BRT 543032

การศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ Leiolepis belliana belliana ในการแสดงสาร แสดงภาพช้างเผือก จังหวัดชลบุรี

นางสาวชิรญาณ์ ปวงวัฒนา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0519-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Ar 108

19 W.ค. 2544

โครงการ BRT ชั้น 15 อาคารมหานครยิบซั่ม
539/2 ถนนศรีอยุธยา เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

การศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *Leiolepis belliana belliana* ในเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง จังหวัดชลบุรี

นางสาววชิรญาณ์ ปวงวัฒนา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0519-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

KARYOLOGICAL STUDIES OF LIZARD *Leiolepis belliana belliana* AT SA-MAE SARN ISLAND AND NEARBY ISLANDS IN CHON BURI PROVINCE

Miss Vachiraya Puangwanttana

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 2001

ISBN 974-03-0519-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *Leiolepis belliana belliana* ในเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง จังหวัดชลบุรี
โดย	นางสาว วชิรญาณ์ ปวงวัฒนา
สาขาวิชา	พันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสตี ปริยานนท์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสตี ปริยานนท์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ. ญ. ดร. ดวงสมร สุวัฑฒน)

..... กรรมการ

(อาจารย์ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์)

BRT 543032

นางสาว วชิรญาณ์ ปวงวัฒนา: การศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *Leiolepis belliana belliana* ในเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง จังหวัดชลบุรี (KARYOLOGICAL STUDIES OF LIZARD *Leiolepis belliana belliana* AT SA-MAE SARN ISLAND AND NEARBY ISLANDS IN CHONBURI PROVINCE) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ผุสตี ปริยานนท์, 83 หน้า. ISBN 974-03-0519-9

แย้ *Leiolepis belliana belliana* (Gray) เป็นสัตว์เลื้อยคลานที่พบอยู่ทั่วไปบนเกาะในอ่าวไทยและทุกภาคประเทศไทย แย้มีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาและเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ โดยใช้เทคนิคการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว แล้วย้อมสีแบบธรรมดาและย้อมแถบสีแบบจี จากตัวอย่างของแย้ที่พบบนเกาะในอ่าวไทย ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น และเกาะไผ่ อำเภอ สัตหีบ และเขาเขียวเขาชมพู่ อำเภอ ศรีราชา จงหวัด ชลบุรี จากการศึกษาพบว่าแย้ทั้ง 5 ประชากรมีคาริโอไทป์จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาเหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n = 36 ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 – 5 มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมนั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สามารถที่จะจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และเมื่อย้อมแถบสีแบบจี พบว่า แย้ทั้ง 5 ประชากรมีรูปแบบของแถบสีไม่แตกต่างกัน ประโยชน์ของการศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ที่ได้จากแหล่งต่างๆ เหล่านี้ สามารถนำไปใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์ในกลุ่มนี้จากแหล่งอื่นๆ ในประเทศไทยต่อไป

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต วชิรญาณ์ ปวงวัฒนา.....

สาขาวิชา พันธุศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2544 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4172420023 :MAJOR GENETICS

KEY WORD: *Leiolepis belliana belliana* / LIZARD / CHROMOSOME BANDING / CYTOGENETICS

VACHIRAYA PUANGWANTTANA : KARYOLOGICAL STUDIES OF LIZARD *Leiolepis belliana belliana* AT SA-MAE SARN ISLAND AND NEARBY ISLANDS IN CHON BURI PROVINCE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL,Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. PUTSATEE PARIYANONTH, 83 pp.

ISBN 974-03-0519-9

The *Leiolepis belliana belliana* (Gray), a common reptile found in the all regions including the islands of Thailand, has a very important role in the ecosystem and serves as food resource for human beings. This research was therefore initiated. These animal samples were collected from Sa-maesarn Island, Khram Island, Rin Island and Phai Island at Sataheep District and some animal samples were collected from Khaokheaw and Khaochompoo Sriracha District, Chonburi Province. Chromosomes from lymphocyte cultures were studied by conventional staining and G-banding technique. The result showed that all of these animals have the same chromosome number 2n = 36, relatively identical in shape and size. The chromosome complements of *L. b. belliana* composed of 12 macrochromosomes and 24 microchromosomes. Six pairs of macrochromosomes were classified as follows: five pairs were of metacentric-type and the other were of submetacentric-type. A secondary constriction was found on the long arm of the first chromosome pair. The microchromosomes were too small to be classified. According to the result obtained from G–banding technique, the specimens from four types of population have the same pattern. This karyotypic information will be useful for further genetic diversity study on the same lizard from other regions of Thailand.

Department of Botany Student's signature Vachiraya Puangwanttana

Field of study Genetics Advisor's signature

Academic year 2001 Co-advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือของหลายๆ ท่านดังต่อไปนี้

กราบขอบพระคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ที่ให้โอกาสในการศึกษา

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นและความช่วยเหลือต่างๆ ในการวิจัยด้วยดี

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร. ดวงสมร สุวัฑฒน และอาจารย์ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์ ที่กรุณาสละเวลามาเป็นกรรมการสอบและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่สนับสนุนการเดินทางไปเก็บตัวอย่างสัตว์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

กราบขอบพระคุณหน่วยสงครามพิเศษทางเรือ กองทัพเรือ ฐานทัพเรือสัตหีบ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ที่ให้ความช่วยเหลือในการเดินทางไปเก็บตัวอย่างสัตว์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

กราบขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษาเพื่อทำหน้าที่ผู้ช่วยสอนและ/หรือวิจัย

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทยซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนันสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 543032 จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

กราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่ๆ ที่สนับสนุนด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ท้ายนี้ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆ ในงานวิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ญ

สารบัญภาพ.....ฎ

บทที่ 1 บทนำ.....1

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร.....3

1. ความสำคัญของแย้.....3

2. การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน.....3

3. การศึกษาทางสันฐานวิทยา.....4

4. สภาพพื้นที่.....5

5. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์.....7

6. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของแย้.....8

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา.....10

1. วัสดุอุปกรณ์.....10

1.1 สัตว์ทดลอง.....10

1.2 อุปกรณ์.....10

1.3 สารเคมี.....11

2. วิธีดำเนินการศึกษา.....11

1. การเก็บตัวอย่างแย้.....11

2. เตรียมโครโมโซมจากการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว.....13

3. การย้อมสีแบบธรรมดา.....13

4. การย้อมแถบสีแบบจี.....13

5. การวิเคราะห์โครโมโซม.....14

บทที่ 4 ผลการศึกษา.....16

1. แย้จากเกาะแสมสาร.....16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

1.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา.....16
1.2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....18
1.3. การย้อมแถบสีแบบจี.....21
2. แย้จากเกาะคราม.....25
2.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา.....25
2.2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....27
2.3. การย้อมแถบสีแบบจี.....30
3. แย้จากเกาะริ้น.....34
3.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา.....34
3.2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....36
3.3. การย้อมแถบสีแบบจี.....39
4. แย้จากเกาะไผ่.....43
4.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา.....43
4.2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....45
4.3. การย้อมแถบสีแบบจี.....48
5. แย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....52
5.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา.....52
5.2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....54
5.3. การย้อมแถบสีแบบจี.....57
6. การเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ทั้ง 5 ประชากร.....60
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา.....66
1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา.....66
2. การย้อมสีแบบธรรมดา.....66
3. การย้อมแถบสีแบบจี.....68
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา.....70
รายการอ้างอิง.....71
ภาษาไทย.....71

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาษาอังกฤษ.....71

ภาคผนวก.....74

ภาคผนวก ก. 75

ภาคผนวก ข. 77

ภาคผนวก ค. 80

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....83

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. รูปร่างของโครโมโซมที่กำหนดจากค่า NVC..... 15
2. ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะแสมสาร..... 18
3. ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะคราม.....27
4. ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะริ้น.....36
5. ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะไผ่..... 45
6. ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....54
7. จำนวนโครโมโซมที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่า RL ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....62
8. จำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่า RL ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....62
9. จำนวนโครโมโซมที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่า NVC ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....64
12. จำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่า RL ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....64

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. แย้ *L. b. belliana* (Gray).....4
2. แผนที่แสดงอายุหิน.....6
3. การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลในช่วง 20,000 ปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน.....6
4. สถานที่เก็บตัวอย่างแย้ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น และเกาะไผ่.....12
5. แย้ *L. b. belliana* เพศผู้จากเกาะแสมสาร.....17
6. แย้ *L. b. belliana* เพศเมียจากเกาะแสมสาร.....17
7. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะแสมสาร.....19
8. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะแสมสาร.....20
9. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะแสมสาร.....21
10. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศผู้ จากเกาะแสมสาร.....22
11. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศเมีย จากเกาะแสมสาร.....23
12. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะแสมสาร.....24
13. แย้ *L. b. belliana* เพศผู้จากเกาะคราม.....26
14. แย้ *L. b. belliana* เพศเมียจากเกาะคราม.....26
15. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะคราม.....27
16. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะคราม.....28
17. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะคราม.....30
18. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศผู้ จากเกาะคราม.....31
19. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศเมีย จากเกาะคราม.....32
20. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะคราม.....33
21. แย้ *L. b. belliana* เพศผู้จากเกาะริ้น.....35
22. แย้ *L. b. belliana* เพศเมียจากเกาะริ้น.....35
23. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะริ้น.....37

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

24. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะริ้น.....38
25. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะริ้น.....39
26. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศผู้ จากเกาะริ้น.....40
27. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศเมีย จากเกาะริ้น.....41
28. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะริ้น.....42
29. แย้ *L. b. belliana* เพศผู้จากเกาะไผ่.....44
30. แย้ *L. b. belliana* เพศเมียจากเกาะไผ่.....44
31. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะไผ่.....46
32. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะไผ่.....47
33. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะไผ่.....48
34. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศผู้ จากเกาะไผ่.....49
35. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศเมีย จากเกาะไผ่.....50
36. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะไผ่.....51
37. แย้ *L. b. belliana* เพศผู้จากพื้นที่เขาเขียวเขาชมพู่.....52
38. แย้ *L. b. belliana* เพศเมียจากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....52
39. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากพื้นที่ป่า เขาเขียวเขาชมพู่.....55
40. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากพื้นที่ป่า เขาเขียวเขาชมพู่.....56
41. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....57
42. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศผู้ จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....58

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

43. โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ของแย้เพศเมีย จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่.....59

44. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากพื้นที่ป่า เขาเขียวเขาชมพู่.....60

45. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้ *L. b. belliana* เปรียบเทียบค่า RL.....61

46. อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้ *L. b. belliana* เปรียบเทียบค่า NVC....63

47. อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้ *L. b. belliana* 65

บทที่ 1

บทนำ

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์มีความสำคัญอย่างยิ่งในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานการศึกษาชนิดพันธุ์ การจัดกลุ่มเพื่อใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตให้เป็นหมวดหมู่ การอนุรักษ์พันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ (Gaedner, Simmons และ Snustad, 1991) เนื่องจากการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์นั้นเป็นการศึกษาเกี่ยวกับจำนวน โครงสร้างและหน้าที่การทำงานของโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Henriques-Gil, Parker และ Puertas, 1997) โดยการนำภาพของโครโมโซมในระยะเมทาเฟส (metaphase) มาจัดทำคาริโอไทป์ (karyotype) จากประโยชน์ของการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ดังกล่าวข้างต้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำความรู้ทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์มาศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ (butterfly lizard, butterfly Agamar) ซึ่งเป็นสัตว์เลื้อยคลานที่อาศัยอยู่ในรู พบทั่วไปในสภาพพื้นที่ที่เป็นดินทราย มีลักษณะแห้ง โล่งเตียน และน้ำท่วมไม่ถึง (โรจน์ชัย ศัตรวาหา และไพรัช ทาบสีแพร, 2525) รวมทั้งพื้นที่เกาะต่างๆ ของประเทศไทยด้วยก็พบว่ามีแย้อาศัยอยู่เป็นจำนวนมากเช่นกัน แย้นอกจากจะมีประโยชน์ด้านคุณค่าทางอาหารต่อมนุษย์แล้วยังมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหารและสายใยอาหารที่ทำหน้าที่ในการหมุนเวียนถ่ายเทพลังงานในระบบนิเวศที่ทำให้เกิดความสมดุลย์ในธรรมชาติเนื่องจากแย้กินแมลงศัตรูพืชเป็นอาหาร แม้ว่าแย้จะมีคุณประโยชน์ดังกล่าวแต่ในปัจจุบันพบว่าปริมาณของแย้ที่พบในประเทศไทยมีจำนวนลดลงไปมาก เนื่องจากถูกดักจับมาเป็นอาหารและพื้นที่ที่อยู่อาศัยมีปริมาณลดลงไปเนื่องจากถูกเปลี่ยนไปเป็นพื้นที่ทำการเกษตรกรรม และที่อยู่อาศัยของมนุษย์

แย้ที่พบทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Leiolepis belliana, L. boehmei, L. guentherpetersi, L. guttata, L. peguensis, L. reevesii* และ *L. triploid* (Uetz, Etzold และ Chenna, 2000) แต่การจัดลำดับทางอนุกรมวิธานของแย้ในระดับวงศ์ (family) ยังไม่ชัดเจนนัก คือ Joger (1991) และ Honda และคณะ (2000) จัดแย้อยู่ในวงศ์ Agamidae ส่วน Macey และคณะ (2000) นั้นจัดแย้แยกออกจากวงศ์ Agamidae ให้อยู่ในวงศ์ Uromastycidae โดยใช้ข้อมูลจากการศึกษา mitochondrial DNA รวมทั้งชนิดของแย้ในประเทศไทยก็ยังมีความเห็นไม่ตรงกัน ดังรายงานของ Taylor (1963) ที่จัดจำแนกแย้ที่พบในประเทศไทยออกเป็นทั้งหมด 3 ชนิดย่อย ได้แก่ *L. b. belliana* (Gray), *L. b. rubritaeniata* (Mertens), และ *L. b. guttatus* (Gunther) ส่วน Cox และคณะ (1998) Darevsky และ Kupriyanova (1993),

และ Manthey และ Grossmann (1997) ได้รายงานว่าพบแย้ในประเทศไทยทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *L. belliana, L. reevesii, L. triploida* และ *L. boehmei*

สำหรับการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของแย้ในประเทศไทยยังมีการศึกษากันน้อยมาก พบว่ามีการศึกษาเพียงชนิดเดียว คือ *L. b. rubritaeniata* (Mertens) โดย โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์ (2532) ส่วนการศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *L. belliana* (Gray) ตามรายงานของ Hall (1970 อ้างโดย โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์, 2532) นั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าแย้ที่ใช้ศึกษานั้นยังไม่ทราบชนิดและแหล่งอาศัยที่แน่นอน เพียงแต่สันนิษฐานว่าเป็นแย้ที่พ่อค้าสัตว์ป่าเก็บรวบรวมได้จากภาคเหนือของประเทศมาเลเซียหรือชายแดนติดต่อกับภาคใต้ของประเทศไทย นอกจากนี้การศึกษาดังกล่าวเป็นเพียงการศึกษาโดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาเท่านั้น ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *L. b. belliana* (Gray) โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบจี เพื่อศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ชนิดย่อยนี้จาก 5 ประชากร ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ซึ่งเป็นแย้ที่อาศัยอยู่บนผืนแผ่นดินใหญ่

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ศึกษาและเปรียบเทียบคาริโอไทป์ ของแย้ *L. b. belliana* (Gray) โดยใช้เทคนิคการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดแล้วย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบจี จากเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง จังหวัดชลบุรี

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

เป็นข้อมูลพื้นฐาน ที่สามารถนำไปใช้ประกอบการจัดกลุ่มประชากรของแย้ *L. b. belliana* (Gray) ในพื้นที่ต่างๆและพื้นที่บนเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง และเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์ในกลุ่มนี้จากแหล่งอื่นๆ ในประเทศไทยต่อไป

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

1. ความสำคัญของแย้

แย้เป็นสัตว์เลื้อยคลานที่นับว่ามีประโยชน์ด้านคุณค่าทางอาหารต่อมนุษย์ นอกจากนี้แย้ยังมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหารและสายใยอาหารที่ทำหน้าที่ในการหมุนเวียนถ่ายเทพลังงานในระบบนิเวศที่ทำให้เกิดความสมดุลย์ในธรรมชาติเนื่องจากแย้กินแมลงศัตรูพืชเป็นอาหาร จากการศึกษาของ โรจน์ชัย ศัตรวาหา และไพรัช ทาบสีแพร (2525) พบว่าแย้อาศัยอยู่ทั่วไปในสภาพพื้นที่ส่วนใหญ่ที่เป็นดินทราย มีลักษณะแห้ง โล่งเตียน และน้ำท่วมไม่ถึง โดยเฉพาะตามเกาะต่างๆ ในอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามันก็พบว่ามีแย้อาศัยอยู่เป็นจำนวนมากเช่นกัน อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่าปริมาณของแย้ที่พบในประเทศไทยมีจำนวนลดลงไปมาก เนื่องจากถูกดักจับมาเป็นอาหารและพื้นที่ที่อยู่อาศัยมีปริมาณลดลงไปเนื่องจากถูกเปลี่ยนไปเป็นพื้นที่ทำการเกษตรกรรม และที่อยู่อาศัยของมนุษย์

2. การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

แย้จัดอยู่ในชั้น Reptilia อันดับ Sauria วงศ์ Agamidae (Uromastycidae) สกุล *Leiolepis* พบทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Leiolepis belliana, L. boehmei, L. guentherpetersi, L. guttata, L. peguensis, L. reevesii* และ *L. triploid* โดยเฉพาะแย้ *L. belliana* ยังแบ่งออกเป็น 3 ชนิดย่อย ได้แก่ *L. b. belliana, L. b. rubritaeniata* และ *L. b. ocellata* (Uetz, Etzold และ Chenna, 2000) สำหรับการจัดลำดับทางอนุกรมวิธานของแย้ จากรายงาน Joger (1991) และ Honda และคณะ (2000) นั้นจัดแย้อยู่ในวงศ์ Agamidae ส่วน Macey และคณะ (2000) เมื่อได้ศึกษา mitochondrial DNA ของสัตว์เลื้อยคลานในอันดับ Sauria แล้วจึงจัดแย้แยกออกจากวงศ์ Agamidae ให้อยู่ในวงศ์ Uromastycidae จากรายงานดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการจำแนกชนิดของแย้ยังไม่ชัดเจนนัก รวมทั้งชนิดของแย้ที่พบในประเทศไทยก็เช่นกัน ดังรายงานของ Taylor (1963) ที่จัดจำแนกชนิดของแย้ในประเทศไทยออกเป็นทั้งหมด 3 ชนิดย่อย ได้แก่ *L. b. belliana* (Gray), *L. b. rubritaeniata* (Mertens), และ *L. b. guttatus* (Gunther) ส่วน Cox และคณะ (1998), Darevsky และ Kupriyanova (1993), และ Manthey และ Grossmann

(1997) รายงานว่าพบแย้ในประเทศไทยทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *L. belliana* พบกระจายอยู่ทั่วไปทั่วทุกภาคของประเทศ, *L. reevesii* พบกระจายทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, *L. triploida* พบกระจายอยู่ทางภาคใต้จนถึงเขตประเทศมาเลเซีย และ *L. boehmei* พบกระจายอยู่ทั่วไปทางภาคใต้ของประเทศ

3. การศึกษาทางสันฐานวิทยา

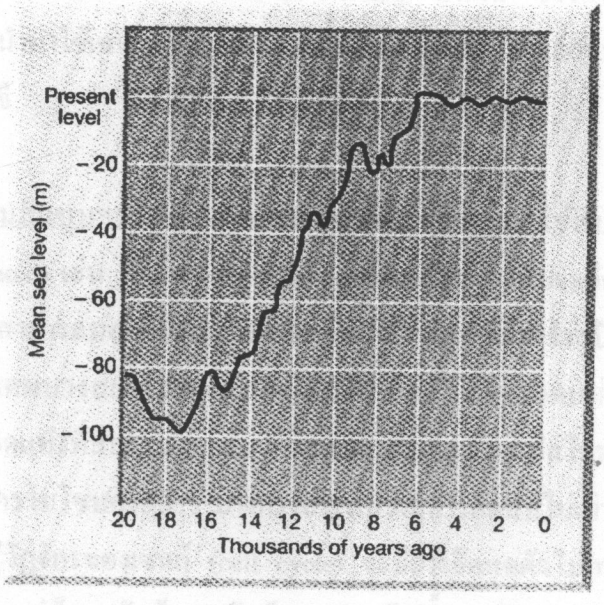
จากการศึกษาทางสันฐานวิทยาของ Taylor (1963) และ Cox และคณะ (1998) พบว่าแย้ *L. b. belliana* (Gray) มีชื่อท้องถิ่นว่า แย้ใต้ มีลักษณะสันฐานวิทยาคือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองหลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง (รูปที่ 1) พบกระจายทั่วทุกภาคของประเทศและอาจกระจายลงไปจนถึงพื้นที่บางส่วนของประเทศมาเลเซีย แย้ชนิดย่อยนี้จะพบอาศัยอยู่ตามพื้นที่โล่งเตียนและบริเวณชายหาด

รูปที่ 1 แย้ใต้ *L. b. belliana* (Gray)

4. สภาพพื้นที่

พื้นที่ทำการศึกษา คือ เกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง ได้แก่ เกาะคราม เกาะริ้น และเกาะไผ่ สำหรับเกาะแสมสารเป็นเกาะขนาดเล็กตั้งอยู่ในอ่าวไทยตอนบนที่ละติจูดที่ 13 องศา 34 ลิปดาเหนือ ลองติจูดที่ 100 องศา 82 ลิปดาตะวันออก อยู่ห่างจากฝั่งประมาณ 1 กิโลเมตร (ธนิษฐา ทรรพนันท์, 2538) เป็นหนึ่งในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่อยู่ในการดูแลของกองทัพเรือ จากข้อมูลทางธรณีวิทยาที่ศึกษาอายุหิน พบว่า หินที่พบบนเกาะที่ใช้ศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ในครั้งนี้ ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม และเกาะไผ่ รวมทั้งพื้นที่บนผืนแผ่นดินใหญ่ทางด้านตะวันออกของประเทศไทย (พื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่) จังหวัดชลบุรีเป็นหินที่เกิดในยุคเดียวกัน คือ ยุคคาร์บอนิเฟอรัส–เพอร์เมียน มีอายุ 245-360 ล้านปี และเป็นผืนแผ่นดินเดียวกันมาก่อน (รูปที่ 2) แต่สาเหตุที่พื้นที่เหล่านี้แยกกันเป็นเกาะต่างๆ เนื่องจากเมื่อประมาณ 1-2 ล้านปีที่ผ่านมา ซึ่งเป็นยุคน้ำแข็ง มีน้ำแข็งปกคลุมโลก 75% ในยุคนั้นโลกมีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้น้ำแข็งบริเวณขั้วโลกละลายระดับน้ำทะเลสูงขึ้น (รูปที่ 3) ดังนั้นน้ำทะเลจึงไหลทะลักเข้าท่วมบริเวณอ่าวไทยซึ่งเป็นที่ราบลุ่ม บางส่วนที่มีพื้นสูงก็จะเกิดเป็นเกาะต่างๆ จึงเกิดเป็นทะเลอ่าวไทยในปัจจุบัน และ (Tarbuck และ Lutgens, 1999) นอกจากนี้ยังมีข้อมูลที่บ่งบอกว่าครั้งหนึ่งก่อนยุคน้ำแข็งบริเวณอ่าวไทยทั้งหมดเคยเป็นพื้นดินมาก่อนโดยมีหลักฐานจากการขุดเจาะน้ำมัน พบว่าแร่ที่ขุดพบใต้ท้องทะเลอ่าวไทยนั้นเป็นแร่ชนิดที่เกิดจากการทับถมของพืชและสัตว์ที่อาศัยอยู่บนบก ซึ่งก็สามารถพบแร่เหล่านี้ได้ในบริเวณที่เป็นพื้นดินในปัจจุบันด้วย (Burri, 1989) ดังนั้นจึงเชื่อได้ว่าแย้ที่ใช้ศึกษานี้เป็นแย้ *L. b. belliana* (Gray) เนื่องจากมีลักษณะสันฐานวิทยาเหมือนกับแย้ที่ Taylor (1963) และ Cox และคณะ (1998) ที่ทำการศึกษาซึ่งก็พบว่าแย้ชนิดนี้อาศัยอยู่บนผืนแผ่นดินใหญ่ทางด้านตะวันออกของประเทศไทยด้วยเช่นกัน ซึ่งข้อมูลดังกล่าวมีลักษณะที่สอดคล้องกับการศึกษาเปลี่ยนแปลงของเปลือกโลกดังกล่าวที่เป็นสาเหตุที่ทำให้พื้นดินแยกออกจากกัน ทำให้แย้ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่นั้นๆ แยกออกจากกัน กลายเป็นกลุ่มประชากรที่แยกออกจากกันโดยสิ้นเชิงโดยมีน้ำทะเลเป็นตัวขวางกั้น

รูปที่ 2 พื้นที่ที่ทำการศึกษา
พื้นที่สีเขียวแสดงชนิดของหินที่เกิดขึ้นในยุคคาร์บอนิเฟอรัส-เพอเมียน



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลในช่วง 20,000 ปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน

5. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ (Cytogenetics)

การศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์เป็นการศึกษาเกี่ยวกับ จำนวน โครงสร้างและหน้าที่การทำงานของโครโมโซม โดยจะศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่าง ลักษณะ และพฤติกรรมของโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Henriques-Gil, Parker และ Puertas, 1997) นอกจากนี้การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์สามารถใช้จำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต ใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์และวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต และยังสามารถใช้ในการศึกษาโรคทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมหรือใช้ประโยชน์ในการจัดทำแผนที่ยีนบนโครโมโซม (Gaedner, Simmons และ Snustad, 1991)

การจัดทำคาริโอไทป์ สามารถทำได้โดยการย้อมสีโครโมโซม ในระยะเมทาเฟส นำมาถ่ายรูปแล้วนำภาพที่ได้มาจัดทำคาริโอไทป์ โดยนำเอาโครโมโซมแต่ละแท่งจากเซลล์ในระยะเมทาเฟสมาเรียงเป็นคู่โฮโมโลกัส (homologous) ตามลำดับ จากโครโมโซมขนาดใหญ่ไปจนถึงขนาดเล็ก การวางโครโมโซมจะวางโดยให้แขนข้างสั้นตั้งขึ้น และนิยมวางโครโมโซมเพศอยู่ที่มุมล่างขวาสุดของภาพ (อมรา คัมภิรานนท์, 2540)

วิธีการย้อมสีโครโมโซม สามารถทำได้หลายแบบ ตั้งแต่การย้อมสีแบบธรรมดา และการย้อมแถบสีโครโมโซม (chromosome banding) ซึ่งนิยมทำกันหลายเทคนิคด้วยกัน เช่น การย้อมแถบสีแบบจี และการย้อมแถบสีแบบซี (C-banding) เป็นต้น ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงวิธีการย้อมสีโครโมโซมที่นำมาใช้เฉพาะในการศึกษาครั้งนี้เท่านั้น คือ การย้อมสีแบบธรรมดา และการย้อมแถบสีแบบจี

1. <u>การย้อมสีแบบธรรมดา</u> เป็นการย้อมสีโครโมโซมที่ใช้สีประเภทย้อมติดกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) เช่น สีจิมซา (giemsa) ลักษณะโครโมโซมจะติดสีเข้มตลอดทั้งแท่ง จากการย้อมสีเช่นนี้สามารถบอกจำนวนและชนิดของโครโมโซมประจำสปีชีส์นั้นๆ ได้ และอาจบอกลักษณะพิเศษบางอย่างของโครโมโซมได้ เช่น รอยคอดแห่งที่หนึ่ง (primary constriction) รอยคอดแห่งที่สอง (secondary constriction) และ แซทิลไลท์ (satellite) อย่างไรก็ตามการติดสีของโครโมโซมดังกล่าว บางครั้งอาจพบว่ามีการติดสีที่ไม่เท่ากัน เช่น ในขณะที่โครโมโซมผ่านเข้าสู่วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) จะมีการยืดหดตัวไม่เท่ากัน ระยะใดที่หดมากจะติดสีเข้มมาก แต่ถ้าหดตัวน้อยจะติดสีจางกว่า อีกทั้งภายในแท่งโครโมโซมเดียวกันยังติดสีไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) และ ยูโครมา

ทิน (euchromatin) ดังนั้นการย้อมด้วยสีธรรมดาและโดยเฉพาะใช้สีเจือจางแล้วบางครั้งอาจตรวจพบการติดสีชนิดเข้มและจางบนโครโมโซมได้ (อมรา คัมภิรานนท์, 2540)

2. การย้อมแถบสีโครโมโซมแบบจี เป็นวิธีการที่ทำให้เกิดแถบเข้มและแถบจางบนโครโมโซม ในส่วนของยูโครมาทินและเฮเทอโรโครมาทิน โดยส่วนที่ติดสีเข้มเป็นส่วนของเฮเทอโรโครมาทิน ซึ่งเป็นส่วนที่ดีเอ็นเอมีการขดตัวกันแน่น และส่วนที่ติดสีจางเป็นส่วนของยูโครมาทิน ซึ่งเป็นส่วนที่ดีเอ็นเอขดตัวแบบหลวมๆ (Sumner, 1990) จากการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบจีนี้จะช่วยให้สามารถศึกษาโครโมโซมได้ละเอียดและถูกต้องมากขึ้นกว่าการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

6. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของแย้

จากการตรวจเอกสารพบว่ามีรายงานการศึกษาคาริโอไทป์ของแย้น้อยมาก แย้ (*L. belliana*) จะมีลักษณะของโครโมโซมแตกต่างจากสัตว์อื่นๆ ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะของโครโมโซมได้เป็น 2 แบบ คือ

1. แมคโครโครโมโซม (macrochromosome) เป็นโครโมโซมในระยะเมทาเฟสที่สามารถมองเห็นรูปร่างได้ชัดเจน (Sambamururty, 1999)
2. ไมโครโครโมโซม (microchromosome) เป็นโครโมโซมที่มีขนาดเล็กมาก ในระยะเมทาเฟสจะเห็นรูปร่างเป็นจุด ส่วนใหญ่เป็นเฮเทอโรโครมาทิน มีความแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดและประชากรที่เป็นชนิดเดียวกัน (Green, 1991)

Hall (1970 อ้างโดย โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวดนธ์ พลกนิษฐ์, 2532) ศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้ *L. belliana* พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 ประกอบด้วย แมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง นอกจากนี้ยังพบว่าเฉพาะในแย้เพศเมียเท่านั้น ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบทริพพลอยด์ (triploid) 3n=54 ประกอบด้วย แมคโครโครโมโซม 18 แท่ง และไมโครโครโมโซม 36 แท่ง อย่างไรก็ตามจากรายงานนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าแย้ที่ใช้ศึกษานั้นยังไม่ทราบชนิดและแหล่งอาศัยที่แน่นอน เพียงแต่สันนิษฐานว่าเป็นแย้ที่พ่อค้าสัตว์ป่าเก็บรวบรวมได้จากภาคเหนือของประเทศมาเลเซียหรือชายแดนติดต่อกับภาคใต้ของประเทศไทย

โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์ (2532) ได้ทำการศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้ *L. b. rubritaeniata* (Mertens) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=36 ประกอบด้วย เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม 10 แท่ง สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม 2 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ามีการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของแย้ *L. b. rubritaeniata* (Mertens) เพียงชนิดเดียว ส่วนแย้ *L. b. belliana* (Gray) ตามรายงานของ Hall (1970 อ้างโดย โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์, 2532) นั้นยังไม่ให้ข้อสรุปที่ชัดเจน เกี่ยวกับชนิดที่แท้จริงของแย้ที่ศึกษาซึ่งเชื่อว่าเป็นชนิด *L.belliana* โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์ (2532) นอกจากนี้การศึกษาดังกล่าวเป็นเพียงการศึกษาโดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาคาริโอไทป์ของแย้ *L. b. belliana* (Gray) เพื่อเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบจี แล้วนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดโครโมโซมที่ได้จากการย้อมสีแบบธรรมดาและรูปแบบของแถบสีแบบจีของแย้ *L. b. belliana* (Gray) ทั้ง 5 ประชากร ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น และเกาะไผ่ รวมทั้งพื้นที่บนผืนแผ่นดินใหญ่ทางด้านตะวันออกของประเทศไทย (พื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่) จังหวัดชลบุรี แล้ววิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี t-test จากโปรแกรม SPSS

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 สัตว์ทดลอง

แย้ *L. b. belliana* (Gray) จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ จำนวนประชากรละ 10 ตัว เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว

1.2 อุปกรณ์

1. Centrifuge
2. incubater
3. Laminar Flow
4. Water Bath
5. กล้องจุลทรรศน์
6. กล้องถ่ายรูป และฟิล์ม
7. เข็มเจาะเลือด
8. หลอดหยด (Pasture Pipete)
9. ขวดเลี้ยงเลือด
10. หลอด Centrifuge
11. Micropipete
12. JAR สำหรับย้อมสไลด์
13. สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์
14. Steride Membrane Filter 0.45 μm
15. เครื่องกรองสูญญากาศ
16. กระดาษกรอง

17. เครื่องมือผ่าตัด

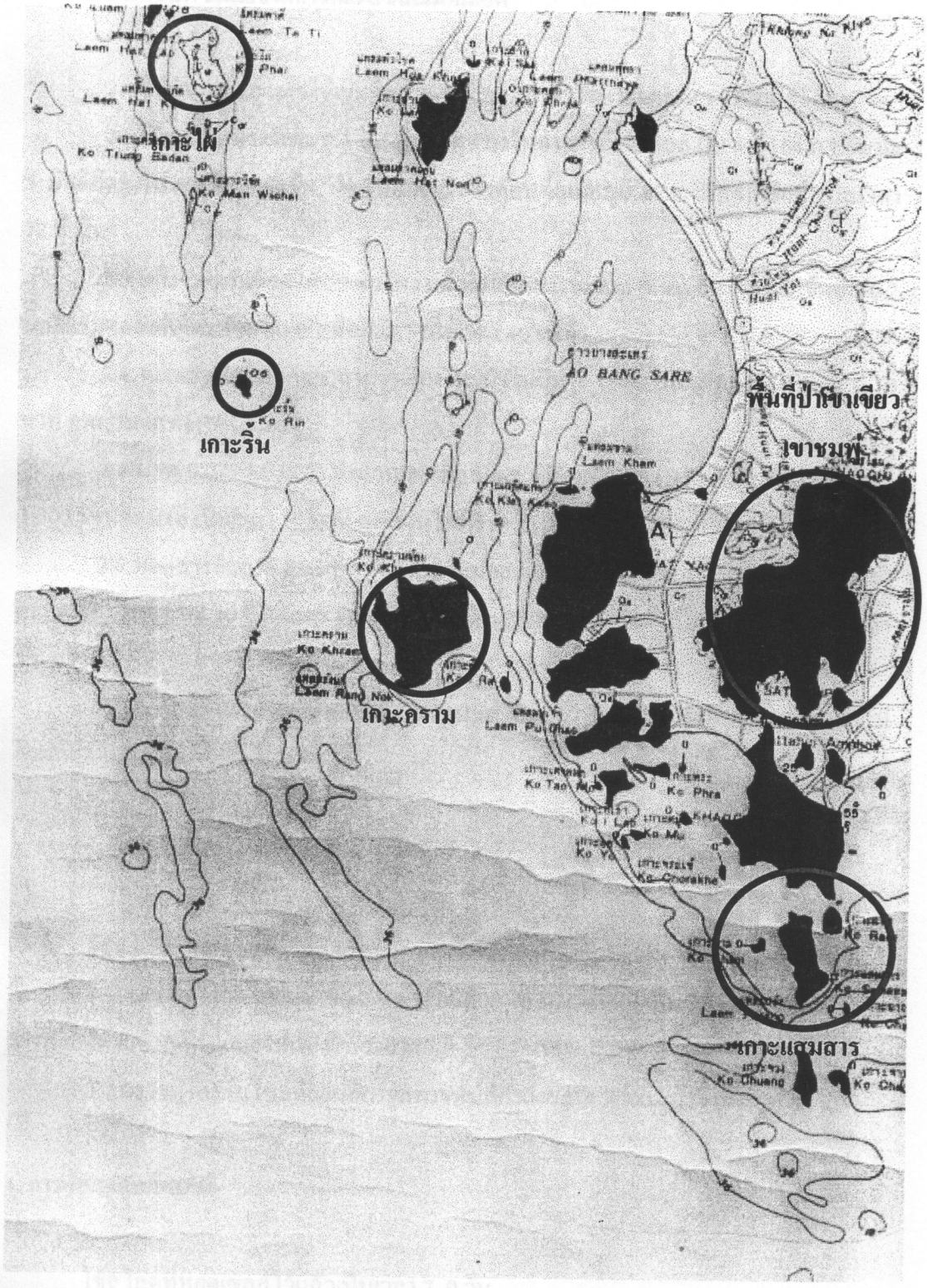
1.3 สารเคมี

1. RPMI 1640 (Seromed)
2. Pennicillin-Streptromycin
3. Fetal Bovine Serum
4. Pokeweed Mitogen (Gibco)
5. Potassium Chloride (KCl)
6. Colchicine
7. Acetic Acid Glacial
8. Methanol
9. Ether
10. Ethanol
11. Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4)
12. Disodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4)
13. Giemsa
14. 0.25 % Trypsin (Gibco)
15. Sodium Hydrogen Carbonate ($NaHCO_3$)

2 วิธีดำเนินการศึกษา

1. สถานที่เก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างแย้จาก 5 ประชากร ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ โดยแต่ละพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างมีสภาพเป็นพื้นที่ที่เป็นดินทราย มีลักษณะแห้ง โล่งเตียน และน้ำท่วมไม่ถึง จำนวนประชากรละ 10 ตัว เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 สถานที่เก็บตัวอย่างแย้ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น และเกาะไผ่
และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

2. เตรียมโครโมโซมแย้จากการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือด

2.1 ให้ยาสลบแย้ แล้วใช้เข็มฉีดยาเจาะเลือดจากหัวใจประมาณ 0.1 - 0.2 มิลลิลิตร

2.2 หยดเลือดประมาณ 0.1-0.2 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ (RPMI-1640) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ในขวดที่ปลอดเชื้อ ปิดขวดแล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2.3 หลังจากอบเลือดได้ 72 ชั่วโมง แล้วจึงหยดสารละลาย colcecine ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 40 นาที

2.4 แยกเอาเลือดออกจากอาหารเลี้ยงโดยนำไปปั่นที่ 1,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง

2.5 หยด 0.075 M KCL จำนวน 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำไปปั่นที่ 1,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง

2.6 หยดสารละลาย Fixative ที่เตรียมใหม่และแช่เย็นทีละหยดอย่างช้าๆ พร้อมทั้งเขย่าตลอดเวลา ประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นที่ 1,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 5-6 ครั้ง

2.7 หยดสารละลายเซลล์จากข้อ 2.6 ลงบนสไลด์แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศ เพื่อนำไปย้อมสีต่อไป

3. การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา

ใช้สไลด์ที่หยดเซลล์ไว้แล้วเป็นเวลา 1–3 วัน

3.1 นำสไลด์ที่เตรียมจากข้อ 2.7 มาย้อมด้วย 10 % Giemsa เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นปล่อยให้แห้งในอากาศ

3.2 ตรวจดูโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย X100 แล้วจึงถ่ายรูป

4. การย้อมแถบสีแบบจี

ใช้สไลด์ที่หยดเซลล์ไว้แล้วเป็นเวลา 7–9 วัน

4.1 นำสไลด์จากข้อ 2.7 มาจุ่มในสารละลาย 0.025 % trypsin เป็นเวลา 60 วินาที

4.2. จุ่มสไลด์ลงในสารละลาย 10 % FCS เพื่อหยุดปฏิกิริยาของ trypsin

4.3. ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่น ตามด้วย 50 % methanal

4.4. ย้อมด้วย 10 % Giemsa เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นปล่อยให้แห้งในอากาศ

4.5 ตรวจดูโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย X100 แล้วจึงถ่ายรูป

5. การวิเคราะห์โครโมโซม

5.1 หลังจากที่ตรวจดูโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้ว ทำการถ่ายรูปด้วยฟิล์มขาว-ดำ จากเซลล์ที่มีการกระจายตัวของโครโมโซมดีในระยะเมทาเฟส อัดขยายภาพเพื่อนำมาจัดคาริโอไทป์ โดยใช้เซลล์มากกว่า 70 เซลล์ขึ้นไป

5.2 นำภาพที่อัดขยายแล้วมาจับคู่โครโมโซมเพื่อจัดคาริโอไทป์ โดยการวัดความยาวแขนข้างสั้น (Ls) และแขนข้างยาวของโครโมโซม (Ll) แล้วนำมาคำนวณค่า Relative Length (RL) และ Numerical Value Centromere (NVC) ตามวิธีการของ Nishioka และคณะ (1994) ดังนี้

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

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

ซึ่งค่า RL จะช่วยในการจัดคู่โครโมโซม โดยที่ โครโมโซมที่เป็น โฮโมโลกัสกัน จะมีค่า RL เท่ากัน หรือใกล้เคียงกันมาก ส่วนค่า NVC จะช่วยในการบอกชนิดของโครโมโซม ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรูปร่างของโครโมโซมแบบต่างๆ ที่กำหนดจากค่า NVC

ชนิดของโครโมโซม	อักษรย่อ	NVC
Metacentric	m	50.00-37.50
Submetacentric	sm	37.40-25.00
Subtelocentric	st	24.09-12.50
Telocentric	t	12.40-0.00

5.3 จัดคาริโอไทป์โดยจัดตามชนิดของโครโมโซม คือ เมทาเซนทริก สับเมทาเซนทริก อะโครเซนทริกหรือสับทีโลเซนทริก และทีโลเซนทริก แล้วจึงเรียงลำดับโครโมโซมจากขนาดใหญ่ที่สุดไปยังขนาดเล็กที่สุด (Hassan, 1996 และ Volobouev และ Aniskin, 2000)

5.4 สำหรับการจัดคู่ของโครโมโซมที่ได้จากการย้อมแถบสีแบบจีนั้นจะยึดรูปแบบของแถบสีเพื่อช่วยในการจัดคู่ของโครโมโซม ส่วนการเรียงลำดับจะยึดตามรูปแบบการจัดคาริโอไทป์ที่ได้จากการย้อมสีแบบปกติ

5.5 เปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ *L. b. belliana* (Gray) ทั้ง 5 ประชากร โดยการเขียนอิดิโอแกรม (idiogram)

5.6 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดโครโมโซมที่ได้จากการย้อมสีแบบธรรมดาและรูปแบบของแถบสีแบบจีของแย้ *L. b. belliana* (Gray) ทั้ง 5 ประชากร ได้แก่ เกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ ซึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ *L. b. belliana* จากแผ่นดินใหญ่ โดยวิเคราะห์ทางสถิติ t-test จากโปรแกรม SPSS

บทที่ 4

ผลการศึกษา

1. แย้จากเกาะแสมสาร

1.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา

แย้เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะทั่วไป คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ดังแสดงในรูปที่ 5 และ 6 ซึ่งเหมือนในรายงานของ (Taylor, 1963 และ Cox และคณะ, 1998)

รูปที่ 5 แย้ (*L. b. belliana*) เพศผู้ จากเกาะแสมสาร

รูปที่ 6 แย้ (*L. b. belliana*) เพศเมีย จากเกาะแสมสาร

1.2. การย้อมสีแบบธรรมดา

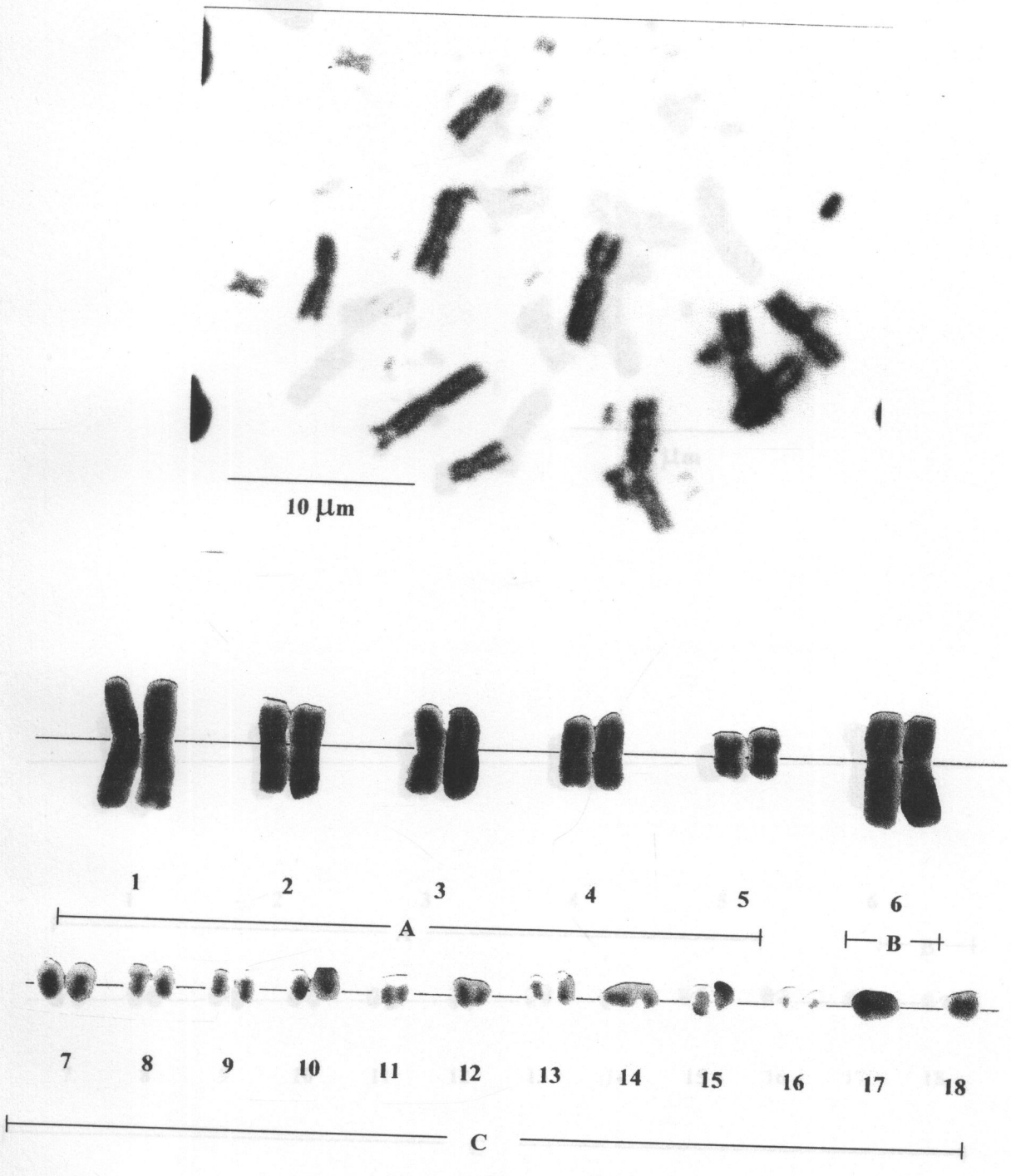
ผลการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้จากเกาะแสมสาร พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีค่า RL และ NVC เฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังแสดงในรูปที่ 7-8 โครโมโซมทั้ง 18 คู่ ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 จัดอยู่ในกลุ่ม A มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 จัดอยู่ในกลุ่ม B มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่ม C นั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สะดวกที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และจากคาริโอไทป์ที่ได้สามารถนำมาเขียนเป็นอิดิโอแกรมได้ดังแสดงในรูปที่ 9

ตารางที่ 2 ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะแสมสาร

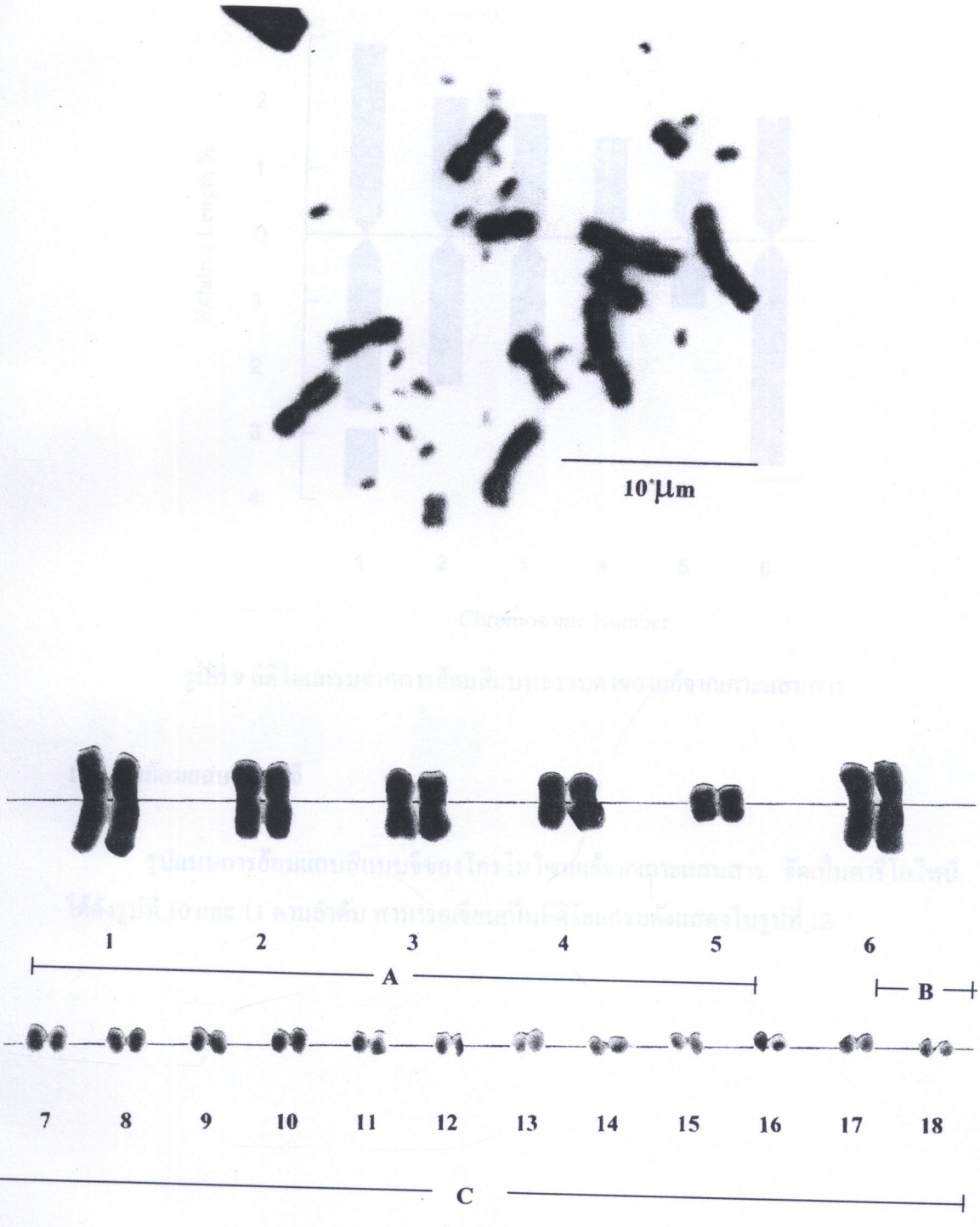
จำนวนโครโมโซม	RL ± SD	NVC ± SD	ขนาดและรูปร่าง
1	12.46±0.82	47.56±1.24	m
2	8.77±0.58	48.33±1.34	m
3	7.65±0.55	49.00±1.38	m
4	6.27±0.50	48.68±1.20	m
5	4.04±0.49	48.33±1.49	m
6	10.69±0.70	35.71±1.03	sm

m = เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

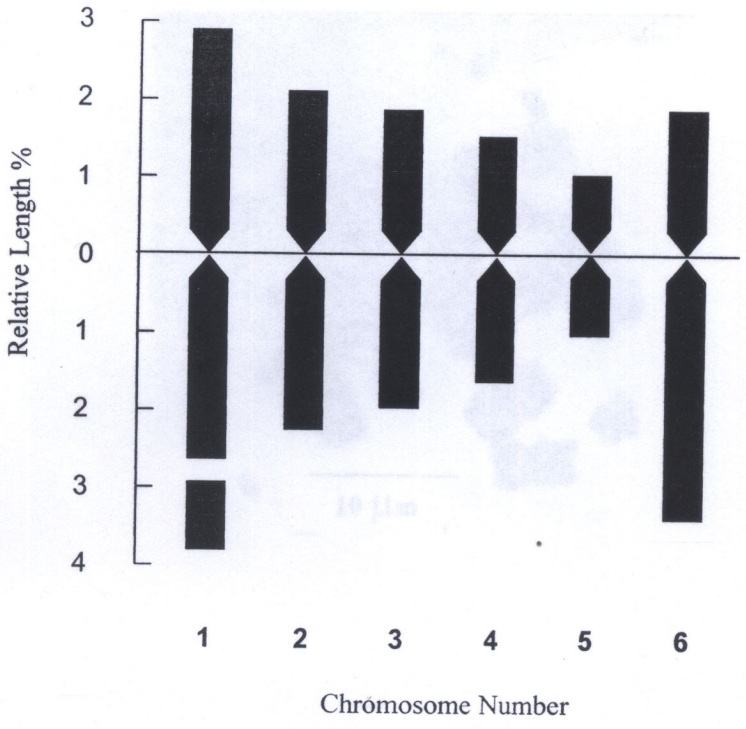
sm = สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม



รูปที่ 7 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะแสมสาร



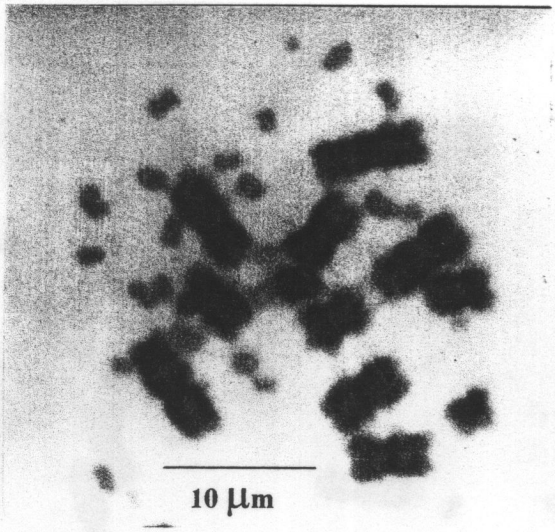
รูปที่ 8 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะแสมสาร

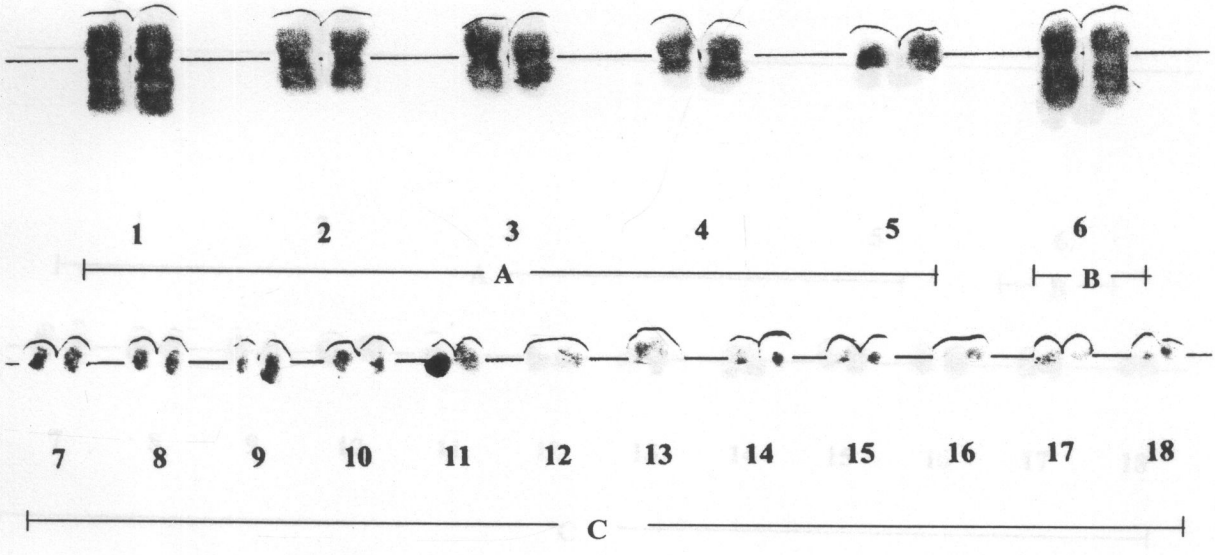


รูปที่ 9 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะแสมสาร

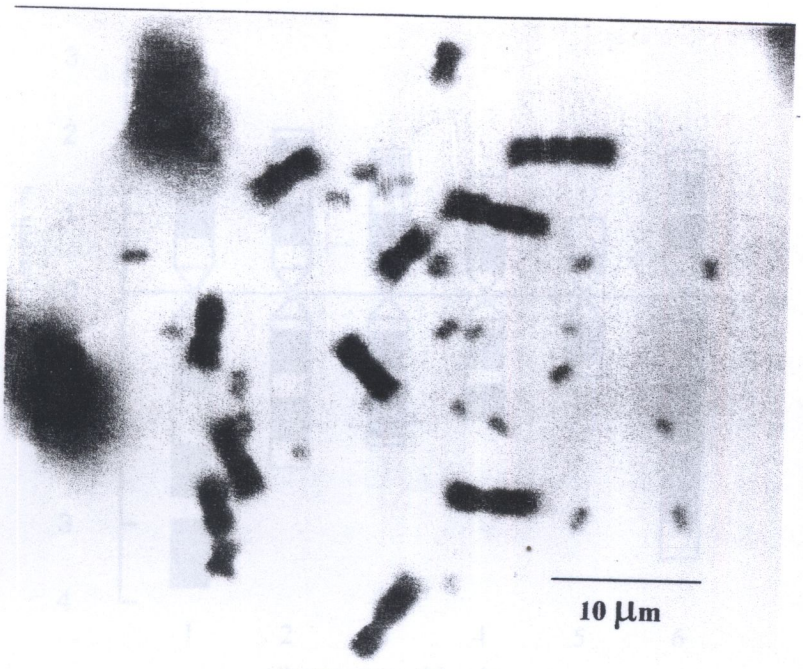
1.3. การย้อมแถบสีแบบจี

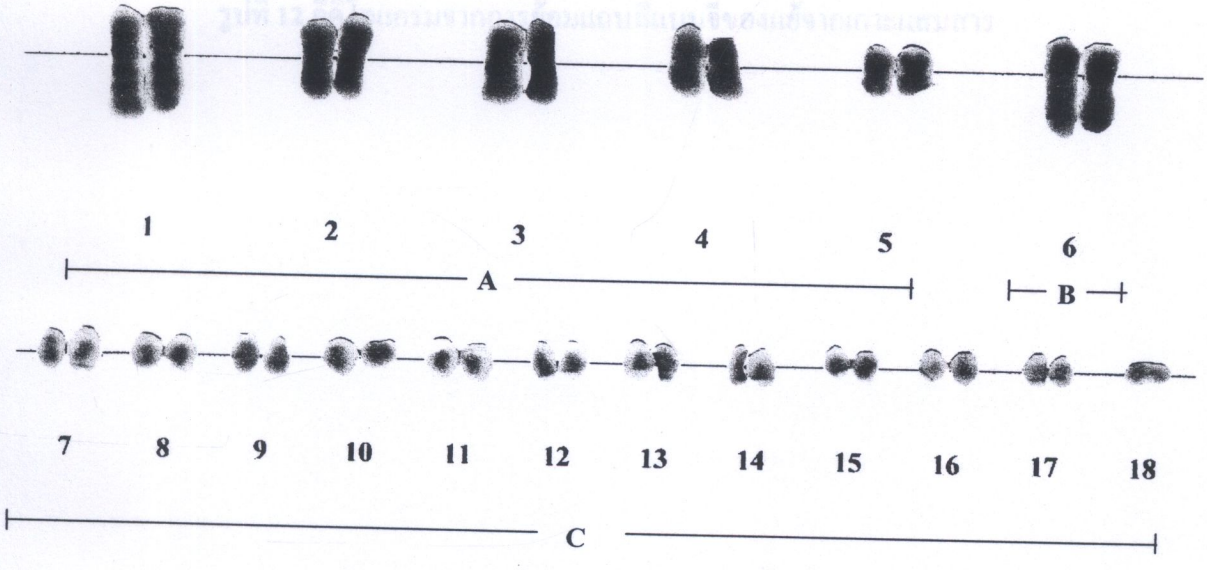
รูปแบบการย้อมแถบสีแบบจีของโครโมโซมแย้จากเกาะแสมสาร จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังรูปที่ 10 และ 11 ตามลำดับ สามารถเขียนเป็นอิดิโอแกรมดังแสดงในรูปที่ 12



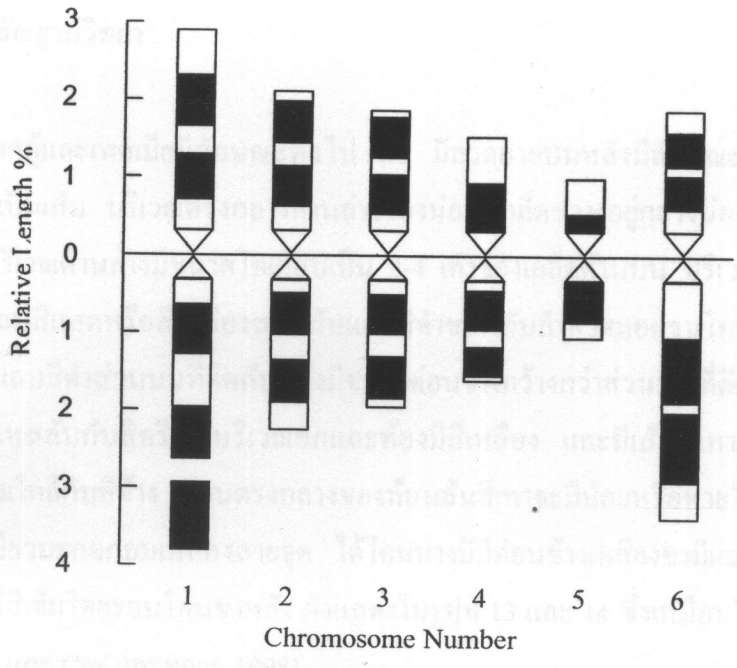


รูปที่ 10 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศผู้ จากเกาะแสมสาร





รูปที่ 11 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศเมีย จากเกาะแสมสาร



รูปที่ 12 อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะแสมสาร

2. แย้จากเกาะคราม

2.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา

แย้เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะทั่วไป คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ดังแสดงในรูปที่ 13 และ 14 ซึ่งเหมือนในรายงานของ (Taylor, 1963 และ Cox และคณะ, 1998)

รูปที่ 13 แย้ (*L. b. belliana*) เพศผู้ จากเกาะคราม

รูปที่ 14 แย้ (*L. b. belliana*) เพศเมีย จากเกาะคราม

2.2. การย้อมสีแบบธรรมดา

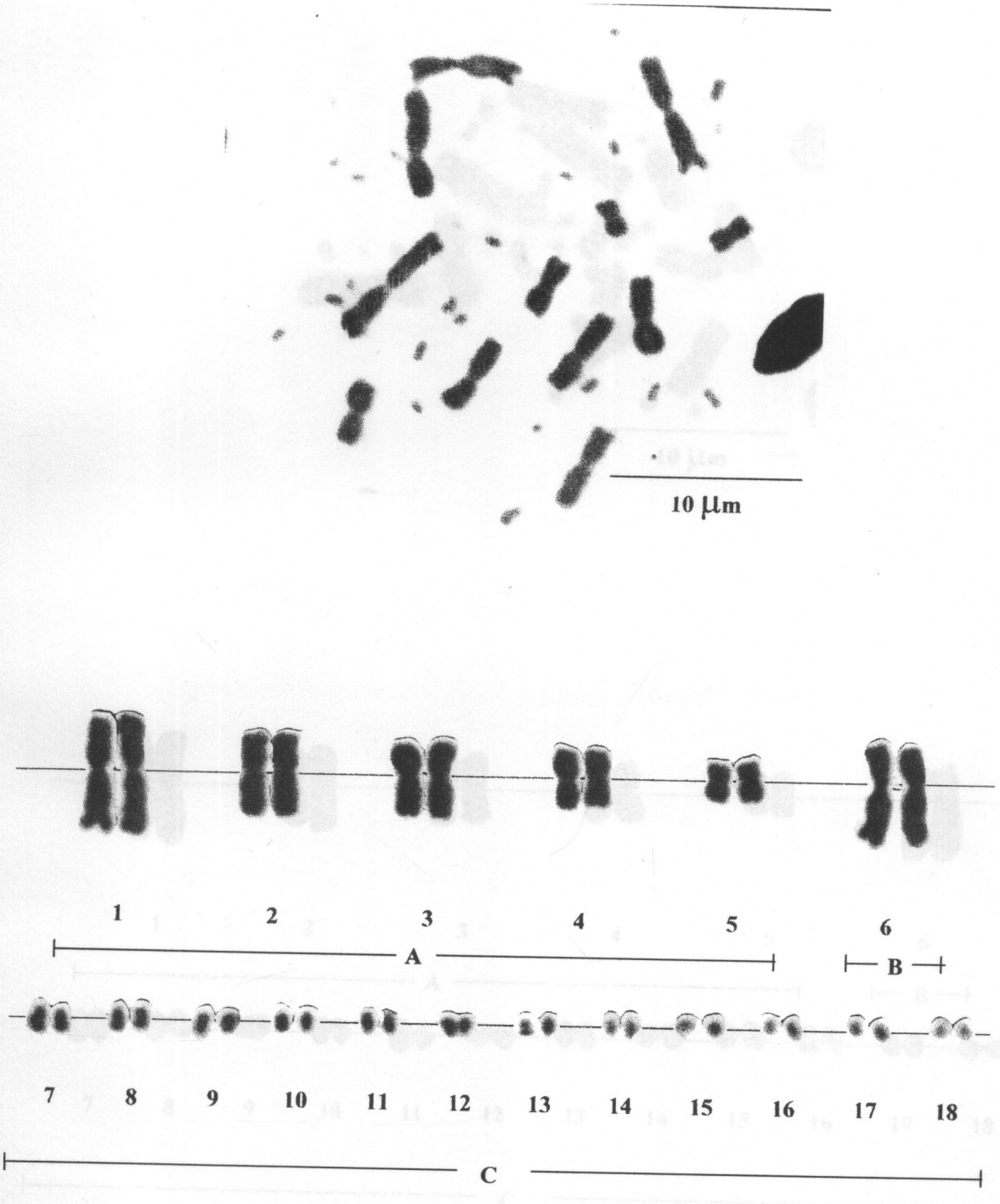
ผลการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้จากเกาะคราม พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีค่า RL และ NVC เฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังแสดงในรูปที่ 15 และ 16 โครโมโซมทั้ง 18 คู่ ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 จัดอยู่ในกลุ่ม A มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 จัดอยู่ในกลุ่ม B มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่ม C นั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สะดวกที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และจากคาริโอไทป์ที่ได้สามารถนำมาเขียนเป็นอิดิโอแกรมได้ดังแสดงในรูปที่ 17

ตารางที่ 3 ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะคราม

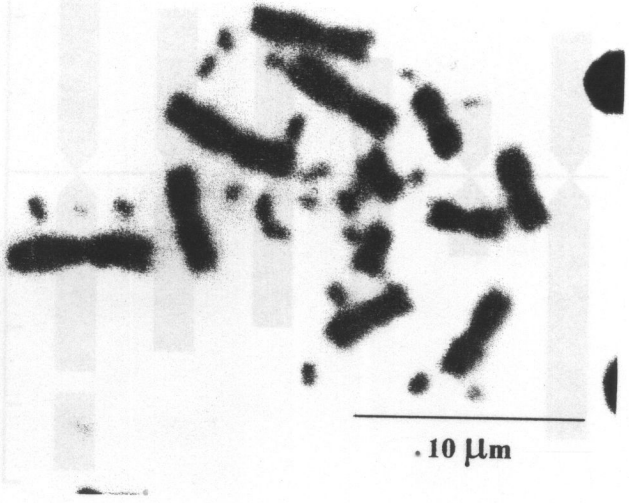
จำนวนโครโมโซม	RL ± SD	NVC ± SD	ขนาดและรูปร่าง
1	12.46±0.66	47.00±1.48	m
2	8.95±1.36	48.33±3.08	m
3	7.65±0.41	47.69±1.77	m
4	6.28±0.35	48.12±1.64	m
5	4.01±0.30	48.44±1.48	m
6	10.66±0.59	35.33±1.35	sm

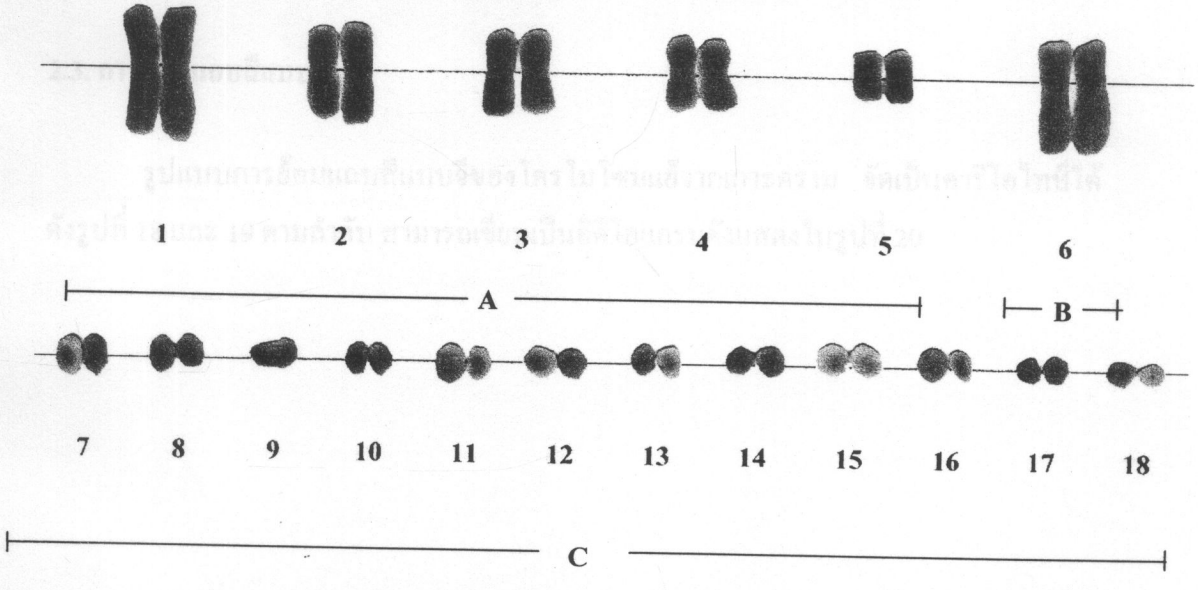
m = เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

sm = สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

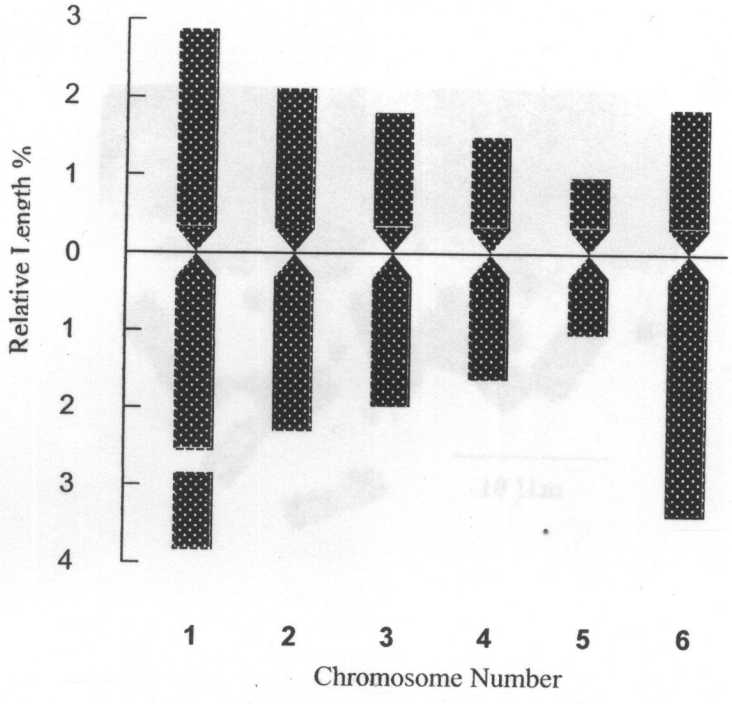


รูปที่ 15 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะคราม





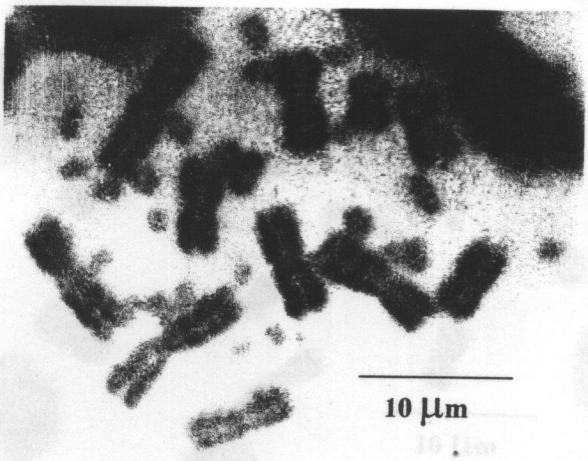
รูปที่ 16 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะคราม

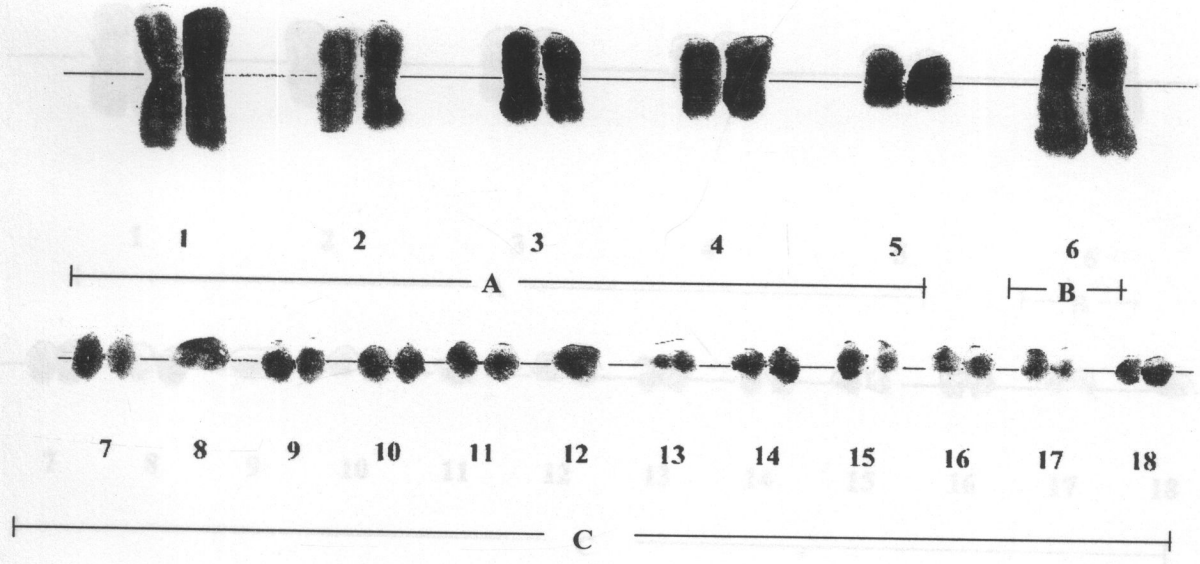


รูปที่ 17 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะคราม

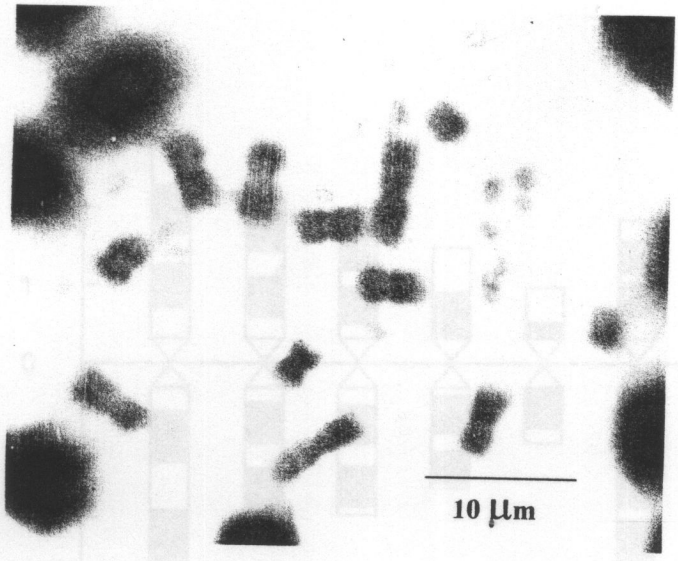
2.3. การย้อมแถบสีแบบจี

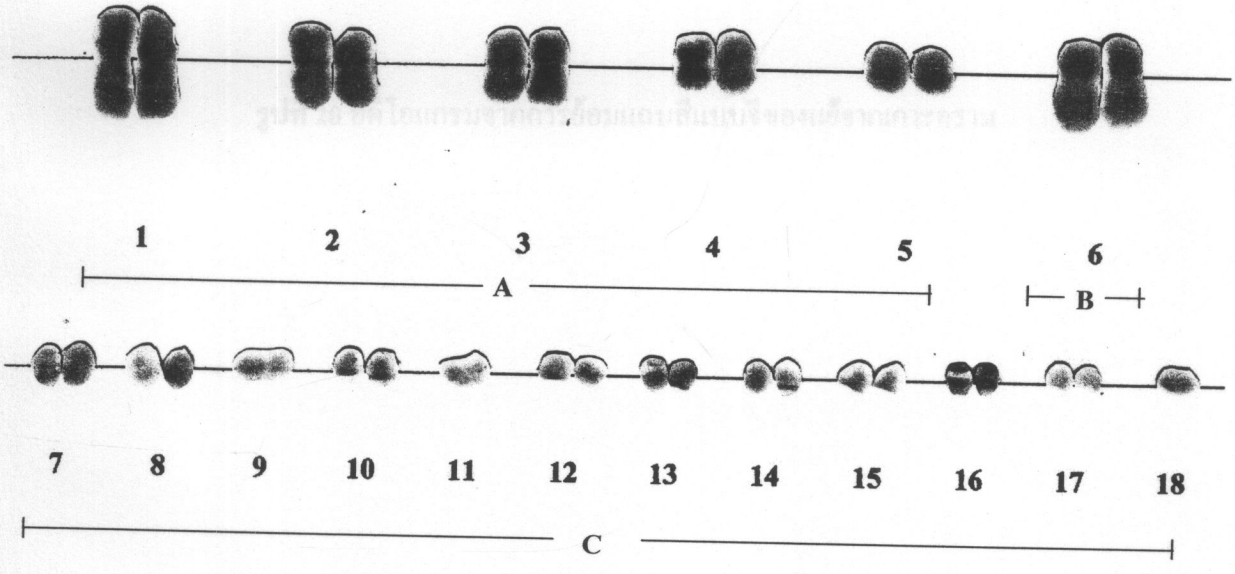
รูปแบบการย้อมแถบสีแบบจีของโครโมโซมแย้จากเกาะคราม จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังรูปที่ 18 และ 19 ตามลำดับ สามารถเขียนเป็นอิดิโอแกรมดังแสดงในรูปที่ 20



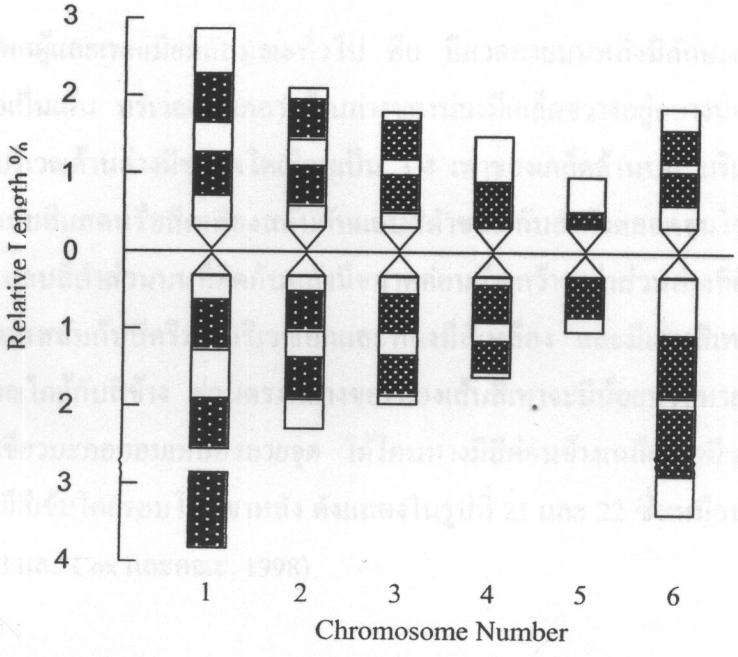


รูปที่ 18 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศผู้ จากเกาะคราม





รูปที่ 19 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศเมีย จากเกาะคราม

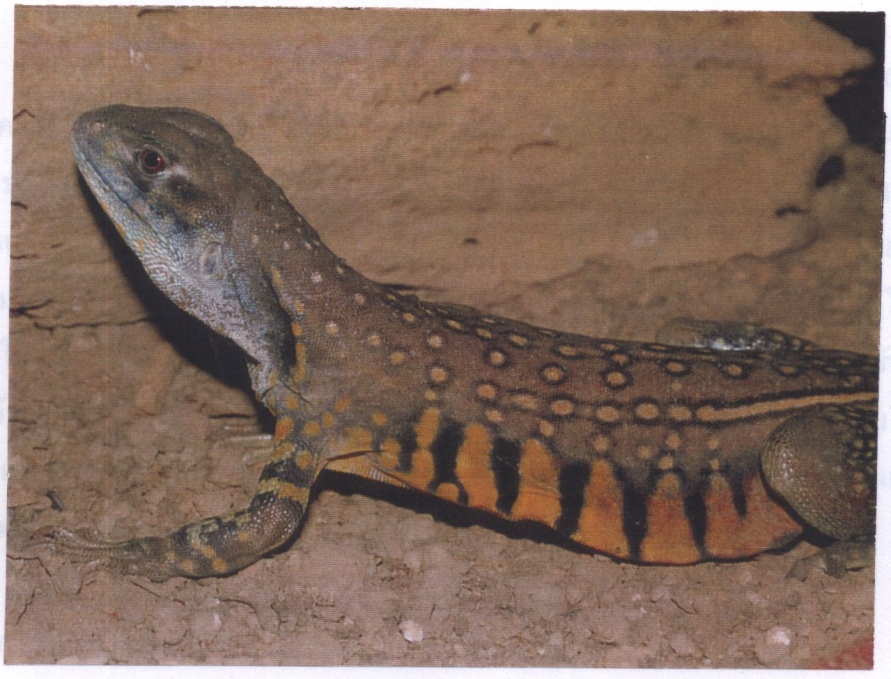


รูปที่ 20 อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะคราม

3. แย้จากเกาะริ้น

3.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา

แย้เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะทั่วไป คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ดังแสดงในรูปที่ 21 และ 22 ซึ่งเหมือนในรายงานของ (Taylor, 1963 และ Cox และคณะ, 1998)



รูปที่ 21 แย้ (*L. b. belliana*) เพศผู้ จากเกาะริ้น

รูปที่ 22 แย้ (*L. b. belliana*) เพศเมีย จากเกาะริ้น

3.2. การย้อมสีแบบธรรมดา

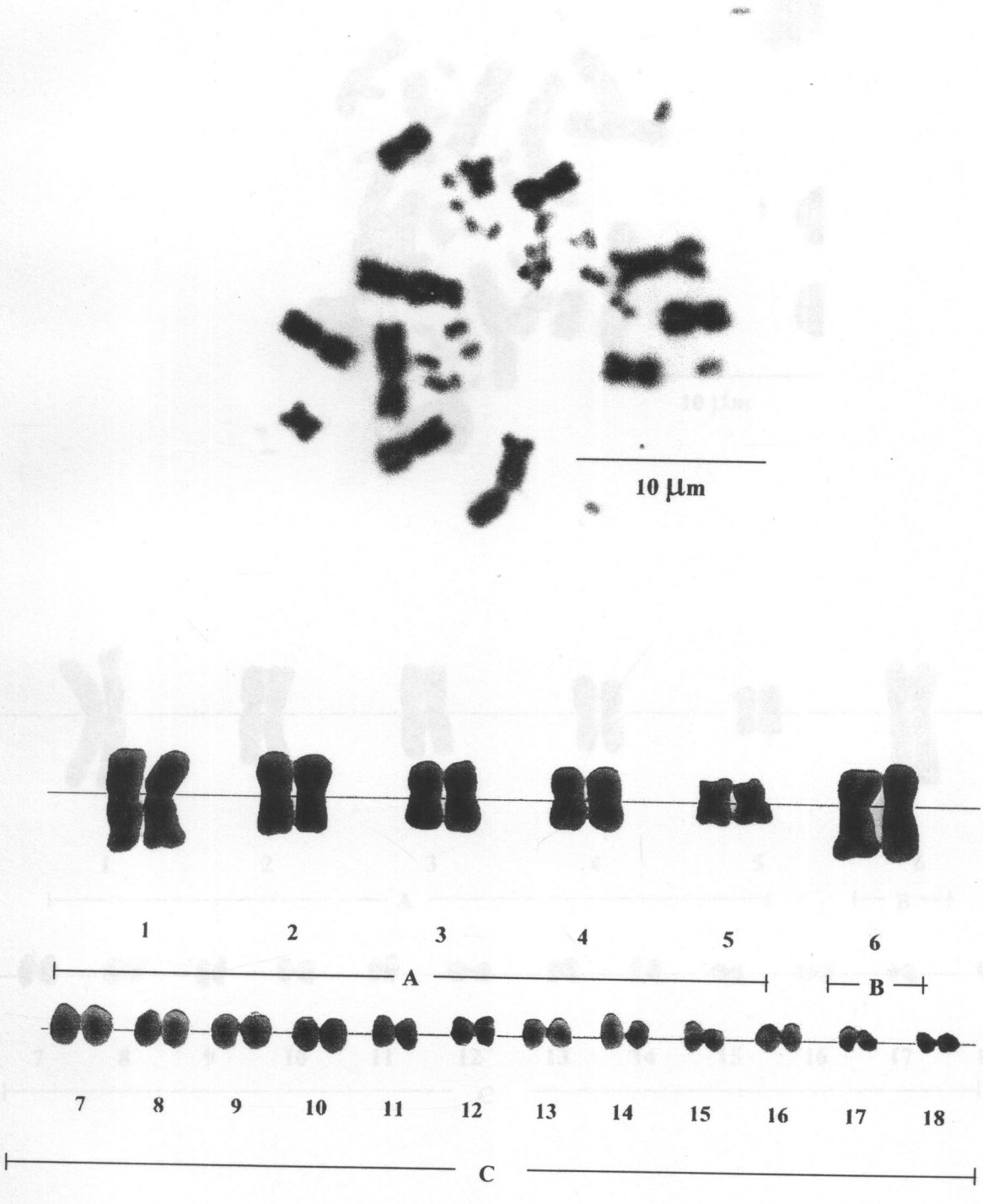
ผลการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้จากเกาะริ้น พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีค่า RL และ NVC เฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังแสดงในรูปที่ 23 และ 24 โครโมโซมทั้ง 18 คู่ ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 จัดอยู่ในกลุ่ม A มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 จัดอยู่ในกลุ่ม B มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่ม C นั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สะดวกที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และจากคาริโอไทป์ที่ได้สามารถนำมาเขียนเป็นอิดิโอแกรมได้ดังแสดงในรูปที่ 25

ตารางที่ 4 ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะริ้น

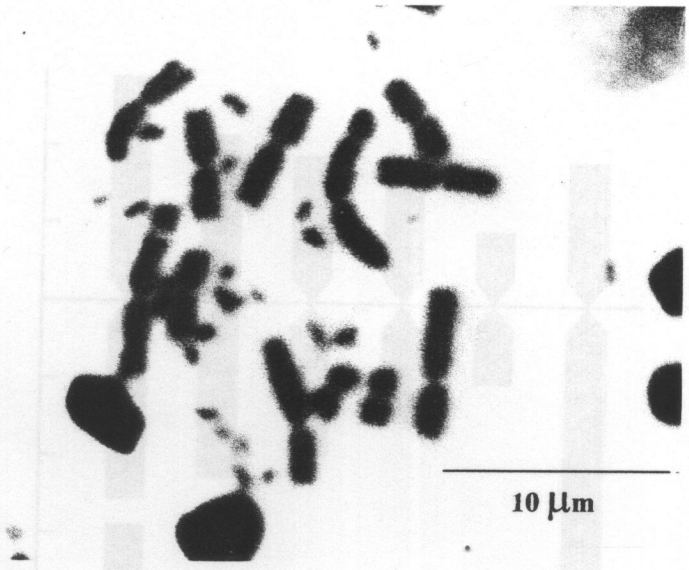
จำนวนโครโมโซม	RL ± SD	NVC ± SD	ขนาดและรูปร่าง
1	12.52±0.48	47.29±1.33	m
2	8.96±0.30	48.61±1.48	M
3	7.80±0.27	48.97±1.34	m
4	6.20±0.30	48.83±1.34	m
5	3.86±0.41	48.18±1.99	m
6	10.66±0.53	35.23±1.22	sm

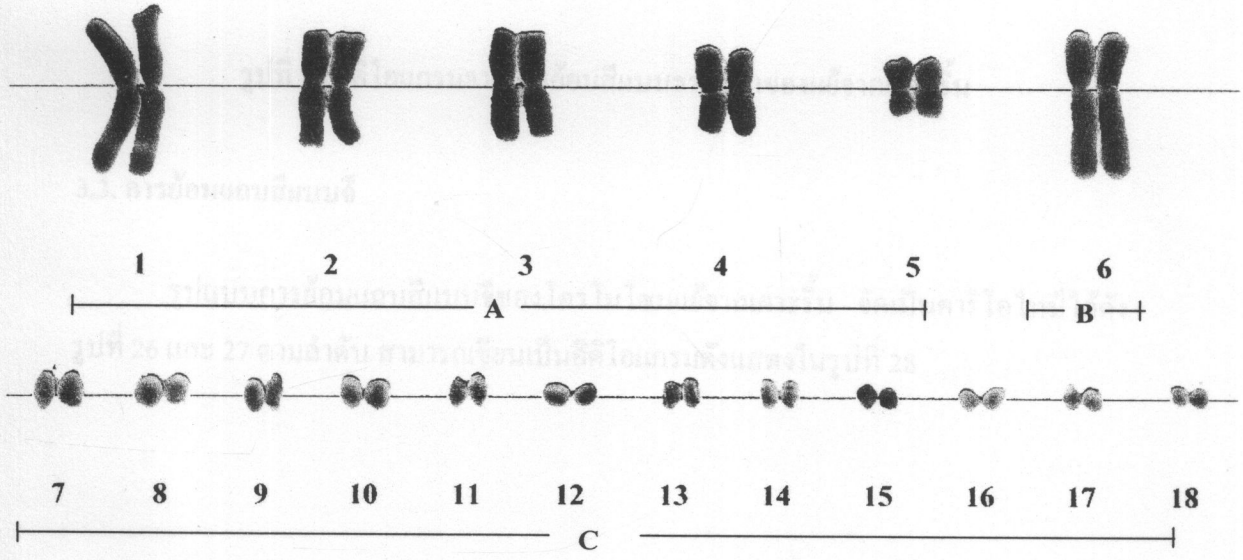
m = เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

sm = สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

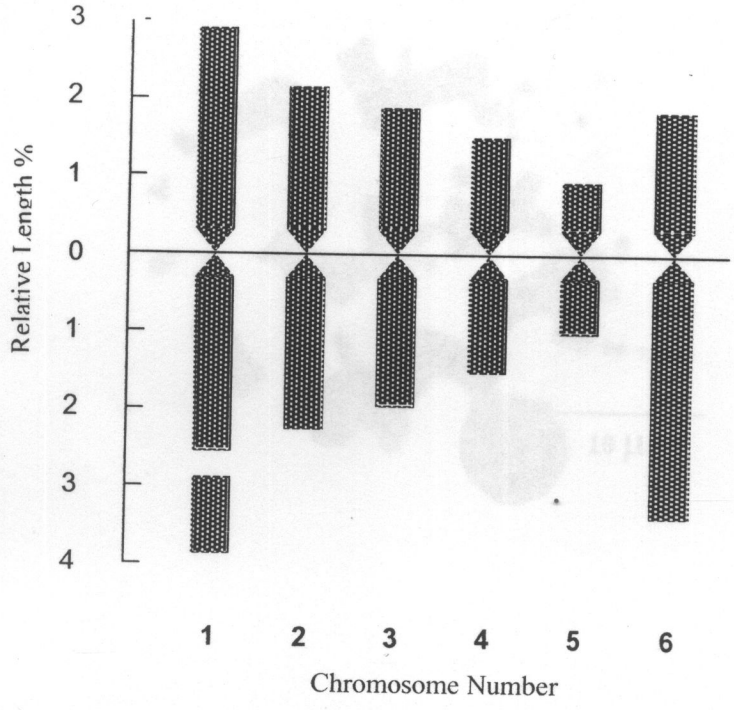


รูปที่ 23 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะริ้น





รูปที่ 24 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะริ้น

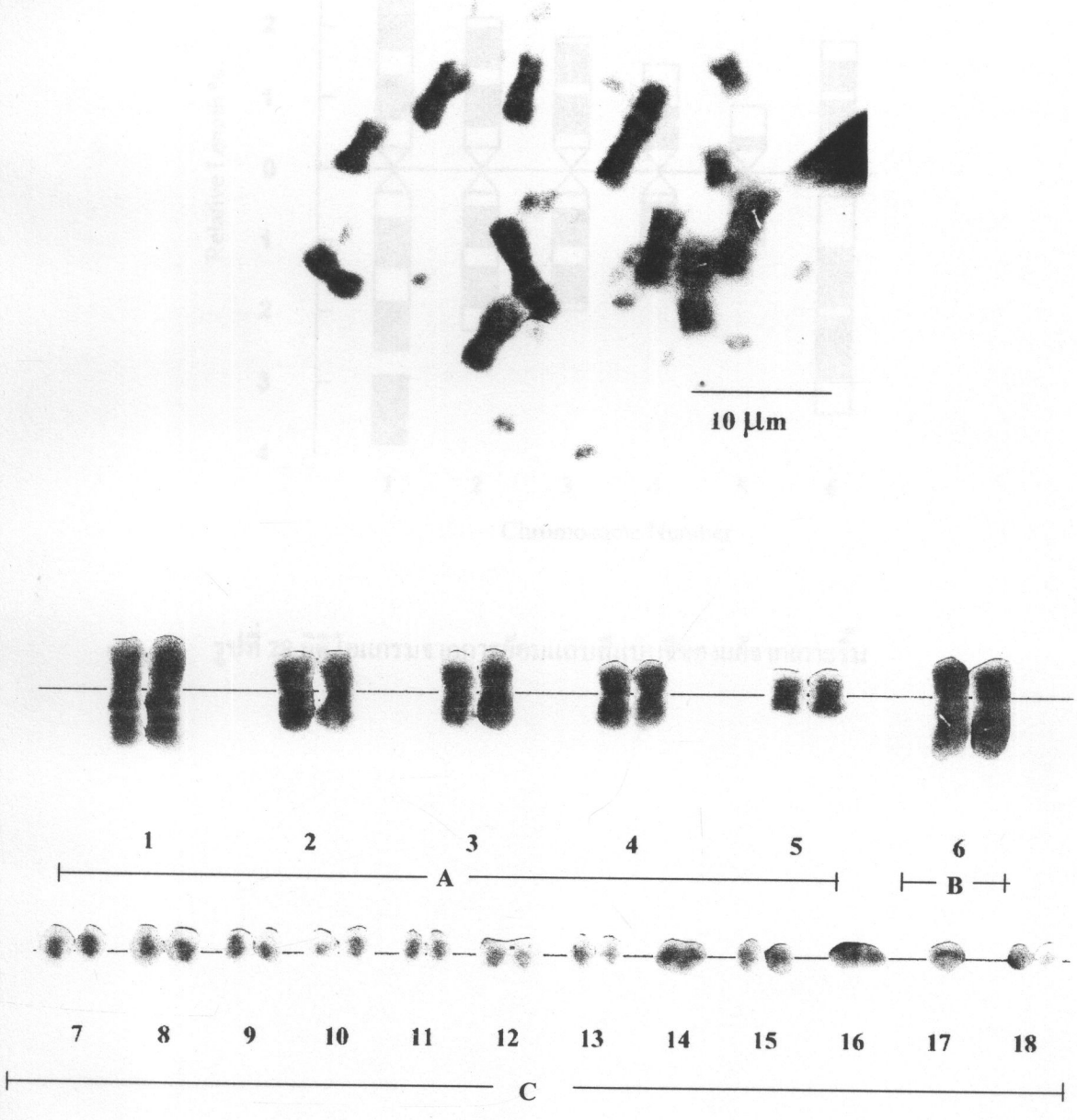


รูปที่ 25 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะริ้น

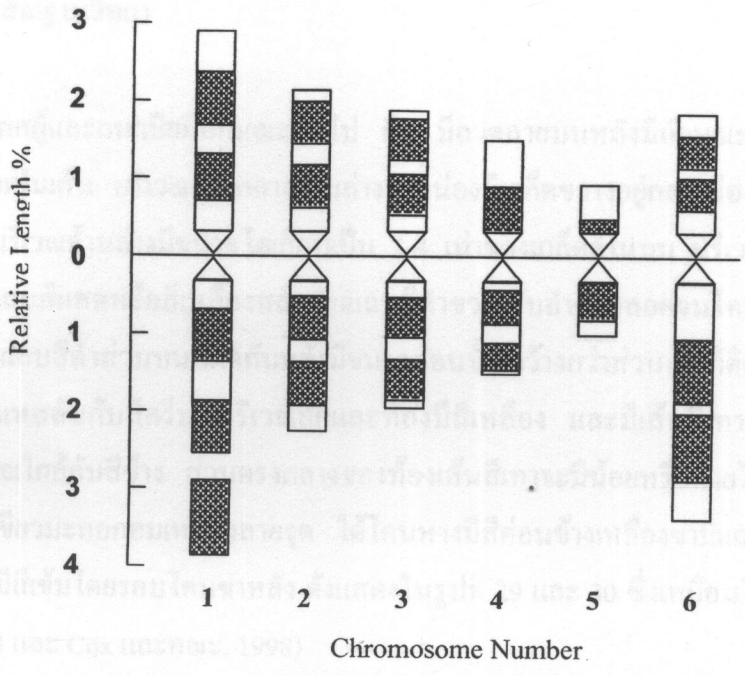
3.3. การย้อมแถบสีแบบจี

รูปแบบการย้อมแถบสีแบบจีของโครโมโซมแย้จากเกาะริ้น จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังรูปที่ 26 และ 27 ตามลำดับ สามารถเขียนเป็นอิดิโอแกรมดังแสดงในรูปที่ 28

รูปที่ 26 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศผู้ จากเกาะริ้น



รูปที่ 27 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศเมีย จากเกาะริ้น



รูปที่ 28 อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะริ้น

4. แย้จากเกาะไผ่

4.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา

แย้เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะทั่วไป คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ดังแสดงในรูปที่ 29 และ 30 ซึ่งเหมือนในรายงานของ (Taylor, 1963 และ Cox และคณะ, 1998)

รูปที่ 29 แย้ (*L. b. belliana*) เพศผู้ จากเกาะไผ่

รูปที่ 30 แย้ (*L. b. belliana*) เพศเมีย จากเกาะไผ่

4.2. การย้อมสีแบบธรรมดา

ผลการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้จากเกาะไผ่ พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีค่า RL และ NVC เฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังแสดงในรูปที่ 31 และ 32 โครโมโซมทั้ง 18 คู่ ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 จัดอยู่ในกลุ่ม A มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 จัดอยู่ในกลุ่ม B มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันคารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่ม C นั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สะดวกที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และจากคาริโอไทป์ที่ได้สามารถนำมาเขียนเป็นอิดิโอแกรมได้ดังแสดงในรูปที่ 33

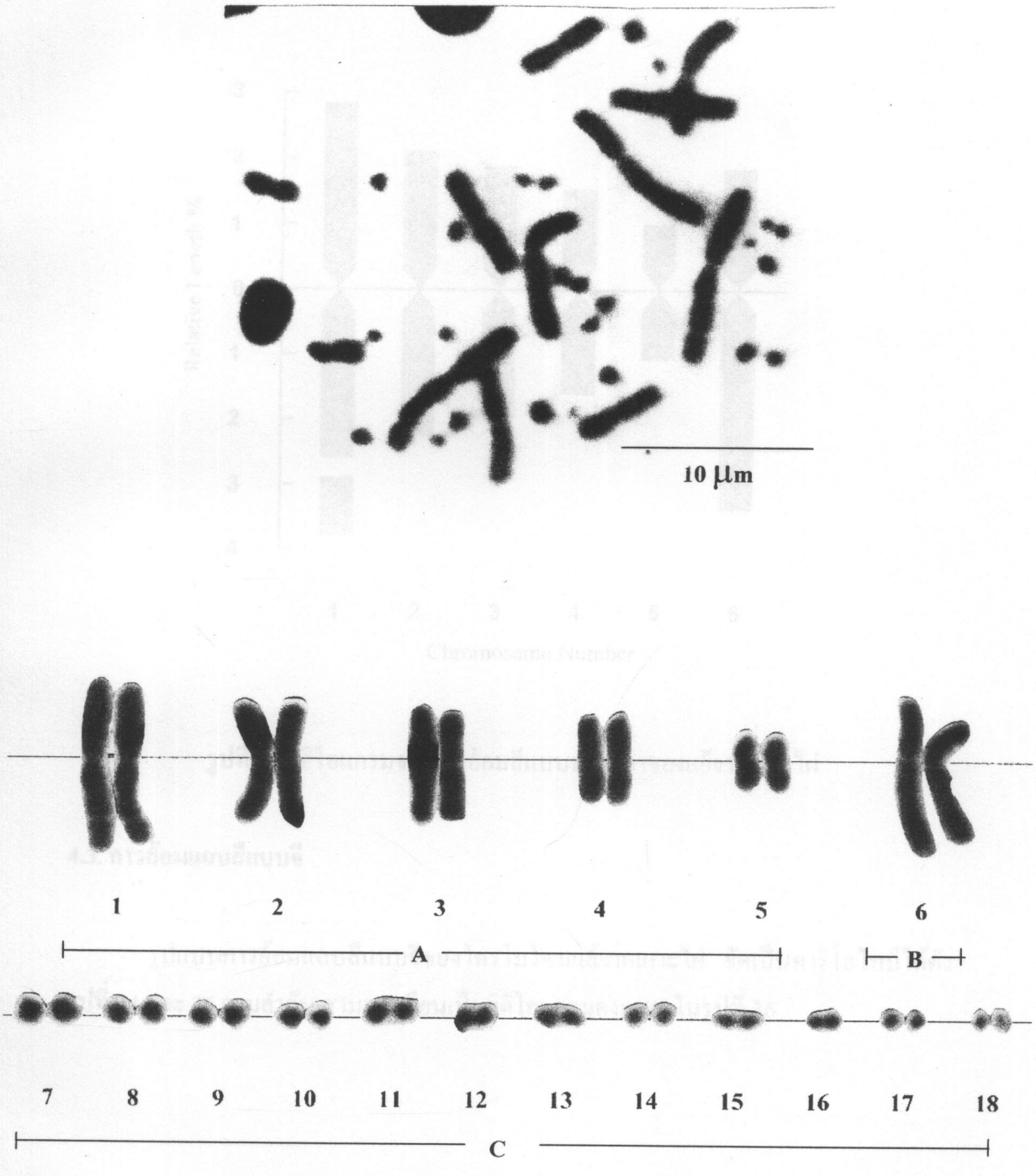
ตารางที่ 5 ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะไผ่

จำนวนโครโมโซม	RL ± SD	NVC ± SD	ขนาดและรูปร่าง
1	12.27±0.57	47.27±1.33	m
2	8.84±0.34	48.57±1.41	m
3	7.81±0.30	48.97±1.37	m
4	6.33±0.31	49.02±1.29	m
5	4.11±0.33	48.43±1.50	m
6	10.59±0.48	35.31±1.47	sm

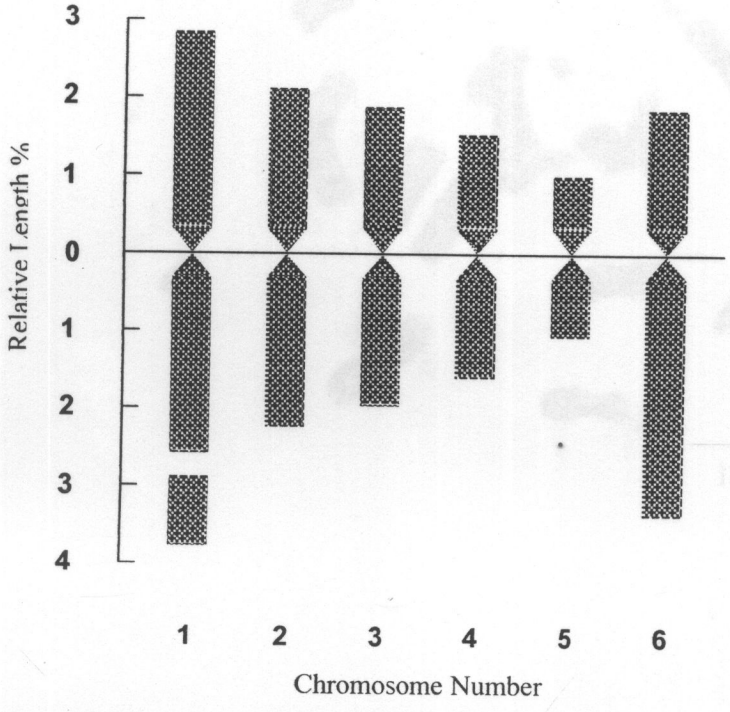
m = เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

sm = สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

รูปที่ 31 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้ จากเกาะไผ่



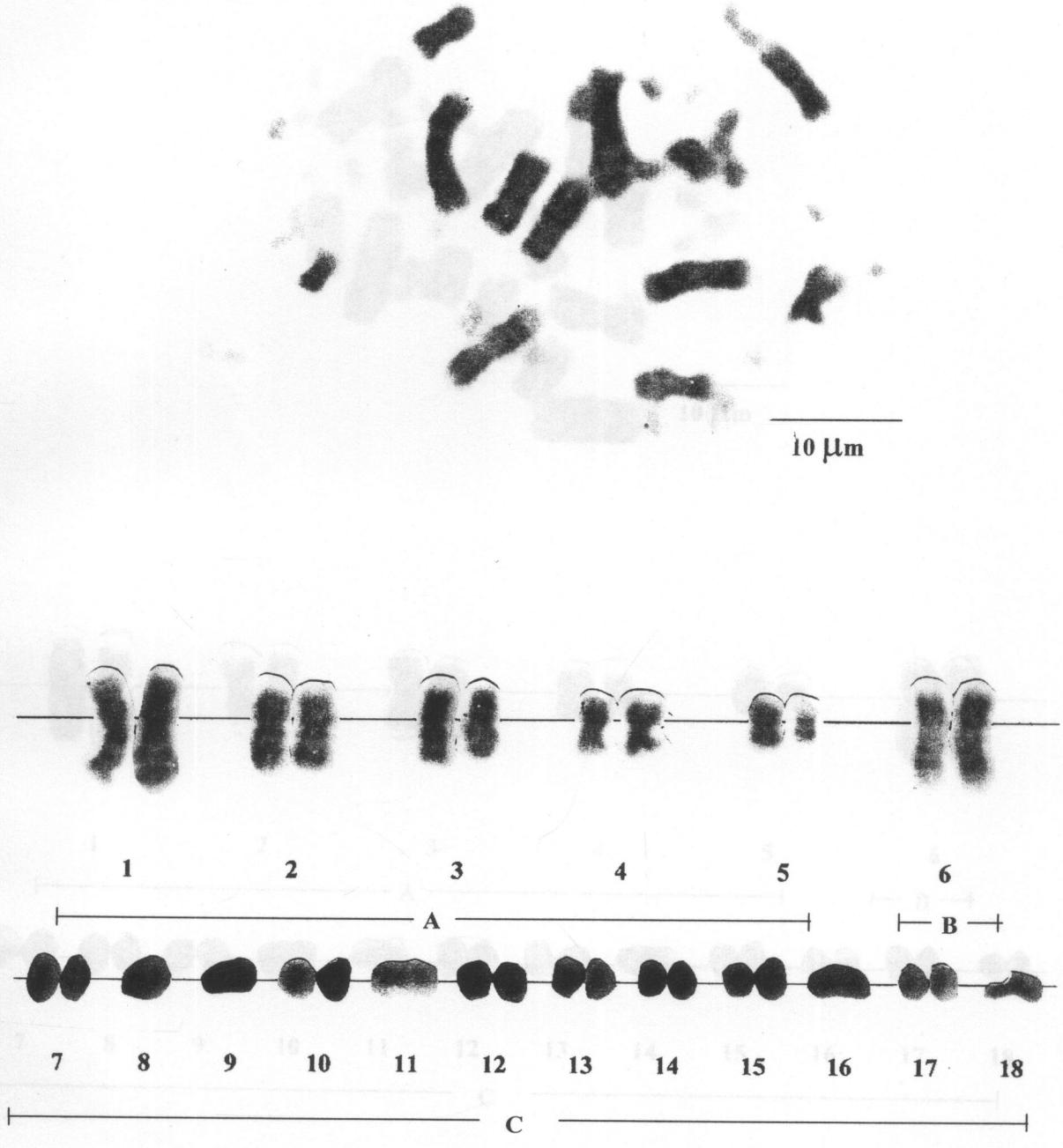
รูปที่ 32 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย จากเกาะไผ่



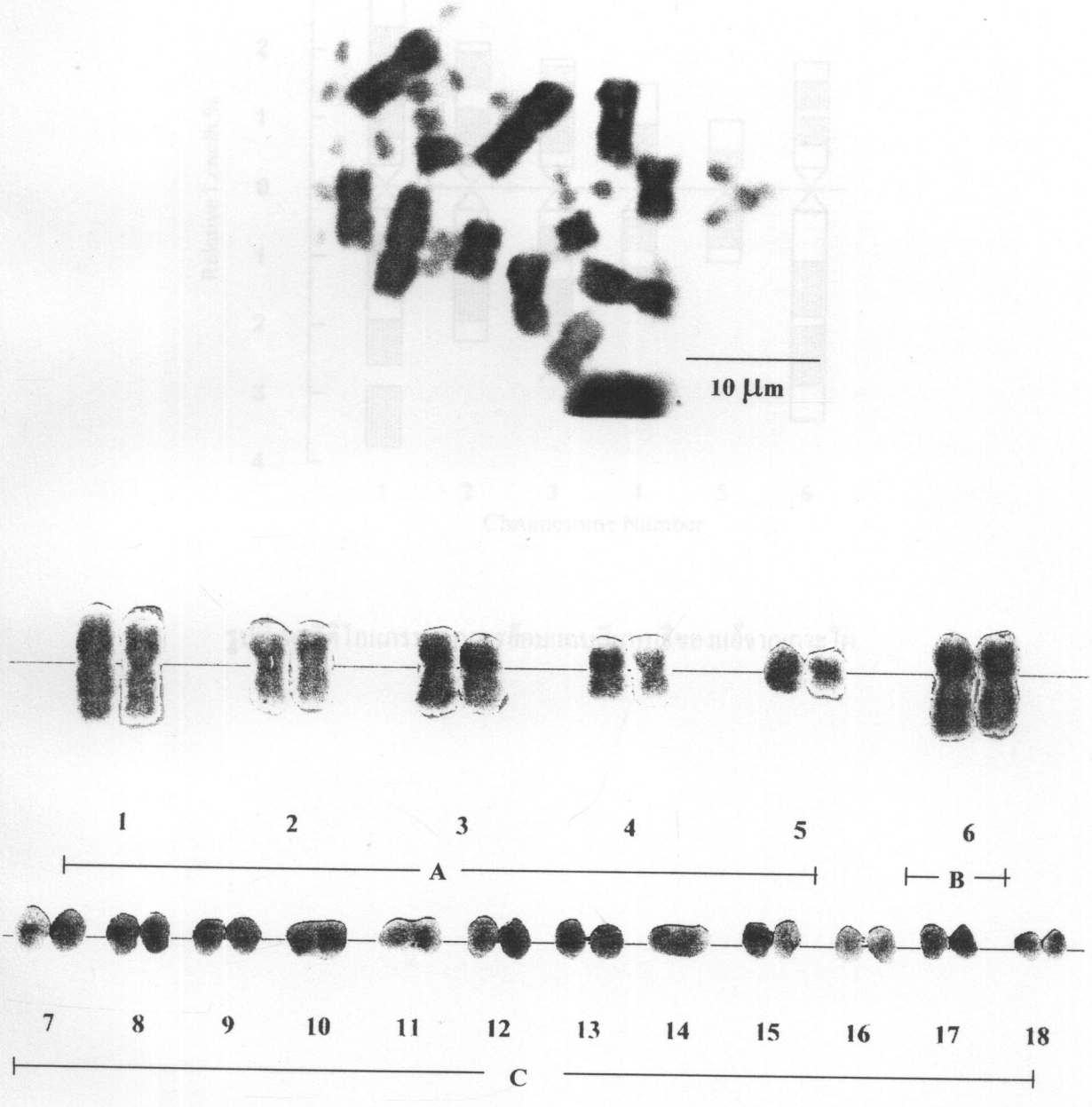
รูปที่ 33 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะไผ่

4.3. การย้อมแถบสีแบบจี

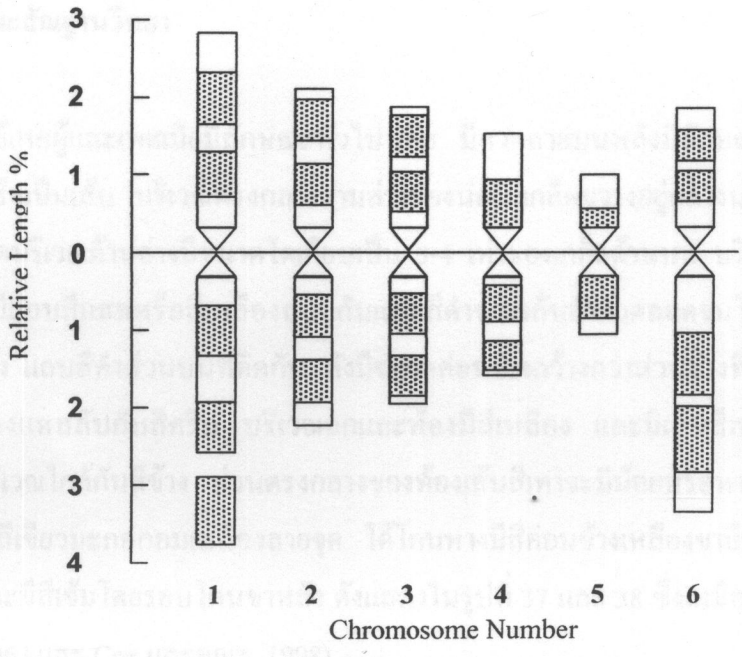
รูปแบบการย้อมแถบสีแบบจีของโครโมโซมแย้จากเกาะไผ่ จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังรูปที่ 34 และ 35 ตามลำดับ สามารถเขียนเป็นอิดิโอแกรมดังแสดงในรูปที่ 36



รูปที่ 34 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศผู้ จากเกาะไผ่



รูปที่ 35 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศเมีย จากเกาะไผ่



รูปที่ 36 อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะไผ่

5. แย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

5.1. ลักษณะสัณฐานวิทยา

แย้เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะทั่วไป คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน บริเวณสีข้างทั้งสองของลำตัวมีแถบสีแสดหรือสีเหลืองสลับกับแถบสีดำขวางกับลำตัวตลอดจนโคนขาหน้าจนถึงโคนขาหลัง แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลืองขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ดังแสดงในรูปที่ 37 และ 38 ซึ่งเหมือนในรายงานของ (Taylor, 1963 และ Cox และคณะ, 1998)

รูปที่ 37 แย้ (*L. b. belliana*) **เพศผู้ จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่**

รูปที่ 38 แย้ (*L. b. belliana*) **เพศเมีย จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่**

5.2. การย้อมสีแบบธรรมดา

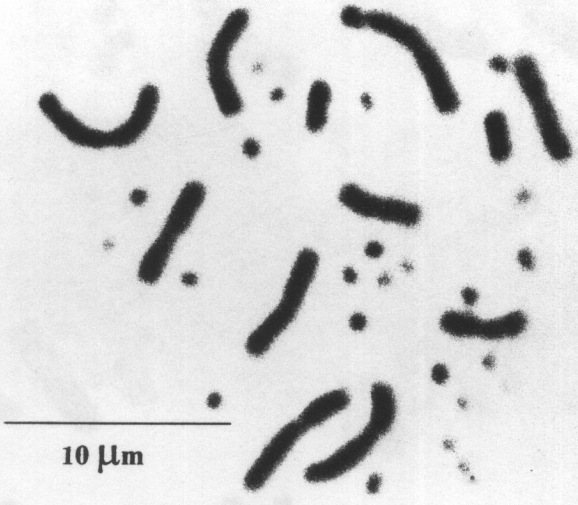
ผลการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีค่า RL และ NVC เฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังแสดงในรูปที่ 39 และ 40 โครโมโซมทั้ง 18 คู่ ประกอบด้วยแมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 จัดอยู่ในกลุ่ม A มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 จัดอยู่ในกลุ่ม B มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่ม C นั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สะดวกที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม และจากคาริโอไทป์ที่ได้สามารถนำมาเขียนเป็นอิดิโอแกรมได้ดังแสดงในรูปที่ 41

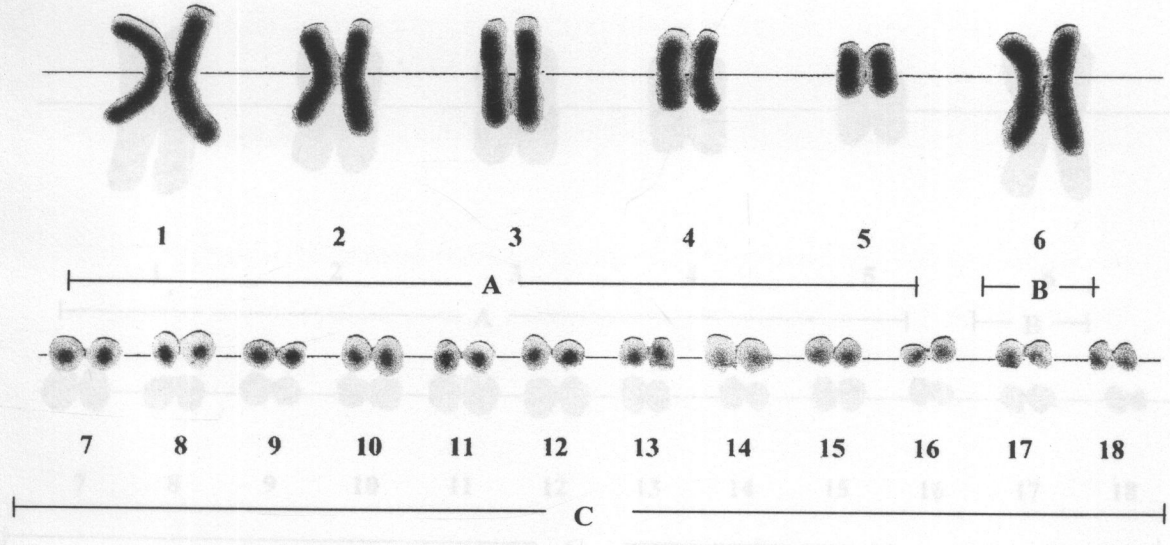
ตารางที่ 6 ค่า RL และ NVC จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

จำนวนโครโมโซม	RL ± SD	NVC ± SD	ขนาดและรูปร่าง
1	12.24±0.48	47.97±1.13	m
2	8.89±0.48	48.78±1.22	m
3	7.70±0.31	49.16±1.09	m
4	6.26±0.30	49.24±0.97	m
5	4.13±0.32	48.51±1.89	m
6	10.65±0.62	35.41±1.22	sm

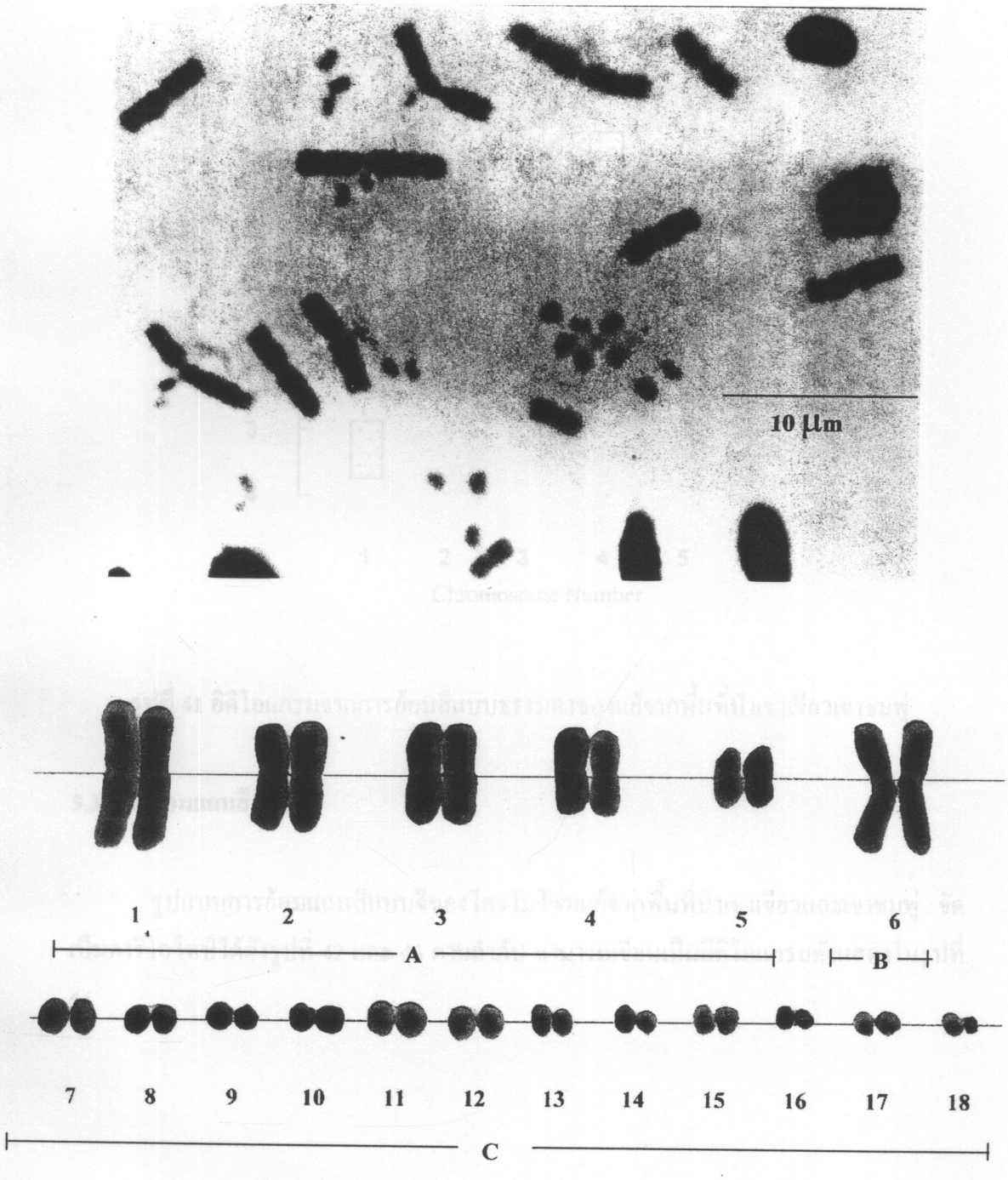
m = เมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

sm = สับเมทาเซนทริกแมคโครโครโมโซม

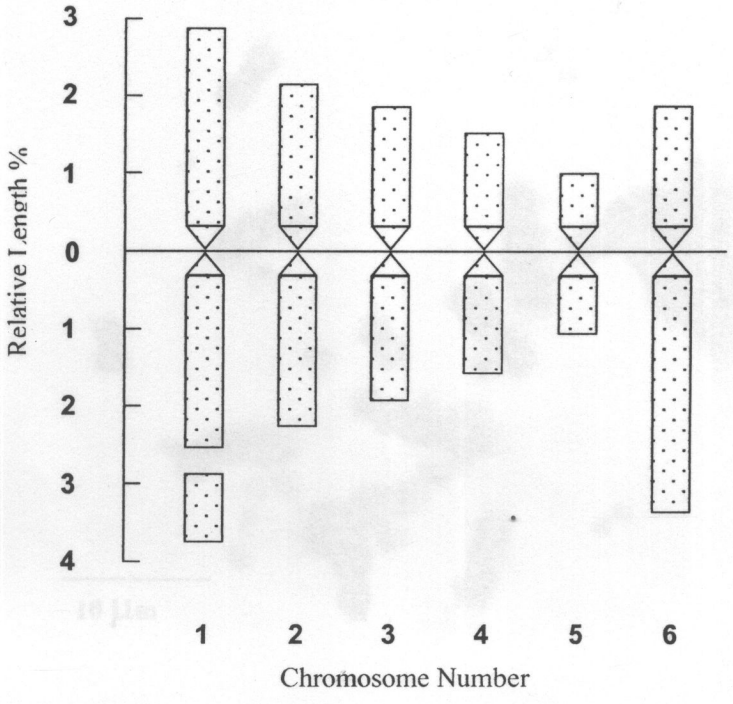




รูปที่ 39 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศผู้
จากพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่



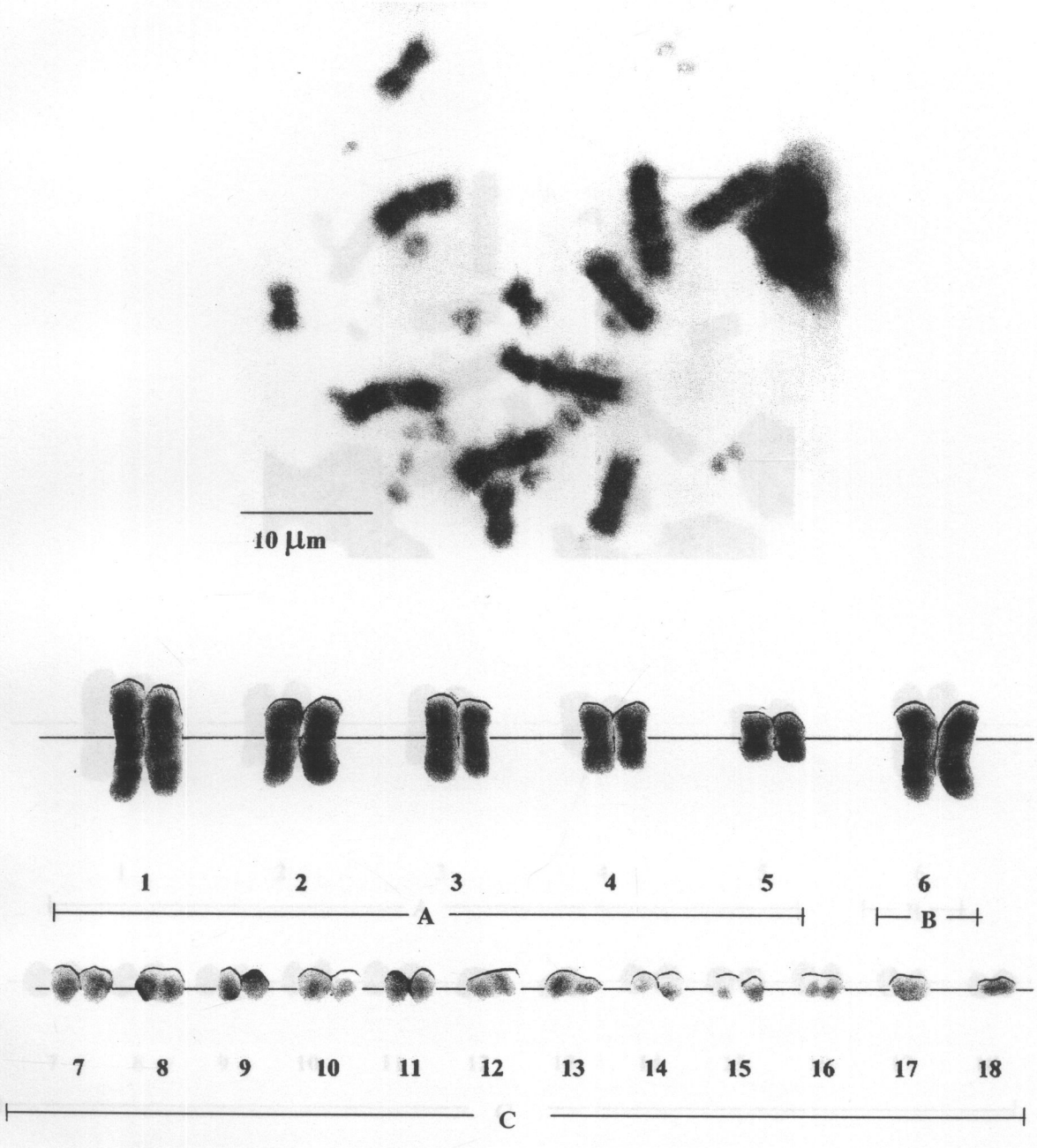
รูปที่ 40 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์ของแย้เพศเมีย
จากพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่



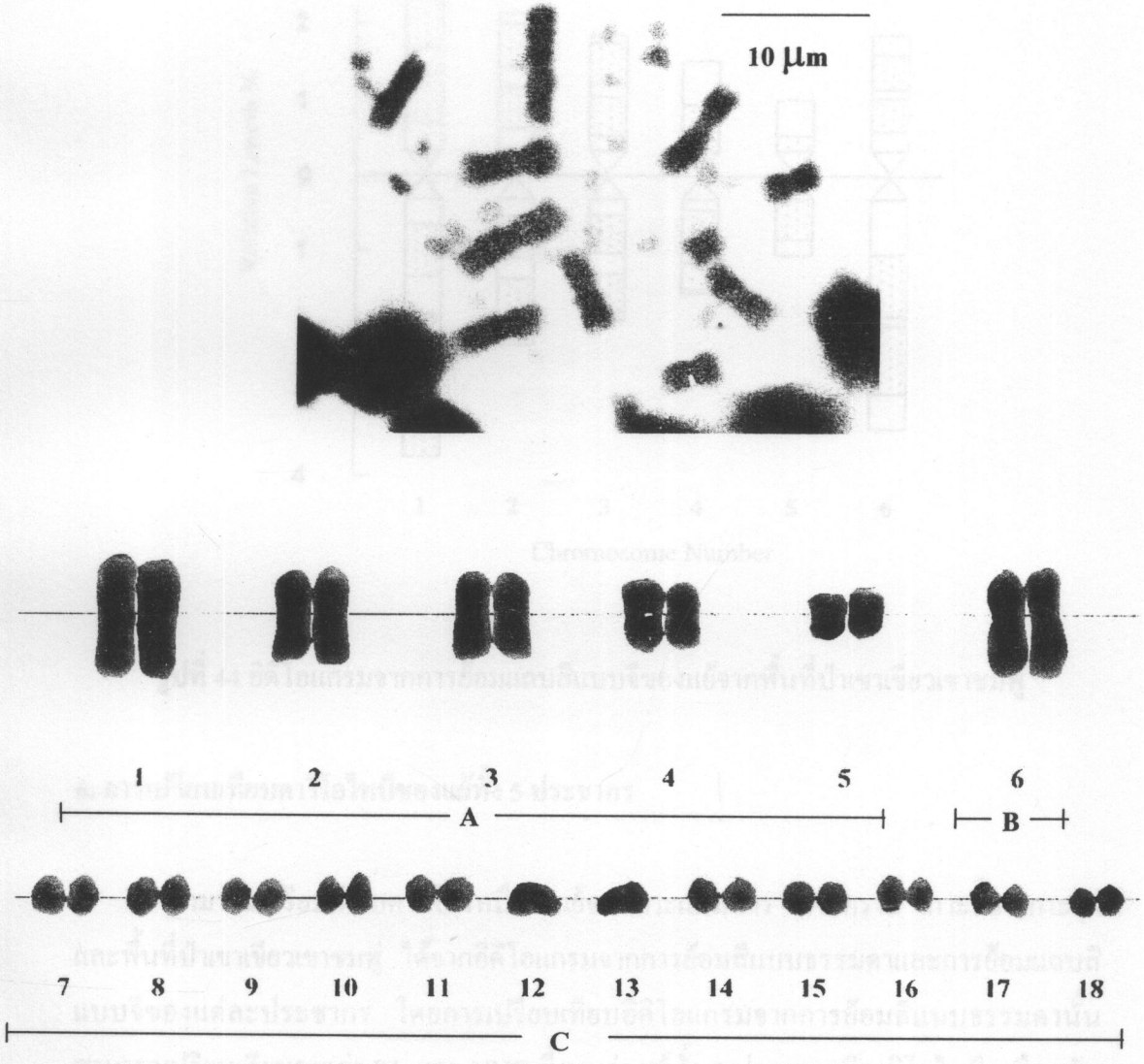
รูปที่ 41 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

5.3. การย้อมแถบสีแบบจี

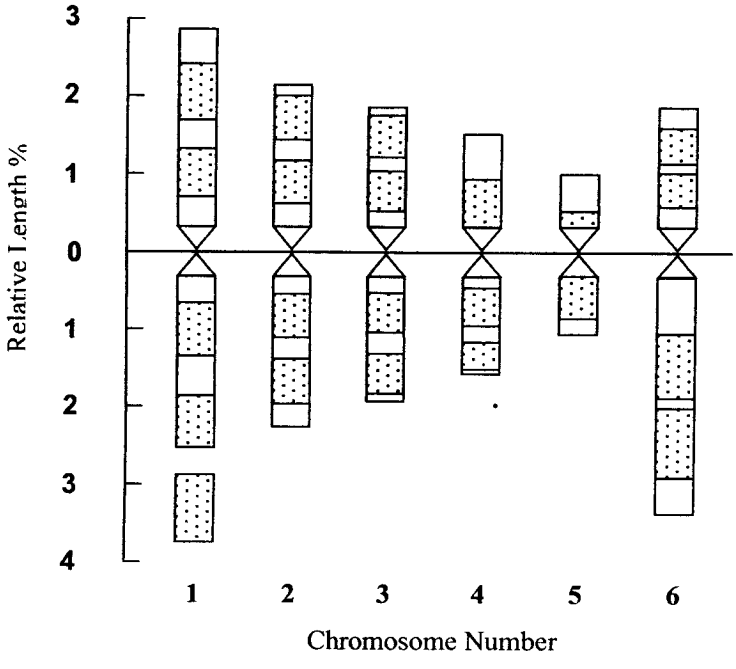
รูปแบบการย้อมแถบสีแบบจีของโครโมโซมแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังรูปที่ 42 และ 43 ตามลำดับ สามารถเขียนเป็นอิดิโอแกรมดังแสดงในรูปที่ 44



รูปที่ 42 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศผู้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่



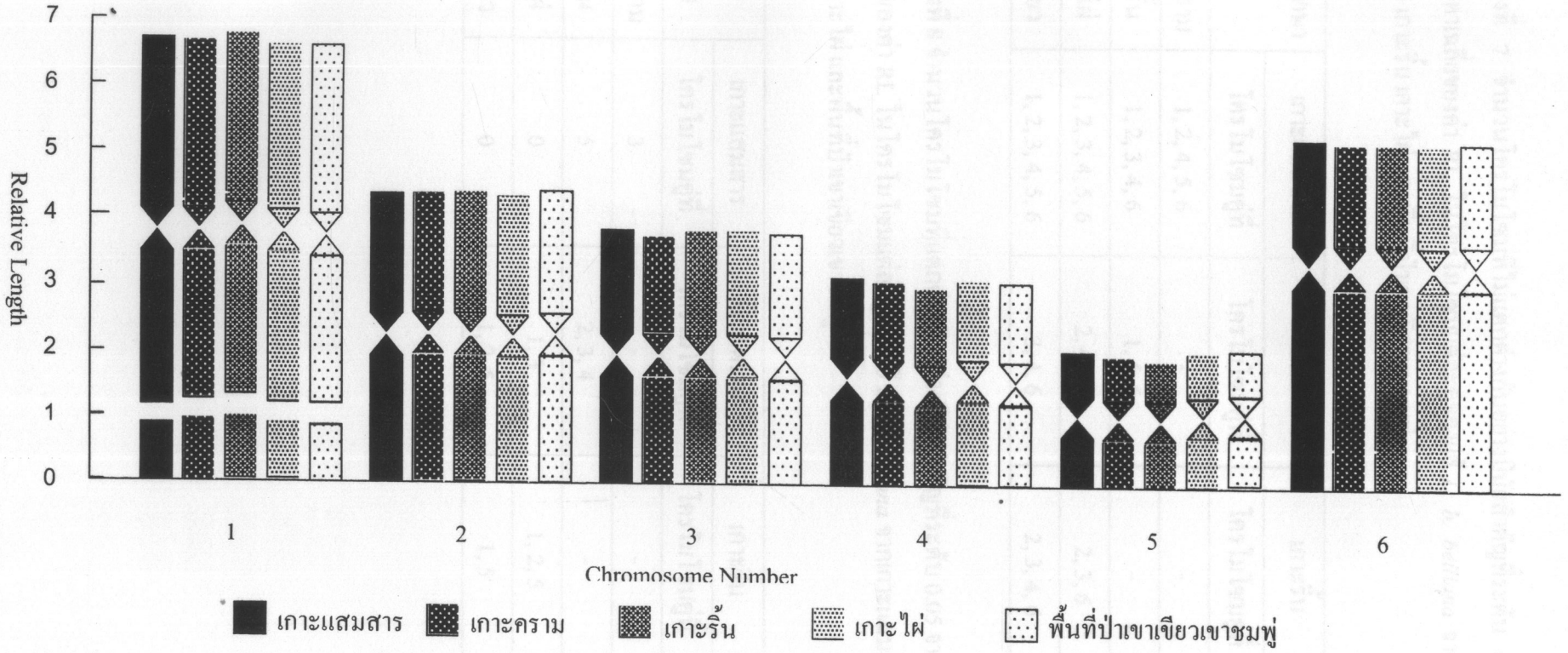
รูปที่ 43 โครโมโซมระยะเมทาเฟสและคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้เพศเมีย จากพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่



รูปที่ 44 อิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้จากพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

6. การเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้ทั้ง 5 ประชากร

สามารถเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของแย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ ได้จากอิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบจีของแต่ละประชากร โดยการเปรียบเทียบอิดิโอแกรมจากการย้อมสีแบบธรรมดานั้น สามารถเปรียบเทียบจากค่า RL และ NVC ซึ่งพบว่า แย้ทั้ง 5 ประชากรมีคาริโอไทป์เหมือนกัน (รูปที่ 45 และ 46) และเมื่อเปรียบเทียบรูปแบบของแถบสีแบบจีจากอิดิโอแกรมนั้น พบว่า แย้ทั้ง 5 ประชากร มีรูปแบบของแถบสีแบบจีเหมือนกัน (รูปที่ 47) และนอกจากนี้ยังสามารถเปรียบเทียบขนาดของโครโมโซมของแต่ละประชากรโดยใช้ค่าทางสถิติ t-test ซึ่งก็สามารถเปรียบเทียบค่า RL และ NVC ได้เช่นกัน พบว่า แย้ทั้ง 5 ประชากร มีขนาดของโครโมโซมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 (ตารางที่ 7 ถึง 10)



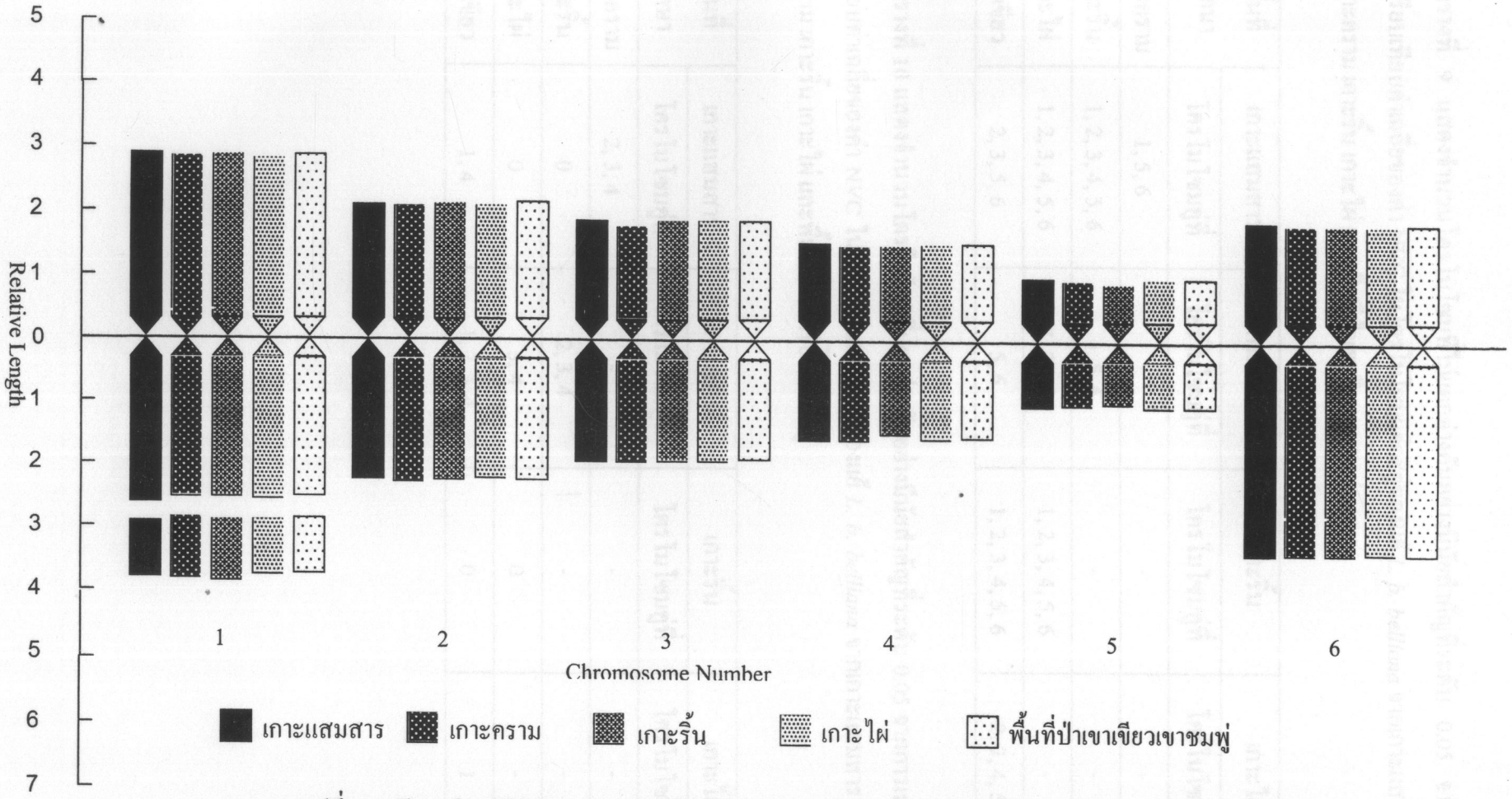
รูปที่ 45 อิดิโอแกรมจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาของแย้ (*L. b. belliana*) เปรียบเทียบค่า RL

ตารางที่ 7 จำนวนโครโมโซมที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า RL ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

พื้นที่ศึกษา	เกาะแสมสาร	เกาะคราม	เกาะริ้น	เกาะไผ่
	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่
เกาะคราม	1, 2, 4, 5, 6	-	-	-
เกาะริ้น	1, 2, 3, 4, 6	1, 5, 6	-	-
เกาะไผ่	1, 2, 3, 4, 5, 6	2, 4, 5, 6	2, 3, 6	-
เขาเขียว	1, 2, 3, 4, 5, 6	3, 4, 6	2, 3, 4, 6	1, 2, 4, 5, 6

ตารางที่ 8 จำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า RL ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

พื้นที่ศึกษา	เกาะแสมสาร	เกาะคราม	เกาะริ้น	เกาะไผ่
	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่
เกาะคราม	3	-	-	-
เกาะริ้น	5	2, 3, 4	-	-
เกาะไผ่	0	1, 3	1, 2, 5	-
เขาเขียว	0	1, 2, 5	1, 5	3



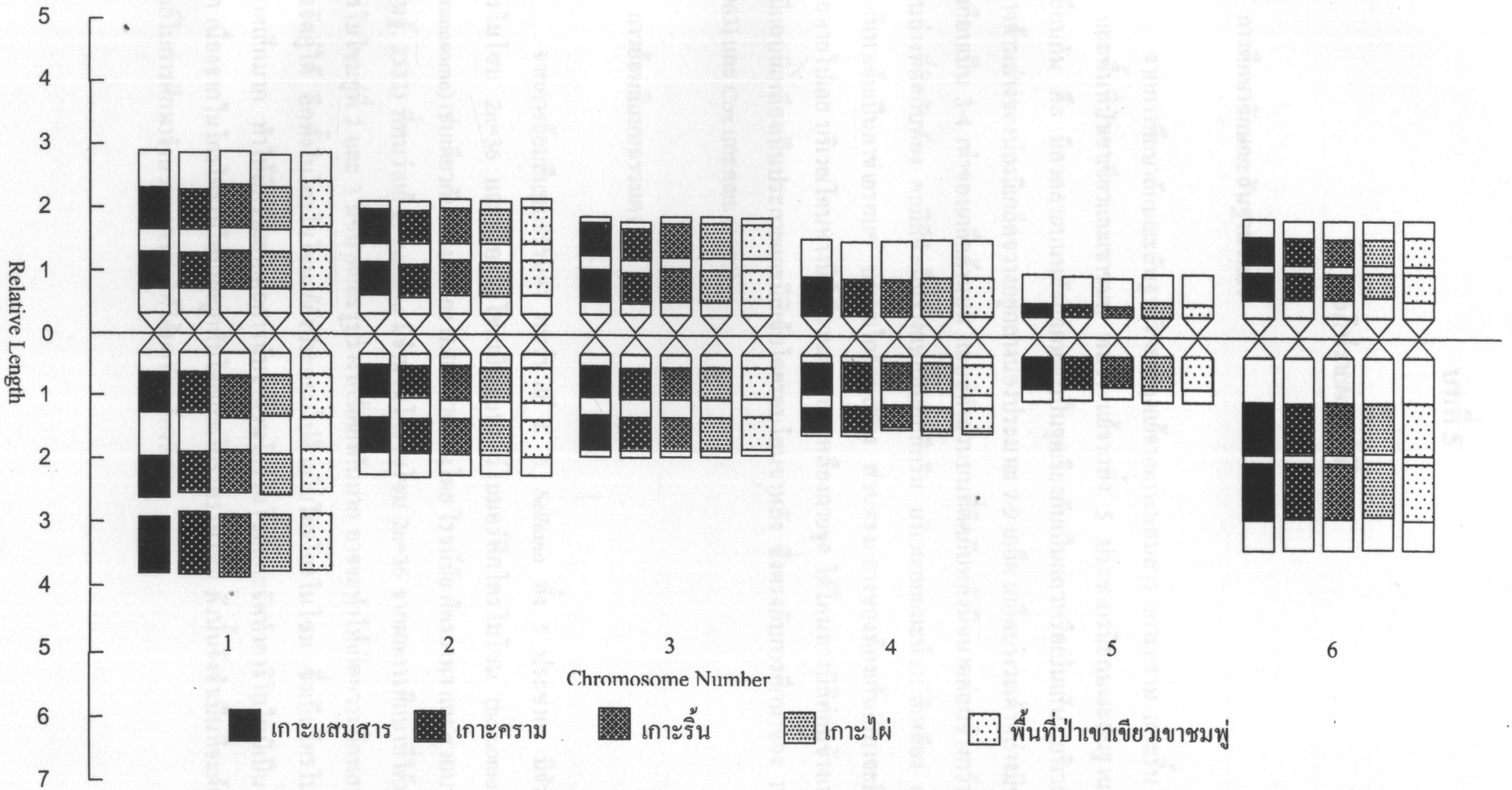
รูปที่ 46 เปรียบเทียบอิดิโอแกรมจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาของแย้ (*L. b. belliana*) เปรียบเทียบค่า NVC

ตารางที่ 9 แสดงจำนวนโครโมโซมที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า NVC ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

พื้นที่ศึกษา	เกาะแสมสาร	เกาะคราม	เกาะริ้น	เกาะไผ่
	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่
เกาะคราม	1, 5, 6	-	-	-
เกาะริ้น	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 5, 6	-	-
เกาะไผ่	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6	-
เขาเขียว	2, 3, 5, 6	5, 6	1, 2, 3, 4, 5, 6	2, 3, 4, 5, 6

ตารางที่ 10 แสดงจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า NVC ในโครโมโซมแต่ละคู่ของแย้ *L. b. belliana* จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่

พื้นที่ศึกษา	เกาะแสมสาร	เกาะคราม	เกาะริ้น	เกาะไผ่
	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่	โครโมโซมคู่ที่
เกาะคราม	2, 3, 4	-	-	-
เกาะริ้น	0	2, 3, 4	-	-
เกาะไผ่	0	3, 4	0	-
เขาเขียว	1, 4	1, 2, 3, 4	0	1



รูปที่ 47 เปรียบเทียบอิดิโอแกรมจากการย้อมแถบสีแบบจีของแย้ (*L. b. belliana*)

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา

1. การศึกษาลักษณะสันฐานวิทยา

จากการศึกษาลักษณะสันฐานวิทยาของแย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ พบว่า แย้จากทั้ง 5 ประชากรมีลักษณะสันฐานวิทยาเหมือนกัน คือ มีลวดลายบนหลังมีลักษณะเป็นจุดเรียงกันเป็นแถวหรือเป็นเส้น บริเวณตรงกลางด้านล่างของน่องมีเกล็ดขวางอยู่กลางน่องประมาณ 7-9 เกล็ด เกล็ดบริเวณด้านล่างมีขนาดโตเกือบเป็น 3-4 เท่าของเกล็ดด้านบน แถบสีดำส่วนบนที่ติดกับหลังมีขนาดค่อนข้างกว้างกว่าส่วนล่างที่ติดกับท้อง คอมีสีดำเป็นร่างแหสลับกับสีครีม บริเวณอกและท้องมีสีเหลือง และมีเส้นสีเทาเข้มเป็นตาข่ายรอบๆ บริเวณใกล้กับสีข้าง ส่วนตรงกลางของท้องเส้นสีเทาจะมีน้อยหรือหายไปเลย บริเวณโคนหางมีสีเขียวมะกอกอมเหลืองลายจุด ใต้โคนหางมีสีค่อนข้างเหลือง ขามีแถบสีเหลืองเป็นประกายและมีสีเข้มโดยรอบโคนขาหลัง ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Taylor (1963) และ Cox และคณะ (1998)

2. การย้อมสีแบบธรรมดา

จากการย้อมสีแบบธรรมดา พบว่า แย้ *L. b. belliana* ทั้ง 5 ประชากร มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 และมีโครโมโซมเป็นแบบฮอร์โมมอร์ฟิกโครโมโซม (homomorphic chromosome) เช่นเดียวกับรายงานของ Hall (1970 อ้างโดย โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์, 2532) ที่พบว่าแย้ *L. belliana* มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 จากผลการศึกษาที่ได้พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 2 และ 3 มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันมาก อาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดในการจัดคู่ได้ อีกทั้งในโครโมโซมแย้ยังประกอบไปด้วยไมโครโครโมโซม ซึ่งเป็นโครโมโซมขนาดเล็กมาก ทำให้มีความยากต่อการนับจำนวนโครโมโซมและจัดทำคาริโอไทป์เป็นอย่างมาก เนื่องจากไมโครโครโมโซมมักถูกทับโดยแมคโครโครโมโซม ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องใช้เซลล์ในการศึกษาจำนวนมาก เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องที่สุด

การศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมสีแบบธรรมดานั้นจะบอกเพียงจำนวนและชนิดของโครโมโซมเท่านั้น ซึ่งโดยปกติแล้วในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันจะมีคาริโอไทป์ที่เหมือนกัน แต่ในสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดอาจพบความแตกต่างของคาริโอไทป์ระหว่างประชากรในชนิดเดียวกันได้ โดยที่แต่ละประชากรอยู่ในภูมิประเทศที่แตกต่างกัน แต่มีลักษณะภายนอกของแต่ละประชากรเหมือนกัน ดังเช่นในรายงานของ Lamborot และ Eaton (1992) ที่ศึกษาในอีกัวร์น่า *Liolaemus monticola* 2 ประชากร ที่อาศัยอยู่ในภูมิประเทศที่แตกต่างกันและมีเทือกเขาขวางกั้น พบว่า แต่ละประชากรมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน คือ ประชากรหนึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n=34 ส่วนอีกประชากรหนึ่งมีความหลากหลายของจำนวนโครโมโซม 2n=28 ถึง 2n=40 และจากรายงานของ Odierna และคณะ (1994) ที่ศึกษาโครโมโซมในจิ้งจก *Tarentola mauritanica* 2 ประชากร พบว่า จิ้งจกทั้ง 2 ประชากรมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน (2n=42) แต่มีขนาดของแขนข้างสั้นของโครโมโซมทุกคู่ไม่เท่ากัน คือ จิ้งจกที่ได้จากประเทศแอฟริกามีขนาดของแขนข้างสั้นยาวกว่าจิ้งจกจากประเทศอิตาลี เมื่อทำการย้อมแถบสีแบบจี จึงพบว่าขนาดที่แตกต่างกันนั้นเกิดจากเพอริเซนทริกอินเวอร์ชั่น (pericentric invertion) อย่างไรก็ตามยังมีสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดที่ถึงแม้ว่าจะอยู่ในพื้นที่ที่มีภูมิประเทศแตกต่างกันและไม่สามารถติดต่อกันได้ก็ตามแต่ก็ยังมีคาริโอไทป์เหมือนกัน เช่น การศึกษาของ Odierna และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาในกิ้งก่า 3 ชนิด คือ *Lacerta aureliol, L. bonnali aranica, L. b.bonnali* โดยที่แต่ละชนิดศึกษาหลายประชากร พบว่า ในชนิดเดียวกันมีจำนวนโครโมโซม 2n=36 เท่ากันทุกประชากร ซึ่งก็เป็นไปเช่นเดียวกับผลของการศึกษาครั้งนี้ คือ แย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวเขาชมพู่ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n=36 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเขียนอิดิโอแกรมแล้วเปรียบเทียบรูปแบบของคาริโอไทป์ พบว่า แย้จากทั้ง 5 ประชากร มีรูปแบบของคาริโอไทป์เหมือนกัน ดังรูปที่ 35 และ 36

นอกจากนี้เมื่อนำข้อมูลขนาดของโครโมโซมที่ได้จากการย้อมสีแบบธรรมดาในแต่ละประชากร มาเปรียบเทียบค่า RL และ NVC ระหว่างประชากร ด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-test โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับการศึกษาความแตกต่างของขนาดของโครโมโซมในกบบราวน์ฟร็อก (Brown Frogs) ซึ่งพบว่าขนาดของโครโมโซมไม่มีความแตกต่างกัน (Nishioka, Okumoto, และ Ryuzaki, 1987) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในจิ้งจก ที่พบว่ามีขนาดของแขนข้างสั้นไม่เท่ากันใน 2 ประชากร (Odierna และคณะ, 1994) จากการเปรียบเทียบค่า RL และ NVC ของโครโมโซมแต่ละคู่ในตารางที่ 7-10 พบว่า โครโมโซมบางคู่มีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน ในขณะที่บางคู่แตกต่างกัน จึงสามารถสรุปได้ว่า แย้จากเกาะแสมสารและเกาะไผ่มีขนาดและรูปร่างของโครโมโซมเหมือนกันมากที่สุด และแย้จากเกาะครามและพื้นที่ป่าเขา

เขียวเขาชมพู่มีขนาดและรูปร่างของโครโมโซมแตกต่างกันมากที่สุด แต่แย้ทั้ง 5 ประชากรมีขนาดและรูปร่างของโครโมโซมไม่แตกต่างกัน

3. การย้อมแถบสีแบบจี

การย้อมแถบสีแบบจีจะช่วยในการจัดคู่ของโครโมโซมได้ถูกต้องมากขึ้น เนื่องจากโครโมโซมจะติดสีเข้มที่บริเวณเฮเทอโรโครมาทิน เกิดเป็นแถบสีเข้มจางสลับกันตลอดความยาวของโครโมโซม (Sumner, 1991) จากผลการศึกษาสามารถเห็นรูปแบบของแถบสีแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงสามารถใช้ช่วยในการจัดคู่ของโครโมโซมคู่ที่ 2 และ 3 ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

การศึกษาคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจี สามารถใช้ในศึกษาความแตกต่างกันหรือความเหมือนกันของรูปแบบของแถบสีที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันได้ ดังเช่นรายงานของ Kasahara, Yonenaga-Yassuda และ Rodrigues (1987) ที่สามารถจัดกลุ่มประชากรของอีกัวร์น่า *Tropidurus hispidus* ตามรูปแบบที่แตกต่างกันของแถบสีแบบจี แบบซี และ NOR ได้ 3 แบบ โดยที่ทั้ง 3 แบบ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ คือ แย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ มีรูปแบบของแถบสีแบบจีไม่แตกต่างกัน โดยสามารถเปรียบเทียบรูปแบบของแถบสีแบบจีนี้ได้จากอิดิโอแกรม ดังแสดงในรูปที่ 37

นอกจากนี้ผลการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบจี พบว่า แย้ทั้ง 5 ประชากร มีคาริโอไทป์ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถนำข้อมูลทางธรณีวิทยามาสนับสนุนผลการศึกษาครั้งนี้ได้ คือ เมื่อประมาณ 1-2 ล้านปีที่ผ่านมา ซึ่งเป็นยุคน้ำแข็ง มีน้ำแข็งปกคลุมโลก 75% ในพื้นที่บริเวณอ่าวไทยทั้งหมดไม่ได้เป็นทะเลอย่างเช่นในปัจจุบัน สาเหตุเกิดจากในยุคน้ำแข็งสภาพภูมิอากาศแปรปรวนโลกมีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้น้ำแข็งบริเวณขั้วโลกละลายระดับน้ำทะเลสูงขึ้น ดังนั้นน้ำทะเลจึงไหลทะลักเข้าท่วมอ่าวไทยซึ่งเป็นบริเวณพื้นที่ราบลุ่ม บางส่วนที่มีพื้นสูงก็จะเกิดเป็นเกาะต่างๆ จึงเกิดเป็นทะเลอ่าวไทยในปัจจุบัน (Tarbuck และ Lutgens, 1999) นอกจากนี้ยังมีข้อมูลที่สนับสนุนว่า ครั้งหนึ่งก่อนยุคน้ำแข็งบริเวณอ่าวไทยทั้งหมดเคยเป็นพื้นดินมาก่อนโดยมีหลักฐานจากการขุดเจาะน้ำมัน พบว่าแร่ที่ขุดพบใต้ท้องทะเลอ่าวไทยนั้นเป็นแร่ชนิดที่เกิดจากการทับถมของพืชและสัตว์ที่อาศัยอยู่บนบก ซึ่งก็สามารถพบแร่เหล่านี้ได้ในบริเวณที่เป็นพื้นดินในปัจจุบันด้วย (Burri, 1989) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า แย้ทั้ง 5 ประชากรเป็นชนิดเดียวกันและอาจเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เดียวกันมาก่อน ถึงแม้ว่าในปัจจุบัน

พื้นที่ต่างๆ เหล่านี้จะมีลักษณะเป็นเกาะที่แยกออกจากผืนแผ่นดินใหญ่ ซึ่งจากการแยกออกจากกันของประชากรในพื้นที่ต่างๆ เหล่านี้ก็อาจจะมีระยะเวลาไม่นานพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นได้

อย่างไรก็ตามความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของแย้ที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยแยกออกจากกันโดยสิ้นเชิงเช่นนี้ เป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะมีการศึกษาแถบสีโครโมโซมแบบอื่นๆ เพิ่มเติม นอกจากนี้จากผลการศึกษาไม่พบโครโมโซมเพศของแย้ จึงน่าจะมีการศึกษาถึงการกำหนดเพศของแย้เพิ่มเติมด้วย

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

1. ศึกษาการย้อมสีแบบธรรมดาของโครโมโซมแย้ พบว่า ทั้งแย้เพศผู้และเพศเมียมีคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 ประกอบด้วย แมคโครโครโมโซม 12 แท่ง และไมโครโครโมโซม 24 แท่ง โดยแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1-5 มีรูปร่างเป็นเมทาเซนทริก ส่วนแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 6 มีรูปร่างเป็นสับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบเซคันดารีคอนสทริกชัน บริเวณแขนข้างยาวของแมคโครโครโมโซมคู่ที่ 1 สำหรับไมโครโครโมโซมนั้นมีขนาดเล็กมากจึงไม่สามารถที่จะวัดขนาดและจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซม

2. ศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์จากการย้อมสีแบบธรรมดาของแย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของจำนวน ขนาด และรูปร่างของโครโมโซม

3. ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบของแถบสีแบบจีของแย้จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ พบว่ามีรูปแบบของแถบไม่แตกต่างกัน

4. จากการศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ จากการย้อมสีแบบธรรมดาและรูปแบบของแถบสีแบบจี ของแย้ จากเกาะแสมสาร เกาะคราม เกาะริ้น เกาะไผ่ และพื้นที่ป่าเขาเขียวและเขาชมพู่ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแย้ทั้ง 5 ประชากร เป็นชนิดเดียวกันและอาจเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เดียวกันมาก่อน ถึงแม้ว่าในปัจจุบันพื้นที่ต่างๆ เหล่านี้จะมีลักษณะเป็นเกาะที่แยกออกจากผืนแผ่นดินใหญ่ ซึ่งจากการแยกออกจากกันของประชากรในพื้นที่ต่างๆเหล่านี้ก็อาจจะมีระยะเวลาไม่นานพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นได้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ธนิษฐา ทรรพนันท์. 2538. การสำรวจนิเวศวิทยาของหอยนมสาวบริเวณอ่าวสัตหีบ. **วารสารการประมง**. 48(2): 57-65.

โรจน์ชัย ศัตรวาหา และไพรัช ทาบสีแพร. 2525. รายงานการวิจัยเรื่องนิเวศน์วิทยาและวงชีพของแย้ *Leiolepis belliana rubritaeniata* (Mertens). **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 27 หน้า.

โรจน์ชัย ศัตรวาหา และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์. 2532. รายงานการวิจัยเรื่องโครโมโซมและกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ของแย้ *Leiolepis belliana rubritaeniata* (Mertens). **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 152-156.

อมรา คัมภิรานนท์. 2540. **พันธุศาสตร์ของเซลล์**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Burri, P. 1989. Hydrocarbon potential of tertiery intermontane basins in Thailand. **Proceeding of the international symposium on ontermontane bansina: geology & resources**. 3-12.

Cox, M. J., Peter Paul, V. D., Nabhitabhata, J. and Kumthorn, T. 1998. **A photographic guide to snakes and other reptiles of peninsular Malaysia, Singapore and Thailand**. Ralph Curtis Publishing.

Darevsky, I. S. and Kupriyanova, L. A. 1993. Two new all-female lizard species of the genus *Leiolepis* CUVIER, 1829 from Thailand and Vietnam. **Herpetozoa**. 6(1-2): 3-20.

Gaedner, E. J., Simmons, M. J., and Snustad, D. P. 1991. **Principles of Genetics**. 8th ed. New York: John Willey & Sons.

Green, D. M. 1988. Cytogenetics of the endemic New Zealand frog, *Leiopelma hochstetteri* :extraordinary supernumerary chromosome variation and a unique sex-chromosome system. **Chromosoma**. 97: 55-70.

Hall, W. P. 1970. Three probable cases of parthenogenesis in lizards (Agamidae, Chamaeleontidae, Gekkonidae). **Experimanta**. 26: 1271-1273.

Henriques-Gil, N., Parker, J. S., and Puertas, M. J. 1997. **Chromosomes Today Volume 12.** London: Chapman & Hall.

Honda, M., et al. 2000. Phylogenetic relationships of the family Agamidae (Reptilia: Iguania) inferred from mitochondrial DNA sequences. **Zoological Science**. 17: 527-537.

Joger, U. 1991. A molecular phylogeny of agamid lizards. **Copeia**. 3: 616-622.

Kasahara, S., Yonenaga-Yassuda, T., and Rodrigues, M. T. 1987. Geographical karyotypic variations and chromosome banding patterns in *Tropidurus hispidus* (Suaria, Iguanidae) from Brazil. **Caryologia**. 40(1-2): 43-57.

Lamborot, M., and Eaton, L. C. 1992. Cancordance of morphological variation and chromosomal races in *Liolaemus monticola* (Tropiduridae) separated by riverine barriers in the Andes. **Z. Zool. Syst. Evolution storsch**. 30(3): 189-200.

Macey, J. R., and Schulte II, J. A. and Larson, A. 2000. Evolution and phylogenetic information content of mitochondrial genomic structural features illustrated with acrodont lizards. **Syst. Biol**. 49: 257-277.

Manthey, U. and Grossmann, W. 1997. **Amphibien and Reptilien Südostasiens**. NTV Verlag, Münster.

Nishioka, M., Hanada, H., Miura, I., and Ryuzaki, M. 1994. Four kinds of sex chromosomes in *Rana rugosa.* **Sci.Rep.Lab.Amphibian Biol., Hiroshima Univ**. 13: 1–34.

Nishioka, M., Okumoto, H., and Ryuzaki, M. 1987. A comparative study on the karyotypes of pond frogs distributed in Japan, Korea, Taiwan, Europe and North America. **Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ**. 9: 135-163.

Odierna, G., Aprea, G., Arribas, O. J., Capriglione, T., Caputo, V., and Olmo, E. 1996. The karyotype of the Iberian rock lizards. **Herpetologica**. 52(4): 542-550.

Odierna, G., Aprea, G., Capriglione, T., Vincenzo, C., and Olmo, E. 1994. Chromosomal diversitication in the gekkonid *Tarentola mauritanica* (Reptilia, Gekkonidae). **Boll. Zool**. 61: 325-330.

Sambamurty, A. V. S. S. 1999. **Genetics**. New Delhi: Narosa Publshing House.

Sumner, A. T. 1990. **Chromosome banding**. London: Uniwin Hyman.

Tarbuck, E. J. and Lutgens, K. F. 1999. **Earth an introduction to physical geology**. 6th. USA: Prentice-Hall.

Taylor, E. H. 1963. **The lizards of Thailand. The Univ of Kansas, Sci. Bull**. 44(4): 904-910.

Uetz, P., Etzold, T. and Chenna, R. 2000. **The EMBL reptile database**—iNet: http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/Living_Reptiles.html.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

วิธีการเตรียมสารเคมี

อาหารเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว RPMI 1640

1. ละลาย RPMI 1640 ชนิดผง (Seromed: Cat.No.T121-01) ในน้ำที่อบฆ่าเชื้อแล้ว 1000 มิลลิลิตร
2. เติม $NaHCO_3$ 2 กรัม
3. ปรับ pH ให้ได้ 6.8 โดยใช้ 1 HCl และ 1 N NaOH
4. กรองด้วย sterile membrane filters ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

เก็บที่ 2 – 8 องศาเซลเซียส

อาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวประกอบด้วย

1. RPMI 1640	60 มิลลิลิตร
2. fetal bovine serum	20 มิลลิลิตร
3. น้ำกลั่นที่อบฆ่าเชื้อแล้ว	20 มิลลิลิตร
4. phytohemaglutinin (PHA) M Form (Gibco)	3 มิลลิลิตร
5. pennicillin-Streptromycin	1 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันโดยวิธีปลอดเชื้อ เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส

0.075 M KCl

ชั่ง KCl 0.5588 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

เก็บที่อุณหภูมิห้อง

colchicine ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง colchicine 0.002 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร

เก็บที่ 2 – 8 องศาเซลเซียส

fixative

ผสม acetic acid glacial 1 ส่วนและ methanol 3 ส่วนให้เข้ากัน
เตรียมใหม่และแช่เย็นทุกครั้ง ใช้ภายใน 24 ชั่วโมง

sorensen phosphate buffer

- solution A : KH_2PO_4 9.1 กรัม ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร
- solution B : Na_2HPO_4 9.5 กรัม ละลายน้ำ 1000 มิลลิลิตร

walking solution : solution A 50.8 มิลลิลิตร + solution B 49.2 มิลลิลิตร
เก็บที่อุณหภูมิห้อง

giemsa 10 %

giemsa 5 มิลลิลิตร ผสมกับ sorensen phosphate buffer 45 มิลลิลิตร
ใช้ภายในวันเดียวกัน

0.025 % trypsin/EDTA

สารละลาย 0.25 % trypsin/EDTA 5 มิลลิลิตร ละลายน้ำ 45 มิลลิลิตร
ใช้ภายในวันเดียวกัน

ภาคผนวก ข.

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า RL

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะแสมสารและเกาะคราม	1	0.018	0.986
	2	0.393	0.695
	3	1.984	0.049
	4	0.881	0.380
	5	1.742	0.084
	6	0.288	0.774
เกาะแสมสารและเกาะริ้น	1	0.246	0.806
	2	1.184	0.239
	3	0.021	0.984
	4	1.857	0.066
	5	3.202	0.002
	6	0.295	0.768
เกาะแสมสารและเกาะไผ่	1	1.729	0.086
	2	0.592	0.555
	3	0.153	0.879
	4	0.115	0.908
	5	0.667	0.506
	6	0.836	0.405

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า RL (ต่อ)

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะแสมสารและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	1.937	0.055
	2	1.460	0.147
	3	1.984	0.049
	4	1.099	0.274
	5	0.021	0.983
	6	0.247	0.805
เกาะครามและเกาะริ้น	1	0.272	0.786
	2	2.006	0.047
	3	2.611	0.010
	4	1.332	0.185
	5	2.310	0.023
	6	0.059	0.953
เกาะครามและเกาะไผ่	1	2.019	0.045
	2	0.383	0.702
	3	2.478	0.014
	4	1.080	0.282
	5	1.505	0.134
	6	0.776	0.439
เกาะครามและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	2.317	0.022
	2	2.235	0.027
	3	1.124	0.263
	4	0.258	0.797
	5	2.298	0.023
	6	0.056	0.955

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า RL (ต่อ)

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะริ้นและเกาะไผ่	1	2.477	0.015
	2	1.830	0.069
	3	0.237	0.813
	4	2.591	0.011
	5	3.529	0.001
	6	0.683	0.496
เกาะริ้นและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	2.956	0.004
	2	0.517	0.606
	3	1.825	0.070
	4	1.175	0.242
	5	1.045	0.000
	6	0.112	0.911
เกาะไผ่และสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	0.308	0.758
	2	2.113	0.036
	3	1.521	0.131
	4	1.436	0.153
	5	0.804	0.423
	6	0.764	0.446

หมายเหตุ ค่า Sig (2-tailed) ใช้เปรียบเทียบกับค่าความเชื่อมั่นที่ระดับ 0.05 ถ้ามีค่ามากกว่า 0.05 สรุปได้ว่ายอมรับสมมติฐาน

ภาคผนวก ค.

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า NVC

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะแสมสารและเกาะคราม	1	1.754	0.082
	2	3.450	0.001
	3	4.115	0.000
	4	2.124	0.036
	5	0.674	0.501
	6	1.222	0.224
เกาะแสมสารและเกาะริ้น	1	0.189	0.850
	2	0.504	0.615
	3	0.627	0.532
	4	0.801	0.425
	5	1.771	0.079
	6	1.665	0.099
เกาะแสมสารและเกาะไผ่	1	0.667	0.605
	2	0.701	0.484
	3	0.654	0.514
	4	1.771	0.079
	5	0.702	0.484
	6	1.246	0.215

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า NVC (ต่อ)

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะแสมสารและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	2.674	0.008
	2	1.664	0.099
	3	1.565	0.120
	4	2.985	0.003
	5	0.603	0.760
	6	0.847	0.399
เกาะครามและเกาะริ้น	1	1.550	0.124
	2	3.512	0.001
	3	4.580	0.000
	4	2.577	0.011
	5	1.126	0.263
	6	0.086	0.931
เกาะครามและเกาะไผ่	1	1.174	0.242
	2	0.812	0.418
	3	4.908	0.000
	4	3.673	0.000
	5	0.015	0.988
	6	0.063	0.950
เกาะครามและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	4.366	0.000
	2	4.955	0.000
	3	5.713	0.000
	4	4.630	0.000
	5	0.276	0.783
	6	0.386	0.700

ตารางค่า t แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า NVC (ต่อ)

ประชากรของแย้	โครโมโซมคู่ที่	t	Sig (2-tailed)
เกาะริ้นและเกาะไผ่	1	0.716	0.475
	2	0.823	0.412
	3	0.025	0.980
	4	0.799	0.426
	5	1.129	0.262
	6	0.022	0.982
เกาะริ้นและสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	1.793	0.076
	2	0.961	0.338
	3	0.832	0.407
	4	1.820	0.079
	5	1.244	0.216
	6	0.477	0.634
เกาะไผ่และสวนสัตว์เปิดเขาเขียว	1	3.422	0.001
	2	1.277	0.204
	3	0.907	0.366
	4	1.042	0.299
	5	0.294	0.770
	6	0.441	0.660

หมายเหตุ ค่า Sig (2-tailed) ใช้เปรียบเทียบกับค่าความเชื่อมั่นที่ระดับ 0.05 ถ้ามีค่ามากกว่า 0.05 สรุปได้ว่ายอมรับสมมติฐาน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววชิรญาณ์ ปวงวัฒนา เกิดวันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2518 ที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตประสานมิตร ในปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อ พ.ศ. 2541 โดยได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาเพื่อทำหน้าที่ผู้ช่วยสอน ประจำปีการศึกษา 2542 จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้รับทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย