



การวิเคราะห์คาร์ิโอไทป์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว (*Gallus gallus gallus*
Linnaeus, 1758) ด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่
Karyological Analysis of Red Junglefowl (*Gallus gallus gallus*
Linnaeus, 1758) Using Egg Fibroblastic Cell Culture

สุมาลี พิมพ์พันธุ์¹ อลงกลด แทนอมทอง^{1*} ยอดชาย ช่วยเงิน¹ และ โดม ประทุมทอง²

บทคัดย่อ

รายงานนี้เป็นรายงานแรกของการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว (*Gallus gallus gallus*) การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคาร์ิโอไทป์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว โดยเตรียมโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว ที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเทคนิคโคลชิซิน-ไฮโปโทนิก-ฟิกเซชัน-แอร์ดรายอิง ทำการย้อมสีแบบธรรมดา และแถบสีแบบจี ผลการศึกษาพบว่าไก่ป่าแดงตุ้มหูขาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง โครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 88 ประกอบด้วยโครโมโซม 2 ประเภท คือ โครโมโซมชุดใหญ่จำนวน 9 คู่ และโครโมโซมชุดเล็กจำนวน 30 คู่ โครโมโซมชุดใหญ่เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ เทโลเซนทริกขนาดกลาง 1 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 1 คู่ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 คู่ เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 คู่ และโครโมโซมเพศ 1 คู่ ระบบโครโมโซมเพศเป็นระบบ ZW เพศผู้มีโครโมโซมเพศ ZZ และเพศเมียมีโครโมโซมเพศ ZW โครโมโซม Z เป็นชนิด เมทาเซนทริกขนาดกลาง โครโมโซม W เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก โครโมโซมชุดเล็กมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กไม่สามารถทำการแยกชนิดของโครโมโซมได้ การย้อมโครโมโซมแถบสีแบบจีพบว่าสามารถทำการจับคู่โครโมโซมชุดใหญ่ได้อย่างชัดเจนและนับแถบแบนได้ 139 แถบ สูตรคาร์ิโอไทป์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว คือ

$$2n (78) = L^m_2 + L^{sm}_2 + M^t_2 + M^{sm}_2 + S^t_4 + S^m_4 + \text{โครโมโซมชุดเล็ก} + \text{โครโมโซมเพศ (ZW)}$$

¹ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

²พิพิธภัณฑธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑวิทยาศาสตร์แห่งชาติเทคโนโลยีธานี อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

*Corresponding Author, E-mail: tanomtong@hotmail.com

ABSTRACT

This is the first report karyological analysis of the red junglefowl (*Gallus gallus gallus*) from Thailand. This research aimed to examine karyotypes of the red junglefowl. Fibroblastic cells were taken from junglefowl egg and cultured at 41 °C for 24 hr. The cultured fibroblast were then prepared for chromosomes by using the colchicine-hypotonic-fixation-air drying technique and followed by conventional staining and GTG-banding techniques. The results showed that the diploid chromosome number was $2n=78$, and fundamental number (NF) were 88 in both male and female. The types of macrochromosomes were 2 large metacentric, 2 large submetacentric, 2 medium telocentric, 2 medium submetacentric, 4 small telocentrics, 4 small metacentrics, and 30 microchromosomes. The Z chromosome was a medium metacentric chromosome, while the W chromosome was the small metacentric chromosome. The GTG-banding technique clearly revealed the compatible pairs of bands on each of macrochromosome and also showed 139 bands' number from all of those macrochromosome. The karyotype formula of the junglefowl is as follow:

$$2n (78) = L^m_2 + L^{sm}_2 + M^t_2 + M^{sm}_2 + S^t_4 + S^m_4 + \text{microchromosomes} + \text{sex chromosomes (ZW)}$$

คำสำคัญ: ไก่ป่าแดงคุ่มหูขาว *Gallus gallus gallus* โครโมโซม คาร์ิโอไทป์

Keywords: Red junglefowl, *Gallus gallus gallus*, Chromosome, Karyotype

บทนำ

ไก่ป่าโดยทั่วไปมีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด คือ ไก่ป่าแดง (*Gallus gallus*) ไก่ป่าเทาหรือไก่ป่าอินเดีย (*G. sonnerati*) ไก่ป่าศรีลังกา (*G. lafayettei*) และ ไก่ป่าเขียว หรือไก่ป่าชวา (*G. varius*) ไก่ป่าแดงจัดอยู่ในอันดับ (order) Galliformes วงศ์ (family) Phasianidae วงศ์ย่อย (subfamily) Phasianinae มีแหล่งแพร่กระจายในคาบสมุทรอินโดจีน คาบสมุทรมลายู เกาะสุมาตรา เกาะชวา ในอินโดนีเซีย ยกเว้นเกาะกะลิมันตัน ไปจนถึงหมู่เกาะฟิลิปปินส์ ไก่ป่าแดงแบ่งออกเป็น 5 ชนิดย่อย (subspecies) และที่พบในประเทศไทยมีอยู่ 2 ชนิดย่อย คือไก่ป่าแดงคุ่มหูแดง (*G. gallus spadiceus*) และ ไก่ป่าแดงคุ่มหูขาว (*G. gallus gallus*) ดังรูปที่ 1 ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่าง

จากไก่บ้านตรงมีขาสีเทาและที่โคนหางมีสีขาวยาวเห็นเด่นชัด ไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวจะมีคุ่มหูสีขาวพบมากในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในจังหวัดปราจีนบุรี นครนายก และจันทบุรี (ขนาด, 2550)

ลักษณะ คาร์ิโอไทป์ของสัตว์ปีกจะประกอบด้วยโครโมโซม 2 แบบ ได้แก่ โครโมโซมชุดใหญ่ (macrochromosome) และโครโมโซมชุดเล็ก (microchromosome) เมื่อตรวจสอบโครโมโซมชุดเล็กด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็ก จากการศึกษาโครโมโซมของไก่เลี้ยง (*G. domesticus*) (Bloom et al., 1978) พบว่ามี B locus อยู่บนโครโมโซมชุดเล็กของไก่เลี้ยง ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามียีนที่ควบคุมการแสดงออกอยู่บนโครโมโซมชุดเล็ก คาร์ิโอไทป์ของสัตว์ปีกมีจำนวนโครโมโซม

ดิพลอยด์ (diploid, $2n$) ที่แตกต่างกันมากจากรายงานของ Halnan (1989) พบว่าสัตว์ปีกส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 72-80 แท่ง เป็นโครโมโซมชุดใหญ่ 12-16 แท่ง และโครโมโซมชุดเล็ก 60-64 แท่ง โครโมโซมเพศ (sex chromosome) ของสัตว์ปีก มีการกำหนดเพศระบบ ZW คือ เพศเมีย

กำหนดเป็น ZW ส่วนตัวผู้กำหนดเป็น ZZ โดยพบว่าโครโมโซม Z มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม W (Gunski and Giannoni, 1998) ในการจัดทำคาริโอไทป์ของสัตว์ปีก โดยส่วนใหญ่โครโมโซมชุดเล็กจะมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถทำการวัด ทำการจำแนกชนิดและรูปร่างของโครโมโซมได้



รูปที่ 1 ลักษณะลำตัวและสีขนของไก่ป่าแดงตัมหูขาว (*G. gallus gallus*)

การศึกษาโครโมโซมของสัตว์ปีกที่ผ่านมา (Tiersch and Wachtel, 1991) ได้วัดขนาดจีโนมของนก 12 อันดับ 55 ชนิด พบว่าขนาดจีโนมของนกใกล้เคียงกันกับจีโนมของไก่เลี้ยง ซึ่งมีการคาดการณ์ว่าจีโนมของนกถูกอนุรักษ์ไว้ ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐานที่กล่าวไว้ว่าจีโนมของสัตว์ปีกนั้นมีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน ก่อนจะมีการแยกกันทางสายวิวัฒนาการ ในการประชุมสัมมนาวิชาการนานาชาติ ครั้งที่ 4 ในหัวข้อเรื่อง European Colloquium of Cytogenetics of Domestic Animals ที่ประเทศสวีเดนในปี ค.ศ. 1980 พบว่าไก่เลี้ยงมีจำนวน

โครโมโซม $2n$ เท่ากับ 78 แท่ง เป็นโครโมโซมร่างกาย 38 คู่ และมีโครโมโซมเพศเป็น Z และ W (Mohammedi et al., 1999) และในการศึกษาจำนวนโครโมโซมของไก่ป่า 4 ชนิด (Okamoto et al., 1987) โดยการตรวจสอบโครโมโซมในเซลล์ระยะเมทาเฟสในแต่ละชนิดจำนวน 100 เซลล์ พบว่าไก่ป่าทั้ง 4 ชนิด คือ *G. gallus*, *G. sonneratii*, *G. lafayettii* และ *G. varius* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์อยู่ในช่วง 78 ± 2 แท่งในอัตราร้อยละสูงที่สุดจากการนับจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ที่พบเท่ากับ 76 77 78 80 และ 81 แท่ง จากการตรวจสอบยังไม่พบรายงานการศึกษา

คาร์โบไฮโปในไก่ชนิด *G. gallus gallus* ทั้งในประเทศ ไทยและต่างประเทศ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมี วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคาร์โบไฮโปของไก่ป่าแดงตัมหู ขาวเพื่อจัดทำเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านเซลล์พันธุ ศาสตร์ของไก่ชนิดนี้ และเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ใน การศึกษาด้านเซลล์อนุกรมวิธาน และความสัมพันธ์เชิง วิวัฒนาการของสัตว์ปีกต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ใช้ตัวอย่างไข่ไก่จากสวนสัตว์นครราชสีมา อำเภอมือง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 10 ฟอง เพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในห้องปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อสัตว์ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การเตรียม โครโมโซมตัดแปลงจากวิธีการของ Freshney (2005) และ Li et al. (2004) ดังนี้ เคาะไข่อายุ 7-10 วัน ลงใน งานเลี้ยงเชื้อ ใช้ปากคีบที่ปลอดเชื้อคีบเอ็มบริโอ (embryo) ใส่ลงในงานเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ถ่ายใส่หลอด ปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 800 rpm นาน 1 นาที ดูดสารละลายใส (supernatant) ที่เติมสารละลาย 0.25% trypsin 2.0 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,500 rpm เป็นเวลา 1 นาที ดูดสารละลายใสทิ้ง เติมหอาหารเพาะเลี้ยง D-MEM + 10% fetal calf serum ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ถ่ายใส่ฟลาสก์ เพาะเลี้ยง (culture flask) นำไปเลี้ยงในตู้บ่มที่มี อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอน- ไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์โดย หยด 0.01% โคลชิซิน (colchicine) ลงในฟลาสก์ เพาะเลี้ยง 1 หยด บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 41 องศา-

เซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาเท ส่วนที่เป็นตะกอนและสารละลายทิ้ง เหลือไว้เฉพาะ เซลล์ที่เจริญเกาะอยู่บนผิวฟลาสก์ เติมหสารละลาย 0.25% trypsin 2.0 มิลลิลิตร บ่มที่ 41 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที หลังจากนั้นชะเซลล์ใส่หลอดปั่นเหวี่ยง หยดปฏิบัติการของ trypsin ด้วยสารละลาย 5% fetal calf serum ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใน D-MEM นำไป ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,500 rpm เวลา 5 นาที ดูด ส่วนของเหลวใสทิ้ง เติมน้ำยาคงสภาพ (Canoy's fixative) ที่ละลายพร้อมกับการเขย่าหลอดจนได้ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและ เวลาเท่าเดิม เทสารละลายส่วนบนทิ้งแล้วเติมน้ำยาคง สภาพในปริมาตรเท่าเดิม ทำซ้ำจนกว่าสีของสารละลาย ในหลอดจะใส สุดท้ายให้เจือจางตะกอนเซลล์ใน ปริมาตรที่เหมาะสมโดยการเติมน้ำยาคงสภาพลงใน หลอดให้มีปริมาตรเป็น 3 เท่า ของปริมาณตะกอน เซลล์

นำสารละลายที่มีเซลล์ไปหยดลงบนสไลด์ที่ สะอาดและเย็น ปล่อยให้แห้งในอากาศ ย้อมสี โครโมโซมแบบธรรมดาด้วยสีจิมซ่า 20% นาน 30 นาที และย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบจีมีวิธีการ คือ อบสไลด์ ที่ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชั่วโมงหรือข้ามคืน จากนั้นหยด trypsin 0.25% ลงบนสไลด์จนท่วม ปล่อยให้แห้ง 5 นาที แล้วนำมาย้อมด้วยสีจิมซ่า 10% เวลา 5 นาที ครบเวลานำสไลด์มาล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งสไลด์ให้ แห้ง นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (Rooney, 2001) การจัด คาร์โบไฮโปตัดแปลงจากวิธีการของ Levan et al. (1964)

ผลการวิจัย

จากการศึกษาโครโมโซมของไก่ป่าแดงตัมหูขาว ด้วยวิธีการเตรียมโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเซลล์

ไฟโบรบลาสต์ (รูปที่ 2) ผลการตรวจสอบโครโมโซมจากการย้อมสีแบบธรรมดา พบว่าไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซม 2 ประเภท คือ โครโมโซมชุดใหญ่จำนวน 9 คู่ และโครโมโซมชุดเล็กจำนวน 30 คู่ โครโมโซมชุดใหญ่แบ่งออกเป็นโครโมโซมเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 1 คู่ เทโลเซนทริกขนาดกลาง 1 คู่ ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 1 คู่ เทโลเซนทริกขนาดเล็ก 2 คู่ เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 คู่ และโครโมโซมเพศ 1 คู่ มีการกำหนดเพศระบบ ZW ไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวเพศผู้มีโครโมโซมเพศ ZZ และเพศเมียมีโครโมโซมเพศ ZW โครโมโซม Z เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง โครโมโซม W เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็ก ซึ่งสามารถเขียนสูตรคาริโอไทป์ได้ดังนี้ $2n (78) = L^m_2 + L^{sm}_2 + M^t_2 + M^{sm}_2 + S^t_4 + S^m_4 +$ โครโมโซมชุดเล็ก + โครโมโซมเพศ (ZW) โครโมโซมชุดเล็กมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กไม่สามารถทำการแยกชนิดของโครโมโซมได้ (รูปที่ 3) จากการย้อมแถบสีแบบจีมาจัดคาริโอไทป์โครโมโซมชุดใหญ่ได้ตั้งรูปที่ 4 ชุดโครโมโซมแฮพลอยด์จากการย้อมแถบสีแบบจี พบว่ามีแถบสีบนโครโมโซมระยะเมทาเฟสเท่ากับ 139 แถบ ทำการวัดเซลล์และหาค่าเฉลี่ยของความยาวต่างๆ ของแขนโครโมโซมได้ตั้งตารางที่ 1 ค่าที่ได้จากตารางนำมาทำอิดิโอแกรมมาตรฐานได้ตั้งรูปที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาโครโมโซมของไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวด้วยการเตรียมโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข พบว่าเป็นวิธีที่ให้ผลที่ดีกว่าวิธีการเตรียมโครโมโซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์ปีกพบอุปสรรคในการแยกระหว่างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเซลล์ อีกทั้งใช้

ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ยาวนานกว่า (ประมาณ 3-4 วัน) ทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนมากกว่าวิธีการเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข ที่ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเซลล์เพียง 24 ชั่วโมง และได้จำนวนเซลล์เพื่อทำการศึกษาโครโมโซมในขั้นตอนต่อไปที่มากกว่า นอกจากนี้เซลล์ที่ได้ยังสามารถทำการเพาะเลี้ยงแยก (subculture) ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นวิธีการเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของสัตว์ปีก

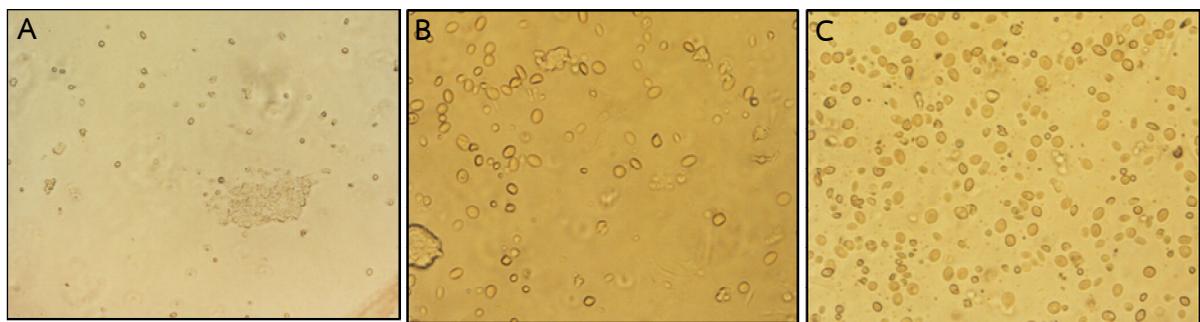
จากผลการตรวจสอบโครโมโซมของไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวพบว่าประกอบด้วยโครโมโซม 2 ชุด คือ โครโมโซมชุดใหญ่ที่สามารถจำแนกชนิดของโครโมโซมได้อย่างชัดเจน และโครโมโซมชุดเล็ก ที่ไม่สามารถจำแนกชนิดของโครโมโซมได้ โดยโครโมโซมจะมีขนาดเล็กมาก สอดคล้องกับรายงานการศึกษาคาริโอไทป์ของสัตว์ปีกพบว่าโครโมโซมมี 2 แบบ คือ โครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ตั้งแต่ 4-8 ไมโครเมตร และโครโมโซมขนาดเล็กมีขนาดเล็กกว่า 2 ไมโครเมตร เมื่อสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีขนาดเล็กมาก (Halnan, 1989) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าไก่ป่าแดงคุ่มหูขาวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาคาริโอไทป์ในไก่ป่า (Okamoto et al., 1987) ซึ่งพบว่าไก่ป่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากับไก่เลี้ยง ตามข้อตกลงทางที่ประชุมสัมมนาวิชาการนานาชาติ ครั้งที่ 4 ในหัวข้อเรื่อง European Colloquium of Cytogenetics of Domestic Animals ที่ประเทศสวีเดนในปี ค.ศ. 1980 พบว่าไก่เลี้ยงมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 78 แห่ง เป็นโครโมโซมร่างกาย 38 คู่ และไก่ป่ามีการกำหนดเพศระบบ ZW เพศผู้มีโครโมโซมเพศ ZZ และเพศเมียมีโครโมโซมเพศ ZW โครโมโซม Z และ W เป็นชนิดเมทาเซนทริกสอดคล้องกับรายงานการศึกษาพันธุ-

ศาสตร์เซลล์ของสัตว์ปีกหลายชนิด (Ohno et al., 1964; Galton and Bredburg, 1966; Mohammadi et al., 1999)

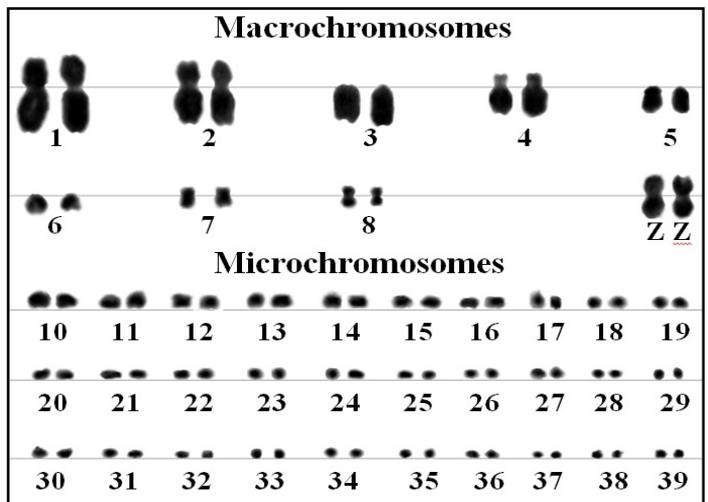
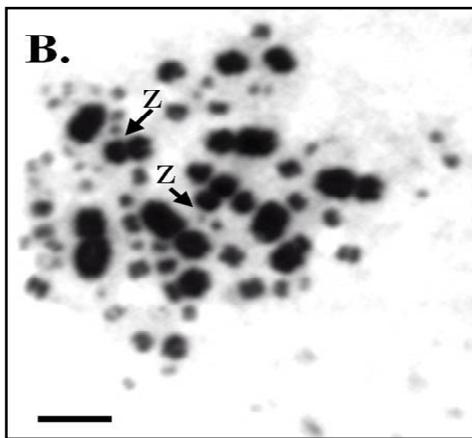
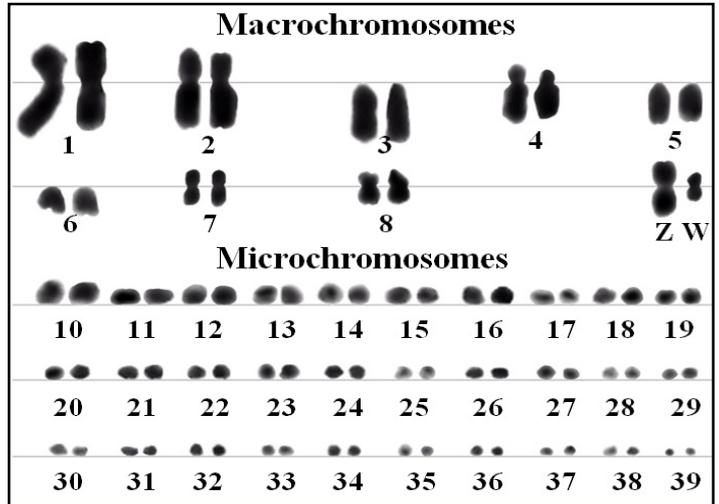
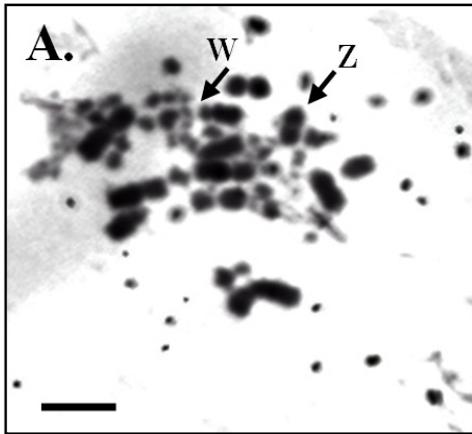
รายงานนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่ทำการวิเคราะห์รูปร่างโครโมโซมของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว ในการจัดทำคาริโอไทป์ของสัตว์ปีก โดยส่วนใหญ่แล้วโครโมโซมชุดเล็กนั้นจะมีขนาดที่เล็กมากจนไม่สามารถทำการวัด และจำแนกชนิด รูปร่างของโครโมโซมได้ ดังนั้นในการศึกษาโครโมโซมในสัตว์ปีกทั่วไปจึงนิยมที่จะศึกษา และจัดทำคาริโอไทป์เฉพาะโครโมโซมชุดใหญ่เท่านั้น (Gunski and Giannoni, 1998) ซึ่งในการศึกษาค้างนี้พบว่าโครโมโซมชุดใหญ่ของไก่ป่ามีจำนวน 9 คู่ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก เทโลเซนทริก และ อะโครเซนทริก ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานการศึกษารูปร่างและแถบสีบนโครโมโซมของไก่เลี้ยง ซึ่งพบว่าไก่ป่าและไก่เลี้ยงมีจำนวนโครโมโซมขนาดใหญ่เท่ากับ 9 คู่ เท่ากัน แต่มีความแตกต่างที่รูปร่างโครโมโซมของไก่ป่าและไก่เลี้ยง โดยที่ในไก่เลี้ยงไม่พบรูปร่างโครโมโซมชุดใหญ่ชนิดเทโลเซนทริก (Mohammediet al., 1999) ซึ่งอาจเกิดจากการใช้หลักการในการจำแนกชนิดโครโมโซมที่แตกต่างกัน ตลอดจนในสายวิวัฒนาการ

ของไก่ป่าและไก่บ้าน อาจเกิดจากการที่มีวิวัฒนาการของโครโมโซม (chromosome evolution) ชนิดเทโลเซนทริก มีการกลายพันธุ์ (mutation) ของโครโมโซม เช่น มีการแตกหักแล้วต่อสลับ (chromosome inversion) หรือเกิดการเคลื่อนย้ายแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซม (chromosome translocation) บางส่วนของโครโมโซมชุดเล็ก (Molina and Galetti, 2004) ซึ่งในการศึกษาค้างนี้ไม่สามารถระบุชัดเจนได้ว่าโครโมโซมของไก่ป่ามีวิวัฒนาการของโครโมโซมอย่างไร หรือที่รายงานขัดแย้งเกิดจากการจัดจำแนกชนิดโครโมโซมที่แตกต่างกันอย่างไร

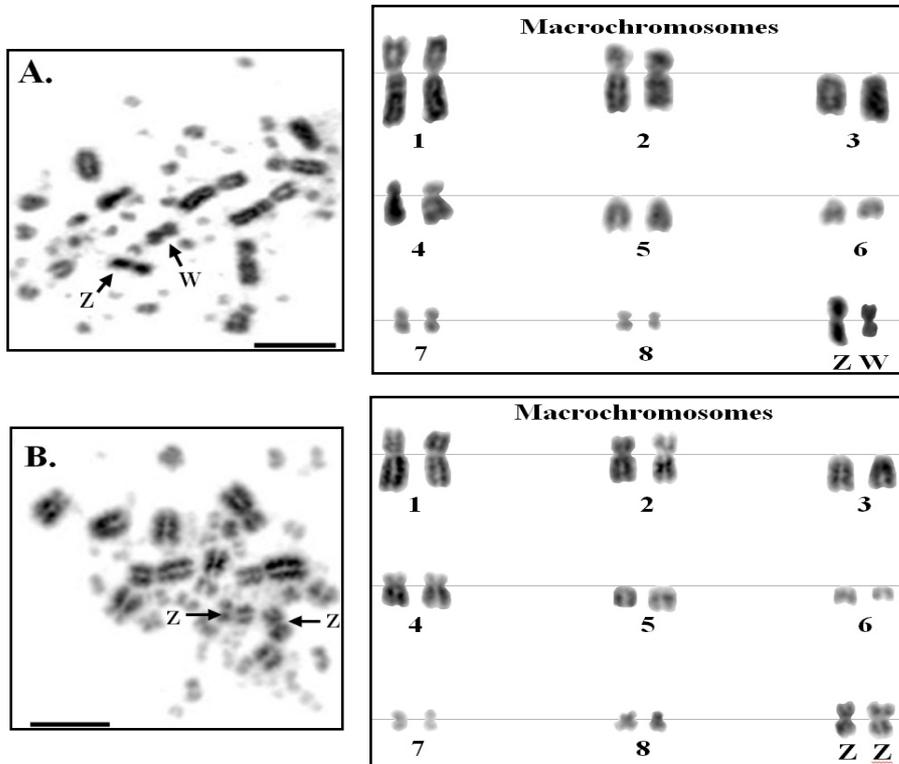
เพื่อทำการตรวจสอบแนวทางดังกล่าว ตลอดจนความกระจ่างในสายวิวัฒนาการของไก่ป่าและไก่เลี้ยงที่ถูกต้องด้วยการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ควรมีการศึกษาด้วยเทคนิคในการย้อมสีโครโมโซมเพิ่มเติม เช่น ย้อมสีโครโมโซมแบบ C-banding ซึ่งเป็นวิธีการย้อมติดสีบริเวณเซนโทรเมียร์ของแท่งโครโมโซม เพื่อหาข้อสรุปในการจัดจำแนกชนิดของโครโมโซม ตลอดจนใช้เทคนิค FISH (Fluorescent *in situ* hybridization) เข้ามาช่วยในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเพื่ออธิบายวิวัฒนาการของโครโมโซมให้ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น



รูปที่ 2 ลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาวที่เลี้ยงเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (A), 12 ชั่วโมง (B) และ 24 ชั่วโมง (C)



รูปที่ 3 เมทาเฟส (ซ้าย) และคาริโอไทป์ (ขวา) ของไข่แดงตัวผู้ (A.) เพศผู้ (B.) $2n=78$ โดยการย้อมแถบสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์=10 ไมโครเมตร)

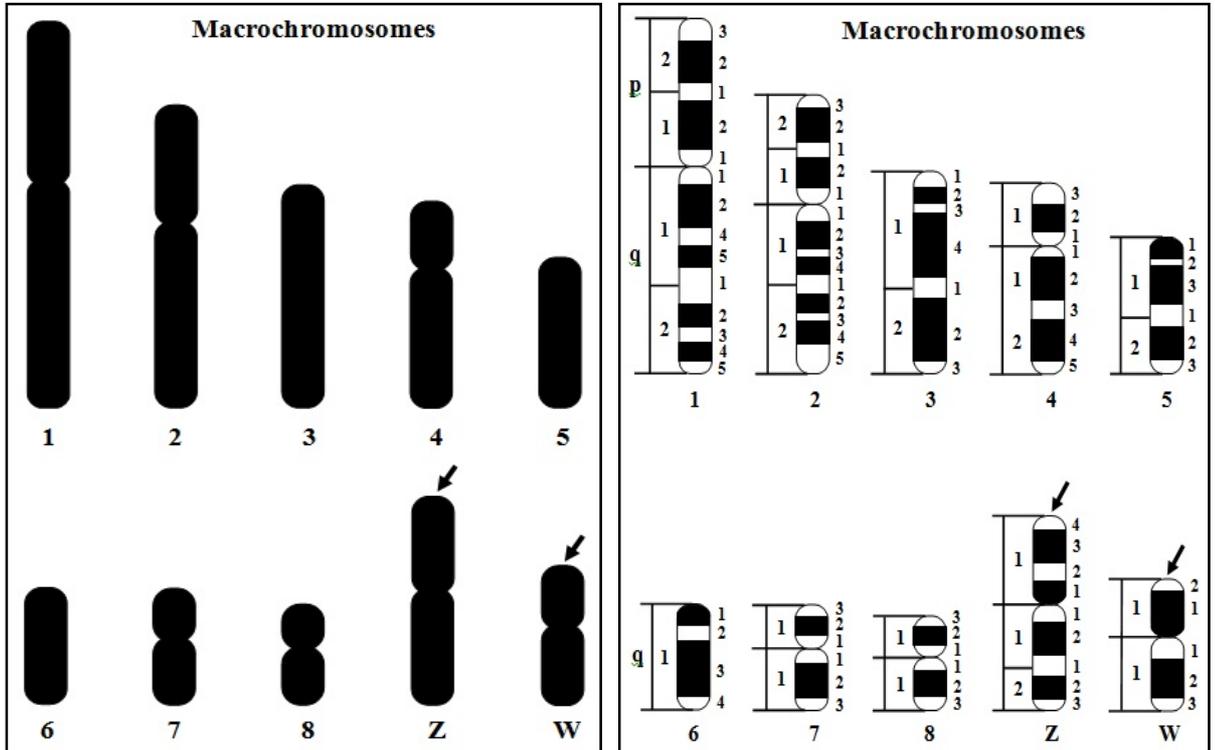


รูปที่ 4 เมทาเฟส (ซ้าย) และคาริโอไทป์ (ขวา) ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาวเพศเมีย (A.) เพศผู้ (B.) $2n=78$ โดยการย้อมแถบสีแบบจี (สเกลบาร์=10 ไมโครเมตร)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) relative length (RL) centromeric index (CI) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ RL และ CI ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว (*G. gallus gallus*, $2n = 78$) จำนวน 20 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	Ls	Ll	LT	RL±SD	CI±SD	ขนาดโครโมโซม	ชนิดโครโมโซม
1	1.08	1.51	2.59	0.10±0.01	0.58±0.02	ใหญ่	เมทาเซนทริก
2	0.82	1.25	2.07	0.08±0.00	0.60±0.02	ใหญ่	ซับเมทาเซนทริก
3	0.00	1.53	1.53	0.06±0.00	1.00±0.00	กลาง	เทโลเซนทริก
4	0.49	0.96	1.45	0.05±0.00	0.66±0.03	กลาง	ซับเมทาเซนทริก
5	0.00	1.06	1.06	0.04±0.00	1.00±0.00	เล็ก	เทโลเซนทริก
6	0.00	0.85	0.85	0.03±0.00	1.00±0.00	เล็ก	เทโลเซนทริก
7	0.36	0.49	0.85	0.03±0.00	0.57±0.03	เล็ก	เมทาเซนทริก
8	0.33	0.42	0.75	0.03±0.00	0.55±0.03	เล็ก	เมทาเซนทริก
Z*	0.66	0.82	1.48	0.06±0.00	0.55±0.03	กลาง	เมทาเซนทริก
W*	0.41	0.52	0.93	0.03±0.00	0.56±0.04	เล็ก	เมทาเซนทริก
10 - 39**	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: * = โครโมโซมเพศ (Z และ W โครโมโซม), ** = โครโมโซมชุดเล็ก (เป็นจุดขนาดเล็ก), โครโมโซมขนาดใหญ่ $LT>1.237$, โครโมโซมขนาดกลาง $LT = 0.990-1.237$, และโครโมโซมขนาดเล็ก $LT<0.99$



รูปที่ 5 อิติดิโอแกรมโครโมโซมชุดใหญ่ของไก่ป่าแดงตุ้มหูขาว (*G. gallus gallus*, $2n=78$) โดยการย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบธรรมดา (ซ้าย) และแถบสีแบบจี (ขวา) (ลูกศรชี้โครโมโซมเพศ)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสวนสัตว์นครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ สารเคมี และตัวอย่างในการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ขนาด ศีติสาร. (2550). ไก่กับคน จากมุมมองชีวชาติพันธุ์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์. แปลจาก Akishinonomiya Fumihito. n.p. Tori to Hito. Shogakukan Inc.

Bloom, S.E., Shalit, P. and Bacon, L.D. (1978). Chromosome localization of nucleolus organizers in the chicken. *Genetic* 88: 513.

Freshney, R.I. 2005. *Culture of Animal Cell: A Manual of Basic Technique*. 5th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.

Galton, M.S. and Bredburg, P.R. (1966). DNA replication pattern of the chromosome of the pigeon (*Columba liviademestica*). *Cytogenetic* 5: 295-306.

Gunski, R.J. and Giannoni, M.L. (1998). Nucleolar organizer regions and new chromosome number for *Rhea americana* (Aves, Rheiformes). *Genetic Molecular Biology* 21: 207-210.

Halnan, C.R.E. (1989). *Cytogenetics of Animals*. St. Mary Cray Kent, UK: Cambrian Printers.

- Li, T., O'Brein, P.C.M., Biltueva, L., Fu, B., Wang, J., Nie, W., Ferguson-Smith, M.A., Graphodatsky, A.S. and Yang, F. (2004). Evolution of genome organizations of squirrels (Sciuridae) revealed by cross-species chromosome painting. *Chromosome Research* 12: 317-335.
- Mohammedi, K.L., Bitgood, J.J., Boichard, M.T. and Ponce de Leon, F.A. (1999). International system for standardized Avian karyotype (ISSAK): standardized banded karyotype of the domestic fowl (*Gallus domestixus*). *Cytogenetic and cell Genetics* 86: 271-276.
- Molina, W.F. and Galetti Jr., P.M. (2004). Multiple pericentric inversion and chromosomal divergence in the reef fishes Stegastes (Perciformes, Pomacentridae). *Genet. Mol. Biol.* 27: 543-548.
- Ohno, S., Stenius, C., Christian, L.C., Becak, W. and Becak, M.L. (1964). Chromosomal uniformity in the avian subclass Cavinatae. *Chromosoma (Berl.)*. 15: 280-288.
- Okamoto, S., Maeda, Y. and Hashiguchi, T. (1987). Analysis of the Karyotypes of four species of JungleFowls. *Japanese Journal of Zootechnical Sci.* 59(2): 146-151.
- Rooney, D.E. (2001). *Human Cytogenetics: constitutional analysis*. Oxford University Press: Oxford, UK.
- Tiersch, T.R. and Wachtel, S.S. (1991). On the evolution of genome size of birds. *The Journal of Heredity* 82(5): 363-368.

