โครงสร้างทางพันธุกรรมและการอพยพของประชากรปลากาดำ ในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง

อภิรดี หันพงศ์กิตติกูล[1] อัญชลี โค้วนฤมิตร[2] วงศ์ปฐม กมลรัตน์[2] และยงยศ หรี่คะนอง[1]
[1]สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด
[2]สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด

บทคัดย่อ

การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลากาดำเพื่อประเมินสถานภาพประชากรและการอพยพย้ายถิ่นในบริเวณแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง ดำเนินการโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในตัวอย่างปลากาดำที่รวบรวมจาก 4 พื้นที่ในบริเวณพื้นที่แม่น้ำมูลในเขตอำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี บริเวณเหนือเขื่อนปากมูล บริเวณท้ายเขื่อนปากมูล และแม่น้ำโขงส่วนที่ติดต่อกับแม่น้ำมูล ในระหว่างเดือน ตุลาคม 2552 ถึงเดือน ธันวาคม 2553

ผลการศึกษา พบว่า ประชากรปลากาดำในลุ่มน้ำมูลและแม่น้ำโขงส่วนใหญ่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยมีจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง และค่า allelic richness เท่ากับ 12.4±6.80 ถึง 17.0±6.86 และ 10.63 ถึง 13.46 ตามลำดับ ค่าสังเกตเฮทเทอโรไซโกซิตีมีค่าระหว่าง 0.48 ถึง 0.74 แต่มีขนาดประชากรสืบพันธุ์ต่ำกว่าเกณฑ์เพื่อการคงศักยภาพในเชิงวิวัฒนาการในธรรมชาติ โดยมีค่าระหว่าง 36.3 ถึง 91.1 (95% Cl: 27.3 ถึง 221.1) ประชากรปลากาดำที่ศึกษามีความแตกต่างทางพันธุกรรมในแต่ละประชากรย่อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า θ=0.12 (95%CI: 0.0578 ถึง 0.2096) โดยประชากรย่อยในบริเวณพื้นที่แม่น้ำมูลมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกันมากกว่าประชากรที่รวบรวมจากแม่น้ำโขง การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางภูมิศาสตร์และระยะห่างทางพันธุกรรม อัตราการอพยพสัมฤทธิ์เฉลี่ยระหว่างกลุ่มประชากรในพื้นที่ศึกษามีค่าเท่ากับ 2.0 ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการถ่ายเทยีนเพื่อการคงความหลากหลายและเอกลักษณ์ของกลุ่มประชากรย่อย การถ่ายเทยีนระหว่างพื้นที่ชี้ให้เห็นว่าประชากรปลาในพื้นที่ไม่ใช่ประชากรปิด การเปิดเขื่อนในช่วงเวลาที่สอดคล้องกับการอพยพของปลาจะช่วยให้เกิดการถ่ายเทยีนระหว่างกลุ่มประชากรย่อยในพื้นที่ลุ่มน้ำมูลได้ดีขึ้น

คำสำคัญ: ปลากาดำ ลุ่มน้ำมูลตอนล่าง แม่น้ำโขง ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ
*ผู้รับผิดชอบ: ชั้น 6 อาคารปรีดากรรณสูต กรมประมง ลาดยาว จตุจักร กทม. 10900 โทร 0 2558 0178
E-mail: kunpagne@hotmail.com

Genetic Inventory Survey and Migration of *Labeo chrysophekadion* Population in Lower part of Mun River Using Microsatellite Marker

Apiradee Hanpongkittikul[1] Aunchalee Kownaruemit[2] Wongpathom Kamonrat[2] and Yongyote Reekanong[1]

[1]Inland Fisheries Resources Research and Development Institute

[2]Inland Fisheries Research and Development Bureau

Abstract

Genetic inventory and migration pattern of *Labeo chrysophekadion* from 4 study areas: (1) Mun river in Varinchamrab District, Ubon Ratchathani Province (2) the upper area of Pak Mun Dam (3) the lower area of Pak Mun Dam and (4) Mekong river were conducted from October 2009 to September 2010 using microsatellite DNA markers.

This genetic study results showed generally high genetic variations with the number of alleles per locus and allelic richness ranged from 12.4 ±6.80 to 17.0±6.86 and 10.63 to 13.46, respectively. Observed heterozygosities were relatively high and ranged from 0.48 to 0.74. Estimates of the number of effective population sizes (*Ne*) for all samples were smaller than recommended for natural populations ranged from 36.3 to 91.1 (95% Cl. 27.3 to 221.1). *Labeo chrysophekadion* exhibited genetic differentiation between subpopulation (θ= 0.12, 95%CI: 0.0578 to 0.2096) indicating significant genetic differentiation between populations from Mun river and Mekong river. Lack of isolation-by-distance among the *Labeo chrysophekadion* samples was observed in the study areas. Over all number of migrants per generation was slightly higher than appropriate level of gene flow for maintaining the desirable distribution of variation within and among subpopulations for evolution (2.0). Gene flow level in the study area indicated that subpopulations in Lower Mun river are not closed population. Opening dam's sluice gates, based on the spawning season of most migratory species, will support gene flow among subpopulation in Lower Mun River.

Key words: *Labeo chrysophekadion,* Mun River, Mekong river, Microsatellite DNA

*Corresponding author: 6th floor Preedakanasuta Building Department of Fisheries Ladyao Jatujak Bangkok 10900 Tel 0 2558 0178

Email: kunpagne@hotmail.com

โครงสร้างทางพันธุกรรมและการอพยพของประชากรปลากาดำ ในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง

คำนำ

แม่น้ำมูลเป็นแม่น้ำสายหลักของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและเป็นแม่น้ำสาขาที่ใหญ่ที่สุดของแม่น้ำโขง ถือว่าเป็นพื้นที่ชุ่มน้ำที่สำคัญ มีระบบนิเวศที่สลับซับซ้อน ทั้งแก่ง ขุม วัง เวิน คัน เห่ว ดอนหรือเกาะ ป่าบุ่งป่าทาม และลำห้วยสาขา นอกจากนี้ระบบนิเวศแบบแก่งที่กินพื้นที่ขนาดใหญ่ เป็นระบบนิเวศที่มีลักษณะเฉพาะ และไม่พบที่อื่นในประเทศไทย ความสลับซับซ้อนของระบบนิเวศนี้เอง ที่เอื้อให้ปลาในแม่น้ำมูลมีความหลากหลาย แม่น้ำมูลมีความอุดมสมบูรณ์ มีพันธุ์ปลามากถึง 154 ชนิด 32 ครอบครัว กุ้งก้ามกราม 1 ชนิด และกุ้งฝอย 1 ชนิด (กรมประมง, 2547)

การสร้างเขื่อนปากมูลบริเวณอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานีเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าโดยมีการยกระดับน้ำในแม่น้ำมูลให้สูงขึ้น ดำเนินการแล้วเสร็จในปี 2537 มีผลให้ระบบนิเวศโดยรวมเฉพาะพื้นที่ตอนล่างใกล้กับเขื่อนปากมูลมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปแบบ และความเร็วของกระแสน้ำไปจากเดิม ส่งผลต่อการหากินและการวางไข่ของปลา แม้ว่าเขื่อนประกอบด้วยบันไดปลาโจน แต่ก็มีพันธุ์ปลาเพียงบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเดินทางผ่านบันไดปลาโจนขึ้นสู่ตอนบนของเขื่อน พันธุ์สัตว์น้ำหลายชนิดไม่สามารถเดินทางผ่านประตูระบายน้ำได้ (River Protection Network. 2539) มีผลทำให้ความชุกชุมและความหลากหลายของประชากรปลาเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ระหว่างปี 2549-2551 คณะรัฐมนตรีได้มีมติให้มีการจัดการประตูน้ำโดยกำหนดให้มีการเปิดบานประตูทั้งหมดปีละ 4 เดือน ตามข้อเรียกร้องของสมัชชาคนจนเพื่อเปิดโอกาสให้ปลา เดินทางขึ้นมาแพร่พันธุ์วางไข่ในแม่น้ำมูล และเป็นการคืนความอุดมสมบูรณ์ตามธรรมชาติให้ลำน้ำ อย่างไรก็ตาม ช่วงเวลาที่เหมาะสมของการเปิดประตูระบายน้ำยังเป็นกรณีพิพาทระหว่างองค์กรของรัฐและองค์กรเอกชน รวมทั้งประชาชนในพื้นที่ในด้านที่จะเอื้อประโยชน์ต่อการเพิ่มพูนความสมบูรณ์ของทรัพยากรประมงในลำน้ำมูล

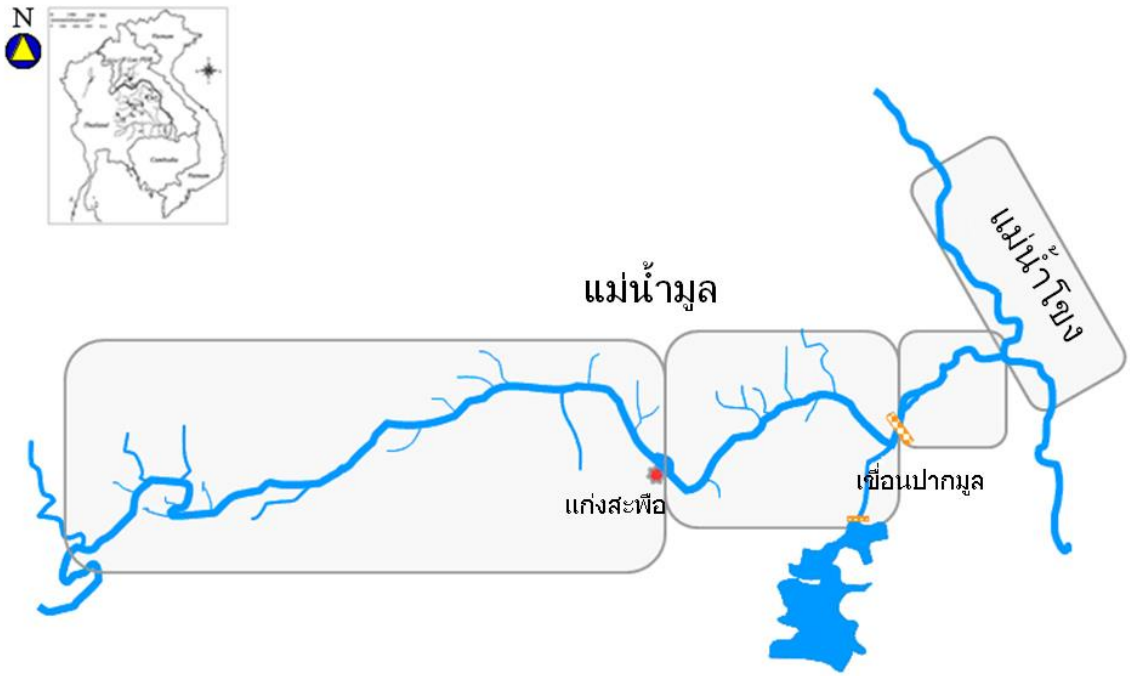
การศึกษาครั้งนี้เป็นการดำเนินการสืบสวนทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลและแม่น้ำโขง ด้วยวิธีการวิเคราะห์เครื่องหมายทางพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบโครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากรของปลากาดำที่พบแพร่กระจายในแม่น้ำมูลและแม่น้ำโขง และประเมินอัตราการอพยพของปลาพื้นที่ ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการบริหารจัดการ การเปิดปิดประตูน้ำของเขื่อนปากมูล ซึ่งเป็นกรณีปัญหาต่อเนื่องหลายปีนับจากการสร้างเขื่อนฯได้

วัตถุประสงค์

1. ทราบโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง
2. ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและขนาดประชากรสืบพันธุ์ของปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง
3. ประเมินอัตราการอพยพของปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง

วิธีการดำเนินการวิจัย

ดำเนินการรวบรวมตัวอย่าง ปลากาดำ จาก 4 พื้นที่ ในบริเวณแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง ซึ่งแบ่งเป็น (1) บริเวณแม่น้ำมูลส่วนที่ติดต่อกับแม่น้ำชีถึงบริเวณแก่งสะพือ ในเขตอำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี: LCVr (2) บริเวณแม่น้ำมูลตอนใต้แก่งสะพือลงมาจนถึงบริเวณเหนือเขื่อนปากมูล: LCUp (3) พื้นที่ท้ายเขื่อนปากมูลไปจนถึงปากแม่น้ำมูล: LCLo และ (4) แม่น้ำโขงส่วนที่ติดต่อกับแม่น้ำมูล: LCMk (ภาพที่ 1) โดยรวบรวมตัวอย่างจากแต่ละพื้นที่ ในเดือน ตุลาคม 2552 ถึงเดือน ธันวาคม 2553โดยใช้เครื่องมือ ข่าย อวน ไฟฟ้า และซื้อจากผู้รวบรวมปลาในพื้นที่ รวบรวมตัวอย่างครีบ และเนื้อเยื่อ เก็บรักษาไว้ใน เอทานอล 99.99% (absolute ethanol) โดยแบ่งแยกออกตามแหล่งตัวอย่างและระยะเวลาที่เก็บ แล้วเก็บรักษาไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ จนกว่าจะวิเคราะห์ตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลของตัวอย่างในระบบฐานข้อมูล เพื่อควบคุมการเก็บฝากและสืบค้นของธนาคารเชื้อพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง



ภาพที่ 1 แสดงพื้นที่รวบรวมตัวอย่างปลากาดำจากแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง

วิเคราะห์ความผันแปรของไมโครแซทเทลไลท์จากตัวอย่างโดยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างครีบ และเนื้อเยื่อ โดยวิธีการ “A Single Tube Rapid Extraction of DNA from Fish Blood” (ดัดแปลงจาก Sambrook and Russell, 2001) ดีเอ็นเอที่ได้นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 25 ng/µL ก่อนนำไปวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ จำนวน 5 ตำแหน่งดังตารางที่ 1 โดยวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบโพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) และแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) ผ่านโพลีอะคริลาไมล์เจล (polyacrylamide gel) ที่ระดับกระแสไฟฟ้า 50 วัตต์ เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง และอ่านขนาดดีเอ็นเอโดยเปรียบเทียบกับเครื่องหมายดีเอ็นเอมาตรฐาน (10bp DNA ladder; Invitrogen) หลังจากย้อมเจลด้วยสารเรืองแสง

ฟลูออเรสเซนต์ (Cyber Gold®) และอ่านผ่านเครื่องอ่านเจล (FluorChem 8000, Alpha Innotech Corp.)

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพรเมอร์ ลำดับเบสแกน อุณหภูมิในการ annealing และขนาดของผลผลิตพีซีอาร์

Locus	Repeat motif	Primer sequence (5'-3')	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)
DTLMc1	$(GT)_{32}$	R: GACTGTCCAGACTCACACTGACG	55	164-226
		F: GTTGGAACAATAATCAACACATTC		
DTLMc3	(GT)31	R: GAATCCCAATACCACAACATTGC	55	250-328
		F: CTCTGCTGAAATGTGGAAAAAGC		
DTLMc4	(GT)10	R: GTCACGTTCAGAGGAGCGATG	60	186-262
		F: GATTCGACAGCTTCTTCGGTAGG		
DTLMc5	(GA)13	R: CGTACAGAGGAGCAGGGAAAAAC	60	206-252
		F: TCCAACTGCCTCCCTAGTTCAG		
DTLMc10	$(CA)_{21}$	R: GTGCCATTATTCAGGGAAGCTG	60	282-326
		F: TACTCAAAGGCAACAATCAAACC		

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุศาสตร์ของประชากรที่ศึกษา โดยการคำนวณค่าประมาณสัมประสิทธิ์เอฟ (Wright's F-coefficient) ตามวิธีของ Weir and Cockerham (1984) ในโปรแกรม GENEPOP version 3.3 (Raymond and Rousset, 1995) ทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากร (genic differentiation between populations) โดยการประมาณค่า exact *p*-value ด้วยวิธี Markov chain ตามวิธีการของ Guo and Thompson (1992) (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) ในโปรแกรม GENEPOP Version 3.3 (Raymond and Rousset, 1995) และปรับระดับความน่าจะเป็น (*p*-value) สำหรับการใช้ข้อมูลชุดเดิมวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้ง (multiple test) ด้วย Bonferroni correction (Hochberg, 1998; Rice, 1989) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างคู่ประชากร โดยวิธี pairwise test of differentiation โดยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 1995)

คำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) โดยวิธี Roger's modified unbiased (Wright, 1978) จัดกลุ่มความคล้ายคลึงโดยใช้โปรแกรม TFPGA (Miller, 1997) และคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะห่างทางภูมิศาสตร์ โดยใช้โปรแกรม Mantel test ใน XLSTAT 2011 (Mantel, 1967)

วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากาดำแต่ละกลุ่มประชากร ได้แก่ความถี่อัลลิล จำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง ค่า allelic richness และค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้ (heterozygosity) ด้วยโปรแกรม FSTAT (Goudet, 2001) และ ทดสอบความเบี่ยงเบนไปจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Equilibrium) คำนวณจำนวนประชากรสืบพันธุ์ (effective population size, Ne) โดยวิธี

linkage/gametic disequilibrium (Hill, 1981) โดยใช้โปรแกรม NeEstimator (Peel *et al*., 2004). และค่า Effective number of migrants: Nm โดยวิธีศึกษา private alleles ซึ่งเป็นค่าจำนวนของประชากรที่มีการอพยพและมีการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในแต่ละรุ่น โดยใช้โปรแกรม Genepop (Version 3.4).

ผลการศึกษา

<u>โครงสร้างประชากรปลากาดำในลุ่มแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง</u>

ผลการศึกษาค่าประมาณสัมประสิทธิ์ F พบว่า โครงสร้างของประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขงแบ่งเป็นกลุ่มประชากรย่อยซึ่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ของ Wright (1978) โดยมีค่า θ=0.12 (95%CI: 0.05 ถึง 0.21) สอดคล้องกับการศึกษา Pairwise estimate of genetic differentiation และ Genic differentiation test ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกคู่ประชากร (ตารางที่ 2 และ 3) โดยความผันแปรทางพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ระหว่างกลุ่มประชากรย่อยในพื้นที่ศึกษา (F) และ ความผันแปรทางพันธุกรรมภายในกลุ่มประชากรในพื้นที่ (f) มีค่าแตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ 0.39 (95%CI: 0.29 ถึง 0.51) และ 0.31 (95%CI: 0.21 ถึง 0.39) ตามลำดับ ประชากรย่อยในแม่น้ำมูลและแม่น้ำโขงมีความแตกต่างทางพันธุกรรมและแบ่งออกเป็นกลุ่มประชากรย่อยดังแสดงในภาพที่ 2 โดยกลุ่มประชากรย่อยในแม่น้ำมูลมีการจับกลุ่มกันและมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มประชากรมากกว่าประชากรที่รวบรวมจากแม่น้ำโขง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มประชากรย่อยในแม่น้ำมูล พบความแตกต่างของประชากรปลาในเขตอำเภอวารินชำราบและประชากรเหนือเขื่อนซึ่งมีแก่งสะพือขวางกั้นอยู่ อีกทั้งพบความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรในพื้นที่อำเภอวารินชำราบและพื้นที่เหนือเขื่อนกับประชากรย่อยท้ายเขื่อนปากมูล (ตารางที่ 2 และ 3 และภาพที่ 2) แสดงถึงข้อจำกัดในการแลกเปลี่ยนยีนหรือที่เรียกว่าเกิดการถ่ายเทของยีน (gene flow) (อุทัยรัตน์, 2543)

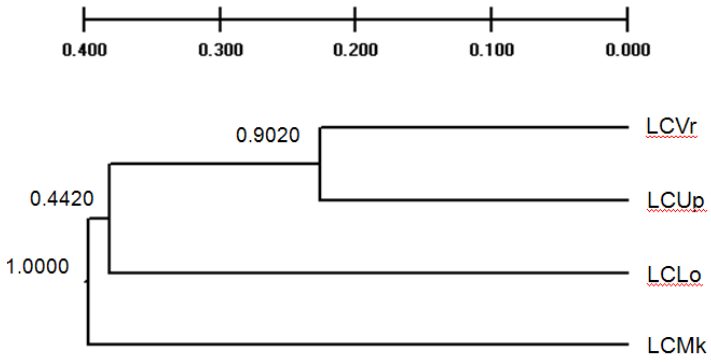
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ประชากรปลากาดำโดยวิธี Pairwise estimate of genetic differentiation ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction

Pair-wise Fst	LCVr	LCUp	LCLo
LCVr	0.0000	0.0430	0.1544
LCUp	0.0430 *	0.0000	0.1096
LCLo	0.1544 *	0.1096 *	0.0000
LCMk	0.1519 *	0.1538 *	0.1370 *

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ประชากรปลากาดำ โดยคำนวน genic differentiation (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction

คู่ประชากร	MC1	MC3	MC4	MC5	MC10
LCVr & LCUp	***	***	***	***	0.01686
LCVr & LCLo	***	***	***	***	***

LCVr	&	LCMk	***	***	***	***	***
LCUp	&	LCLo	***	***	***	***	***
LCUp	&	LCMk	***	***	***	***	***
LCLo	&	LCMk	***	***	0.0641	***	***



ภาพที่ 2 การจัดกลุ่มความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรโดยวิธี Cluster analysis ของประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง ตัวเลขที่ปรากฏเหนือจุดตัดคือค่า brootstrap values ซึ่งผ่านการคำนวณซ้ำ 1,000 pseudoreplicates

<u>การอพยพของปลากาดำ</u>

การประเมินทรัพยากรประมงบริเวณเขื่อนปลากมูลของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี (2545) พบว่า ปลากาดำสามารถอพยพไปมาระหว่างพื้นที่เหนือและท้ายเขื่อนตลอดเวลา อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ Mantel test ในการศึกษาครั้งนี้ไม่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางภูมิศาสตร์และระยะห่างทางพันธุกรรมหรือที่เรียกว่า lack of isolation by distance (r=0.0577, *p* value=0.578) แสดงถึงพฤติกรรมของการอพยพของปลากาดำในบริเวณแม่น้ำมูลและแม่น้ำโขงน่าจะมีอยู่ค่อนข้างจำกัด และ/หรือไม่ได้มีการการผสมพันธุ์หรือแลกเปลี่ยนยีนระหว่างประชากรเท่าที่ควรทำให้ระดับการถ่ายเทยีนมีจำกัด ซึ่งข้อจำกัดในการอพยพหรือถ่ายเทยีนนี้อาจเนื่องมาจากสภาพภูมิประเทศของแม่น้ำมูลบริเวณพื้นที่ศึกษาซึ่งประกอบไปด้วยแก่งหินธรรมชาติที่มีระดับความสูงของพื้นท้องน้ำแตกต่างกันจำนวนมาก เป็นเสมือนเขื่อนธรรมชาติกั้นขวางการเดินทางของปลา

ผลการประเมินอัตราการอพยพสัมฤทธิ์ (effective number of migrant: Nm) ของประชากรในแม่น้ำมูลและแม่น้ำโขง พบว่า จำนวนประชากรปลาที่มีการอพยพระหว่างพื้นที่เหนือเขื่อนขึ้นไปถึงอำเภอวารินชำราบมีค่าสูงกว่าประชากรที่อพยพบริเวณท้ายเขื่อนขึ้นมาพื้นที่เหนือเขื่อน (Nm=1.7 และ 1.2 ตามลำดับ) และมีค่าสูงกว่าจำนวนประชากรที่อพยพจากแม่น้ำโขงเข้ามาในพื้นที่แม่น้ำมูล (Nm=0.9) จำนวนประชากรปลากาดำที่มีการอพยพระหว่างพื้นที่ในแม่น้ำมูลโดยรวมมีค่าที่ต่ำมาก (Nm=2.0) เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่แม่น้ำซึ่งไม่มีการปิดกั้นใดใด เช่นแม่น้ำในพื้นที่ Cape race, Newfoundland ประเทศแคนาดา พบว่า ประชากรปลากลุ่มแซลมอนมีอัตราการอพยพสัมฤทธิ์สูงถึง 28.9 ซึ่งส่งผลให้ประชากรที่ต้นน้ำและท้ายน้ำไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม (Wilson *et. al*, 2004) อย่างไรก็ตาม จำนวนประชากรที่อพยพในพื้นที่แม่น้ำมูลและแม่น้ำโขงยังมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการถ่ายเทยีนเพื่อการคงความหลากหลายในกลุ่มประชากรย่อย ซึ่ง Wright (1931) แนะนำไว้ว่าจำนวนสิ่งมีชีวิตที่

อพยพเพียงหนึ่งตัวต่อประชากรในพื้นที่ต่อรุ่น (one migrant individual per local population per generation) ช่วยสนับสนุนให้เกิดการถ่ายเทยีนในระดับที่ป้องการการเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมซึ่งเกิดจาก genetic drift ในขณะที่ยังคงเอกลักษณ์ของประชากรย่อยเดิมได้

<u>ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากาดำ</u>

ประชากรปลากาดำในลุ่มน้ำมูลและแม่น้ำโขงทุกประชากรย่อยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยมีจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งในแต่ละกลุ่มประชากรย่อยอยู่ที่ระหว่าง 12.4±6.80 ถึง 17.0±6.86 และค่า allelic richness ระหว่าง 10.63 ถึง 13.46 ค่าสังเกตเฮทเทอโรไซโกซิตีมีค่าระหว่าง 0.48 ถึง 0.74 ประชากรส่วนใหญ่เบี่ยงเบนจากสมดุลสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก อีกทั้งจำนวนประชากรสืบพันธุ์มีขนาดเล็กในทุกกลุ่มประชากรย่อย โดยมีค่าระหว่าง 36.3 ถึง 91.1 (Approx. 95% Cl: 27.3 ถึง 221.1) (ตารางที่ 4 และ 5) ซึ่งในประชากรธรรมชาติ หากต้องการคงศักยภาพในเชิงวิวัฒนาการนั้น ขนาดประชากรสืบพันธุ์ควรมีขนาดเท่ากับ 500-5,000 เพื่อการปรับตัวและการพัฒนาในระยะยาว (FAO, 1981; Franklin, 1980; Nelson and Soule, 1987 และ Frankham, 1995) อย่างไรก็ตามขนาดประชากรสืบพันธุ์ของปลากาดำยังนับว่ามีขนาดใหญ่กว่าขนาดประชากรสืบพันธุ์ของปลาในธรรมชาติบางชนิดบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำโขงตอนล่าง เช่น ปลาสวายในแม่น้ำโขงตอนล่าง (16.7-152.0) ปลานวลจันทร์น้ำจืดในแม่น้ำโขงบริเวณจังหวัดมุกดาหาร (23.5) และปลากดแก้วในแม่น้ำชี (62) ซึ่งเคยมีการศึกษาไว้โดยคณะผู้วิจัยในช่วงปี 2005-2009 (Kamonrat *et al*., 2010)

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนตัวอย่างเฉลี่ยในแต่ละประชากร จำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง ค่า Allelic Richness ค่าเฉลี่ยค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี และ ค่าคาดหมาย และจำนวนประชากรสืบพันธุ์ (N_e) ของปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง

St.	N	Alleric richness	no. of allele sample	He	Ho	Ne	Approx. 95% Cl.
LCVr	39.2	10.6322	13.6	0.7677	0.4856	76.9	49.3-156.5
LCUp	35.6	13.4646	17.0	0.8414	0.5459	91.1	55.7-221.1
LCLo	20.2	11.0062	12.6	0.8634	0.7402	36.3	37.7-69.3
LCMk	30.6	11.0676	12.4	0.7879	0.5579	40.2	27.3-69.9

ตารางที่ 5 แสดงการทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขง (Dememorization: 1000, Iterations per batch: 1000) ผลการทดสอบที่แสดงความแตกต่างทางสถิติระบุด้วยเครื่องหมายดอกจันหลังจากการปรับค่าระดับนัยสำคัญการทดสอบด้วยวิธี Bonferroni correction

HWE	MC1	MC3	MC4	MC5	MC10
LCVr	***	***	***	***	***
LCUp	***	***	***	***	***
LCLo	***	0.6277	***	0.0091	***
LCMk	***	0.3834	***	***	***

<u>สรุปและข้อเสนอแนะ</u>

ผลการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมและการอพยพของประชากรปลากาดำในแม่น้ำมูลตอนล่างและแม่น้ำโขงแสดงให้เห็นว่า ประชากรในพื้นที่มีการแบ่งเป็นกลุ่มย่อยที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม และพบว่า ปลากาดำในพื้นที่ศึกษายังมีการแลกเปลี่ยนหรือถ่ายเทยีนอยู่ในระดับต่ำ โดยมีอัตราการอพยพสัมฤทธิ์ที่ได้จากการประมาณจากความผันแปรของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 2.0 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่ามาตรฐานของ Wright (1931) อยู่เล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าปลาจากท้ายเขื่อนยังสามารถอพยพเข้ามาในพื้นที่เหนือเขื่อนได้ซึ่งน่าจะเป็นในช่วงเวลาที่มีการเปิดบานประตูทั้งหมด อย่างไรก็ตาม นอกจากตัวเขื่อนปากมูลที่จะเป็นอุปสรรคต่อการอพยพของปลาแล้ว สภาพธรรมชาติของแม่น้ำมูลนั้น ยังมีสภาพเกาะแก่งต่างๆในลำน้ำเองซึ่งมีมากถึง 41 แก่ง ซึ่งเป็นสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ตามธรรมชาติเช่นกัน ไม่ว่าจะเป็นแก่งขนาดใหญ่ เช่นแก่งสะพือซึ่งอยู่ระหว่างพื้นที่ศึกษาเหนือเขื่อนและพื้นที่ในเขตอำเภอวารินชำราบ และแก่งตะนะซึ่งอยู่ระหว่างเขื่อนปากมูลและแม่น้ำโขง ทั้งนี้ความแตกต่างของระดับน้ำเหนือและท้ายแก่งต่างๆในช่วงฤดูน้ำน้อย จะส่งผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของปลาทั้งการเคลื่อนที่ขึ้นและลงในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่เป็นข้อจำกัดการอพยพย้ายถิ่นของปลาในลำน้ำมูล และทำให้เกิดความแตกต่างของประชากรปลาตอนบนและตอนล่างของแก่งนอกเหนือจากปัจจัยระยะทางในการอพยพ และสิ่งกีดขวางที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่นกัน

การที่ประชากรย่อยของปลากาดำในแม่น้ำมูลยังคงมีการแลกเปลี่ยนหรือถ่ายเทยีนอยู่ แม้จะในระดับต่ำก็ตาม ทำให้ประชากรย่อยดังกล่าวไม่ใช่ประชากรปิด (closed population) ซึ่งจะทำให้แต่ละประชากรย่อยยังสามารถรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรได้ดี แม้ว่าจะมีขนาดประชากรสืบพันธุขนาดเล็กก็ตาม ผลจากการศึกษาครั้งนี้ยังช่วยยืนยันว่า มาตรการจัดการบริหารการเปิดปิดเขื่อนปากมูลที่ผ่านมา ตั้งแต่ปี 2546 ซึ่งคณะรัฐมนตรีได้มีมติให้เปิดปิดประตูระบายน้ำทั้งหมด โดยเปิดเป็นเวลา 4 เดือน และปิด 8 เดือนนั้นมีส่วนช่วยทำให้เกิดการถ่ายเทยีนของปลากาดำในพื้นที่ทั้งบริเวณเหนือและท้ายเขื่อน ทั้งนี้ หากมีการบริหารจัดการให้มีการเปิดเขื่อนในช่วงเวลาที่สอดคล้องกับฤดูกาลและการอพยพของปลากาดำจากแม่น้ำโขงที่จะขึ้นไปบริเวณพื้นที่เหนือเขื่อน น่าจะเป็นมาตรการที่เหมาะสมในการดำรงไว้ซึ่งการอนุรักษ์ทรัพยากรปลากาดำในพื้นที่ลุ่มน้ำมูลต่อไป นอกจากนี้การบริหารจัดการพื้นที่แม่น้ำมูลส่วนที่ติดต่อกับแม่น้ำโขงโดยเฉพาะบริเวณแก่งธรรมชาตินั้น ควรคำนึงถึงระดับน้ำตามธรรมชาติ ทั้งบริเวณเหนือและท้ายแก่ง และปริมาณน้ำโขงที่จะขึ้นมาหนุนในพื้นที่ ตลอดจนฤดูกาลอพยพของประชากรปลาส่วนใหญ่ในพื้นที่อีกด้วย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณฎีกา รัตนชำนอง คุณพิสิฐ ภูมิคง ดร.ทวนทอง จุฑาเกตุ และคุณวชิระ กว้างขวาง ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการรวบรวมตัวอย่างเพื่อการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2547. โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาการประมงในลำน้ำมูลตอนล่าง. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด, กรมประมง. 164 หน้า.

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2545. การศึกษาชนิดความหลากพันธุ์ โครงสร้างและพลวัตของประชากรปลาในช่วงการทดลองเปิดประตูระบายน้ำเขื่อนปากมูล <u>ใน</u> รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการศึกษาวิจัยแนวทางการฟื้นฟูระบบนิเวศ วิถีชีวิต และชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากเขื่อนปากมูล.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 203 หน้า.

โครงการจัดตั้งภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. สรุปสาระสำคัญของผลการศึกษาทรัพยากรประมงจากการทดลองเปิดประตูระบายน้ำเขื่อนปากมูล เดือนมิถุนายน 2544 – มิถุนายน 2545. เว็บไซต์ (สืบค้นเมื่อ 17 ตุลาคม 2554) จาก: http://202.28.48.140/pakmun/wp-content/uploads/2011/08/projectpakmun.pdf

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

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

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

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

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 proportion for multiple alleles”. Biometrics. 48. 361-72.

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

Kamonrat, W., A. Hanpongkittikul, N. Sukumasavin, S. Pannusa, S. Chausuan, C. Udomkarn, C. Phala, H. H. Ngai, Somboun, and S. Ingthamjitr. 2010. Genetic Inventory of Some Economically Important Species of the Lower Mekong River Basin. Mekong River Commission Aquaculture of Indigenous Mekong Fish Species Consultant Report. 51 pp.

Mantel, N. (1967). A technique of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research,* 27, 209-220.

Mekong River Commission. Key Mekong fish species - migration paths. website (Cite 2011 October 17) Available from: http://ns1.mrcmekong.org/programmes/fisheries/fish_migration.htm.

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. In Ryman, N. & Utter, F. (eds.). Population genetics and fishery management. Washington Sea Grant Program, Seattle, pp. 345–368.

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.

River Protection Network. 2539. ความสำเร็จของบันไดปลาโจน โฆษณาชวนเชื่อหรือจริง? มูลนิธิสืบนาคะเสถียร. จากเว็บไซต์ http://www.seub.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=146:libery&catid=60:2009-11-12-08-41-01&Itemid=75.

Saiki, R.K., S. Scharf, F. Faloona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich and N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of β–globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* **230**: 1350-1354.

Wilson, A.J., J.A. Hutchings and M.M. Ferguson, 2004. Dispersal in a stream dwelling salmonid: Inferences from tagging and microsatellite studies. Conservation Genetic 5: 25-37.

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

Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97-259.

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