

**รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของปลาดอกหมากกระโดง
(*Gerres filamentosus*, Cuvier 1829) ที่พบในจังหวัดปัตตานี ประเทศไทย**

**First Report of Cytogenetics of Whipfin Mojarra
(*Gerres filamentosus*, Cuvier 1829) from Pattani, Thailand**

นภาพรณ สมาแะ¹, สิทธิศักดิ์ จันทรรัตน์², ชุกรี หะยีสาแม², สมศักดิ์ บัวทิพย์²,

ณัฐสุดา ดรบันชิต³ และ อลงกอด แทนอมทอง³

Napapun Sama-e¹, Sitthisak Jantarat², Sukree Hajisamae², Somsak Buatip²,

Nattasuda Donbundit³ and Alongkod Tanomtong³

¹ สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี ประเทศไทย

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี ประเทศไทย

³ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

¹Department of Agricultural and Fishery Science, Faculty of Science and Technology,

Prince of Songkla University, Pattani, Thailand

²Department of Science, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani, Thailand

³Department of Biology, Faculty of Science, Khonkaen University, Thailand

Received : 6 February 2025, Received in revised form : 18 April 2025, Accepted : 28 May 2025

Available online : 27 June 2025

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : ปลาดอกหมากกระโดง (*Gerres filamentosus*) เป็นปลาทะเลที่มีความสำคัญทั้งในแง่ของระบบนิเวศและเศรษฐกิจ จัดอยู่ในอันดับเพอร์ซิฟอร์เมส (Order Perciformes) อันดับย่อยเพอร์คอยด์ (Suborder Percoidei) และจัดอยู่ในวงศ์ Gerriidae เป็นวงศ์ปลากระดูกแข็งที่มีสมาชิกทั้งหมด 53 ชนิด (Froese & Pauly, Eds., n.d.) มีรูปร่างของลำตัวบวมดูคล้ายรูปไข่หรือสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนแบนข้าง หัวเล็กสั้น นัยน์ตาโต จะงอยปากแหลม ปากยืดหดได้ เกล็ดเล็กหลุดง่าย ลักษณะสำคัญของปลาชนิดนี้คือในตัวโตเต็มวัยก้านครีบแข็งอันที่สองของครีบหลังจะเจริญยาวเป็นเส้นเดี่ยวและมีจุดสีที่เรียงกันเป็นแถบ 7-10 แถวบนลำตัวซึ่งทำให้ปลาชนิดนี้แตกต่างจากปลาชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน ปลาดอกหมากกระโดง เป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์ของห่วงโซ่อาหารที่มีผลผลิตทางชีวภาพสูง (Ramírez-Luna *et al.*, 2008) และเป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำขนาดใหญ่ นอกจากนี้การหาอาหารบริเวณพื้นทะเลของปลาชนิดนี้ยังส่งเสริมการหมุนเวียนสารอาหารและออกซิเจนในระบบนิเวศ ปลาชนิดนี้อาศัยในทะเลเขตร้อนถึงเขตอบอุ่น (Randall, 1995) สำหรับในประเทศไทยมีการรายงานพบในพื้นที่จังหวัดชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ สมุทรปราการ ชลบุรีและระยอง (Tanpitayakup *et al.*, 2013) และพบชุกชุมบริเวณแนวชายฝั่งในอ่าวปัตตานี (Chuapun *et al.*, 2017; Hajisamae *et al.*, 2006) ปัจจุบันได้มีการนำวิธีการทางเซลล์อนุกรมวิธาน (Cytotaxonomy) โดยใช้ความรู้เกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของเซลล์มาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดปลา (Esmaeili

et al., 2008) นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในอดีต การรู้จักโครงสร้างโครโมโซมของปลาทะเลช่วยในการวางแผนการอนุรักษ์สายพันธุ์ที่ใกล้สูญพันธุ์โดยสามารถตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมและป้องกันการสูญเสียความหลากหลายนี้ได้ (Kasi-ruek, 2014) รวมถึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการเพาะพันธุ์ปลาทางเศรษฐกิจและการศึกษาชีววิทยาระดับโมเลกุลเพื่ออนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลอย่างยั่งยืน (Arai, 2011) ปัจจุบันข้อมูลทางพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาในสกุล *Gerres* และวงศ์ Gerreidae โดยรวมยังค่อนข้างจำกัดและไม่มีการรายงานการศึกษาโครโมโซมในปลาดอกหมากกระโดง การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาลักษณะโครโมโซมและตรวจสอบเครื่องหมายโครโมโซม (Chromosome marker) ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบเอ็นไออาร์เพื่อดูตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาสามารถช่วยให้เห็นลักษณะโครโมโซมแต่ละคู่และแสดงถึงลักษณะพิเศษของโครโมโซมบางชนิดได้อย่างชัดเจน (Campiranon, 2003) ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาด้านความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานและช่วยสร้างความเข้าใจวิวัฒนาการและอาจมีประโยชน์ในการจัดการและการอนุรักษ์ปลาชนิดนี้ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย : การศึกษาโครโมโซมปลาดอกหมากกระโดง (*Gerres filamentosus*) ใช้การศึกษาด้วยวิธีทางตรง (direct method) อวัยวะที่ใช้คือไตเนื่องจากเป็นอวัยวะที่มีการแบ่งเซลล์ตลอดเวลาโดยเตรียมจากภายในตัวสิ่งมีชีวิต (Campiranon, 2003) การเตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรงในสภาพ *In vivo* ดัดแปลงจากวิธีของ Chen & Ebeling (1968), Nanda et al. (1995) ด้วยการฉีดสารโคลชิซิน 0.05% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 100 กรัม นำส่วนของเนื้อเยื่อไตที่มีการแบ่งเซลล์ต่อเนื่องตลอดเวลาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ก่อนนำตะกอนเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,250 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นหยดเซลล์ที่ได้ลงบนกระจกสไลด์ที่สะอาด 2-3 หยด โดยหยดห่างจากสไลด์ 2 เซนติเมตร ปล่อยให้แห้งในอากาศ ทำการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและแถบเอ็นไออาร์ จากนั้นนำสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง การตรวจสอบโครโมโซมเลือกเซลล์ที่มีโครโมโซมระยะเมทาเฟสกระจายตัวดีไม่ซ้อนทับกัน นำมาถ่ายภาพโครโมโซมโดยใช้เลนส์วัตถุ (Objective lens) กำลังขยาย 100X

ผลการวิจัย : การศึกษาแคริโอไทป์ของปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) ทั้งในเพศผู้และเพศเมียมีโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 48 แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก 48 แท่ง จากการย้อมแถบเอ็นไออาร์พบตำแหน่งของเอ็นไออาร์จำนวน 1 คู่ บนปลายแขนข้างยาวโครโมโซมคู่ที่ 18 (18 q tel)

สรุปผลการวิจัย : จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ 2n= 48 มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 48 ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเทโลเซนตริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง เทโลเซนตริกขนาดกลาง 12 แท่ง และเทโลเซนตริกขนาดเล็ก 6 แท่ง พบตำแหน่งของเอ็นไออาร์ จำนวน 1 คู่ ใกล้ตำแหน่งเทโลเมียร์บนปลายแขนข้างยาวของโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริกขนาดกลาง คู่ที่ 18 และไม่พบความแตกต่างของแคริโอไทป์ระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปลาดอกหมากกระโดงมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับปลาชนิดอื่น ๆ ที่มีการศึกษาในวงศ์ Gerreidae ทั้ง 8 ชนิด และตำแหน่งของเอ็นไออาร์พบ 1 ตำแหน่งในทั้ง 8 ชนิดแต่พบในตำแหน่งที่

แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าจำนวนโครโมโซมมีความสอดคล้องกับโครโมโซมของปลาทะเลส่วนใหญ่ในอันดับ Perciformes (Kasi-ruek, 2014) ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์และตำแหน่งเอ็นโดอาร์ในปลาดอกหมากกระโดง การศึกษานี้ไม่เพียงช่วยเสริมความเข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้างโครโมโซมของปลาดอกหมากกระโดงแต่ยังเป็นพื้นฐานสำคัญในการวางแผนอนุรักษ์สายพันธุ์และเป็นการเพิ่มข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาพันธุศาสตร์ในอนาคต สูตรแคโรไทป์ปลาดอกหมากกระโดง มีสูตรแคโรไทป์ดังนี้

$$2n (48) = L_{30}^t + M_{12}^t + S_6^t \quad (1)$$

คำสำคัญ : โครโมโซม ; แคโรไทป์ ; ปลาดอกหมากกระโดง ; ปลาทะเล

Abstract

Background and Objectives : The whipfin silver-biddy (*Gerres filamentosus*) is a marine fish that is important both ecologically and economically. It belongs to the order Perciformes and the suborder Percoidei, It is classified under the family *Gerridae*, which comprises 53 species of bony fishes (Froese & Pauly, Eds., n.d.). A key characteristic of this species is its body shape, which appears stout, resembling an oval or a flattened rhombus. It has a small, short head, large eyes, a pointed snout, and a protrusible mouth. The scales are small and easily shed. In mature individuals, the second hard ray of the dorsal fin extends into a single long filament, and dark-colored spots are arranged in 7–10 horizontal rows along the body, which distinguishes it from other fish in the same group. The whipfin silver-biddy is considered an indicator species of the richness of food chains in areas with high biological productivity (Ramírez-Luna *et al.*, 2008). It is also a food source for larger marine animals. Additionally, the foraging behavior of this fish along the seabed promotes nutrient and oxygen cycling within the ecosystem. It prefers to inhabit tropical to temperate marine environments (Randall, 1995). In Thailand, this species has been reported in Chumphon, Prachuap Khiri Khan, Samut Prakan, Chonburi, and Rayong provinces (Tanpitayakup, 2013), with a high density along the coastal areas of Pattani Bay (Chuapun *et al.*, 2017; Hajisamae *et al.*, 2006). Recently, cytotaxonomy methods are being applied by utilizing knowledge of cell genetics to classify fish species (Esmaeili *et al.*, 2008). Additionally, this helps in understanding evolutionary relationships and genetic changes that have occurred in the past. Understanding the chromosomal structure of marine fish helps in planning the conservation of endangered species by enabling the assessment of genetic diversity and preventing the loss of this diversity (Kasi-ruek, 2014). It is also beneficial for the development of breeding economically

important fish species and the study of molecular biology to sustainably conserve marine resources (Arai, 2011). Currently, cytogenetic information on fish in the genus *Gerres* and the family Gerreidae remains limited, and there have been no reports of chromosomal studies on the whipfin silver-biddy (*Gerres filamentosus*). This study aims to examine the chromosome characteristics and identify chromosome markers using conventional chromosome staining and NOR-banding techniques to locate ribosomal RNA (rRNA) gene sites. The techniques used in the study can help visualize each chromosome pair and clearly show the unique characteristics of certain chromosomes (Campiranon, 2003). The information obtained will be useful for studying taxonomic relationships and enhancing understanding of evolutionary processes. It may also benefit the management and conservation of this species in the future.

Methodology : The study of chromosomes of *Gerres filamentosus* was conducted using the direct method. The kidney was used as the organ of choice since it has continuous cell division (Campiranon, 2003). The chromosome preparation using the direct method *in vivo* was adapted from the methods of Chen & Ebeling (1968), Nanda *et al.* (1995). Chromosome were prepared by injecting a 0.05% colchicine solution at a volume of 1 milliliter/100 grams of body weight. Kidney tissue continuous cell division was then soaked in a potassium chloride (KCl) solution before being centrifuged. The cells obtained were dropped onto clean slides, 2–3 drops, with each drop placed 2 centimeters apart. Allow them to air dry. stained using conventional banding and NOR-banding. The slides were examined under a compound microscope. Chromosome analysis involves selecting cells with well-spread metaphase chromosomes that are not overlapping. The chromosomes are then photographed using a 100X objective lens.

Main Results : The karyotype study of Whipfin Silver-Biddy (*G. filamentosus*) revealed a diploid chromosome number ($2n$) of 48 for both male and female specimens. The fundamental number (NF) is also 48. The karyotype consists of 48 telocentric chromosomes. Using NOR banding, one pair of NORs (nucleolus organizer region) was identified on the telomere region of the long arm of the medium telocentric chromosome pair 18 (18 q tel)

Conclusions : From this study, it was found that the whipfin silver-biddy (*Gerres filamentosus*) has a diploid chromosome number of $2n = 48$. The fundamental number is also 48, consisting of 30 large telocentric chromosomes, 12 medium-sized telocentric chromosomes, and 6 small telocentric chromosomes. A single pair of nucleolar organizer regions (NORs) was observed near the telomeric region on the long arm of the medium-sized telocentric chromosome pair 18. No karyotypic differences were found between male and female individuals. These findings indicate that the whipfin silver-biddy has the same chromosome number as other previously studied species in the family Gerreidae (8 species), with all showing a single NOR location but at different chromosomal

positions. This suggests that the chromosome number is consistent with that of most marine fishes in the order *Perciformes* (Kasi-ruek, 2014). This study represents the first report on cytogenetic and NOR localization in *G. filamentosus*. It not only enhances our understanding of the chromosomal structure of this species but also provides essential baseline information for future genetic studies and conservation planning. The karyotype formula of *G. filamentosus* is as follows:

$$2n (48) = L_{30}^t + M_{12}^t + S_6^t \quad (1)$$

Keywords : chromosome ; karyotype ; *Gerres filamentosus* ; marine fish

*Corresponding author. E-mail: sitthisak.j@psu.ac.th

Introduction

ปลาดอกหมากกระโดง Whipfin mojarrar (*Gerres filamentosus*) มีรูปร่างของลำตัวบวมคล้ายรูปไข่หรือสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนแบนข้างลำตัวมีสีเงินอมเทา ช่วงท้องสีเงิน หัวเล็กสั้น นัยน์ตาโต จมอยปากแหลม ปากยึดติดได้ เกือบถึงหลอดง่าย ครีบหลังมีตอนเดียวสีขาวใส ประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 9 ก้าน และก้านครีบอ่อน 10 ก้าน (Carpenter & Niem, 2001) ตัวเต็มวัยก้านครีบแข็งก้านที่สองของครีบหลังจะเจริญยาวเป็นเส้นเดี่ยวยาวมาก ด้านข้างลำตัวมีจุดสีคล้ำรูปวงรีเรียงตัวเป็นแถวในแนวตั้ง 7-10 แถว ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของปลาชนิดนี้ (Marine and Coastal Resources Research & Development Institute, 2021) ปลาดอกหมากกระโดงจัดอยู่ในอันดับ Perciformes อันดับย่อย Percoidei อยู่ในวงศ์ Gerreidae สกุล *filamentosus* อาศัยในทะเลเขตร้อนถึงเขตอบอุ่น (Randall, 1995) โดยตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในน่านน้ำตื้นใกล้ชายฝั่งที่มีพื้นทรายหรือแนวปะการัง (Carpenter, 1997) ปลาชนิดนี้เป็นปลาที่อาศัยบริเวณพื้นท้องทะเล (demersal fish) โดยมีช่วงความลึกที่พบตั้งแต่ 1 ถึง 50 เมตร (Woodland, 1986) นอกจากนี้อาจกระจายเข้าไปในทะเลสาบ และบริเวณน้ำจืดตอนล่างของแม่น้ำ (Woodland, 1984) ส่วนตัวอ่อนพบได้ในป่าชายเลนที่เป็นน้ำกร่อย น้ำจืด (Allen 1991; Allen *et al.*, 2002) และลำคลองที่ได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำ (Allen *et al.*, 2002) มีการกระจายในภูมิภาคอินโด-แปซิฟิกตะวันตกตั้งแต่ชายฝั่งตะวันออกของแอฟริกาและมาดากัสการ์ไปจนถึงญี่ปุ่นและออสเตรเลีย (Letourneur *et al.*, 1998) แต่ไม่มีรายงานในตะวันออกกลาง (Wright, 1988) สำหรับในประเทศไทย มีการรายงานพบในพื้นที่จังหวัดชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ สมุทรปราการ ชลบุรี และระยอง (Tanpitayakup *et al.*, 2013) โดยปลาชนิดนี้เป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์ของห่วงโซ่อาหารที่มีผลผลิตทางชีวภาพสูง (Ramírez-Luna *et al.*, 2008) สำหรับในจังหวัดปัตตานีพบทุกชุมชนบริเวณปากแม่น้ำและบริเวณแนวชายฝั่งของอ่าวปัตตานี (Hajisamæ *et al.*, 2006) เป็นปลาที่บริโภคเนื้อเป็นอาหารและสามารถเลี้ยงเป็นปลาสวยงามเช่นกัน นอกจากนี้ยังจัดเป็นปลาอันตราย โดยกลุ่มชาวประมงพื้นบ้านในจังหวัดปัตตานีมักรวมกลุ่มกันไปตกปลาดอกหมากกระโดงเพื่อนำมาบริโภค แม้ว่าการประเมิณล่าสุดสำหรับบัญชีแดงสหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (Larson *et al.*, 2017)

ในปี 2017 จะมีการประเมินให้ปลาดอกหมากกระโดงจัดอยู่ในกลุ่ม ความเสี่ยงน้อยที่สุด (Least Concern) (Larson *et al.*, 2017) แต่ก็มีกรายงานว่าปลาดอกหมากกระโดงถูกจับมากเกินไปในประเทศอินเดีย และอาจมีการตายเนื่องจากมลพิษที่เกิดขึ้นในอ่าว Mannar (Asha *et al.*, 2009)

การศึกษาทางพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ในปลาสามารถใช้เป็นเครื่องมือเพิ่มเติมสำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Taxonomy) และยังสามารถใช้ช่วยในการคัดเลือกพ่อพันธุ์-แม่พันธุ์ปลา (Tanomthong, 2010) ปลาในวงศ์ Gerreidae เป็นทรัพยากรในเชิงพาณิชย์ที่สำคัญในพื้นที่มหาสมุทรแอตแลนติก (Sosa-Nishizaki *et al.*, 1996) โดยมีหลายสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีในพื้นที่ผลิตกุ้ง ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการเลี้ยงควบคู่กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Calado *et al.*, 2014) บางชนิดได้รับการพิจารณาว่ามีศักยภาพสำหรับการเพาะพันธุ์ ได้แก่ สกุล *Diapterus*, *Eugerres*, *Eucinostomus*, *Gerres* และ *Ulaema* (Eschmeyer *et al.*, 2010) สำหรับการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ในปลากลุ่มนี้ พบ 3 สกุล เท่านั้น คือ สกุล *Diapterus* ได้แก่ *Diapterus auratus* และ *Diapterus rhombeus* สกุล *Eugerres* ได้แก่ *Eugerres brasiliensis* และ *Eugerres plumieri* ส่วนสกุล *Eucinostomus* ได้แก่ *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus* และ *E. melanopterus* โดยทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ $2n$ เท่ากับ 48 และพบว่าชนิดของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน (Calado *et al.*, 2012; Calado *et al.*, 2014; Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer, 2003) การศึกษาโครโมโซมปลาทะเลในกลุ่ม Perciformes ส่วนใหญ่มีโครโมโซม 48 แท่ง และมีความแตกต่างของโครโมโซมน้อยแสดงให้เห็นถึงการไม่มีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์และการเคลื่อนที่สูงของปลาทะเลซึ่งอาจสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมที่เกิดขึ้นได้ยาก นอกจากนี้ สภาวะสมดุลของเซลล์อาจช่วยรักษาโครโมโซมให้คงที่ ในขณะที่กลุ่มปลาที่มีการเคลื่อนที่จำกัด เช่น Blenniidae, Gobiidae และ Scorpaenidae แสดงความหลากหลายของโครโมโซมที่มากกว่า รวมถึงความหลากหลายของจำนวนและโครงสร้างโครโมโซมและระบบโครโมโซมเพศหลายแบบ ทั้งนี้การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ทำให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของโครโมโซมกับลักษณะเฉพาะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และนิเวศวิทยา (Galetti *et al.*, 2000) เช่น การศึกษาโครโมโซมในวงศ์ปลากระพง (Lutjanidae) มีปลาหลายชนิดมีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ และเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก การค้นพบนี้ช่วยสนับสนุนแนวคิดว่าวงศ์นี้อาจมีบรรพบุรุษร่วมกันที่มีลักษณะโครโมโซมเหมือนกัน นักวิทยาศาสตร์อาจศึกษาแถบสีโครโมโซม (chromosome banding) หรือใช้เทคนิค FISH เพื่อหาความแตกต่างที่ละเอียดกว่าในโครงสร้างโครโมโซม ซึ่งอาจช่วยในการแบ่งแยกชนิดพันธุ์ที่ใกล้เคียงกัน หรือทำความเข้าใจวิวัฒนาการภายในวงศ์ได้ลึกซึ้งยิ่งขึ้น (Brum, 1995) แม้ว่าการศึกษาทางไซโตเจเนติก (Cytogenetics) ในสายพันธุ์ทางทะเลและปากแม่น้ำจะมีการเพิ่มขึ้นแต่ข้อมูลก็ยังคงมีจำกัดหรือแทบไม่มีเลยสำหรับปลาในวงศ์ Gerreidae ส่วนการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาดอกหมากกระโดงในประเทศไทยปัจจุบันยังไม่มีกรายงานการศึกษา

ปัจจุบันได้มีการนำวิธีการทางเซลล์อนุกรมวิธาน (Cytotaxonomy) โดยใช้ความรู้เกี่ยวกับพันธุศาสตร์ระดับของเซลล์มาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดปลา (Esmaili *et al.*, 2008) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะของโครโมโซมและตรวจสอบตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) nucleolar organizer regions (NORs) (Chromosome marker) ด้วยวิธีการย้อมแถบแบบธรรมดาและแบบเอ็นโออาร์ โดยข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษา

ด้านอนุกรมวิธานและการประยุกต์ใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาทะเลชนิดอื่น ๆ ต่อไป (Paim *et al.*, 2018)

Methodology

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) โดยการวางอวนลอยที่มีขนาดตา 4.5 เซนติเมตร ลึก 50 ตารางเมตร บึงน้ำกร่อย ในพื้นที่ ม.1 บ้านรูสะมิแล ตำบล รูสะมิแล จังหวัดปัตตานี ตั้งแต่เวลา 17:00 น. และวางทิ้งไว้จนถึงเช้า โดยกู้อวนในช่วงเวลา 06:00 น. เมื่อปลาติดอวนจะทำการนำปลาออกจากอวนในทันทีเพื่อให้ปลายังมีชีวิตอยู่ โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาทั้งหมด จำนวน 10 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว (Figure 1) ใส่ถังน้ำที่ให้ออกซิเจน โดยตัวอย่างปลา มีความยาวมาตรฐานเฉลี่ยขนาด 21 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 20 กรัม งานวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์เพื่อนำงานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์เลขที่ AQ005/2025

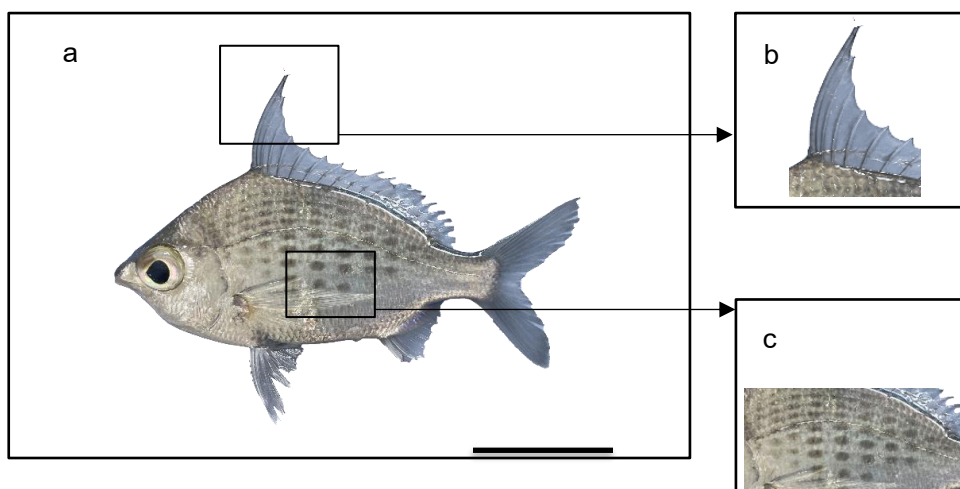


Figure 1 General characteristics of whippin silver-biddy (*Gerres filamentosus*) (a); The second spine of the dorsal fin is elongated into a single filament (b); The sides of the body have 7-10 rows of dark, oval-shaped spots arranged vertically (c). Scale bar indicates 1 cm.

2. การเตรียมโครโมโซม

ฉีดสารโคลชิซิน 0.05% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าไปบริเวณช่องท้อง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการการุณยฆาต ตามวิธีการศึกษาของ American Veterinary Medical Association (2020) แล้วผ่าตัดเนื้อเยื่อไต มาแช่และตัดให้เป็นชิ้นเล็กในโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.075 โมล/ลิตร เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,250 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดเอาส่วนใสทิ้ง เติมน้ำยาตรึงเซลล์ทีละชนิดให้ได้ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการหยดตัวอย่างลงบนกระจกสไลด์ที่แห้งและสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งเพื่อนำไปย้อมสีโครโมโซมตามวิธีการศึกษาของ Tanomthong & Pinthong (2019)

3. การย้อมสีโครโมโซม

3.1 วิธีการย้อมแถบธรรมดา (conventional staining technique) เพื่อศึกษาลักษณะโครโมโซมโดยนำสไลด์ที่มีการหยดเซลล์แล้วย้อมด้วยสีจีเมซ่า 20% จาก stock Giemsa's solution เป็นระยะเวลา 30 นาที ตามวิธีการศึกษาของ Jantararat *et al.* (2021)

3.2 วิธีการย้อมแถบเอ็นโออาร์ (NOR-banding technique หรือ silver staining) เพื่อดูตำแหน่งยีนที่สร้างไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) โดยการหยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate) ความเข้มข้น 50% ลงบนสไลด์จำนวน 2 หยด ตามด้วยหยดสารละลายเจลาติน (gelatin) ความเข้มข้น 2% จำนวน 2 หยด แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำสไลด์ไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที ตามวิธีของ Jantararat *et al.* (2021)

4. การจัดทำแคริโอไทป์และไอดีโอแกรม

การจัดทำแคริโอไทป์และไอดีโอแกรม โดยเลือกภาพถ่ายเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ ที่โครโมโซมกระจายตัวดี ไม่ทับซ้อนกันและมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากัน ตามวิธีของ Jantararat *et al.* (2021)

Results

การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) โดยศึกษาด้วยวิธีทางตรง (Direct chromosome preparation) จากไต พบว่าปลาดอกหมากกระโดงมีโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 48 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 48 ทั้งเพศผู้และเพศเมีย แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง ชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง และชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง (Figure 2a, Table1) จากการศึกษาตำแหน่งของ nucleolar organizer regions (NORs) ด้วยเทคนิคการย้อมแถบเอ็นโออาร์พบว่าปลาดอกหมากกระโดงมีตำแหน่งของเอ็นโออาร์ (NORs) จำนวน 1 คู่ อยู่บนแขนข้างยาวของโครโมโซม คู่ที่ 18 (Figure 2b) โดยไอดีโอแกรมของปลาดอกหมากกระโดงจากการย้อมแถบสีโครโมโซมแถบธรรมดาและแถบเอ็นโออาร์แสดงดัง Figure 3 และปลาดอกหมากกระโดงมีสูตรแคริโอไทป์ดังนี้

$$2n (48) = L_{30}^t + M_{12}^t + S_6^t \quad (1)$$

Table 1 Mean length of short arm chromosome (Ls), length of long arm chromosome (LI), length of total arm chromosome (LT), centromeric index (CI), relative length (RL), standard deviation (SD) of RL, CI Size, and chromosomes type from means of 20 metaphase chromosomes of *G. filamentosus*; 2n (diploid) = 48

Chromosome pair	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Type	Size
1	0.000	1.336	1.336	0.179±0.369	1.000±0.000	Telocentric	L
2	0.000	1.233	1.233	0.167±0.346	1.000±0.000	Telocentric	L
3	0.000	1.185	1.185	0.161±0.336	1.000±0.000	Telocentric	L
4	0.000	1.145	1.145	0.158±0.332	1.000±0.000	Telocentric	L
5	0.000	1.123	1.123	0.156±0.328	1.000±0.000	Telocentric	L
6	0.000	1.096	1.096	0.152±0.320	1.000±0.000	Telocentric	L
7	0.000	1.064	1.064	0.148±0.312	1.000±0.000	Telocentric	L
8	0.000	1.047	1.047	0.147±0.311	1.000±0.000	Telocentric	L
9	0.000	1.034	1.034	0.146±0.310	1.000±0.000	Telocentric	L
10	0.000	1.009	1.009	0.141±0.295	1.000±0.000	Telocentric	L
11	0.000	0.986	0.986	0.138±0.291	1.000±0.000	Telocentric	L
12	0.000	0.965	0.965	0.137±0.291	1.000±0.000	Telocentric	L
13	0.000	0.953	0.953	0.134±0.284	1.000±0.000	Telocentric	L
14	0.000	0.936	0.936	0.132±0.281	1.000±0.000	Telocentric	L
15	0.000	0.917	0.917	0.131±0.278	1.000±0.000	Telocentric	L
16	0.000	0.894	0.894	0.129±0.276	1.000±0.000	Telocentric	M
17	0.000	0.859	0.859	0.127±0.274	1.000±0.000	Telocentric	M
18	0.000	0.825	0.825	0.125±0.274	1.000±0.000	Telocentric	M
19	0.000	0.798	0.798	0.122±0.268	1.000±0.000	Telocentric	M
20	0.000	0.759	0.759	0.118±0.261	1.000±0.000	Telocentric	M
21	0.000	0.715	0.715	0.111±0.247	1.000±0.000	Telocentric	M
22	0.000	0.646	0.646	0.100±0.223	1.000±0.000	Telocentric	S
23	0.000	0.601	0.601	0.090±0.196	1.000±0.000	Telocentric	S
24	0.000	0.495	0.495	0.074±0.160	1.000±0.000	Telocentric	S

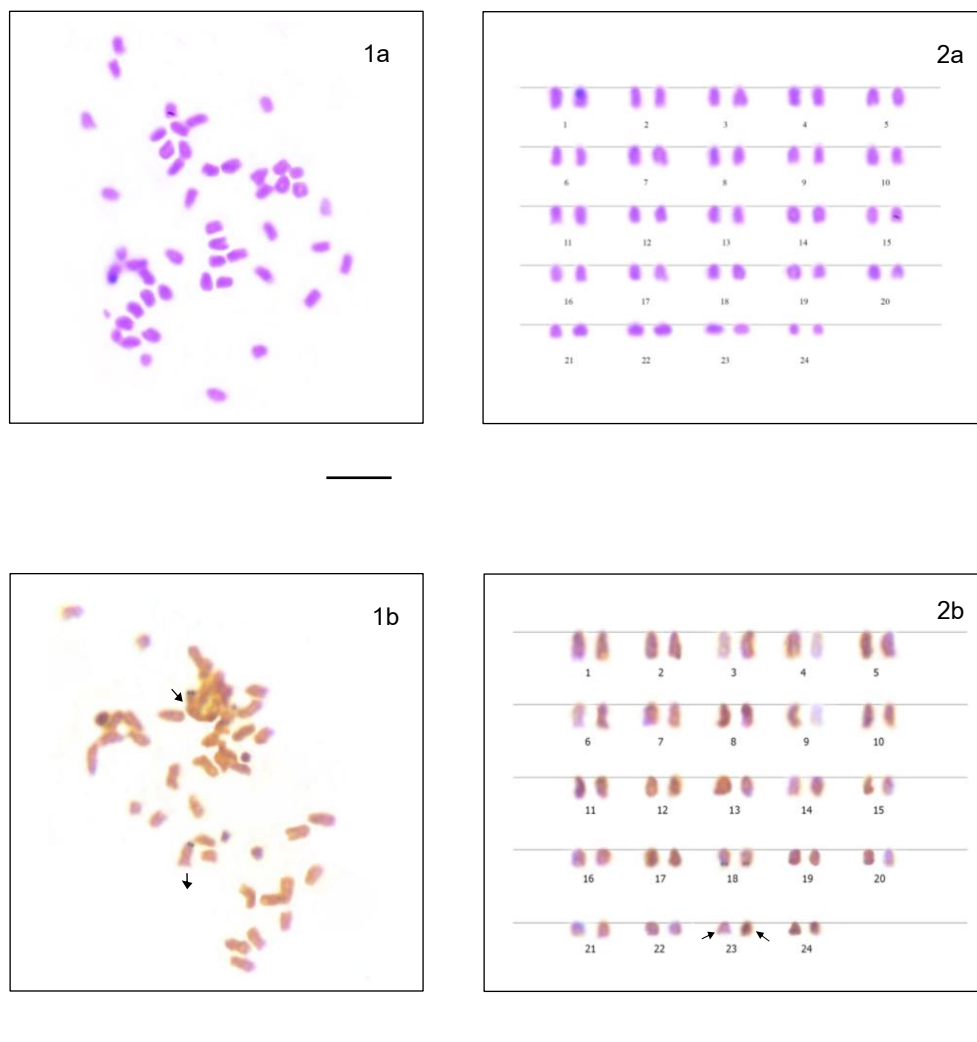


Figure 2 Metaphase chromosome plates and karyotypes of whippin silver-biddy (*Gerres filamentosus*), $2n = 48$ by conventional staining (1a-2a); Ag-NOR staining technique (1b-2b). The arrows indicate NORs pair 18. Scale bars indicate $5 \mu\text{m}$.

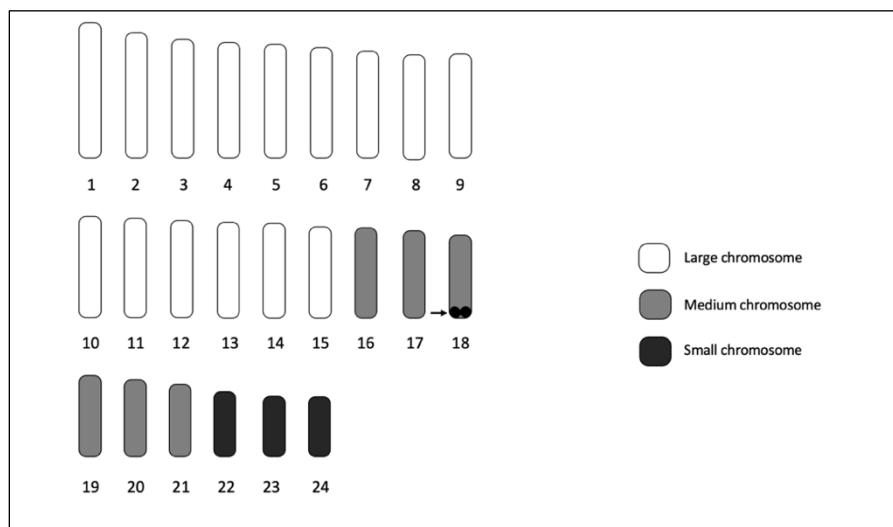


Figure 3 Ideograms showing length and shape of chromosome of whippin silver-biddy (*Gerres filamentosus*) the arrows indicate NORs pair 18

Discussion

การศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่ศึกษาโครโมโซมของปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปลาดอกหมากกระโดง (*Gerres filamentosus*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 48 มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 48 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Calado *et al.* (2012); Calado *et al.* (2014) ในปลาดอกหมาก 6 ชนิด คือ *Diapterus auratus*, *D. rhombeus* และ *Eugerres brasiliensis*, *Eucinostomus argenteus*, *E. gula* และ *E. melanopterus* ในประเทศบราซิลและการศึกษาของ Ruiz-Carus *et al.* (2003) ในปลาดอกหมาก 4 ชนิด คือ *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus* และ *Eugerres plumieri* ในประเทศสหรัฐอเมริกา รายละเอียดดัง Table 2

การศึกษาย้อมแถบเอ็นโออาร์ (NORs) ในปลาดอกหมากกระโดงเพื่อหาตำแหน่งของ nucleolar organizer regions (NORs) พบตำแหน่งเอ็นโออาร์เพียง 1 คู่ ปรากฏบนปลายแขน (telomere) ข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 18 แต่ในการศึกษาปลาในกลุ่มนี้ของ Calado *et al.* (2012) พบตำแหน่งเอ็นโออาร์ 1 คู่ ในตำแหน่งที่แตกต่างกันกับผลการศึกษาครั้งนี้ โดย *Diapterus auratus* และ *D. rhombeus* พบตำแหน่งเอ็นโออาร์อยู่ที่ตำแหน่งระหว่างกลางบนโครโมโซมคู่แรก ในขณะที่ใน *Eugerres brasiliensis* อยู่ในตำแหน่งเดียวกันบนโครโมโซมคู่ที่ 6 ส่วนการศึกษาของ Calado *et al.* (2014) ใน *E. argenteus*, *E. gula* และ *E. melanopterus* พบตำแหน่งเอ็นโออาร์บนโครโมโซมคู่ที่ 22 เหมือนกันทั้ง 3 ชนิด แต่ตำแหน่งแตกต่างกัน โดยพบตำแหน่งระหว่างกลางของโครโมโซมใน *E. argenteus* และ *E. melanopterus*

และอยู่ในตำแหน่งปลายสุดใน *E. gula* ในขณะที่การศึกษาของ Ruiz-Carus *et al.* (2003) ใน *Eucinostomus argenteus* และ *E. harengulus* พบตำแหน่งเอ็นไออาร์อยู่ข้าง ๆ เซนโทรเมียร์บนโครโมโซมคู่ที่ 1 แต่ใน *E. gula* และ *Eugerres plumieri* พบบนโครโมโซมคู่ที่ 4 ตำแหน่งเอ็นไออาร์ที่แตกต่างกันอาจแสดงถึงวิวัฒนาการที่เป็นอิสระต่อกันและการปรับตัวที่แตกต่างกันต่อสภาพแวดล้อม (Ozouf-Costaz & Foresti, 1992).

ปลาในวงศ์ Gerreidae เป็นปลาขนาดเล็กถึงขนาดกลางมีทั้งหมด 53 สายพันธุ์ 8 สกุล (Froese & Pauly, Eds., n.d.) ประกอบด้วยสกุล *Diapterus*, *Eugerres*, *Eucinostomus*, *Gerres* และ *Ulaema* (Eschmeyer *et al.*, 2010) จากข้อมูลการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ที่ผ่านมาพบ 8 ชนิด คือ *Diapterus auratus*, *D. rhombeus*, *Eugerres brasiliensis*, *E. plumieri*, *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus*, และ *E. melanopterus* (Calado *et al.*, 2014) และพบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากันทั้ง 8 ชนิด โดยมีการระบุชนิดของโครโมโซมที่มีความแตกต่างกัน จากผลการศึกษาที่มีการรายงาน โครโมโซมชนิด อะโครเซนทริก (Acrocentric) และเทโลเซนทริก (Telocentric) ซึ่งแตกต่างกันตามการระบุชื่อแต่แท้จริงแล้วเป็นโครโมโซมที่มีลักษณะคล้ายกันคือ เป็นโครโมโซมที่มีตำแหน่งของเซนโทรเมียร์อยู่ตรงปลายสุดของแท่งโครโมโซม ทำให้โครโมโซมมีแขนเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาดอกหมากกระโดงเป็นปลาอีกหนึ่งชนิดที่มีโครโมโซมเท่ากับปลาชนิดอื่น ๆ ที่มีการศึกษาในวงศ์ Gerreidae และจำนวนโครโมโซมมีความสอดคล้องกับโครโมโซมของปลาทะเลส่วนใหญ่ ในอันดับ Perciformes โดยพบ 648 ชนิดจาก 1,200 ชนิด ที่มีการรายงาน คิดเป็นร้อยละ 54 (Kasi-ruek, 2014) การที่ปลาในวงศ์เดียวกันหรือกลุ่มที่ใกล้เคียงกันมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันอาจบ่งชี้ว่ามีบรรพบุรุษร่วมกันและมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมน้อยในระหว่างวิวัฒนาการซึ่งบ่งชี้ถึงการอนุรักษ์ด้านจำนวนโครโมโซมของปลาทะเล (Galetti *et al.*, 2000) ในขณะที่การศึกษาแถบเอ็นไออาร์พบลักษณะร่วมระหว่างสกุลคือ พบตำแหน่งเอ็นไออาร์เพียงคู่เดียว แต่มีความผันแปรในบริเวณที่พบตำแหน่งเอ็นไออาร์ (Affonso & Galetti, 2005) ทั้งนี้ตำแหน่งเอ็นไออาร์มีความแปรผันภายในหรือระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ ดังนั้นตำแหน่งเอ็นไออาร์บนโครโมโซมที่เฉพาะเจาะจงกับสิ่งมีชีวิตสามารถนำมาใช้เป็นโครโมโซมเครื่องหมาย (Chromosome marker) ได้ (Tanomtong & Pinthong, 2019) และช่วยในการจัดจำแนกชนิดพันธุ์ที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันและยังช่วยในการเสนอความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภายในวงศ์ (Ozouf-Costaz & Foresti, 1992)

Conclusions

จากผลการศึกษาแคริโอไทป์ของปลาดอกหมากกระโดงครั้งนี้ พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 48 มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 48 ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 30 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง และไม่พบความแตกต่างของแคริโอไทป์ระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมีย จากการย้อมแถบสีเอ็นไออาร์ (NORs) พบว่าปลาดอกหมากกระโดงมีตำแหน่งของเอ็นไออาร์จำนวน 1 คู่ อยู่ใกล้ตำแหน่งเทโลเมียร์บนแขนข้างยาวของโครโมโซม คู่ที่ 18 ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์

ในปลาดอกหมากกระโดง (*G. filamentosus*) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Gerridae มีสมาชิกประมาณ 53 ชนิด ที่พบได้ทั่วโลกในเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Van Der Laan *et al.* 2014) ปลาดอกหมากกระโดงมีสูตรโครโมโซมดังนี้

$$2n(48) = L_{30}^t + M_{12}^t + S_6^t \quad (1)$$

Table 2 Review of the karyotypes data of other species in the family Gerridae

Species	2n	NF	NORs	Type of Chromosome	Locality	Ref.
<i>Gerres Filamentosus</i>	48	48	18q tel	telocentric	Thailand	This study
<i>Diapterus auratus</i>	48	48	1	acrocentric	Brazil	Calado <i>et al.</i> (2012)
<i>Diapterus rhombeus</i>	48	48	1	acrocentric		
<i>Eugerres brasiliensis</i>	48	48	6	acrocentric		
<i>Eucinostomus argenteus</i>	48	48	1	telocentric	United States of America	Ruiz-Carus & Uribe-Alcocer (2003)
<i>E. gula</i>	48	48	4	telocentric		
<i>E. harengulus</i>	48	48	1	telocentric		
<i>Eugerres plumieri</i>	48	48	4	telocentric		
<i>Eucinostomus argenteus</i>	48	48	22	acrocentric	Brazil	Calado <i>et al.</i> (2014)
<i>E. gula</i>	48	48	22	acrocentric		
<i>E. melanopterus</i>	48	48	22	acrocentric		

q (q arm) = โครโมโซมแขนข้างยาว, tel (telomere) = เทโลเมียร์

Acknowledgments

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่สนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาประจำปีการศึกษา 2563 และขอขอบคุณ TUYF Charitable Fund และมหาวิทยาลัย City University of Hongkong ที่สนับสนุนทุนการศึกษา และการวิจัย และ ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่ และอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ สำหรับทำการวิจัย

References

- Affonso, P.R.A.d.M., & Galetti, P.M. (2005). Chromosomal diversification of reef fishes from genus *Centropyge* (Perciformes, Pomacanthidae). *Genetica*, 123, 227-233.
- Allen, G. R. (1991). Field guide to the freshwater fishes of New Guinea.
- Allen, G.R., Midgley, S.H., & Allen, M. (2002). Field guide to the freshwater fishes of Australia. Western Australian Museum, Perth, Western Australia. 394.
- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals. 2020Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>
- Arai, R. (2011). *Fish karyotypes: a check list*. Springer Science & Business Media.
<https://doi.org/10.1007/978-4-431-53877-6>
- Asha, P. S., Joshi, K. K., & Diwakar, K. (2009). Incidence of fish mortality in Tuticorin Bay, Gulf of Mannar. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 51(2), 173-177.
- Brum, N. J. (1995). Cytogenetic studies of Brazilian marine fishes. *Brazilian Journal of Genetics*, 18(3), 421-427.
- Calado, L.L., Bertollo, L.A.C., Costa, G.W.W.F.D, & Molina, W.F. (2012). Cytogenetic studies of Atlantic mojarras (Perciformes – Gerreidae): chromosomal mapping of 5S and 18S ribosomal genes using double FISH. *Aquaculture Research*, 44, 829–835.
- Calado, L. L., Bertollo, L. A. C., Cioffi, M. B., Costa, G. W. W. F., Jacobina, U. P., & Molina, W. F. (2014). Evolutionary dynamics of rDNA genes on chromosomes of the *Eucinostomus* fishes: cytotaxonomic and karyoevolutive implications. *Genetics and Molecular Research*, 13(4), 9951-9959.
- Campiranon, A. (2003). *Cytogenetics*. (2). Bangkok: Kasetsart University Press.
- Carpenter, K. E. (1997). *Living marine resources of Kuwait, Eastern Saudi Arabia, Bahrain, Qatar, and the United Arab Emirates*. Food & Agriculture Organization

- Carpenter, K. E., & Niem, V. H. (Eds.). (2001). *FAO species identification guide for fishery purposes: The living marine resources of the Western Central Pacific. Volume 5. Bony fishes part 3 (Menidae to Pomacentridae), 2791–3380*. Food and Agriculture Organization.
- Chen, T. R., & Ebeling, A. W. (1968). Karyological evidence of female heterogamety in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Copeia*, 70-75.
- Chuapun, K., Augsornpa-ob, U., Sanitmajjaro, W., & Pankaew, K. (2017). Marine Resources in 10 Nautical-mile Inshore Area of the Gulf of Thailand. Technical Paper No.7/2017. Marine Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 10-28. (in Thai)
- Eschmeyer, W. N., Fricke, R., Fong, J. D., & Polack, D. A. (2010). Marine fish diversity: history of knowledge and discovery (Pisces). *Zootaxa*, 2525(1), 19-50.
- Esmaeili, H. R., Ebrahimi, M., & Saifali, M. (2008). Karyological analysis of five tooth-carps (Actinopterygii: Cyprinodontidae) from Iran. *Micron*, 39(2), 95-100.
- Froese, R., & Pauly, D. (Eds.). (n.d.). Species in genus *Gerres*. FishBase.
<https://www.fishbase.org/identification/SpeciesList.php?genus=Gerres>.
- Galetti, P. M., Aguilar, C. T., & Molina, W. F. (2000). An overview of marine fish cytogenetics. *Marine genetics*, 55-62.
- Hajisamae, S., Yeesin, P., & Chayamongkol, S. (2006). Habitat utilization by fishes in a shallow, semi-enclosed estuarine bay in the southern Gulf of Thailand. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 68, 647-655.
- Jantarat, S., Jumrusthanasan, S., Kaewsri, S., Supanuam, P., & Tanomtong, A. (2021). First report of karyological analysis and heteromorphic nucleolar organizer region of Black Surgeonfish (*Acanthurus gahhm*, Acanthuridae) in Thailand. *Caryologia*, 74(1), 83-88.
- Kasi-ruek, W. (2014). *Cytogenetics of Mandarin Fish (Synchiropus sp.)*. Institute of Marine Science, Burapha University, 16-29. (in Thai)

- Larson, H., Dahanukar, N., Molur, S., & Sparks, J.S. (2017). *Gerres filamentosus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2017*: e.T166897A46643777.
<https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T166897A46643777.en>
- Letourneur, Y., Kulbicki, M., & Labrosse, P. (1998). Length-weight relationships of fish from coral reefs and lagoons of New Caledonia, southwestern Pacific Ocean: an update. *Naga*, 21(4), 39-46.
- Marine and Coastal Resources Research & Development Institute. (2021). *Estuaries fishes of inner Gulf of Thailand*. Bangkok, Thailand: Department of Marine and Coastal Resources, A.P. Printing Media Co., Ltd. 140. (in Thai)
- Nanda, I. M. W. I. J. M., Scharl, M., Feichtinger, W., Schlupp, I., Parzefall, J., & Schmid, M. (1995). Chromosomal evidence for laboratory synthesis of a triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia formosa* and its host species. *Journal of Fish Biology*, 47(4), 619-623.
- Ozouf-Costaz, C., & Foresti, F. (1992). *Fish cytogenetics. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 30, 263-314.
- Paim, F. G., de Oliveira Nobile, M. L. M., Foresti, F., & Oliveira, C. (2018). Cytogenetic tools to study the biodiversity of Neotropical fish: From the classic to the advent of cell culture. In *Cytogenetics-Past, Present and Further Perspectives*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80332>
- Ramírez-Luna, V. I. V. I. A. N. A., Navia, A. F., & Rubio, E. A. (2008). Food habits and feeding ecology of an estuarine fish assemblage of northern Pacific Coast of Ecuador. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(3), 361-372.
- Randall, J.E., (1995). *Coastal fishes of Oman*. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii. 439.
- Ruiz-Carus, R., & Uribe-Alcocer, M. (2003). Karyotype analysis of *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus*, and *Eugerres plumieri* (Teleostei, Gerreidae) from Florida and Puerto Rico. *Environmental biology of fishes*, 67, 269-276.
- Sosa-Nishizaki, O., De la Rosa-Velez, J., & Grijalva-Chon, J. M. (1996). A1lozyme variability in two samples of swordfish, *Xiphias gladius* L., in the North Pacific Ocean. *Fishery bulletin*, 94(3), 589-594.

- Tanomtong, A. (2010). *Cytogenetics*. Khon Kaen University Press. Khon Kaen. 299-319. (in Thai)
- Tanomthong, A., & Pinthong, K. (2019). *Cytogenetics*. (1). Chulalongkorn University. (in Thai)
- Tanpitayakup, C., Charuthanin, K., & Chotisuwan, N. (2013). *Amphidromous story: The ultimate predator, two-water fish, "Wild Ambition"*. Aquarium Biz, 3(35), 110–129. May 2013. (in Thai)
- Van Der Laan, R., Eschmeyer, W. N., & Fricke, R. (2014). Family-group names of recent fishes. *Zootaxa*, 3882(1), 1-230.
- Woodland, D. J. (1984). Gerreidae. In W. Fischer & G. Bianchi (Eds.), *FAO species identification sheets for fishery purposes: Western Indian Ocean fishing area*, 51(2).
- Woodland, D.J., (1986). Siganidae. In M.M. Smith and P.C. Heemstra (eds.) *Smiths' sea fishes*. Springer-Verlag, Berlin. 824-825.
- Wright, J.M., (1988). Seasonal and spacial differences in the fish assemblage of the non-estuarine Sulaibikhat Bay, Kuwait. *Marine Biology*, 100, 13-20.