BRT 542018

การสำรวจและการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล Bufo ในประเทศไทย

นายพรณรงค์ สิริบีชะสิงห์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-0460-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

An ab

11 มิ.ย. 2544

EXPLORATION AND KARYOTYPIC STUDY OF TOAD GENUS *Bufo* IN THAILAND

Mr. Pornarong Siripiyasing

A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Genetics
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic year 2000

ISBN 974-13-0460-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสำรวจและการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทย
โดย	นายพรณรงค์ สิริปิยะสิงห์
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา	พันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ธีรวรรณ นุตประพันธุ์)

BRT 542018

พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ : การสำรวจและการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทย (EXPLORATION AND KARYOTYPIC STUDY OF TOAD GENUS *Bufo* IN THAILAND) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ผุสดี ปริยานนท์, 77 หน้า. ISBN 974-13-0460-9

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจัดอยู่ในไฟลัม Chordata ชั้น Amphibian และอยู่ในชั้นย่อย Lissamphibia แบ่งออกได้เป็น 3 อันดับ คือ อันดับ Gymnophiona ได้แก่พวก เขียดงู อันดับ Caudata ได้แก่พวก ซาลามานเดอร์ และอันดับ Anura ได้แก่พวก กบ เขียด อึ่งอ่าง ปาด คางคก มีรายงานการศึกษาในประเทศไทยสกุล *Bufo* พบว่ามี 4 ชนิด ดังนี้ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) จงโคร่ง (*Bufo asper* Garvenhorst) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) และคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) ซึ่งจากการสำรวจคางคกสกุล *Bufo* ตามภูมิภาคต่างๆ ในประเทศไทยสามารถสำรวจพบคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทยทั้ง 4 ชนิด แล้วนำมาศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ โดยการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว แล้วนำมาย้อมสีแบบปกติ (Conventional) และย้อมสีแบบจี (G-banding) พบคางคกทั้ง 4 ชนิดมีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 เท่ากัน ขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันมาก โดยพบเฉพาะโครโมโซมชนิด metacentric และ submetacentric เท่านั้น ซึ่งสามารถสรุปสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Scheider) 2n = 22 ; $L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$ จงโคร่ง (*Bufo asper* Garvenhorst) 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$ คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) 2n = 22 ; $L^{m}_{10} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$ และคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$ การศึกษาที่ผ่านมามีการรายงานจำนวนโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทยเพียง 2 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$ ซึ่งจะแตกต่างจากผลการศึกษาในครั้งนี้ และอีกชนิดคือ คางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) แต่ไม่มีการรายงานสูตรคาริโอไทป์ ส่วนอีก 2 ชนิดเป็นการรายงานครั้งแรก

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....พันธุศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2543..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4072326623 : Major GENETICS

KEY WORD: *Bufo* / AMPHIBIAN / KARYOTYPE

PORNARONG SIRIPIYASING : EXPLORATION AND KARYOTYPIC STUDY OF TOAD GENUS *Bufo* IN THAILAND. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. PUTSATEE PARIYANONTH, 77 pp. ISBN

The amphibians are grouping in to the phylum of Chordata, division Amphibians. It can be divided in to three orders; Gymnophiona such as caecilians; Caudata such as salamander and Anura such as frog, treefrog and toad. From observation studies of order *Bufo* in Thailand have been revealed that the genus *Bufo* can be divided in 4 types; *Bufo melanostictus* Schneider, *Bufo asper* Garvenhost, *Bufo macrotis* Boulenger and *Bufo parvus* Boulenger. In this studied were observation and karyotyping of order in each part of Thailand. The observation showed that all 4 types of *Bufo* have the same chromosome number (2n = 22) and very closely in shape and sized especially metacentric and submetacentric chromosome. The karyotypic formula of all 4 *Bufo* can be summarized as following; *Bufo melanostictus* Schneider: 2n = 22 ; $L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$, *Bufo asper* Garvenhost: 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$, *Bufo macrotis* Boulenger: 2n = 22 ; $L^{m}_{10} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$, *Bufo parvus* Boulenger: 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$. In the past, the chromosome study of *Bufo* have been reported just only 2 types the one was *Bufo melanostictus* Schneider: 2n = 22 ; $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$ which difference from this study and the other was the *Bufo parvus* Boulenge (2n = 22) but, not yet reported in karyotypic formula. Therefore, the rest 2 types of this study were first reported.

Department.....Botany.....Student's signature.....Pornarong Siripiyasing.....

Field of study.....Genetic.....Advisor's signature.....Warawut Chulalaksananukul.....

Academic year.....2000.....Co-advisor 's signature .....P. Pariyanonth.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือและสนับสนุนจากผู้เกี่ยวข้องหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ให้ความรู้ ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนคำปรึกษาและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างมากต่อผู้วิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขรายละเอียดต่างๆ ของวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์ได้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสตี ปริยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้ความรู้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนคำปรึกษาและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างมากต่อผู้วิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาได้ให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ธีรวรรณ นุตประพันธ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาได้ให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ วิโรจน์ นุตพันธุ์ และอาจารย์อลงกลด แทนออมทอง ที่แนะนำความรู้เกี่ยวกับเรื่องสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ คุณสวัสดิ์ แสงพันธุ์ และคุณสมใจ เทพสุทธิ์ ที่ได้ให้สถานที่พัก และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบพระคุณ คุณชูศิษฏ์ ศุกรนันทน์ คุณกนกวรรณ ศุกรนันทน์ และคุณมารุต สุขไทย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือทุกด้านเกี่ยวกับคอมพิวเตอร์

ผลงานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนุบสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 542018 จึงขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ตลอดจนพี่ น้อง และผองเพื่อนทุกคน ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา จนกระทั่งสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
บทที่	
1 บทนำ	1
2. การตรวจเอกสาร	3
3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา	15
4. ผลการศึกษา	20
5. วิจารณ์ผลการศึกษา	62
6. สรุปผลการศึกษา	66
รายการอ้างอิง	68
ภาคผนวก	72
ประวัติผู้เขียน	77

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อันดับ วงศ์ และชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พบในประเทศไทย	7
2	ชนิด จำนวน โครโมโซม จำนวนสัตว์ทดลอง และแหล่งที่มาของคางคกสกุล *Bufo*	13
3	การสำรวจคางคกสกุล *Bufo* ตามภูมิภาคของประเทศไทย	20
4	จำนวนโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด	21
5	ความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคางคกบ้าน	25
6	ค่าเฉลี่ยขนาด และชนิดโครโมโซมของคางคกบ้าน	26
7	ความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมจงโคร่ง	34
8	ค่าเฉลี่ยขนาด และชนิดโครโมโซมของจงโคร่ง	35
9	ความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคางคกหัวราบ	43
10	ค่าเฉลี่ยขนาด และชนิดโครโมโซมของคางคกหัวราบ	44
11	ความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคางคกแคระ	52
12	ค่าเฉลี่ยขนาด และชนิดโครโมโซมของคางคกแคระ	53
13	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย LT และขนาดของโครโมโซมคางคกทั้ง 4 ชนิด	59
14	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย NVC และขนาดของโครโมโซมคางคกทั้ง 4 ชนิด	60
15	แสดงโครโมโซมคู่ที่แตกต่างของคางคกทั้ง 4 ชนิด	65

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะตัวเต็มวัยของคางคกสกุล *Bufo*	8
2	คางคกบ้าน	23
3	แหล่งที่อยู่อาศัย	24
4	คาริโอไทป์ของคางคกบ้านเพศเมีย	27
5	คาริโอไทป์ของคางคกบ้านเพศผู้	28
6	คาริโอไทป์ของคางคกบ้านโดยการย้อมแถบสีแบบจี	29
7	อิดิโอแกรมของคางคกบ้าน	30
8	จงโคร่ง	32
9	แหล่งที่อยู่อาศัย	33
10	คาริโอไทป์ของจงโคร่งเพศเมีย	36
11	คาริโอไทป์ของจงโคร่งเพศผู้	37
12	คาริโอไทป์ของจงโคร่งโดยการย้อมแถบสีแบบจี	38
13	อิดิโอแกรมของจงโคร่ง	39
14	คางคกหัวราบ	41
15	แหล่งที่อยู่อาศัย	42
16	คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบเพศเมีย	45
17	คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบเพศผู้	46
18	คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบโดยการย้อมแถบสีแบบจี	47
19	อิดิโอแกรมของคางคกหัวราบ	48
20	คางคกแคระ	50
21	แหล่งที่อยู่อาศัย	51
22	คาริโอไทป์ของคางคกแคระเพศเมีย	54
23	คาริโอไทป์ของคางคกแคระเพศผู้	55
24	คาริโอไทป์ของคางคกแคระโดยการย้อมแถบสีแบบจี	56
25	อิดิโอแกรมของคางคกแคระ	57
26	รูปด้านบน-ท้องของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด	58
27	อิดิโอแกรม เปรียบเทียบของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด	61

บทที่ 1

บทนำ

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีความสำคัญต่อมนุษย์ เนื่องจากการใช้เป็นอาหาร ใช้ในการทดลองทางชีววิทยา และทางการแพทย์มาเป็นเวลานาน สัตว์กลุ่มนี้มีความเป็นอยู่ที่น่าสนใจ มีพฤติกรรมการส่งเสียงร้องที่แตกต่างกันไปตามชนิด ประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศในเขตร้อนของโลกก็มีสัตว์กลุ่มนี้อยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีลักษณะและนิสัยแตกต่างกันไป (จารุจินต์ นภีตะภัฏ, 2531)

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจัดอยู่ในไฟลัม Chordata ชั้น Amphibian และอยู่ในชั้นย่อย Lissamphibia แบ่งออกได้ 3 อันดับ คือ อันดับ Gymnophiona (Apoda) ได้แก่ พวกเขียดงู อันดับCuadata (Urodela) ได้แก่ พวกซาลามานเดอร์ และอันดับ Anura (salientia) ได้แก่ พวกกบ เขียด อึ่งอ่าง ปาดคางคก (Duellman, 1982)

จารุจินต์ นภีตะภัฏ (2531) รายงานการศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย วงศ์คางคก Bufonidae มี 4 สกุล คือ สกุล *Ansonia* มี 2 ชนิด คือ คางคกห้วยมลายู (*Ansonia malayana*) และคางคกห้วยไทย (*Ansonia siamensis*) สกุล *Leptophryne* มี 1 ชนิด คือคางคกขายาว (*Leptophryne borbonica*) สกุล *Pedostibes* มี 1 ชนิด คือ คางคกต้นไม้ (*Pedostibes hosii*) และสกุล *Bufo* ซึ่งมีจำนวนมากที่สุดถึง 4 ชนิด คือ คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) จงโคร่ง (*Bufo asper* Garvenhorst) คางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) และคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider)

สัตว์บางชนิดในกลุ่มนี้มีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากถูกจับมาเป็นอาหาร หรือจากการทำลายพื้นที่ป่าไม้ สูญเสียที่อยู่ในธรรมชาติจากไฟป่า และน้ำท่วม ที่สำคัญที่สุดคือ ขาดความรู้พื้นฐานที่จะนำไปใช้ในการจัดการให้เหมาะสมเพื่อประโยชน์ในการวางแนวทางในการอนุรักษ์ต่อไป

ปัจจุบันการศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ นับวันจะมีความสำคัญมากยิ่งขึ้น โดยข้อมูลและความรู้พื้นฐานมีความจำเป็นในการนำไปประยุกต์ การอนุรักษ์ การปรับปรุงพันธุ์ และการนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงต่อการศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์ และพันธุศาสตร์ เช่น เป็นข้อมูลในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตได้ละเอียดมากยิ่งขึ้น (ถาวร สุภาพรหม และคณะ, 2537)

การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยที่ผ่านมาพบว่า ยังมีน้อยมาก โดยเฉพาะคางคกในสกุล *Bufo* มีเพียงคางคกบ้าน และคางคกแคระ เท่านั้น ที่มีรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซม 2n = 22 (นงลักษณ์ นาคเกษม, 2518; Schmid, 1978) ส่วนอีก 2 ชนิด ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อนจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาเพื่อสำรวจสถานภาพแท้จริงของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด และนำมาศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ จำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์ให้ครบสมบูรณ์ การศึกษาในครั้งนี้เป็นการนำเสนอข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ของคางคกในสกุล *Bufo* กลุ่มนี้ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. สำรวจและเก็บรวบรวมคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทย
2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

1. ทราบสถานสภาพของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิดในประเทศไทย
2. เปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเป็นสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังมีระยางค์ 2 คู่ ใช้ในการเคลื่อนที่ มีปุ่มท้ายทอย (occipital condyle) 2 ปุ่มที่รากฐานของกะโหลก มีกระดูกก้นกบเพียงชิ้นเดียว เป็นสัตว์เลือดเย็นที่อุณหภูมิของร่างกายสามารถเปลี่ยนไปตามสภาวะแวดล้อม ตัวอ่อนหายใจด้วยเหงือก ส่วนตัวเต็มวัยหายใจและแลกเปลี่ยนก๊าซโดยใช้ปอด ผิวหนัง และเยื่อบุในช่องปาก ผิวหนังเปียกชื้น มีต่อมสร้างเมือก ไม่มีเกล็ด หรือถ้ามีจะฝังตัวใต้ผิวหนัง (Ballingen และ Lynch, 1993) จัดอยู่ในไฟลัม Chordata ชั้น Amphibia และอยู่ในชั้นย่อย Lissamphibia (Duellman, 1982) แบ่งออกได้ 3 อันดับ คือ

1. อันดับ Gymnophiona (Apoda) ได้แก่ กลุ่มเขียดงู (Caecilians) มีลักษณะสำคัญ คือ ลำตัวยาวคล้ายไส้เดือนดิน ไม่มีขา บางสกุลมีเกล็ดฝังใต้ผิวหนัง ตาเล็ก หรือลดรูปหายไป

2. อันดับ Caudata (Urodela) ได้แก่ กลุ่มของซาลามานเดอร์ ลักษณะสำคัญ คือ ลำตัวยาว มีหางและขาซึ่งไม่ได้พัฒนาสำหรับการกระโดด มีกระดูกซี่โครง

3. อันดับ Anura (Salientia) ได้แก่ กลุ่มของกบ เขียด อึ่งอ่าง ปาด และคางคก ลักษณะสำคัญคือเมื่อโตเต็มวัยจะไม่มีหาง มีขาหลังดัดแปลงสำหรับการกระโดด ปกติไม่มีกระดูกซี่โครง

การศึกษาสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย

การศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยที่ผ่านมาตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน จะเป็นในลักษณะการสำรวจเพื่อค้นหาชนิด ตรวจสอบชนิด และทำบัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

ธัญญา จั่นอาจ (2530) รวบรวมและสรุปการสำรวจพบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย ดังนี้

พ.ศ. 2401-2404 Henry Mouhot นักธรรมชาติวิทยาชาวฝรั่งเศสซึ่งเป็นประเทศแรกที่เข้ามาเก็บตัวอย่างในประเทศไทย โดยเฉพาะบริเวณจังหวัดจันทบุรี และได้ส่งตัวอย่างไปศึกษาที่พิพิธภัณฑ์อังกฤษ และในปี พ.ศ. 2403 Albert Gunther ได้รายงานไว้เป็นครั้งแรกว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำนวน 7 ชนิด ในบริเวณดังกล่าว

พ.ศ. 2439-2446 Willium Abbott นักสำรวจชาวอเมริกา เดินทางมาเก็บตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในภาคใต้ของประเทศไทยบริเวณจังหวัดตรัง และเกาะตามแนวฝั่งทะเลด้านตะวันตกของภาคใต้

พ.ศ. 2439-2441 Stanley Flower เข้ามาสำรวจสัตว์พื้นเมืองทุกชนิดของประเทศไทยและมลายู รายงานผลการศึกษาในปี พ.ศ. 2442 ว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย จำนวน 20 ชนิด

พ.ศ. 2442-2443 คณะสำรวจ Skeat มาเก็บตัวอย่างสัตว์และพืชให้กับพิพิธภัณฑ์ทริงในประเทศอังกฤษ โดยเริ่มสำรวจจากทะเลสาบสงขลาในจังหวัด พัทลุง ผ่านจังหวัดสงขลา ปัตตานี และยะลาจนถึงรัฐกลันตัน และตรังกานู ซึ่งสองรัฐนี้ยังอยู่ภายใต้การปกครองของประเทศไทย รายงานว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำนวน 14 ชนิด

พ.ศ. 2444-2445 คณะสำรวจจากมหาวิทยาลัยเอดินเบอร์ก ประเทศสก๊อตแลนด์ และมหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล จากประเทศอังกฤษ ได้สำรวจทางมนุษยวิทยา และสัตววิทยาในบริเวณเดียวกับคณะสำรวจ Skeat

พ.ศ. 2454-2455 และ พ.ศ. 2457-2458 Count Nils Gyldenstolpe หัวหน้าคณะสำรวจจากพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติแห่งประเทศสวีเดน สำรวจครั้งแรกในภาคเหนือ ครั้งที่สองสำรวจในภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่และเชียงรายก่อน และมุ่งลงใต้เฉพาะจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และอีกหลายบริเวณในระยะเวลาสั้นๆ เช่น จังหวัดพิจิตร นครราชสีมา และชลบุรี รวมทั้งบริเวณรอบกรุงเทพฯ พบชนิดใหม่นอกเหนือจากที่รายงานไว้แล้ว 5 ชนิด

พ.ศ. 2457 Malcolm Smith แพทย์หลวงในพระบาทสมเด็จพระมงกุฎเกล้าเจ้าอยู่หัว ค้นคว้าและตีพิมพ์ในวารสารธรรมชาติวิทยาของสยามสมาคมในระหว่างปี พ.ศ. 2459-2466 ในปี พ.ศ. 2460 สรุปรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยไว้ทั้งหมด 52 ชนิด และได้ร่วมมือกับ George Boulenger แห่งพิพิธภัณฑ์อังกฤษ ตั้งชื่อสัตว์ชนิดใหม่ๆ

พ.ศ. 2466 Hugh Smith ที่ปรึกษาการประมงของรัฐบาลไทยได้ออกเก็บตัวอย่างปลาน้ำจืดทั่วประเทศไทย และได้เก็บตัวอย่างของสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก นำไปเก็บรักษาที่พิพิธภัณฑ์แห่งชาติอเมริกา

พ.ศ. 2471 Baron Rodolphe de Schauensee แห่งสมาคมวิทยาศาสตร์ธรรมชาติฟิลาเดลเฟีย เดินทางมาสำรวจในประเทศไทยเป็นครั้งแรก และอีกสองครั้งใน พ.ศ. 2472 และ พ.ศ. 2476-2477 ได้สำรวจนกเป็นหลัก แต่ยังเก็บตัวอย่างสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี ซึ่งพบชนิดใหม่ 3 ชนิด

พ.ศ. 2501 Edward Taylor และ Robert Elbel ทำการศึกษาทบทวนสัตว์กลุ่มนี้พบว่า มีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 79 ชนิด ต่อมา Taylor ได้รับทุน ฟุลไบรท์ มาศึกษาระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2500 ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2501 และครั้งที่สองเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2502 ถึง กันยายน พ.ศ. 2503 โดยได้รับทุนสนับสนุนจากศาสตราจารย์ ศุภชัย วานิชวัฒนา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 97 ชนิด และใน พ.ศ. 2514 รายงานว่าพบเขียดงู 5 ชนิด ในประเทศไทย

พ.ศ. 2513 Robert F. Inger ได้รายงานการค้นพบกบชนิดใหม่ในประเทศไทย ตั้งชื่อว่า กบอกหนาม (*Rana fasciculispina*)

พ.ศ. 2520 D. W. Frith ได้รายงานผลการสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบนเกาะภูเก็ตและบริเวณใกล้เคียงไว้ 17 ชนิด

พ.ศ. 2524 Robert F. Inger และ R. K. Colwell ศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา เปรียบเทียบใน 3 ถิ่น ที่อยู่อาศัย คือ ป่าดิบชื้น ป่าดิบแล้ง และบริเวณทุ่งนา พบว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 25 ชนิด ซึ่งมีการกระจายในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน

พ.ศ. 2526 อนงค์ หัมพานนท์ รายงานการสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ไว้ 19 ชนิด และในปีเดียวกัน จารุจินต์ นภีตะภัฏ นักวิทยาศาสตร์แห่งสาขานิเวศวิทยา สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้สรุปจำนวนชนิดพันธุ์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย สรุปรายชื่อสัตว์ดังกล่าวมี 105 ชนิด

พ.ศ. 2528 Kiew. B. Heang ได้รายงานว่าพบคางคกชนิดใหม่ 1 ชนิด คือ คางคกห้วยไทย (*Ansonia siamensis*)

ธัญญา จั่นอาจ (2530) สำรวจพบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้งจำนวน 32 ชนิด

จารุจินต์ นภีตะภัฏ และวิเชียร คงทอง (2536) สำรวจและยืนยันว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยจำนวน 106 ชนิด จัดอยู่ใน 3 อันดับ 8 วงศ์

Inger และ Chanard (1997) ค้นพบกบชนิดใหม่เพิ่มขึ้นอีก 1 ชนิด คือ *Rana archotaphus* แต่ยังไม่มีการตั้งชื่อเป็นภาษาไทย

นับตั้งแต่มีการสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยจนถึง พ.ศ. 2541 สามารถสรุปได้ว่ามีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย 107 ชนิด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อันดับ วงศ์ และชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พบในประเทศไทย

อันดับ (Order)	**วงศ์** (Family)	**จำนวนชนิด** (Species)
Caudata	ซาลามานเดอร์ (Salamandridae)	1
Anura	อึ่งกราย (Pelobatidae)	12
	คางคก (Bufonidae)	8
	ปาดเมืองจีน (Hylidae)	1
	กบ เขียด (Ranidae)	43
	ปาด (Rhacophoridae)	23
	อึ่ง (Microhylidae)	14
Gymnophiona	เขียดงู (Ichthyophiidae)	5
3	8	107

ที่มา : วิเชฎฐ์ คนซื่อ, 2541

จารุจินต์ นภีตะภัฏ (2531) และวิโรจน์ นุดพันธุ์ (2534) ได้รายงานการศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก จำพวกวงศ์คางคก Bufonidae มี 4 สกุล ได้แก่

1. สกุล *Ansonia* มี 2 ชนิด คือ คางคกห้วยมลายู (*Ansonia malayana*) และคางคกห้วยไทย (*Ansonia siamensis*)

2. สกุล *Leptophryne* มี 1 ชนิด คือ คางคกขายาว (*Leptophryne borbonica*)

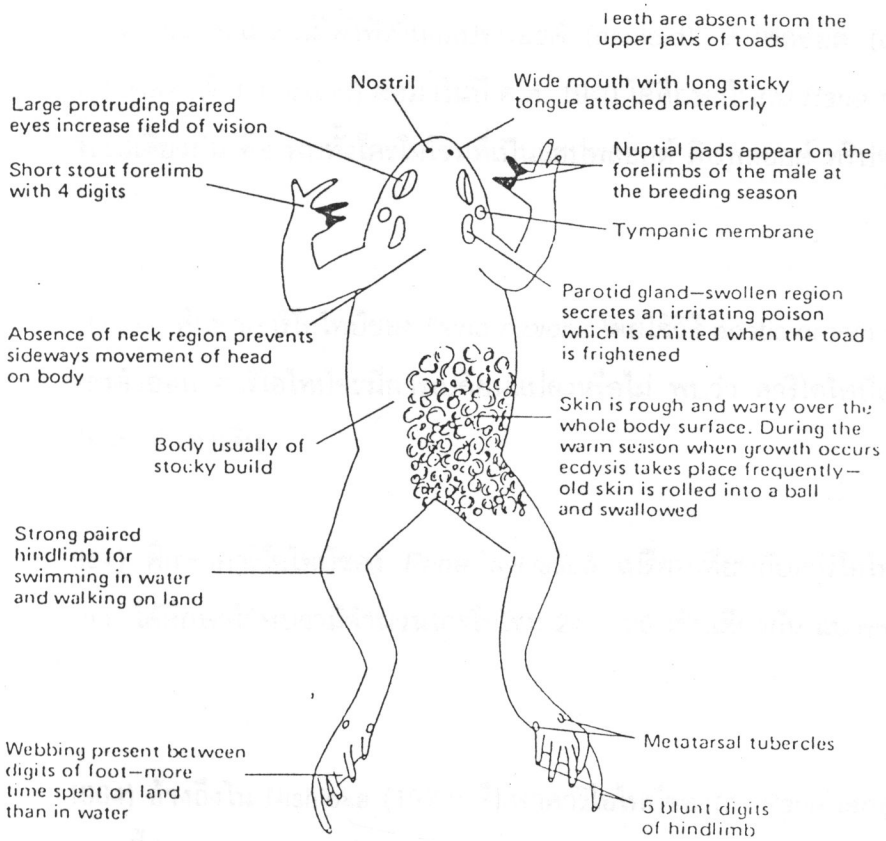
3. สกุล *Pedostibes* มี 1 ชนิด คือ คางคกต้นไม้ (*Pedostibes hosii*)

4. สกุล *Bufo* ซึ่งมีจำนวนมากที่สุดถึง 4 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) และคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) และลักษณะสำคัญของคางคกในสกุล *Bufo* คือจะมีลิ้นเป็นรูปไข่ ปลายลิ้นไม่เป็นแฉก ไม่มีฟันบนเพดาน และไม่มีฟันบนขากรรไกรด้านบน เยื่อหูมองเห็นได้ชัดเจน นิ้วมือไม่มีพังผืดยึด ส่วนนิ้วเท้าจะมีพังผืดยึด ปลายนิ้วมือและนิ้วเท้าจะไม่แผ่ขยายออก มีตุ่มที่ฝ่าเท้าด้านนอก 1 ตุ่ม ด้านใน 1 ตุ่ม มีถุงเสียงเพียง 1 ถุง กระดูกหน้าอกเป็นแผ่นแข็ง ตาดำยาวรีอยู่ในแนวนอน มีต่อมพาโรติด (parotid) มองเห็นได้ชัดเจนมาก (Taylor,1962) ดังรูปที่ 1

คางคกสกุล *Bufo* จะผสมพันธุ์ในช่วงฤดูฝน โดยตัวผู้จะส่งเสียงร้องเรียกตัวเมียอยู่บริเวณริมบ่อหรือริมสระน้ำ ตัวเมียซึ่งมีความพร้อมที่จะผสมพันธุ์เมื่อได้ยินเสียงตัวผู้จะเดินทางมาตามเสียง ตัวผู้จะกระโดดลงน้ำและส่งเสียงร้องถี่ขึ้น เป็นการกระตุ้นให้ตัวเมียกระโดดตามลงมา แล้วตัวผู้จะกระโดดขี่หลังตัวเมีย โดยใช้แขนสอดใต้แขนของตัวเมียหลังจากนั้นตัวเมียจะปล่อยไข่เป็นสายวุ้นออกมา โดยจะว่ายวนไปมาตามบริเวณบ่อที่มีพืชน้ำตัวผู้จะปล่อยน้ำอสุจิออกมาผสม (Robinson และ Wiggins, 1971)

สัตว์ในกลุ่มนี้มีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เนื่องจากถูกจับมาเป็นอาหาร หรือการทำลายพื้นที่ป่าไม้และการสูญเสียแหล่งที่อยู่ในธรรมชาติเนื่องจากไฟป่าและน้ำท่วมที่สำคัญที่สุดประการหนึ่งคือ การขาดความรู้พื้นฐานที่จะนำมาใช้ในการจัดการให้เหมาะสมเพื่อประโยชน์ในแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ (จารุจินต์ นภีตะภัฏ, 2531)

กรมป่าไม้ ได้ออกพระราชบัญญัติให้คางคกสกุล *Bufo* 3 ชนิด คือ จงโคร่ง คางคกหัวราบ และคางคกแคระ เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 ซึ่งหมายถึง สัตว์ป่าซึ่งตามปกติไม่นิยมใช้บริโภคเป็นอาหารหรือไม่ล่าเป็นเกมกีฬา แต่เป็นสัตว์ป่าที่ช่วยทำลายศัตรูพืช หรือขจัดสิ่งปฏิกูล หรือเป็นสัตว์ป่าที่ควรสงวนไว้ประดับความงามตามธรรมชาติ หรือสงวนไว้เพื่อมิให้จำนวนลดลง (สมชาย เลี้ยงพรพรรณ, 2540)



รูปที่ 1 ลักษณะตัวเต็มวัยของคางคกสกุล *Bufo* (Robinson และ Wiggins, 1971)

การศึกษาคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

การศึกษาคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในต่างประเทศเริ่มมีมานานแล้ว แต่เดิมมีการศึกษาเฉพาะจำนวนโครโมโซมเท่านั้น จากการตรวจเอกสารมีดังนี้

Paramenter (1933) ศึกษาจำนวนโครโมโซมในกบ *Rana pipiens* และ *Rana palustris* จากไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพบว่า จำนวนโครโมโซมมีทั้งที่เป็นแฮปพลอยด์ (haploid), ดิปพลอยด์ (diploid), ทริปพลอยด์ (triploid), เตตระพลอยด์ (tetraploid) ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 ได้ศึกษาในกบ *Rana fusca* จากไข่ที่ไม่ได้รับการผสมได้ผลเช่นเดียวกัน คือ พบทั้งโครโมโซมที่เป็นแฮปพลอยด์ ดิปพลอยด์ ทริปพลอยด์ เตตระพลอยด์

Di Beradino (1961) ศึกษาคาริโอไทป์ของ *Rana pipiens* โดยใช้วิธี acetic orcein squash เพื่อดูว่าขณะที่มีการเจริญของตัวอ่อน คาริโอไทป์จะมีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ พบว่า คาริโอไทป์เหมือนเดิมรวมทั้งจำนวนโครโมโซม 2n = 26 เท่าเดิม

Hennen (1964) ศึกษาคาริโอไทป์ของ *Rana sylvatica* เปรียบเทียบกับคาริโอไทป์ของ *Rana pipiens* ที่ Di Beradino ได้ศึกษาไว้พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 เช่นเดียวกัน แบ่งออกได้เป็น 5 คู่ใหญ่ และ 8 คู่เล็ก

Guillemin (1964) อ้างถึงใน Nishioka (1972) ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Rana temporaria* และ *Rana dalmatin* โดยการบี้ส่วนของ epidermis ของลูกอ๊อดและตัวอ่อน พบว่าในกบทั้งสองชนิด ต่างก็มีโครโมโซม 26 แท่ง แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามความยาว การวิเคราะห์โครโมโซมดูจากค่า Relative Length Arm Ratio และการมี secondary constriction ไม่พบคู่ของโครโมโซมที่มีรูปร่างต่างกัน

Guenther (1970) อ้างถึงใน Nishioka (1972) ศึกษาคาริโอไทป์ของ *Rana ridibunda* จากเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เลี้ยงไว้ พบว่าจำนวนและรูปร่างของโครโมโซมไม่แตกต่างจาก *Rana esculenta* ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากสถานที่ต่างๆ กัน

Kuramoto (1972) ศึกษาคาริโอไทป์ของ *Rana guentheri* ซึ่งเก็บมาจากไทเป และฟอร์โมซา โดยใช้เซลล์จากไขกระดูก พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 แบ่งออกเป็น 5 คู่ใหญ่และ 8 คู่เล็ก โครโมโซมจัดได้เป็น metacentric, submetacentric และ acrocentric คู่ที่ 6 มี secondary constriction บนแขนข้าง

ยาว จากการศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของกบในสกุล *Rana* ทำให้ Kuramoto คิดว่าโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากโครงสร้างของโครโมโซมเพียงส่วนเล็กน้อย

การศึกษาคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในต่างประเทศ มีการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่องในการวิเคราะห์และตรวจสอบโครโมโซม

Nishioka และคณะ (1987) ศึกษาคาริโอไทป์ของกบสีน้ำตาล (Brown frog) จากประเทศญี่ปุ่น 5 ชนิด คือ *Rana japonica, Rana ornativentris Rana tsushimensis Rana dybowskii* และ *Rana chensinensis* จากเกาหลี 2 ชนิด คือ *Rana amurensis coreana* และ *Rana dybowskii* จากยุโรป 1 ชนิด คือ *Rana temporaria* และจากอเมริกาเหนือ 1 ชนิด *Rana sylvatica* เปรียบเทียบจำนวนโครโมโซม แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ 2n = 26 ได้แก่ *Rana japonica Rana tsushimensis Rana amurensis coreana Rana temporaria* และ *Rana sylvatica* อีกกลุ่มคือ 2n = 24 ได้แก่ *Rana ornativentris Rana dybowskii* และ *Rana chensinensis*

Schmid (1982) ศึกษาโครงสร้างของ nucleolus organizer regions (NORs) บนโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก อันดับ Anura 260 ชนิด โดยใช้เทคนิค conventional staining Ag-staining, GC, AT-specific fluorochromosomes และ C-banding พบว่า มีเพียง 3 ชนิด ที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของโครงสร้างทางเคมี ที่เป็นลักษณะเฉพาะของ NORs ซึ่งสามารถวิเคราะห์ผลได้จากความแตกต่างของ rDNA ที่อยู่บน NORs นั้น

Schmid และคณะ (1993) ได้ศึกษาโครงสร้างโครโมโซมเพศของกบ *Buergeria buergeri* ซึ่งมีรูปแบบของโครโมโซมเพศเป็นแบบ ZW/ZZ (เพศเมีย/เพศผู้) พบว่าความแตกต่างของ Z และ W อยู่ตรงบริเวณ NORs โดยดูได้จากความสัมพันธ์ของ heterochromatin ในโครโมโซม Z จะมีจำนวนของ ribosomal RNA ที่แตกต่างกัน โดยมีอัตราส่วนระหว่าง เพศเมีย : เพศผู้ ประมาณ 1:2

Nishioka และคณะ (1994) ศึกษาโครโมโซมเพศ ของกบ *Rana rugosa* โดยใช้เทคนิคย้อมแถบสีบนโครโมโซม (chromosome banding) เพื่อดูความแตกต่างของโครโมโซมเพศ

Ota และ Matsui (1995) ศึกษาโครโมโซมของกบ *Platymantis pelewensis* จาก Belau, micronesia ประเทศฟิลิปินส์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ไม่พบความแตกต่างในแต่ละคู่โครโมโซม

โครโมโซมคู่ที่ 1 5 6 8 10 และ 11 เป็นชนิด metacentric นอกนั้นเป็น submetacentric และพบ secondary constriction บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 7 จำนวนและลักษณะของโครโมโซมคล้ายคลึงกับ *Platymantis papuensis* บนเกาะนิวกินี แต่จะแตกต่างจาก *Platymantis dorsalis* และ *Platymantis hazelae* ในฟิลิปินส์ ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 และ 2n = 26 ตามลำดับ

สำหรับการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกในสกุล *Bufo* ได้มีผู้ศึกษาไว้บ้างแล้วเช่น

Ullerich (1966) อ้างถึงใน Beckert และ Doyle (1967) ทำการศึกษาคาริโอไทป์และปริมาณ DNA ใน *Bufo bufo* *Bufo viridis* *Bufo bufo* x *Bufo viridis* และ *Bufo calamita* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ทุกชนิด และมีรูปร่างคล้ายกันเพียงแต่โครโมโซมของ *Bufo bufo* ยาวกว่าชนิดอื่น

Bogard (1966) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกในกลุ่มของ *Bufo regularis* ในประเทศอียิปต์ เคนยา แอฟริกาเหนือ ไนจีเรีย และโรดีเซีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 ซึ่งแตกต่างจาก Wickbom ที่รายงานไว้ในปี 1949 ว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 นอกจากนี้ Bogard อธิบายว่า คางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 อาจมีถิ่นกำเนิดจากบรรพบุรุษดั้งเดิม และมีการแผ่ขยายอาณาเขตไปยังทวีปแอฟริกา ดังนั้นถ้าจำนวนโครโมโซม 2n = 20 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เริ่มต้นของคางคกสกุลนี้ และจำนวนโครโมโซม 2n = 22 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแล้ว สรุปได้ว่าแอฟริกาเป็นสถานที่ต้นกำเนิดของคางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมเป็น 2n = 22 และมีการแผ่กระจายไปทั่วโลก

Beckert และ Doyle (1967) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคก *Bufo marinus* โดยการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวและไขกระดูก ย้อมด้วยสี Giemsa ผลการศึกษาพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง ไม่พบว่ามีโครโมโซมเพศ

Cole และคณะ (1968) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* 8 ชนิด ของอเมริกาเหนือ พบว่ามีคาริโอไทป์คล้ายกัน มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 และแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ metacentric และ submetacentric ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 12 แท่ง และขนาดเล็ก 10 แท่ง

Siboulet (1971) อ้างถึงใน นงลักษณ์ นาคเกษม (2518) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคก *Bufo maritanicus* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 และเป็นชนิด คือ metacentric และ submetacentric

Schmid (1978) ศึกษาส่วนประกอบของ heterochromatin และ NORs ของคางคกสกุล *Bufo* ได้สรุปจำนวนโครโมโซม จำนวนสัตว์ที่ใช้ทดลอง และแหล่งที่มาของสัตว์แต่ละชนิดไว้ดังตารางที่ 2

ส่วนการศึกษาทางด้านคาริโอไทป์ในประเทศไทยนั้นที่ผ่านมายังมีน้อยมาก ซึ่งพอรวบรวมได้ดังนี้

นงลักษณ์ นาคเกษม (2518) ศึกษาการเจริญเติบโตและคาริโอไทป์ของกบบัว (*Rana limnocharis*) อึ่งอ่าง (*Microphyla ornata*) และคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26, 2n = 24 และ 2n = 22 ตามลำดับ โดยใช้ค่า Centromeric Index (CI) หาได้จากสัดส่วนระหว่างความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว กับความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง แล้วนำค่าที่ได้มาจัดเป็นชนิดของโครโมโซม ดังนี้ ค่า CI ระหว่าง 0.500 – 0.599 เป็นชนิด metacentric ค่า CI ระหว่าง 0.600 – 0.699 เป็นชนิด submetacentric ค่า CI ระหว่าง 0.700 – 0.899 เป็นชนิด acrocentric และค่า CI ระหว่าง 0.900 – 1.000 เป็นชนิด telocentric

สุดสนอง ผาตินาวิน และผุสตี ปริยานนท์ (2531) ทำการวิเคราะห์โครโมโซมของกบนา (*Rana tigerina*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 และพบ secondary constriction บนโครโมโซมคู่ที่ 6

ถาวร สุภาพรม และประภาพร กัลยาประสิทธิ์ (2533) ศึกษาคาริโอไทป์ของอึ่งอ่างบ้าน (*Kaloala pulchra*) และ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 28 และ 2n = 22 ตามลำดับ และยังรายงานพบ secondary constriction บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ของคางคกบ้านด้วย

ถาวร สุภาพรม และคณะ (2534) ศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดจิก (*Rana erythraea*) และเขียดอีโม่ (*Rana limnocharis*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 26

ถาวร สุภาพรม และคณะ (2535) ศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของอึ่งปากขวด (*Glypholossus molossus*) และปาดบ้าน (*Rhacophorus leucomystay*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 26 ในปีเดียวกันยังได้ทำการศึกษาโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดเหลือง (*Rana lateralis*) และ อึ่งแว่น (*Calluella guttulata*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันกับเขียดจิก เขียดอีโม่ อึ่งปากขวด และปาดบ้าน แต่อย่างไรก็ตามสัตว์ทั้ง 6 ชนิด มีคาริโอไทป์ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2 ชนิด จำนวนโครโมโซม จำนวนสัตว์ทดลอง และแหล่งที่มาของคางคกสกุล *Bufo*

ชนิด	2n	แหล่งที่มา	จำนวนสัตว์	
			เพศผู้	เพศเมีย
Buforidae				
Bufo bufo	22	Eur.	1	1
B. calamita	22	Eur.	2	2
B. parvus	22	Eur.	2	0
B. viridis	22	Eur.	1	1
B. americanus	22	N. Am.	0	2
B. boreas	22	N. Am.	0	1
B. compactilis	22	N. Am.	1	0
B. Fowleri	22	N. Am.	1	1
B. punctatus	22	N. Am.	0	1
B. terrestris	22	N. Am.	1	1
B. valliceps	22	N. Am.	1	2
B. arenarum	22	S. Am.	2	1
B. marinus	22	S. Am.	1	1
B. garmani	20	Afr.	1	1
B. mauritanicus	22	Afr.	1	1
B. poweri	20	Afr.	4	0
B. regularis	20	Afr.	2	0

หมายเหตุ Eur. คือ Eurasia
N. Am. คือ North America
S. Am. คือ South America
Afr. คือ Africa

ที่มา : Schmid, 1978

ถาวร สุภาพรม และคณะ (2537) ศึกษาคาริโอไทป์และการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบซี ของกบจุก (*Rana pileata* Boulenger) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 และโครโมโซมคู่ที่ 6 พบ secondary constriction

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล และอัจฉรา สุวรรณเกิด (2538) ศึกษาคาริโอไทป์ของอึ่งอ่างก้นขีด (*Kaloula mediolienata*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 28

เพลินพิศ โชคชัยชำนาญกิจ (2540) ศึกษาเปรียบเทียบโครโมโซมของกบบูลฟร็อกเพศผู้ และเพศเมีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 เท่ากัน

จากข้อมูลที่รวบรวมไว้ทั้งหมดจะเห็นได้ว่าคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทยมี 4 ชนิด ได้มีผู้ทำการศึกษาคาริโอไทป์แล้ว 2 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) เก็บตัวอย่างและศึกษาโดยนักวิจัยในประเทศไทยพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 (นงลักษณ์ นาคเกษม, 2518) อีกชนิดคือ คางคกแคระ (*Bufo parvus*) มีรายงานการเก็บตัวอย่างในปี 1968 ได้จากเขต Eurasia แต่ไม่ได้บอกว่าเป็นประเทศใด และศึกษาโครโมโซมพบว่ามีจำนวน 2n = 22 (Schmid, 1978) ส่วนอีก 2 ชนิด คือ จงโคร่ง (*Bufo asper*) และ คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) ยังไม่มีรายงานการศึกษาทางด้านคาริโอไทป์ และนอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาและนำโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิดมาเปรียบเทียบกัน ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไปในงานวิจัยนี้

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

คางคก สกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ คางคกบ้าน จงโคร่ง คางคกหัวราบ คางคกแคระ ชนิดละ 10 ตัว เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว

วัสดุอุปกรณ์

1. ไฟส่องสัตว์
2. ขวดดองสัตว์
3. กรรไกรผ่าตัด
4. มีดผ่าตัด
5. ปากคีบ
6. เข็มฉีดยา
7. กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์
9. ถาดรองสำหรับผ่าตัด
10. หลอดเลี้ยงเลือด
11. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
12. ถุงมือยาง
13. บีกเกอร์
14. กระบอกตวง
15. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง
16. เครื่องกรองสูญญากาศ
17. เครื่องเขย่าผสม
18. เทอร์โมมิเตอร์
19. สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์
20. ภาชนะสำหรับผสมสีย้อม

21. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า
22. กล้องถ่ายรูป และฟิล์ม
23. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. อีเทอร์ (ether)
2. โคชิซิน (colchicine)
3. เอธิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) 70 เปอร์เซนต์
4. สารละลาย fixative (methy alcohol : acetic acid; 3:1)
5. อาหารเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (RPMI 1640 60 เปอร์เซนต์)
6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล (1 N NaOH)
7. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล (1 N HCl)
8. สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์
9. สารละลายไฟโตเฮแม็คกลูตินิน (phytohaemagglutinin; PHA)
10. ทริปซิน (Trypsin)
11. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Soensen Phosphate buffer)
12. สารละลายสี Giemsa
13. สารละลายฟอร์มาลิน (Formalin)
14. น้ำกลั่น

ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย

1. สำรวจและเก็บตัวอย่าง (รายละเอียดในตารางที่ 3 ของบทที่4)
   1.1 สำรวจและเก็บตัวอย่างคางคกในสกุล *Bufo* ในจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย ดังรายงานการค้นพบของ Taylor (1962) และจารุจินต์ นภีตะภัฏ (2531)
   1.2 ศึกษาสัณฐานวิทยา ตามลักษณะที่อธิบายไว้โดย Taylor (1962)

2. ศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์
   2.1 การเตรียมโครโมโซมจากการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว ตามวิธีการของ Nishioka และคณะ, 1994 ดังนี้

1. เจาะเลือดคางคก 0.1-0.2 มิลลิลิตร เติมลงในอาหาร RPMI 1640 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 73-75 ชั่วโมง

3. เติมสารละลายโคชิซิน 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4. นำสารละลายไปปั่นที่ 1300 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดเอาสารละลายส่วนใสทิ้ง

5. เติมสารละลาย 0.075 โมลาร์ โพแตสเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

6. นำสารละลายไปปั่นที่ 1300 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดเอาสารละลายส่วนใสทิ้ง

7. เติมสารละลาย fixative ที่เตรียมใหม่และแช่เย็นทีละหยด และเขย่าตลอดเวลาจนครบ 5 มิลลิลิตร

8. นำสารละลายไปปั่นที่ 1300 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดเอาสารละลายส่วนใสทิ้ง

9. ทำซ้ำขั้นที่ 7 และ 8 อีก 4 รอบ หรือจนกระทั่งได้ตะกอนสีขาว

10. หยดสารละลายเซลล์ที่ได้ลงบนสไลด์ ด้วยความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร เพื่อนำสไลด์ที่ได้ไปย้อมแถบสีต่อไป

2.2 การย้อมแถบสีปกติ (Conventional staining)

ใช้สไลด์ที่หยดเซลล์ไว้แล้วเป็นเวลา 1-3 วัน

1. ย้อมด้วยสารละลายสี Giemsa 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที
2. ล้างออกด้วยน้ำประปา ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.3 การย้อมแถบสีแบบจี (G- Banding)

ใช้สไลด์ที่หยดเซลล์ไว้แล้วเป็นเวลา 10-12 วัน

1. แช่สไลด์ในสารละลายทริปซิน 0.025 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมใหม่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25-40 วินาที

2. ล้างออกด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

3. ย้อมด้วยสารละลายสี Giemsa 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที

4. ล้างออกด้วยน้ำประปา ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การวิเคราะห์โครโมโซม

3.1 ในการย้อมแถบสีโครโมโซม หลังจากที่ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้ว ทำการถ่ายรูปด้วย โมขาว-ดำ จากเซลล์ที่มีการกระจายตัวของโครโมโซมดี ในระยะเมตาเฟส อัดขยายภาพเพื่อนำมาจัดคาริ ไทป์

3.2 นำภาพที่อัดขยายแล้วมาจับคู่โครโมโซมเพื่อจัดคาริโอไทป์ โดยการวัดความยาวแขนข้าง (Ls) และแขนข้างยาวของโครโมโซม (LI) แล้วนำมาคำนวณค่า Relative Length (RL) และ Numerical ue Centromere (NVC) ตามวิธีการของ Nishioka และคณะ, 1994 ดังนี้

$$RL = \frac{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมทั้งหมด } (\Sigma LT)}$$

$$NVC = \frac{\text{ความยาวแขนข้างสั้นของโครโมโซม (Ls)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}} \times 100$$

ซึ่งค่า RL จะช่วยในการจัดคู่โครโมโซม โดยที่ โครโมโซมที่เป็น Homologous กัน จะมีค่า ท่ากัน หรือใกล้เคียงกันมาก ส่วนค่า NVC จะช่วยในการบอกชนิดของโครโมโซม ดังนี้

NVC	ชนิดของโครโมโซม
0-12.4	telocentric
12.5-24.9	subtelocentric
25.0-37.4	submetacentric
37.5-50.0	metacentric

จัดจำแนกขนาดของโครโมโซม ตามวิธีการของกันยารัตน์ ไชยสุต, 2532 ดังนี้

$$A = \frac{\text{ความยาวของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด + ความยาวของโครโมโซมคู่ที่เล็กที่สุด}}{2}$$

$$B = \frac{\text{ความยาวของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด}}{2}$$

โครโมโซมขนาดใหญ่ (L) มีค่ามากกว่าค่า A

โครโมโซมขนาดกลาง (M) มีค่าอยู่ระหว่างค่า A และค่า B

โครโมโซมขนาดเล็ก (S) มีค่าน้อยกว่าค่า B

3.3 คำนวณค่าต่างๆ แล้วจัดคาริโอไทป์โดยเรียงลำดับโครโมโซมจากขนาดใหญ่ที่สุดไปยังขนาดเล็กที่สุด

3.4 สำหรับการจัดคู่ของโครโมโซมที่ได้จากการย้อมแถบสีแบบจี นั้นจะยึดรูปแบบของแถบสีเพื่อช่วยในการจัดคู่ของโครโมโซม ส่วนการเรียงลำดับจะยึดตามรูปแบบการจัดคาริโอไทป์ที่ได้จากการย้อมสีแบบปกติ

3.5 สรุปสูตรคาริโอไทป์ (Karyotype Formular) เปรียบเทียบคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด โดยการเขียนอิดิโอแกรม (Idiogram)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทย ตามรายงานการค้นพบของ Taylor (1962) และ จารุจินต์ นภีตะภัฏ (2531) ว่ามี 4 ชนิด ได้ทำการสำรวจตามภูมิภาคของประเทศไทย ดังแสดงใน ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การสำรวจคางคกสกุล *Bufo* ตามภูมิภาคของประเทศไทย

ครั้งที่	วัน-เดือน-ปี	บริเวณที่สำรวจ	ชนิดสัตว์ที่สำรวจ	ผลสำรวจ
1	5 ก.พ. 42	คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	คางคกบ้าน	พบ
2	9 มี.ค. 42	อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม	คางคกบ้าน	พบ
3	12-19 เม.ย. 42	อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช	จงโคร่ง	พบ
4	11-17 ส.ค. 42	อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี	จงโคร่ง คางคกหัวราบ	พบ ไม่พบ
5	8-11 มี.ค. 43	ช่องเขาขาด อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี	คางคกหัวราบ	พบ
6	5-8 พ.ค. 43	ช่องเขาขาด อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี	คางคกหัวราบ	พบ
7	24-27 พ.ค. 43	เขาสระบาป อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี	คางคกแคระ	ไม่พบ
8	5-30 ก.ย. 43	ตำบลบ้านเกาะ อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช	คางคกแคระ	พบ

และเมื่อทำการศึกษา จำนวนโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด ได้ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

ลำดับที่	ชนิด	จำนวนโครโมโซม
1	คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider)	2n = 22
2	จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst)	2n = 22
3	คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger)	2n = 22
4	คางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger)	2n = 22

ในการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด ได้รายงานรายละเอียดทางสัณฐานวิทยา พื้นที่แพร่กระจาย ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ โดยการย้อมสีแบบปกติ และการย้อมแถบสีแบบจี มีรายละเอียดดังนี้

1. **คางคกบ้าน** (*Bufo melanostictus* Schneider)

ลักษณะทั่วไป

เป็นคางคกขนาดปานกลาง มีขนาดลำตัวประมาณ 80 มิลลิเมตร ลำตัวค่อนข้างสั้น จมูกค่อนข้างแหลม สันจมูกและสันขอบตาต่อกันมองเห็นชัดเจนมาก เยื่อหูมีขนาดใหญ่กว่าตา ½ เท่า มีต่อมพาโรติดขนาดใหญ่ 1 คู่ บนหลังมีตุ่มขนาดใหญ่เรียงเป็นแถวไม่เป็นระเบียบ ขนานกันเป็น 2 แถว ตุ่มเหล่านี้ปกติมีหนามบนยอด บริเวณสีข้างมีตุ่มซึ่งมียอดหนาม ตุ่มบนแขนมีขนาดเล็กกว่าตุ่มบนขา ปลายนิ้วมือแผ่ขยายออกเล็กน้อย นิ้วมือนิ้วแรกยาวกว่านิ้วที่สอง นิ้วเท้ามีพังผืดยึดประมาณ 1/3 ของฝ่าเท้า ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลอ่อน บางตัวมีแต้มสีน้ำตาลแดงอยู่ระหว่างต่อมพาโรติด ตุ่มบนหลังส่วนใหญ่มีหนามสีดำ ท้องสีขาวแกมเหลือง

ที่อยู่อาศัย

พบได้ทั่วไปบริเวณบ้านเรือน หรือลำธาร ออกหากินในวันที่ฝนตกหนัก

พื้นที่แพร่กระจาย

มีการแพร่กระจายทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย และน่าจะมีจำนวนมากที่สุดในจำนวนคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

รูปที่ 2 คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider)
เปรียบเทียบกับกระดาษที่มีขนาด กว้าง x ยาว = 2 x 2 เซนติเมตร

รูปที่ 3 แหล่งที่อยู่อาศัยของคางคกบ้าน

เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมโดยนับจำนวนโครโมโซมในระยะ metaphase แล้วนำมาจัดคาริโอไทป์ โดยวัดความยาวค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LI) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) เป็นเซนติเมตร ค่าเฉลี่ย Relative Length (RL) ค่าเฉลี่ย Numerical value of centromereposition (NVC) ค่าเฉลี่ยของ Standard Deviation (SD) Standard Error ($S\bar{x}$) ของ RL และ NVC จาก 20 เซลล์ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 5 และสรุปชนิดและขนาดของโครโมโซมไว้ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ความยาวค่าเฉลี่ยของโครโมโซมเป็นเซนติเมตร จาก 20 เซลล์ ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider; 2n = 22)

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL	SD ของ RL	$S\bar{x}$ ของ RL	NVC	SD ของ NVC	$S\bar{x}$ ของ NVC
1	0.76	0.89	1.65	0.093	±0.014	±0.0042	46.5	±1.06	±0.32
2	0.69	0.87	1.56	0.088	±0.012	±0.0036	44.8	±0.52	±0.16
3	0.59	0.76	1.35	0.076	±0.008	±0.0024	42.8	±0.11	±0.03
4	0.45	0.75	1.20	0.067	±0.005	±0.0015	37.6	±1.76	±0.53
5	0.51	0.54	1.05	0.059	±0.003	±0.0008	48.9	±1.82	±0.55
6	0.37	0.45	0.82	0.046	±0.001	±0.0003	44.7	±0.49	±0.15
7	0.25	0.27	0.52	0.029	±0.006	±0.0020	48.6	±1.72	±0.52
8	0.09	0.39	0.48	0.027	±0.007	±0.0021	31.9	±3.56	±1.07
9	0.23	0.23	0.46	0.026	±0.007	±0.0022	48.3	±1.63	±0.49
10	0.18	0.23	0.41	0.023	±0.008	±0.0025	43.8	±0.20	±0.06
11	0.11	0.20	0.31	0.017	±0.010	±0.0031	36.8	±2.00	±0.60

Ls คือ แขนโครโมโซมข้างสั้น

LI คือ แขนโครโมโซมข้างยาว

LT คือ ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่

RL คือ Relative Length

NVC คือ Numerical Value of Centromere position

SD คือ Standard Deviation

$S\bar{x}$ คือ Standard Error

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยขนาดและชนิดโครโมโซมของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider)

โครโมโซมคู่ที่	LT (เซนติเมตร)	ขนาดโครโมโซม	NVC (เซนติเมตร)	ชนิดโครโมโซม
1	1.65	L	46.5	m
2	1.56	L	44.8	m
3	1.35	L	42.8	m
4	1.20	L	37.6	m
5	1.05	L	48.9	m
6	0.82	S	44.7	m
7	0.52	S	48.6	m
8	0.48	S	31.9	sm
9	0.46	S	48.3	m
10	0.41	S	43.8	m
11	0.31	S	36.8	sm

L คือโครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.98 – 1.65

S คือโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.31 – 0.83

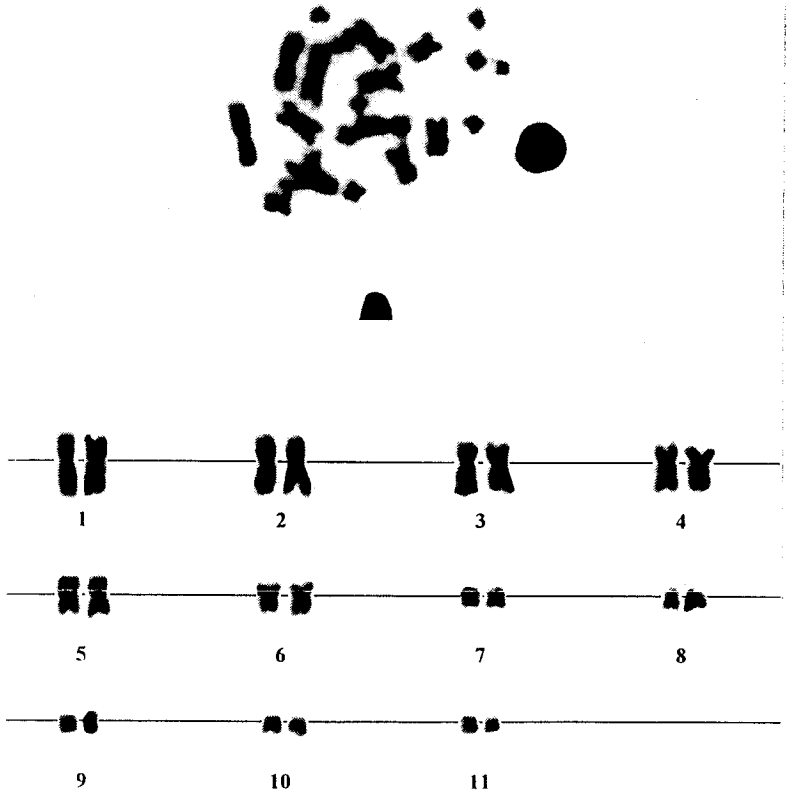
m คือ metacentric chromosome

sm คือ submetacentric chromosome

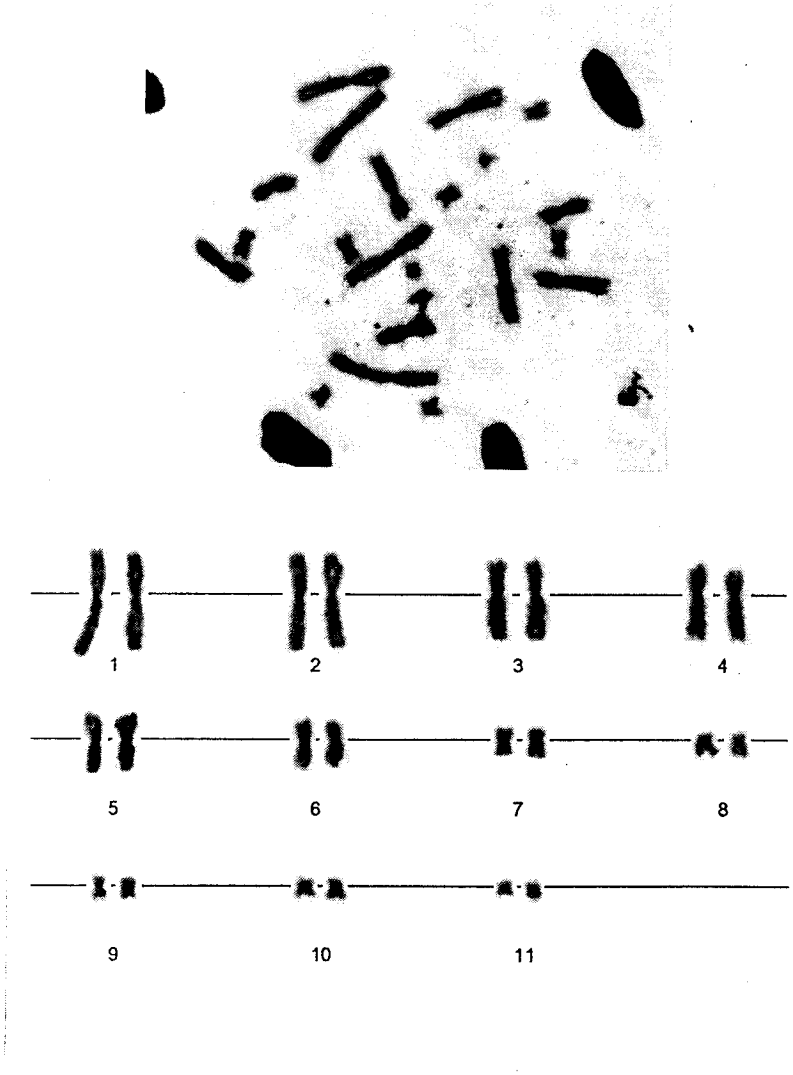
จากตารางที่ 6 คางคกบ้านมีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้

Bufo melanostictus Schneider $2n = 22$; $L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

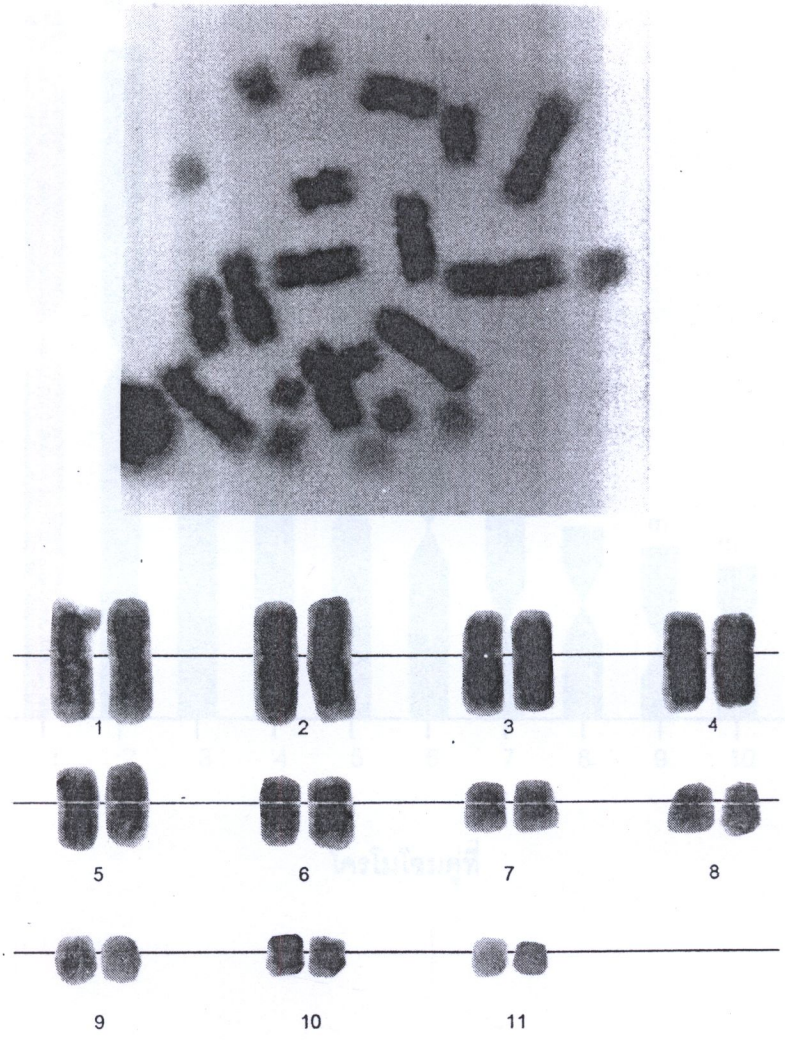
สำหรับโครโมโซมในระยะ metaphase และคาริโอไทป์แสดงไว้ดังรูปที่ 4 5 และ 6 ส่วน อิดิโอแกรม แสดงไว้ในรูปที่ 7



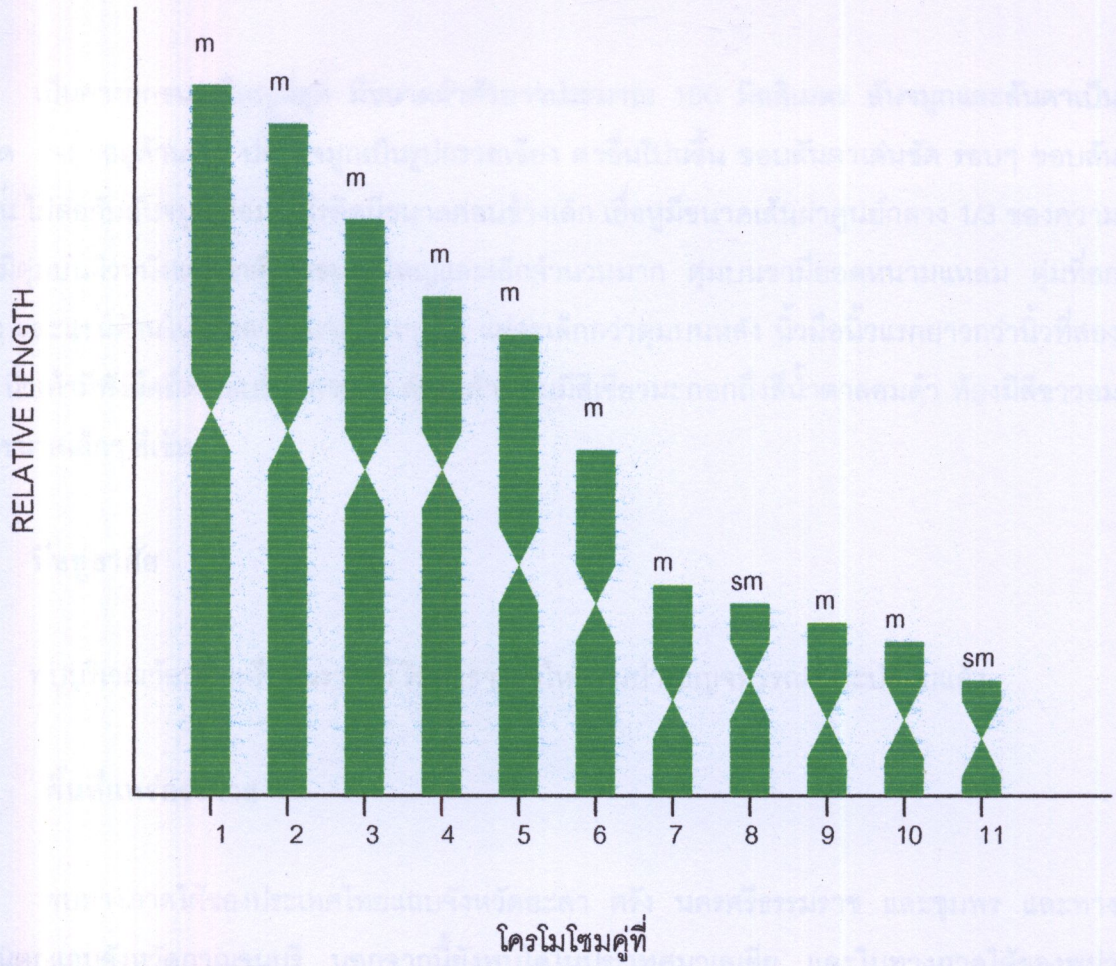
รูปที่ 4 คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) เพศเมียโดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 5 คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) เพศผู้โดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 6 คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) โดยการย้อมแถบสีแบบ จี (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 7 อิดิโอแกรม ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider)

2. จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst)

ลักษณะทั่วไป

เป็นคางคกขนาดใหญ่ที่สุด มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 100 มิลลิเมตร สันจมูกและสันตาเป็นมุมเด่นชัด รูจมูกอยู่ด้านข้าง ปลายจมูกเป็นรูปกรวยเฉียง ตายื่นโปนขึ้น ขอบสันตาเด่นชัด รอบๆ ขอบสันตาจะแบน ไม่ต่อกับสันจมูก ต่อมพาโรติดมีขนาดค่อนข้างเล็ก เยื่อหูมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1/3 ของความยาวตา มีตุ่มบนผิวหนังและลำตัวทั้งขนาดใหญ่และเล็กจำนวนมาก ตุ่มบนขามียอดหนามแหลม ตุ่มที่อก คาง ท้อง และแขนด้านใน มีหลายขนาดต่างๆ กัน แต่จะเล็กกว่าตุ่มบนหลัง นิ้วมือนิ้วแรกยาวกว่านิ้วที่สองเล็กน้อย นิ้วเท้ามีพังผืดยึดเกือบถึงปลายนิ้ว ลำตัวด้านบนมีสีเขียวมะกอกถึงสีน้ำตาลอมดำ ท้องมีสีขาวอมเทา มีจุดขนาดเล็กๆ สีเข้ม

ที่อยู่อาศัย

พบบริเวณก้อนหินหรือบนรากไม้ริมลำธารน้ำไหล ในป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง

พื้นที่แพร่กระจาย

พบทางภาคใต้ของประเทศไทยแถบจังหวัดยะลา ตรัง นครศรีธรรมราช และชุมพร และทางภาคตะวันตกแถบจังหวัดกาญจนบุรี นอกจากนี้ยังพบได้ในประเทศมาเลเซีย และในทางภาคใต้ของพม่า สุมาตรา และบอร์เนียว

รูปที่ 8 จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst)
เปรียบเทียบกับกระดาษที่มีขนาด กว้าง x ยาว = 2 x 2 เซนติเมตร

รูปที่ 9 แหล่งที่อยู่อาศัยของจงโคร่ง

เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมโดยนับจำนวนโครโมโซมในระยะ metaphase แล้วนำมาจัดคาริโอไทป์ โดยวัดความยาวค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LI) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) เป็นเซนติเมตร ค่าเฉลี่ย Relative Length (RL) ค่าเฉลี่ย Numerical Value of Centromere position (NVC) ค่าเฉลี่ยของ Standard Deviation (SD) Standard Error ($S\bar{x}$) ของ RL และ NVC จาก 20 เซลล์ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 7 และสรุปชนิดและขนาดของโครโมโซมไว้ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ความยาวค่าเฉลี่ยโครโมโซมเป็นเซนติเมตร จาก 20 เซลล์ ของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst; 2n = 22)

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL	SD ของ RL	$S\bar{x}$ ของ RL	NVC	SD ของ NVC	$S\bar{x}$ ของ NVC
1	0.85	1.07	1.92	0.099	±0.015	±0.0046	44.7	±0.91	±0.27
2	0.73	0.95	1.68	0.087	±0.012	±0.0035	44.1	±0.72	±0.22
3	0.60	0.87	1.47	0.076	±0.008	±0.0025	41.4	±0.14	±0.04
4	0.49	0.85	1.34	0.069	±0.006	±0.0018	36.0	±1.84	±0.56
5	0.56	0.56	1.12	0.058	±0.002	±0.0007	49.4	±2.39	±0.72
6	0.37	0.50	0.87	0.045	±0.001	±0.0004	43.2	±0.43	±0.13
7	0.23	0.33	0.56	0.029	±0.006	±0.0020	42.1	±0.09	±0.03
8	0.16	0.35	0.51	0.026	±0.007	±0.0022	31.0	±3.42	±1.03
9	0.23	0.23	0.46	0.024	±0.008	±0.0025	48.2	±2.01	±0.61
10	0.18	0.23	0.41	0.021	±0.009	±0.0027	44.6	±0.88	±0.26
11	0.11	0.20	0.31	0.016	±0.011	±0.0032	35.5	±2.00	±0.60

Ls คือ แขนโครโมโซมข้างสั้น

LI คือ แขนโครโมโซมข้างยาว

LT คือ ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่

RL คือ Relative Length

NVC คือ Numerical Value of Centromere position

SD คือ Standard Deviation

$S\bar{x}$ คือ Standard Error

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยขนาดและชนิดโครโมโซมของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst)

โครโมโซมคู่ที่	LT (เซนติเมตร)	ขนาดโครโมโซม	NVC (เซนติเมตร)	ชนิดโครโมโซม
1	1.92	L	44.7	m
2	1.68	L	44.1	m
3	1.47	L	41.4	m
4	1.34	L	36.0	sm
5	1.12	L	49.4	m
6	0.87	S	43.2	m
7	0.56	S	42.1	m
8	0.51	S	31.0	sm
9	0.46	S	48.2	m
10	0.41	S	44.6	m
11	0.31	S	35.5	sm

L คือโครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 1.12 – 1.92

S คือโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.31 – 0.96

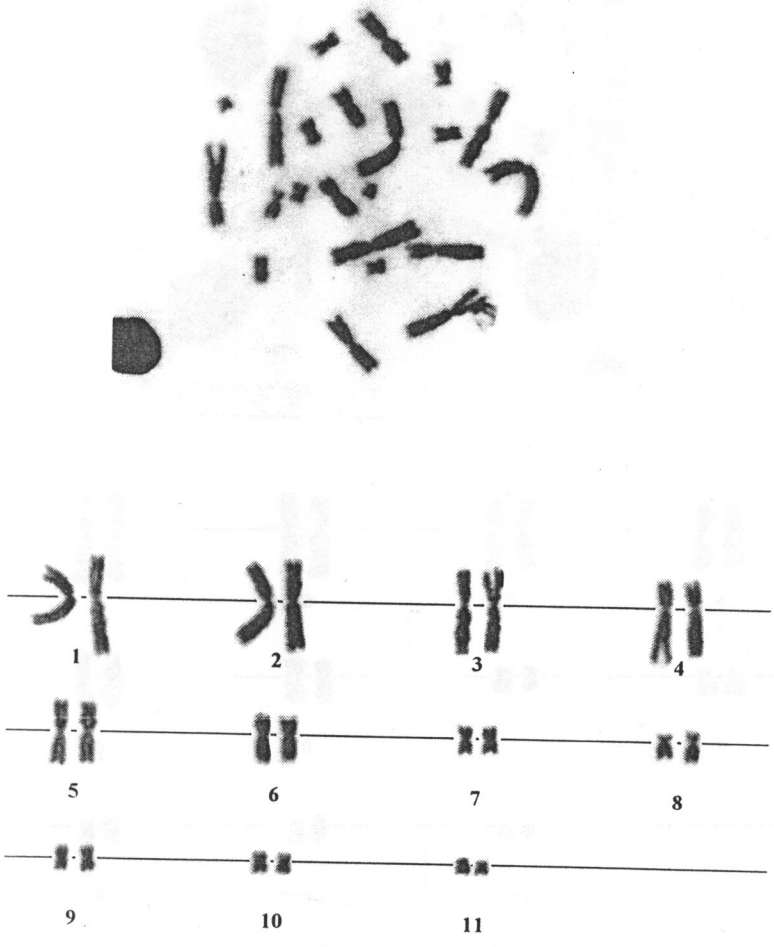
m คือ metacentric chromosome

sm คือ submetacentric chromosome

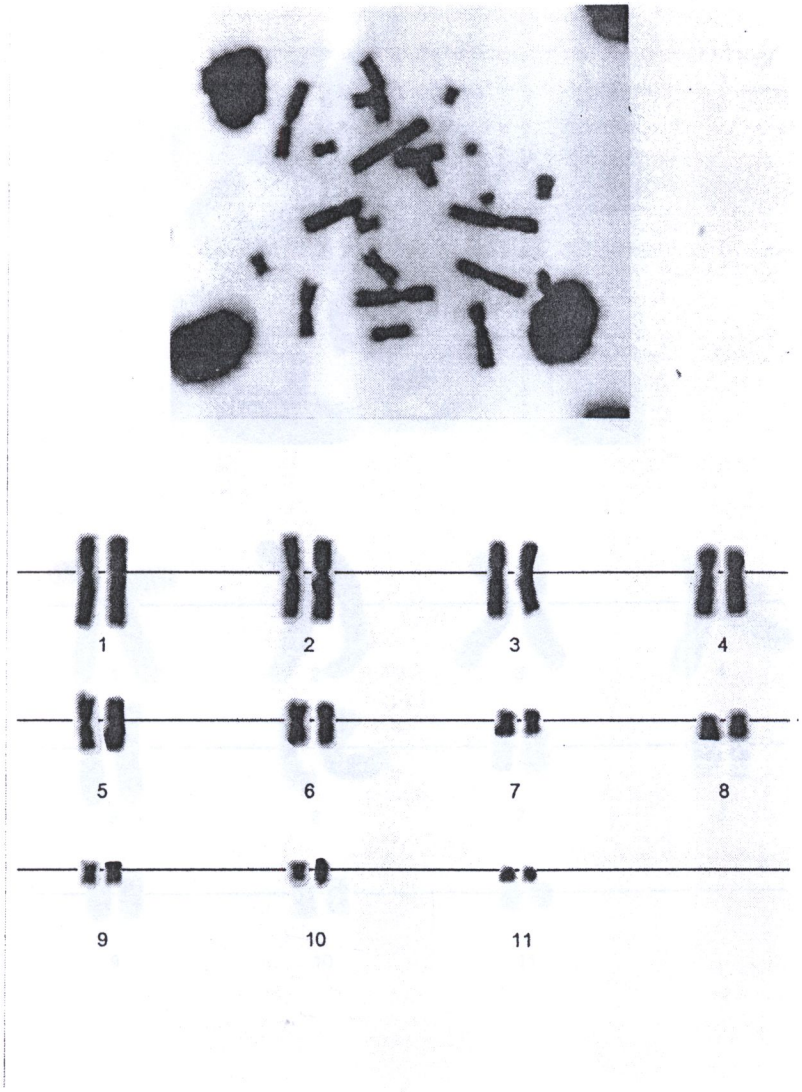
จากตารางที่ 8 จงโคร่งมีสูตรคาริโอไทป์

Bufo asper Gravenhorst; $2n = 22$ $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

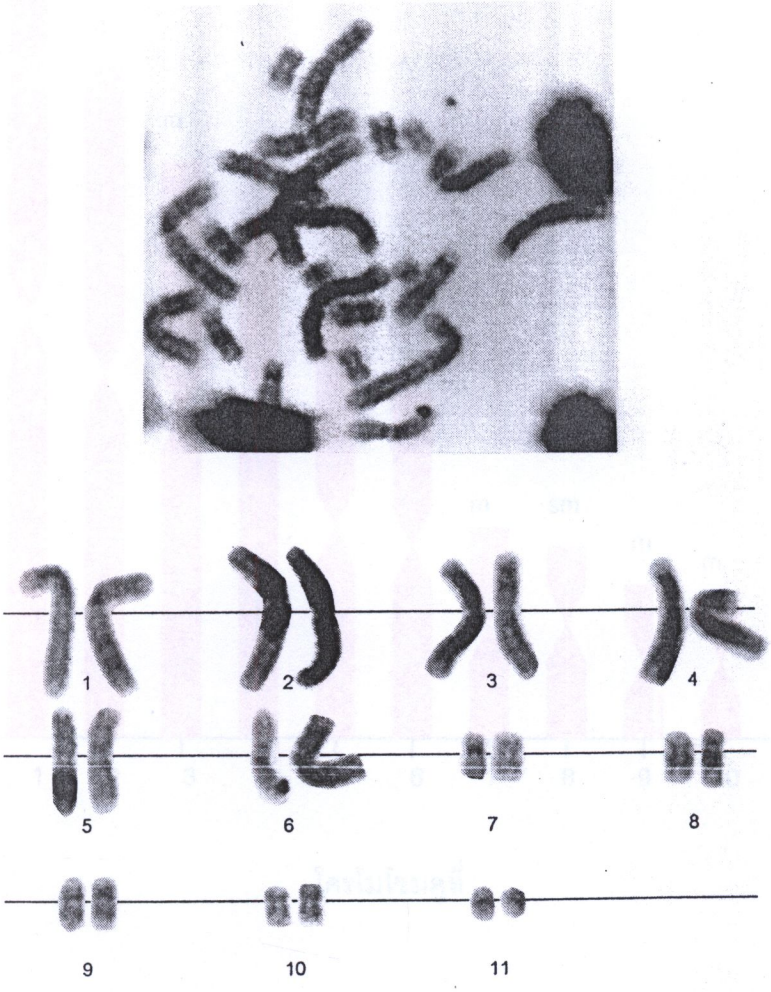
สำหรับโครโมโซมในระยะ metaphase และคาริโอไทป์แสดงไว้ดังรูปที่ 10 11 และ 12 ส่วน อิดิโอแกรม แสดงไว้ดังรูปที่ 13



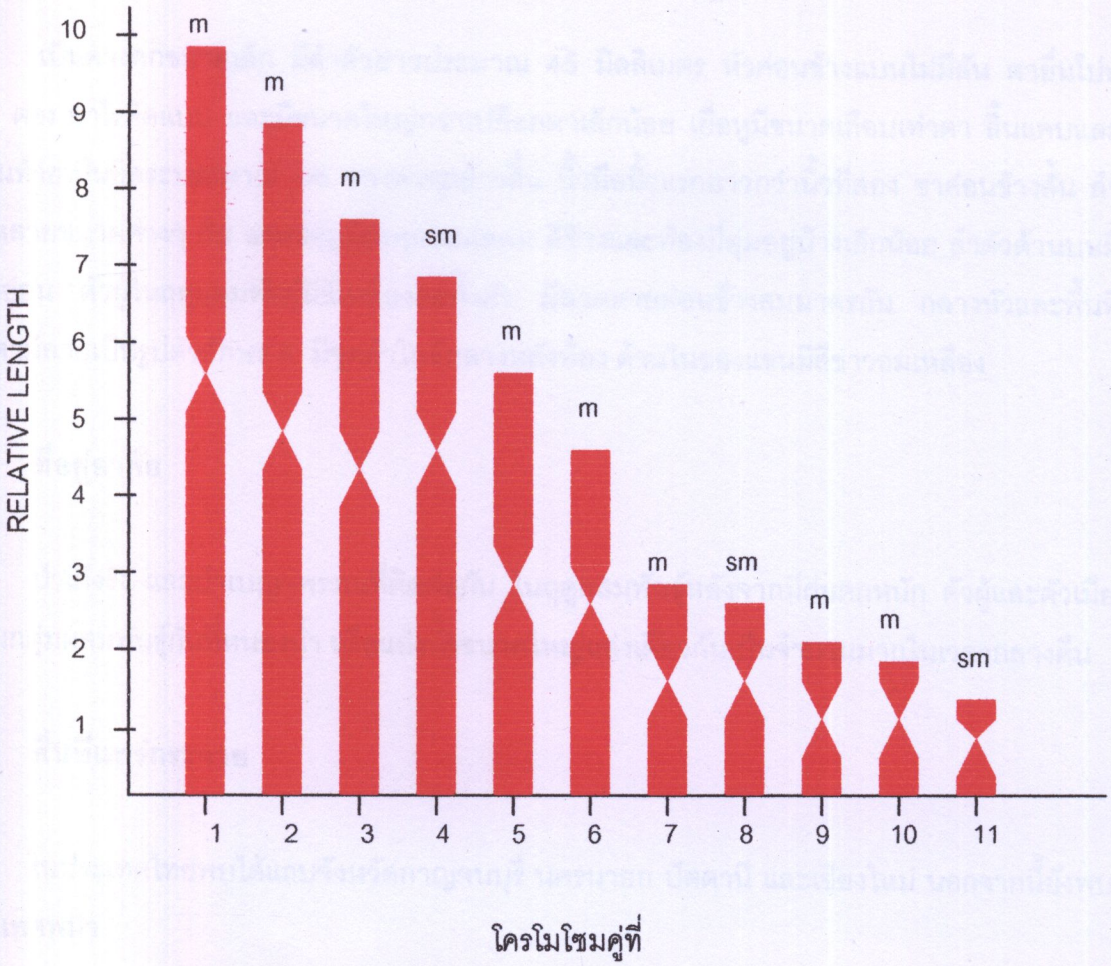
รูปที่ 10 คาริโอไทป์ของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) เพศเมียโดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 11 คาริโอไทป์ของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) เพศผู้โดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 12 คาริโอไทป์ของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) โดยการย้อมแถบสีแบบ จี (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 13 อิดิโอแกรม ของจงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst)

3. **คางคกหัวราบ** (*Bufo macrotis* Boulenger)

ลักษณะทั่วไป

เป็นคางคกขนาดเล็ก มีลำตัวยาวประมาณ 45 มิลลิเมตร หัวค่อนข้างแบนไม่มีสัน ตายื่นโปนเล็กน้อย ต่อมพาโรติดแบน และมีขนาดใหญ่กว่าเปลือกตาเล็กน้อย เยื่อหูมีขนาดเกือบเท่าตา ลิ้นแคบและยาว ด้านท้ายเป็นอิสระประมาณ 4/5 ของความยาวลิ้น นิ้วมือนิ้วแรกยาวกว่านิ้วที่สอง ขาค่อนข้างสั้น ลำตัวมีตุ่มหลายขนาดต่างๆ กัน แต่ละตุ่มมีลักษณะแหลม สีข้างและท้องมีตุ่มอยู่บ้างเล็กน้อย ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลอ่อน ตัวผู้ในฤดูผสมพันธุ์มีสีเหลืองสดทั้งตัว มีลวดลายค่อนข้างสมมาตรกัน กลางหัวและพื้นที่ระหว่างตามีลายเป็นรูปตัวอักษร A มีจุดดำใกล้กลางหลังท้อง ด้านในของแขนมีสีขาวอมเหลือง

ที่อยู่อาศัย

ป่าเต็งรัง และป่าเบญจพรรณที่ติดต่อกัน ในฤดูผสมพันธุ์หลังจากมีฝนตกหนัก ตัวผู้และตัวเมียจะมารวมกลุ่มผสมพันธุ์กันที่หนองน้ำ หรือแอ่งน้ำขนาดใหญ่แอ่งเดียวกันเป็นจำนวนมากในเวลากลางคืน

พื้นที่แพร่กระจาย

ในประเทศไทยพบได้แถบจังหวัดกาญจนบุรี นครนายก ปัตตานี และเชียงใหม่ นอกจากนี้ยังพบได้ในประเทศพม่า

รูปที่ 14 คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger)
เปรียบเทียบกับกระดาษที่มีขนาด กว้าง x ยาว = 2 x 2 เซนติเมตร

รูปที่ 15 แหล่งที่อยู่อาศัยของคางคกหัวราบ

เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมโดยนับจำนวนโครโมโซมในระยะ metaphase ของคางคกหัวราบ แล้วนำมาจัดคาริโอไทป์ โดยวัดความยาวค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LI) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) เป็นเซนติเมตร ค่าเฉลี่ย Relative Length (RL) ค่าเฉลี่ย Numerical Value of Centromere Position (NVC) ค่าเฉลี่ยของ Standard Deviation (SD) Standard Error ($S\overline{X}$) ของ RL และ NVC จาก 20 เซลล์ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 9 และสรุปชนิดและขนาดของโครโมโซมไว้ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 9 ความยาวค่าเฉลี่ยโครโมโซมข้างสั้นเป็นเซนติเมตรจาก 20 เซลล์ ของ คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger; 2n = 22)

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL	SD ของ RL	$S\overline{X}$ ของ RL	NVC	SD ของ NVC	$S\overline{X}$ ของ NVC
1	0.79	0.91	1.70	0.095	±0.014	±0.0042	46.0	±0.71	±0.21
2	0.70	0.80	1.50	0.084	±0.010	±0.0032	46.6	±0.90	±0.27
3	0.56	0.77	1.33	0.074	±0.007	±0.0022	41.7	±0.65	±0.20
4	0.47	0.75	1.22	0.068	±0.005	±0.0017	37.5	±1.98	±0.60
5	0.52	0.55	1.07	0.060	±0.003	±0.0009	48.4	± 1.47	±0.44
6	0.39	0.47	0.86	0.048	±0.0006	±0.0001	46.8	±0.96	±0.29
7	0.25	0.27	0.52	0.029	±0.006	±0.0020	47.7	±1.56	±0.47
8	0.18	0.32	0.50	0.028	±0.006	±0.0021	36.5	±2.29	±0.69
9	0.20	0.24	0.44	0.024	±0.008	±0.0024	46.4	±0.84	±0.25
10	0.16	0.22	0.38	0.021	±0.009	±0.0027	44.7	±0.30	±0.09
11	0.13	0.18	0.31	0.017	±0.010	±0.0031	39.0	±1.50	±0.45

Ls คือ แขนโครโมโซมข้างสั้น

LI คือ แขนโครโมโซมข้างยาว

LT คือ ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่

RL คือ Relative Length

NVC คือ Numerical Value of Centromere position

SD คือ Standard Deviation

$S\overline{x}$ คือ Standard Error

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยขนาดและชนิดโครโมโซมของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger)

โครโมโซมคู่ที่	LT (เซนติเมตร)	ขนาดโครโมโซม	NVC (เซนติเมตร)	ชนิดโครโมโซม
1	1.70	L	46.0	m
2	1.50	L	46.6	m
3	1.33	L	41.7	m
4	1.22	L	37.5	m
5	1.07	L	48.4	m
6	0.86	M	46.8	m
7	0.52	S	47.7	m
8	0.50	S	36.5	sm
9	0.44	S	46.4	m
10	0.38	S	44.7	m
11	0.31	S	39.0	m

L คือโครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 1.01 – 1.70

M คือโครโมโซมขนาดกลาง มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.85 – 1.00

S คือโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.31 – 0.84

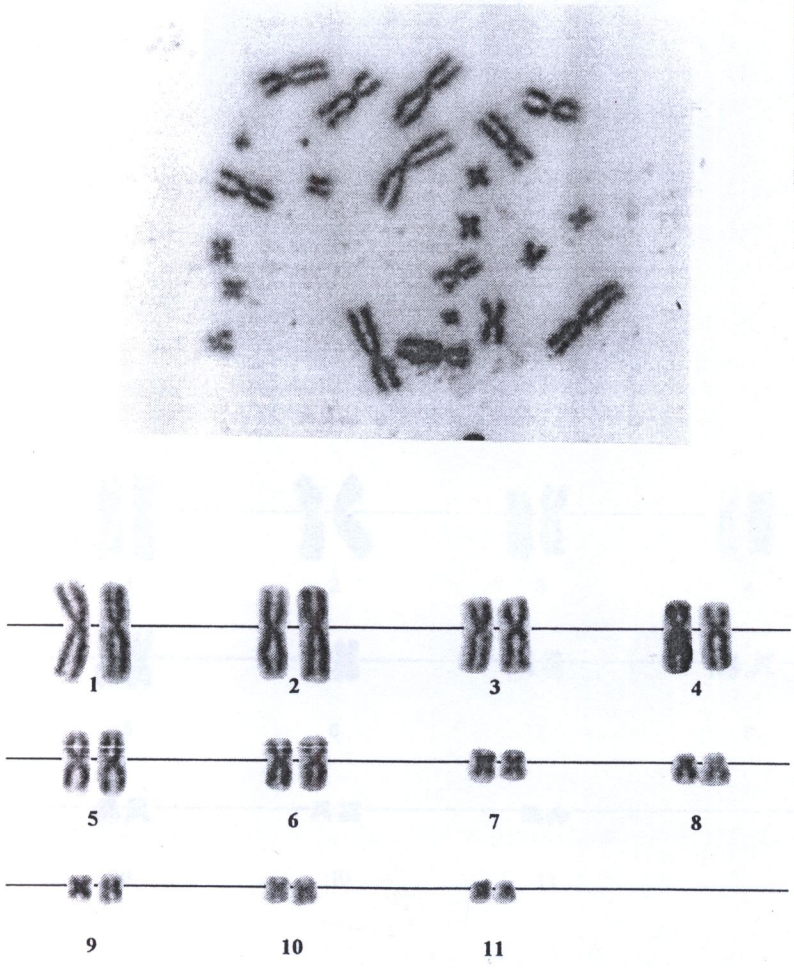
m คือ metacentric chromosome

sm คือ submetacentric chromosome

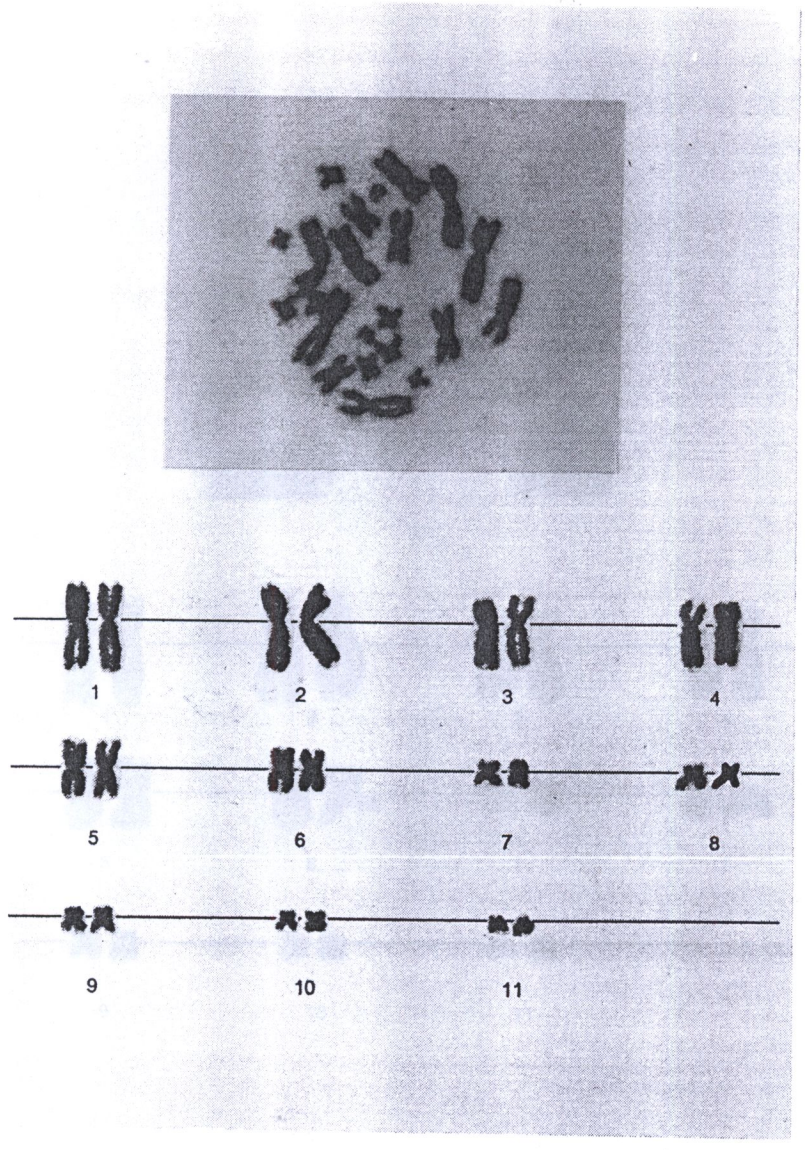
จากตารางที่ 10 คางคกหัวราบมีสูตรคาริโอไทป์

Bufo macrotis Boulenger $2n = 22 \quad L^{m}_{10} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

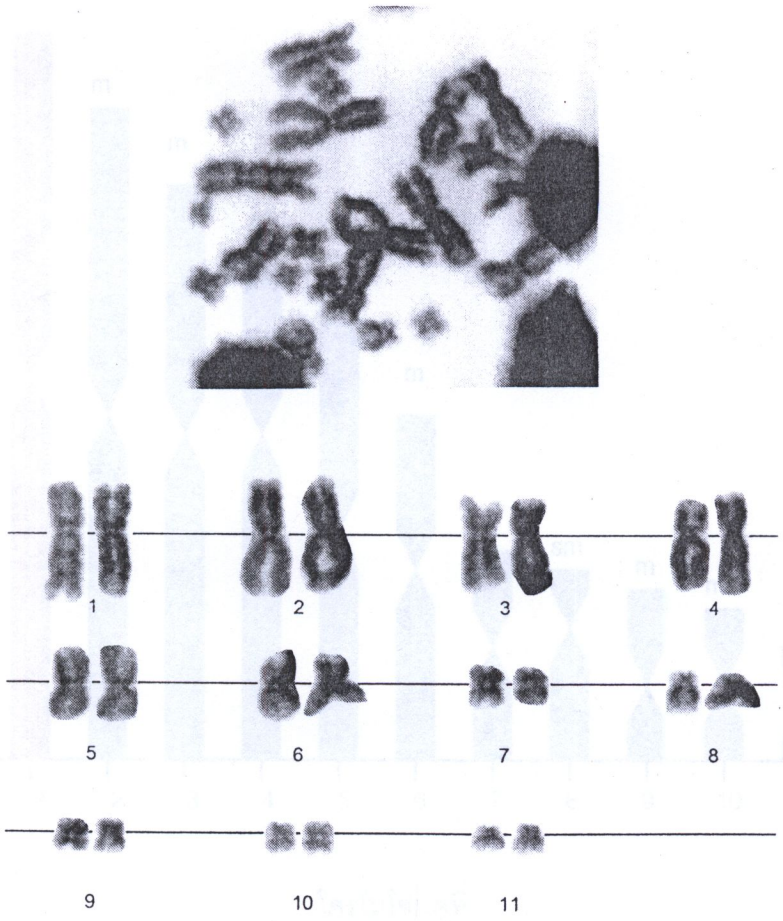
สำหรับโครโมโซมในระยะ Metaphase และ คาริโอไทป์แสดงไว้ดังรูปที่ 16 17 และ 18 ส่วน อิดิโอแกรม แสดงไว้ดังรูปที่ 19



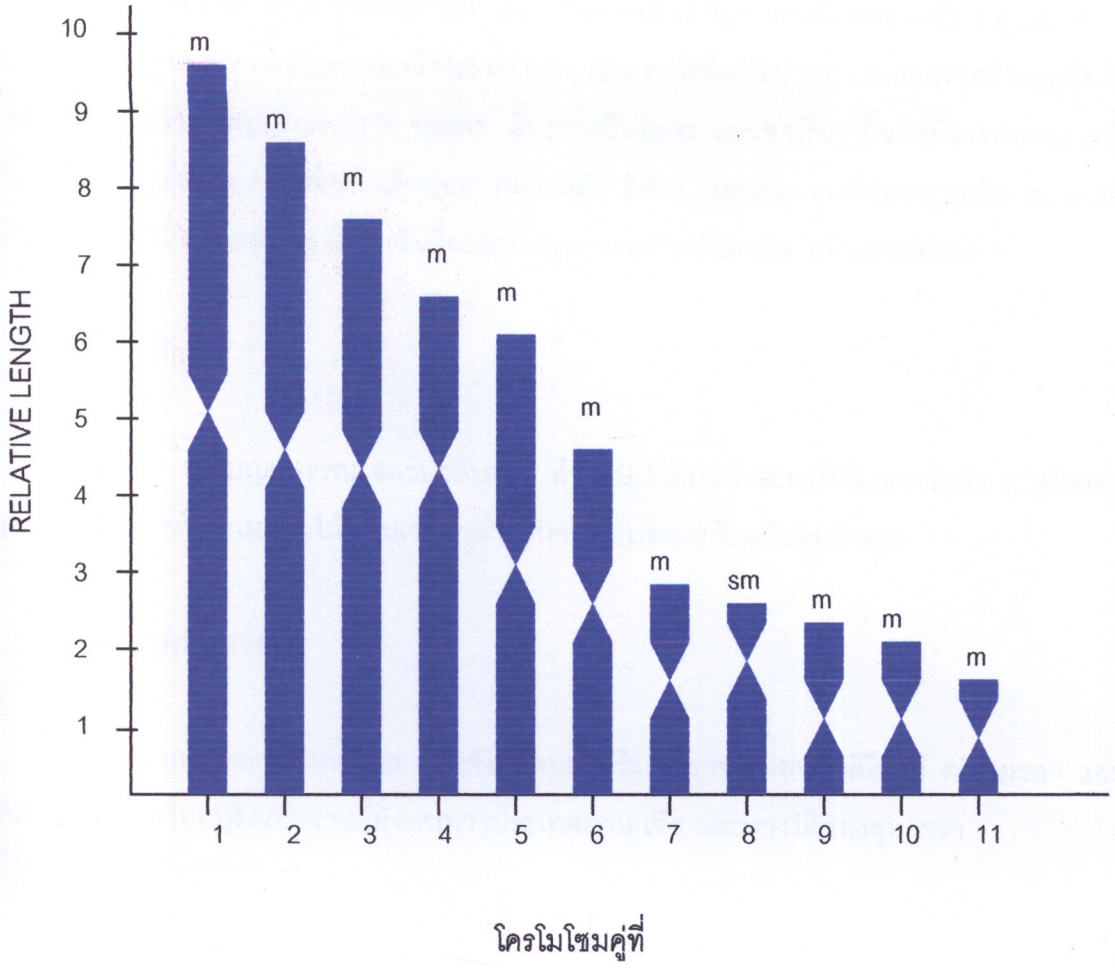
รูปที่ 16 คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) เพศเมียโดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 17 คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) เพศผู้โดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 18 คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) โดยการย้อมแถบสีแบบจี (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 19 อิดิโอแกรม ของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger)

4. **คางคกแคระ** (*Bufo* parvus Boulenger)

ลักษณะทั่วไป

เป็นคางคกขนาดเล็กขนาดลำตัวประมาณ 35 มิลลิเมตร จมูกแคบมีสันกลางหัว 1 คู่ คล้าย รูปวงเล็บ ( ) เปลือกตาบนยาวเท่ากับความกว้างระหว่างตา ต่อมพาโรติดมีขนาดยาวมากกว่ากว้างอยู่ชิดกับสันกลางหัว เยื่อหูมีขนาดใหญ่ประมาณ ¾ ของตา ลิ้นยาวเป็นอิสระ แขนขาเรียว นิ้วมือนิ้วแรกยาวกว่านิ้วที่สอง นิ้วเท้ามีพังผืดยึดมากกว่าครึ่งเท้าเล็กน้อย กลางหลัง สีข้าง และต้นแขนมีตุ่มขนาดเล็ก ยอดตุ่มมีหนาม ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลอ่อน สีข้างเข้มขึ้นเล็กน้อย แขนและขามีแถบพาดทึบตามขวาง

ที่อยู่อาศัย

ป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง สำหรับป่าดิบแล้งจะพบได้มากกว่าป่า 2 ชนิดแรก พบตามกองใบไม้แห้ง หรือตามขอนไม้ผุ ในเวลากลางคืนจะพบบริเวณก้อนหินริมลำธาร

พื้นที่แพร่กระจาย

พบทางภาคใต้ของประเทศไทย แถบจังหวัดนครศรีธรรมราช ประจวบคีรีขันธ์ ตรัง ยะลา และภาคตะวันออก จังหวัดจันทบุรี นอกจากนี้ยังพบทางประเทศมาเลเซีย และทางใต้ของสุมาตรา

รูปที่ 20 คางคกแคระ (*Bufo* parvus Boulenger)
เปรียบเทียบกับกระดาษที่มีขนาดกว้าง x ยาว = 2 x 2 เซนติเมตร

รูปที่ 21 แหล่งที่อยู่อาศัยของคางคกแคระ

เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมโดยนับจำนวนโครโมโซมในระยะ metaphase แล้วนำมาจัดคาริโอไทป์ โดยวัดความยาวค่าเฉลี่ยของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LI) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) เป็นเซนติเมตร ค่าเฉลี่ย Relative Length (RL) ค่าเฉลี่ย Numerical Value of Centromere Position (NVC) ค่าเฉลี่ยของ Standard Deviation (SD) Standard Error ($S\bar{x}$) ของ RL และ NVC จาก 20 เซลล์ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 11 และสรุปชนิดและขนาดของโครโมโซมไว้ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ความยาวค่าเฉลี่ยโครโมโซมเป็นเซนติเมตรจาก 20 เซลล์ ของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger; 2n = 22)

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL	SD ของ RL	$S\bar{x}$ ของ RL	NVC	SD ของ NVC	$S\bar{x}$ ของ NVC
1	0.79	0.96	1.75	0.093	±0.014	±0.0040	45.1	±0.55	±0.17
2	0.72	0.92	1.64	0.087	±0.012	±0.0035	43.6	±0.08	±0.02
3	0.62	0.83	1.45	0.077	±0.008	±0.0026	43.2	±0.05	±0.01
4	0.49	0.85	1.34	0.071	±0.006	±0.0020	36.5	±2.16	±0.65
5	0.57	0.60	1.17	0.062	±0.003	±0.0011	48.9	± 1.76	±0.53
6	0.40	0.49	0.89	0.047	±0.0009	±0.0002	45.6	±0.71	±0.21
7	0.26	0.30	0.56	0.030	±0.006	±0.0019	47.6	±1.34	±0.40
8	0.17	0.32	0.49	0.026	±0.007	±0.0022	35.8	±2.43	±0.73
9	0.21	0.24	0.45	0.024	±0.008	±0.0025	45.6	±0.71	±0.21
10	0.17	0.19	0.36	0.019	±0.009	±0.0029	44.9	±0.49	±0.15
11	0.11	0.17	0.28	0.015	±0.011	±0.0033	40.0	±1.11	±0.33

Ls คือ แขนโครโมโซมข้างสั้น

LI คือ แขนโครโมโซมข้างยาว

LT คือ ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่

RL คือ Relative Length

NVC คือ Numerical Value of Centromere position

SD คือ Standard Deviation

$S\bar{x}$ คือ Standard Error

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยขนาดและชนิดโครโมโซมของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger)

โครโมโซมคู่ที่	LT (เซนติเมตร)	ขนาดโครโมโซม	NVC (เซนติเมตร)	ชนิดโครโมโซม
1	1.75	L	45.0	m
2	1.64	L	43.6	m
3	1.45	L	43.2	m
4	1.34	L	36.5	sm
5	1.17	L	48.9	m
6	0.89	M	45.6	m
7	0.56	S	47.6	m
8	0.49	S	35.8	sm
9	0.45	S	45.6	m
10	0.36	S	44.9	m
11	0.28	S	40.0	m

L คือโครโมโซมขนาดใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 1.02 – 1.75

M คือโครโมโซมขนาดกลาง มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.88 – 1.01

S คือโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยของ LT ระหว่าง 0.28 – 0.87

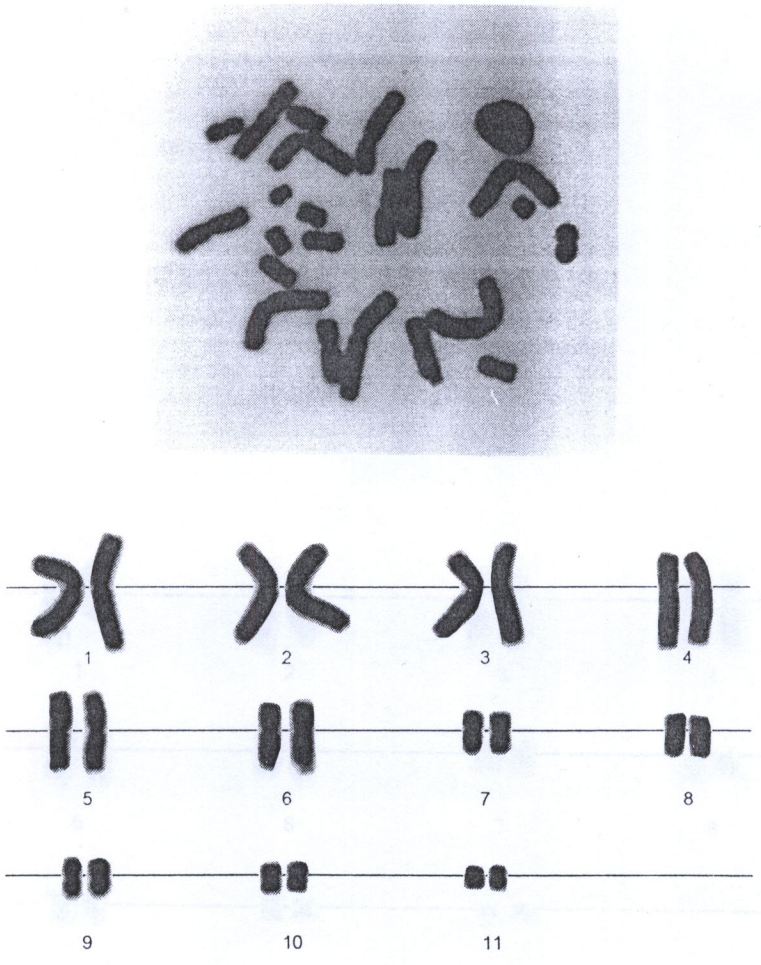
m คือ metacentric chromosome

sm คือ submetacentric chromosome

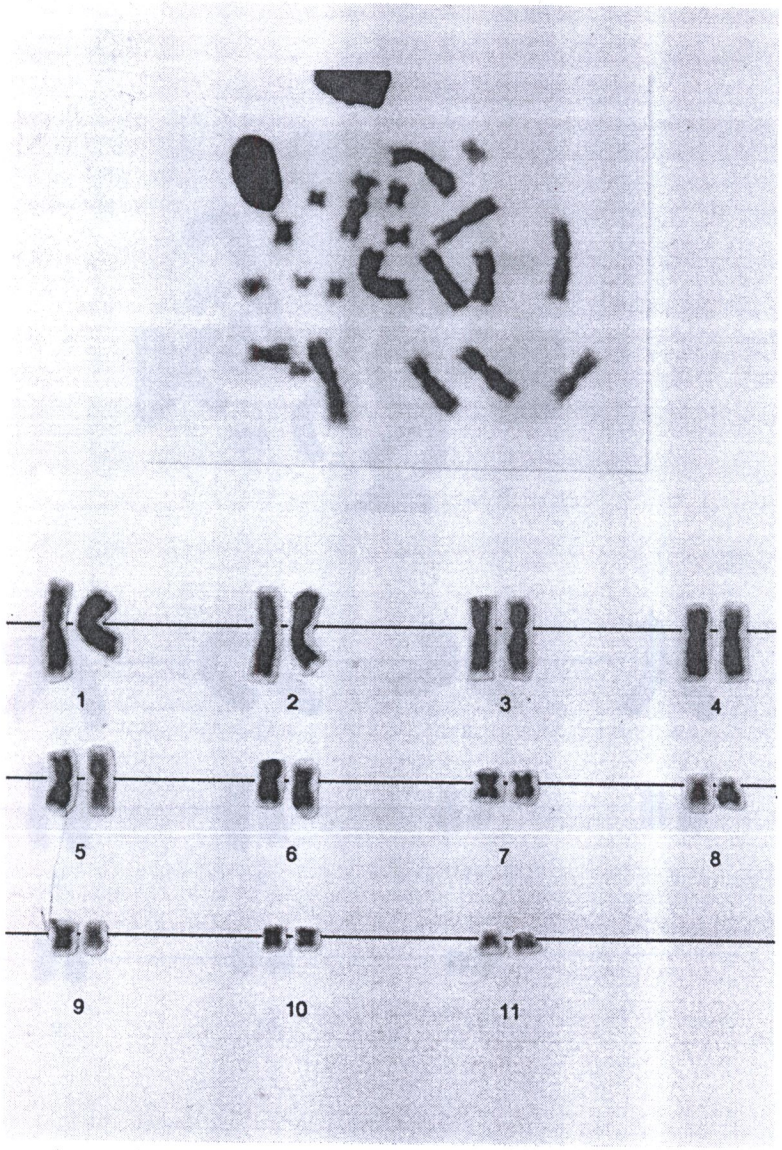
จากตารางที่ 12 คางคกแคระมีสูตรคาริโอไทป์ ดังนี้

Bufo parvus Boulenger; $2n = 22$ $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

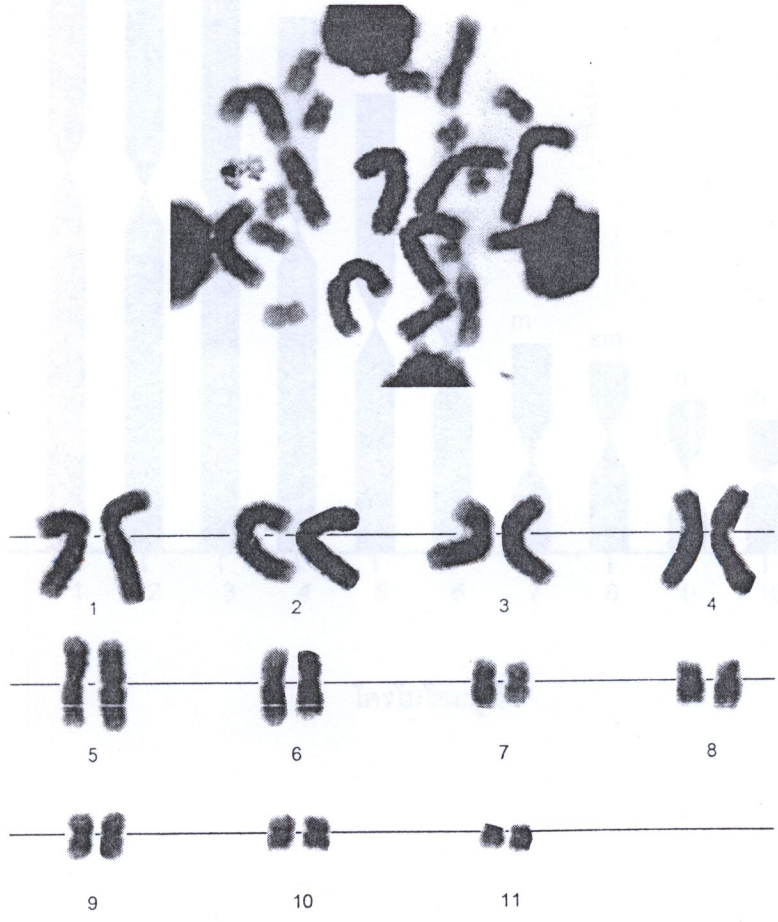
สำหรับโครโมโซมในระยะ metaphase และคาริโอไทป์แสดงไว้ดังรูปที่ 22 23 และ 24 ส่วน อิดิโอแกรม แสดงไว้ดังรูปที่ 25



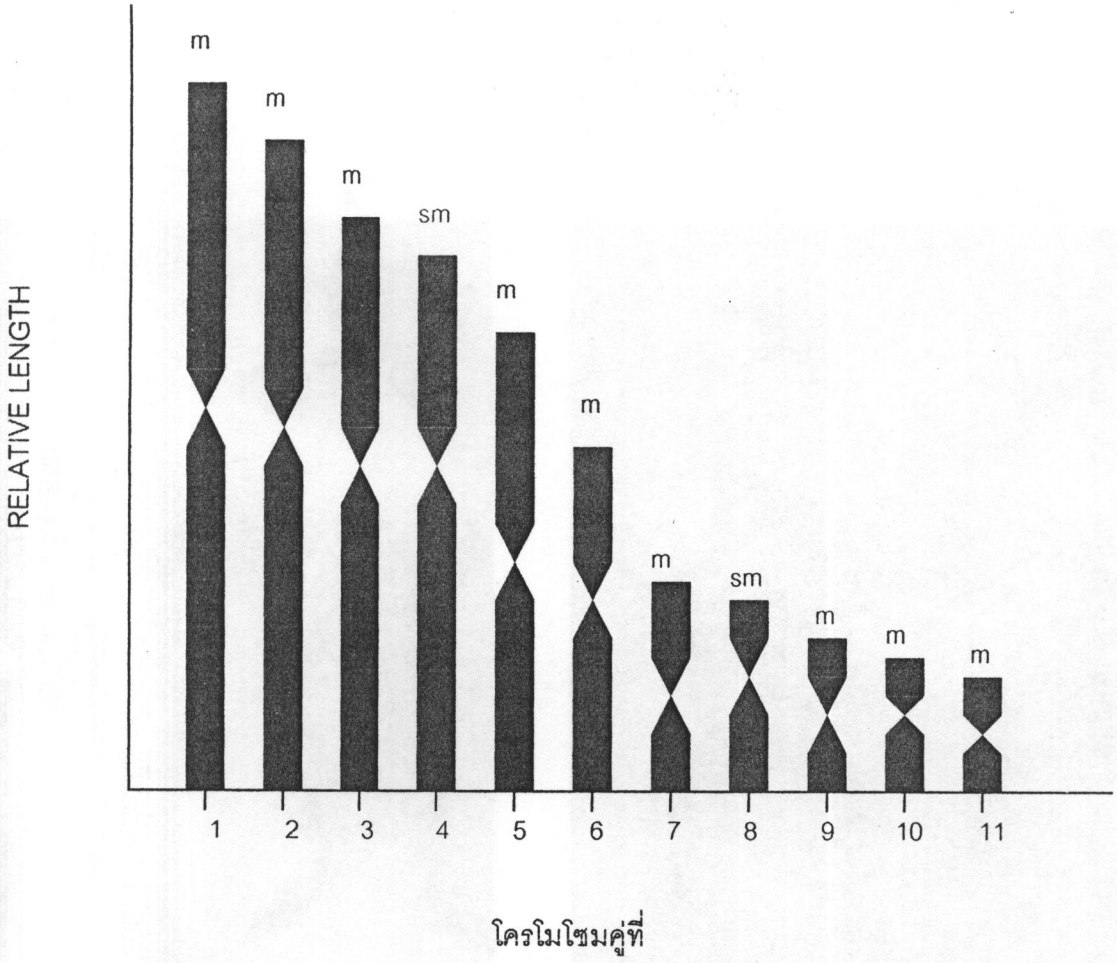
รูปที่ 22 คาริโอไทป์ของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) เพศเมียโดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



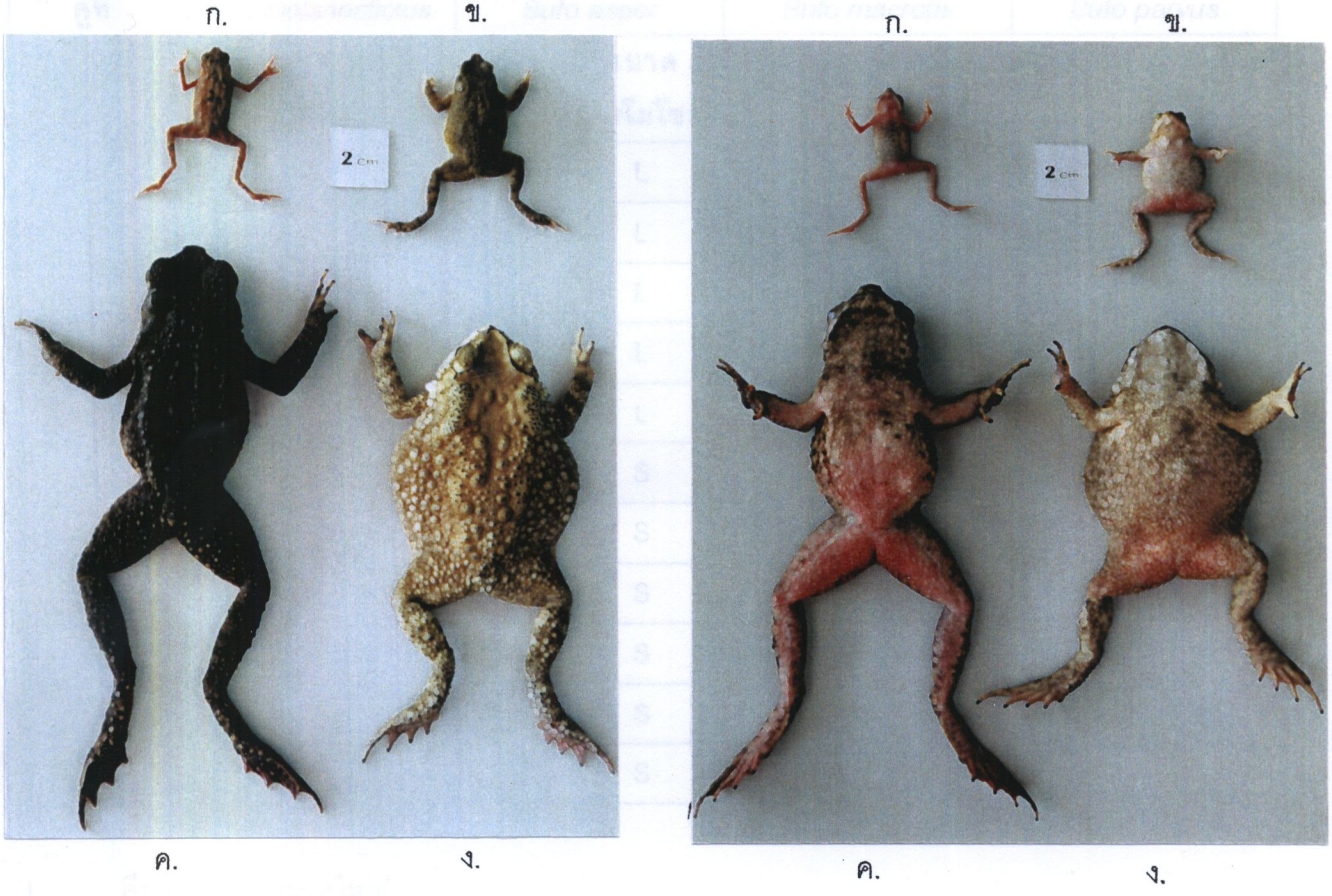
รูปที่ 23 คาริโอไทป์ของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) เพศผู้โดยการย้อมสีแบบปกติ (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 24 คาริโอไทป์ของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger) โดยการย้อมแถบสีแบบจี (กำลังขยาย x 1749 เท่า)



รูปที่ 25 อิดิโอแกรม ของคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger)



รูปที่ 26 ด้านบน I และด้านท้อง II ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

ก. คางคกแคระ

ข. คางคกหัวราบ

ค. จงโคร่ง

ง. คางคกบ้าน

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย LT เป็นเซนติเมตร และขนาดของโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

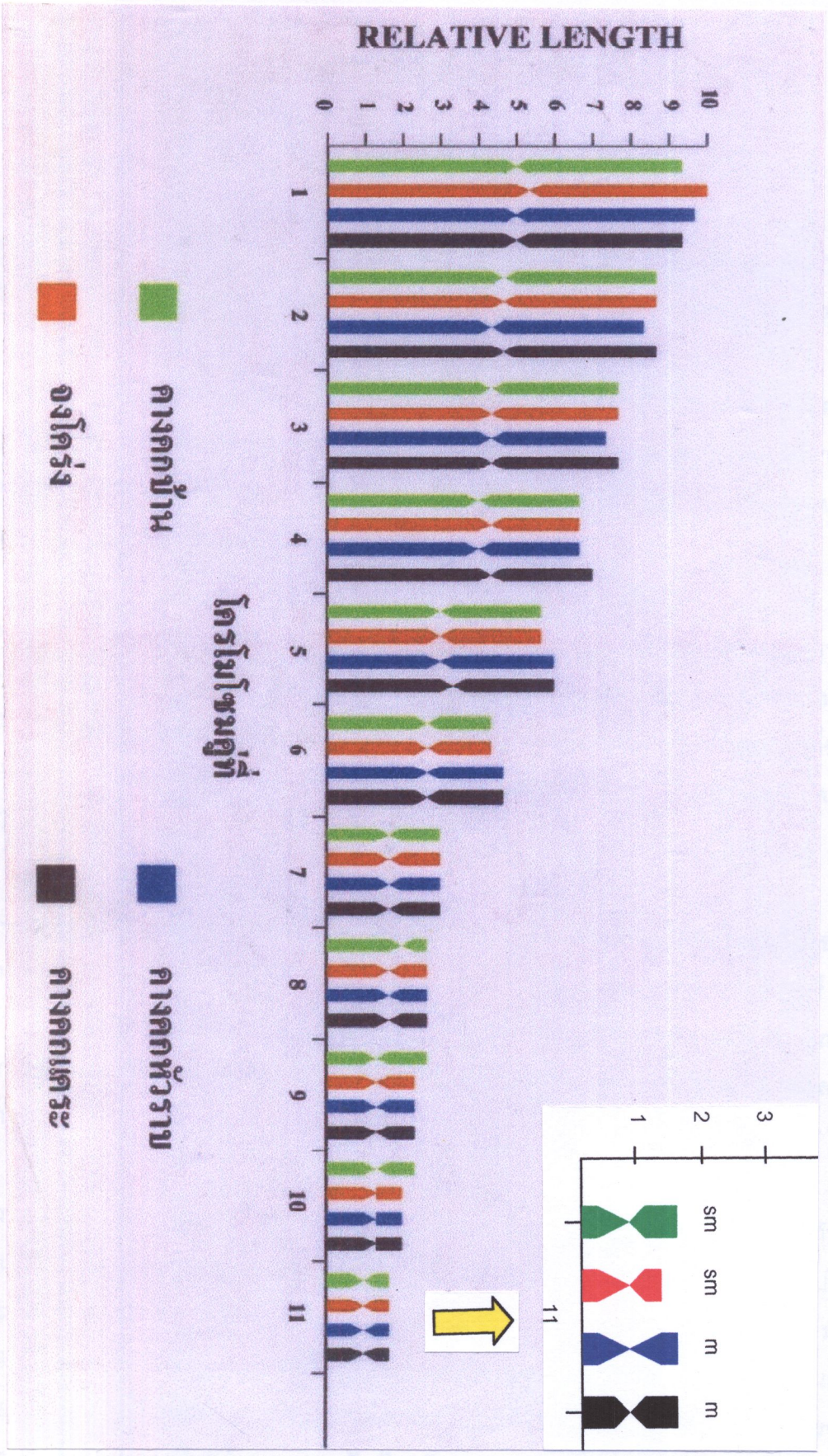
โครโมโซมคู่ที่	คางคกบ้าน *Bufo melanostictus*		จงโคร่ง *Bufo asper*		คางคกหัวราบ *Bufo macrotis*		คางคกแคระ *Bufo parvus*	
	LT	ขนาดโครโมโซม	LT	ขนาดโครโมโซม	LT	ขนาดโครโมโซม	LT	ขนาดโครโมโซม
1	1.65	L	1.92	L	1.70	L	1.75	L
2	1.56	L	1.68	L	1.50	L	1.64	L
3	1.35	L	1.47	L	1.33	L	1.45	L
4	1.20	L	1.34	L	1.22	L	1.34	L
5	1.05	L	1.12	L	1.07	L	1.17	L
6	0.82	S	0.87	S	0.86	M	0.89	M
7	0.52	S	0.56	S	0.52	S	0.56	S
8	0.48	S	0.51	S	0.50	S	0.49	S
9	0.46	S	0.46	S	0.44	S	0.45	S
10	0.41	S	0.41	S	0.38	S	0.36	S
11	0.31	S	0.31	S	0.31	S	0.28	S

L คือโครโมโซมขนาดใหญ่

M คือโครโมโซมขนาดกลาง

S คือโครโมโซมขนาดเล็ก

* คือขนาดของโครโมโซมที่แตกต่างกัน



รูปที่ 27 อิดิโอแกรมเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทย พบว่า มีทั้งหมด 4 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) จงโคร่ง (*Bufo asper*) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) และคางคกแคระ (*Bufo parvus*)

คางคกบ้าน(*Bufo melanostictus*) เป็นชนิดเดียวที่พบได้บ่อยทั่วทุกพื้นที่ของประเทศไทย และน่าจะมีจำนวนมากที่สุด เนื่องจากสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่อาศัยได้ หรืออาจมีสารที่ก่อให้เกิดพิษมากที่สุดในตัวของคางคกบ้านเอง เพราะถ้าสังเกตจากภายนอกจะเห็นว่ามีต่อม parotid ขนาดใหญ่ ซึ่งจะมียางเหนียว ๆ สะสมอยู่บริเวณนี้ เมื่อโดนยางเหนียวๆ นี้จะรู้สึกคัน

จงโคร่ง (*Bufo asper*) จะพบบริเวณภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย เป็นคางคกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด เท้าหลังจะมีพังผืดยึดเกือบเต็มฝ่าเท้าทั้งสอง ซึ่งถ้าเป็นคางคก *Bufo* ชนิดอื่นจะมีพังผืดยึดไม่เต็มฝ่าเท้า จงโคร่งชอบอาศัยแถบริมลำธารน้ำไหล หรือบริเวณโขดหินของน้ำตก เป็นคางคกที่ชอบว่ายน้ำหรือกระโดดลงน้ำบ่อยกว่าชนิดอื่น บริเวณที่สำรวจพบคือ อำเภอไทรโยก จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช

คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) Taylor (1962) รายงานว่า พบบริเวณภาคภาคตะวันออก และภาคตะวันตกของประเทศไทย จากการสำรวจในภาคตะวันออก บริเวณเขาสระบาปจังหวัดจันทบุรี สำรวจไม่พบ แต่สำรวจพบในภาคตะวันตก บริเวณช่องเขาขาด อำเภอไทรโยก จังหวัดกาญจนบุรี คางคกหัวราบสามารถแยกเพศได้ชัดเจนในฤดูผสมพันธุ์ โดยเพศผู้จะมีสีเหลืองสดมาก ส่วนเพศเมียจะมีสีน้ำตาลและผิวหนังขรุขระกว่าเพศผู้

คางคกแคระ (*Bufo parvus*) เป็นคางคกสกุล *Bufo* ที่มีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกันทั้ง 4 ชนิดมีลักษณะพิเศษคือ มีสันคล้ายรูปวงเล็บกลางหัว พบในป่าลึกบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณที่สำรวจพบจะเป็นสวนยางรกทึบ ที่ไม่ได้ทำการเก็บเกี่ยวแล้ว ในอำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช Taylor (1962) ได้รายงานว่า Malcolm Smith เคยสำรวจพบคางคกแคระนี้บริเวณ กรุงเทพมหานครในปี 1917 แต่เมื่อเขาสำรวจในปี 1962 ปรากฏว่าไม่พบซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า ในปี 1917 กรุงเทพมหานครอาจจะยังมีป่าทึบอยู่มากซึ่งสภาพของพื้นที่ยังเหมาะสมเป็นที่อาศัยของคางคกแคระ แต่ในปี 1962 จนถึงปัจจุบันกรุงเทพมหานครได้มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาไปอย่างรวดเร็วมาก ซึ่งไม่มีสภาพป่าให้สามารถสำรวจ

พบคางคกแคระได้ และไม่เฉพาะแต่คางคกแคระเท่านั้น สัตว์ขนาดเล็กชนิดอื่นๆ ก็อาจสูญพันธุ์ไป หรืออาจอพยพไปอาศัยบริเวณอื่นที่เหมาะสมกว่า ทำให้ไม่สามารถสำรวจพบได้อีก

ในปัจจุบันจำนวนของคางคกสกุล *Bufo* 3 ชนิด คือ จงโคร่ง คางคกหัวราบ และคางคกแคระ อาจมีจำนวนลดน้อยลง เนื่องจากคางคกทั้ง 3 ชนิดเป็นคางคกป่า ต้องอาศัยพื้นที่ที่มีป่าไม้ และแหล่งน้ำตามธรรมชาติ กรมป่าไม้จึงประกาศให้คางคกทั้ง 3 ชนิดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 เพื่อเป็นการอนุรักษ์ไว้ไม่ให้ล่าเป็นอาหารและเป็นเกมส์กีฬา

ในการสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกแต่ละครั้ง เวลาที่สำรวจจะเป็นช่วงเวลาตอนพลบค่ำไปจนถึงกลางคืน เนื่องจากคางคกหรือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจะออกหาอาหารในเวลากลางคืน ซึ่งควรจะมีอุปกรณ์เดินทางขณะสำรวจอย่างพร้อมเพรียงเพื่อความปลอดภัยในชีวิตของผู้สำรวจ และควรมีพรานหรือผู้ชำนาญทางในเส้นทางนั้นๆ การสำรวจหรือเก็บตัวอย่างควรทำในฤดูที่เหมาะสม. คางคกหรือสัตว์สะเทินน้ำสัตว์สะเทินบกส่วนใหญ่จะผสมพันธุ์ในช่วงฤดูฝน ดังนั้นควรจะสำรวจในช่วงฤดูนี้ ซึ่งจะทำให้โอกาสในการสำรวจพบคางคก หรือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่ต้องการมีมากกว่า

การศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ในต่างประเทศได้มีผู้ศึกษาไว้แล้วหลายชนิด พบว่าส่วนใหญ่จะมีโครโมโซม 2n = 22 ยกเว้นคางคกสกุล *Bufo* สายพันธุ์แอฟริกัน 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 ซึ่งได้แก่ *Bufo regularis Bufo gutturalis Bufo garmani Bufo rangeri Bufo brauni* และ *Bufo latifrons* (Bogart, 1966) นอกจากนี้ Bogart ยังอธิบายว่า คางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 อาจมีถิ่นกำเนิดจากบรรพบุรุษดั้งเดิมแล้วมีการแผ่ขยายอาณาเขตไปยังทวีปแอฟริกา ดังนั้นถ้าจำนวนโครโมโซม 2n = 20 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เริ่มต้นของคางคกสกุลนี้ และจำนวนโครโมโซม 2n = 22 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแล้ว สรุปได้ว่าแอฟริกาอาจเป็นสถานที่ต้นกำเนิดของคางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเป็น 2n = 22 และมีการแพร่กระจายไปทั่วโลก และสำหรับคางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 มีผู้ศึกษาไว้ดังนี้ *Bufo arenarum* มีโครโมโซมแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามขนาด คือ 5 คู่ใหญ่ กับ 6 คู่เล็ก ส่วน *Bufo bufo Bufo viridis* และ *Bufo calamita* แบ่งออกเป็น 6 คู่ใหญ่ กับ 5 คู่เล็ก ในโครโมโซมคู่ที่ 6 ของ *Bufo bufo* และ *Bufo viridis* พบ secondary constriction (Bianchi และ Laguens, 1964; Ullerich, 1966 อ้างถึงใน นงลักษณ์ นาคเกษม, 2518)

Cole, Lowe และ Wright (1968) ได้ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกในทวีปอเมริกาเหนือไว้อีก 8 ชนิด คือ *Bufo alvarius* *Bufo cognatus* *Bufo microscaphus* *Bufo punctatus* *Bufo retiformis* *Bufo valliceps* *Bufo woodhousii* และ *Bufo marinus* พบว่า 7 ชนิดแรกมีคาริโอไทป์คล้ายกันมากมีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 จัดเป็นชนิด metacentric และ submetacentric แบ่งออกตามขนาดได้เป็น 6 คู่ใหญ่กับ 5 คู่เล็ก คู่ที่ 1 เป็นโครโมโซมขนาดใหญ่ที่สุด เป็นชนิด metacentric และมี secondary constriction ส่วนผลการศึกษาคาริโอไทป์ของ *Bufo marinus* พบว่า แตกต่างจาก 7 ชนิดแรกอย่างเห็นได้ชัด คือ มี 6 คู่ใหญ่ 1 คู่กลาง และ 4 คู่เล็ก โครโมโซมขนาดกลาง (คู่ที่ 7) เป็นชนิด submetacentric มี secondary constriction ซึ่งจะไปคล้ายกับคาริโอไทป์ของ *Bufo arenarum* ในอเมริกาใต้ ผลการศึกษาเป็นการช่วยสนับสนุนสมมติฐานว่าทั้ง *Bufo arenarum* และ *Bufo marinus* ต่างเปลี่ยนแปลงมาจากคางคกที่มีอยู่เดิมที่อเมริกาใต้ แต่ถูกแยกออกมาภายหลังกลายเป็นคางคกสกุล *Bufo* ชนิดต่างๆ ในอเมริกาเหนือ

จากการศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิดในประเทศไทย ซึ่งได้มีผู้ได้ทำการศึกษาไว้แล้ว 2 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) และ คางคกแคระ (*Bufo parvus*) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ในคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) ที่มีการศึกษาคาริโอไทป์โดย นงลักษณ์ นาคเกษม (2518) สามารถจัดสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้ $L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$ ซึ่งจะแตกต่างจากสูตรคาริโอไทป์ ในการศึกษาครั้งนี้ คือ $L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$ อาจเนื่องจากมีมาตรฐานจำนวนมากในการจัดโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ซึ่งมีการใช้มาตรฐานการกำหนดชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกัน คือ ของนงลักษณ์ นาคเกษม (2518) ใช้ค่า Centromeric Index (CI) ส่วนในการทดลองนี้ใช้ค่า Numerical Value of Centromere Position (NVC) ซึ่งมีความแตกต่างกันตรงที่ค่า CI หาได้จากสัดส่วนระหว่างความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว กับความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง แล้วนำค่าที่ได้มาจัดเป็นชนิดของโครโมโซม ดังนี้ ค่า CI ระหว่าง 0.500 – 0.599 เป็นชนิด metacentric ค่า CI ระหว่าง 0.600 – 0.699 เป็นชนิด submetacentric ค่า CI ระหว่าง 0.700 – 0.899 เป็นชนิด acrocentric และค่า CI ระหว่าง 0.900 – 1.000 เป็นชนิด telocentric ส่วน ค่า NVC หาได้จากสัดส่วนระหว่างความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้นกับความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง คูณด้วย 100 แล้วนำค่าที่ได้มาจัดเป็นชนิดของโครโมโซม ดังนี้ ค่า NVC ระหว่าง 0 – 12.4 เป็นชนิด telocentric ค่า NVC ระหว่าง 12.5 – 24.9 เป็นชนิด subtelocentric ค่า NVC ระหว่าง 25.0 – 37.4 เป็นชนิด submetacentric ค่า NVC ระหว่าง 37.5 – 50.0 เป็นชนิด metacentric สำหรับคางคกแคระ (*Bufo parvus*) Schmid (1978) ได้รายงานเฉพาะจำนวนโครโมโซมเท่านั้นว่ามีจำนวน 2n = 22 ซึ่งเมื่อได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 เท่ากัน และพบชนิดของโครโมโซมเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ metacentric และ submetacentric เท่านั้น ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมในแต่ละชนิดของคางคกทั้งเพศผู้เพศเมีย ในคางคกบ้าน (*Bufo*

melanostictus) และจงโคร่ง (*Bufo asper*) จะพบเฉพาะโครโมโซมขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก ส่วนคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) และคางคกแคระ (*Bufo parvus*) พบโครโมโซมขนาดกลางเพิ่มขึ้น 1 คู่ ชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกันของคางคกทั้ง 4 ชนิด พบในคู่ที่ 4 และ 11 ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 โครโมโซมคู่ที่แตกต่างของคางคกทั้ง 4 ชนิด

ชนิดของคางคก	ชนิดของโครโมโซมคู่ที่ 4	ชนิดของโครโมโซมคู่ที่ 11
คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*)	metacentric	submetacentric
จงโคร่ง (*Bufo asper*)	submetacentric	submetacentric
คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*)	metacentric	metacentric
คางคกแคระ (*Bufo parvus*)	submetacentric	metacentric

จากการย้อมสีแบบจี ไม่พบความแตกต่างของแถบสี ในโครโมโซมทั้ง 11 คู่ ของคางคกทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากโครโมโซมของคางคก หรือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีการหดตัวมาก แถบสีที่ได้มีขนาดเล็ก และแยกความแตกต่างได้ไม่ชัดเจน (Schmid, 1978 อ้างอิงถึงใน Schempp และ Schmid 1981) ดังนั้นการศึกษาการย้อมแถบสีจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเข้ามาช่วย ในการศึกษา เช่น การย้อมสีแบบซี (C banding), silver staining และ late replication banding เพื่อแยกความแตกต่างของโครโมโซมให้ชัดเจนยิ่งขึ้น และสามารถสรุปสูตรคาริโอไทป์ของคางคกทั้ง 4 ชนิดได้ดังนี้

คางคกบ้าน $2n = 22 ; L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

จงโคร่ง $2n = 22 ; L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

คางคกหัวราบ $2n = 22 ; L^{m}_{10} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

คางคกแคระ $2n = 22 ; L^{m}_{8} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจคางคกสกุล *Bufo* พบดังนี้

1. คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) สำรวจพบที่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และอำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม เมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2542 และมีนาคม 2542 ตามลำดับ

2. จงโคร่ง (*Bufo asper*) สำรวจพบที่ อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช และ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี เมื่อเดือนเมษายน 2542 และสิงหาคม 2542 ตามลำดับ

3. คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) สำรวจพบที่ ช่องเขาขาด อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี เมื่อเดือนมีนาคม 2543 และ พฤษภาคม 2543

4. คางคกแคระ (*Bufo parvus*) สำรวจพบที่ตำบลบ้านเกาะ อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อเดือนกันยายน 2543

จากศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ซึ่งสรุปได้ดังนี้

1. คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) แบ่งออกเป็นคู่ใหญ่ (คู่ที่ 1-5) และคู่เล็ก (คู่ที่ 6-11) โครโมโซมคู่ที่ 1 2 3 4 5 6 7 9 และ 10 เป็นชนิด metacentric โครโมโซมคู่ที่ 8 และ 11 เป็นชนิด submetacentric

2. คาริโอไทป์ของจงโคร่ง (*Bufo asper*) แบ่งออกเป็นคู่ใหญ่ (คู่ที่ 1-5) และคู่เล็ก (คู่ที่ 6-11) โครโมโซมคู่ที่ 1 2 3 5 6 7 9 และ 10 เป็นชนิด metacentric โครโมโซมคู่ที่ 4, 8 และ 11 เป็นชนิด submetacentric

3. คาริโอไทป์ของคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) แบ่งออกเป็นคู่ใหญ่ (คู่ที่ 1-5) คู่กลาง (คู่ที่ 6) และคู่เล็ก (คู่ที่ 7-11) โครโมโซมทุกคู่เป็นชนิด metacentric ยกเว้นโครโมโซมคู่ที่ 8 คู่เดียวเป็นชนิด submetacentric

4. คาริโอไทป์ของคางคกแคระ (*Bufo parvus*) แบ่งออกเป็นคู่ใหญ่ (คู่ที่ 1-5) คู่กลาง (คู่ที่ 6) และคู่เล็ก (คู่ที่ 7-11) โครโมโซมคู่ที่ 1 2 3 5 6 7 9 10 และ 11 เป็นชนิด metacentric โครโมโซมคู่ที่ 4 และ 8 เป็นชนิด submetacentric

และสามารถสรุปสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้

คางคกบ้าน $2n = 22 ; L^{m}_{10} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

จงโคร่ง $2n = 22 ; L^{m}_{8} + L^{Sm}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{4}$

คางคกหัวราบ $2n = 22 ; L^{m}_{10} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

คางคกแคระ $2n = 22 ; L^{m}_{8} + L^{Sm}_{2} + M^{m}_{2} + S^{m}_{8} + S^{sm}_{2}$

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธารของพืชสกุล Zephyrauthes. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จารุจินต์ นภีตะภัฏ. 2531. สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก. กรุงเทพมหานคร: องค์การค้าคุรุสภา.

จารุจินต์ นภีตะภัฏ และ วิเชียร คงทอง. 2536. คนกับธรรมชาติ : วิกฤตการณ์สูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพและแนวทางแก้ไขที่ยั่งยืน วันศุกร์ที่ 24 ธันวาคม 2536 ณ ตึกสันติไมตรี ทำเนียบรัฐบาล จัดโดยคณะอนุกรรมการว่าด้วยความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทยร่วมกับคณะกรรมการสาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา สภาวิจัยแห่งชาติ หน้า 129-219

ถาวร สุภาพรม, นงเยาว์ ฉาไธสง และนิยะดา ห่อนาค. 2534. การศึกษาจำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์ของเขียดจิก และเขียดอีโม่. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 : B-060.

ถาวร สุภาพรม, บุษกร อารยกูร, แก้ว อุดมศิริชาคร และวาริณี อรุณมงคลผล. 2537. การศึกษาคาริโอไทป์และการย้อมแถบโครโมโซมแบบซีของกบจุก. รวมผลงานสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ครั้งที่ 8 : 212-220.

ถาวร สุภาพรม และประภาพร กัลยาประสิทธิ์. 2533. การศึกษาโครโมโซมของอึ่งอ่างบ้าน และคางคกบ้าน. การสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 7 เรื่อง พันธุศาสตร์เพื่อการพัฒนาคุณภาพชีวิต : 107-109.

ถาวร สุภาพรม, วาริณี อรุณมงคลผล และแก้ว อุดมศิริชาคร. 2535 การศึกษาจำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์ของอึ่งปากขวด และปาดบ้าน. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 30 : 110-113.

ถาวร สุภาพรม, อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ และอุไรวรรณ นิลเพ็ชร. 2535. การศึกษาจำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์ของเขียดเหลือง และอึ่ง. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18 : B-057.

ธัญญา จั่นอาจ. 2530. การสำรวจสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี และจังหวัดตาก. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ นาคเกษม. 2518. การศึกษาการเจริญเติบโต และคาริโอไทป์ของกบ อึ่งอ่าง และคางคกไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เพลินพิศ โชคชัยชำนาญกิจ. 2540. การศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของกบบลูฟร็อค เพศผู้ เพศเมีย. วิทยาปฏิบัติวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิเชฎฐ์ คนซื่อ. 2541. บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิโรจน์ นุตพันธุ์. 2534. คางคก คางโขก คางขาก. วารสารธรรมชาติ และสัตว์เลี้ยง. 3(18): 23-27.

สมชาย เลี้ยงพรพรรณ. 2540. การอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์ป่าในประเทศไทย. ภาควิชาภูมิศาสตร์ คณะมนุษย์ศาสตร์ และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุดสนอง ผาตินาวิน และผุสดี ปริยานนท์. 2531. การวิเคราะห์โครโมโซมของกบนา. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 14 19-21 ตุลาคม : 434-435.

ภาษาอังกฤษ

Ballingen, R.E. and Lynch, J.D. 1993. How to Know the Amphibian and Reptiles. Wm.C. Brown Company: United States of America.

Beckert, W.H. and Doyle, W. 1967. Anuran Karyotype Methodology: I The Karyotype of *Bufo marinus*. Can. S. Genet. Cytol. 9(2): 297-301.

Bogart, J.P. 1966. Chromosome Number Difference in the Amphibian Genus *Bufo* : The *Bufo regularis* Species Group. Evolution. 22: 42-45.

Chulalaksananukul, W., Suwannakerd, A. and Priyanonps. P. 1998. Karyotypic Study of *Kaloula mediolineata*. (Amphibia, Microhylidae) J. Sci. Res. Chula Univ. 23(2): 129-134.

Cole, C.J. Lowe, C.H. and Wright, J.W. 1968. Karyotype of Eight Species of Toads (Genus *Bufo*) in North America. Copeia. 1: 96-100.

Diberadino, M.A. 1961. The Karyotype of *Rana pipiens* and Investigation of Its Stability During Embryonic Differentiation. Amer. Zool. 1(3): 349-350.

Duellman, W.E. 1982. Synopsis and Classification of Living Organism. Mc-Graw Hill Book: New York.

Green, D.M. and Session, S.K. 1991. Amphibian Cytogenetics and Evolution. Academic Press, Saniago.

Henneri, S. 1964. The Karyotype of *Rana sylatica* and Its comparison with the Karyotype of *Rana pipiens*. J. Hered. 55(3): 124-128.

Inger, R.F. and Chanard. 1997. A New Species of Ranid Frog from Thailand, with Comment of *Rana livida* (Bryth). Nat. Hist. Bull. Siam. Soc. 45: 65-70.

Kuramoto, M. 1972. Karyotype of the Six Species of Frog (Genus *Rana*) Endemic to the Ryukyu Islands. Caryologia. 25(4): 547-559.

Nishioka, M. 1972. The Karyotypes of Two Sibling of Japanese Pond Frogs, with Special Reference to Those of the Diploid and Triploid Hybrid. Rep. Lab. Amphibian. Biol. Hiroshima Univ. 1: 319-337.

Nishioka, M. and others. 1987. Karyotypes of Brown Frogs Distrituted in Japan, Korea, Europe and North America. Rep. Lab. Amphibian. Biol. Hiroshima Univ. 9: 165-212.

Nishioka, M. and others. 1994. Four Kind of Sex Chromosome in *Rana rugosa*. Rep. Lab. Amphibian. Biol. Hiroshima Univ. 13: 1-34.

Ota, H. and Matsui, M. 1995. Karyotypes of a Ranid Frog, *Platymantis pelewensis*, from Belau Micronesia, with Comments on Its Systematic Implications. J. Pacific Science. 49(3): 296-300.

Paramenter, C.L. 1993. Haploid, Diploid, Triploid and Tetraploid Chromosome Numbers, and Their Origin in Parthenogenetically Developed Larvae and Frogs *Rana pipiens* and *Rana palustris*. J. Exp. Zool. 66(3): 409-453.

Robinson, M.A. and Wiggins, F.J. 1971. Animal Types 2 Vertebrates. Hutchinson Educational Ltd. London.

Schmid, M. 1978a. Chromosome Banding in Amphibia. 1. Constitutive Heterochromatin and Nucleolus Organizer Regions in *Bufo* and *Hyla*. Chromosoma. (Berlin) 4(66): 361-388.

Schmid, M. 1982. Chromosome Banding in Amphibia. 7. Analysis of the Structure and Variability of NORs in Anura. Chromosoma. 87: 327-344.

Schmid, M, and others. 1993. Chromosome Banding in Amphibia. 19. Primitive ZW/ZZ Sex Chromosome in Buergeria buergeri (Anura, Rhacophoridae). Cytogenetic and Cell Genetic.4(62): 238-246.

Schempp, W. and Schmid, M. 1981. Chromosome Banding in Amphibia. 6. BrdU-Replication Pattern in Anura and Demonstration of XX/XY ZZ Sex Chromosome in *Rana esculenta*. Chromosoma. 83: 697-710.

Taylor, E.H. 1962. The Amphibian Fauna of Thailand. The University of Kansas Science Bulletin. 43: 265-599.

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. chromosome media ชนิด RPMI 1640 (pH 7.1-7.3)

ส่วนประกอบ

1.1 RPMI 1640 powder

1.2 1 นอร์มอล. NaOH

1.3 1 นอร์มอล. HCl

1.4 calf serum

1.5 pen/strep

1.6 phytohaemagglutinin (PHA - M)

1.7 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม (ปริมาตรที่เตรียมขนาด 1,000 มิลลิลิตร)

1. ละลายผงของ RPMI 1640 1 ซอง ใน Erlenmeyer flask ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 มิลลิลิตร ล้างผง RPMI 1640 ที่ติดอยู่ในซองออกให้หมด เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าจนผงละลายเข้ากันได้ดี

2. ปรับ pH ด้วย pH meter โดยใช้ 1 นอร์มอล. NaOH และ 1 นอร์มอล HCl ให้ได้ pH 6.8 – 6.9

3. ทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้ millipore membrane filter ขนาด 0.2 ไมครอน

4. แบ่งใส่ขวด ขวดละ 100 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีปริมาตรของ RPMI 1640 50 มิลลิลิตร ผสมกับ pen/strep 10 มิลลิลิตร calf serum 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และ PHA 3 มิลลิลิตร (Aseptic Technique) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2. สารละลาย colchicine (0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ส่วนประกอบ

2.1 colchicine powder

2.2 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

ชั่ง colchicine powder 0.002 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

3. **สารละลาย hypotonic solution (0.075 โมลาร์, KCl)**

ส่วนประกอบ

3.1 ผลึก crystal

3.2 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม (ปริมาตรที่เตรียม 100 มิลลิลิตร)

ชั่งผลึก KCL 0.5588 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เขย่าจนผลึกละลายหมด เก็บใส่ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

หมายเหตุ

น้ำยานี้มีอายุการใช้งาน 1-2 สัปดาห์

4. **สารละลาย 1 นอร์มอล HCl**

ส่วนประกอบ

4.1 conc HCl

4.2 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

conc HCl 82.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน

5. **สารละลาย 1 นอร์มอล NaOH**

ส่วนประกอบ

5.1 ผลึก NaOH

5.2 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

ชั่งผลึก NaOH 20 กรัม ละลายน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

camoy fixative

ส่วนประกอบ

6.1 glacial acetic acid

6.2 absolute methanol

วิธีเตรียม

ใช้ glacial acetic acid 1 ส่วน ผสมกับ absolute methanol 3 ส่วน เขย่าให้เข้ากันดี เก็บใส่ขวดแช่
นไว้ (เตรียมเสร็จแล้วต้องใช้ให้หมดภายในวันเดียว)

การเตรียม phytohaemagglutinin (PHA)

ส่วนประกอบ

1. PHA powder (Gibco)
2. น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

ละลายผง PHA ด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดีเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย banding trypsin

ส่วนประกอบ

1. bacto trypsin (Difco Lab)
2. 0.9 % NaCl (normal saline)
3. น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

- Stock Solution

  ละลายผง Trypsin ด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าจนผง Trypsin ละลายหมด เก็บไว้ที่ 2-8 องศา
ซลเซียส

- Working Solution

ใช้ Stock Solution 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.9% NaCl 19 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี เก็บไว้ที่ 2-8
เซลเซียส

รละลายสี Giemsa

ส่วนประกอบ

9.1 10% สี Giemsa

9.2 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

Giemsa 5 มิลลิลิตร ผสมกับ Sorensen phosphate buffer 45 มิลลิลิตร

ารละลายบัฟเฟอร์

ส่วนประกอบ

10.1 KH_2PO_4

10.2 Na_2HPO_4

10.3 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

Solution A

ชั่ง KH_2PO_4 9.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

- Solution B

ชั่ง Na_2HPO_4 9.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

- Working Solution

Solution A 50.8 มิลลิลิตร ผสมกับ Solution B 49.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ɔH
ณ 6.8

ประวัติผู้เขียน

นายพรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ เกิดเมื่อวันที่ 2 ตุลาคม 2516 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาชั้นปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์บางพระ เมื่อปีการศึกษา 2538 เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2540 ได้รับทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์จากโครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) เมื่อปี 2542 และได้รับทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับรางวัลการประกวดโปสเตอร์ดีเด่นจาก การเสนอผลงานวิทยานิพนธ์ เรื่องการสำรวจและการศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* .ในประเทศไทย ในการประชุมวิชาการประจำปี ในโครงการ BRT ครั้งที่ 4 เมื่อวันที่ 9-12 ตุลาคม 2543