การประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานจังหวัดชัยภูมิโดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ ดีเอ็นเอ

นภาพร ศรีพุฒินิพนธ์[1] วงศ์ปฐม กมลรัตน์[2] อภิรดี หันพงศ์กิตติกูล[3*]
ณัฐพงค์ วรรณพัฒน์[4] และพงศ์เทพ จันทรชิต[4]
[1] ราชการบริหารส่วนกลาง กรมประมง
[2]สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด
[3]สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด
[4]สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดชัยภูมิ

บทคัดย่อ

การประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ รวบรวมตัวอย่างปลาบู่ในปี 2551 รวม 186 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 8 ตำแหน่งได้แก่ Om2, Om4, Om6, Om9, Om12, Om13 และ Om15 ผลวิเคราะห์พบว่าประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหาน ประกอบไปด้วยประชากรย่อยอย่างน้อย 3 กลุ่มประชากรที่มีช่วงเวลาของการสืบพันธุ์วางไข่ที่แตกต่างกันไป ปลาบู่ทรายในบึงละหานแต่ละกลุ่มประชากรย่อยนั้น มีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ โดยมี จำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งมีค่าอยู่ระหว่าง 2-19 อัลลิล มีจำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง ในแต่ละประชากรมีค่าอยู่ระหว่าง 3.6 ถึง 5.6 อัลลิล ค่า allelic richness ของประชากรมีค่าระหว่าง 3.47 ถึง 5.11 ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตีของแต่ละประชากรอยู่ระหว่าง 0.563-0.710 และมีค่าสูงกว่าค่าคาดหมายในทุกประชากร ทุกประชากรย่อยมี การเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก เกือบทุกตำแหน่งของไมโครแซทเทลไลท์ที่ศึกษา อีกทั้งขนาดประชากรสืบพันธุ์ (Ne) ของประชากรมีขนาดเล็กมาก โดยเดือนมีนาคม กันยายน และตุลาคม มีค่าเท่ากับ 4.0 , 4.2 และ 3.7 ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสถานภาพของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานอยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อ การสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม การออกมาตรการการบริหารจัดการที่ดีและมีการควบคุมอย่างเคร่งครัดจึงมีความจำเป็นเร่งด่วนเพื่อ การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของประชากรปลาบู่ในบึงละหาน

คำสำคัญ: ปลาบู่ทราย บึงละหาน ไมโครแซทเทลไลท์ เครื่องหมายดีเอ็นเอ ขนาดประชากร

[*]ผู้รับผิดชอบ: อาคารปรีดากรรณสูต ชั้น 6 กรมประมง เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทร. 0 2558 0148 e-mail: kunpagne@hotmail.com

Status and Genetic Structure of Sand Goby (*Oxyeleotris marmorata* Bleeker, 1852) Population in Bung Lahan, Chaiyapoom Using Microsatellite DNA Marker

Napaporn Sributinibondh[1] Wongpathom Kamonrat [2] Apiradee Hanpongkittikul[3*]
Nutthapong Wannapat[4] and Pongthep Jantharachit[4]
[1]Department of Fisheries
[2]Inland Fisheries Research and Development Bureau
[3]Inland Fisheries Resources Research and Development Institute
[4]Chaiyapoom Inland Fisheries Station

Genetic status and population structure of Sand goby samples from Bung Lahan, Chaiyapoom Province were assessed using 8 microsatellite DNA markers (Om2, Om4, Om6, Om9, Om12, Om13 and Om15). Total of 186 young fish were collected from three locations in 2008. Paired-Fst, Genic differentiation and Multidimentional analysis indicated that Sand goby population in Bung Lahan was separated into 3 subpopulations according to their different spawning time. Low levels of variability were observed with number of alleles per locus ranging from 2-19 with the average of 3.6 to 5.6 alleles. Alleric richness ranged from 3.47 to 5.11. The observed heterozygosities ranged from 0.5794-0.7098 and were higher than those of equilibrium expectations. The exact tests suggested that most of genotype frequencies distorted from Hardy-Weinberg equilibrium. Furthermore, an effective population sizes, were very small in all subpopulations. There were 4.0, 4.2 and 3.7 in March September and October populations, respectively. The results of this study indicated that population of sand goby in Bung Lahan, Chaiyapoom Province may be at risk. Fishery management for populations is urgently required for their sustainable used.

Key words: *Oxyeleotris marmorata*, Bung Lahan, Microsatellite, DNA Marker, Effective population size

*Corresponding author: Preedakanasuta building Department of Fisheries Bangkok 10900
Tel. 0 2558 0178 e-mail: kunpagne@hotmail.com

คำนำ

ปลาบู่ทราย *Oxyeleotris marmorata* (Bleeker, 1852) Marble goby หรือ Sand goby เป็นสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจที่สำคัญของไทยชนิดหนึ่ง นิยมบริโภคอย่างแพร่หลายทั่วไปภายในประเทศ และส่งออกไปยังต่างประเทศทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายพันล้านบาท ประเทศที่นำเข้าปลาบู่ทรายมีชีวิตสามอันดับแรก คือ ประเทศมาเลเซีย ไต้หวัน และจีน ในช่วงปี พ .ศ. 2533 – 2544 ปริมาณปลาบู่ทรายมีไม่เพียงพอกับความต้องการ ประเทศผู้นำเข้ามีปริมาณความต้องการเพิ่มขึ้นทุกปี ปัจจุบันผลผลิตปลาบู่ทรายส่วนใหญ่ เป็นการจับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ในขณะที่กรมประมงประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปลาบู่มาตั้งแต่ปี พ.ศ.2515 การผลิตลูกปลาบู่ขนาดที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงในกระชัง (ขนาดประมาณ 5 นิ้ว) ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรแม้กรมประมงจะมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องก็ตาม ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาบู่จำเป็นต้องใช้ พันธุ์ปลาที่รวบรวมจากแหล่งธรรมชาติ ส่งผลให้การเลี้ยงปลาบู่ในกระชังมีข้อจำกัดและไม่ขยายตัวเท่าที่ควร

การใช้แหล่งน้ำธรรมชาติเป็นแหล่งผลิตและรวบรวมพันธุ์สัตว์น้ำมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการบริหารจัดการประมงที่มีประสิทธิภาพและมีการควบคุมที่เคร่งครัด เพื่อไม่ให้มีการจับสัตว์น้ำมากเกินกว่ากำลังผลิตของธรรมชาติ โดยเฉพาะในกรณีปลาบู่ซึ่งมีการรวบรวมปลาขนาดเล็กขึ้นมาใช้ประโยชน์ร่วมด้วย โดยทั่วไป สัตว์น้ำในแหล่งธรรมชาติแหล่งใดแหล่งหนึ่งมักจะมีโครงสร้างประชากรที่แตกต่างกันไป ได้แก่ ประชากรเดี่ยว (panmictic population) ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมไม่ว่าจะรวบรวมมาจากบริเวณไหนหรือเวลาใดก็ตาม และประชากรผสม (mixed population) ซึ่งเกิดจากการรวมกันของประชากรที่มีแหล่งกำเนิดหรือบรรพบุรุษที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ทั้งนี้ การบริหารจัดการทรัพยากรสัตว์น้ำชนิดหนึ่งให้มีประสิทธิภาพจำเป็นต้องมีความรู้เรื่องโครงสร้างของประชากรดังกล่าว

ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมชนิดที่มีความผันแปรสูง (highly repetitive DNA) พบในบริเวณจีโนมส่วนที่ไม่ได้ทำหน้าที่สร้างยีน (intron) จึงทำให้มีความเหมาะสมในการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรที่เพิ่งเกิดขึ้นหรือแยกตัวจากประชากรเดิมไม่นานนัก (Wright and Bentzen, 1994) เมื่อนำมาวิเคราะห์ตัวอย่างสัตว์น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่รวบรวมในพื้นที่และระยะเวลาที่แตกต่างกัน ผนวกกับการวิเคราะห์ข้อมูลโดยหลักการทางพันธุศาสตร์ประชากรจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการบริหารจัดการทรัพยากรสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

รายงานฉบับนี้เป็นการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลาบู่ทรายในบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ ซึ่งเป็นแหล่งน้ำจืดธรรมชาติขนาดใหญ่ มีพื้นที่ 187.5 ไร่ และเป็นแหล่งรวบรวมลูกปลาบู่มีชีวิตแหล่งใหญ่แหล่งหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ปริมาณปลาบู่ในแหล่งน้ำดังกล่าวมีแนวโน้มปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง ข้อมูลที่ได้สามารถนำมาใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรปลาบู่ในบึงละหานเพื่อให้สามารถมีการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป

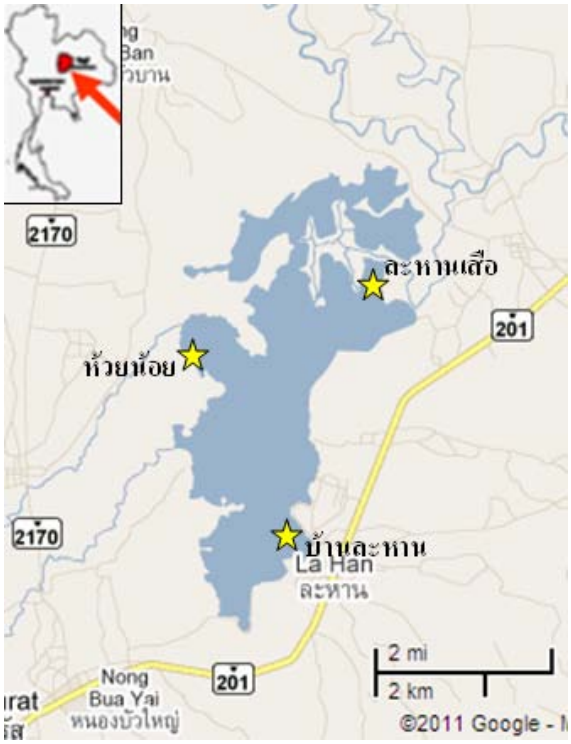
วัตถุประสงค์

1. ศึกษาโครงสร้างและความหลากหลายทางพันธุกรรมประชากรของปลาบู่ทรายลักษณะเชิงพื้นที่และเวลาในบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ
2. ประเมินสถานภาพของประชากรปลาปลาบู่ทรายในแหล่งรวบรวมพันธุ์ปลาจากบึงละหาน เพื่อใช้เป็นข้อแนะนำในการบริหารจัดการประมง

วิธีดำเนินการศึกษา

ก. การรวบรวมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างปลาบู่ทรายในบึงละหาน อำเภอจัตุรัส จังหวัดชัยภูมิ จำนวน 3 สถานี คือ บ้านละหาน ห้วยน้อย และละหานเสือ (ภาพที่ 1) และทำการรวบรวมตัวอย่าง 3 ครั้งในเดือน มีนาคม กันยายน และตุลาคม ปี 2551 โดยใช้เครื่องมือช้อตด้วยไฟฟ้าขนาด 220 วัตต์ อวนตาถี่ (ขนาดช่องตา 1 ซม.) ลอบดักและซื้อจากผู้รวบรวมปลาในพื้นที่ รวมจำนวนตัวอย่าง 1 41 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) วัดความยาวก่อนเก็บรักษาตัวอย่างสารพันธุกรรมโดยรวบรวมตัวอย่างครีบ และเนื้อเยื่อ เก็บรักษาไว้ในเอทานอล 99.85% (absolute ethanol) โดยแบ่งแยกออกตามแหล่งตัวอย่างและเดือนที่เก็บ บันทึกข้อมูลของตัวอย่างในระบบฐานข้อมูลเพื่อควบคุมการเก็บฝากและสืบค้นของธนาคารดีเอ็นเอสัตว์น้ำ กรมประมง และเก็บรักษาไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ 5 องศาเซลเซียสจนกว่าจะวิเคราะห์ตัวอย่าง



ภาพที่ 1 แสดงจุดรวบรวมตัวอย่างปลาบู่ทรายจากบึงละหาน อำเภอจัตุรัส จังหวัดชัยภูมิ

ข. การวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างครีบและเนื้อเยื่อของปลาบู่ทรายในบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ โดยดัดแปลงจากวิธีการ “A Single Tube Rapid Extraction of DNA from Fish Blood” (Sambrook and Russell, 2001) วัดปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20 ng/µL ก่อนนำไปวิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ โดยใช้ไพรเมอร์ซึ่งได้จากการพัฒนาของนภาพร และคณะ (2551) และออกแบบเพิ่มเติมรวม 8 ไพรเมอร์ ได้แก่ DTLOm2, DTLOm4, DTLOm6, DTLOm9, DTLOm11, DTLOm12, DTLOm13 และ DTLOm15 โดยวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบโพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ของแต่ละไพรเมอร์ดังรายละเอียดตามตารางที่ 2 แยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็คโตรโฟรเรซีสบนอะคริลาไมด์เจล 8 เปอร์เซ็นต์ (acrylamide gel) ในบัฟเฟอร์ TBE (Tris/Borate/EDTA) โดยใช้ sequenceing gel apparatus (Biorad, USA) ขนาด 30x40 เซนติเมตร ที่ระดับกระแสไฟฟ้า 50 วัตต์ เป็นเวลาประมาณ 2- 3 ชั่วโมง และอ่านขนาดโดยเปรียบเทียบกับเครื่องหมายดีเอ็นเอมาตรฐาน (10bp DNA ladder; Invitrogen) หลังจากย้อมเจลด้วยสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (Cyber Gold®) และอ่านผ่านเครื่องอ่านเจล (FluorChem 8000, Alpha Innotech Corp.)

ค. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ของปลา บู่ทรายในบึงละหานมา คำนวณค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้แก่ ค่าความถี่อัลลิล จำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง ค่า allelic richness และค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) วิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรม จากค่าประมาณ สัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient) (Wright, 1978) ตาม Weir and Cockerham (1984) และความแตกต่างระหว่างประชากร (populations differentiations) โดยการประมาณค่า exact *p*-value ด้วยวิธี Markov chain ตามวิธีการของ Guo and Thompson (1992) พร้อมทั้งทดสอบความเบี่ยงเบนจากสมดุล ฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) ในโปรแกรม GENEPOP Version 3.3 (Raymond and Rousset, 1995) และทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากร (Pairwise test of differentiation) ด้วยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 2001) ปรับระดับความน่าจะเป็น (*p*-value) ของทั้งสองการทดสอบเนื่องจาก การใช้ข้อมูลชุดเดิมวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วยวิธี Bonferroni correction (Hochberg, 1998; Rice, 1989) และจัดกลุ่มความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรโดยวิธี Multidimensional scaling: MDS โดยโปรแกรม SYSTAT และประมาณขนาดประชากรสืบพันธุ์ (effective population size, Ne) โดยวิธี Heterozygote access โดยใช้โปรแกรม NeEstimator (Peel *et al*., 2004).

ตารางที่ 1 แหล่งตัวอย่าง ขนาด และจำนวนตัวอย่างปลาบู่ทรายที่รวบรวมจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ

	แหล่งตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ขนาด(มม.)	จำนวน	ค่าเฉลี่ย±SD
มีนาคม	บ้านละหาน	BLH1	80-210	32	141.53+29.288 [a]
กันยายน	บ้านละหาน	BLH2	123-255	24	186.2+36.45 [b]
	ห้วยน้อย	HN2	123-290	17	203.18+27.51 [a]
	ละหานเสือ	LHS2	170-250	24	217.26+31.02 [a]
ตุลาคม	บ้านละหาน	BLH3	≤ 125	44	-

ตารางที่ 2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ อุณหภูมิในการ annealing จำนวนรอบ และส่วนประกอบในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (นภาพร และคณะ, 2551)

Primer name	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ (5'-3')	PCR Condition			
		Annealing Temperature (°C)	Number of Cycle (cycles)	Mg Cone (mM)	dNTPs (μM)
DTLOm 2	F: GGGAAAATTATTGTCGCAGAAG R: GGACATGGACAGTGAGACTCAGG	60	35	1.5	100
DTLOm 4	F: TCAGCACAGAAAAATCAATGCAG R: ATGTCCCAGCACACAAACAGC	60	35	1.5	100
DTLOm 6	F: TTAGCCCTTGTTGTTTTGCCTTC R: ACAGCGGGACTAGCTCTGGAC	60	40	2.5	100
DTLOm 9	F: CTACTTCCTCTCCCCTGCCTTG R: TTTTTGAGTGGTCCAGTTTCTGC	60	35	1.5	100
DTLOm 11	F: GCATGGCAGTGGGGATAAAAG R: TGCCCTATTTTCATTCCTTTGTG	60	35	1.5	100
DTLOm 12	F: ACCTAAAGCATGACCAGGAGACC R: GACGGACGCTAACACAAAGTCAG	60	35	2.5	100
DTLOm 13	F: CCAGAAGAACATTACTGGGCTG R: GGGCACTATATCTTCACCATTGC	65	35	2.5	100
DTLOm 15	F: CGCTTAGCATGGGTATCTCCAG R: TGTCACTATTTTTGAGCCCACAC	60	35	1.5	100

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของไมโครแซทเทลไลท์ในตัวอย่างประชากรปลาบู่ทรายรวบรวมจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ ระหว่างเดือนมีนาคมถึงตุลาคม 2551 ด้วยไพรเมอร์สำหรับปลาบู่ทรายจำนวน 8 ไพรเมอร์ คือ DTLOm2, DTLOm4, DTLOm6, DTLOm9, DTLOm11, DTLOm12, DTLOm13 และ DTLOm15 มีดังนี้

โครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากรของปลาบู่ทรายจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ

โครงสร้างประชากร ของปลาบู่ทรายในบึงละหานประเมินในภาพรวมจากตัวอย่างที่รวบรวมทั้งหมด พบว่า แต่ละกลุ่มตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยมีค่า สัมประสิทธิ์เอฟ (F_{ST}) ระดับปานกลาง เท่ากับ 0.184 (95% CI: 0.091-0.331) แสดงถึงประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานมีการแบ่งเป็น กลุ่มประชากรย่อย ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างระหว่างคู่ประชากร (Paired-F_{ST}) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างตัวอย่างของกลุ่มประชากรที่รวบรวมจากหลายพื้นที่ในเวลาเดียวกัน (BLH2, NH2 และ LHS2) โดยมีค่า F_{ST} เฉลี่ยเท่ากับ 0.0327 (Piared-F_{ST} มีค่าระหว่าง 0.019-0.081) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างตัวอย่างของกลุ่มประชากรที่รวมรวมในพื้นที่เดียวกันแต่ต่างเวลา (BLH1, BLH2 และ BLH3) โดยมีค่า F_{ST} เฉลี่ยเท่ากับ 0.2443 (Piared-F_{ST} มีค่าระหว่าง 0.098-0.275) (ตารางที่ 3) การวิเคราะห์ความแตกต่างของความถี่ของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอระหว่างคู่ประชากร (genic differentiation) ให้ผลที่สอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มย่อยของประชากร (ตารางที่ 4)

การวิเคราะห์การจัดกลุ่มประชากรจากค่า paired- F_{ST} โดยวิธี MDS แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานแบ่งเป็น 3 กลุ่มประชากรย่อยซึ่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระหว่างช่วงเดือนที่ศึกษา ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เดือนมีนาคม (BLH1) กลุ่มที่ 2 เดือนกันยายน (BLH2, HN2 และ LHS2) และกลุ่มที่ 3 เดือนตุลาคม (BLH3) (ภาพที่ 2)

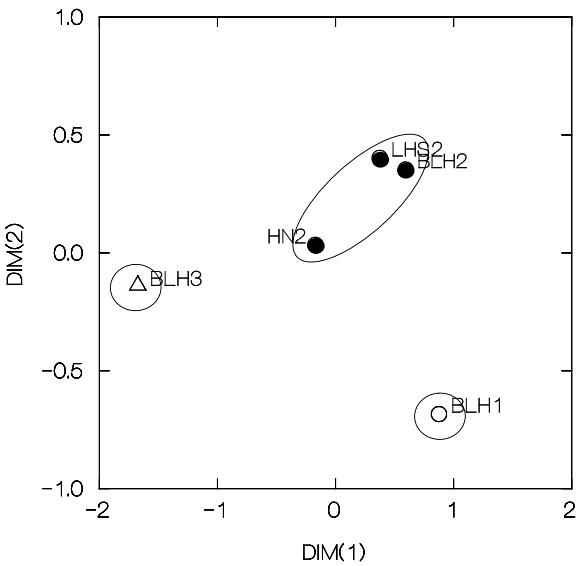
จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นให้ผลที่สอดคล้องกันว่า ตัวอย่างปลาบู่ที่รวบรวมในเวลาเดียวกันแต่ต่างพื้นที่ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมหรือกล่าวได้ว่ามาจากกลุ่มประชากรเดียวกัน ในขณะที่ตัวอย่างปลาที่รวบรวมจากพื้นที่เดียวกันแต่ต่างช่วงเวลานั้นมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือมาจากคนละกลุ่มประชากร จึงสามารถสรุปได้ว่า ประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานประกอบด้วยประชากรย่อยอย่างน้อย 3 ประชากรที่แบ่งแยกจากกัน ในเชิงฤดูกาล ลักษณะดังกล่าวน่าจะเกิดจากการที่ปลาบู่ทรายแต่ละประชากรมีช่วงเวลาของการผสมพันธุ์วางไข่ที่แบ่งแยกออกจากกันชัดเจน

ตารางที่ 3 แสดงการทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรบู่ทรายจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ (Pairwise test of differentiation) ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction ในแต่ละคู่ประชากร

	BLH1	BLH2	BLH3	NH2
BLH2	0.098*			
BLH3	0.275*	0.242*		
HN2	0.111*	0.081^{NS}	0.141*	
LHS2	0.110*	0.019^{NS}	0.219*	0.031^{NS}

ตารางที่ 4 แสดงการทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรบู่ทรายจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction ในแต่ละคู่ประชากร

คู่ประชากร	om2	om4	om6	om9	om11	om12	om13	om15
BLH2 & HN2	0.0606	0.0087	0.4623	1.0000	0.0150	0.4071	0.1652	0.0083
BLH2 & LHS2	0.4522	0.6934	0.3469	1.0000	0.0233	0.8133	0.3686	0.0212
HN2 & LHS2	0.1724	0.0199	0.6021	0.5674	0.1757	0.5009	0.0534	0.0307
BLH1 & BLH2	0.2491	0.7510	0.0167	1.0000	***	0.1237	***	0.1570
BLH1 & BLH3	0.5979	***	***	0.2583	***	***	***	***
BLH2 & BLH3	0.0699	***	***	0.6738	***	***	***	***



ภาพที่ 2 การจัดกลุ่มความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรโดยวิธี MDS ของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานตามลักษณะพื้นที่ (BLH-บ้านละหาน HN-ห้วยน้อย LHS-ละหานเสือ ตัวเลขต่อท้ายประชากร 1, 2 และ 3 แทนตัวอย่างในเดือนมีนาคม กันยายน และตุลาคม ตามลำดับ)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาบู่ทรายแต่ละประชากรย่อยในบึงละหานจังหวัดชัยภูมิ

เนื่องจาก ผลการวิเคราะห์ โครงสร้างพันธุกรรมของตัวอย่างปลาบู่ในบึงละหานแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละช่วงเวลา (มีนาคม กันยายน และตุลาคม) การวิเคราะห์ ความหลากหลายของไมโครแซทเทลไลท์ ภายในประชากรจึงดำเนินการโดยรวมตัวอย่างที่เก็บในแต่ละเดือนเป็นประชากรเดียวกันเพื่อให้จำนวนตัวอย่างในการวิเคราะห์มีจำนวนมากขึ้นซึ่งน่าจะลดปัญหาความคลาดเคลื่อนจากการวิเคราะห์เนื่องจากตัวอย่างจำนวนน้อยลงไปได้ระดับหนึ่ง และผลการวิเคราะห์พบว่า ตัวอย่างของประชากรในแต่ละเดือนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ โดยมี จำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งมีค่าอยู่ระหว่าง 2-19 อัลลิล มีจำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง ในแต่ละประชากร มีค่าอยู่ระหว่าง 3.6 ถึง 5.6 อัลลิล ค่า allelic richness ของประชากรมีค่าระหว่าง 3.47 ถึง 5.11 ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตีของแต่ละประชากรอยู่ระหว่าง 0.563-0.710 และมีค่าสูงกว่าค่าคาดหมายในทุกประชากร (ตารางที่ 5) เมื่อทดสอบสมดุลฮาร์ดี -ไวน์เบิร์กและปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วย Bonferroni correction พบว่าทุกประชากรย่อยมี การเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก เกือบทุกตำแหน่งของไมโครแซทเทลไลท์ที่ศึกษา และ ในทุกประชากร มีค่าสัมประสิทธิ์ F_{IS} เป็นลบแสดงว่า มีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตีสูงกว่าค่าคาดหมาย ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการเป็นประชากรขนาดเล็ก โดยค่าประมาณขนาดประชากรสืบพันธุ์ (Ne) ของประชากรเดือนมีนาคม กันยายน และตุลาคม มีค่าเท่ากับ 4.0 , 4.2 และ 3.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนตัวอย่างในแต่ละประชากร ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง ค่า Allelic Richness ค่าเฉลี่ยค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี และ ค่าคาดหมาย ค่า F_{IS} และจำนวนประชากรสืบพันธุ์ (N_e) ของปลาบู่ทรายจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ

	N	no. of allele per sample	alleric richness	Heterozygosity He	Ho	F_{IS}	Ne
มีนาคม	32	3.6	3.47	0.461	0.563	-0.227	4.0
กันยายน	65	5.6	4.60	0.566	0.692	-0.227	4.2
ตุลาคม	44	5.6	5.11	0.559	0.710	-0.275	3.7

ตารางที่ 6 แสดงการทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในประชากรย่อยของปลาบู่ทรายจากบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction

	Om2	Om 4	Om 6	Om 9	Om 11	Om 12	Om 13	Om 15
มีนาคม	***	1.0000	***	-	1.0000	***	***	0.0419
กันยายน	***	0.0517	***	1.0000	***	***	***	***
ตุลาคม	***	-	***	1.0000	***	***	***	0.0618

แนวทางในการบริหารจัดการทรัพยากรปลาบู่ทรายในบึงละหาน

โดยธรรมชาติของปลาบู่ทรายสามารถอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วทุกภาค ทั้งแม่น้ำลำคลอง อ่างเก็บน้ำทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก การเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ซึ่งความพร้อมในการผสมพันธุ์ของปลาบู่ทรายจะแตกต่างกันไปตามแต่ละสภาพของแหล่งน้ำ จากการเก็บข้อมูลการวางไข่ของแม่ปลาบู่ทรายของสถานีประมงปทุมธานี ในปี 2527 พบว่าปลาบู่ทรายสามารถวางไข่ได้ เกือบตลอดทั้งปี ยกเว้นในช่วงฤดูหนาว ตลอดฤดูวางไข่จะสามารถวางไข่ได้ประมาณ 3 ครั้ง (ภาณุ และคณะ, 2532) และจากการสังเกตการณ์ผสมพันธุ์ของปลาบู่ทรายในธรรมชาตินั้นปลาบู่ทรายจะเริ่มวางไข่เมื่อย่างเข้าสู่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม (ศูนย์พัฒนาประมงพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนังอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2552) ในขณะที่ผลการศึกษาของชัยณรงค์ และจารึก (2551) ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนลำปาว จังหวัดกาฬสินธุ์ พบว่าปลาบู่ทรายวางไข่ในช่วงระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงกันยายน

ผลการศึกษาโครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากรของปลาบู่ทรายในบึงละหาน จังหวัดชัยภูมิ จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมระหว่างปี 2551 โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ พบว่าประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานประกอบไปด้วยประชากรย่อยอย่างน้อย 3 กลุ่มประชากรที่มีช่วงเวลาของการสืบพันธุ์วางไข่ที่แตกต่างกันไป กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ ลูกปลาบู่ทรายที่พบในบึงละหานซึ่งสามารถรวบรวมได้ตลอดปีนั้นไม่ได้เกิดจากประชากรเดียวกัน ดังนั้น การบริหารจัดการการทำประมงจึงควรพิจารณาในเชิงของเวลามากกว่าตามลักษณะพื้นที่

อย่างไรก็ตาม ปลาบู่ทรายในบึงละหานแต่ละกลุ่มประชากรย่อยนั้น มีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ และมีขนาดประชากรสืบพันธุ์ขนาดเล็กมาก ซึ่งประชากรสืบพันธุ์มีบทบาทในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกและรุ่นต่อๆไป ซึ่งโดยปกติแล้วประชากรสืบพันธุ์จะมีขนาดเล็กกว่าจำนวนสมาชิกในประชากรหนึ่งๆ เนื่องจากสมาชิกของประชากรบางตัวไม่ได้เจริญพันธุ์ หรือไม่มีลูก ทำให้สารพันธุกรรมของตัวเองไม่ได้ส่งผ่านและเป็นองค์ประกอบของสมาชิกใหม่ในรุ่นถัดๆไป (Falconer, 1981) ผลการศึกษาประชากรสืบพันธุ์ของปลาบู่ทรายในบึงละหาน ในแต่ละประชากรย่อย คือประชากรเดือนมีนาคม กันยายน และตุลาคม ประมาณค่าได้เท่ากับ 4.0, 4.2 และ 3.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) แสดงให้เห็น จำนวนประชากรสืบพันธุ์ซึ่งมีค่าต่ำมากในทุกประชากรย่อย ซึ่ง FAO (1981) Franklin (1980) และ Nelson and Soule (1987) แนะนำว่าในประชากรธรรมชาติหากต้องการคงศักยภาพในเชิงวิวัฒนาการนั้น ขนาดประชากรสืบพันธุ์ควรมีขนาดเท่ากับ 500-5,000 เพื่อการปรับตัวและการพัฒนาในระยะยาว

ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสถานภาพของประชากรปลาบู่ทรายในบึงละหานอยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน การจะใช้บึงละหานเป็นแหล่งรวบรวมลูกปลาบู่ทรายเพื่อนำไปเลี้ยงต่อในกระชังในปัจจุบันยังถือว่ามีความเสี่ยงสูง และมีความจำเป็นเร่งด่วนในการออกมาตรการ การบริหารจัดการที่ ดีและมีการควบคุมอย่างเคร่งครัด นอกจากนี้ งานวิจัยเกี่ยวกับผลผลิตและพลวัตรประชากรปลาบู่ทราย รวมทั้ง

นิเวศวิทยาของบึงละหานมีความจำเป็นอย่างมากต่อการวางแผนการบริหารจัดการทรัพยากรปลาบู่ทรายในบึงละหานเพื่อให้เกิดความยั่งยืนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นภาพร ศรีพุฒินิพนธ์, อภิรดี หันพงศ์กิตติกูล และวงศ์ปฐม กมลรัตน์. 2551. การพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมดีเอ็นเอชนิดไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์สำหรับปลาบู่ทราย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2551. กรมประมง.

ชัยณรงค์ ชื่นชม และจารึก นาชัยเพิ่ม. 2551. ฤดูวางไข่และแหล่งวางไข่ของปลาบางชนิดในอ่างเก็บน้ำเขื่อนลำปาว จังหวัดกาฬสินธุ์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 85/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 67 หน้า.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล ทวี วิพุทธานุมาศ และ อนุสสรณ์ มีวรรณ. 2532. การเพาะและอนุบาลลูกปลาบู่ทราย. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 10/2532. สถานีประมงน้ำจืดปทุมธานี กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.

วงศ์ปฐม กมลรัตน์. 2551. ความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจัดการทรัพยากรประมง. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 1/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 37 หน้า.

ศูนย์พัฒนาประมงพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนังอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2552. ปลาบู่. http://www.fisheries.go.th/cfpak_panang/web2/index.php?option=com_content&view=article&catid=28:2009-10-19-12-36-42&id=88:2009-12-09-08-14-10. 3 สิงหาคม 2552.

Falconer. D.S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. Second edition. Longman House., England. 340 pp.

FAO. 1981. Conservation of the genetic resources of fish: problems and recommendations. FAO Fisheries Technical Paper 217, Rome, Italy. 43p.

Frankham, R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe. 2004. A Primer of Conservation Genetics. Cambridge University Press. 234 pp.

Franklin, I. R. 1980. Evolutionary change in small populations. Pp. 135–150. *In* Soule, M.E. & Wilcox, B.A. (eds.). Conservation Biology. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html. Updated from Goudet (1995)

Guo, S. W. and E. A., Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.

Hill, W. G. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genet. Res.* 38, 209-216.

Hochberg, Y. 1998. A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika* 75(4): 800-802.

Miller, M.P. 1997. Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA) version 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University. Available from http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm.

Nelson, K. and Soulé, M. 1987. Genetical conservation of exploited fishes. pp.345–368. *In* Ryman, N. & Utter, F. (eds.). Population genetics and fishery management. Washington Sea Grant Program, Seattle.

Peel, D., J. R. Ovenden and Peel, S.L. 2004. NeEstimator: software for estimating effective population size, Version 1.3. Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries.

Raymond, M. and F., Rousset. 1995. GENEPOP (version 3.3): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248-249.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 34(1): 223-225.

Sambrook, J. and D. W. Russell. 2001. Molecular Cloning: a laboratory manual 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 2,100 pp.

Wright, J. M. 1978. Evolution and the Genetic of Populations, Vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago. 590 pp.

Weir, B.S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating *F*-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.