บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

การศึกษาการทำไฮบริดในหอยนางรมทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ หอยนางรมปากจีบ หอยตะโกรมกรามขาวและหอยตะโกรมกรามดำ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตลูกหอยพันธุ์ผสม ตลอดจนศึกษาเพื่อเปรียบเทียบวิธีการเพาะเลี้ยง อัตราการผสม อัตรารอด การเติบโต (การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง) และศึกษาเปรียบเทียบจำนวนและลักษณะรูปร่างโครโมโซมในหอยนางรมพันธุ์ผสมกับพันธุ์แท้แต่ละชนิด

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

รวบรวมพ่อแม่พันธุ์หอยนางรมทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ หอยนางรมปากจีบ หอยตะโกรมกรามขาวและหอยตะโกรมกรามดำ ในขั้นตอนนี้ต้องมีความระมัดระวังอย่างมากในการคัดเลือกพ่อและแม่พันธุ์คือ ต้องเป็นหอยนางรมพันธุ์แท้เท่านั้น ในการทดลองนี้ได้รวบรวมพ่อและแม่พันธุ์หอยนางรมชนิดต่างๆ มาจากแหล่งเพาะเลี้ยงที่เชื่อถือได้ว่าเป็นพันธุ์แท้ทั้ง 3 ชนิด โดยหอยตะโกรมกรามขาวจากแหล่งเลี้ยงในจังหวัดสุราษฎร์ธานี หอยตะโกรมกรามดำจากแหล่งเลี้ยงในเขตตำบลท่าทราย จังหวัดชลบุรี และหอยนางรมปากจีบเป็นหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงขึ้นเองในสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี เมื่อได้พ่อและแม่พันธุ์หอยนางรมทั้ง 3 ชนิดแล้ว นำมาขุน (condition) ด้วยอาหารพวกแพลงตอนพืช จนกระทั่งหอยนางรมมีความสมบูรณ์เพศ

1. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตลูกหอยพันธุ์ผสม

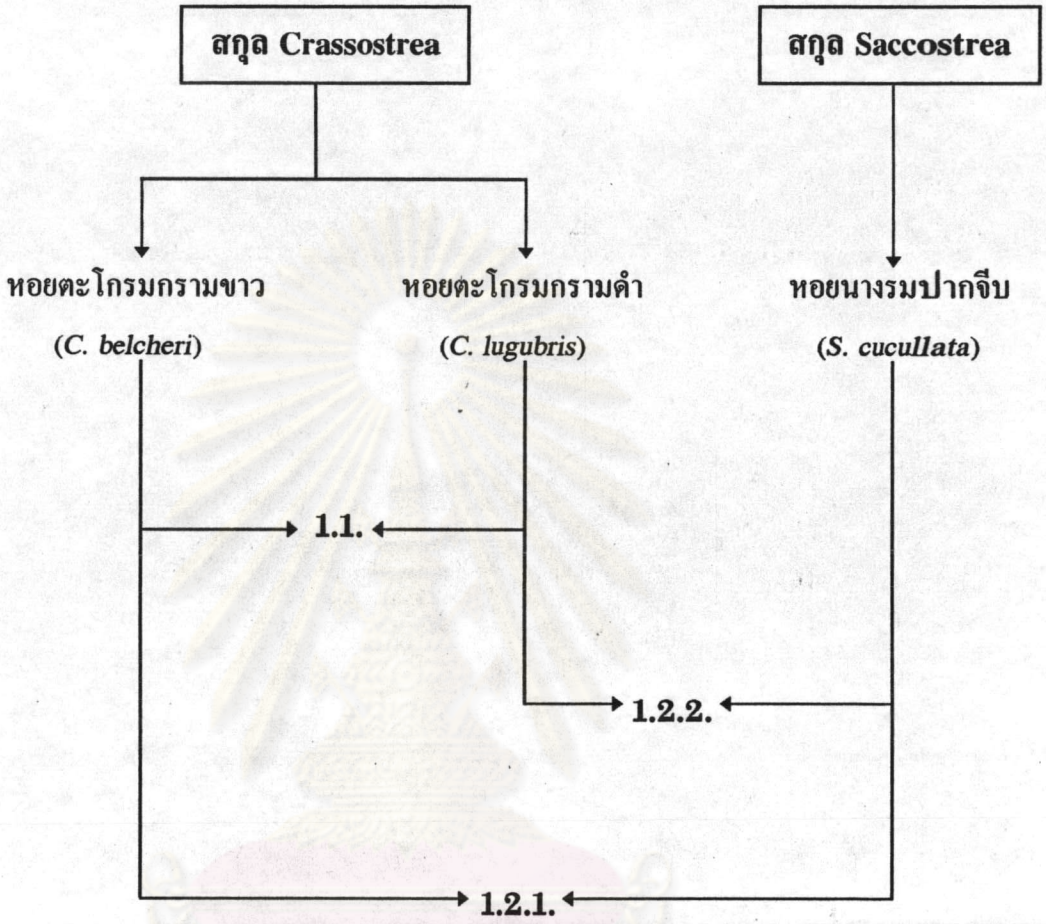
โดยแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลองใหญ่ ๆ (รูปที่ 5) คือ

1.1. การทำไฮบริดแบบข้ามชนิดภายในสกุลเดียวกัน (Interspecific Hybridization) เป็นการทำไฮบริดแบบข้ามชนิดระหว่างหอยตะโกรมกรามขาวกับหอยตะโกรมกรามดำ

1.2. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุล (Intergeneric Hybridization) ระหว่างสกุล Saccostrea กับ Crassostrea แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วนคือ

1.2.1. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามขาว

1.2.2. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามดำ



รูปที่ 5 แผนภาพการทำไฮบริดในหอยนางรมในการศึกษาครั้งนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.1. การทำไฮบริดแบบข้ามชนิดระหว่างหอยตะโกรมกรามขาวกับหอยตะโกรมกรามดำ ทำการทดลองรวม 3 ครั้ง ในวันที่ 10 กันยายน 2536 , 28 ตุลาคม 2536 และ 27 กุมภาพันธ์ 2537 ตามลำดับ การอนุบาลลูกหอยนางรมทุกครั้งจะควบคุมน้ำทะเลในระดับความเค็มประมาณ 25 - 28 ppt. และอุณหภูมิน้ำประมาณ 26 - 29 °C โดยคัดเลือกพ่อและแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์เพศในอัตราส่วน 15 : 5 ตัวของแต่ละชนิด ใช้เฉพาะไข่ที่มีความสมบูรณ์และน้ำเชื้อที่ว่ายไปมาได้อย่างรวดเร็ว ในการศึกษาไม่สามารถควบคุมการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของหอยนางรมได้ ดังนั้นต้องใช้เทคนิคการผ่า (Sacrification technique) เพื่อให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ของหอยนางรมทั้ง 2 ชนิดในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกัน เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบผลการเติบโต โดยแยกเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้ออกจากกัน และใส่ไว้ในภาชนะคนละใบ (ข้อควรระวังอย่างมากในขั้นตอนนี้คือ ระวังการปนเปื้อนของเซลล์สืบพันธุ์ในแต่ละชนิด และต้องใช้เครื่องใช้แยกจากกันโดยเด็ดขาดตลอดระยะเวลาการเลี้ยง) แยกไข่และน้ำเชื้อของหอยตะโกรมกรามขาว และไข่และน้ำเชื้อของหอยตะโกรมกรามดำ ทำไฮบริดแบบข้ามชนิด โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 8) ในภาชนะที่สะอาด เป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองเฉพาะไข่ที่ได้รับการผสมแล้วด้วยผ้ากรองขนาด 26 μm. จากนั้นนำไข่ที่ได้ลงเลี้ยงในน้ำทะเลที่เตรียมไว้ (การเพาะเลี้ยงมีอธิบายอย่างละเอียดใน ภาคผนวก ค.)

1.2. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุลในหอยนางรมระหว่างสกุล Saccostrea กับ Crassostrea ทำการทดลองเหมือนในข้อ 1.1. แต่เปลี่ยนชนิดของหอยนางรมตามชุดการทดลอง โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วนคือ

1.2.1. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามขาว โดยทำการทดลองรวม 3 ครั้ง ในวันที่ 25 มีนาคม 2537 ,30 มีนาคม 2537 และ 15 เมษายน 2537 ตามลำดับ แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุด ตามตารางที่ 9

1.2.2. การทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามดำ โดยทำการทดลองรวม 3 ครั้ง ในวันที่ 26 เมษายน 2537, 22 พฤษภาคม 2537 และ 28 มิถุนายน 2537 ตามลำดับ แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุด ตามตารางที่ 10

1.3. ในทุกกรณีจะทำการเก็บผลการอนุบาลหอยนางรมในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อใช้เปรียบเทียบการเติบโตและลักษณะอื่น ๆ ที่แตกต่างกันของหอยนางรมแต่ละชุด โดยแบ่งระยะการศึกษาออกเป็น 2 ระยะตามช่วงอายุของหอยนางรม คือ

1.3.1. ระยะวัยอ่อน - วัยเกล็ด

1.3.2. ระยะวัยเกล็ด - ตัวเต็มวัย

ตารางที่ 8 ชุดการทดลองการทำไฮบริดแบบข้ามชนิดระหว่างหอยตะโกรมกรามขาวกับหอยตะโกรมกรามดำ

ชุดการทดลอง	ชื่อชุด	การทำไฮบริดแบบข้ามชนิด (เพศเมีย x เพศผู้)
1	WW	หอยตะโกรมกรามขาว x หอยตะโกรมกรามขาว
2	WB	หอยตะโกรมกรามขาว x หอยตะโกรมกรามดำ
3	BW	หอยตะโกรมกรามดำ x หอยตะโกรมกรามขาว
4	BB	หอยตะโกรมกรามดำ x หอยตะโกรมกรามดำ

ตารางที่ 9 ชุดการทดลองการทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามขาว

ชุดการทดลอง	ชื่อชุด	การทำไฮบริดแบบข้ามสกุล (เพศเมีย x เพศผู้)
1	JJ	หอยนางรมปากจีบ x หอยนางรมปากจีบ
2	JW	หอยนางรมปากจีบ x หอยตะโกรมกรามขาว
3	WJ	หอยตะโกรมกรามขาว x หอยนางรมปากจีบ
4	WW	หอยตะโกรมกรามขาว x หอยตะโกรมกรามขาว

ตารางที่ 10 ชุดการทดลองการทำไฮบริดแบบข้ามสกุลระหว่างหอยนางรมปากจีบกับหอยตะโกรมกรามดำ

ชุดการทดลอง	ชื่อชุด	การทำไฮบริดแบบข้ามสกุล (เพศเมีย x เพศผู้)
1	JJ	หอยนางรมปากจีบ x หอยนางรมปากจีบ
2	JB	หอยนางรมปากจีบ x หอยตะโกรมกรามดำ
3	BJ	หอยตะโกรมกรามดำ x หอยนางรมปากจีบ
4	BB	หอยตะโกรมกรามดำ x หอยตะโกรมกรามดำ

1.3.1. ระยะวัยอ่อน - วัยเกล็ด

หลังจากทำการไฮบริดในแต่ละชุดแล้ว เริ่มเก็บบันทึกผลโดยประมาณค่าอัตราการผสมของไข่กับน้ำเชื้อ (โดยดูจากไข่ที่ได้รับการผสมว่ามีการพัฒนามากหรือน้อยเท่าใด หน่วยเป็นเปอร์เซนต์) ศึกษาอัตราการรอด อัตราการเติบโต โดยเก็บผลทุกครั้งที่มีการถ่ายน้ำ (ประมาณ 3 วันต่อครั้ง) ทำการสุ่มนับจำนวนลูกหอยจากถังอนุบาล และวัดอัตราการเติบโต โดยสุ่มลูกหอยแต่ละชุด ๆ ละ 50 ตัว วัดขนาดของความกว้างและความยาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในการวัดอัตราการเติบโต พิจารณาจากค่าความยาวของเปลือก คือ ส่วนที่ยาวที่สุดเมื่อวัดขนานกับส่วนที่เป็นบานพับ (hinge) และความกว้างของเปลือกลูกหอย คือ ส่วนที่ยาวที่สุดเมื่อวัดตั้งฉากกับส่วนที่เป็นบานพับ (รูปที่ 6) จนกระทั่งลูกหอยลงเกาะ (ระยะวัยเกล็ด) ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) และอื่น ๆ

1.3.2. ระยะวัยเกล็ด - ตัวเต็มวัย

เริ่มทำการศึกษาเมื่อหอยนางรมแต่ละชนิดเข้าสู่ระยะวัยเกล็ดแล้วประมาณ 18 สัปดาห์ เนื่องจากจะมีขนาดที่สะดวกในการวิจัย แบ่งการเก็บบันทึกผลออกเป็น 2 ช่วง

1.3.2.1. ขนาดความกว้างของเปลือกน้อยกว่า 1 เซนติเมตร

1.3.2.2. ขนาดความกว้างของเปลือกมากกว่า 1 เซนติเมตร

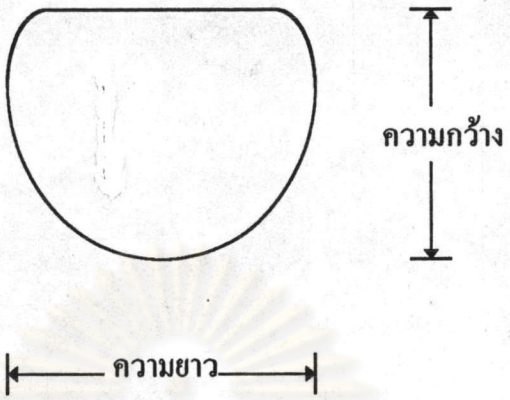
1.3.2.1. ขนาดความกว้างของเปลือกน้อยกว่า 1 เซนติเมตร

ทำการเก็บบันทึกผลการเติบโต โดยเริ่มเมื่อลูกหอยอายุได้ 18 สัปดาห์หลังจากเข้าระยะวัยเกล็ด (ลงเกาะวันที่ 10 มิถุนายน 2537) โดยการสุ่มลูกหอยในแต่ละชุด ๆ ละ 50 ตัว 3 ซ้ำ นำลงเลี้ยงในกะบะเดียวกันที่แบ่งเป็นช่อง เก็บผลการเติบโตโดยชั่งหาน้ำหนักเมื่อผึ่งให้แห้ง (ประมาณ 1 ชั่วโมง) ทุกสัปดาห์ รวม 6 สัปดาห์ ตั้งแต่วันที่ 15 ตุลาคม 2537 ถึงวันที่ 19 พฤศจิกายน 2537 (สัปดาห์ที่ 18 - 23 หลังจากเข้าระยะวัยแกล็ด) โดยชั่งน้ำหนักหอยด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า (รุ่น IBROR EB - 430D) จนกระทั่งลูกหอยนางรมมีขนาดความกว้างของเปลือกมากพอที่จะติดเบอร์ได้ (1-2 เซนติเมตร)

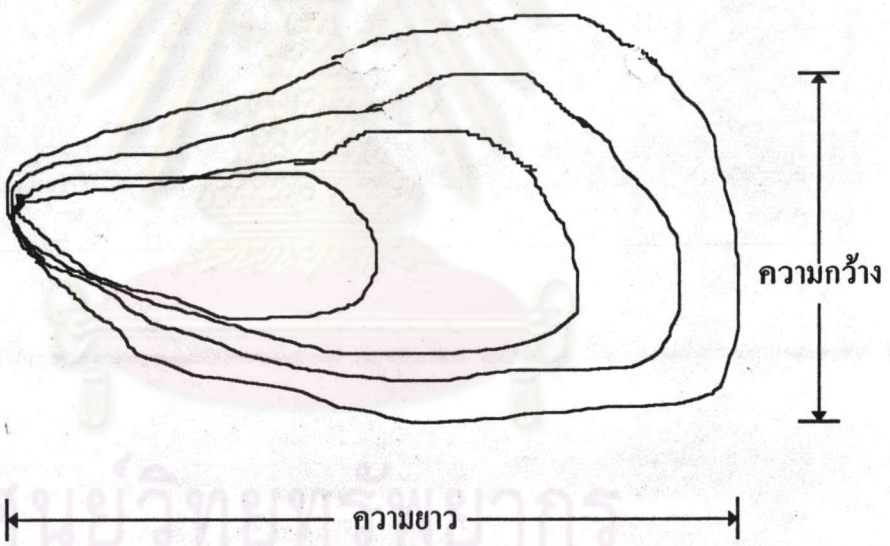
1.3.2.2. ขนาดความกว้างของเปลือกมากกว่า 1 เซนติเมตร (ขนาดที่สามารถติดเบอร์ได้)

โดยการสุ่มหอยนางรมในแต่ละชุด ๆ ละ 130 ตัว นำมาติดเบอร์ที่ทำจากแผ่นพลาสติก (Dymo tape) สีต่าง ๆ กัน โดยในแต่ละสีมีเบอร์ที่ไม่ซ้ำกัน ทำการติดเบอร์หอยนางรมเป็นรายตัวบนเปลือกด้านขวาด้วยกาวซิเมนต์ (Underwater Bond E830) การเลี้ยงเป็นวิธีตามธรรมชาติ คือ นำหอยนางรมที่ติดเบอร์แล้วทุกชุดมาเลี้ยงรวมกันในตะกร้าพลาสติกใบเดียวกันขนาด 30 x 45 เซนติเมตร ที่มีทุ่นลอยน้ำได้และเปิดน้ำทะเลให้ไหลผ่านตะกร้าตลอดเวลา และทำความสะอาดโดยการฉีดน้ำล้าง

ก.



ข.



รูปที่ 6 วิธีการวัดขนาดความกว้างและความยาวของเปลือกหอยนางรม

ก. ระยะวัยอ่อน (larvae) ข. ระยะตัวเต็มวัย

ที่มา : Quayle, 1980 และ Quayle และ Newkirk,1989

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตะกอนทุกสัปดาห์ วัดขนาดความกว้างและความยาวของเปลือก (หน่วยเป็นเซนติเมตร) เริ่มต้นโดยใช้ระยะแนวเส้นตรงจากปลาย umbo (anterior end) ไปยังส่วนท้ายของตัวหอย (posterior end) เป็นด้านความยาวของเปลือก ส่วนการวัดค่าความกว้างของเปลือกใช้การวัดในแนวตั้งฉากกับแนวความยาวโดยใช้จุดที่มีความกว้างมากที่สุด (รูปที่ 6) การวัดค่าดังกล่าวนี้ใช้เครื่องมือเวอร์เนียคาลิปเปอร์เป็นเครื่องวัด และชั่งน้ำหนักหอยนางรม (หน่วยเป็นกรัม) ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า (รุ่น IBROR EB - 430D) เก็บบันทึกผลการเติบโต (น้ำหนัก ความกว้างและความยาวของเปลือก) อัตราการรอดของหอยนางรมในแต่ละชุดทุก ๆ 2 สัปดาห์ รวมทั้งสิ้น 6 ครั้ง ตั้งแต่วันที่ 19 พฤศจิกายน 2537 ถึงวันที่ 28 มกราคม 2538 (เริ่มศึกษาเมื่อลูกหอยมีอายุได้ 23 - 33 สัปดาห์หลังจากเข้าระยะวัยเกล็ด)

1.4. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทุกช่วงที่ได้มารวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิติเพื่อหาอัตราการผสม อัตราการรอด และความแตกต่างของการเติบโตในแต่ละชุดการทดลองในระยะวัยอ่อนและวัยเกล็ด เพื่อแยกลักษณะที่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้โปรแกรม SYSTAT ในการวิเคราะห์ผล (วัชราภรณ์ สุริยาภิวัฒน์ 2529 และศิริชัย พงษ์วิชัย 2537) ได้แก่

การวิเคราะห์ค่าสถิติพื้นฐานต่าง ๆ

การหาสมการการเติบโตเพื่อเปรียบเทียบการเติบโตระหว่างความกว้างและความยาวของเปลือกลูกหอยในแต่ละชุดกับอายุ จากสมการการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) โดยมีสมการทั่วไปดังนี้ $Y = a + bX$

โดย Y เป็นค่าตัวแปรตาม (อัตราการเติบโต)

X เป็นค่าตัวแปรอิสระ (อายุ)

a เป็นจุดตัดแกน

b เป็นค่าความชันของเส้นตรงที่ได้

การหาสมการเปรียบเทียบอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเปลือกหอยนางรมในแต่ละชุด ในรูปสมการอัลโลเมตริก (allometric equation) เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกขนาดสัดส่วนจำเพาะของรูปร่างเปลือกหอยนางรมในแต่ละชนิด

2. การศึกษาลักษณะที่พบภายนอกของหอยนางรมในตัวเต็มวัย

เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะที่พบได้จากภายนอกระหว่างหอยนางรมพันธุ์แท้และหอยนางรมลูกผสมที่ได้ในแต่ละชุดการทดลอง โดยพิจารณาจากลักษณะสีและรูปร่างเปลือกทั้ง 2 ด้าน

3. การศึกษาจำนวนและลักษณะรูปร่างของโครโมโซม (Karyotype)

เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนและลักษณะรูปร่างโครโมโซมระหว่างหอยนางรมพันธุ์แท้และหอยนางรมลูกผสมที่ได้ในแต่ละชุดการทดลอง

3.1. การเก็บตัวอย่างในการศึกษาจำนวนและลักษณะรูปร่างของโครโมโซม

โดยเก็บจากตัวอย่างในหอยนางรมทุกชุดการทดลองที่ทำการผสม เริ่มเก็บตัวอย่างหลังจากที่ผสมแล้วประมาณ 5 - 6 ชั่วโมง โดยลูกหอยนางรมจะอยู่ในระยะ trochophore larvae รวมทั้งสิ้น 9 ชนิด ได้แก่ WW , BB , JJ , BW , WB , BJ , JB , WJ และ JW

3.2. การเตรียมตัวอย่างในการศึกษาจำนวนและลักษณะรูปร่างของโครโมโซม

3.2.1. นำตัวอย่างหอยนางรมระยะ trochophore ที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลาย colchicine ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซนต์ โดยผสมกับน้ำทะเล ปิดฝาให้อากาศเบา ๆ เป็นระยะ ๆ เพราะ colchicine เป็นสารที่ระเหยง่ายและมีอันตราย แช่ตัวอย่างประมาณ 2 - 3 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ โดยสารละลาย colchicine จะทำลาย spindle fiber ทำให้ไม่สามารถดึงโครโมโซมไปที่ขั้วเซลล์ ทำให้การแบ่งเซลล์ถูกยับยั้งที่ระยะเมตาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมมีการหดตัวมาก สามารถเห็นโครโมโซมได้อย่างชัดเจน

3.2.2. กรองตัวอย่างออกจากสารละลาย colchicine แล้วล้างด้วยน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว 2 - 3 ครั้ง เพื่อลดอันตราย

3.2.3. แช่ตัวอย่างในสารละลาย KCl ที่ความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซนต์โมลาร์ ประมาณ 40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.2.4. ทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge แล้วดูดสารละลาย .KCl ออกให้หมด

3.2.5. ใส่สารละลาย carnoy ที่เตรียมใหม่ ๆ และเย็น (ไม่เกิน 6 ชั่วโมง) คนเบา ๆ แล้วทำให้ตกตะกอน เปลี่ยนสารละลาย carnoy ใหม่ เพื่อรักษาคุณภาพของตัวอย่าง

3.2.6. ดูดเฉพาะตัวอย่างหอยนางรมที่ตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอดประมาณ 2 - 3 หยด แล้วเติมสารละลาย acetic acid ที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซนต์ ประมาณ 10 - 15 หยด ทิ้งไว้ประมาณ 5 - 8 นาที เพื่อให้เกิดการย่อยผนัง cell ให้เปราะบางมากยิ่งขึ้น

3.2.7. ใช้หลอดหยดดูดสารละลายที่ได้บริเวณผิว (ระวังอย่าให้สารละลายขุ่น) แล้วนำไปหยดลงบนกระจกสไลด์ที่วางไว้บนแผ่นทำความร้อน (hot plate) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 ^{o}C โดยหยดสารละลายดังกล่าวสูงจากกระจกสไลด์ประมาณ 1 เมตร ประมาณ 3

หยด ระวังอย่าให้หยดทับกัน แล้วรีบนำกระจกสไลด์ออกจากแผ่นทำความร้อนโดยเร็ว แล้วผึ่งกระจกสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.2.8. นำกระจกสไลด์ที่ได้ไปย้อมสีในสารละลาย Giemsa ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซนต์ เป็นเวลาประมาณ 20 นาที (โครโมโซมที่ได้จะย้อมติดสีม่วงเข้ม)

3.2.9. ล้างกระจกสไลด์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

3.2.10. ผึ่งกระจกสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำกระจกสไลด์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาจำนวนโครโมโซม และลักษณะรูปร่างโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจหากลุ่มโครโมโซมที่มีการกระจายตัวดี สามารถนับจำนวนได้อย่างชัดเจน บันทึกภาพ

3.3 การศึกษาโครโมโซม

เป็นการศึกษาทั้งจำนวนโครโมโซมและลักษณะรูปร่างโครโมโซม โดยเลือกภาพที่สามารถมองเห็นกลุ่มของโครโมโซมได้อย่างชัดเจนตัวอย่างละ 12 ภาพ นำภาพที่ได้ไปอัดลงในแผ่น Compact Disc ซึ่งสามารถแสดงภาพออกมาได้ทางเครื่องคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรม Image Pro Plus version 1.1 (Media Cybernetics,1994) ที่สามารถปรับความคมชัด และขยายขนาดโครโมโซมได้

การวัดขนาดโครโมโซม โดยวัดความยาวของขาทั้ง 4 ขาของโครโมโซม (รูปที่ 7) และเรียงลำดับข้อมูลจากมากไปหาน้อย นำข้อมูล 2 ค่าแรกหาค่าเฉลี่ยจะได้เป็นค่าความยาวของขายาวของโครโมโซม (long leg : LL) และทำเช่นเดียวกันกับข้อมูล 2 ค่าหลังจะได้ค่าความยาวของขาสั้นของโครโมโซม (short leg : LS) วัดจนครบทุกตัว เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3.4. การจำแนกชนิดของโครโมโซม

พิจารณาจากค่าดังต่อไปนี้

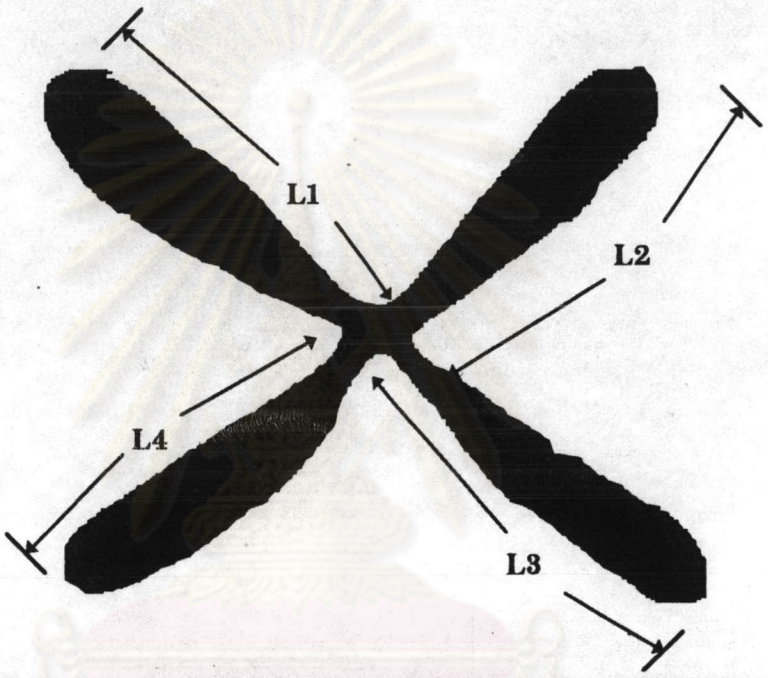
total leg (LT) = short leg (LS)+long leg (LL)

Centrometric Index (CI) = long leg (LL)/total leg (LT)

Relative Length (RL) = total leg (LT)*100/Σ(LT)

โดยพิจารณาจากค่า Centrometric Index (CI) ตามวิธีของ Lejeune (1965),Chen และ Ruddle (1970) และ Chen (1971) อ้างใน Acharaporn Sungpetch (1993) คือ

โครโมโซมชนิด Metacentric	มีค่า CI อยู่ระหว่าง	0.50 - 0.59
โครโมโซมชนิด Submetacentric	มีค่า CI อยู่ระหว่าง	0.60 - 0.75
โครโมโซมชนิด Acrocentric หรือ Telocentric	มีค่า CI อยู่ระหว่าง	0.76 - 1.00



รูปที่ 7 วิธีการวัดขนาดความยาวของขาของโครโมโซมแต่ละค่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I16699117

เมื่อจำแนกชนิดของโครโมโซมแล้วจากนั้นนำค่า Relative Length (RL) ในแต่ละโครโมโซมมาเรียงจากมากไปน้อย

3.5. เมื่อพิจารณาค่า CI และ RL ครบทุกโครโมโซมในแต่ละภาพแล้ว ให้นำค่าทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย ซึ่งจะเป็นผลของลักษณะลักษณะรูปร่างโครโมโซมของหอยนางรมแต่ละชนิด

3.6. นำรูปถ่ายโครโมโซมที่ชัดเจนที่สุดของหอยนางรมแต่ละชนิด มาแยกตามลักษณะรูปร่างของโครโมโซมและเรียงตามค่า RL จากมากไปหาน้อย

3.7. เปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมและลักษณะรูปร่างของโครโมโซมในแต่ละชนิด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย