

รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*)

First cytogenetic report of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*)

ธนีสร์ ศรีวรเดชไพศาล¹, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์^{1*}, วีระ ทองเนตร², สมศักดิ์ บัวทิพย์¹ และ เทียนทิพย์ ไกรพรหม³
Thanisorn Srivorradathpisan¹, Sitthisak Jantarat^{1*}, Weera Thongnet², Somsak Buatip¹ and Thaintip Kraiprom³

Received: 27 October 2024 ; Revised: 7 February 2025 ; Accepted: 5 June 2025

บทคัดย่อ

รายงานการศึกษาแคโรไทป์และไอดีโอแกรมของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) เก็บตัวอย่างจากป่าฮาลา-บาลา จังหวัดยะลา เตรียมโครโมโซมโดยตรงจากไขกระดูก ด้วยการฉีดสารละลายโคลชิซิน ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาด้วยสีจีเมซ่า 20% เพื่อศึกษาจำนวน ชนิด ขนาดของโครโมโซม ผลการศึกษาพบว่ากบอ่องมลายูมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 26 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง โครโมโซมซั่มเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง โครโมโซมเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แท่ง โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 10 แท่ง โครโมโซมซั่มเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แท่ง และโครโมโซมอะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ สามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ของกบอ่องมลายู ดังนี้ $2n (26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$

คำสำคัญ: พันธุศาสตร์ระดับเซลล์, แคโรไทป์, กบอ่องมลายู, ป่าฮาลา-บาลา

Abstract

The first report of karyotype and idiogram of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*), samples collected from Hala-Bala forest, Yala Province. Chromosomes were prepared directly from bone marrow. Use the direct method with colchicine solution. Conventional chromosome staining with 20% Giemsa was dyed to study the number, type, and size of chromosomes. The results of the study revealed that the *Sylvirana malayana* has a diploid chromosome number ($2n$) = 26, with a basic chromosome number (NF) = 52, consisting of 2 large metacentric chromosomes and a submetacentric chromosome. There were 6 large, 2 medium metacentric, 10 small metacentric, 4 small submetacentric and 2 small acrocentric chromosomes. No sex chromosomes could be identified. The karyotype formula for a *Sylvirana malayana* can be written as follows: $2n (26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$.

Keywords: Cytogenetic, karyotype, *Sylvirana malayana*, Hala-Bala forest

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

³ สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

¹ Science Subjects, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani Campus

² Biology Majors, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep

³ Department of Agricultural and Fishery Science, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani Campus

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

บทนำ

ป่าฮาลา-บาลา ได้ถูกยกย่องว่าเป็นเมซอนแห่งเอเชีย สภาพโดยทั่วไปเป็นป่าดงดิบชื้นและยังเป็นแหล่งกำเนิดของแม่น้ำสายสำคัญทั้ง 3 สาย ลักษณะภูมิอากาศที่ไม่ค่อยแตกต่างกัน มี 2 ฤดู คือฤดูแล้ง 4 เดือน (เดือนมกราคม-เมษายน) และฤดูฝน 8 เดือน (เดือนพฤษภาคม-ธันวาคม) ส่งผลทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ สูงมาก อันเนื่องมาจากความอุดมสมบูรณ์ของป่าที่มีทั้งแหล่งอาหาร และน้ำเพียงพอแก่พรรณพืช และสัตว์ป่าทั้งหลาย รวมถึงสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดเป็นสัตว์ป่าหายาก และมีสถานภาพใกล้จะสูญพันธุ์ ระบบนิเวศของป่าแห่งนี้เป็นมรดกทางธรรมชาติที่สำคัญควรค่าแก่การอนุรักษ์สืบต่อไป (กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช, 2553)

กบอ่องมลายู *Sylvirana malayana* (Sheridan and Stuart, 2018) เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจัดอยู่ในอันดับกบ (Order Anura) วงศ์รานิดี (Family Ranidae) แพร่กระจายเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ตั้งแต่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ลงไปถึงประเทศมาเลเซีย (ปิยวรรณ และคณะ, 2562) สถานภาพการอนุรักษ์ใน IUCN red list อยู่ในกลุ่มมีความเสี่ยงต่ำต่อการสูญพันธุ์ (LC) (ระบบคลังข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย, 2564) ถูกรายงานการค้นพบครั้งแรกในปี 2561 โดย Sheridan and Stuart (2018) จึงเป็นสิ่งมีชีวิตที่ยังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย ในปัจจุบันสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกถูกคุกคามอย่างต่อเนื่อง โดยมีปัจจัยหลักมาจากการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศ และธรรมชาติที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสัตว์จำพวกนี้ทั้งแหล่งที่อยู่อาศัย อาหาร ที่หลบภัย และพื้นที่สืบพันธุ์ เป็นต้น ส่งผลให้จำนวนชนิด ขนาดตัว และขนาดประชากรของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั่วโลก รวมทั้งบริเวณป่าฮาลา-บาลาเปลี่ยนแปลงไปและลดลงอย่างต่อเนื่อง (ปิยวรรณ และคณะ, 2562)

การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ในปัจจุบันมีความก้าวหน้าอย่างมาก มีข้อมูลพันธุศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เพิ่มขึ้นกว่าในอดีต โดยการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยพบว่ามีรายงานการศึกษาอย่างแพร่หลายในหลายชนิด แต่ในวงศ์รานิดีมีรายงานการศึกษาค่อนข้างน้อยมาก ได้แก่ Sabah splash frog (*Staurois latopalatus*) (Matsui and Seto, 1985) กบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*), spotted paa frog (*Rana maculosa*) Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) (Liu et al., 1993) กบบัว (*Rana erythraea*) กบอ่อง (*Rana nigrovittata*) กบหลังไพล (*Rana lateralis*) (ถาวร และ แก้ว, 2548) Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*), Long-legged wood frog

(*Rana macrocnemis*) (Martirosyan and Stepanyan, 2009) กบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) และ กบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) (Pradit et al., 2018) เป็นต้น ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) อยู่ระหว่าง 24-26 แท่ง ดังนั้นพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) นอกบริเวณพื้นที่อนุรักษ์ป่าฮาลา-บาลา จังหวัดยะลา นั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซมของกบอ่องมลายู และเพื่อกำหนดรูปแบบแคโรไทป์และไอดิโอแกรมของกบอ่องมลายู โดยสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าไปใช้ประโยชน์สำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานหรือจัดจำแนกชนิดให้มีความถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมถึงใช้เป็นแนวทางในการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมสัตว์และระบบนิเวศของพื้นที่ให้คงอยู่ต่อไป อีกทั้งยังสามารถนำความรู้ไปใช้ต่อยอดในการปรับปรุงพันธุ์ได้ในอนาคต

ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการการวิจัยในสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ 59/2019



Figure 1 Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*)

1. พื้นที่ศึกษา

เก็บตัวอย่างสัตว์ที่บ้านวังไทร หมู่ 2 ตำบลแม่หวาด อำเภอธารโต เป็นชุมชนที่อยู่ติดกับ พื้นที่ป่าอนุรักษ์บริเวณเขต อุทยานแห่งชาติบางลาง มีสภาพพื้นที่เป็นภูเขา สลับซับซ้อนกระจายอยู่ทั่วไป มีพื้นที่ราบเล็กน้อย พิกัด $6^{\circ} 00'39''N$, $101^{\circ}16'09''E$ มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 170 -300 เมตร ซึ่งเป็นชุมชนเกษตรกรใช้พื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจ หลายชนิด เช่น ทุเรียน เงาะ มังคุด ลองกอง และยางพารา เป็นหลัก (สิทธิศักดิ์ และคณะ, 2567)

2. การเก็บตัวอย่าง

กบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) ถูกแยกออกจากกบอ่องเล็ก *S. nigrovittata* โดย Sheridan and Stuart

(2018) มีขนาดกลาง ความยาวจากหัวถึงก้นของเพศผู้ 4-5 เซนติเมตร เพศเมีย 5-6 เซนติเมตร ปากยาวแหลม ปลายนิ้วเรียว มือไม่มีพังผืดตีนมีพังผืดประมาณครึ่งหนึ่งของนิ้วที่ยาวที่สุด หลังสีน้ำตาลแดงมีจุดขนาดเล็กกระจายห่าง ๆ ใหลมีขีดสีเข้ม พาด ลำตัวและขาด้านบน มีตุ่มขรุขระมีสันบาง ๆ จากปลาย จมูกผ่านเหนือตาไปถึงเหนือก้นด้านข้าง มีแถบสีดำจากจมูก พาดตาและแผ่นหูไปตามขอบล่างของสัน สีข้างมีต่อมนูน กระจายหยาบ ๆ ขาสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำตาลครีม ขาคู่หลังมี ลายบั้งเล็ก ๆ สีเทาเข้มขาหนีบมีแต้มสีเหลืองจาง ท้องเรียบสี เทาอ่อนหรือสีเทาอมเหลือง (Figure 1) (ปิยวรรณ และคณะ, 2562)

การเก็บตัวอย่างกบอ้อมมลายู (*Sylvirana malayana*) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สัตว์ตัวอย่างทั้งหมด 10 ตัว โดยเก็บ ตัวอย่างเพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว โดยเดินสำรวจออกหา ตัวอย่างในตอนกลางคืนด้วยไฟฉายในพื้นที่เกษตรกรรม บริเวณที่มีความชุ่มชื้นสูง เช่น ริมสายน้ำ ลำธาร น้ำตก ธาร น้ำไหล และบริเวณน้ำขัง เป็นต้น

3. การเตรียมโครโมโซม

การศึกษาโครโมโซมใช้วิธีการศึกษาทางตรงจาก ไชกระดูก ด้วยการฉีดสารละลายโคลชิซิน 0.05% ในอัตราส่วน ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าช่องท้องของ สัตว์ตัวอย่างและปล่อยทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการ การุณยฆาตตามวิธีของ AVMA, (2020) แล้วทำการผ่าตัดนำ เอาไชกระดูกบริเวณส่วนแขนและขา จากนั้นนำมาแช่และสับ ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.075 โมลาร์ แล้วบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที จึง นำตะกอนเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 8 นาที เทส่วนใสด้านบนออกแล้ว เติมน้ำยาตรึงเซลล์ (Fixative) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร นำไปปั่น เหวี่ยงเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด 2-3 ครั้ง แล้วใช้หลอด ดูดสารหยดตะกอนเซลล์นำไปหยดบนสไลด์ที่แห้งสะอาด และ เย็นจัด 1-2 หยด ปล่อยให้สไลด์แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Thongnetr et al., 2021)

4. การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining technique)

ทำการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา โดยใช้สีจิม ซ่าที่ความเข้มข้น 20% โดยนำสไลด์ที่ผ่านขั้นตอนการเตรียม โครโมโซมเรียบร้อยแล้วย้อมในสีจิมซ่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสไลด์ไปล้างผ่านด้วยน้ำประปาให้สะอาด แล้วตั้งทิ้ง ไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Phimphan et al., 2021) เมื่อเสร็จ ขั้นตอนจึงนำสไลด์ไปตรวจสอบด้วยกล้องกล้องจุลทรรศน์แบบ ใช้แสงด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า เลือกเซลล์ระยะเมทาเฟสที่

โครโมโซมกระจายตัวดี โครโมโซมไม่ทับซ้อนกัน ถ่ายรูปด้วย กล้องถ่ายรูปดิจิทัล เลือกเซลล์ทั้งหมด 20 เซลล์

5. การจัดทำแคโรไทป์และไอดีโอแกรม

การจัดทำแคโรไทป์และไอดีโอแกรม เมื่อเลือก ภาพถ่ายเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ที่โครโมโซมกระจาย ตัวดี มีจำนวนโครโมโซมครบตามที่ต้องการแล้วจึงจัดทำ แคโรไทป์และไอดีโอแกรม ตามวิธีของ Phimphan et al. (2021)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของกบอ้อมมลายู (*Sylvirana malayana*) พบว่ากบอ้อมมลายูมีจำนวน โครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 26 แท่ง มีจำนวนโครโมโซม พื้นฐาน (NF; Fundamental number) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ (Large metacentric) 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ (Large submetacentric) 6 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง (Medium metacentric) 2 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก (Small metacentric) 10 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก (Small submetacentric) 4 แท่ง และอะโครเซนทริกขนาดเล็ก (Small acrocentric) 2 แท่ง (Figure 2)

เมื่อนำผลการศึกษาในครั้งนี้มาเปรียบเทียบกับผล การศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกวงศ์รานี้ดัก่อนหน้านี้ จากพื้นที่ต่าง ๆ พบว่าสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในกบ ลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) (Pradit et al., 2018) กบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*) และ spotted paa frog (*Rana maculosa*) (Liu et al., 1993) กบบัว (*Rana erythraea*) กบอ้อม (*Rana nigrovittata*) กบหลังไหล (*Rana lateralis*) (ถาวร และ แก้ว, 2548) Sabah splash frog (*Staurois latopalmaris*) (Matsul and Seto, 1985) Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) และ Long-legged wood frog (*Rana macrocnemis*) (Martirosian and Stepanyan, 2009) ในขณะที่ จำนวนโครโมโซมของกบอ้อมมลายู (*Sylvirana malayana*) จากการศึกษานี้มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่ารายงานการ ศึกษาใน Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) ซึ่งมีจำนวน โครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 40 แท่ง (Liu et al., 1993) แต่ มีโครโมโซมมากกว่ากบอ้อมเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) ที่มี จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 24 แท่ง (Pradit et al., 2018) (Table 2)

แคโรไทป์ของกบอ้อมมลายู (*Sylvirana malayana*) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง ซับเมทา เซนทริก 10 แท่ง และอะโครเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซม

ชนิดเทโลเซนทริก (Table 1) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาแคโรไทป์ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์รานิดีที่ผ่านมา พบว่ารูปแบบแคโรไทป์ไม่มีความสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า โดยแตกต่างจากการศึกษาของ Pradit *et al.* (2018) ในกบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 24 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก ชนิดซับเทโลเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ส่วนในกบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 20 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 4 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก ส่วนการศึกษาของ ถาวร และ แก้ว (2548) ในกบบัว (*Rana erythraea*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 14 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ในกบอ่อง (*Rana nigrovittata*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 10 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 16 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ในกบหลังไพล (*Rana lateralis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 14 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริกใน ส่วนการศึกษาของ Liu *et al.* (1993)

ในกบดอยแอนเดอร์สัน (*Rana andersonii*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 16 แท่ง และซับเมทาเซนทริก 10 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริก และชนิดเทโลเซนทริก ใน spotted paa frog (*Rana maculosa*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และใน Yunnan Asian frog (*Rana unculuana*) มีโครโมโซมชนิด เมทาเซนทริก 14 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 16 แท่ง ซับเทโลเซนทริก 8 แท่ง และเทโลเซนทริก 2 แท่ง การศึกษาของ Matsui and Seto (1985) ใน Sabah splash frog (*Staurois latopalatus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

10 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 14 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 2 ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และการศึกษาของ Martirosyan and Stepanyan (2009) ใน Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 10 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 4 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และใน Long-legged wood frog (*Rana macrocnemis*) มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แท่ง และซับเทโลเซนทริก 6 แท่ง ไม่พบโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก (Table 2)

จากข้อมูลการวิเคราะห์ทางด้านวิวัฒนาการโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์รานิดีโดย ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม. (2561) ทำให้ทราบว่าแคโรไทป์ของโครโมโซมในกบวงศ์นี้ รวมทั้งกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) เป็นแคโรไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พัฒนาแล้ว โดยจากการศึกษาแคโรไทป์ กบอ่องเล็ก (*Sylvirana nigrovittata*) เขียดจิกหรือกบบัว (*Hylarana erythraea*) เขียดหลังขีด (*Hylarana macrodactyla*) กบหลังไพล (*Pelophylax lateralis*) กบสังขละ (*Hydrophylax leptoglossa*) กบลายหินตะนาวศรี (*Amolops panhai*) และกบลายหินเหนือ (*Amolops marmotatus*) พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 26 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 52 โครโมโซม ประกอบด้วยชนิดเมทาเซนทริก และซับเมทาเซนทริก อาจพบชนิดอะโครเซนทริก แต่จะไม่พบเทโลเซนทริก จัดเป็นกลุ่มที่มีแคโรไทป์แบบสมมาตร และเป็นแบบยูนิโมดัล ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมชุดใหญ่นั้น ทั้งนี้กระบวนการเกิดวิวัฒนาการของกลุ่มโครโมโซมที่มีสองแขนของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์นี้เกิดจากการเชื่อมกันของโครโมโซมชุดเล็กให้กลายเป็นโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ อาจเกิดจากกระบวนการเชื่อมต่อแบบเซนทริก (centric fusion) หรือเชื่อมต่อแบบแทนเด็ม (tandem fusion) (ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม, 2561)

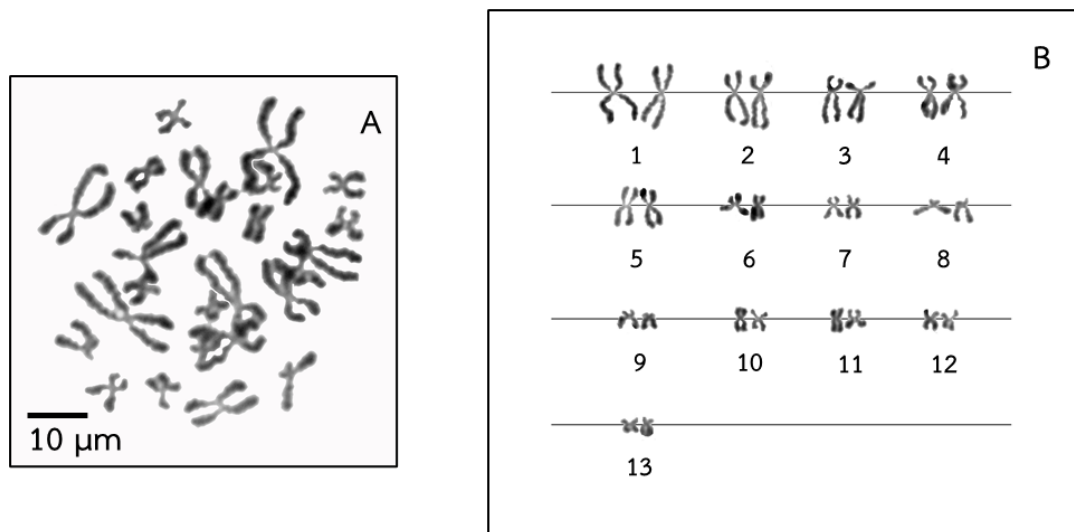


Figure 2 Metaphase Chromosomes (A) and karyotype of the Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) (B) by conventional chromosome staining, $2n = 26$.

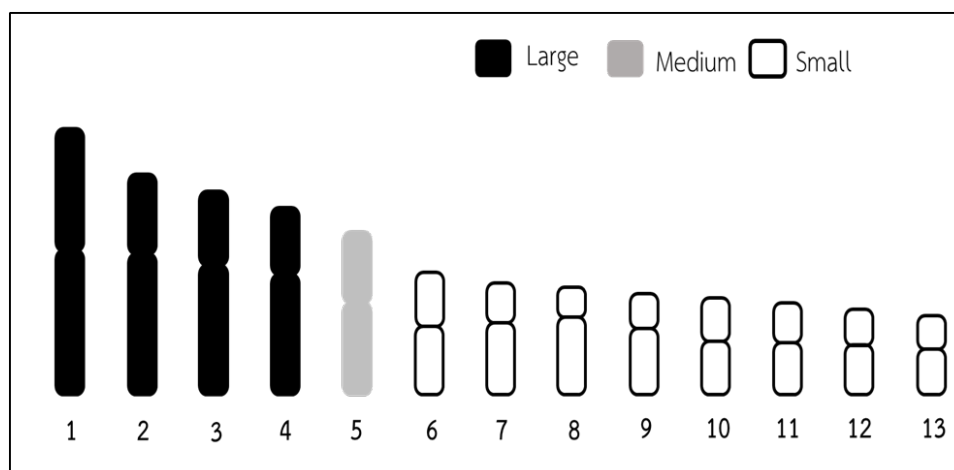


Figure 3 The idiogram of the Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) by conventional chromosome staining, $2n = 26$.

Table 1 Mean length of the short chromosome arm (Ls), length of the long chromosome arm (LI), total length of each pair of chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of Malayan dark-side frog (*Sylvirana malayana*) from 20 metaphase cells ($2n=26$) were measured using Adobe Photoshop and Microsoft Excel.

Pair of chromosomes	Ls	LI	LT	CI±SD	RL±SD	Chromosome Size	Chromosome Type
1	495.55	577.15	1072.70	0.538±0.041	0.145±0.008	large	metacentric
2	323.16	565.85	889.01	0.636±0.039	0.120±0.007	large	submetacentric
3	303.09	518.51	821.60	0.631±0.046	0.111±0.004	large	submetacentric
4	274.62	480.22	754.84	0.636±0.043	0.102±0.006	large	submetacentric
5	284.86	367.75	652.62	0.564±0.034	0.088±0.005	medium	metacentric
6	220.31	272.53	492.85	0.553±0.038	0.066±0.003	small	metacentric
7	167.80	285.42	453.23	0.630±0.045	0.061±0.002	small	submetacentric
8	118.35	314.21	432.56	0.726±0.043	0.058±0.002	small	acrocentric
9	148.00	264.16	412.17	0.641±0.042	0.056±0.003	small	submetacentric
10	173.81	219.31	393.12	0.558±0.045	0.053±0.003	small	metacentric
11	165.81	206.37	372.18	0.554±0.052	0.050±0.002	small	metacentric
12	151.75	196.37	348.13	0.564±0.031	0.047±0.003	small	metacentric
13	140.62	181.96	322.59	0.564±0.034	0.043±0.003	small	metacentric

Table 2 Previous cytogenetic reports of Cytogenetic of amphibians in the family Ranidae.

Species	2n	NF	Type of chromosome				Study report
			m	sm	a/st	t/a	
<i>Sylvirana malayana</i>	26	52	14	10	2	-	This study (2024)
<i>Staurois latopalatus</i>	26	52	10	14	2	-	Matsul and Seto (1985)
<i>Rana andersonii</i>	26	52	16	10	-	-	Liu et al. (1993)
<i>Rana maculosa</i>	26	52	12	12	2	-	
<i>Rana unculuana</i>	40	80	14	16	8	2	
<i>Rana erythraea</i>	26	52	14	12	-	-	ถาวร และ แก้ว (2548)
<i>Rana nigrovittata</i>	26	52	10	16	-	-	
<i>Rana lateralis</i>	26	52	12	14	-	-	
<i>Pelophylax ridibundus</i>	26	52	12	10	4	-	Martirosyan and Stepanyan (2009)
<i>Rana macrocnemis</i>	26	52	8	12	6	-	
<i>Sylvirana nigrovittata</i>	24	48	24	-	-	-	Pradit et al. (2018)
<i>Amolops panhai</i>	26	52	20	4	4	-	

สรุป

จากการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของกบอ่องมลายู (*Sylvirana malayana*) โดยเตรียมจากไขกระดูกจากการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบธรรมดา พบว่ากบอ่องมลายูมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 26 แห่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 52 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทา

เซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่งโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แห่ง และโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศได้ สามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ของกบ

อ่องมลายู ดังนี้ $2n(26) = L_2^m + L_6^{sm} + M_2^m + S_{10}^m + S_4^{sm} + S_2^a$ การศึกษาสามารถนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน เพื่ออนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมสัตว์ สามารถนำความรู้ไปต่อยอดในการปรับปรุงพันธุ์ และการอธิบายในเชิงวิวัฒนาการได้

ข้อเสนอแนะ

แคโรไทป์และไอดีโอแกรมจากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาเป็นวิธีการศึกษาที่สามารถศึกษาจำนวน ชนิด และขนาดของโครโมโซม ได้อย่างเหมาะสม แต่ถ้าหากต้องการระบุโครโมโซมเพศ หรือระบุโครโมโซมเครื่องหมาย ควรเพิ่มเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคอื่น ๆ เช่น เพิ่มเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบเอ็นโออาร์ (NOR-banding) เทคนิคการย้อมแถบสีแบบซี (C-banding) หรือการย้อมแถบสีโครโมโซมด้วยเทคนิค FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาประจำปีการศึกษา 2565 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

รายการอ้างอิง

- กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. (2553). *สภาพป่าฮาลา-บาลา*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://paro6.dnp.go.th/paro6_royal_project/Forest/UntitledFrameset-2.html. สืบค้นวันที่ 25 พฤศจิกายน 2565.
- ถาวร สุภาพรม และ แก้ว อุดมศิริชาคร (2548). การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จังหวัดอุบลราชธานี. *โครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ปิยวรรณ นิยมวัน, ไพรวลัย ศรีสม และ ปริญญ์ ภาวักะนันท์. (2562). *Amphibians of Thailand สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกของประเทศไทย*. ฉบับที่ 1, ภาพพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม. (2561). วิวัฒนาการของโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.* 46(4), 654-663.
- ระบบคลังข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย (TH-BIF). (2564). *Sylvirana malayana* [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://thbif.onep.go.th/taxons/detail/39239> สืบค้นวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2566.

- สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์; อานิช โต๊ะพง; เรสพียา หล้าปุเต๊ะ; สมศักดิ์ บัวทิพย์; พัน ยี่สัน (2567). ความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกตามลำธารนอกเขตป่าอนุรักษ์ในอำเภอธารโต และอำเภอเบตง จังหวัดยะลา. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย* 16(3), 826-841.
- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2020). *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*. [Online]. Available from: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf> February 25, 2023.
- Liu, W., Yang, D., and Kuramoto, M. (1993). Karyological Studies on Six Anuran Species from Yunnan Province, China. *Japanese Journal of Herpetology*. 15(1), 22-28.
- Martirosyan, A., and Stepanyan, I. (2009). Features of the karyotypes of *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771 and *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 (Amphibia: Ranidae) from Armenia. *Comparative Cytogenetics*. 3(1), 11-24.
- Matsul, M., and Seto, T. (1985). Karyotype of an Asian Ranid Frog, *Staurois latopalmatus*. *Japanese Journal of Herpetology* 11(1), 1-4.
- Phimphan, S., Aiumsumang, S., Tanomtong, A. and Jantararat, S. (2021). Karyomorphological delineation and linear differentiation of microsatellite patterns, and meiosis in giant Asian river frog (*Limnonectes blythii*) from Thailand. *Nucleus*. 64, 249-254.
- Pradit, W., Suwannapoom, C., Bowonchait, K., Buddhachat, K., Tantithakura, O. and Chomdej, S. (2018). Preliminary Karyotype Analysis of *Amolops panhai* and *Sylvirana nigrovittata* (Anura, Ranidae) from Southern Thailand. *The Nucleus*. 61, 69-73.
- Sheridan, J.A. and B.L. Stuart. 2018. Hidden species diversity in *Sylvirana nigrovittata* (Amphibia: Ranidae) highlights the importance of taxonomic revisions in biodiversity
- Thongnetr, W., Aiumsumang, S., Kongkaew, R., Tanomtong, A., Suwannapoom, C. and Phimphan, S. (2021). Cytogenetic Characterisation and Chromosomal Mapping of Microsatellite and Telomeric Repeats in Two Gecko Species (Reptilia, Gekkonidae) from Thailand. *Comparative Cytogenetics*. 15 (1), 41-52.