

การศึกษาการเจริญเติบโตและคาร์โบไฮเดรตของกบ อึ่งอ่าง
และคางคกไทย



นางสาวนงลักษณ์ นาคเกษม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการ ศึกษาตามหลักสูตรวิทยา ศาสตร์มหาบัณฑิต

แผนกวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2519

001083

I15849236

STUDIES OF DEVELOPMENT AND KARYOTYPE OF THAI ANURANS

Miss Nonglak Nakasem

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1976

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

รศ. ธีระ...

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ *รศ. ธีระ...* ประธานกรรมการ
..... *ธีระ...* กรรมการ
..... *พเยาว์...* กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พเยาว์ บุญประกอบ

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการเจริญเติบโต และคาร์ิโอไทป์ของ กบ, อึ่งอ่าง และคางคกไทย.

ชื่อ นางสาวนงลักษณ์ นาคเกษม แผนกวิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2518

บทคัดย่อ

ในการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโต และ karyotype ของกบ ชนิด Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst, อึ่งอ่างชนิด Microhyla ornata Duméril and Bibron และคางคกชนิด Bufo melanostictus Schneider โดยศึกษาการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ 1 เซลล์ (ผสมพันธุ์แล้ว) จนถึงระยะตัวสำเร็จ สังเกตการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอก ถ่ายภาพทุก ๆ ระยะไข่ และวัดความยาวของตัวอ่อน ทุก 3 วัน จนกระทั่งตัวอ่อนเจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จ ผลการศึกษาพบว่า การเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ 1 เซลล์ ถึงระยะ Tail bud stage Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst และ Microhyla ornata Duméril and Bibron ใช้เวลา 17 ชั่วโมง ส่วน Bufo melanostictus Schneider ใช้เวลา 30 ชั่วโมง การเจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จ Bufo melanostictus Schneider เป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 28 วัน Microhyla ornata Duméril and Bibron เป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 38 วัน ส่วน Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst เป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 42 วัน การวัดขนาดความยาวของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด พบว่า Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst มีขนาดความยาวมากที่สุด รองลงมาได้แก่ Bufo melanostictus Schneider และ Microhyla ornata Duméril and Bibron ตามลำดับ

การศึกษา karyotype นำตัวอ่อนระยะ Premetamorphosis ใส่ในสารละลาย colchicine 0.005 % เป็นเวลา 15 - 18 ชั่วโมง แล้วนำปลายหางมาทำสไลด์ โดยใช้

วิธีบีบ (squash method) ซึ่งคัดแปลงจากวิธีของ Nishioka (1972) วัดขนาดความยาวของ chromosome จาก negative แลวเรียงลำดับคู่ของ chromosome ตามวิธีของ Hennen (1964), Seto (1965) และ Ullerich (1966) (จาก Beckert and Doyle, 1967) ซึ่งเรียงลำดับคู่ของ chromosome ตั้งแต่คู่ที่ใหญ่ที่สุด (คู่ที่ 1) ไปจนถึงคู่ที่เล็กที่สุด (คู่สุดท้าย) และในการจัดกลุ่มของ chromosome แต่ละคู่ว่าเป็น chromosome ที่มีขนาดใหญ่ หรือมีขนาดเล็ก ใช้วิธีของ Ullerich (1966) คือใช้ครึ่งหนึ่งของความยาวของ chromosome คู่ที่ใหญ่ที่สุด (คู่ที่ 1) เป็นหลัก chromosome คู่ที่มีความยาวมากกว่าจัดเป็น chromosome ที่มีขนาดใหญ่ chromosome คู่ที่มีความยาวน้อยกว่า จัดเป็น chromosome ที่มีขนาดเล็ก ผลการศึกษา karyotype พบว่าสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด มี karyotype ต่างกัน

Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst มีจำนวน chromosome $2n = 26$ chromosome แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีขนาดใหญ่ ประกอบด้วย chromosome 5 คู่ (คู่ที่ 1 - คู่ที่ 5) และกลุ่มที่มีขนาดเล็กประกอบด้วย chromosome 8 คู่ (คู่ที่ 6 - คู่ที่ 13) chromosome คู่ที่ 1 จัดเป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 7 เป็น Acrocentric chromosome ส่วน chromosome อื่น ๆ อีก 11 คู่ (คู่ที่ 2 - 6, 8 - 13) จัดเป็น Submetacentric chromosome

Microhyla ornata Duméril and Bibron มีจำนวน chromosome $2n = 24$ chromosome แบ่งออกได้เป็น 6 คู่ มีขนาดใหญ่ (คู่ที่ 1 - 6) 1 คู่ มีขนาดกลาง (คู่ที่ 7) และ 5 คู่มีขนาดเล็ก (คู่ที่ 8 - 12) chromosome คู่ที่ 1, 5, 6 จัดเป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 4 จัดเป็น Acrocentric chromosome chromosome อื่น ๆ อีก 8 คู่ (คู่ที่ 2, 3, 7 - 12) จัดเป็น Submetacentric chromosome

ส่วน Bufo melanostictus Schneider มีจำนวน chromosome เป็น $2n = 22$ chromosome แบ่งออกได้เป็น 6 คู่มีขนาดใหญ่ (คู่ที่ 1 - 6) กับ 5 คู่มีขนาดเล็ก (คู่ที่ 7 - 11) chromosome คู่ที่ 1, 5, 7, 9 จัดเป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 8 จัดเป็น Acrocentric chromosome chromosome อื่น ๆ อีก 6 คู่ (คู่ที่ 2 - 4, 6, 10, 11) จัดเป็น Submetacentric chromosome เนื่องจาก chromosome ของสัตว์ทดลองแต่ละชนิดมีรูปร่าง และขนาดต่าง ๆ กัน karyotype ของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด จึงจัดได้เป็นแบบ Asymmetric karyotype ในสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด ไม่พบว่ามี Heteromorphic sex chromosome

Thesis Title Studies of Development and Karyotype of Thai
Anurans.

Name Miss Nonglak Nakasem

Academic Year 1975

ABSTRACT

The comparative studies of development and karyotype were made in Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst, Microhyla ornata Dumeril and Bibron and Bufo melanostictus Schneider. The studies of development were from the eggs of one-cell stage upto the completion of metamorphosis. Total length of embryos were measured every three days. Every stage of development was recorded in microscopic photograph. The results of developmental studies were that Rana limnocharis limnocharis and Microhyla ornata developed from one-cell stage to tail bud stage in 17 hours, Bufo melanostictus in 30 hours but Bufo melanostictus had completed metamorphosis when it was 28 days old which Microhyla ornata was 38 days old and Rana limnocharis limnocharis was 42 days old. Of these kinds of animal Rana limnocharis limnocharis had the longest total length and Bufo melanostictus had the smallest one.

In order to analyse and compare the karyotypes of these three kinds of animal, each tadpole of premetamorphosis stage were kept alive in 0.005 % colchicine solution for 15 - 18 hours and then metaphase chromosomes from the tail-tip were treated in acetic orcein squash

4

preparations, after Nishioka(1972). The chromosome sizes were measured from the exposure, enlarged from the negative. The pairing of chromosomes were arranged in the order of decreasing size after Hennen (1964), Seto (1965) and Ullerich (1966). Each pairs of chromosome had been classified to be large or small pairs, using the half size of the largest pairs as the criterion between large and small. The karyotype of these three species were defferent. The diploid number of chromosomes in Rana limnocharis limnocharis was 26. There were five pairs of large chromosomes (Nos. 1 - 5) and eight pairs of small ones (Nos. 6 - 13). The first pairs was metacentric chromosome. The seventh one was acrocentric chromosome. All the others were submetacentric chromosome. The diploid number of chromosomes in Microhyla ornata Duméril and Bibron was 24 with six pairs of relatively large (Nos. 1 - 6), five pairs of relatively small (Nos. 8 - 12) and one pairs of intermediate size (No. 7) Nos. 1, 5, 6 were metacentric chromosome. No. 4 was acrocentric chromosome. The remaining eight pairs (Nos. 2, 3, 7 - 12) were submetacentric chromosome. The somatic number in Bufo melanostictus Schneider was 22 with six large pairs (Nos. 1 - 6) and five small pairs of chromosome (Nos. 7 - 11). Nos. 1, 5, 7, 9 were metacentric chromosome. No. 8 was acrocentric chromosome. The remaining six pairs (Nos. 2 - 4, 6, 10, 11) were submetacentric chromosome. The karyotypes of these three kinds of animal were asymmetric karyotype and heteromorphic sex chromosomes had not been found.

กิติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์
ม.ร.ว. ชนาญวดี เทวกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พเยาว์ บุญประกอบ
อาจารย์ที่ปรึกษา และควบคุมการวิจัย อาจารย์ ดร. กัญยรัตน์ ไชยสุต ที่กรุณา
สละเวลาให้คำแนะนำ และช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร. สุกสนอง ผาติनावิน ที่กรุณาให้ยืมเครื่องมือบางอย่างที่ใช้ในการทดลอง และ
ขอขอบคุณโครงการพัฒนามหาวิทยาลัย สภาการศึกษาแห่งชาติ ที่ให้ทุนการศึกษา และ
เงินทุนช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้.

๑๙๙๖๑๙๙๖

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
รายการตารางประกอบ	ณ
รายการกราฟประกอบ	ช
รายการภาพประกอบ	ณ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. การสอบสวนเอกสาร	3
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	7
4. ผลการทดลอง	14
5. วิจัยารณ์ผลการทดลอง	135
6. สรุปผล	146
หนังสืออ้างอิง	148
ประวัติการศึกษา	152

๗

รายการตารางประกอบ

ตารางที่

หน้า

- 1 แสดงเวลาในการเจริญเติบโตระยะต่าง ๆ ของ Rana limnocharis
limnocharis Gravenhorst, Microhyla ornata Duméril and
Bibron, Bufo melanostictus Schneider เปรียบเทียบกัน 17
- 2-26 แสดงค่าความยาวของ short arm, long arm, Longueur absolute,
Relative length และ Centromeric index ของ chromosome
ทั้ง 13 คู่ของเซลล์ในระยะ metaphase ของ Rana limnocharis
limnocharis Gravenhorst ทั้ง 25 เซลล์ตามลำดับ 48
- 27 แสดงค่าเฉลี่ย Relative length และ Centromeric index ของ
mitotic metaphase chromosome จากเซลล์ 25 เซลล์ใน Rana
limnocharis limnocharis Gravenhorst ($2n = 26$)..... 73
- 28-52 แสดงค่าความยาวของ short arm, long arm, Longueur absolute,
Relative length และ Centromeric index ของ chromosome
ทั้ง 12 คู่ ของเซลล์ในระยะ metaphase ของ Microhyla ornata
Duméril and Bibron ทั้ง 25 เซลล์ ตามลำดับ 77
- 53 แสดงค่าเฉลี่ย Relative length และ Centromeric index ของ
mitotic metaphase chromosome จากเซลล์ 25 เซลล์ใน
Microhyla ornata Duméril and Bibron ($2n = 24$) 102
- 54-78 แสดงค่าความยาวของ short arm, long arm, Longueur absolute,
Relative length และ Centromeric index ของ chromosome
ทั้ง 11 คู่ ของเซลล์ในระยะ metaphase ของ Bufo melanostictus
Schneider ทั้ง 25 เซลล์ ตามลำดับ 107

ตารางที่

หน้า

- 79 แสดงค่าเฉลี่ย Relative length และ Centromeric index ของ mitotic metaphase chromosome จากเซลล์ 25 เซลล์ใน Bufo melanostictus Schneider ($2n = 22$) 132
- 80 แสดงค่า Centromeric index และชนิดของ chromosome ของ Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst, Microhyla ornata Duméril and Bibron และ Bufo melanostictus Schneider เปรียบเทียบกัน 134
- 81 แสดงค่าเฉลี่ย Relative length และ Arm ratio ของ mitotic metaphase chromosome ใน Rana limnocharis limnocharis และ Rana limnocharis vittigera (Kuramoto, 1971) 141

รายการกราฟประกอบ

กราฟที่

หน้า

- | | |
|---|---|
| 1 | แสดงขนาดความยาว (total length) ของ <u>Rana limnocharis</u>
<u>limnocharis</u> Gravenhorst, <u>Microhyla ornata</u> Duméril
and Bibron และ <u>Bufo melanostictus</u> Schneider เปรียบเทียบ
กัน 38 |
| 2 | แสดง karyogram 2 มิตีของ <u>Rana limnocharis limnocharis</u>
Gravenhorst 74 |
| 3 | แสดง Karyogram 2 มิตีของ <u>Microhyla ornata</u> Duméril and
Bibron 103 |
| 4 | แสดง karyogram 2 มิตีของ <u>Bufo melanostictus</u> Schneider 133 |

รายการภาพประกอบ

แผ่นภาพที่	หน้า
1	แสดงลักษณะการอยู่รวมกลุ่มของไข่ของ <u>Rana limnocharis limnocharis</u> Gravenhorst, <u>Microhyla ornata</u> Duméril and Bibron, <u>Bufo melanostictus</u> Schneider 19
2	แสดงระยะต่าง ๆ ในการเจริญเติบโตของ <u>Rana limnocharis limnocharis</u> Gravenhorst ตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ ไปจนถึงระยะตัวสำเร็จ..... 20
3-12	แสดงไข่ของ <u>Rana limnocharis limnocharis</u> Gravenhorst ในระยะ 1 เซลล์, 2 เซลล์, 4 เซลล์, 8 เซลล์, 16 เซลล์, Morula, Blastula, Gastrula, Neurula และ Tail bud stage ตามลำดับ 21
13	แสดงระยะต่าง ๆ ในการเจริญเติบโตของ <u>Microhyla ornata</u> Duméril and Bibron ตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ ไปจนถึงระยะตัวสำเร็จ 26
14-23	แสดงไข่ของ <u>Microhyla ornata</u> Duméril and Bibron ในระยะ 1 เซลล์, 2 เซลล์, 4 เซลล์, 8 เซลล์, 16 เซลล์, Morula, Blastula, Gastrula, Neurula และ Tail bud stage ตามลำดับ 27
24	แสดงระยะต่าง ๆ ในการเจริญเติบโตของ <u>Bufo melanostictus</u> Schneider ตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ ไปจนถึงระยะตัวสำเร็จ 32
25-34	แสดงไข่ของ <u>Bufo melanostictus</u> Schneider ในระยะ 1 เซลล์, 2 เซลล์, 4 เซลล์, 8 เซลล์, 16 เซลล์, Morula, Blastula, Gastrula, Neurula และ Tail bud stage ตามลำดับ 33
35	แสดง mitotic metaphase และ idiogram ของ chromosome จากหางของ tadpole <u>Rana limnocharis limnocharis</u> Gravenhorst 46

แผนภาพที่

หน้า

36 แสดง mitotic metaphase และ idiogram ของ chromosome
จากหางของ tadpole Microhyla ornata Duméril and Bibfon 75

37 แสดง mitotic metaphase และ idiogram ของ chromosome
จากหางของ tadpole Bufo melanostictus Schneider..... 104

38 แสดง chromosome ที่มีลักษณะเป็น satellite ของ Bufo
melanostictus Schneider 105