วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 26 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม – สิงหาคม พ.ศ. 2564
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 26 (No.2) May – August 2021
บทความวิจัย

คาริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*)

The Standard Karyotypes and Idiograms of Rose Danio (*Danio roseus*) and Laos Danio (*Devario laoensis*)

เจนจิรา แก้วติ๊บ[1], อาทิตยา วงศ์วุฒิ[2], นิติ เอี่ยมชื่น[3], สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล[1] และ เกรียงไกร สีตะพันธุ์[2*]

Jenjira Kaewtip[1], Athitaya Wongwut[2], Niti Iamchuen[3], Sitthisak Pinmongkholgul[1] and Kriengkrai Seetapan[2*]

[1]*สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา*

[2]*สาขาวิชาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา*

[3]*หน่วยวิจัยเพื่อการพัฒนานวัตกรรมเชิงพื้นที่ คณะเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร มหาวิทยาลัยพะเยา*

[1]*Department of Biology, School of* Science*, University of Phayao*

[2]*Department of Fishery, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao*

[3] *Research Unit of Spatial Innovation Development, School of Information and Communication Technology, University of Phayao*

Received : 24 April 2020

Revised : 6 August 2020

Accepted : 27 August 2020

บทคัดย่อ

ปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*) เป็นปลาที่สามารถพบได้ทั่วไปในลำธารขนาดเล็กในจังหวัดพะเยา การศึกษาลักษณะคาริโอไทป์ของปลาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอธิบายวิวัฒนาการของปลา และนำไปใช้ในการศึกษาเพิ่มเติมในงานด้านพันธุศาสตร์ การศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์คาริโอไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ และปลาซิวใบไผ่ลาว ปลาทั้ง 2 ชนิดถูกเก็บตัวอย่างจากลุ่มน้ำสาขาของแม่น้ำอิง และนำกลับไปยังมหาวิทยาลัยพะเยา โดยศึกษาโครโมโซมในระยะเมทาเฟสที่เตรียมจากเนื้อเยื่อไตจากตัวอย่างปลาชนิดละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาโดยใช้สีจิมซ่า ผลการศึกษาพบว่าปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ และปลาซิวใบไผ่ลาว มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนแขนโครโมโซม (NF) เท่ากับ 100 และ 96 ตามลำดับคาริโอไทป์ประกอบด้วย เมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก อะโครเซนทริก และเทโลเซนทริก เท่ากับ 8-34-8-0 และ 6-20-20-4 แท่ง ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศในปลาทั้ง 2 ชนิด และมีสูตรคาริโอไทป์ดังต่อไปนี้ :

ปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ; $2n$ (50) = $L^{m}_{8} + L^{sm}_{16} + M^{sm}_{18} + M^{a}_{8}$

ปลาซิวใบไผ่ลาว; $2n$ (50) = $L^{m}_{2} + L^{sm}_{8} + L^{a}_{8} + M^{m}_{4} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{12} + M^{t}_{4}$

คำสำคัญ : ปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ ; ปลาซิวใบไผ่ลาว ; คาริโอไทป์ ; โครโมโซม ; อิดิโอแกรม

Abstract

The Rosy Danio (*Danio roseus*) and Laos Danio (*Devario laoensis*) are commonly found is small stream in Phayao province. The description of karyotype of fish is basic information for explaining the fish evolution and applying to further study in genetics. In this study we investigate the standardized karyotype and idiogram of *Da. roseus* and *De. laoensis*. Both fishes were collected from the tributary of Ing River and carried to University of Phayao. The fish metaphase chromosomes were directly prepared from the kidney of ten specimens per species (five males and five females) . After chromosomal preparation, the chromosomes were stained with simple Giemsa's staining method. The results showed that the diploid chromosome numbers (2*n*) of both fishes were 50, with the fundamental numbers (NF) being 100 and 96, respectively. Additionally, the karyotype of metacentric, submetacentric, acrocentric and telocentric chromosomes of *Da. roseus* and *De. laoensis* were 8-34-8-0 and 6-20-20-4, respectively. Surprisingly, the sex-chromosome dimorphism was not found in both fishes. Therefore, the karyotype formulas could be deduced as:

Da. roseus; 2*n* (50) = $L^{m}_{8} + L^{sm}_{16} + M^{sm}_{18} + M^{a}_{8}$

De. laoensis; 2*n* (50) = $L^{m}_{2} + L^{sm}_{8} + L^{a}_{8} + M^{m}_{4} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{12} + M^{t}_{4}$

Keywords : *Danio roseus* ; *Devario laoensis ;* karyotype ; chromosome ; idiogram

***Corresponding author. E-mail** : kook82@hotmail.com

บทนำ

ปลาซิวใบไผ่เป็นปลาขนาดเล็กพบอาศัยอยู่ตามลำธารต้นน้ำ จัดอยู่ในวงศ์ปลาตะเพียน (family Cyprinidae) วงศ์ย่อยปลาซิว (subfamily Danioninae) ปลาในวงศ์นี้มีชนิดมากที่สุดในกลุ่มปลาน้ำจืด ทั่วโลกมีประมาณ 367 สกุล (genus) 3,006 ชนิด (species) สำหรับในวงศ์ย่อยปลาซิวพบประมาณ 25 สกุล 319 ชนิด (Nelson *et al*., 2016) ปลาซิวใบไผ่แบ่งออกเป็น 2 สกุล คือ *Danio* (ปลาซิวใบไผ่เล็ก) และ *Devario* (ปลาซิวใบไผ่ใหญ่) ปลาทั้ง 2 สกุลนี้มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันมาก แตกต่างกันที่ปลาในสกุล *Danio* มีขนาดเล็กกว่า และมีหนวดยาวหนึ่งคู่ยื่นออกมาจากบริเวณมุมปาก ส่วนปลาในสกุล *Devario* พบมีขนาดตัวใหญ่กว่า แต่หนวดที่มุมปากสั้นกว่า (Nelson, 2006; Panitvong, 2020) ปลาทั้ง 2 สกุลนี้พบแพร่กระจายในแถบเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในแผ่นดินใหญ่ (Kottelat, 2013) โดยปลาสกุล *Danio* พบไม่ต่ำกว่าจำนวน 27 ชนิด (พบในประเทศ 5 ชนิด) และสกุล *Devario* พบไม่ต่ำกว่า 43 ชนิด (พบในประเทศ 7 ชนิด) (Panitvong, 2020) ปัจจุบันจำนวนประชากรปลาซิวใบไผ่ลดลงอย่างมากในหลายพื้นที่ เนื่องจากลำธารในที่ราบซึ่งเป็นที่อาศัยของปลาเหล่านี้ถูกรุกรานและเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง

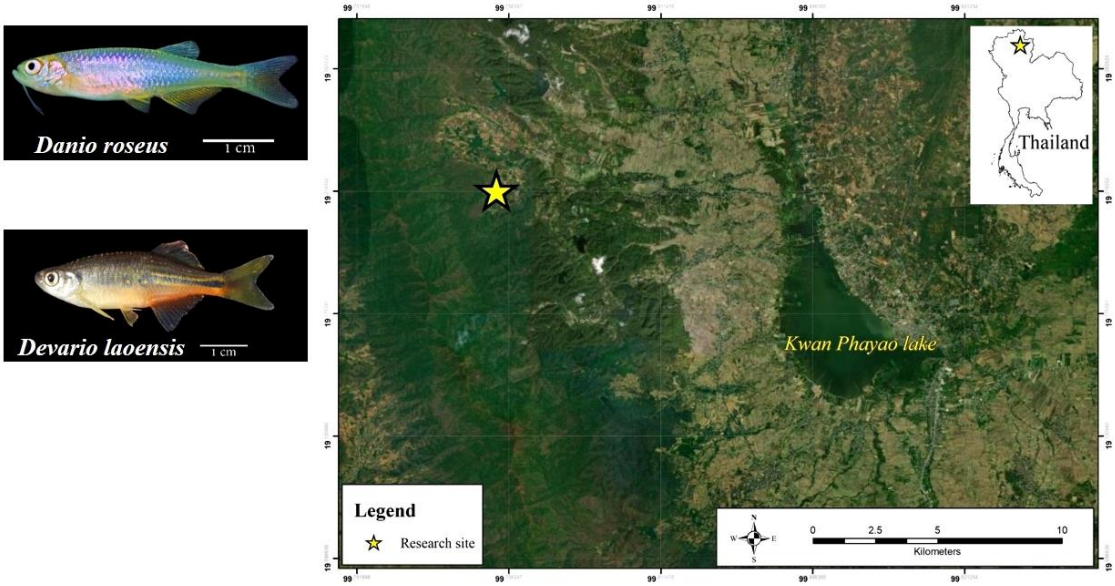
การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาวงศ์ย่อยปลาซิวในประเทศไทยก่อนหน้านี้พบรายงานเฉพาะในปลาซิวสกุล *Rasbora* จำนวน 14 ชนิด โดยปลาทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง แต่มีคาริโอไทป์แตกต่างกัน (Yeesaem *et al*., 2019) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 26.4 ของปลาวงศ์ย่อยปลาซิวที่มีรายงานไว้ในประเทศไทยไม่น้อยกว่า 53 ชนิด (Panitvong, 2020) ทั้งนี้ความแตกต่างของคาริโอไทป์อาจมีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงในระดับโครงสร้างของโครโมโซมผ่านกระบวนการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนแบบโรเบิร์ตโซเนียน (Robertsonian translocation) เคลื่อนย้ายชิ้นส่วนของโครโมโซมต่างคู่ (reciprocal translocation) กระบวนการต่อสลับ (inversion) กระบวนการเพิ่มชิ้นส่วน (duplication) การลดชิ้นส่วน (deletion) การแตกหัก (fission) หรือการเชื่อมรวม (fusion) (Tanomtong, 2011) สำหรับรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวในสกุล *Danio* และ *Devario* ในประเทศไทยยังไม่พบรายงานมาก่อน ดังนั้นจึงสนใจศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*) ที่พบในจังหวัดพะเยา เพื่อทราบถึงจำนวนโครโมโซม รูปร่างโครโมโซม คาริโอไทป์ และอิดิโอแกรมมาตรฐาน ซึ่งยังไม่พบรายงาน ข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการศึกษาลำดับวิวัฒนาการของปลาน้ำจืด การศึกษาด้านเซลล์อนุกรมวิธาน รวมถึงใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ขั้นสูง การเพาะเลี้ยง การปรับปรุงพันธุ์ การอนุรักษ์พันธุ์ และการใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลอง

ขออนุญาตดำเนินการวิจัยจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยพะเยา และได้รับอนุญาตโดยมีเลขที่รับรองโครงการ 62 01 04 019 ทำการรวบรวมปลาปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ และปลาซิวใบไผ่ลาว จากลำธารสาขาของแม่น้ำอิง บ้านต๋ำกลาง อ.เมือง จ.พะเยา พิกัด 99°13’56”N 99°45’54”E (ภาพที่ 1) ตรวจสอบชนิดปลาทั้งสองชนิดตามเอกสารวิชาการดังนี้ Rainboth (1996), Fang and Kottelat (2000), Kottelat (2001) และ Kottelat (2013) ปลาแต่ละชนิดถูกรวบรวมมาชนิดละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) โดยลักษณะภายนอกของปลาเพศผู้ทั้ง 2 ชนิด จะมีรูปร่างเพรียว รวมทั้งจะมีสีสันสดใส และชัดเจนกว่าปลาเพศเมีย โดยเฉพาะในฤดูผสมพันธุ์ ส่วนปลาเพศเมียจะมีมีสีซีด รูปร่างอ้วนป้อม และท้อง

อูมกว่าเพศผู้ นำปลาที่ใช้ศึกษามาเลี้ยงรวมกันในตู้กระจกขนาด 45×60×50 เซนติเมตร เติมน้ำสูง 30 เซนติเมตร มีการให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ฝึกให้กินอาหารสำเร็จรูปโปรตีนไม่ต่ำกว่า 40% วันละ 2 ครั้ง จนกว่าจะทำการศึกษา



ภาพที่ 1 สถานที่เก็บตัวอย่างปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Da. roseus*) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*De. laoensis*) ในจังหวัดพะเยา

2. การเตรียมโครโมโซม

นำปลาที่จะใช้ศึกษามาฉีดด้วยสารโคลซิซีน (colchicine) เข้มข้น 0.1% (ฉีด 0.7 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักปลา 100 กรัม) ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง 45 นาที จากนั้นนำปลามาทำให้สลบโดยการแช่ในน้ำแข็ง ผ่าเอาไตออกมาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) เข้มข้น 0.075 M (ขณะแช่สับไตให้ละเอียด) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นย้ายสารละลายที่มีไตที่สับละเอียดเก็บในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร เมื่อครบ 10 นาที จึงนำไปหมุนปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เมื่อครบเวลานำมาดูดส่วนใสทิ้ง เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิลิตรอีกครั้ง และเขย่าสารให้เข้ากันนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว และเวลาเท่าเดิม แล้วดูดส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมน้ำยาตรึงเซลล์ (methanol : glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3:1) 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วและเวลาเท่าเดิม ดูดส่วนใสทิ้ง ทำเช่นนี้จนได้สารละลายใส และมีตะกอนขาวอยู่ที่ก้นหลอด จากนั้นนำสารละลายเซลล์ที่ได้มาหยดลงบนกระจกสไลด์สะอาด และหยดน้ำยาตรึงเซลล์ตามลงไปอีก 1 หยด ทิ้งไว้ให้แห้ง จึงนำสไลด์มาย้อมใน 10% giemsa นาน 15 นาที นำสไลด์ไปล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด และทิ้งไว้ให้แห้ง ตรวจสอบสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า และทำการบันทึกภาพโครโมโซมระยะเมทาเฟส (metaphase) ด้วยอุปกรณ์ถ่ายภาพ

3. การทำคาริโอไทป์และอิดิโอแกรม

การทำคาริโอไทป์และอิดิโอแกรมดัดแปลงมาจากวิธีการของ Gomonteir *et al*. (2012) โดยนำภาพถ่ายที่โครโมโซมระยะเมทาเฟสที่กระจายตัวดี และชัดเจนที่สุดของปลาแต่ละชนิดมาเพศละ 10 เซลล์ วัดความยาวแขนของโครโมโซม

แขนข้างสั้น (length short; Ls) แขนข้างยาว (length long; Ll) และแขนทั้งหมด (length total; LT) คำนวณค่าความยาวสัมพัทธ์ของโครโมโซม (relative length; RL) คำนวณค่า centromeric index (CI) เพื่อหาชนิดโครโมโซมโดยจำแนกชนิดโครโมโซม ดังนี้

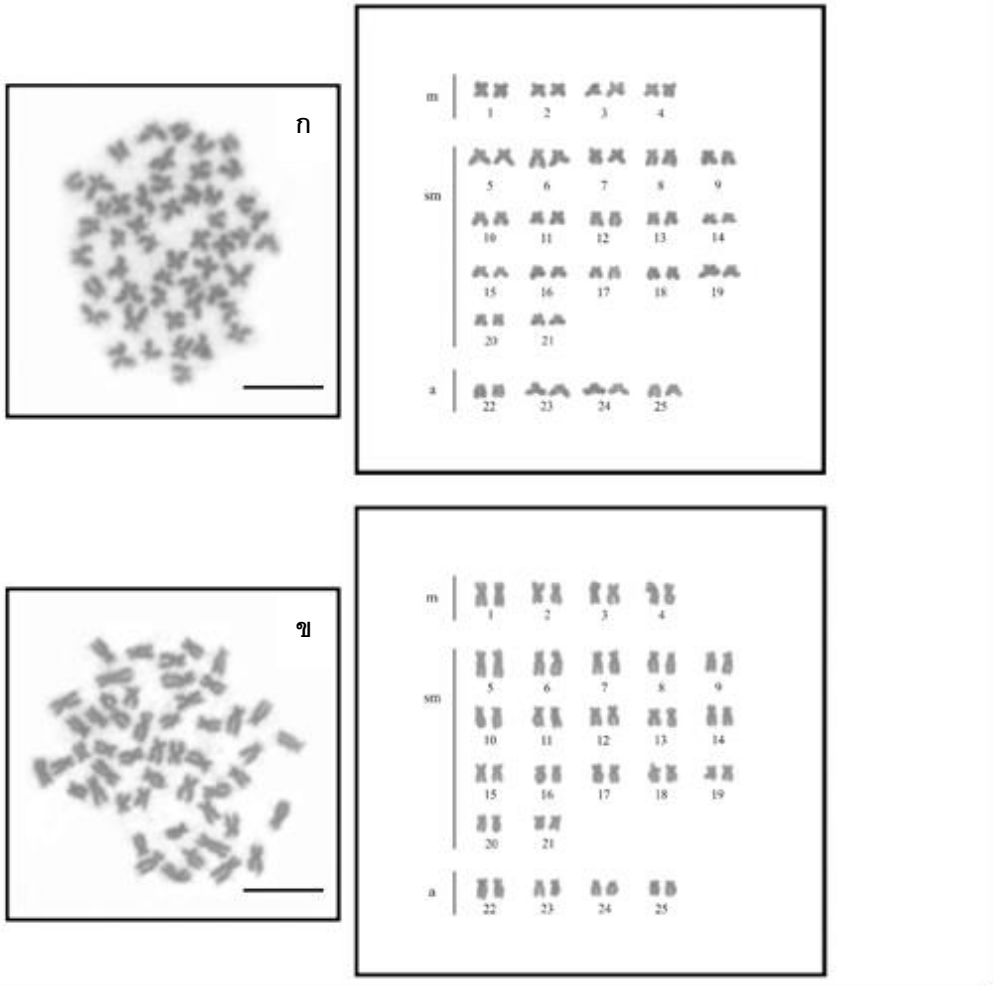
ค่า CI	ชนิดโครโมโซม
0.500-0.599	เมทาเซนทริก (metacentric; m)
0.600-0.699	ซับเมทาเซนทริก (submetacentric; sm)
0.700-0.899	อะโครเซนทริก (acrocentric; a)
0.900-1.000	เทโลเซนทริก (telocentric; t)

การกำหนดขนาดของโครโมโซมดัดแปลงจากวิธีของ Tanomtong (2011) โดยให้โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นคู่ที่ใหญ่สุด (large; L) สำหรับโครโมโซมขนาดกลาง (medium; M)) คือ โครโมโซมที่มีค่าความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กสุด และสุดท้ายโครโมโซมขนาดเล็ก (small; S) คือโครโมโซมที่มีค่าความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด

ผลการวิจัย

การศึกษาคาริโอไทป์ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบโดยย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง จำนวนแขนโครโมโซม เท่ากับ 100 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ ปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบมีคาริโอไทป์ (ภาพที่ 2) และอิดิโอแกรมมาตรฐาน (ภาพที่ 4 ก) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 16 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 18 แท่ง และอะโครเซนทริกขนาดกลาง 8 แท่ง ข้อมูลความยาวเฉลี่ยของโครโมโซม ความยาวโครโมโซมแขนข้างสั้น ความยาวโครโมโซมแขนข้างยาว ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ ค่า relative length (RL) และ centromeric index (CI) แสดงดังตารางที่ 1 สามารถสร้างสูตรคาริโอไทป์ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบได้ดังนี้

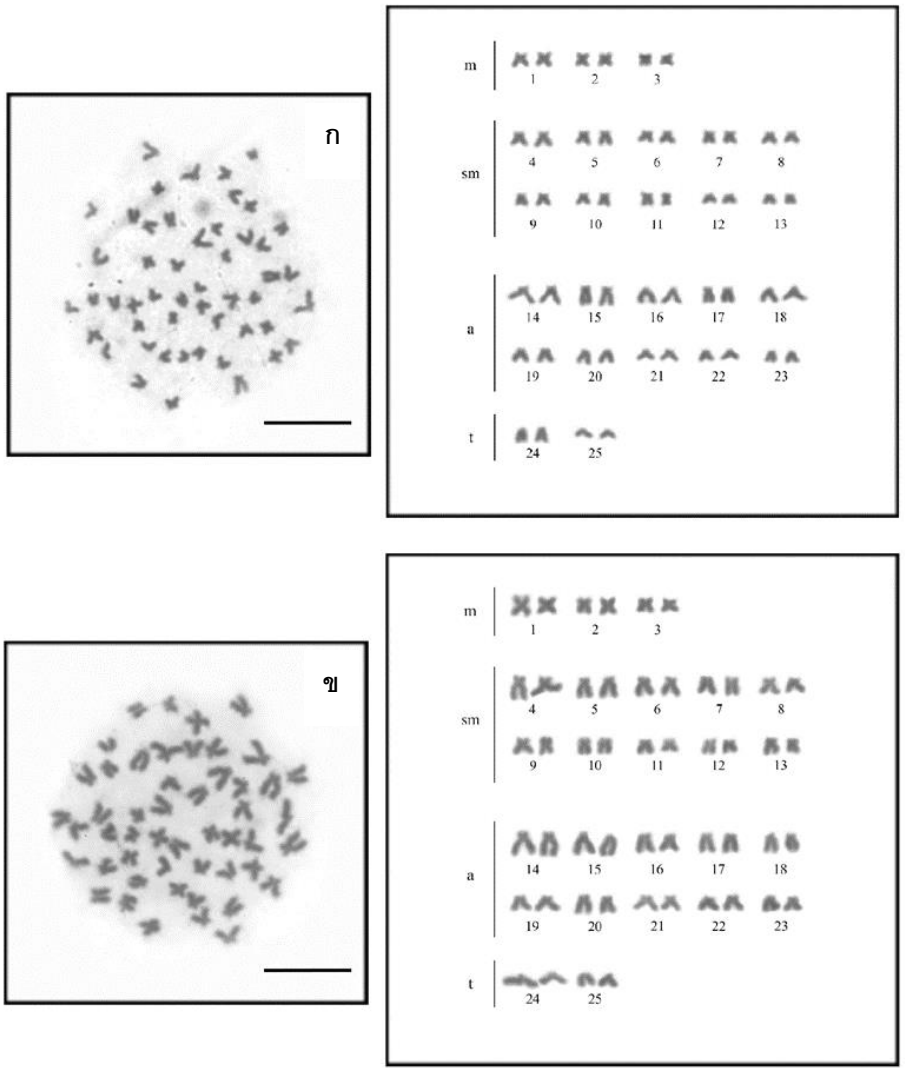
$$2n\ (50) = L_8^{m} + L_{16}^{sm} + M_{18}^{sm} + M_8^{a}$$



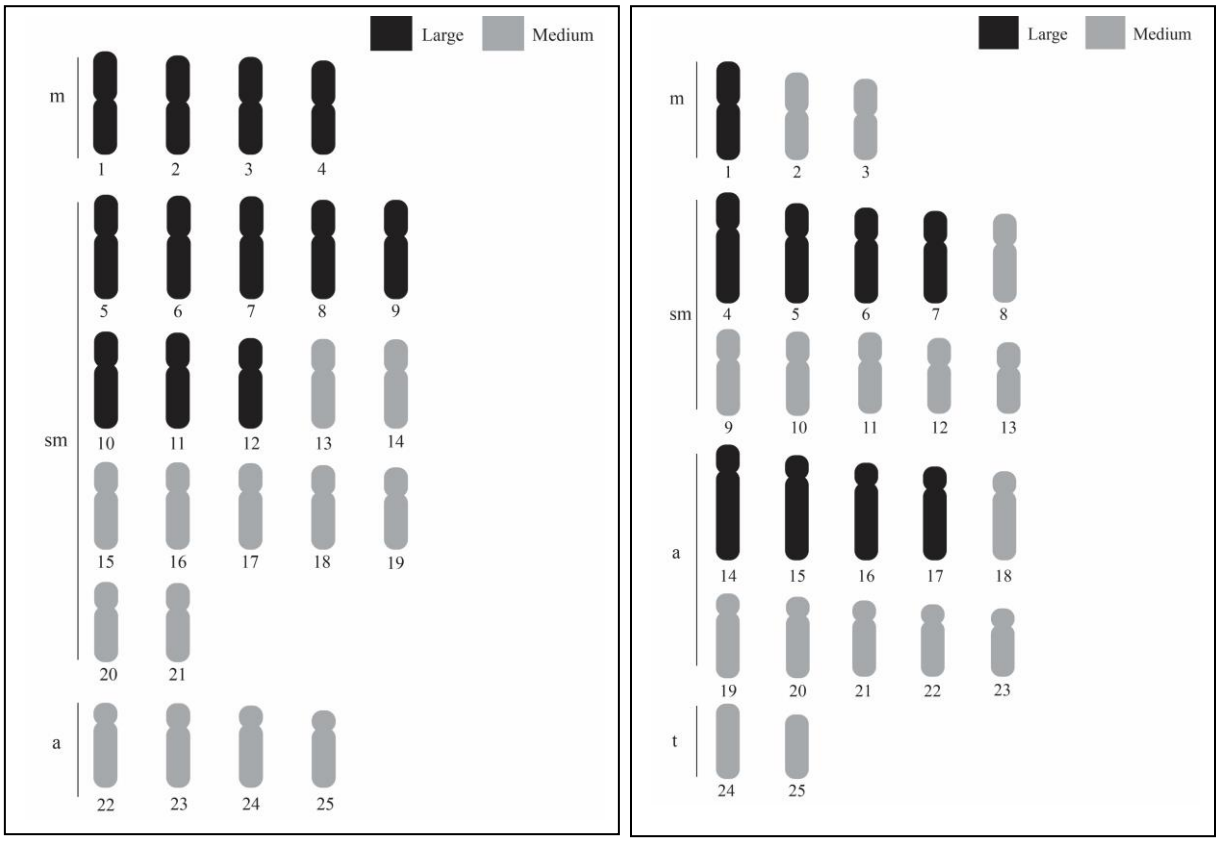
ภาพที่ 2 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ซ้าย) และคาริโอไทป์ (ขวา) ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*, 2*n* = 50) เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (สเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร)

ปลาซิวใบไผ่ลาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง จำนวนแขนโครโมโซม เท่ากับ 96 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ ปลาซิวใบไผ่ลาวมีคาริโอไทป์ (ภาพที่ 3) และอิดิโอแกรมมาตรฐาน (ภาพที่ 4 ข) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ข้อมูลความยาวเฉลี่ยของโครโมโซม ความยาวโครโมโซมแขนข้างสั้น ความยาวโครโมโซมแขนข้างยาว ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ ค่า relative length (RL) และ centromeric index (CI) แสดงดังตารางที่ 2 สามารถสร้างสูตรคาริโอไทป์ของปลาซิวใบไผ่ลาวได้ดังนี้

$$2n\ (50) = L_2^{m} + L_8^{sm} + L_8^{a} + M_4^{m} + M_{12}^{sm} + M_{12}^{a} + M_4^{t}$$



ภาพที่ 3 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ซ้าย) และคาริโอไทป์ (ขวา) ของปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*, 2*n* = 50) เพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (สเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร)



ก ข

ภาพที่ 4 อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*, 2*n* = 50) (ก) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*, 2*n* = 50) (ข)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (length short; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long; LI) ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่ (length total; LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ขนาดของโครโมโซม และชนิดของโครโมโซมของปลาชิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Danio roseus*) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ $2n$= 50 แท่ง จำนวน 10 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	Ls (µm)	LI (µm)	LT (µm)	RL±SD	CI±SD	ขนาดโครโมโซม	ชนิดโครโมโซม
1	0.646	0.761	1.406	0.054±0.012	0.539±0.025	ใหญ่	เมตาเซนทริก
2	0.617	0.733	1.350	0.052±0.011	0.542±0.017	ใหญ่	เมตาเซนทริก
3	0.573	0.721	1.294	0.050±0.010	0.559±0.037	ใหญ่	เมตาเซนทริก
4	0.566	0.678	1.245	0.048±0.008	0.548±0.047	ใหญ่	เมตาเซนทริก
5	0.526	0.652	1.178	0.049±0.009	0.610±0.021	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
6	0.530	0.759	1.289	0.049±0.010	0.591±0.057	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
7	0.539	0.800	1.339	0.052±0.015	0.593±0.047	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
8	0.526	0.822	1.348	0.052±0.013	0.610±0.038	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
9	0.499	0.845	1.344	0.052±0.019	0.627±0.060	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
10	0.501	0.878	1.379	0.052±0.010	0.639±0.022	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
11	0.503	0.894	1.397	0.054±0.015	0.642±0.027	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
12	0.415	0.801	1.216	0.047±0.014	0.661±0.027	ใหญ่	ซับเมตาเซนทริก
13	0.414	0.843	1.257	0.048±0.012	0.673±0.034	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
14	0.428	0.742	1.170	0.045±0.010	0.639±0.047	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
15	0.353	0.806	1.159	0.044±0.011	0.700±0.066	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
16	0.395	0.813	1.208	0.047±0.010	0.674±0.080	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
17	0.367	0.815	1.182	0.046±0.011	0.680±0.069	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
18	0.346	0.787	1.133	0.044±0.014	0.693±0.081	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
19	0.362	0.778	1.140	0.043±0.011	0.685±0.075	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
20	0.381	0.793	1.174	0.044±0.009	0.688±0.109	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
21	0.339	0.803	1.141	0.044±0.008	0.697±0.096	กลาง	ซับเมตาเซนทริก
22	0.335	0.821	1.156	0.041±0.006	0.708±0.093	กลาง	อะโครเซนทริก
23	0.223	0.836	1.059	0.041±0.008	0.796±0.086	กลาง	อะโครเซนทริก
24	0.206	0.858	1.064	0.041±0.010	0.811±0.039	กลาง	อะโครเซนทริก
25	0.196	0.901	1.097	0.042±0.009	0.830±0.078	กลาง	อะโครเซนทริก

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (length short; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long; Ll) ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่ (length total; LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ขนาดของโครโมโซม และชนิดของโครโมโซมของปลาซิวใบไผ่ลาว (*Devario laoensis*) จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ $2n$= 50 แท่ง จำนวน 10 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	Ls (μm)	Ll (μm)	LT (μm)	RL±SD	CI±SD	ขนาดโครโมโซม	ชนิดโครโมโซม
1	0.615	0.861	1.476	0.046±0.004	0.583±0.010	ใหญ่	เมตาเซนตริก
2	0.573	0.733	1.306	0.041±0.003	0.562±0.028	กลาง	เมตาเซนตริก
3	0.535	0.689	1.224	0.038±0.004	0.563±0.024	กลาง	เมตาเซนตริก
4	0.543	1.123	1.665	0.052±0.005	0.674±0.029	ใหญ่	ซับเมตาเซนตริก
5	0.506	1.009	1.516	0.047±0.004	0.665±0.025	ใหญ่	ซับเมตาเซนตริก
6	0.475	0.987	1.463	0.045±0.003	0.674±0.017	ใหญ่	ซับเมตาเซนตริก
7	0.459	0.930	1.389	0.043±0.004	0.668±0.035	ใหญ่	ซับเมตาเซนตริก
8	0.446	0.897	1.343	0.042±0.003	0.667±0.022	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
9	0.455	0.846	1.301	0.040±0.002	0.649±0.031	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
10	0.432	0.851	1.283	0.040±0.002	0.660±0.039	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
11	0.425	0.815	1.240	0.039±0.003	0.659±0.020	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
12	0.384	0.749	1.132	0.035±0.003	0.661±0.021	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
13	0.375	0.674	1.049	0.033±0.004	0.644±0.025	กลาง	ซับเมตาเซนตริก
14	0.427	1.397	1.824	0.056±0.007	0.769±0.025	ใหญ่	อะโครเซนตริก
15	0.340	1.345	1.685	0.052±0.006	0.801±0.031	ใหญ่	อะโครเซนตริก
16	0.301	1.224	1.524	0.047±0.006	0.806±0.040	ใหญ่	อะโครเซนตริก
17	0.317	1.133	1.450	0.045±0.006	0.780±0.033	ใหญ่	อะโครเซนตริก
18	0.321	1.063	1.383	0.043±0.005	0.772±0.031	กลาง	อะโครเซนตริก
19	0.298	1.000	1.298	0.040±0.006	0.771±0.034	กลาง	อะโครเซนตริก
20	0.273	0.971	1.245	0.038±0.005	0.783±0.030	กลาง	อะโครเซนตริก
21	0.269	0.877	1.146	0.035±0.004	0.768±0.047	กลาง	อะโครเซนตริก
22	0.254	0.810	1.064	0.033±0.003	0.765±0.037	กลาง	อะโครเซนตริก
23	0.251	0.749	1.000	0.031±0.003	0.749±0.038	กลาง	อะโครเซนตริก
24	0.000	1.138	1.138	0.035±0.008	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนตริก
25	0.000	0.971	0.971	0.030±0.004	1.000±0.000	กลาง	เทโลเซนตริก

วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ (*Da. roseus*) และปลาซิวใบไผ่ลาว (*De. loaensis*) ที่พบในจังหวัดพะเยา ประเทศไทย ซึ่งเป็นการรายงานผลครั้งแรก พบว่า ปลาทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง เท่ากับการศึกษาก่อนหน้านี้ของปลาหลายชนิดในวงศ์ย่อยปลาซิว (subfamily Danioninae) ที่มีรายงานทั้งในประเทศและต่างประเทศ (Donsakul *et al*., 2009; Arai, 2011; Sukham *et al*., 2013; Yeesaem *et al*., 2019) (ตารางที่ 3) หากพิจารณาปลาในวงศ์ปลาตะเพียน พบว่า ปลาในวงศ์นี้จะมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา โดยมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) อยู่ระหว่าง 36 - 162 แท่ง แต่ส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง (Arai, 2011) ซึ่งลักษณะดังกล่าว Arai (1982) ได้ระบุว่าเป็นปลากลุ่มที่ค่อนข้างโบราณ (primitive stage) ที่สุดของปลาในวงศ์ปลาตะเพียน เนื่องจากมีวิวัฒนาการด้านจำนวนโครโมโซมค่อนข้างช้า ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากจำนวนโครโมโซม ดิพพลอยด์ (2*n*) ของปลาในวงศ์ปลาตะเพียนจะเห็นว่าปลาในวงศ์ปลาซิวเป็นปลาที่ค่อนข้างโบราณ เนื่องจากปลาในวงศ์ย่อยปลาซิวจากการศึกษาครั้งนี้และก่อนหน้านี้จะมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) เท่ากับ 50 แท่ง ซึ่งต่างกับปลาในวงศ์ย่อยปลาตะเพียน (subfamily Cyprininae) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2*n*) ตั้งแต่ 50 – 100 แท่ง (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานปลาโดย Nelson *et al*. (2016) ที่ได้จัดให้ปลาในวงศ์ย่อยปลาซิวเป็นปลาที่มีความโบราณมากกว่าปลาในวงศ์ย่อยปลาตะเพียน

จำนวนแขนโครโมโซม (NF) ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ และปลาซิวใบไผ่ลาว เท่ากับ 100 และ 96 ตามลำดับ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย สอดคล้องกับ Arai (2011) ที่รายงานว่า ปลาในวงศ์ย่อยปลาซิวมีจำนวนแขนโครโมโซมอยู่ในช่วง 72 – 108 ทั้งนี้การมีจำนวนแขนโครโมโซมมากบ่งบอกได้ว่าปลาชนิดนั้นอาจจะมีวิวัฒนาการที่สูงกว่าปลาที่มีจำนวนแขนโครโมโซมที่น้อยกว่า (Nirchio *et al*., 2002; Sophawanus *et al*., 2017) ความแตกต่างของจำนวนแขนโครโมโซม และคาริโอไทป์ อาจมีผลมาจากการต่อสลับบางส่วนของโครโมโซม (inversion) การต่อสลับอาจเกิดขึ้นได้ทั้งที่มีเซนโทรเมียร์ร่วมอยู่ด้วย (pericentric inversion) หรือไม่มีเซนโทรเมียร์มาร่วมอยู่ด้วย (paracentric inversion) ปรากฏการณ์เหล่านี้สามารถส่งผลให้โครโมโซมแบบเทโลเซนตริก ซึ่งเป็นโครโมโซมแบบแขนเดียว (mono-arm chromosome) เป็นโครโมโซมสองแขน (bi-arm chromosome) ใหม่ได้ (Galetti *et al*., 2000; Tanomtong, 2011) สิ่งที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ล้วนแต่ส่งผลทำให้จำนวนแขนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตมีการเปลี่ยนแปลงได้

จากข้อมูลการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานปลา (Rainboth, 1996; Kottelat, 2001 และ Kottelat, 2013; Nelson *et al*., 2016) เปรียบเทียบกับข้อมูลเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาในวงศ์ย่อยปลาซิวทั้งจากการศึกษานี้และการศึกษาก่อนหน้านี้จำนวน 4 สกุล (*Danio*, *Devario*, *Esomus* และ *Rasbora*) สามารถแบ่งกลุ่มปลาตามโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก (จัดเป็นโครโมโซมแบบสมมาตร) จากน้อยไปหามาก ได้ดังนี้ ปลาในสกุล *Devario* 2 ชนิด (*Devario aequipinnatus* และ *De. laoensis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 6 แท่ง ปลาในสกุล *Danio* 3 ชนิด (*Danio albolineatus*, *Da. rerio* และ *Da. roseus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก อยู่ในช่วง 8 – 10 แท่ง ส่วนปลาในสกุล *Esomus* 1 ชนิด (*Esomus metallicus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง และส่วนปลาในสกุล *Rasbora* 4 ชนิด (*Rasbora agilis*, *R. Dorsiocellata*, *R. Einthovenii* และ *R. rubrodorsalis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกอยู่ในช่วง 16 - 24 แท่ง (ตารางที่ 3) จากผลการศึกษาดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาพันธุศาสตร์โมเลกุล (molecular genetics) กลุ่มปลาตะเพียนจากเอเชียใต้

ในสกุล *Danio*, *Devario* และ *Microrasbora* ซึ่งเป็นปลาในวงศ์ย่อยปลาซิวเช่นเดียวกัน โดยทำการศึกษาในลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมไมโทคอนเดรีย ด้วยยีน cytochrome *b* พบว่า ปลาซิวสกุล *Devario* และ *Microrasbora* มีความใกล้ชิดกัน สำหรับปลาซิวสกุล *Danio* ถูกแยกออกเป็นอีกกลุ่มต่างหาก แต่อย่างไรก็ตามปลาทั้ง 3 สกุลนี้ยังมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากกว่าปลาซิวในสกุล *Rasbora* นอกจากนี้ยังพบเพิ่มเติมว่าปลาทั้ง 4 สกุลนี้ซึ่งอยู่ในวงศ์ย่อยปลาซิวมีความสัมพันธ์ห่างจากปลาที่อยู่ในวงศ์ย่อยปลาตะเพียน (subfamily Cyprininae) (Fang *et al*., 2009)

ปลาทั้งสองชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ สอดคล้องกับรายงานปลาในวงศ์ย่อยปลาซิว และวงศ์ปลาตะเพียนหลายชนิด (Arai, 2011) ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าโครโมโซมเพศของปลาทั้ง 2 ชนิดนี้ยังอยู่ในขั้นต้นของกระบวนการพัฒนาการเปลี่ยนแปลงการกำหนดเพศโดยโครโมโซม จึงส่งผลให้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ แต่เพศของปลาอาจถูกกำหนดโดยยีนที่อยู่บนโครโมโซมแท่งใดแท่งหนึ่งซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ในระดับพันธุศาสตร์เซลล์ (Na-Nakorn, 2000; Tanomtong, 2011; Sophawanus *et al*., 2017)

ข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบและปลาซิวใบไผ่ลาวที่ศึกษาครั้งนี้ ถือเป็นองค์ความรู้พื้นฐานใหม่ที่สำคัญต่อการศึกษาวิวัฒนาการของโครโมโซมของปลาที่มีความใกล้เคียงกัน ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาด้านอนุกรมวิธาน เพื่อจะช่วยอธิบายความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการปลาได้ รวมถึงยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ช่วยตรวจสอบความผิดปกติของโครโมโซมที่อาจเกิดจากความบกพร่องทางพันธุกรรม หรือเกิดจากความเป็นพิษของสิ่งแวดล้อมที่สัตว์น้ำนั้นอาศัยอยู่

ตารางที่ 3 พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ปลาตะเพียน (family Cyprinidea)

Species	2*n*	NF	Karyotype	Reference
Subfamily: Danioninae				
Danio albolineatus	50	99	10m+39sm+1a	Arai (2011)
Da. rerio	50	100	12m+26sm+12st	Arai (2011)
Da. roseus	50	100	8m+34sm+8a	Present study
Devario aequipinnatus	50	96	6m+34sm+6st+4t	Sukham *et al*. (2013)
De. laoensis	50	96	6m+20sm+20a+4t	Present study
Esomus metallicus	50		14m+10sm+26a	Neeratanaphan *et al*. (2017)
Rasbora agilis	50	100	24m+26sm	Donsakul *et al*. (2009)
R. dorsiocellata	50	92	18m+24sm+8t	Donsakul *et al*. (2009)
R. einthovenii	50	100	16m+18sm+16a	Yeesaem *et al*. (2009)
R. rubrodorsalis	50	82	16m+16sm+18t	Donsakul *et al*. (2009)

หมายเหตุ 2*n* = จำนวนดิพลอยด์โครโมโซม, NF = จำนวนแขนของโครโมโซม, m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

ตารางที่ 3 (ต่อ) พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในวงศ์ปลาตะเพียน (family Cyprinidea)

Species	2*n*	NF	Karyotype	Reference
Subfamily: Cyprininae				
Catla catla	50	76	6m+20sm+2st+22a	Bhatnagar *et al*. (2014)
Catlocarpio siamensis	98	138	26m+14sm+58st	Saenjundaeng *et al*. (2018a)
Cirrhinus mrigala	50	62	6m+6sm+8st+30a	Bhatnagar *et al*. (2014)
Cyclocheilichthys armatus	50	94	12m+18sm+14st+6t	Chaiyasan *et al*. (2018)
Cyprinus carpio	100	150	24m+26sm+18st+32t	Kumar *et al*. (2017)
Labeo rohita	50	64	8m+6sm+4st+32a	Bhatnagar *et al*. (2014)
Labiobarbus leptocheilus	50	86	14m+6sm+16st+14t	Saenjundaeng *et al*. (2018b)
Probarbus jullieni	98	150	18m+34sm+46st	Saenjundaeng *et al*. (2018a)
Puntius brevis	50	62	4m+4sm+4st+38t	Nithikulworawong and Khrueanet (2014)
Puntioplites proctozysron	50	82	6m+14sm+12st+18t	Supiwong *et al*. (2012)

หมายเหตุ 2*n* = จำนวนดิพลอยด์โครโมโซม, NF = จำนวนแขนของโครโมโซม, m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

สรุปผลการวิจัย

เป็นรายงานแรกของการศึกษาคาริโอไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบ และปลาซิวใบไผ่ลาว พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากัน คือ 50 แท่ง แต่มีคาริโอไทป์ต่างกัน ดังนี้ ปลาซิวใบไผ่สีกุหลาบมีคาริโอไทป์ประกอบด้วย 8m+34sm+8a แท่ง และปลาซิวใบไผ่ลาวมีคาริโอไทป์ประกอบด้วย 6m+20sm+20a+4t

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจาก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ประจำปีการศึกษา 2562 ทางคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี่ และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณคณะสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาซิวทั้ง 2 ชนิดของสาขาวิชาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ได้ช่วยให้การปฏิบัติงานภาคสนามสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Arai, R. (1982). A chromosome study on two cyprinid fishes *Acrossocheilus labiatus* and *Pseudorasbora pumila* with note on Eurasian cyprinid and their karyotypes. *Bulletin of the National Science Museum. Series A*, *8*(3), 131 - 182.

Arai, R. (2011). *Fish karyotypes: A check list*. Springer. Japan.

Bhatnagar, A., Yadav, A. S. & Kamboj, N. (2014). Karyomorphology of Three Indian Major form Haryana, India. *Journal of Fisheries Sciences, 8*(2), 95-103

Chaiyasan, P., Supiwong, W., Saenjundaeng, P., Seetapan, K., Pinmongkhonkul, S. & Tanomtong A. (2018). A Report on Classical Cytogenetics of Hihgfin Barb Fish, *Cyclocheilichthys armatus* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Cytologia 83*(2)*,* 149 – 154.

Donsakul, T., Rangsiruji, A. & Magtoon, W. (2009). Karyotypes of five cyprinid fishes (Cyprinidae, Danioninae-Danionini): *Rasbora agilis, R. dorsiocellata, R. rubrodorsalis, Boraras maculata* and *B. urophthalmoides* from Thailand. In Proceedings *of the 47th Kasetsart University Annual Conference*. Kasetsart. Bangkok, Thailand. 320 - 327. (in Thai)

Fang, F. & Kottelat, M. (2000). *Danio roseus*, a new species from the Mekong basin in northeastern Thailand and northwestern Laos (Teleostei, Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* ,*11*(2),149-154.

Fang, F, Norén, M., Liao, T.Y, Källersjö, M., & Kullander, S.O. (2009). Molecular phylogenetic interrelationships of the south Asian cyprinid genera *Danio*, *Devario* and *Microrasbora* (Teleostei, Cyprinidae, Danioninae). *Zoologica Scripta, 38*, 237–256.

Galetti, P. M., Aguilar, C. T. & Molina, W. F. (2000). An overview of marine fish cytogenetics. *Marine Genetics*, *420*, 55 - 62.

Gomonteir, B., Tanomtong, A., Supiwong, W., Sikhruadong, S., Neeratanaphan, L. & Sanoamuang, L. (2012). Standardized karyotype and idiogram of two-spot glass catfish, *Ompok bimaculatus* (Siluriformes, Siluridae) in Thailand by conventional and Ag-NOR staining techniques. *Cytologia, 77*(4), 459 - 464. (in Thai)

Kottelat, M. (2001). *Fishes of Laos*. Gunaratne Offset Ltd., Sri lanka.

Kottelat, M. (2013). The fishes of the Inland Waters of Southeast Asia: A Catalogue and Core Bibliography of the Fishes Known to Occur in Freshwaters, Mangroves and Estuaries. *The Raffles Bulletin of Zoology, 27*, 1-663.

Kumar, R., Baisvar., V.S., Kushwaha, B., Waikhom, G. & Nagpure, N.S. (2017). Cytogenetic investigation of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) using giemsa, silver nitrate, CMA3 staining and fluorescence in situ hybridization. *Springer, 60*, 1–8.

Na-Nakorn, U. (2000). *Fish Genetics* (2nd ed.). The Kasetsart University Press, Bangkok. 203 pp. (in Thai)

Neeratanaphan, L., Khamlerd, C., Chowrong, S., Intamat, S., Sriuttha, M. & Tengjaroenkul, B. (2017). Cytotoxic assessment of flying barb fish (*Esomus metallicus*) from a gold mine area with heavy metal contamination. *International Journal of Environmental Studies ,74*(4), 613–624.

Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the world*. 4th ed. John Wiley and Son, Inc., New York.

Nelson, J.S., Grande, T.C., & Wilson, M.V.H. (2016). *Fishes of the World*. 5th Edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Nirchio, M., Turner, B. J., Perez, J. E., Gaviria, J. I. & Cequea, H. (2002). Karyotypes of three species of toadfish (Batrachoididae: Teleostei) from Venezuela. *Scientia Marina, 66*(1), 1 – 4.

Nithikulworawong, N. & Khrueanet, W. (2014). Karyotypic of Golden Little Barb, *Puntius brevis* Bleeker, 1850 (Pisces: Cyprinidae) from Khon Kaen Province. *KKU Sci. J. 42*(1), 106 – 118. (in Thai)

Panitvong, N. (2020). Freshwater Fishes of Thailand. Parbpim. Bangkok, Thailand. (in Thai)

Rainboth, W.J. (1996). *Fishes of Cambodian Mekong. FAO Species Identification Field Guide for Fisheries Purpose*. Mekong River Commission, FAO and DANIDA.

Saenjundaeng, P.,Cioffi, M. D. B.,Oliveira, E. A. D.,Tanomtong, A.,Supiwong, W.,Phimphan, S.,Pereira, M. J. C., Sember, A., Bertollo, L. A. C.,Liehr, T., Yano, C.F., Hatanaka, T. & Ráb, P. (2018a). Chromosomes of Asian cyprinid fishes: cytogenetic analysis of two representatives of small paleotetraploid tribe Probarbini. *Molecular Cytogenetics 11*(51),1 – 9.

Saenjundaeng, P., Kaewmad, P., Supiwong, W., Pinthong, K., Pengseng, P. & Tanomtong, A. (2018b). Karyotype and Characteristics of Nucleolar Organizer Regions in Longfin Carp, *Labiobarbus leptocheilus* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Cytologia ,83*(3), 265 – 269.

Sophawanus, M., Tanomthong, A., & Supiwong, W. (2017). Standardized Karyotype and Idiogram of Sicklefin Barb (*Puntioplites falcifer)* in Thailand. *Koch. Cha. Sarn. Journal of Science, 39*(2), 75 – 84. (in Thai)

Sukham, S., Chingakham, B., Thoidingjam, L. & Waikhom, G. (2013). Cytogenetic characterization of *Devario aequipinnatus* (McClelland, 1839) and *Devario yuensis* (Arunkumar and Tombi, 1998) (Cypriniformes: Cyprinidae) from Manipur, northeast India. *Turkish Journal of Zoology, 37*(6), 706 - 712.

Supiwong, W., Tanomtong, A., Supanuam, P., Jantarat, S., Khakhong, S. & Sanoamuang, L. (2012). A Discovery of Nucleolar Organizer Regions (NORs) Polymorphism and Karyological Analysis of Smith's Barb, *Puntioplites proctozysron* (Cypriniformes, Cyprinidae) in Thailand. *Cytologia, 77*(1), 35 – 42.

Tanomtong, A. (2011). *Cytogenetics*. Khon Kaen University Press. Khon Kaen. 387 pp. (in Thai)

Yeesaem, N., Jantarat, S. & Yeesin, P. (2019). Cytogenetic characterigation of *Rasbora einthovenii* in Sirindhorn peat swamp forest, Narathiwat province. *Journal of Fisheries Technology Research, 13*(2),58 - 68. (in Thai)