



โครโมโซมและการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของตั๊กแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) ในประเทศไทย

Chromosome and Meiotic Division of Migratory Bird Locust (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) in Thailand

สุมาลี พิมพ์พันธุ์¹ อลงกลด แทนอมทอง² กฤติยา แสงภักดี³ และวิวรรธน์ แสงภักดี^{4*}

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

³คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก 10110

⁴สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000

*Corresponding Author, E-mail: wiwatsang@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus, 1758) เพศผู้ ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาโครโมโซมตั๊กแตนชนิดนี้ในประเทศไทย เก็บตัวอย่างจากจังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอุดรธานี เตรียมโครโมโซมด้วยเทคนิคการเตรียมโดยตรงจากอวัยวะ ย้อมสีแบบธรรมดา และแถบสีแบบเอ็นโออาร์ ผลการศึกษาพบว่าตั๊กแตนสีน้ำตาลมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง โครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด โดยแบ่งเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แห่ง โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง และโครโมโซมเพศ 1 แห่ง ระบบโครโมโซมเพศเป็นระบบ X0 โครโมโซม X เป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง จากการย้อมแถบสีแบบเอ็นโออาร์พบตำแหน่งนอร์อยู่บริเวณใกล้กับเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมทุกแห่ง และศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อยืนยันจำนวนโครโมโซมและระบุโครโมโซมเพศ สูตรแคริโอไทป์ของตั๊กแตนสีน้ำตาล คือ $2n (23) = L_8^t + M_4^t + S_{10}^t + \text{โครโมโซมเพศ (X0)}$

ABSTRACT

This research is aimed to study the chromosomes of male migratory bird locust (*Cyrtacanthacris tatarica*) which reported for the first time for this species in Thailand. The specimens were collected in Khon Kaen and Udon Thani province. Chromosomal preparation was performed directly from their testes. Conventional and silver nor staining were applied on the metaphase chromosomes. The results demonstrate that migratory bird locust has diploid (2n) chromosome number of 23, with the fundamental number of 23. All of chromosomes have found to be telocentric chromosomes which including eight large, four medium, ten small telocentric and one medium X-telocentric chromosomes. The sex-system has been characterized to be X0. The NOR location have found closely in centromeric region of all chromosomes. Meiotic study have confirmed and identified the diploid

number and sex chromosome, respectively. The karyotype formula of this species could be deduced as $2n(23) = L_8^t + M_4^t + S_{10}^t + X$ -chromosome.

คำสำคัญ: ตั๊กแตนสีน้ำตาล *Cyrtacanthacris tatarica* โครโมโซม แคริโอไทป์

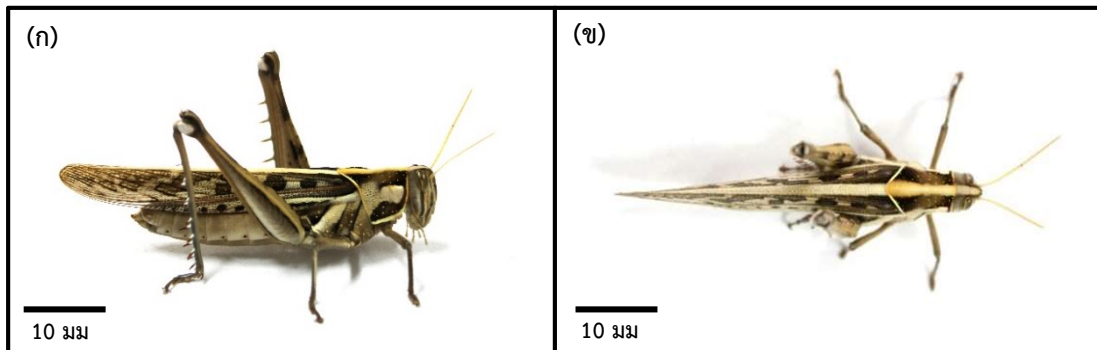
Keywords: Migratory bird locust, *Cyrtacanthacris tatarica*, Chromosome, Karyotype

บทนำ

ตั๊กแตนถูกจัดอยู่ในอันดับ Orthoptera เป็นแมลงที่มีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์มาก เนื่องจากตั๊กแตนมีปากแบบกัดกิน ตั๊กแตนส่วนใหญ่กินพืช มีบางชนิดเท่านั้นที่กินซากแมลงที่ตายแล้ว ตั๊กแตนจึงเป็นแมลงศัตรูพืชที่ทำลายพืชทั้งที่มนุษย์ปลูกและพืชที่ขึ้นเองในป่า อย่างไรก็ตามตั๊กแตนมีคุณค่าทางอาหารโดยเป็นแหล่งโปรตีนของมนุษย์และสัตว์ แต่ปัจจุบันจำนวนประชากรของตั๊กแตนลดลงอย่างรวดเร็ว หรือบางชนิดแทบจะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย เนื่องจากมนุษย์มีการใช้สารป้องกันศัตรูพืช การใช้สารเคมีมากขึ้นส่งผลให้จำนวนประชากรของตั๊กแตนลดลงอย่างเห็นได้ชัด

ตั๊กแตนเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของชนิดค่อนข้างมาก ประกอบด้วยหลายวงศ์ (family) จากข้อมูลพบว่า

ทั่วโลกมีประมาณ 22 วงศ์ (Rowell และ Flook 2001, Grzimek และคณะ 2004) สำหรับประเทศไทยมีรายงานไว้ 10 วงศ์ วงศ์ที่พบบ่อยที่สุด คือ วงศ์ของตั๊กแตนหนวดสั้น (Acrididae) ซึ่งมีจำนวน 47 ชนิด (Chaweewan และคณะ 2007) ตั๊กแตนสีน้ำตาล (*Cyrtacanthacris tatarica*) เป็นตั๊กแตนที่จัดอยู่ในวงศ์ตั๊กแตนหนวดสั้น มีลักษณะเด่นคือ ตั๊กแตนในวงศ์นี้จะมีหนวดสั้น มีที่ฟังเสียงอยู่ที่ด้านข้างของอกปล้องแรก ทำเสียงได้ด้วยการเสียดสีกันระหว่างขอบด้านข้างของโคนขาคู่หลังกับปีกคู่หน้า จัดอยู่ในวงศ์ย่อย Cyrtacanthacridinae ลักษณะของตั๊กแตนสีน้ำตาล คือ เป็นตั๊กแตนขนาดใหญ่สีน้ำตาลที่คล้ายตั๊กแตนป่าทั้งก้ามมาก แตกต่างที่ปีกคู่หน้าสั้นกว่า ส่วนด้านในของปีกคู่หลังไม่มีสีชมพูเหมือนที่ปรากฏในตั๊กแตนป่าทั้งก้าม (พิสุทธิ, 2556) (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของตั๊กแตนสีน้ำตาล (*C. tatarica*) (ก) ด้านข้าง (ข) ด้านบน

การศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนในประเทศไทยยังมีรายงานน้อยมาก ทั้งที่ชนิดและความหลากหลายของตั๊กแตนในเขตร้อนชื้นใกล้เส้นศูนย์สูตรโดยเฉพาะประเทศไทยนั้นสูงมาก โครโมโซมในกลุ่มตั๊กแตนมีจำนวนดิพลอยด์โครโมโซม ($2n$) เท่ากับ 23 แห่ง (Turkoglu และ Koca, 2002) ซึ่งมีรายงานการศึกษาโครโมโซมตั๊กแตนครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1952 โดย Shaman ในกลุ่มตั๊กแตนหัวตัด (Short-Horned Grasshopper) หลังจากนั้นได้มีรายงานการศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนอย่างต่อเนื่อง ในปี ค.ศ. 1989 Ma และ Zheng ได้ศึกษาโครโมโซมตั๊กแตนหนวดสั้น 5 ชนิดในประเทศจีน ได้แก่ *Oxya*

chinensis, *O. shanghaiensis*, *O. hyla intricata*, *O. agavisa* และ *O. adentata* ซึ่งพบว่าตั๊กแตนทั้ง 5 ชนิดนี้มีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกทั้งหมด ในปี ค.ศ. 1985 Fox และคณะ ศึกษาโครโมโซมตั๊กแตน *Oxya velox* พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก ต่อมาในปี ค.ศ. 1994 Ma และคณะ ได้ศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนในประเทศจีน จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Oxya chinensis*, *O. shanghaiensis*, *O. hyla intricata*, *O. agavisa*, *O. bicingula*, *O. apicocingula* และ *O. flava* ซึ่งพบว่ามีจำนวนโครโมโซม-

ดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซน-ทริกทั้งหมด ในปี ค.ศ. 2012 Qing และคณะ รายงานการศึกษาโครโมโซม ตั๊กแตน *Caryanda cultricerca* และ *C. amplexicerca* ผลการศึกษาพบว่า ตั๊กแตน 2 ชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด ต่อมาในปี 2013 Koli และคณะ รายงานโครโมโซมตั๊กแตนสีน้ำตาล (*C. tatarica*) ในประเทศอินเดีย โดย พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกทั้งหมด นอกจากนี้ Koli และคณะ (2013) ได้รายงานการศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนแต่ละชนิด ดังนี้ *Acrida exaltata*,

Phlaeoba antennata, *Gastrimargus africanus africanus*, *Parahieroglyphus bilineatus* และ *Hieroglyphus banian* พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกทั้งหมดเช่นกัน และล่าสุด Phimphan และคณะ (2016) ศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนข้าวเล็กจีนในประเทศไทย ผลการศึกษาพบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกทั้งหมด นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการย้อมแถบสีแบบเอ็นโออาร์ และ ศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสร่วมด้วย (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รายงานการศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนในวงศ์ Acrididae

ชนิด	2n	ระบบเพศ	สูตรแคโรไทป์	ชนิดโครโมโซม	จำนวนนอร์	อ้างอิง
<i>Caryanda cultricerca</i>	23	X0	3L+4M+4S+X	t	-	Qing et al., 2012
<i>C. amplexicerca</i>	23	X0	4L+4M+3S+X	t	-	Qing et al., 2012
<i>Oxya chinensis</i>	23	X0	2L+6M+3S+X	a	-	Ma and Zheng, 1989
	23	X0	2L+7M+2S+X	t	-	Yoshimura et al., 2005
	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
	23	X0	4L+4M+3S+X	a	23	Phimphan et al., 2016
<i>O. shanghaiensis</i>	23	X0	2L+6M+3S+X	a	-	Ma and Zheng, 1989
	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. adentata</i>	23	X0	2L+6M+3S+X			Ma and Zheng, 1989
	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. hyla intricata</i>	23	X0	2L+6M+3S+X	a	-	Ma and Zheng, 1989
	23	X0	2L+7M+2S+X	a	23	Yoshimura et al., 2005
	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. agavisia</i>	23	X0	2L+6M+3S+X	a	-	Ma and Zheng, 1989
	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. bicingula</i>	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. apicocingula</i>	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. flave</i>	23	X0	-	a	-	Ma et al., 1994
<i>O. japonica japonica</i>	23	X0	2L+7M+2S+X	a	23	Yoshimura et al., 2005
<i>O. yezoensis</i>	23	X0	2L+7M+2S+X	t	23	Yoshimura et al., 2005
<i>O. velox</i>	23	X0	3L+6M+2S+X	t	-	Chadha and Mehta, 2011
<i>Acrida exaltata</i>	23	X0	3L+6M+2S+X	m	-	Koli et al., 2013
<i>Phlaeoba antennata</i>	23	X0	3L+4M+4S+X	m	-	Koli et al., 2013
<i>Gastrimargus africanus africanus</i>	23	X0	3L+2M+6S+X	m	-	Koli et al., 2013
<i>Parahieroglyphus bilineatus</i>	23	X0	3L+4M+4S+X	m	-	Koli et al., 2013
<i>Cyrtacanthacris tatarica</i>	23	X0	2L+5M+4S+X	m	-	Koli et al., 2013
	23	X0	4L+2M+5S+X	t	23	การศึกษาครั้งนี้
<i>Hieroglyphus banian</i>	23	X0	3L+4M+4S+X	m	-	Koli et al., 2013

หมายเหตุ: 2n = โครโมโซมดิพลอยด์ L = โครโมโซมขนาดใหญ่ M = โครโมโซมขนาดกลาง S = โครโมโซมขนาดเล็ก a = อะโครเซนทริกโครโมโซม t = เทโลเซนทริกโครโมโซม m = เมทาเซนทริกโครโมโซม และ - = ไม่มีรายงานการศึกษา

จากรายงานการศึกษาโครโมโซมของตึกแตนที่ผ่านมามีข้อมูลจำนวนน้อยมาก เมื่อเทียบกับความหลากหลายของตึกแตน ดังนั้นการทราบข้อมูลทางพันธุกรรมของตึกแตนชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในประเทศไทยจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เป็นประโยชน์ต่อวงการวิชาการ ซึ่งนำไปสู่การอนุรักษ์ตึกแตนชนิดที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทยต่อไปในอนาคต ก่อนที่ตึกแตนแต่ละชนิด ที่มีเอกลักษณ์โดดเด่นสวยงามเหล่านี้จะสูญพันธุ์ไปตามธรรมชาติ หรือจากภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ นอกจากนี้ข้อมูลจากการศึกษาความแตกต่างของจำนวนและรูปร่างของโครโมโซม ยังสามารถนำไปใช้บูรณาการร่วมกับการศึกษาด้านวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ของตึกแตนในแต่ละชนิดได้ (Koli et al., 2013) เช่น ตึกแตนสีน้ำตาลซึ่งมีลักษณะภายนอกคล้ายกับตึกแตนปาทั้งก้ามมาก การทราบข้อมูลทางด้านโครโมโซมนับเป็นข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านเซลล์อนุกรมวิธาน รวมถึงสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และการขยายพันธุ์ของตึกแตนชนิดที่หายากและสวยงาม เพื่อเพิ่มศักยภาพให้เป็นสัตว์สวยงามที่สำคัญของประเทศไทยได้ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

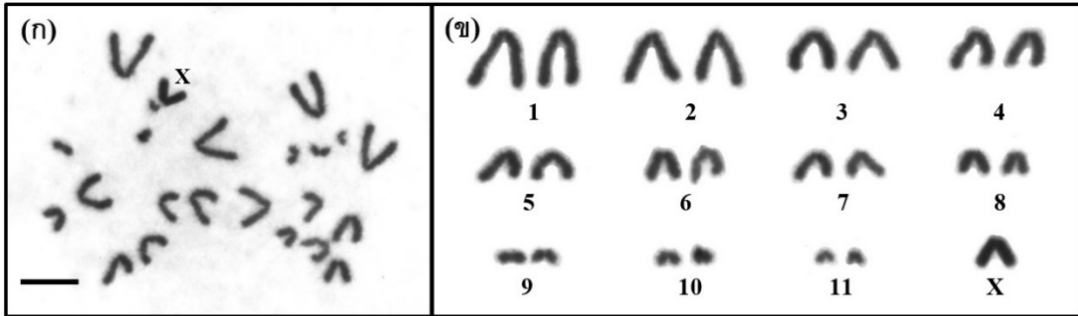
เก็บตัวอย่างตึกแตนจากพื้นที่จังหวัดอุดรธานี และจังหวัดขอนแก่น จำนวน 100 ตัว เป็นเพศผู้ 40 ตัวและเพศเมีย 60 ตัว นำตัวอย่างเฉพาะตึกแตนเพศผู้มาเตรียมโครโมโซมในห้องปฏิบัติการตามวิธีการของ Phimphan และคณะ (2016) โดยฉีดสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เข้าที่ช่องท้องของตึกแตน ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นผ่าเอาอวัยวะมาสับให้ละเอียดในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ และบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที ย้ายเซลล์ใส่หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบน (supernatant) ทิ้งแล้วเติมน้ำยาคงสภาพ (Canoy's fixative)

ที่ละหยดพร้อมกับเขย่าหลอดจนครบปริมาตร 7 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและเวลาเท่าเดิม แล้วเทสารละลายส่วนใสส่วนบนทิ้ง ทำขั้นตอนดังกล่าวซ้ำจนกระทั่งสีของสารละลายในหลอดใส ชั้นสุดท้ายให้เจือจางตะกอนเซลล์ในปริมาตรที่เหมาะสมโดยการเติมน้ำยาคงสภาพลงไปในหลอดให้มีปริมาตรเป็น 3 เท่า ของปริมาณตะกอนเซลล์

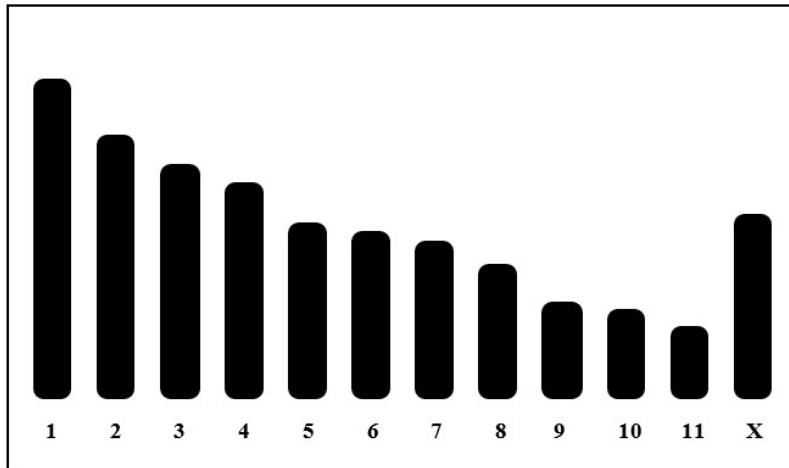
หยดสารละลายเซลล์แขวนลอยลงบนสไลด์ที่สะอาดและเย็น ปล่อยให้แห้งในอากาศ ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาด้วยสีจิมซาความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที และย้อมสีโครโมโซมแบบเอ็นโออาร์ดัดแปลงวิธีจาก Howell and Black (1980) มีวิธีการ ดังนี้ อบอุ่นสไลด์ที่ 60 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชั่วโมงหรือข้ามคืน จากนั้นหยดเจลาตินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และซิลเวอร์ไนเตรดความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ลงบนสไลด์จนท่วม ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างสไลด์โดยการจุ่มลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นจนกว่ากระจกปิดสไลด์จะหลุดออก ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 100 และ 1,000 เท่า ทำการจัดแคร์ิโอไทป์โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Levan และคณะ (1964) โดยเลือกเซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มีโครโมโซมไม่ซ้อนทับกัน จำนวน 10 เซลล์ มาจัดเรียงแคร์ิโอไทป์และวัดขนาดความยาวของโครโมโซม จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและจัดทำเป็นอิดิโอแกรมมาตรฐานตามวิธีการของ Phimphan และคณะ (2016)

ผลการวิจัย

ตึกแตนสีน้ำตาลมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 23 เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด แคร์ิโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แห่ง โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง และโครโมโซมเพศ 1 แห่ง ระบบโครโมโซมเพศเป็นระบบ X0 โครโมโซม X เป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดกลางดังแสดงในรูปที่ 2 และอิดิโอแกรมมาตรฐานแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 2 เซลล์ระยะเมทาเฟส (ก) แคริโอไทป์ (ข) ของต๊กแตนสีน้ำตาล $2n = 23(X0)$ (เพศผู้) จากการย้อมสีแบบธรรมดา (สเกลบาร์ = 10 ไมโครเมตร)



รูปที่ 3 อติโอแกรมโครโมโซมของต๊กแตนสีน้ำตาล $2n = 23, X0$ (เพศผู้)

จากข้อมูลสามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ของต๊กแตนสีน้ำตาลได้ดังนี้ $2n (23) = L_8^t + M_4^t + S_{10}^t + \text{โครโมโซมเพศ (X0)}$ จากการย้อมสีย้อมแบบเอ็นโออาร์พบว่าต๊กแตนชนิดนี้มีตำแหน่งนอร์อยู่บริเวณเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมทุกแห่ง (รูปที่ 4) อติโอแกรมแสดงตำแหน่งนอร์แสดงดังรูปที่ 5 จากการศึกษการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในระยะต่างๆ ทำให้ทราบพฤติกรรมของโครโมโซม ซึ่งสามารถยืนยันจำนวนโครโมโซมและระบุโครโมโซมเพศได้ (รูปที่ 6)

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ต๊กแตนสีน้ำตาลมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทุกแห่ง ขณะที่ Koli และคณะ (2013) ได้รายงานว่าเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกทุกแห่ง การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์โครโมโซมในระยะเมทาเฟสจำนวน

10 เซลล์ที่ชัดเจน เพื่อนำมาจัดแคริโอไทป์ และวัดขนาดของโครโมโซมโดยวัดแขนข้างสั้น (Length of short arm, Ls) แขนข้างยาว (Length of long arm, LL) ความยาวทั้งหมด (Length of total, LT) แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยเพื่อระบุชนิดของโครโมโซมซึ่งได้จากค่า centromeric index (CI) และขนาดของโครโมโซมจากค่า relative length (RL) พบว่าต๊กแตนสีน้ำตาลมีโครโมโซมเป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด 23 แห่ง แบ่งได้เป็น 3 ขนาด โดยโครโมโซมขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ยของความยาวทั้งหมดมากกว่า 12.971 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1-4 โครโมโซมขนาดกลางมีค่าเฉลี่ยความยาวทั้งหมดอยู่ระหว่าง 12.971-10.579 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 5-6 และ โครโมโซม X ส่วนโครโมโซมขนาดเล็ก มีค่าเฉลี่ยความยาวทั้งหมดน้อยกว่า 10.579 ไมโครเมตร ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 7-11 ดังแสดงในตารางที่ 2

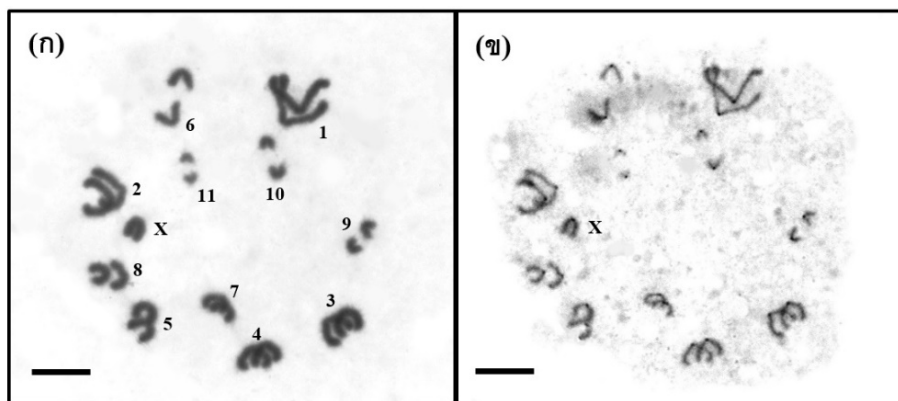
จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ของตั๊กแตนสีน้ำตาล สอดคล้องกับตั๊กแตนในสกุลอื่นๆ ที่มีการรายงานไว้ (Ma and Zheng, 1989; Ma et al., 1994; Yoshimura et al., 2005; Qing et al., 2012; Koli et al., 2013; Phimphan et al., 2016) คือเท่ากับ 23 แห่ง สังเกตได้ว่ากลุ่มของตั๊กแตนหนวดยาว มีการอนุรักษ์ (conservative) ในด้านจำนวนโครโมโซมอย่างมาก ในแต่ละชนิด ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ว่าตั๊กแตนหนวดยาวแต่ละชนิดมีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน

จากการย้อมแถบสีแบบเอ็นโออาร์ พบว่าตั๊กแตนสีน้ำตาลมีตำแหน่งนอร์อยู่บริเวณใกล้กับเซนโทรเมียร์ของโครโมโซม ทั้ง 23 แห่ง โดยสอดคล้องกับรายงานของ Yoshimura และคณะ (2005) และ Phimphan และคณะ (2016) ที่มีการรายงานการย้อมแถบสีแบบเอ็นโออาร์ในตั๊กแตน 4 ชนิด ได้แก่ *O. chinensis*, *O. hyla intricata*, *O. japonica japonica* และ *O. yezoensis* อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลโครโมโซมของตั๊กแตนที่ศึกษาครั้งนี้กับที่ได้รายงานก่อนหน้านี้ซึ่งอยู่คนละสกุลกัน แต่ความเหมือนของโครโมโซมเครื่องหมายหรือตำแหน่งของนอร์จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงความใกล้ชิดของตั๊กแตนในสกุล *Oxya* กับสกุล *Cyrtacanthacris* ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ตั๊กแตนหนวดยาวเช่นเดียวกัน ดังนั้นในการระบุชนิดของตั๊กแตนแต่ละชนิด จึงมีความจำเป็นต้องจัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน เพื่อใช้ลักษณะชนิดและขนาดของโครโมโซมที่มีความแตกต่างกันในการเป็นข้อมูลสนับสนุนสำหรับการระบุชนิดของตั๊กแตนในแต่ละชนิด

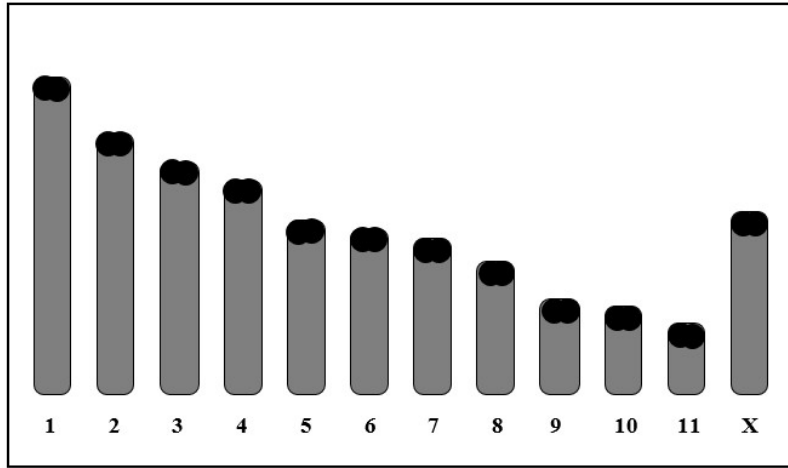
ผลการศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในระยะต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 6 สามารถยืนยันจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ และระบุโครโมโซมเพศ โดยเฉพาะการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส I

(metaphase I) ทำให้เห็นลักษณะของการเข้าคู่กัน (synapse) ของโครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) อย่างชัดเจน 11 คู่ (23 แห่ง) ส่วนโครโมโซมเพศ 1 แห่ง จะไม่มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมคู่เหมือนซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพฤติกรรมของโครโมโซมที่พบในตั๊กแตนเพศผู้ (รูปที่ 6ฉ) ดังนั้นระบบโครโมโซมเพศของตั๊กแตนชนิดนี้จึงเป็นระบบ XO (เพศผู้) และ XX (เพศเมีย) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าตั๊กแตนในสกุล *Caryanda*, *Oxya*, *Acrida*, *Gastrimargus*, *Parahieroglyphus*, *Cyrtacanthacris*, *Phlaeoba* และ *Hieroglyphus* มีระบบโครโมโซมเพศเป็น XO/XX เช่นเดียวกันทั้งหมด (Ma and Zheng, 1989; Ma et al., 1994; Yoshimura et al., 2005; Qing et al., 2012; Koli et al., 2013; Phimphan et al., 2016) นอกจากนี้การศึกษาการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส II (metaphase II) ยังช่วยยืนยันจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ได้อีกทางหนึ่ง เนื่องจากจำนวนโครโมโซมจะมีจำนวนเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid, n) เมื่อเทียบกับการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส I ดังรูปที่ 6ซ

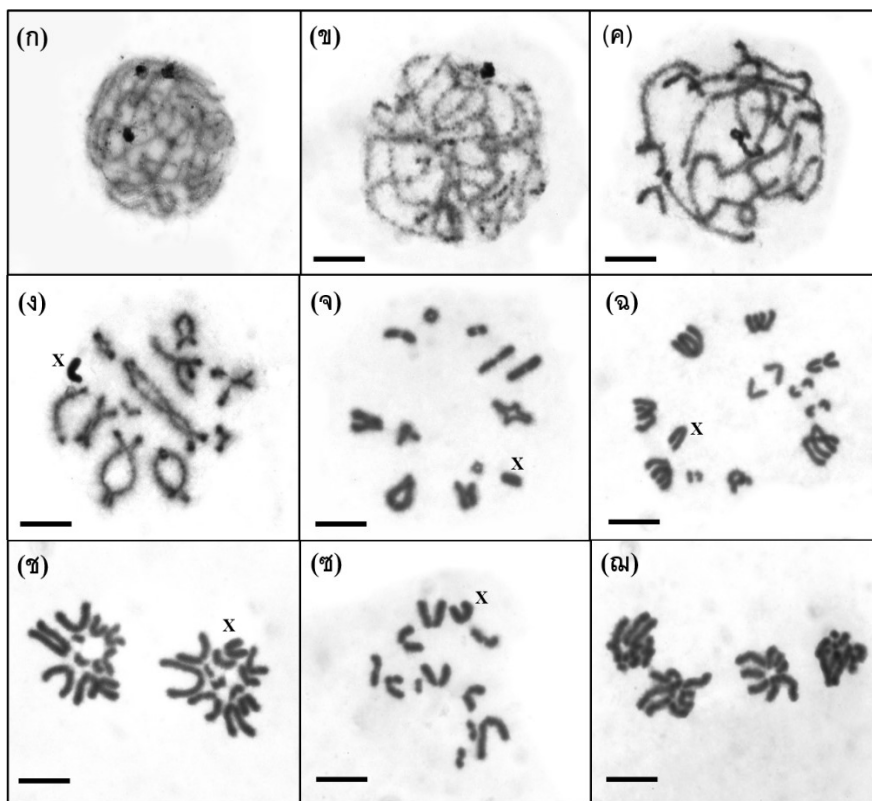
การศึกษานี้เป็นการรายงานเกี่ยวกับโครโมโซมของตั๊กแตนสีน้ำตาลครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งโครโมโซมถือเป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เพื่อใช้อธิบายถึงรูปแบบการเจริญและพัฒนา รวมถึงวิวัฒนาการได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบสำหรับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน การบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์และความแตกต่างทางพันธุกรรมในประชากรของตั๊กแตนแต่ละชนิด และตั๊กแตนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่แตกต่างกันได้ ข้อมูลที่ได้นี้จึงเป็นประโยชน์และเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาโครโมโซมตั๊กแตนชนิดอื่นๆ ในประเทศไทยต่อไป



รูปที่ 4 เซลล์ระยะเมทาเฟส I ของต๊กแตนสีน้ำตาลจากการย้อมสีแบบธรรมดา (ก) เซลล์ระยะเมทาเฟส I ของต๊กแตนสีน้ำตาลจากการย้อมแถบสีแบบนอร์ (ข) $2n = 23(XO)$ (สเกลบาร์ = 10 ไมโครเมตร)



รูปที่ 5 อิติโอแกรมโครโมโซมของต๊กแตนสีน้ำตาล $2n = 23, XO$ (เพศผู้) โดยการย้อมสีโครโมโซมแถบสีแบบนอร์



รูปที่ 6 การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของต๊กแตนสีน้ำตาล ระยะโปรเฟส (ก) เลปโททีน(ข) พาไคทีน (ค) ดิพโททีน(ง) ไดอะไคนีซิส (จ) เมทาเฟส I (ฉ) แอนาเฟส I (ฉ) เมทาเฟส II (ฉ) และแอนาเฟส I (ฉ) $2n = 23(XO)$ (สเกลบาร์ = 10 ไมโครเมตร)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย (mean) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) แขนโครโมโซมข้างยาว (LL) ความยาวโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ในหน่วยไมโครเมตร ค่าเฉลี่ย relative length (RL) centromeric index (CI) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของตักแตนสีน้ำตาล (*C. tatarica*) เพศผู้ทั้งหมด 10 เซลล์

คู่ที่	Ls	LL	LT	CI±SD	RL±SD	ขนาด	ชนิด
1	0.000	21.158	21.158	1.000±0.000	0.151±0.066	ใหญ่	เทโลเซนทริก
2	0.000	17.474	17.474	1.000±0.000	0.125±0.011	ใหญ่	เทโลเซนทริก
3	0.000	15.532	15.532	1.000±0.000	0.111±0.006	ใหญ่	เทโลเซนทริก
4	0.000	14.338	14.338	1.000±0.000	0.102±0.006	ใหญ่	เทโลเซนทริก
5	0.000	11.659	11.659	1.000±0.000	0.083±0.003	กลาง	เทโลเซนทริก
6	0.000	11.060	11.060	1.000±0.000	0.079±0.003	กลาง	เทโลเซนทริก
7	0.000	10.397	10.397	1.000±0.000	0.074±0.003	เล็ก	เทโลเซนทริก
8	0.000	8.895	8.895	1.000±0.000	0.064±0.003	เล็ก	เทโลเซนทริก
9	0.000	6.430	6.430	1.000±0.000	0.046±0.007	เล็ก	เทโลเซนทริก
10	0.000	5.873	5.873	1.000±0.000	0.042±0.006	เล็ก	เทโลเซนทริก
11	0.000	4.786	4.786	1.000±0.000	0.034±0.005	เล็ก	เทโลเซนทริก
X	0.000	12.211	12.211	1.000±0.000	0.088±0.011	กลาง	เทโลเซนทริก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ขอขอบคุณทุนฝึกอบรมนักวิจัยหลังปริญญาเอก บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น (รหัสทุน ๕๙๒๕๕) และกลุ่มวิจัยพืชปศุสัตว์และสัตว์น้ำ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ สารเคมี ที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- พิสุทธิ เอกอำนวยการ. (2556). ตักแตนต่างๆ Grasshoppers. กรุงเทพฯ: บริษัท พลัสเพรส จำกัด. หน้า 14.
- Chaweewan, H., Nopachon, T. and Chutima, D. (2007). Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation Ministry of Natural Resources and environment 77-80.
- Chadha, P. and Mehta, A. (2011). Chromosome complement and C-banding patterns in 6 species of grasshoppers. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* 3(1): 25-30.
- Fox, D.P. and Santos, J.L. (1985). N-bands and nucleolus expression in *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *Heredity* 54: 333-41.
- Grzimek, B., Kleiman, D. G., Geist, V. and McDade, M. C. (2004). *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*. Detroit: Thomson-Gale
- Howell, W.M. and Black, D.A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015.
- Koli, J.Y., Gaikwad, M.S., Bharmal, L.D., and Bhawane, P.G. (2013). Karyotypic Studies of Six Species of Grasshopper (Orthoptera: Acrididae) from Kolhapur District, Maharashtra, India. *Cytologia* 78(3): 255-260.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Ma, E.B., Guo, Y.P. and Zheng, Z.M. (1994). Cytotaxonomic study of *Oxya* species in China (Orthoptera: Acridoidea). *Insect Science* 1(2): 101-109.
- Ma, E.B., Zheng, Z.M. (1989). Comparison of karyotypes and chromosome C-banding patterns in five species of *Oxya*. *Acta Entomol Sin.* 32(4): 399-405.
- Phimphan, S., Sangpakdee, W., Sangpakdee, K. and Tanomtong, A. (2016). Chromosomal analysis and meiosis studies of *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acrididae) from Thailand. *The Nucleus* 60(1): 9-15.

- Qing, L., Xiaohong, O. and Hongjie, G. (2012). C-banding karyotypes of two *Caryanda* (Orthoptera: Catantopidae) species with short wings from China. *Am Entomol Soc.* 122(1): 1–9.
- Rowell, H. and Flook, P. (2001). Caelifera. Shorthorned grasshoppers, locusts and Relatives. Tree of Life Web Project. Retrieved April 8, 2017.
- Turkoglu, S. and Koca, S. (2002). Chromosomes of *Oedipoda schochi schochi* and *Acrotylus insbricus* (Orthoptera: Acrididae: Oedipodinae). Karyotypes and C-band and G-band patterns. *Turk J Zool.* 26: 327–32.
- Yoshimura, A., Obara, Y., Ando, Y. and Kayano, H. (2005). Comparative karyotype analysis of grasshoppers in the genus *Oxya* (Orthoptera, Catantopidae) by differential staining techniques. *Cytologia* 70: 109–17.

