมีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการบริหารจัดการพ่อแม่พันธุ์ ทำให้สามารถวางแผนการผสมพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ และคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างมีระบบ นอกจากนั้นยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการทดสอบทางพันธุกรรม เช่น การใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) เป็นต้น

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการศึกษา

การศึกษากายภาพของลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทองครั้งนี้ศึกษาจากอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ (phenotypic ratio) ในแต่ละแบบของการผสม ตามหลักการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล ดำเนินการศึกษาที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งกระบี่ เลขที่ 141 ม.6 ต.ไล่ไทย อ.เมือง จ.กระบี่

2. วิธีการทดลอง

2.1 การจับคู่ผสมเพื่อทดสอบยีนโตนโท

2.1.1 การจับคู่ผสมรุ่นพ่อแม่ (P1)

จับคู่ผสมรุ่นพ่อแม่จำนวน 2 คู่ (กำหนดเป็นครอบครัว A และครอบครัว B) ระหว่างแม่ปลาสีปกติพันธุ์แท้ (breed true) กับพ่อปลาตัวสีทอง เพื่อผลิตปลารุ่น F1 ทำการศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในลูกรุ่น F1 และเลี้ยงปลารุ่น F1 ต่อไปจนถึงวัยเจริญพันธุ์

แม่ปลาสีปกติพันธุ์แท้ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นสายพันธุ์ที่เพาะพันธุ์ในโรงเพาะฟักต่อเนื่องกันมาหลายชั่วอายุ รวมระยะเวลาประมาณ 15 ปี โดยไม่เคยมีประวัติให้ลูกที่มีลักษณะปรากฏแบบอื่น จึงมั่นใจได้ว่าเป็นสีปกติสายพันธุ์แท้

2.1.2 จับคู่ผสมกันเองของลูกรุ่น F1

จับคู่ผสมกันเองของปลารุ่น F1 และเป็นปลาในครอบครัวเดียวกัน (inbreeding) จำนวน 10 คู่/ครอบครัว ศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในลูกรุ่น F2 และเลี้ยงลูกรุ่น F2 ต่อไปจนถึงวัยเจริญพันธุ์

2.1.3 การผสมทดสอบ (test cross) ระหว่างลูกรุ่น F1 กับปลาตัวสีทองรุ่น F2

จับคู่ระหว่างแม่ปลารุ่น F1 (จากข้อ 2.1.1) กับพ่อปลาตัวสีทองซึ่งคัดเลือกแบบสุ่มจากประชากรปลาที่มีลักษณะตัวสีทองในรุ่น F2 และศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ

2.1.4 การผสมกลับ (back cross) ระหว่างพ่อแม่กับลูกรุ่น F1

ทำการเลี้ยงพ่อปลาตัวสีทองในข้อ 2.1.1 ของทั้ง 2 ครอบครัว ให้เปลี่ยนเพศเป็นเพศเมีย (ตัวสีทอง) จากนั้นจึงผสมทดสอบกับตัวผู้ซึ่งเป็นลูกรุ่น F1 (ลูกของตัวเอง, สุ่มมา 1 ตัว) และศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ

2.1.5 การทดสอบยีนโตนโทของปลาตัวสีทอง

2.1.5.1 การผสมกลับระหว่าง P1 ตัวสีทอง กับ F2 ตัวสีทอง

เมื่อทดลองข้อ 2.1.4 เสร็จแล้ว นำแม่ปลาตัวสีทองของทั้งสองครอบครัวจับคู่ผสมกับปลารุ่น F2 ที่มีลักษณะตัวสีทอง (ได้จากการสุ่ม) และศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ

2.1.5.2 การจับคู่ผสมกันเองของปลารุ่น F2 ตัวสีทอง

จับคู่ผสมกันเองของปลารุ่น F2 ที่มีลักษณะตัวสีทองจำนวน 3 คู่ (ได้จากการสุ่ม) และศึกษาอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ

2.2 การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ การผสมพันธุ์ การอนุบาล และการเลี้ยงลูกปลา

เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในตู้กระจกขนาด 45 x 90 x 45 เซนติเมตร ตู้ละ 1 คู่ ในแต่ละตู้ใส่กระเบื้องปูพื้น 1 แผ่น และกระถางดินเผา 1 ใบ เพื่อให้ปลาใช้เป็นที่ยาวไข่ ใช้ระบบน้ำหมุนเวียนในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ บำบัดน้ำด้วยระบบชีวภาพพร้อมกับการใช้แสงยูวีสำหรับฆ่าเชื้อในน้ำ ให้อาหารผสมเปียกเป็นอาหารซึ่งประกอบด้วย เนื้อกุ้งสับละเอียด 100 กรัม วิตามินรวม 1 กรัม วิตามินซี 1 กรัม สาหร่ายสไปรูลิน่าแห้ง 2 กรัม และน้ำมันปลา 1 มิลลิลิตร ให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง ปล่อยให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่กันเองตามธรรมชาติ ให้พ่อแม่ปลาดูแลไข่จนถึงกำหนดฟักหรือประมาณ 7 วันหลังจากวางไข่ จึงนำไปฟักในตู้อนุบาล

อนุบาลลูกปลาจากพ่อแม่แต่ละคู่แยกกัน โดยอนุบาลในตู้กระจกขนาด 45 x 90 x 45 เซนติเมตร เป็นตู้ที่ไม่มีระบบกรอง ควบคุมคุณภาพน้ำและกำจัดของเสียด้วยการเปลี่ยนถ่ายน้ำ น้ำที่ใช้ในช่วงอนุบาลเป็นน้ำทะเลความเค็ม 30-33 ส่วนในพันส่วนที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน (แคลเซียมไฮโปคลอไรต์) ปลาอายุ 1-15 วัน ให้โรติเฟอร์เป็นอาหารด้วยความหนาแน่น 10-15 ตัว/มิลลิลิตร พร้อมกับใส่คลอเรลลาให้มีความหนาแน่นประมาณ 5×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร อายุ 7-30 วัน ให้อาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหารวันละ 3-4 ครั้ง

ปลาอายุ 1 เดือน ย้ายไปเลี้ยงในถังพลาสติกขนาดความจุ 500 ลิตร ระบบน้ำแบบน้ำหมุนเวียน ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นอาหารวันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนขนาดอาหารตามความเหมาะสมกับขนาดปลา เลี้ยงจนปลาเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จึงจับคู่เพื่อผสมทดสอบในรูปแบบต่าง ๆ ตามวิธีการทดลอง

2.3 การศึกษาอัตราส่วนของลูกปลาที่แสดงลักษณะต่าง ๆ

เมื่อลูกปลามีอายุ 1 เดือน จำแนกและนับจำนวนลูกปลาที่แสดงลักษณะสีปกติ และลูกปลาที่แสดงลักษณะตัวสีทองจากพ่อแม่แต่ละคู่ที่ศึกษา

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบอัตราส่วนทางพันธุกรรมด้วยการทดสอบภาวะสารูปสนิทธิ (goodness of fit test) โดยใช้สถิติทดสอบไค-สแควร์ (chi-square test) ว่าอัตราส่วนของลูกปลาที่แสดงลักษณะปรากฏแบบต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลอง (observed value) มีความสอดคล้องกับค่าคาดคะเนทางทฤษฎี (expected value) หรือไม่ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในการศึกษาครั้งนี้ลักษณะปรากฏมี 2 แบบ (df=1) จึงคำนวณค่าไค-สแควร์จากสูตรที่มีการปรับค่า (คณาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2558) คือ

$$\chi^2 = \sum \left(\frac{[O - E - 1/2]^2}{E} \right)$$

เมื่อ O = ค่าที่ได้จากการทดลอง (observed value)

E = ค่าทางทฤษฎี (expected value)

1/2 = ค่าที่ใช้ปรับให้ค่าไค-สแควร์ถูกต้องยิ่งขึ้น (correction factor)

ผลการศึกษา

1 การจับคู่ผสมรุ่นพ่อแม่ (P1)

จากการจับคู่ผสมรุ่นพ่อแม่จำนวน 2 คู่ (ครอบครัว A และครอบครัว B) ระหว่างแม่ปลาสีปกติ x พ่อปลาตัวสีทอง พบว่า ลูกปลารุ่น F1 ของครอบครัว A 250 ตัว และครอบครัว B 365 ตัว แสดงลักษณะสีปกติทั้งหมด (ตารางที่ 1 คู่ที่ 1 และ 2) แสดงว่าลักษณะสีปกติเป็นลักษณะเด่น ส่วนลักษณะตัวสีทองเป็นลักษณะด้อย

2 การทดสอบยีนโตนไพ์โดยจับคู่ผสมกันเองของลูกรุ่น F1

จากการจับคู่ผสมปลาสีปกติ x สีปกติ ของปลารุ่น F1 ในครอบครัวเดียวกัน ครอบครัว A มีปลา วางไข่และเก็บข้อมูลได้ 4 คู่ (ตารางที่ 1 คู่ที่ 3-6) ส่วนครอบครัว B มีปลา วางไข่และเก็บข้อมูลได้ 8 คู่ (ตารางที่ 1 คู่ที่ 7-14)

ลูกปลารุ่น F2 ของทั้ง 2 ครอบครัวแสดงลักษณะปรากฏเพียง 2 ลักษณะคือ สีปกติ และตัวสีทอง ค่าไค-สแควร์ของทุกคู่มีค่าน้อยกว่า 3.841 จึงยอมรับว่าอัตราส่วนระหว่าง สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 3:1 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แสดงว่าลักษณะตัวสีทองถูกควบคุมโดยยีนเพียง 1 คู่ ปฏิกริยาระหว่างอัลลีลเป็นลักษณะข่มสมบูรณ์ (complete dominance) ซึ่งยีน g (gold body) เป็นยีนด้อย ในขณะที่ยีน G เป็นยีนเด่น ปลาสีปกติพันธุ์แท้ มียีนโตนไพ์ GG ปลาตัวสีทองมียีนโตนไพ์ gg ดังนั้นการผสมระหว่าง สีปกติพันธุ์แท้ x ตัวสีทอง ปลารุ่น F1 ทั้งหมดจึง มียีนโตนไพ์ Gg และมีลักษณะปรากฏเป็นสีปกติ เมื่อทำการผสมระหว่าง $F1(Gg) \times F1(Gg)$ จึงได้ลูกปลารุ่น F2 ที่มีอัตราส่วนยีนโตนไพ์ $GG:Gg:gg$ เป็น 1:2:1 หรือ อัตราส่วนลักษณะปรากฏ สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 3:1 (ภาพที่ 1)

3 การทดสอบยีนโตนไพ์โดยการผสมทดสอบ (test cross) ระหว่างลูกรุ่น F1 กับปลาตัวสีทองรุ่น F2

จากการผสมระหว่าง ปลารุ่น F1 สีปกติ x รุ่น F2 ตัวสีทอง จำนวน 11 คู่ โดยเป็นปลารุ่น F1 สีปกติจากครอบครัว A 3 คู่ (ตารางที่ 1 คู่ที่ 15-17) และครอบครัว B 8 คู่ (ตารางที่ 1 คู่ที่ 18-25) พบว่า ลูกปลาที่ได้มีลักษณะปรากฏ 2 แบบคือ สีปกติ และตัวสีทอง ค่าไค-สแควร์ของทุกคู่มีค่าน้อยกว่า 3.841 จึงยอมรับว่าอัตราส่วนระหว่าง สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลที่ได้ยืนยันว่าปลารุ่น F1 มียีนโตนไพ์ Gg เมื่อผสมกับปลาตัวสีทองรุ่น F2 ซึ่งปลาตัวสีทองทุกตัว เป็นพันธุ์แท้และมียีนโตนไพ์ gg ทำให้ลูกปลาที่ได้มียีนโตนไพ์ 2 แบบ คือ Gg และ gg โดยอัตราส่วนระหว่าง $Gg:gg$ เป็น 1:1 หรือ อัตราส่วนของลักษณะปรากฏ สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 (ภาพที่ 2)

4 การทดสอบยีนโหนดโดยการผสมกลับ (backcross) ระหว่างพ่อแม่กับลูกรุ่น F1

จากการผสมระหว่าง ปลา P1 ตัวสีทอง $\times$ F1 สีปกติ (ตารางที่ 1 คู่ที่ 26-27) พบว่า ลูกปลาที่ได้มีลักษณะปรากฏ 2 แบบคือ สีปกติ และตัวสีทอง ค่าไค-สแควร์ของทั้ง 2 คู่มีน้อยกว่า 3.841 จึงยอมรับว่า อัตราส่วนระหว่าง สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การทดสอบนี้แสดงผลยืนยันว่าปลา P1 ตัวสีทองมียีนโหนด gg เมื่อผสมกับปลาสีปกติรุ่น F1 ซึ่งเป็นลูกของตัวเองและมียีนโหนด Gg ทำให้ลูกปลาที่ได้มียีนโหนด 2 แบบ คือ Gg และ gg โดยอัตราส่วนระหว่าง $Gg:gg$ เป็น 1:1 หรือ อัตราส่วนระหว่างลักษณะปรากฏ สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 (ภาพที่ 2)

5 การทดสอบยีนโหนดของปลาตัวสีทอง

จากการผสมระหว่างปลา P1 ตัวสีทอง $\times$ F2 ตัวสีทอง (ตารางที่ 1 คู่ที่ 28-29) และ ปลา P1 ตัวสีทอง $\times$ ตัวสีทอง (ตารางที่ 1 คู่ที่ 30-32) จำนวนรวม 5 คู่ พบว่า ลูกปลาที่ได้มีลักษณะปรากฏเป็นตัวสีทองทั้งหมด แสดงว่าปลาตัวสีทองเป็นพันธุ์แท้ และมียีนโหนด gg

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทองครั้งนี้พบว่า มีลักษณะแสดงออกเพียง 2 ลักษณะคือ ลักษณะสีปกติ และลักษณะตัวสีทอง เป็นไปตามทฤษฎีของลักษณะคุณภาพที่ควบคุมโดยยีน 1 คู่ และมีลักษณะข่มสมบูรณ์ (Tave, 1992) ลักษณะตัวสีทองไม่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ แต่พบเฉพาะปลาที่เกิดจากการเพาะพันธุ์ในโรงเพาะฟักเท่านั้น และพบได้ในอัตราส่วนที่น้อย ไพศาล (2535) กล่าวว่า ลักษณะใดลักษณะหนึ่งที่เกิดขึ้นมากหรือพบเห็นได้ทั่วไปกว่าลักษณะอื่น เรียกลักษณะนั้นว่าเป็นลักษณะปกติ หรือ wild type ซึ่งมักจะเป็นลักษณะข่ม ส่วนลักษณะที่ไม่ค่อยพบเห็นเรียกว่าลักษณะ mutant ซึ่งมักจะเป็นลักษณะด้อย สอดคล้องกับผลการศึกษานี้ที่พบว่า ลักษณะสีปกติเป็นลักษณะเด่น ส่วนลักษณะตัวสีทองเป็นลักษณะด้อย

ลักษณะปรากฏตัวสีทองสามารถจำแนกออกจากปลาสีปกติได้อย่างชัดเจนเมื่อลูกปลามีอายุประมาณ 1 เดือน อย่างไรก็ตาม ในช่วงอายุ 1-6 เดือน สีทองของปลาการ์ตูนทองทั้งปลาที่แสดงลักษณะสีปกติ และตัวสีทองยังคงไม่มีการพัฒนาของสีทอง แต่แสดงลักษณะเป็นสีขาว (ภาพที่ 3) โดยทั่วไปสีทองเริ่มพัฒนาเมื่ออายุ 6 เดือนขึ้นไป สีเข้มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น และพัฒนาเป็นสีทองอย่างสมบูรณ์เมื่ออายุ 12-18 เดือน

ตารางที่ 1 จำนวนลูกปลาที่แสดงลักษณะสีปกติและตัวสีทอง เปอร์เซ็นต์ตัวสีทอง อัตราส่วนทางทฤษฎี และ ค่าไค-สแควร์ จากการผสมระหว่างปลาการ์ตูนทองแต่ละคู่ที่มีอีโนไทป์ที่คาดหวังแบบต่าง ๆ

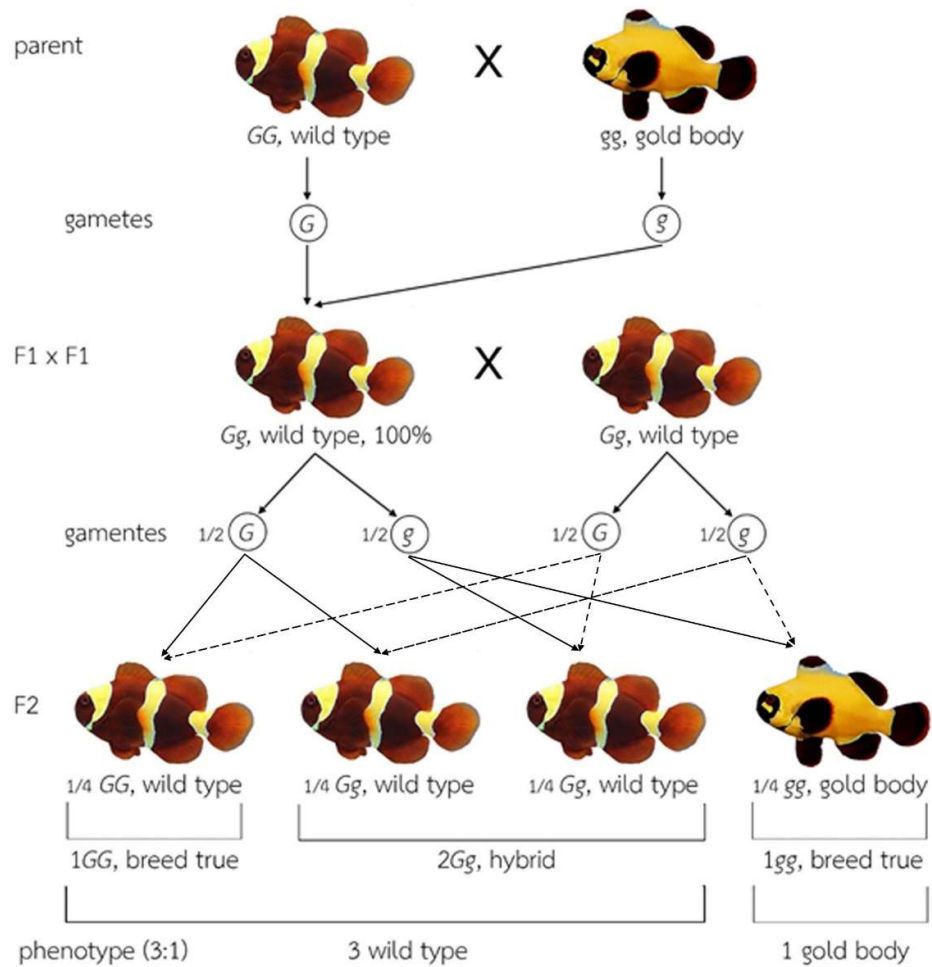
คู่ที่	แม่(pg) x พ่อ(pg)	จำนวนลูกปลา		ตัวสีทอง (%)	อัตราส่วน ทางทฤษฎี	ไค-สแควร์
		สีปกติ	ตัวสีทอง			
1	P1-A-01(GG) x P1-A-02(gg)	250	0	0	1:0	-
2	P1-B-01(GG) x P1-B-02(gg)	365	0	0	1:0	-
3	F1-A-03(Gg) x F1-A-04(Gg)	23	5	17.9	3:1	0.429
4	F1-A-05(Gg) x F1-A-06(Gg)	140	35	20.0	3:1	2.074
5	F1-A-07(Gg) x F1-A-08(Gg)	273	87	24.2	3:1	0.093
6	F1-A-09(Gg) x F1-A-10(Gg)	201	72	26.4	3:1	0.206
7	F1-B-01(Gg) x F1-B-02(Gg)	524	194	27.0	3:1	1.456
8	F1-B-03(Gg) x F1-B-04(Gg)	646	247	27.7	3:1	3.228
9	F1-B-05(Gg) x F1-B-06(Gg)	167	62	27.1	3:1	0.421
10	F1-B-07(Gg) x F1-B-08(Gg)	517	180	25.8	3:1	0.211
11	F1-B-09(Gg) x F1-B-10(Gg)	134	48	26.4	3:1	0.117
12	F1-B-11(Gg) x F1-B-12(Gg)	80	25	23.8	3:1	0.029
13	F1-B-13(Gg) x F1-B-14(Gg)	79	34	30.1	3:1	1.301
14	F1-B-15(Gg) x F1-B-16(Gg)	171	58	25.3	3:1	0.002
15	F1-A-03(Gg) x F2-R-02(gg)	139	168	54.7	1:1	2.554
16	F1-A-05(Gg) x F2-R-03(gg)	77	95	55.2	1:1	1.680
17	F1-A-07(Gg) x F2-R-04(gg)	263	289	52.4	1:1	1.132
18	F1-B-01(Gg) x F2-R-06(gg)	249	270	52.0	1:1	0.771
19	F1-B-03(Gg) x F2-R-07(gg)	116	109	48.4	1:1	0.160
20	F1-B-05(Gg) x F2-R-08(gg)	39	31	44.3	1:1	0.700
21	F1-B-07(Gg) x F2-R-09(gg)	43	42	49.4	1:1	0.000
22	F1-B-09(Gg) x F2-R-10(gg)	166	187	53.0	1:1	1.133
23	F1-B-11(Gg) x F2-R-11(gg)	71	70	49.6	1:1	0.000
24	F1-B-13(Gg) x F2-R-12(gg)	173	193	52.7	1:1	0.986
25	F1-B-15(Gg) x F2-R-13(gg)	71	58	45.0	1:1	1.116
26	P1-A-02(gg) x F1-A-11(Gg)	100	101	50.2	1:1	0.000
27	P1-B-02(gg) x F1-B-17(Gg)	761	767	50.2	1:1	0.016
28	P1-A-02(gg) x F2-R-14(gg)	0	160	100	0:1	-
29	P1-B-02(gg) x F2-R-15(gg)	0	65	100	0:1	-
30	F2-R-16(gg) x F2-R-17(gg)	0	136	100	0:1	-
31	F2-R-18(gg) x F2-R-19(gg)	0	87	100	0:1	-
32	F2-R-20(gg) x F2-R-21(gg)	0	152	100	0:1	-

หมายเหตุ 1) pg = probable genotype หรืออีโนไทป์ที่คาดหวัง

2) ค่า $\chi^2(1, 0.05) = 3.841$ ดังนั้น ถ้าค่าไค-สแควร์ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า 3.841 จะยอมรับว่า อัตราส่วนที่ได้จากการทดลองไม่แตกต่างจากอัตราส่วนทางทฤษฎี

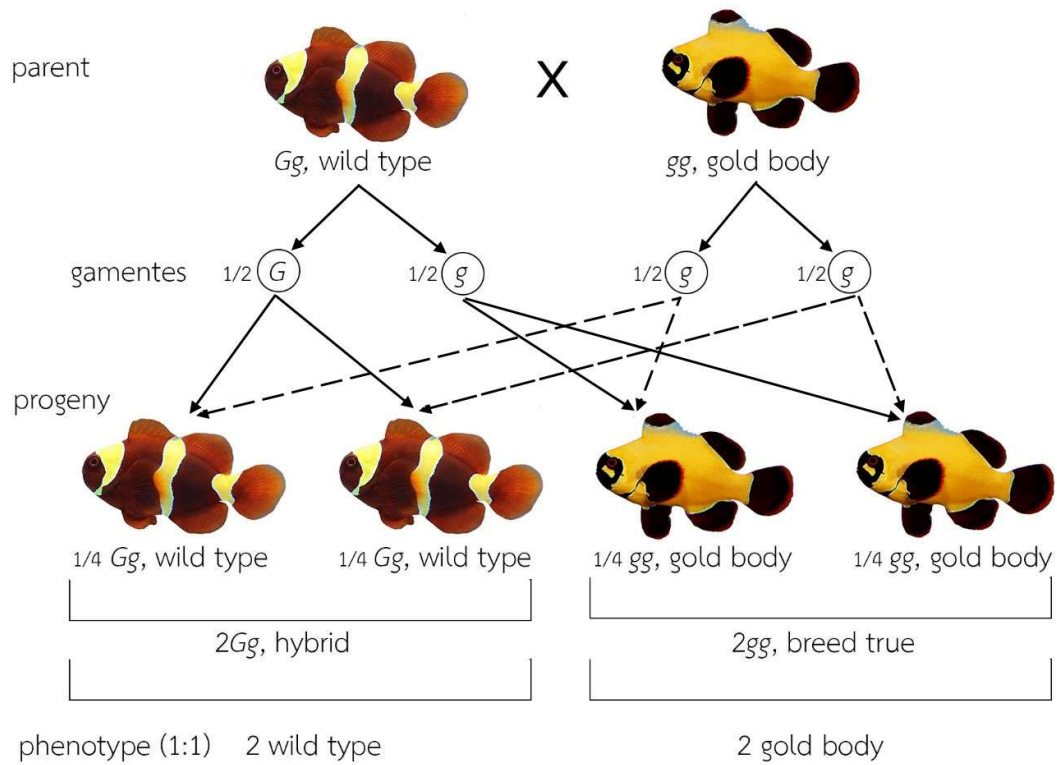
3) ความหมายของรหัสปลาทดลอง (XX-X-XX); รหัส 2 ตัวแรก: P1=พ่อแม่พันธุ์เริ่มต้น, F1=ลูกรุ่น F1 และ F2=ลูกรุ่น F2; รหัสตัวที่ 3: A=ครอบครัว A, B=ครอบครัว B และ R=ปลาจากการสุ่มจากประชากรรุ่น F2; รหัสตัวที่ 4-5: ลำดับเลขประจำตัว

4) รหัส 5 ตัวที่เหมือนกันแสดงว่าเป็นปลาตัวเดียวกัน



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงการถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง

ปลาตัวสีทองทุกตัวเป็นสายพันธุ์แท้ หรือ breed true โดยมียีนไทป์เป็นแบบ homozygous recessive หรือ gg ดังนั้นการผสมระหว่าง ตัวสีทอง x ตัวสีทอง จะให้ลูกที่มีลักษณะปรากฏและยีนไทป์เหมือนกับพ่อแม่โดยตลอด เนื่องจากทั้งพ่อและแม่ต่างก็ผลิตเซลล์สืบพันธุ์ที่มียีน g ได้เพียงแบบเดียว แต่ปลาที่แสดงลักษณะสีปกติ หากไม่เป็นปลาที่ไม่ทราบประวัติทางพันธุกรรมจะบอกไม่ได้ว่าเป็นสายพันธุ์แท้ (GG) หรือพันธุ์ทาง (Gg) จำเป็นต้องผสมทดสอบกับปลาตัวสีทอง หากปลารุ่นลูกเป็นสีปกติทั้งหมด แสดงว่าปลาสีปกติตัวนั้นเป็นสายพันธุ์แท้ (GG) แต่ถ้าลูกปลาที่ได้มีอัตราส่วนระหว่าง สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 แสดงว่าปลาสีปกติตัวนั้นเป็นพันธุ์ทาง (Gg)



ภาพที่ 2 แผนภาพการผสมพันธุ์ระหว่างปลาการ์ตูนทองสีปกติพันธุ์ทาง (Gg) กับลักษณะตัวสีทองพันธุ์แท้ (gg)



ภาพที่ 3 ปลาการ์ตูนทองอายุ 1 เดือน มีลักษณะปรากฏที่สามารถจำแนกเป็น 2 แบบได้อย่างชัดเจน

ปลาการ์ตูนทองสีปกติที่ใช้เป็นรุ่น P1 ในครั้งนี้ เป็นปลาพันธุ์แท้ที่ทราบประวัติแน่นอนว่ามาจากบรรพบุรุษที่ไม่มีลูกหลานเป็นตัวสีทอง เมื่อผสมกับปลาตัวสีทองซึ่งเป็น homozygous recessive ทำให้ปลารุ่น F1 ทุกตัวเป็น heterozygous และสามารถใช้ในการผสมกันเองของปลารุ่น F1 ในการทดสอบยีนโอฟ โดยศึกษาจากอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในรุ่น F2

จากการผสมปลารุ่น F1 สีปกติ x สีปกติ พบว่าปลารุ่น F2 จากทุกคู่ทดสอบมีลักษณะปรากฏเพียง 2 ลักษณะ โดยมีอัตราส่วน สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 3:1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนตามทฤษฎีของลักษณะที่ควบคุมโดยยีน 1 คู่ ซึ่งมีที่ตั้งอยู่บนออโตโซม และปฏิกิริยาการข่มของยีนเป็นแบบข่มสมบูรณ์ (complete dominance) เป็นไปตามหลักการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล ปลารุ่น F1 ทุกตัวมียีนโอฟ Gg เนื่องจากเป็นลูกที่ได้จากการผสมระหว่าง สีปกติพันธุ์แท้ (GG) x ตัวสีทอง (gg) เมื่อทำการผสม $F1 \times F1$ จึงได้ปลารุ่น F2 ที่มียีนโอฟ 3 แบบ คือ GG , Gg และ gg ในอัตราส่วน 1:2:1 แต่เนื่องจากยีน G เป็นยีนเด่น มีอำนาจเหนือกว่าและสามารถข่มยีน g ซึ่งเป็นยีนด้อยได้อย่างสมบูรณ์ ทำให้ปลาที่มียีนโอฟ GG และ Gg แสดงลักษณะปรากฏเป็นสีปกติเหมือนกัน ดังนั้นอัตราส่วนของลักษณะปรากฏ สีปกติ:ตัวสีทอง จึงมีอัตราส่วนเป็น 3:1

การศึกษาค้างนี้ทำการทดสอบผสมกลับ (back cross) และผสมทดสอบ (test cross) เพื่อเพิ่มความมั่นใจมากขึ้น โดยผลการผสมกลับระหว่างลูกรุ่น $F1(Gg) \times$ พ่อแม่ตัวสีทอง (gg) ปลารุ่นลูกแสดงลักษณะ สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 ในขณะที่การผสมระหว่าง $F1(Gg) \times F2$ ตัวสีทอง (gg) ก็ให้ลูกในอัตราส่วน 1:1 เช่นเดียวกัน เป็นไปตามหลักการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล

การศึกษาค้างนี้ การทดสอบหลักเป็นการผสมกันเองของปลารุ่น F1 ที่มียีนโอฟเป็นเฮเทอโรไซโกตของยีนที่ต้องการศึกษา ซึ่งพบว่าอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในรุ่น F2 สามารถแยกหมวดหมู่ได้ชัดเจนและมีอัตราส่วนแน่นอน เป็นไปตามที่อุทยรัตน์ (2543) ได้กล่าวไว้ว่า การถ่ายทอดลักษณะคุณภาพศึกษาได้จากอัตราส่วนการเกิดลูกลักษณะต่าง ๆ ในแต่ละแบบของการผสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกรุ่น F2 ซึ่งหมายถึง ลูกจากการผสมระหว่างพ่อแม่ที่มียีนโอฟเป็นเฮเทอโรไซโกตของยีนที่ต้องการศึกษา

ยีนที่ควบคุมลักษณะตัวสีทองเป็นยีนที่มีที่ตั้งอยู่บนออโตโซม เนื่องจากปลาการ์ตูนเป็นปลากระเทยประเภท protandrous hermaphrodite (สุภาพร, 2550) ไม่มีโครโมโซมเพศ การกำหนดเพศถูกควบคุมโดยสังคมที่มีปฏิสัมพันธ์ หรือ social interactions (จรัส, 2553; Casas *et al.*, 2016) ลักษณะตัวสีทองจึงเป็นลักษณะที่ไม่เกี่ยวข้องกับเพศ ดังนั้นการผสมระหว่างปลาตัวสีทอง (gg) กับปลาสีปกติพันธุ์ทาง (Gg) ไม่ว่าจะใช้ลักษณะใดเป็นพ่อหรือแม่จึงไม่มีผลต่อยีนโอฟและลักษณะปรากฏในรุ่นลูก

การถ่ายทอดลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทอง มีรูปแบบเหมือนกับการถ่ายทอดลักษณะสีแพลทินัมในปลาการ์ตูนเพอร์คูลา (สามารถ และคณะ, 2563) ลักษณะเผือกในปลาคุยกุย (อุทยรัตน์, 2531) ลักษณะเผือกในปลาเรนโบว์เทราท์ (Bridges and Limbach, 1972) และลักษณะตัวสีชมพูอ่อนในปลานิล (Tave, 1991) โดยลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะด้อย ถูกควบคุมโดยยีนเพียง 1 คู่ ปฏิกิริยาระหว่างอัลลีลเป็นลักษณะข่มสมบูรณ์

จากผลการศึกษาี้ สามารถนำความรู้ไปใช้ในการบริหารจัดการพ่อแม่พันธุ์ และนำไปใช้ในการทดสอบปลาการ์ตูนทองที่มีลักษณะปรากฏสีปกติแต่ไม่ทราบประวัติพันธุ์กรรมมาก่อนว่ามียีนโอฟแบบใด

โดยใช้การผสมทดสอบกับปลาตัวสีทอง หากลูกปลาที่ได้มี สีปกติ:ตัวสีทอง เป็น 1:1 แสดงว่าปลาสีปกติตัวนั้นมียีนโหนดเป็น Gg แต่หากลูกปลาที่ได้เป็นสีปกติทั้งหมด แสดงว่าปลาตัวนั้นมียีนโหนดเป็น GG (ไพศาล, 2535; สมชัย, 2549)

ในกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงปลาทะเลสวยงามมีการกล่าวอ้างว่า การผสมระหว่าง ตัวสีทอง x ตัวสีทอง จะได้ลูกที่มีลักษณะตัวสีทองทั้งหมด (Pedersen, 2016; Miniwaters, 2020) ซึ่งตรงกับผลการศึกษาครั้งนี้ แต่มีการสันนิษฐานว่า ปฏิกริยาระหว่างอัลลีลเป็นลักษณะข่มไม่สมบูรณ์ หรือลักษณะปรากฏมี 3 ลักษณะ โดยปลาที่มียีนโหนด Gg จะแสดงลักษณะปรากฏที่เรียกกันว่าโกลด์เฟลก (gold flake) โดยปลาการ์ตูนทองโกลด์เฟลกเป็นปลาที่มีลักษณะคล้ายกับสีปกติ แต่มีลายสีทองเพิ่มขึ้นมาบนลำตัว คล้ายกับลักษณะปักส์โซ่ในปลาการ์ตูนเพอร์คูลา ดังนั้น หากผสมระหว่าง ปลาสีปกติ x ตัวสีทอง จะได้ปลารุ่นลูกเป็นโกลด์เฟลกทั้งหมด แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การผสมระหว่าง สีปกติ x ตัวสีทอง ลูกรุ่น F1 ที่ได้มีส่วนน้อยเท่านั้นที่มีลายสีทองเพิ่มเติมขึ้นมา (จาก 3 แถบปกติ) แสดงว่าข้อสันนิษฐานดังกล่าวไม่เป็นความจริง สำหรับการศึกษาการจัดปลาเหล่านี้เป็นลักษณะปกติ โดยผู้วิจัยสันนิษฐานว่าลักษณะโกลด์เฟลกและลักษณะตัวสีทอง ถูกควบคุมด้วยยีนต่างคู่กัน แต่อาจมียีนบางตำแหน่งที่ตั้งอยู่บนโครโมโซมเดียวกัน หากพิจารณาระหว่างลักษณะตัวสีทองและลักษณะโกลด์เฟลก ลักษณะตัวสีทองน่าจะมีอิทธิพลการแสดงออกเหนือลักษณะโกลด์เฟลก ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับลักษณะแพลทินัมในปลาการ์ตูนเพอร์คูลาที่มีอิทธิพลเหนือลักษณะปักส์โซ่ หมายความว่าหากปลาที่มียีนโหนด gg จะแสดงลักษณะตัวสีทอง และข่มลักษณะโกลด์เฟลกไม่ให้แสดงออก

จากการศึกษาครั้งนี้มีข้อสังเกตว่า คู่ผสมระหว่าง แม่ปลาสีปกติ x สีปกติ และแม่ปลาสีปกติ x ตัวสีทอง แม่ปลาวางไข่ได้ง่ายและวางไข่จำนวนมากในแต่ละครั้ง ในทางกลับกันคู่ผสมระหว่าง แม่ปลาตัวสีทอง x สีปกติ และ แม่ปลาตัวสีทอง x ตัวสีทอง แม่ปลาวางไข่น้อย ใช้เวลานานกว่าจะเริ่มวางไข่ หรือวางไข่ไม่ต่อเนื่องเหมือนปลาสีปกติ นอกจากนั้นยังพบว่า แม่ปลาตัวสีทองมักวางไข่จำนวนน้อย อัตราการผสมและอัตราการฟักเป็นตัวต่ำ ซึ่งเป็นไปได้ว่ายีนโหนด gg อาจมีผลทางลบต่อระบบสืบพันธุ์ของปลาเมื่อปลาเป็นเพศเมีย แต่ไม่มีผลเมื่อปลาเป็นเพศผู้ ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจต่อไป

สรุปผลการศึกษา

ลักษณะตัวสีทองในปลาการ์ตูนทองถูกควบคุมโดยยีนด้อย 1 คู่ มีตำแหน่งอยู่บนออโตโซม มีการถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล ปฏิกริยาการข่มของยีนเป็นแบบข่มสมบูรณ์ มีลักษณะปรากฏ 2 ลักษณะ ปลาที่มียีนโหนด GG และ Gg แสดงลักษณะปรากฏเป็นสีปกติ ในขณะที่ยีนโหนด gg แสดงลักษณะปรากฏเป็นตัวสีทอง ปลาสีปกติที่มียีนโหนด GG และปลาตัวสีทองซึ่งมียีนโหนด gg ถือเป็นพันธุ์แท้ หรือ breed true

ข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ การวางแผนการผสมพันธุ์ การทดสอบพันธุ์ และการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ นอกจากนั้นยังสามารถประยุกต์ใช้เป็นยีนฉลาก (genetic marker) ในการตรวจสอบผลการศึกษาในทางพันธุศาสตร์ได้

ปลาการ์ตูนทองตัวสีทองใช้ระยะเวลานานในการพัฒนาสีให้เป็นสีทอง และความเข้มของสีทองในปลาแต่ละตัวมีความแตกต่างกัน จึงควรทำการศึกษารับปรุงพันธุ์หรือศึกษาด้านโภชนาการเพื่อให้สีทองพัฒนาได้เร็วขึ้น และมีสีทองเข้ม

นอกจากนั้น ระหว่างการศึกษานี้มีข้อสังเกตว่า ยีนไทป์ *gg* น่าจะเป็นปัจจัยทางพันธุกรรมที่ทำให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปลาเทศเมียลดลง เช่น ระยะเวลาเริ่มสืบพันธุ์ ประสิทธิภาพการผลิตเซลล์สืบพันธุ์ อัตราการผสม และอัตราการฟักไข่ เป็นต้น ซึ่งเป็นหัวข้อวิจัยที่น่าศึกษาต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายไพบุลย์ บุญลิปตานนท์ และนายชัยวัฒน์ วิชัยวัฒน์ อดีตผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะสัตว์น้ำชายฝั่งกระบี่ นายวิวรรธน์ สิงห์ทวีศักดิ์ ผู้อำนวยการศูนย์ฯ คนปัจจุบัน ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนมาโดยตลอด ขอขอบคุณนายภุชญา สุวรรณชัยรบ ที่ให้ความช่วยเหลือในการรวบรวมพันธุ์ปลาการ์ตูนทองตัวสีทอง ขอขอบคุณนางสาวอารีรัตน์ หนูเอียด และนางสาวชาลินี ช่างเรือ ผู้ช่วยปฏิบัติงานวิจัย ที่ทำงานอย่างขยันขันแข็ง ตลอดเวลาอันยาวนานของการเก็บข้อมูลสำหรับงานวิจัยชิ้นนี้

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2558. พันธุศาสตร์ปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 113 หน้า.
- จรัส สว่างทัพ. 2553. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2. ร้านเอกสาร ซีพี, บุรีรัมย์. 589 หน้า.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2559. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 398 หน้า.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2535. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพมหานคร. 342 หน้า.
- สมชัย จันทรสว่าง. 2549. พันธุศาสตร์สถิติในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 365 หน้า.

- สามารถ เดชสถิตย์, อำไพ ล่องลอย และ อรกัญญา เม่งหุย. 2563. การถ่ายทอดลักษณะสีแพลงทินัมในปลาการ์ตูนเพอร์คูลา *Amphiprion percula* (Lacepède, 1802). ใน: การประชุมวิชาการประมงประจำปี 2563. วันที่ 18-19 สิงหาคม 2563. ณ กรมประมง, กรุงเทพมหานคร. หน้า 82-92.
- สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2553. การปรับปรุงพันธุ์พืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 259 หน้า.
- สุภาพร สุขสีเหลือง. 2550. มินิวิทยา. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ. 568 หน้า.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2531. การถ่ายทอดลักษณะเผือกในปลาตุ๊กต๋อ. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 22: 221-224.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 203 หน้า.
- Allen G.R. 1991. Damselfishes of the World. Mergus Press, Hongkong. 271 pp.
- Bridges, B. and B.V. Limbach. 1972. Inheritance of Albinism in Rainbow Trout. *Heredity* 63(3): 152-153.
- Casas, L., F. Saborido-Rey, T. Ryu, C. Michell, T. Ravasi and X. Irigoien. 2016. Sex Change in Clownfish: Molecular Insights from Transcriptome Analysis. *Sci Rep.* 6(35461): doi: 10.1038/srep35461.
- Miniwaters. 2020. *Premnas sp. epigrammata* "Gold Nugget Maroon" Clownfish. Available source: <http://miniwaters.fish/shop/saltwater-marine-live/fish-saltwater-live/clownfish/premnas-sp-epigrammata-gold-nugget-maroon-clownfish/>. March 19, 2020.
- ORA. 2013. Gold Nuggets – Now Available. Available source: <https://www.orafarm.com/blog/2013/10/11/gold-nuggets-now-available/>. March 20, 2020.
- Pedersen, M. 2016. Friday Photospread: Gold Nugget & Gold Flake Maroon Clownfish. Available source: <https://www.reef2rainforest.com/2016/07/08/friday-photospread-gold-nugget-gold-flake-maroon-clownfish/>. March 19, 2020.
- Reich, L., J. Don and R. R. Avtalion. 1990. Inheritance of the Red Color in Tilapias. *Genetica* 80: 195-200.
- Tave, D. 1991. Genetics of Body Color in Tilapia. *Aquaculture magazine* March/April: 76-79.
- Tave, D. 1992. Genetics for Fish Hatchery Managers. 2nd edition. An AVI Book. USA. 415 p.