การประเมินโครงสร้างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทยโดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

อภิรดี หันพงศ์กิตติกูล[1*] วงศ์ปฐม กมลรัตน์[2] ยงยศ หรี่คะนอง[3]

[1]กลุ่มวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพสัตว์น้ำจืด กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด
[2]ราชการบริหารส่วนกลาง [3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดตราด

บทคัดย่อ

การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาก้างพระร่วงในจังหวัด ตรัง พัทลุง และนราธิวาส โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ 6 ไพรเมอร์ (DTLKb8, DTLKb9, DTLKb10, DTLKb12, DTLKb15 และ DTLKb19) พบว่าประชากรปลาก้างพระร่วงแบ่งเป็นกลุ่มประชากรย่อยซึ่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ (Fst=0.039; 95% CI: 0.0184-0.0664) โดยตัวอย่างปลาก้างพระร่วงที่รวบรวมจากจังหวัดภาคใต้มีจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งและค่า allelic richness เท่ากับ 15.8 ± 2.54 ถึง 26.7 ± 8.20 และ 11.9 ถึง 15.0 ตามลำดับ ค่าสังเกตเฮทเทอโรไซโกซิตีมีค่าระหว่าง 0.48 ถึง 0.74 ตัวอย่างจากพัทลุงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมและขนาดประชากรสืบพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างจากตรังและนราธิวาส ทุกประชากรย่อยมีความถี่ยีโนไทพ์เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กและพบการสูญหายของอัลลิลบางอัลลิลในกลุ่มตัวอย่างของจังหวัดตรังและนราธิวาส โครงสร้างประชากรย่อยของปลาก้างพระร่วงจากจังหวัดในภาคใต้แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยอย่างชัดเจน คือฝั่งตะวันออก (พัทลุง นราธิวาส) และฝั่งตะวันตก (ตรัง) ตามแนวการแบ่งทางภูมิศาสตร์ ประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้มีความแตกต่างทางองค์ประกอบและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรอย่างมีนัยสำคัญ ประกอบกับขนาดประชากรสืบพันธุ์ยังต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานเพื่อการปรับตัวและการคงศักยภาพในเชิงวิวัฒนาการ จึงยังมีความเสี่ยงต่อการคงอยู่ของประชากร และต้องการมาตรการจัดการประมงอย่างเร่งด่วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มตัวอย่างจากจังหวัดตรังที่มีขนาดประชากรสืบพันธุ์เหลืออยู่ไม่ถึง 10% ของจำนวนที่แนะนำ ทั้งนี้ เนื่องจากประชากรทั้งสามแยกกันอย่างอิสระ แต่ละประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญ ประกอบกับมีแหล่งอาศัยไม่ต่อเนื่องกัน จึงควรบริหารจัดการการทำประมงปลาก้างพระร่วงแต่ละประชากรแยกจากกัน

<u>คำสำคัญ:</u> ปลาก้างพระร่วง ความหลากหลายทางพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลท์ เครื่องหมายดีเอ็นเอ

[*]ผู้รับผิดชอบ: อาคารปรีดากรรณสูต ชั้น 6 กรมประมง เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทร. 025580148 e-mail: kunpagne@gmail.com

Genetic Structure of Glass Catfish (*Kryptopterus vitreolus* Ng & Kottelat, 2013) Population in Southern Thailand Using Microsatellite DNA Marker

Apiradee Hanpongkittikul[1*] Wongpathom Kamonrat[2] Yongyote Reekanong[3]

[1]Biodiversity Research Group Inland Fisheries Research and Development Division

[2]Department of Fisheries [3]Trad Inland Aquaculture Research and Development Center

Abstract

Genetic inventory of Glass Catfish (*Kryptopterus vitreolus* Ng & Kottelat, 2013) in Southern Thailand were assessed in three provinces, Trang Phattalung and Narathiwat, using 6 microsatellite DNA markers (DTLKb8, DTLKb9, DTLKb10, DTLKb12, DTLKb15 and DTLKb19). Small Fst indicated weak genetic structuring (Fst=0.039; 95% CI: 0.0184-0.0664). The number of alleles per locus and allelic richness ranged from 15.8±2.54 to 26.7±8.20 and 11.9 to 15.0, respectively. Observed heterozygosities were moderate and ranged from 0.41 to 0.53. Fish from Phattalung province exhibited a highest genetic variation and the highest effective population size. The loss of some rare alleles was found in fish from Trang and Narathiwat. The exact tests suggested that most of genotype frequencies distorted from Hardy-Weinberg equilibrium. Loss of some rare alleles were found in Trang and Narathiwat subpopulation. Genetic composition of fish in Southern Thailand was separated into two groups according to the geographical area, East side (Phattalung and Narathiwat) and West side (Trang). Moreover, the significant in genetic composition and small effective population indicated that Ghost catfish population in Southern Thailand are in risk and need to be urgently managed, especially Trang Province which their effective population is more than 10 percent smaller than recommended level for conservation of natural population. All three populations were genetically distinct as well as their habitats were separated, therefore, the management of these populations should be done separately.

Keywords: *Kryptopterus vitreolus,* Ghost catfish, Genetic diversity, Microsatellite, DNA marker

*Corresponding author: 6 th floors Preedakanasuta Building Department of Fisheries Lardyao Chatuchak Bangkok 10900 Tel. 02558 0148 e-mail: kunpagne@gmail.com

คำนำ

ปลาก้างพระร่วง *Kryptopterus vitreolus* Ng & Kottelat, 2013 มีชื่อสามัญว่า Glass catfish หรือ Ghost catfish เป็นปลาสวยงามพื้นเมืองที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของไทย พลพจน์ และคณะ (2551) รายงานข้อมูลการส่งออกปลาก้างพระร่วงในประเทศไทยในช่วงปี 2544-2546 ว่ามีปริมาณการส่งออก 195,023 - 627,793 ตัวคิดเป็นมูลค่า 1.03 -3.00 ล้านบาท ต่อมาข้อมูลจากกองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิตแสดงว่าจำนวนปลาที่ส่งออกมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในปี 2559 จำนวน 3,065,020 ตัว คิดเป็นมูลค่า 13 ล้านบาท แต่ปริมาณการส่งออกลดลงในปี 2560 ส่งออกจำนวน 2,846,050 ตัว คิดเป็นมูลค่า 15.1 ล้านบาท และปี 2561 ส่งออกจำนวน 1,563,569 ตัว คิดเป็นมูลค่า 10.8 ล้านบาท (เดชาธร, ติดต่อส่วนตัว) แต่เนื่องจากการวิจัยเพื่อเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ในที่กักขังยังไม่ประสบความสำเร็จ ทำให้ปริมาณปลาที่ส่งออกต้องอาศัยการรวบรวมปลาจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เพียงอย่างเดียว อีกทั้งแหล่งน้ำธรรมชาติที่เป็นแหล่งอาศัยของปลาก้างพระร่วงในประเทศไทยมักจะมีลักษณะเฉพาะและส่วนใหญ่จะเป็นลำคลองขนาดเล็กบริเวณเชิงเขา ไปจนถึงแหล่งน้ำในพื้นที่ราบลุ่มที่น้ำไหลเอื่อยๆ สภาพน้ำใสไหลมาจากลำธารต้นน้ำ และมีความสะอาดมาก มีร่มเงาและรากไม้ให้หลบซ่อน (Kottelat and Widjanarti, 2005; Bik, 2015) ซึ่งพบแหล่งน้ำสภาพนี้ได้ยากในปัจจุบัน นอกจากนี้การศึกษาของอังสุนีย์ (2538) พบว่าปลาก้างพระร่วงในแหล่งน้ำธรรมชาติมีจำนวนลดน้อยลง เนื่องจากถูกทำการประมงไปจำนวนมาก โดยจังหวัดที่เป็นแหล่งจับปลาก้างพระร่วงจากธรรมชาติที่สำคัญของไทยมีอยู่หลายแหล่งในพื้นที่ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดนครนายก จันทบุรี และตราด ส่วนในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สตูล พัทลุง สงขลา ปัตตานี นราธิวาส และระนอง เป็นต้น โดยแหล่งรวบรวมหลักในปัจจุบันอยู่ในพื้นที่ อำเภอเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง (Bik, 2015) ธีรภัทร์ และคณะ (2553) ทำการสำรวจประชากรปลาก้างพระร่วงในลำคลองในเขตอำเภอตะโหมด เขาชัยสน ป่าบอน และบางแก้ว รวมทั้งลำห้วยบริเวณท้ายน้ำในส่วนที่ติดต่อกับทะเลสาบสงขลาในพื้นที่อำเภอบางแก้วและปากพะยูน จังหวัดพัทลุง พบกลุ่มปลาขนาดเล็กและปลาขนาดใหญ่จำนวนน้อย ส่วนใหญ่จะเป็นประชากรปลาขนาดกลาง ซึ่งผู้วิจัยสรุปว่าปลาที่เกิดขึ้นใหม่มีจำนวนลดน้อยลง และถ้าหากไม่มีการจัดการประมงที่เหมาะสมอาจจะทำให้เกิด ผลกระทบต่อกำลังผลิตตามธรรมชาติของประชากรและไม่อาจเกิดความยั่งยืนในการใช้ทรัพยากรได้

การใช้ประโยชน์จากทรัพยากรประมงจนเกินกำลังผลิตของแหล่งน้ำ เป็นสาเหตุหลักสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ (วงศ์ปฐม, 2551) ทั้งนี้ การที่จะบริหารทรัพยากรประมงให้มีประสิทธิภาพ จำเป็นจะต้องทราบถึงชีววิทยาและสถานภาพของประชากร ได้แก่ การแพร่กระจาย ลักษณะและขนาดของประชากร ตลอดจนความผันแปรของประชากรระหว่างปี อย่างไรก็ตาม การศึกษาด้านประชากรศาสตร์ในทางปฏิบัติดำเนินการค่อนข้างยาก และจำเป็นต้องใช้แรงงาน งบประมาณค่อนข้างสูง และข้อมูลที่ได้ยังไม่ได้บอกถึงรายละเอียดเพียงพอในการประเมินสถานภาพที่แท้จริงของประชากร เช่น การที่พบปลาชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นจำนวนมากไม่ได้ชี้ให้เห็นถึงความหลากหลายในประชากรปลาชนิดนั้นๆ ในขณะที่ข้อมูลทางพันธุกรรมจะช่วยชี้ให้เห็นถึงสถานภาพและสภาวะอันตรายของประชากร เนื่องจากสามารถบ่งบอกถึง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรนั้นๆได้ (วงศ์ปฐม, 2551) เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร (O'Reilly and Right, 1995) สามารถนำมาใช้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรสัตว์น้ำและสถานภาพของประชากรปลาในธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ และใช้งบประมาณไม่สูงมากนัก

ปัจจุบันผลผลิตปลาก้างพระร่วงได้มาจากการรวบรวมจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียว ทำให้อาจส่งผลกระทบต่อจำนวนปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติหากมีการทำการประมงมากเกินกำลังผลิต ประกอบกับแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพสังคมเมือง อาจส่งผลให้จำนวนปลาก้างพระร่วงในธรรมชาติลดน้อยลง โครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากร ความหลากหลายทางพันธุกรรม และขนาดประชากรสืบพันธุ์ และสถานภาพของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรัง พัทลุง และนราธิวาส ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำใช้เป็นข้อมูลประกอบคำแนะนำในการบริหารจัดการทรัพยากรที่เหมาะสมในแต่ละแหล่งน้ำและเพื่อการวางแผนการใช้ประโยชน์ทรัพยากรปลาก้างพระร่วงอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

วัตถุประสงค์

ประเมินโครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากรและสถานภาพความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรัง พัทลุง และนราธิวาส

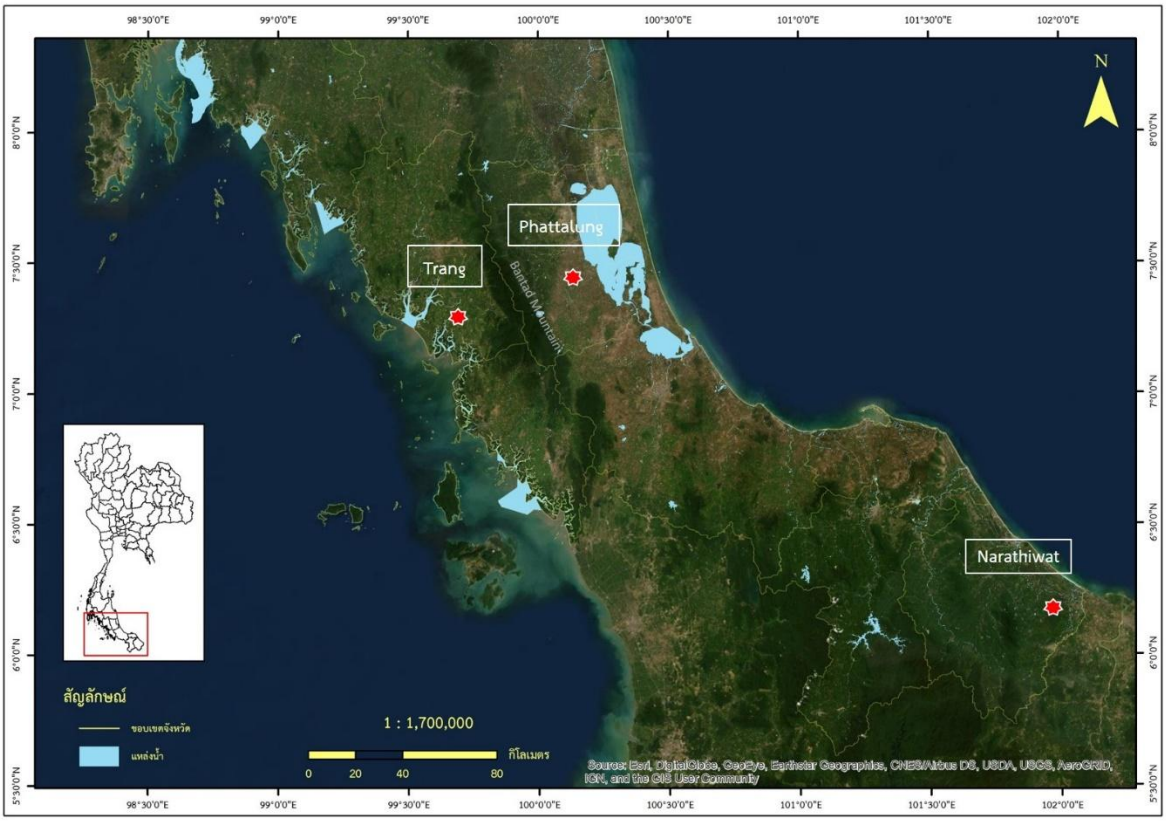
วิธีดำเนินการ

ตัวอย่างศึกษา

ดำเนินการรวบรวมตัวอย่างปลาก้างพระร่วง ในพื้นที่ 3 จังหวัด (ภาพที่ 1) ได้แก่

1. จังหวัดตรัง รวบรวมจากบริเวณคลองวังยาว ตำบลสุโสะ อำเภอปะเหลียน
2. จังหวัดพัทลุง รวบรวมจากลำคลองบริเวณต้นน้ำในเขตอำเภอตะโหมด ลำห้วยบริเวณตอนกลางในพื้นที่อำเภอเขาชัยสน ป่าบอน และอำเภอบางแก้ว, และลำห้วยบริเวณท้ายน้ำในส่วนที่ติดต่อกับทะเลสาบสงขลาในพื้นที่อำเภอบางแก้ว และอำเภอปากพะยูน
3. จังหวัดนราธิวาส รวบรวมจากบริเวณลำคลองและพื้นที่พรุในพรุโต๊ะแดง

รวบรวมตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม 2557 ถึง เดือนกันยายน 2558 รวม 3 ครั้ง โดยการสุ่มตัวอย่างด้วยเครื่องมือประเภทสวิงขนาดใหญ่ และซื้อจากชาวประมงที่เป็นผู้รวบรวมปลา ทำการตรวจสอบตัวอย่างที่รวบรวมได้เพื่อยืนยันชนิดพันธุ์โดยลักษณะสัณฐานอนุกรมวิธาน ตาม Ng and Kottelat (2013) จากนั้นเก็บตัวอย่างครีบและเนื้อเยื่อเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความผันแปรพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอรักษาสภาพด้วยเอทานอล 99.99% (absolute ethanol) โดยแบ่งแยกออกตามแหล่งตัวอย่าง และเวลาที่เก็บแล้วเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิ 5°C จนกว่าจะวิเคราะห์ตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลของตัวอย่างในระบบฐานข้อมูลเพื่อควบคุมการเก็บฝากและสืบค้นของธนาคารดีเอ็นเอสัตว์น้ำ กรมประมง



ภาพที่ 1 จุดรวบรวมตัวอย่างปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทย (ตรัง พัทลุง และนราธิวาส)

การวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างครีบ และเนื้อเยื่อ โดยวิธีการ “A Single Tube Rapid Extraction of DNA from Fish Blood” (ดัดแปลงจาก Sambrook and Russell, 2001) โดยตัดแบ่งส่วนของเนื้อเยื่อจากตัวอย่าง 1 ตัวตามปริมาณที่ต้องการ (ประมาณ 50 mg) นำไปใส่ใน 10 ml extraction buffer (100 mM Tris-Cl, pH 8; 250 mM NaCl; 1 % SDS) และ 100 µg/ml Proteinase K บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่ ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), 1M NaCL และ 95 % ethanol alcohol ที่เย็นจัด 20 ml หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้งไปเหลือแต่ก้อนดีเอ็นเอ ล้างตะกอนดีเอ็นเอ โดยเติม 70 % ethanol 500 ml ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง เทส่วนใสด้านบนทิ้งและปล่อยให้ตะกอนดีเอ็นเอแห้งเอง จากนั้นละลายดีเอ็นเอด้วย double distilled water 50 µl และนำไปไว้ที่อุณหภูมิห้องจนดีเอ็นเอละลายหมด

ดีเอ็นเอที่ได้นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 25 ng/µL ก่อนนำไปวิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ โดยใช้ไพรเมอร์ที่พัฒนาจากดีเอ็นเอของปลาก้างพระร่วงจำนวน 6 ตำแหน่ง ได้แก่ DTLKb 8, DTLKb 10, DTLKb 12, DTLKb 15 และ DTLKb 19 (ตารางที่ 1) โดยวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบโพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (5 µl)

ประกอบด้วย ดีเอ็นเอเริ่มต้น 20 ng, ไพรเมอร์ (Forward and Reverse) สายละ 0.25 pmol, 100 mMTris-HCl (pH 9.0), 500 mMKCl, 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTPs และเอ็นไซม์ Taq DNA polymerase 0.2 unit หลังจากนั้นนำไปใส่ในเครื่องพีซีอาร์โดยกำหนดโปรแกรมดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 3 นาที แล้วตามด้วยขั้นตอนที่ 2 denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที, อุณหภูมิในการ annealing (ตารางที่ 1) เป็นเวลา 30 วินาที, extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 30 วินาที ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอนที่ 3 final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยาเติม loading dye (99% formamide, 10mM NaOH, 0.1% bormophenol blue, 0.1% Xylene cyanol FF) ปริมาตร 5 µl ลงในผลผลิตพีซีอาร์และนำไปแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็คโตรโฟรเรซีสบน 8% w/v acrylamide gel ในบัฟเฟอร์ 1X TBE (90 mM Tris, pH 8.3, 90 mM boric acid, 0.1 mM EDTA) โดยใช้ sequenceing gel apparatus (Biorad, USA) ขนาด 30x40 เซนติเมตร ที่ระดับกระแสไฟฟ้า 50 วัตต์ เป็นเวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง ย้อมเจลด้วยสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (Cyber Gold®) เป็นเวลา 20 นาที และอ่านขนาดดีเอ็นเอผ่านเครื่องอ่านเจล (Module Firewire Camera Argus®X1 Version 5, Biostep) โดยเปรียบเทียบกับเครื่องหมายดีเอ็นเอมาตรฐาน (10 bp DNA ladder; Invitrogen)

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ ลำดับเบสแกน ขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ อุณหภูมิในการ annealing

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ (5'-3')	ลำดับเบสแกน	ขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ (bp)	อุณหภูมิในการ annealing (°C)
DTLKb8	F:GTGGACCAGGCAAATGAAACTC R: GGRGCTGGTGCTACAAAGAGC	$(AC)_9GC(AC)_6$	190-242 bp	60
DTLKb9	F: CTCTAGGTATGCCAAGGGACTGG R: CTCGTTTTACCTTGCGTGCTTC	$(TC)_{22}$	244-284 bp	60
DTLKb10	F: ATCATGAGTTCGGTGTGGAAGAG R: GACAGGAGGAGCACAATGTGAAC	$(GA)_4GT(GA)_{14}$	226-290 bp	60
DTLKb12	F: TGCTTTCCCAGTTCAAACATCTG R: CGTGCCAAAATCATGCAGAG	$(CA)_9$	232-324 bp	60
DTLKb15	F:GACAGTGCGCACATACCACATAG R: GCACAAACAGTCCAAAGTTGAGC	$(CA)_8GA(CA)_7$	196-268 bp	60
DTLKb19	F: ACAGTGGGATCTTCGTGACAGG R: GATGACTTCTCCTTCACCCCATC	$(CA)_{20}$	202-340 bp	60

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลขนาดความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ มาวิเคราะห์เพื่อประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรม และความหลากหลายทางพันธุกรรมของของปลาก้างพระร่วงที่รวบรวมจากพื้นที่ 3 จังหวัด ดังนี้

1. ประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรม ได้แก่

1.1 ทดสอบโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร และการแบ่งออกเป็นประชากรย่อยจากค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F-coefficient: Fst, Fis และ Fit) (Wright, 1978) โดยการประมาณค่าตาม Weir and Cockerham (1984) ด้วยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995, 2001) โดย

Fst เป็นค่าแสดงความแตกต่างระหว่างพันธุกรรมระหว่างประชากรย่อย Wright (1978), Hartl and Clark (1997) และ Frankham *et al*. (2002) ระบุว่าค่า Fst ระหว่าง 0 ถึง 0.05 แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่มีน้อยมาก ค่า Fst 0.05 ถึง 0.15 แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับปานกลาง ค่า Fst มากกว่า 0.15 แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง และ ค่า Fst มากกว่า 0.25 แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงมาก

Fis เป็นค่าเฉลี่ยของสมาชิกที่เป็นเฮทเทอโรไซโกตที่มีจำนวนต่ำกว่าที่คาดหวังเมื่อแต่ละประชากรย่อยอยู่ในสมดุลของสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium)

Fit เป็นค่าเฉลี่ยของสมาชิกที่เป็นเฮทเทอโรไซโกตที่มีจำนวนต่ำกว่าที่คาดหวังเมื่อประชากรทั้งหมดอยู่ในสมดุลของสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium)

1.2 ทำการทดสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (Pairwise test of differentiation) โดยคำนวณค่า population pairwise Fst ด้วยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995, 2001) และปรับระดับความเชื่อมั่นในการทดสอบ (*p*-value) สำหรับการใช้ข้อมูลชุดเดิมวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วยวิธี Bonferroni correction (Rice, 1989)

1.3 คำนวณค่า Genetic distance หรือระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มประชากร ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หากมีค่ามากต่ำหมายถึงประชากรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันทางพันธุกรรม ในขณะที่ค่าสูงแสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร เป็นค่าที่มีประโยชน์ในการจัดกลุ่มประชากร โดยนำมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี unweighted pair-group with arithmetic mean (UPGMA) โดยใช้ค่าความแตกต่างของความถี่อัลลิลตามมาตรฐานของ Nei's unbiased-1978 distance และแสดงค่าสัดส่วนการทำซ้ำด้วยวิธี bootstrapping จากการจัดเรียงข้อมูลใหม่จำนวน 1,000 ครั้งตามวิธีการของ Felsenstein (1985) โดยใช้โปรแกรม Tool for Population Genetic Analysis หรือ TFPGA (Miller, 1997)

1.4 ความถี่อัลลิล (allele frequency) ในแต่ละตำแหน่งของประชากร หรืออัตราส่วนอัลลิลชนิดหนึ่งต่อจำนวนอัลลิลทั้งหมดที่พบในประชากรนั้นๆ โดยใช้โปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995, 2001) และทดสอบความแตกต่างของความถี่อัลลิลระหว่างประชากร (genic differentiations) โดยการประมาณค่า exact test ตามวิธีของ Guo and Thompson (1992) ในโปรแกรม GENEPOP Version 3.3 (Raymond and Rousset, 1995) และปรับระดับความน่าจะเป็น (*p*-value) สำหรับการใช้ข้อมูลชุดเดิมวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วยวิธี Bonferroni correction (Rice, 1989)

2. ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้แก่

2.1 จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (average number of allele per locus: A) คือ จำนวนอัลลิลทั้งหมดทุกตำแหน่งที่พบต่อจำนวนตำแหน่งของยีนทั้งหมด โดยใช้โปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995, 2001)

2.2 ค่า allelic richness (Ar) หรือจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งที่คำนวณโดยปรับตามจำนวนตัวอย่างที่เท่ากันในทุกประชากร มีการปรับค่าด้วยจำนวนตัวอย่างที่น้อยที่สุดในประชากร ด้วยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995, 2001) นับเป็นค่าที่เหมาะสมในการเปรียบเทียบความหลากหลายของอัลลิลในประชากรที่มีตัวอย่างไม่เท่ากัน

2.3 ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) เป็นสัดส่วนของสมาชิกซึ่งเป็นเฮทเทอโรไซโกตต่อยีน 1 ตำแหน่ง ซึ่งวิเคราะห์เป็น 2 ค่า คือค่าสัดส่วนของตัวอย่างที่เป็นเฮทเทอโรไซโกตเฉลี่ยต่อตำแหน่งที่คำนวณจากข้อมูลจริงหรือค่าเฉลี่ยค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี (observed heterozygosity: Ho) และค่าคาดหมายซึ่งคำนวณทางอ้อมจากสภาพสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (expected heterozygosity: He) โดยใช้โปรแกรม Tool for Population Genetic Analysis หรือ TFPGA (Miller, 1997)

2.4 ทดสอบความเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) โดยการประเมินค่า exact p-value ด้วยวิธี markov chain ตามวิธีของ Guo and Thomson (1992) ด้วยโปรแกรม GENEPOP Version 3.3 (Raymond and Rousset, 1995) และปรับระดับความน่าจะเป็น (*p*-value) สำหรับการใช้ข้อมูลชุดเดิมวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วยวิธี Bonferroni correction (Rice, 1989)

2.5 ประมาณขนาดประชากรสืบพันธุ์ (effective population size, Ne) หรือสมาชิกของประชากรบางส่วนที่สามารถสืบพันธุ์ได้และส่งต่ออัลลิลไปยังรุ่นถัดไปได้ โดยวิธี linkage/gametic disequilibrium (Hill *et al.,* 1981) โดยใช้โปรแกรม NeEstimator (Peel *et al*., 2004).

2.6 วิเคราะห์หลักฐานของการเกิดปรากฏการณ์คอขวด (Bottleneck) หรือปรากฏการณ์ที่ขนาดประชากรลดลงอย่างรวดเร็วในเวลาอันสั้น เช่น 1 ชั่วรุ่น หรือไม่กี่ชั่วรุ่น โดยเหตุการณ์นี้จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของความถี่อัลลิลในกลุ่มประชากรอย่างรวดเร็ว หรืออาจทำให้เกิดการขาดหายไปของอัลลิล ส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง โดยใช้ Two Phase Model (T.P.M) ในโปรแกรม BOTTLENECK version 1.2.02 (Piry *et al*., 1999)

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 6 ตำแหน่งได้แก่ DTLKb8, DTLKb9, DTLKb10, DTLKb12, DTLKb15 และ DTLKb19 กับตัวอย่างประชากรปลาก้างพระร่วงที่รวบรวมจากจังหวัดภาคใต้ 3 จังหวัดได้แก่ ตรัง พัทลุง และนราธิวาส ในช่วงเดือนตุลาคม 2557 ถึงกันยายน 2558 พบว่า

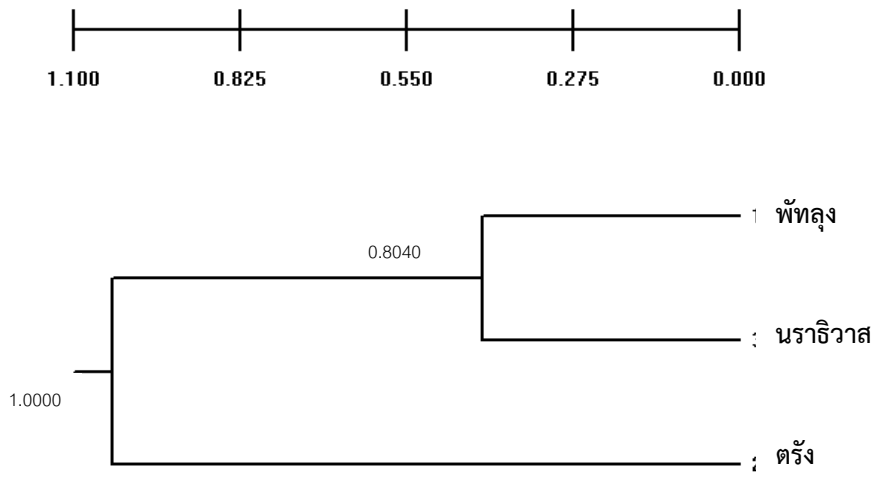
1. โครงสร้างทางพันธุกรรมของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทย

ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ Fst โดยรวมของประชากรมีค่าเท่ากับ 0.039 และมีนัยสำคัญทางสถิติ (95% CI: 0.0184-0.0664) แสดงว่า โครงสร้างประชากรปลาก้างพระร่วงที่ทำการศึกษาในภาคใต้ครั้งนี้แบ่งออกเป็นกลุ่มประชากรย่อย สอดคล้องกับผลการทดสอบ Pairwise estimate of genetic differentiation ที่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกคู่ประชากรโดยตัวอย่างปลาจากจังหวัดตรังและนราธิวาสมีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุด (Nei’s unbiased estimate = 1.258) และตัวอย่างปลาจากจังหวัดตรังและพัทลุงมีความแตกต่างรองลงมา (Nei’s unbiased estimate = 0.813) ในขณะที่ตัวอย่างปลาจังหวัดพัทลุงและนราธิวาสมีความแตกต่างกันน้อยที่สุด (Nei’s unbiased estimate = 0.424) (ตารางที่ 2) และเมื่อนำค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (Nei’s unbiased distance) ไปวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (cluster analysis) ผลแสดงถึงการจัดกลุ่มโครงสร้างประชากรของตัวอย่าง 3 จังหวัดภาคใต้อย่างมีนัยสำคัญ (bootstrap values= 0.8040 และ 1.0000 ตามลำดับ) โดยพบว่า พันธุกรรมประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้ที่ศึกษาครั้งนี้ ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือประชากรฝั่งตะวันออก (พัทลุง นราธิวาส) และ ฝั่งตะวันตก (ตรัง) (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ประชากรปลาก้างพระร่วงที่ได้จากการรวบรวมจากจังหวัดตรัง พัทลุง และนราธิวาสโดยวิธี Pairwise estimate of genetic differentiation โดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Nei's unbiased-1978 distance)

	พัทลุง	ตรัง	นราธิวาส
พัทลุ	0		
ตรั	0.8130*	0	
นราธิวา	0.4238*	1.2583*	0

หมายเหตุ * แสดงผลการทดสอบที่มีความแตกตางทางสถิติหลังจากการปรับคาระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction



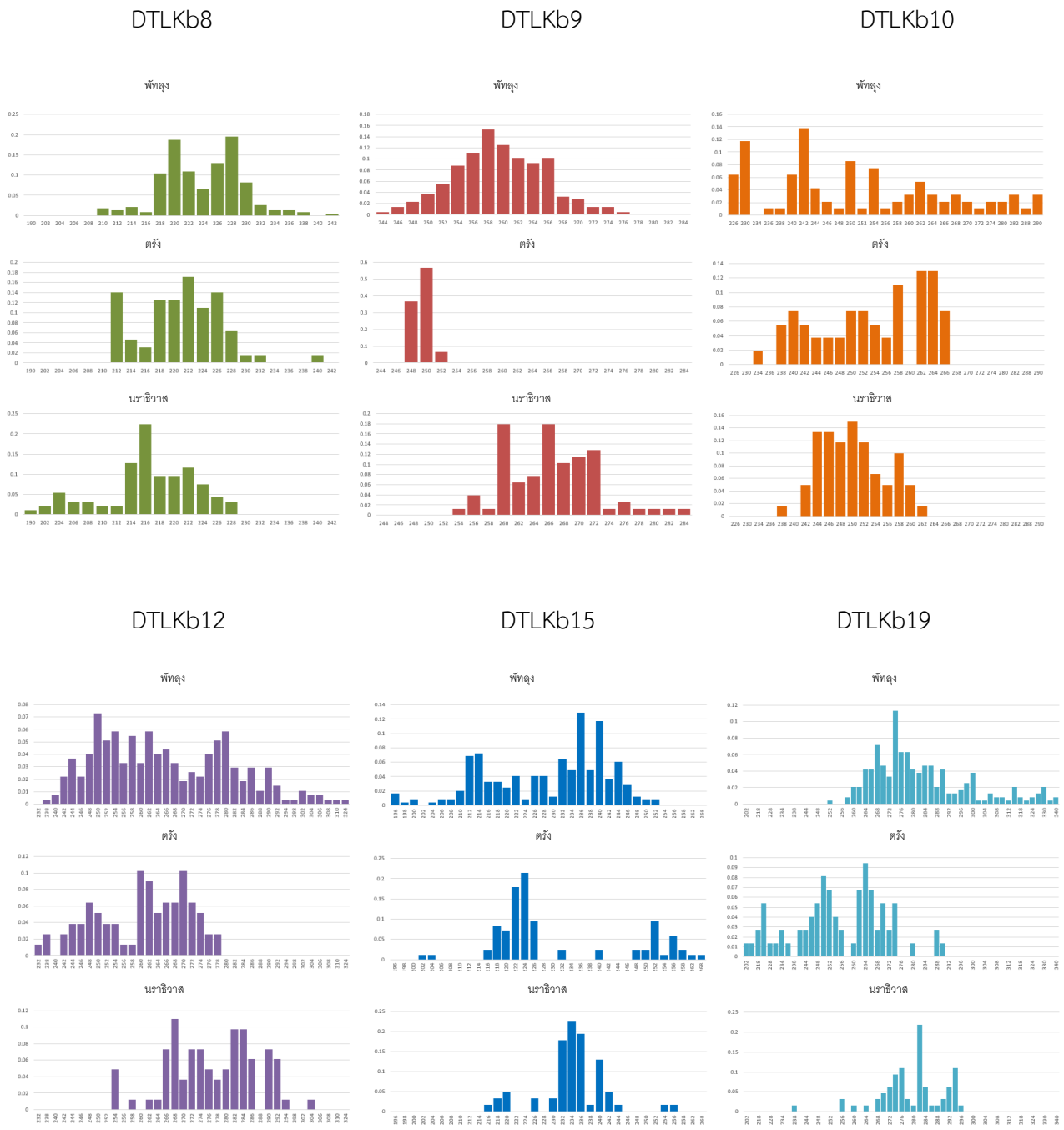
ภาพที่ 2 การจัดกลุ่มความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรปลาก้างพระร่วงที่ได้จากการรวบรวมจากจังหวัดตรัง พัทลุง และนราธิวาสโดยวิธี Cluster analysis ตัวเลขที่ปรากฏเหนือจุดตัดคือค่า bootstrap values ซึ่งผ่านการคำนวณซ้ำ 1,000 pseudoreplicates

ผลการทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ประชากรปลาก้างพระร่วงโดยการคำนวณ genic differentiation พบว่าคู่ประชากรพัทลุงและตรัง มีความแตกต่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 3 ใน 6 โลกัส (50%) ในขณะที่คู่ประชากรพัทลุงและนราธิวาส และคู่ประชากรตรังและนราธิวาสมีความแตกต่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 2 ใน 6 โลกัส (33.3%) ที่ตำแหน่ง DTLKb9 พบความแตกต่างของความถี่จีโนไทป์ในทุกคู่ประชากร และความถี่อัลลิลของประชากรปลาก้างพระร่วงในจังหวัดพัทลุงมีความหลากหลายสูงสุดในทุกตำแหน่ง ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างจากจังหวัดตรังและจังหวัดนราธิวาสพบการสูญหายไปของอัลลิลบางอัลลิลในทุกตำแหน่ง อย่างไรก็ตาม การกระจายของอัลลิลของไมโครแซทเทลไลท์ DTLKb 19 ของประชากรจังหวัดตรังมีจำนวนมากในช่วงอัลลิลที่มีขนาดเล็ก (202-238 bp) ซึ่งไม่พบในประชากรจังหวัดพัทลุงและนราธิวาส (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่า p-value แสดงผลการทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้ โดยการคำนวณ genic differentiation (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000)

คู่ประชากร	DTLKb8	DTLKb9	DTLKb10	DTLKb12	DTLKb15	DTLKb19
พัทลุง และ ตรัง	0.059	***	0.051	0.024	***	***
พัทลุง และ นราธิวาส	***	***	***	***	0.033	0.021
ตรัง และ นราธิวาส	0.034	***	0.017	***	***	***

หมายเหตุ *** แสดงผลการทดสอบที่มีความแตกตางทางสถิติหลังจากการปรับคาระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction



ภาพที่ 3 ความถี่อัลลิลของไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DTLKb8, DTLKb9, DTLKb10, DTLKb12, DTLKb15 และ DTLKb19 ของตัวอย่างประชากรปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทย

2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทย

ประชากรปลาก้างพระร่วงที่รวบรวมจากแต่ละจังหวัดภาคใต้ของไทยมีความผันแปรทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ซึ่งพิจารณาได้จากค่าจำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง ค่า allelic richness และค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตีของประชากรปลา และการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮารดี-ไวนเบิรก โดยประชากรจังหวัดพัทลุงมีความผันแปรสูงที่สุด รองลงไปคือประชากรจังหวัดนราธิวาสและตรัง ตามลำดับ จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่งในแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีคาเฉลี่ยอยูระหวาง 15.8-26.7 อัลลิล ค่า allelic richness ของประชากรมีค่าระหวาง 11.9-15.0 ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตีของประชากรปลาก้างพระร่วงมีค่าอยู่ระหว่าง 0.4101-0.5098 และพบว่าทุกประชากรมีการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮารดี-ไวนเบิรกในลักษณะที่มีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตีต่ำกว่าที่คาดหมายอย่างมีนัยสำคัญ และสอดคล้องกับค่า Fis ซึ่งมีค่าเป็นบวกทุกประชากร ขนาดประชากรสืบพันธุ์ของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรังมีขนาดประชากรสืบพันธุ์ค่อนข้างเล็ก (Ne=42.3) เมื่อเทียบกับพัทลุงและนราธิวาสซึ่งมีค่าเท่ากับ 344.7 และ 317.4 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลไม่พบว่ามีหลักฐานของการเกิดปรากฏการณ์คอขวด (Bottleneck) ในกลุ่มประชากรปลาก้างพระร่วงจากทั้ง 3 จังหวัด (ตารางที่ 4-5)

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างเฉลี่ยในแต่ละประชากร (N) จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (A) ค่า Allelic Richness (Ar) ค่าเฉลี่ยค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี (Ho) และค่าคาดหมาย (He) ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (Fis) และขนาดประชากรสืบพันธุ์ (Ne) ของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดภาคใต้ของไทย

Population	N	A		Ar	Heterozygosity		Fis	effective population size	
		mean ± SD			He	Ho		Ne	approx.95%
พัทลุง	150	26.7	8.20	15.0	0.93	0.51	0.45	344.7	236.1-617.4
ตรัง	48	16.0	7.48	12.1	0.87	0.41	0.53	42.3	32.7-58.0
นราธิวาส	50	15.8	2.54	11.9	0.90	0.48	0.47	317.4	112.8-inf

ตารางที่ 5 ค่า P value แสดงผลการทดสอบสมดุลฮารดี-ไวนเบิรกในประชากรปลาก้างพระร่วงในพื้นที่ภาคใต้ (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) และผลการทดสอบการเกิดปรากฏการณ์คอขวด (Bottleneck event) ในแต่ละประชากรย่อย

Population	KB8	KB9	KB10	KB12	KB15	KB19	BOTTLENEC event
พัทลุง	***	0.0437	***	***	***	***	0.16490
ตรัง	***	0.0285	***	***	***	***	0.23859
นราธิวาส	***	***	***	***	***	***	0.20120

หมายเหตุ *** แสดงผลการทดสอบที่มีความแตกตางทางสถิติหลังจากการปรับคาระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction

วิจารณ์ผลการศึกษา

ในการบริหารจัดการทรัพยากรประมงอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน จำเป็นต้องทราบข้อมูลสำคัญ ได้แก่ โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร ขนาดของประชากรสืบพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงขนาดของประชากร (Primmer, 2005) โดยโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรเป็นสิ่งบ่งบอกถึงความสำคัญและความจำเป็นในการแยกการบริหารจัดการออกเป็นรายประชากร (evolutionary significant unit: ESU) หรือสามารถบริหารประชากรโดยรวมได้ ส่วนขนาดของประชากรสืบพันธุ์บ่งบอกถึงความแข็งแรง และความสามารถในการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมของประชากร ซึ่งประชากรที่มีขนาดของประชากรสืบพันธุ์เล็กมากจะมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์สูงเช่นกัน ในขณะที่ความสามารถในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรจะทำให้สามารถปรับเปลี่ยนมาตรการบริหารจัดการการทำประมงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาก้างพระร่วงใน 3 จังหวัดภาคใต้ ได้แก่ พัทลุง นราธิวาส และตรัง มีองค์ประกอบทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทุกคู่ประชากรมีความแตกต่างกันและประมาณค่าสัมประสิทธิ์ Fst เท่ากับ 0.039 (95% CI: 0.0184-0.0664) ชี้ให้เห็นว่ามีโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรค่อนข้างต่ำ (Wright, 1978) ผลการวิเคราะห์จัดกลุ่มประชากรพบว่า พันธุกรรมประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้ที่ศึกษา 3 จังหวัดถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ประชากรฝั่งตะวันออก (พัทลุง นราธิวาส) และฝั่งตะวันตก (ตรัง) สอดคล้องกับการแบ่งทางภูมิศาสตร์โดยมีเทือกเขาบรรทัดหรือเทือกเขานครศรีธรรมราชเป็นสิ่งกีดขวางทางธรรมชาติ (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2562) ประกอบกับแหล่งอาศัยของปลาก้างพระร่วงทั้ง 3 ประชากรไม่ได้ต่อเนื่องกัน ทำให้ประชากรทั้ง 3 แยกกันอย่างอิสระและมีความแตกต่างทางองค์ประกอบและโครงสร้างทางพันธุกรรม ของประชากรอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น การวางแผนจัดการประมงปลาก้างพระร่วง 3 ประชากร ที่ศึกษาครั้งนี้จำเป็นจะต้องกำหนดแยกเฉพาะแต่ละแหล่งน้ำ และแม้ว่าผลการศึกษาจะพบว่าประชากรทั้งสามมีความผันแปรทางพันธุกรรมในระดับค่อนข้างสูง แต่พบว่าทุกประชากรที่ศึกษามีการเบี่ยงเบนจากสมดุล ฮารดี-ไวนเบิรกในลักษณะที่มีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตีต่ำกว่าที่คาดหมายอย่างมีนัยสำคัญ ในธรรมชาติลักษณะเช่นนี้อาจเกิดในประชากรที่มีขนาดเล็ก (Na-Nakorn *et al.*, 2004) หรือเป็นประชากรผสมของประชากรย่อยที่เรียกว่า Wahlund effect (Garnier-Gere and Chikhi, 2013) อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาสนับสนุนสมมุติฐานแรกมากกว่า โดยเฉพาะผลการประมาณขนาดประชากรสืบพันธุ์ของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรังมีขนาดประชากรสืบพันธุ์ค่อนข้างเล็ก (Ne=42.3) เมื่อเทียบกับพัทลุงและนราธิวาสซึ่งมีค่าเท่ากับ 344.7 และ 317.4 ตามลำดับ Franklin (1980) Nelson and Soule (1987) และ Frankham (1995) เสนอแนะว่าประชากรธรรมชาติควรมีขนาดประชากรสืบพันธุ์ระหว่าง 500-5,000 ตัว การลดลงหรือเปลี่ยนแปลงขนาดประชากรสืบพันธุ์เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ปรากฏการณ์คอขวด (bottleneck event) การเสื่อมโทรมของแหล่งอาศัย การประมงเกินศักยภาพการผลิต (over fishing) เป็นต้น เหตุการณ์ดังกล่าวนอกจากจะทำให้ประชากรสืบพันธุ์ลดขนาดลงแล้วยังส่งผลต่อการสูญเสียองค์ประกอบทางพันธุกรรม เช่น จำนวนอัลลิลของยีน

เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบหลักฐานในการวิเคราะห์ความผันแปรของเครื่องหมายพันธุกรรมที่บ่งบอกถึงปรากฏการณ์คอขวด ดังนั้น การที่ประชากรสืบพันธุ์ของปลาก้างพระร่วงในการศึกษาครั้งนี้มีขนาดเล็กน่าจะเกิดจากการเสื่อมโทรมของแหล่งอาศัยและการสูญเสียประชากรจากการทำการประมงมากกว่า ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นพบว่าการจับปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรังและนราธิวาสยังไม่ได้รับการควบคุมหรือดูแลจากหน่วยงานและชุมชน ในขณะที่การจับในจังหวัดพัทลุงมีการควบคุมโดยชุมชนในพื้นที่มีการจัดการทำการประมงโดยผู้รวบรวมปลา และชาวประมงมีส่วนร่วมในวางแผนการทำการประมงโดยการงดจับปลาในฤดูวางไข่ (ธีรภัทร์ และคณะ, 2553)

สรุปและข้อเสนอแนะ

โครงสร้างประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้แบ่งเป็นกลุ่มประชากรย่อยซึ่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ ปลาก้างพระร่วงที่รวบรวมจากจังหวัดพัทลุงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าตัวอย่างปลาจากจังหวัดตรังและนราธิวาสอย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งยังมีขนาดประชากรสืบพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างจากตรังและนราธิวาส การศึกษาครั้งนี้พบการสูญหายของอัลลิลบางอัลลิลในกลุ่มตัวอย่างของจังหวัดตรังและนราธิวาส ซึ่งสะท้อนให้เห็นการใช้ประโยชน์ทรัพยากรในปริมาณมาก นอกจากนี้โครงสร้างประชากรย่อยของปลาก้างพระร่วงจากจังหวัดในภาคใต้ ยังแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยอย่างชัดเจน คือประชากรฝั่งตะวันออก (พัทลุง นราธิวาส) และฝั่งตะวันตก (ตรัง) สอดคล้องกับลักษณะทางภูมิศาสตร์ซึ่งถูกแบ่งโดยเทือกเขาบรรทัด อย่างไรก็ตาม ประชากรปลาก้างพระร่วงในภาคใต้มีความแตกต่างทางองค์ประกอบและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นแนวทางในการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรปลาก้างพระร่วงในพื้นที่จังหวัดภาคใต้ ควรจะบริหารจัดการการทำประมงปลาก้างพระร่วงแต่ละประชากรแยกจากกัน ประกอบกับขนาดประชากรสืบพันธุ์ยังต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานเพื่อการปรับตัวและการพัฒนาในระยะยาว รวมถึงการคงศักยภาพในเชิงวิวัฒนาการ จึงควรจะต้องมีมาตรการจัดการประมงอย่างเร่งด่วน เช่น การจัดทำประกาศจังหวัดเรื่องกำหนดพื้นที่ ระยะเวลา และกำหนดเครื่องมือหรือวิธีการที่ห้ามทำการประมง ตลอดจนเงื่อนไขในการทำการประมงปลาก้างพระร่วงในจังหวัดดังกล่าว หรือการออกประกาศเขตรักษาพันธุ์สัตว์น้ำ โดยใช้พื้นฐานข้อมูลชีววิทยาการสืบพันธุ์ แหล่งวางไข่ และฤดูวางไข่ รวมถึงสถิติการทำการประมงของปลาก้างพระร่วงของแต่ละแหล่งน้ำมาประกอบ รวมถึงการสนับสนุนให้ชุมชนมีส่วนร่วมในการวางแผนการทำการประมง เช่น การกำหนดโควต้าในการใช้ประโยชน์ทรัพยากร โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มตัวอย่างจากจังหวัดตรังที่มีขนาดประชากรสืบพันธุ์เหลือเพียงไม่ถึง 10% ของจำนวนที่ควรจะมี โดยออกประกาศจังหวัดให้งดทำการประมงปลาก้างพระร่วงในแหล่งน้ำดังกล่าวเป็นระยะเวลาหนึ่ง เพื่อให้ประชากรปลาฟื้นตัว เพื่อคงความสามารถในการปรับตัว และการคงอยู่อย่างยั่งยืนของประชากร

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณนักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ ขอขอบพระคุณคุณสันติชัย รังสิยาภิรมย์ ประมงจังหวัดพัทลุง คุณอนันต์ สี่หิรัญวงศ์ ประมงจังหวัดฉะเชิงเทรา คุณสุภาพ สังขไพฑูรย์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพัทลุง และคุณธีรภัทร ตงวัฒนากร นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพัทลุง กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดตรัง และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์นราธิวาส กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ที่ให้ความช่วยเหลือในการรวบรวมตัวอย่างปลาก้างพระร่วงในพื้นที่ศึกษา ขอขอบคุณคุณเดชาธร เทพสุทธิ์ นักวิชาการประมงปฏิบัติการ กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลการส่งออกปลาก้างพระร่วง ขอขอบคุณคุณอดุลวิทย์ ชูเชิด นักภูมิศาสตร์ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำพิกัดแผนที่ประกอบงานวิจัย และท้ายสุดนี้ขอขอบคุณ คณะทำงานวิชาการด้านชีววิทยาสัตว์น้ำจืดของกองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด ที่ช่วยตรวจแก้ไขและให้คำแนะนำจนงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. 2562. http://web3.dnp.go.th/wildlifenew/animConserveDepView.aspx?depId=4. สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มิถุนายน 2562

ธีรภัทร์ ตงวัฒนากร ชไมพร แก้วศรีทอง และสุวิมล สี่หิรัญวงศ์. 2553. การแพร่กระจาย และสภาวะการประมงปลาก้างพระร่วงในจังหวัดพัทลุง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 23/2553. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 34 หน้า.

ธีรภัทร์ ตงวัฒนากร สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และณรงค์ เลี่ยนยงค์. 2554. ชีววิทยาบางประการของปลาก้างพระร่วงในจังหวัดตรัง. สารวิชาการประมง ฉบับที่ 8. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง.

พลพจน์ กิตติสุวรรณ์ นนทรี ปานพรหมมินทร์ และสมเกียรติ มณีฉาย. 2551. ปลาสวยงามศักยภาพการวิจัยและพัฒนาระบบการตลาดและการส่งออกของประเทศไทย. รายงานประจำปีสถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ กรมประมง.

วงศ์ปฐม กมลรัตน์. 2551. ความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจัดการทรัพยากรประมง สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 1/2551 สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง. 37 หน้า.

อังสุนีย์ ชุณหปราณ. 2538. ปลาก้างพระร่วงในร่องน้ำทะเลสาบ. วารสารการประมง 8(5): 443-446.

Bik. 2015. ปลาก้างพระร่วง (Ghost catfish). https://aqua.c1ub.net/forum/index.php?topic=274746.0. สืบค้นเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2562.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.

Frankham, R. 1995. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetical Research* 66: 95-107.

Frankham, R., J. D. Ballou, and D. A. Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge.

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

Garnier-Géré, P. H. and L. Chikhi. 2013. Population Subdivision, Hardy–Weinberg Equilibrium and the Wahlund Effect. DOI: 10.1002/9780470015902.a0005446.pub3.

Goudet, J. 1995. FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Heredity,* 86: 485-486.

Goudet J. 2001. FSTAT, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices Version 2.9.3. http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html Updated from Goudet (1995)

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

Hartl, D. L. and A. G. Clark (eds). 1997. Principles of Population Genetics. 3rd Edition. Sunderland: Sinauer Associates.

Hill, W. G., W. M. Road, and E. Eh. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetics Research* 38: 209-216.

Kottelat, M. and E. Widjanarti. 2005. The Fishes of Danau Sentarum National Park and the Kapaus Lakes area, Kalimantan Barat, Indonesia. *Raffles Bull. Zool.* Supplement (13): 139-173.

Miller, M. P. 1997. *Tools for Population Genetic Analyses* (TFPGA). Department of Biological Sciences, Northern Arizona University.

Na-Nakorn, U., W. Kamonrat and T. Ngamsiri. 2004. Genetic diversity of walking catfish, *Clarias macrocephalus*, in Thailand and evidence of genetic introgression from Introduced farmed *C. garipinus*. *Aquaculture* 240: 145-163.

Nelson, K. and M. Soulé. 1987. Genetical conservation of exploited fishes. In: Ryman, N. and Utter, F. (eds) Population Genetics and Fishery Management. Seattle: Washington Sea Grant Program.

Ng, H. H. and M. Kottelat. 2013. After eighty years of misidentification, a name for the glass catfish (Teleostei: Siluridae). *Zootaxa* 3630(2): 308-316.

O'Reilly, P. and J. M. Wright. 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *J. Fish Biology* 47: 29–55.

Peel, D., J. R. Ovenden, and S. L. Peel. 2004. NeEstimator: Software for Estimating Effective Population Size, Version 1.3. Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries.

Piry S., G. Luikart, and J. M. Cornuet. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Heredity* 90(4): 502-503.

Primmer, C. R. 2005. Genetic characterization of populations and its use in conservation decision making in fish. The role of Biotechnology, Villa Gualino, Turin, Italy 5-7 March, 2005. Division of Genetics and Animal Physiology, Department of Biology, 2014, University of Turku, Finland. http://www.fao.org/biotech/docs/primmer.pdf. Accessed 14 August 2019.

Sambrook, J., and D. Russell. 2001. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Press, NY: Cold Spring Harbour Laboratory Press.

Raymond, M. and F. Rousset. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.

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

Wright, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations. Chicago: University of Chicago Press.