

## การศึกษาการโอโตไพอีของอเห็นหน้าขาวหูดำง (*Arctogalidia trivirgata*) ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา

อลงกลด แทนอมทอง<sup>1</sup> เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์<sup>2</sup> อภิรดี ศรีภูมิ<sup>3</sup> พรรณี ชีโนรักษ์<sup>4</sup>  
วิวรรณ์ แก่นสา<sup>5</sup> สุเมธ กมลนรรนาถ<sup>6</sup> และ โสภณ ดำนัย<sup>7</sup>

### Abstract

Tanomtong, A.<sup>1</sup>, Bunjonrat, R.<sup>2</sup>, Sriphoom, A.<sup>2</sup>, Chinorak, P.<sup>2</sup>, Kaensa, W.<sup>1</sup>,  
Kamolnarranath, S.<sup>3</sup> and Dumnui, S.<sup>3</sup>

A study on karyotype of Small-toothed palm civet, *Arctogalidia trivirgata*  
(Carnivora, Viverridae) by using conventional staining method

Songklanakarini J. Sci. Technol., 2005, 27(6) : 1209-1220

This research was the first karyotypic study of Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*).  
Blood samples were taken from two males and two females kept in Dusit Zoo, Bangkok. After the standard  
whole blood lymphocyte culture at 37°C for 72 hr. in presence of Colchicine, the metaphase spreads were

<sup>1</sup>Genetics program, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Khaen University, Muang, Khon Khaen  
40002 Thailand. <sup>2</sup>Genetics program, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University,  
Phaya Thai, Bangkok 10400 Thailand. <sup>3</sup>The Zoological Park Organization, Rama 5, Dusit, Bangkok, 10300  
Thailand.

<sup>1</sup>วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นักศึกษาหลักสูตรวท.ม. สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
ขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002 <sup>2</sup>วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นักศึกษาหลักสูตรวท.ม. สาขาพันธุศาสตร์  
<sup>4</sup>วท.ม.(ชีววิทยา) รองศาสตราจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท  
ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10400 <sup>5</sup>สพ.บ.(สัตวแพทยศาสตร์) ผู้อำนวยการส่วนวิชาการ <sup>7</sup>วท.บ.(สัตวศาสตร์) ผู้อำนวยการองค์การสวนสัตว์  
ในพระบรมราชูปถัมภ์ ถนนพระราม 5 เขตดุสิต กรุงเทพฯ 10300

Corresponding e-mail: Tanomtong@hotmail.com

รับต้นฉบับ 1 ธันวาคม 2547      รับลงพิมพ์ 25 พฤษภาคม 2548

performed on microscopic slides and air-dried. Conventional Giemsa's staining were applied to stain the chromosome. The results showed that the number of diploid chromosome of Small-toothed palm civet was  $2n = 40$ , the fundamental number (NF) was 66 in both male and female. The type of autosomes were 2 large metacentric, 2 large submetacentric, 8 large acrocentric, 4 large telocentric, 4 medium submetacentric, 4 medium telocentric, 4 small metacentric, 2 small submetacentric, 2 small acrocentric and 6 small telocentric chromosomes. In addition, chromosome 17 showed a clearly observable satellite. X-chromosome was the large metacentric and Y chromosome was the smallest acrocentric chromosome.

The karyotype formula for the male Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*) is as follows:

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6 + X + Y$$

$$= L^m_3 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_3 + S^t_6$$

The karyotype formula for the female Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*) is as follows:

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6 + X + X$$

$$= L^m_4 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6$$

**Key words :** cytogenetics, karyotype, Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*)

### บทคัดย่อ

อลงกลด แทนอมทอง เรื่องวิทยุ บรรจงรัตน์ อภิรดี ศรีภูมิ พรรณี ชีโนรักษ์ วิวรรณ แก่นสา  
 สุเมธ กมลนรนาถ และ โสภณ คำนุ้ย  
 การศึกษาคาริโอไทป์ของอีเห็นหน้าขาวหูดำ (*Arctogalidia trivirgata*) ด้วยวิธีการ  
 ย้อมสีแบบธรรมดา

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(6) : 1209-1220

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาคาริโอไทป์ในอีเห็นหน้าขาวหูดำ ใช้ตัวอย่างสัตว์เพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว จากสวนสัตว์ดุสิต กรุงเทพฯ เตรียมโครโมโซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเทคนิคโคลชิซิน-ไฮโปโทนิก-ฟิสิกเซชัน-แอร์คาร์ยอชิง ย้อมด้วยสีจิมซ่า ผลการศึกษาพบว่าอีเห็นหน้าขาวหูดำมีจำนวนโครโมโซม  $2n$  (diploid) เท่ากับ 40 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง โครโมโซมคู่ที่ 17 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด มีสูตรคาริโอไทป์ ดังต่อไปนี้

สูตรคาริโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูดำเพศผู้ คือ

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6 + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L^m_3 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_3 + S^t_6$$

สูตรคาริโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูดำเพศเมีย คือ

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6 + X + X$$

$$\text{หรือ} = L^m_4 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^t_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_6$$

อีเห็นหน้าขาวหูดำสามารถที่จะจัดจำแนกอนุกรม  
วิธานได้ดังต่อไปนี้

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Mammal

Order : Carnivora

Family : Viverridae

Subfamily : Paradoxurinae

Genus : *Arctogalidia*

Species : *Arctogalidia trivirgata*

Wilson และ Cole (2000) รายงานว่าสัตว์เลี้ยงกินเนื้อ  
(Carnivores) ทั่วโลกมีอยู่ 11 วงศ์ 23 วงศ์ย่อย 129 สกุล  
271 ชนิด และ Hickman และ Robert (1994) ยัง  
รายงานว่ามีสัตว์เลี้ยงกินเนื้อที่มีอยู่ 11 วงศ์ ได้แก่  
สุนัข (dogs) หมี (bears) แรคคูนและสัตว์ที่ใกล้เคียง  
(raccoons and relatives) อีเห็น ชะมด หมีขอ (civets  
and relatives) ไฮยีนา (hyenas) เสือ แมว (cats) พังพอน  
(mongooses) เวสซัส แบดเจอร์ สะคัง นาก (weasels,  
badgers, skunks, otters) วอลรัส (walrus) สิงโตทะเล  
(sea lions) และแมวน้ำ (seals)

สัตว์ในวงศ์ Viverridae ทั่วโลกมีอยู่ทั้งสิ้น 6 วงศ์  
ย่อย 20 สกุล และ 38 ชนิด (Wilson and Cole, 2000)  
สำหรับในประเทศไทยพบทั้งหมด 3 วงศ์ย่อย 9 สกุล และ  
11 ชนิด ได้แก่

1. วงศ์ย่อย Paradoxurinae ประกอบด้วยหมีขอ  
หรือบินตุรง (Binturong, *Arctictis binturong*) อีเห็นข้าง

ลายหรืออีเห็นธรรมดา (Asian palm civet, *Paradoxurus  
hermaphroditus*) อีเห็นเครือ (Masked palm civet,  
*Paguma lavata*) อีเห็นหน้าขาวหูดำ (Small-toothed  
palm civet, *Arctogalidia trivirgata*)

2. วงศ์ย่อย Viverrinae ประกอบด้วยชะมดแปลง  
ลายแถบ (Banded linsang, *Prionodon linsang*) ชะมด  
แปลงลายจุด (Spotted linsang, *Prionodon pardicolor*)  
ชะมดแผงสันหางดำ (Large-spotted civet, *Viverra  
megaspila*) ชะมดแผงหางปล้อง (Large Indian civet,  
*Viverra zibetha*) และชะมดเข็ด (Small Indian civet,  
*Viverricular indica*)

3. วงศ์ย่อย Hemigalinae ประกอบด้วยอีเห็นน้ำ  
(Otter civet, *Cynogale bennettii*) และอีเห็นลายลาด  
(Banded palm civet, *Hemigalus derbyanus*) (โอภาส,  
2541; Lekagul and McNeely, 1977, 1988; Wilson  
and Cole, 2000)

สัตว์ในวงศ์ Viverridae จัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง  
ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535  
จำนวน 8 ชนิด และในจำนวนนี้ถูกจัดให้เป็นสัตว์ป่าที่มี  
แนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (Vulnerable, VU) จำนวน 1 ชนิด  
ได้แก่ ชะมดแผงสันหางดำ จัดเป็นสัตว์ที่มีสภาพใกล้  
สูญพันธุ์ (Endangered, EN) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ชะมด  
แปลงลายจุด ชะมดแปลงลายแถบ อีเห็นลายพาด และ  
จัดเป็นสัตว์ที่มีสภาพใกล้สูญพันธุ์อย่างยิ่ง (Critically en-  
dangered, CR) จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ อีเห็นน้ำ (ประทีป,  
2541; สมชาย, 2540)



Figure 1. Small-toothed palm civet, *Arctogalidia trivirgata* (Carnivora, Viverridae)  
Source : <http://www.chiangmaizoo.com/animal/pg-an013.asp>

Lekagul และ McNeely (1977, 1988) รายงานว่าอีเห็นหน้าขาวหูต่างในประเทศไทยพบได้ 3 ชนิดย่อย (subspecies) ได้แก่ *Arctogalidia trivirgata leucotis* (Horsfield, 1851), *A. t. major* Miller, 1906 และ *A. t. macra* Miller, 1913 ลักษณะทั่วไปของอีเห็นหน้าขาวหูต่าง (Figure 1) ได้แก่ ขนตามลำตัวมีความหลากหลายสีจากสีน้ำตาลเทาไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม มีแถบสีดำจางๆ 3 แถบอยู่บริเวณหลัง ส่วนใบหูและสันจมูกมีสีขาว หางมีความยาวมากกว่าความยาวลำตัว อาศัยอยู่ตามป่าที่ห่างไกลมนุษย์ หากินเวลากลางคืนตามต้นไม้ กินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ เช่น กระจงอก นก แมลง ผลไม้ป่า เป็นต้น ตั้งท้องนานประมาณ 45 วัน ออกลูกครั้งละ 2-3 ตัว อายุยืนประมาณ 10-12 ปี (Lekagul and McNeely 1977, 1988)

จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัย พบว่า ยังไม่มีรายงานการศึกษาคาริโอไทป์ของอีเห็นหน้าขาวหูต่าง แต่พบว่ามีการศึกษาในสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Paradoxurinae เดียวกัน ที่เป็นสัตว์ที่พบได้ในประเทศไทย ได้แก่ หมิ่นขออีเห็นข้างลาย และอีเห็นเครือ ดังรายงานการศึกษาของ Ray-Chaudhuri และคณะ (1966); Wurster และ

Benirschke (1967, 1968); Wada และคณะ (1983); Wang และคณะ (1984); Masashi และ Harumi (1993) (Table 1)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาได้จากอีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในสวนสัตว์ดุสิต กรุงเทพฯ ทำการเจาะเก็บเลือดโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) จากหลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) เก็บในหลอดสุญญากาศ (vacuum tube) ขนาด 10 มล. ที่บรรจุสาร heparin เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วทำการแช่ในกระดิกน้ำแข็งตลอดการเดินทางจนถึงห้องปฏิบัติการ การดำเนินการทดลองแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ

1. การเตรียมเซลล์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ของ อมรา (2540) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเลือด

**Table 1. Karyotypic studies of animals species in the subfamily Paradoxurinae (Carnivora, Viverridae).**

Species	2n	NF	m+sm	a+sa	t+st	X	Y	Reference
Binturong ( <i>Arctictis binturong</i> )	42	66 in male and female	22	18	-	m(M)	m(S)	Wurster and Benirschke (1967, 1968)
Asian palm civet ( <i>Paradoxurus hermaphroditus</i> )	42	-	20	-	20	m(M)	sm(S)	Ray-Chaudhuri et al. (1966)
	42	66 in male and female	22	18	-	m(M)	- (S)	Wurster and Benirschke (1967, 1968)
Masked palm civet ( <i>Paguma lavata</i> )	44	-	-	-	-	-	-	Wada et al. (1983)
	44	68 in male and female	22	20	-	m(M)	sm(S)	Wurster and Benirschke (1967, 1968)
	44	69 in male and 68 in female	24	18	-	m(-)	a(-)	Wang et al. (1984)
	44	66 in male and female	8	18	16	m(-)	m(-)	Masashi and Harumi (1993)

2n = diploid number      NF = fundamental number      m = metacentric  
 sm = submetacentric      a = acrocentric      sa = subacrocentric  
 t = telocentric      st = subtelocentric      X = X-chromosome  
 Y = Y-chromosome      M = medium chromosome      S = small chromosome

ปริมาณน้อย (whole blood microculture)

### 1.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

1) เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว ชนิด RPMI 1640 ที่มีสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (mitogen) คือ PHA (Phytohemagglutinin) ความเข้มข้น 2% นำ stock อาหารแบ่งลงในขวดอาหารเลี้ยงเม็ดเลือดขาวขวดละ 5 มล.

2) นำเลือดอีเห็นหน้าขาวหูต่างจำนวน 0.5 มล. หยดลงในขวดเพาะเลี้ยง เขย่าให้สารละลายและเลือดเข้ากัน ปิดฝาขวดหลวมๆ นำไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 37°C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเขย่าเลือดทุกเช้าและทุกเย็น

3) เมื่อครบเวลาเก็บเกี่ยวเซลล์คือ ชั่วโมงที่ 72 ทำการหยุดสารละลาย Colchicine เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที

### 1.2 การเก็บเกี่ยวเซลล์

1) ทำการย้ายสารละลายเลือดจากขวดเพาะเลี้ยงเลือดลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (graduated centrifuge) ขนาด 12 มล. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนใส (supernatant) ทิ้ง

2) ทำให้เซลล์พองตัวเพื่อที่โครโมโซมจะมีการกระจายตัวดี โดยทำการหยุด 0.075 M KCl ที่เป็น hypotonic solution จำนวน 10 มล. ลงในตะกอนเซลล์ ทำการผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture แล้วบ่มต่อไปอีก 30 นาที

3) เมื่อครบกำหนดทำการแยกเอา KCl ออก โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนใสทิ้ง

4) ทำการตรึงเซลล์ (fix) โดยการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ที่แช่เย็นและเตรียมใหม่เสมอ (fresh cold fixative) ที่มีอัตราส่วนของ methanol : glacial acetic acid เป็น 3:1 ใช้หลอดหยด หยดน้ำยาตรึงเซลล์ที่ละลาย พร้อมกับผสมเซลล์ให้เข้ากับสารละลายด้วย vortex mixture เติมน้ำยาตรึงเซลล์ประมาณ 8 มล. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดส่วนน้ำยาตรึงเซลล์ด้านบนทิ้ง

5) ทำซ้ำในข้อ 4 อีก โดยค่อยๆ ลดปริมาณน้ำยาตรึงเซลล์ที่ใช้แต่ละครั้งลง จำนวนครั้งขึ้นอยู่กับความ

ใสของสารละลาย ทำซ้ำจนได้สารละลายที่ใสและมีตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด ทำการดูดสารละลายด้านบนทิ้งจนเกือบหมด แล้วทำการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ลงไปอีก 1 มล. ทำการผสมให้เข้ากัน

6) ใช้ micropipette ดูดสารละลายตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาวปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ที่สะอาดและเย็นจัด ทำการฝังสไลด์ให้แห้ง (air dry technique)

7) ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining) ด้วยสี Giemsa's 10% เป็นเวลา 15 นาที ทำการล้างสีออกด้วยน้ำประปา ฝังสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปศึกษาต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิดถ่ายรูปรูปได้

## 2. การตรวจสอบโครโมโซม

ทำการคัดเลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) ที่มีโครโมโซมไม่สั้นหรือยาวเกินไป และมีการกระจายตัวของโครโมโซมไม่ซ้อนทับกัน ถ่ายภาพโครโมโซมอีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ นำภาพมาขยายที่ 3,800 เท่า ศึกษาโครโมโซมตามแบบของ กันยาร์ดน์ (2532) โดยใช้เวอร์เนียร์วัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long, Ll) ข้างสั้น (length short, Ls) ทำการคำนวณค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (length total, Lt) ค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) แล้วนำค่า Ll, Ls, Lt, RL และ CI ของโครโมโซมทั้ง 20 เซลล์ มาหาค่าเฉลี่ย (mean) นำค่า RL และ CI มาหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD)

ค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (Lt)

= ความยาวแขนข้างยาว (Ll) + แขนข้างสั้น (Ls)

ค่า relative length (RL)

= Lt/ความยาวของโครโมโซมทุกคู่ ( $\Sigma Lt$ ) x 100

ค่า centromeric index (CI) = Ll/Lt

การจับคู่ของโครโมโซมยี่ดหลัก ดังต่อไปนี้

1. ทำการจับคู่ของโครโมโซม โดยดูจากความยาวและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (centromere) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน กำหนดหมายเลขโครโมโซมแต่ละแท่ง

2. วัดความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่งจากภาพถ่าย

3. กำหนดชนิดของโครโมโซมจากค่า CI ดังต่อไปนี้

ค่า CI	ชนิดของโครโมโซม
0.500-0.599	เมทาเซนทริก
0.600-0.699	ซับเมทาเซนทริก
0.700-0.899	อะโครเซนทริก
0.900-1.000	เทโลเซนทริก

4. กำหนดขนาดของโครโมโซม โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นโครโมโซมคู่ใหญ่สุด (large, L) โครโมโซมขนาดกลาง (medium, M) คือ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กสุด และโครโมโซมขนาดเล็ก (small, S) คือ โครโมโซมที่มีค่าความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่สุด

$$\begin{aligned} \text{โครโมโซมขนาดใหญ่ (L)} &= \text{โครโมโซมคู่ที่ 1} \\ \text{โครโมโซมขนาดกลาง (M)} &< (\text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1} + \text{LT} \\ &\quad \text{เฉลี่ยคู่สุดท้าย}) / 2 \\ \text{โครโมโซมขนาดเล็ก (S)} &< \text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1} / 2 \end{aligned}$$

#### ผลและวิจารณ์การทดลอง

การศึกษาคาริโอไทป์ของสัตว์มีรูปแบบการจัดคาริโอไทป์หลายรูปแบบ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและความสะดวก ดังรายงานของ Ray-Chaudhuri และคณะ (1966) ทำการจัดคาริโอไทป์ของอีเห็นข้างลายโดยเรียงลำดับของโครโมโซมตามชนิด จากโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก ซับเทโลเซนทริก และเทโลเซนทริก และภายในชนิดเดียวกันก็เรียงจากขนาดใหญ่ไปยังขนาดเล็กสุด และวางโครโมโซมเพศไว้มุมล่างขวาสุดของภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fredga (1972) ที่ได้ศึกษาคาร์ิโอไทป์ของพังพอน ซึ่งจัดเป็นสัตว์อันดับกินเนื้อ เช่นเดียวกัน แต่สำหรับในรายงานของ Wurster และ Benirschke (1968) ทำการจัดคาริโอไทป์ของสัตว์อันดับกินเนื้อออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกจะเรียงโครโมโซมจากขนาดใหญ่ไปเล็กของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก กลุ่มที่สองจะเรียงโครโมโซมจากขนาดใหญ่ไปเล็กของโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริกและเทโลเซนทริก

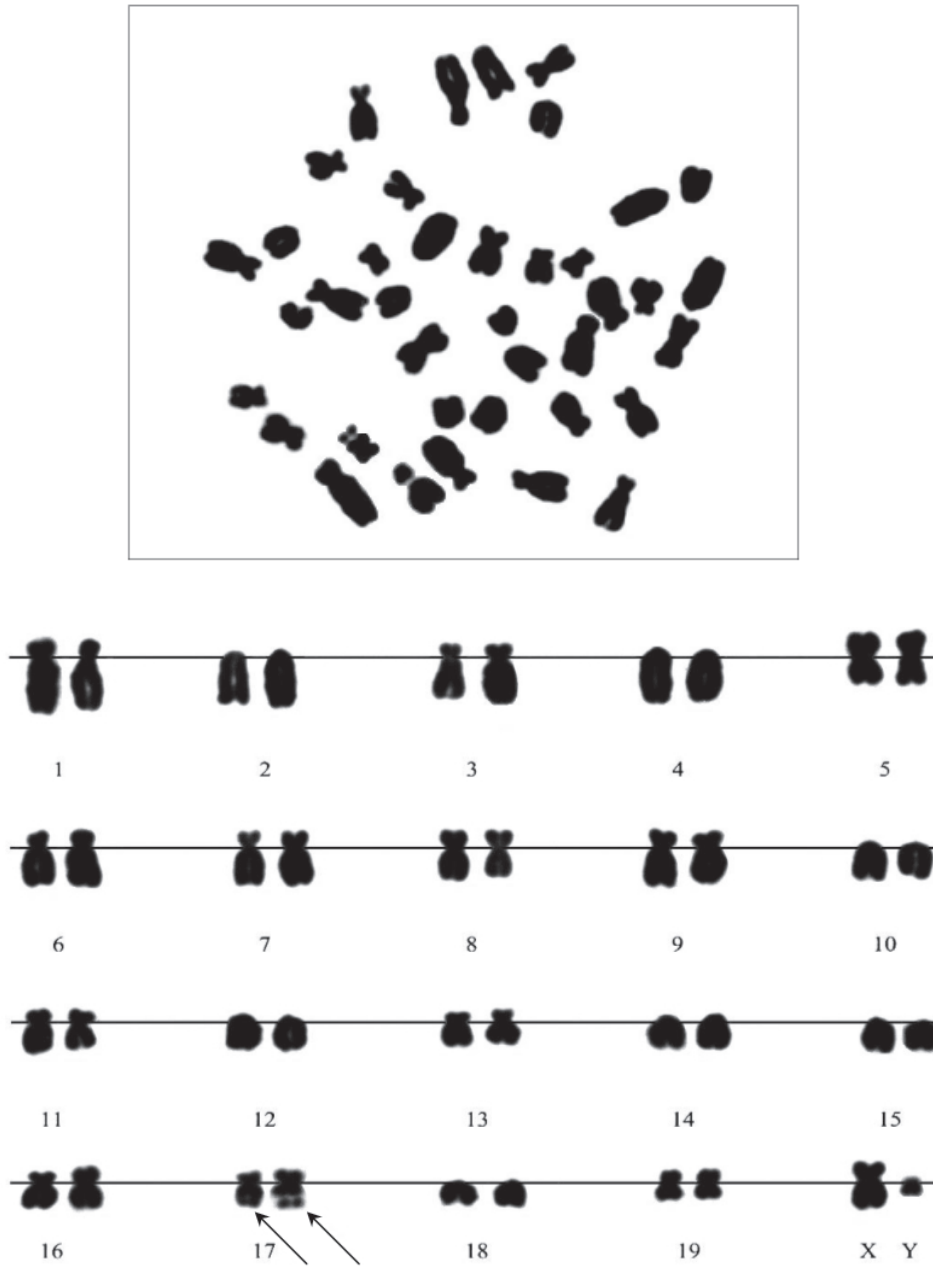
สำหรับโครโมโซมที่มีรอยคอดที่สอง (satellite chromosome) จะวางไว้มุมบนขวาสุด และวางโครโมโซมเพศไว้มุมล่างขวาสุด

ในรายงานของ Nash และ O'Brien (1987); Wada และคณะ (1991) ได้รายงานการจัดคาริโอไทป์ในสัตว์กลุ่มหมี (Usidae) ทำการจัดคาริโอไทป์เรียงลำดับจากโครโมโซมขนาดใหญ่สุดไปยังเล็กสุด โดยไม่ยึดว่าเป็นโครโมโซมชนิดใด และวางโครโมโซมเพศไว้มุมล่างขวาสุด จากการศึกษาคาริโอไทป์ของอีเห็นหน้าขาวหูต่างในครั้งนี้นำมาจัดคาริโอไทป์ตามวิธีการของ Nash และ O'Brien (1987); Wada *et al.* (1991) เพื่อความสะดวกในการศึกษาจากการจัดคาริโอไทป์ (Figure 2 and 3) ของอีเห็นหน้าขาวหูต่าง พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 40 แท่ง เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Paradoxurinae เดียวกันกับอีเห็นหน้าขาวหูต่างคือ หมีขอ อีเห็นข้างลาย และอีเห็นเครือ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42, 42 และ 44 แท่ง ตามลำดับ (Ray-Chaudhuri *et al.*, 1966; Wurster and Benirschke, 1967, 1968; Wada *et al.*, 1983; Wang *et al.*, 1984; Masashi and Harumi, 1993) จะเห็นได้ว่า อีเห็นหน้าขาวหูต่างมีจำนวนโครโมโซมน้อยที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ในวงศ์ย่อยเดียวกัน

อีเห็นหน้าขาวหูต่างมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number, NF) เท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน ได้แก่ หมีขอและอีเห็นข้างลายมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย (Wurster and Benirschke, 1967, 1968) อีเห็นเครือมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 69 ในเพศผู้และ 68 ในเพศเมีย (Wang *et al.*, 1984) เท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย (Masashi and Harumi, 1993) เท่ากับ 68 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย (Wurster and Benirschke, 1967, 1968) และอิตีโอแกรมของอีเห็นหน้าขาวหูต่าง (Figure 4) แสดงให้เห็นถึงการลดขนาดของโครโมโซมร่างกายลงไปตามลำดับ จากขนาดใหญ่ไปขนาดเล็ก

อีเห็นหน้าขาวหูต่าง มีโครโมโซมร่างกาย (auto-some) ที่ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก





**Figure 2. Metaphase chromosome and karyotype of male Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*)  $2n$  (diploid) = 40, satellite chromosome (arrows)**

(metacentric) ขนาดใหญ่ 2 แห่ง ซับเมทาเซนทริก (submetacentric) ขนาดใหญ่ 2 แห่ง อะโครเซนทริก (acrocentric) ขนาดใหญ่ 8 แห่ง เทโลเซนทริก (telocentric) ขนาดใหญ่ 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง เมทาเซนทริก

ขนาดเล็ก 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แห่ง เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างของรายงานการศึกษาได้แก่ Wurster และ Benirschke (1967, 1968) รายงานว่า

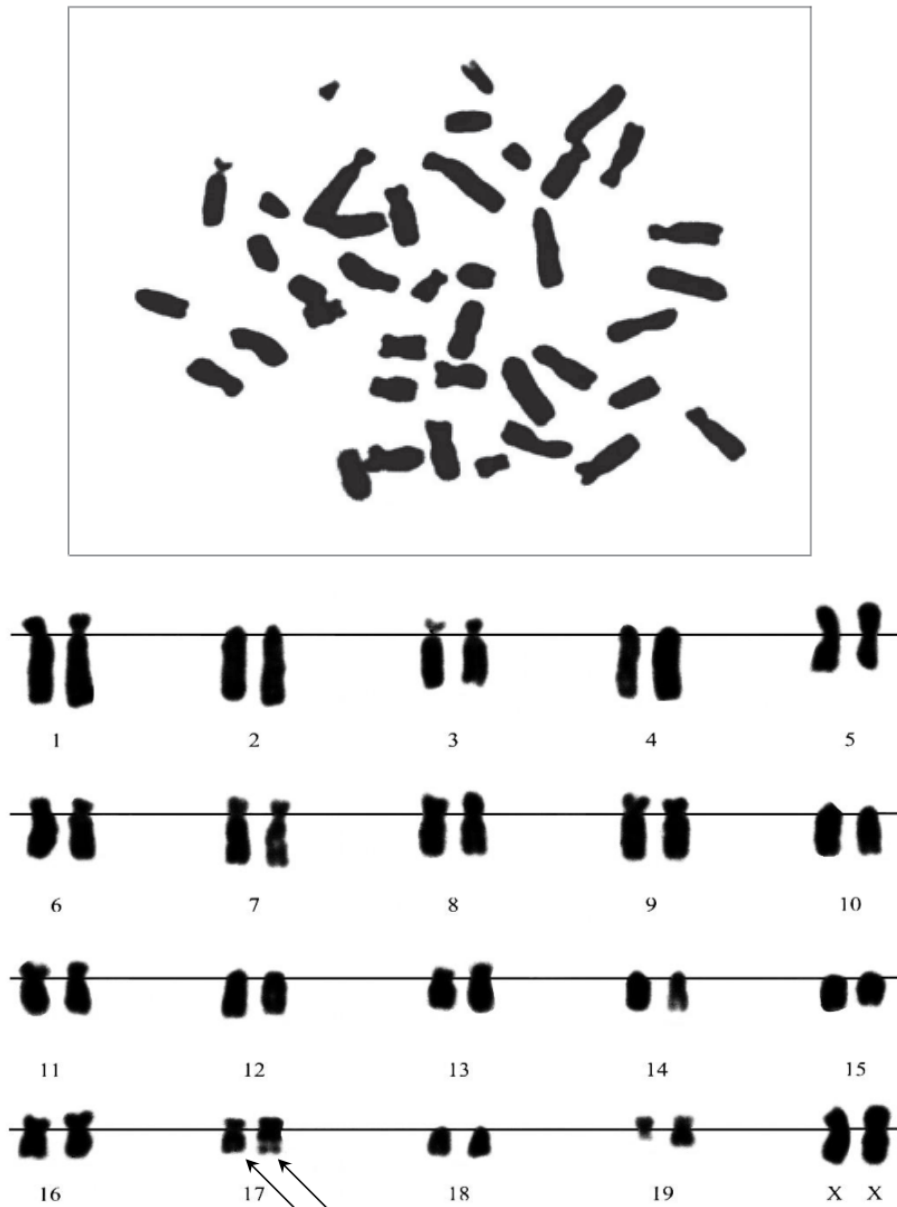


Figure 3. Metaphase chromosome and karyotype of female Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*)  $2n$  (diploid) = 40, satellite chromosome (arrows)

หมีขอมมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง อะโครเซนทริกและซับอะโครเซนทริก (subacrocentric) 18 แห่ง Ray-Chaudhuri และคณะ (1966) รายงานว่าอีเห็นข้างลายมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริก 8 แห่ง ซับเมทาเซนทริก 12 แห่ง ซับเทโลเซนทริก (subtelocentric) 14 แห่ง เทโลเซนทริก 6 แห่ง

Wurster และ Benirschke (1967, 1968) รายงานว่ามีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง อะโครเซนทริกและซับอะโครเซนทริก 18 แห่ง Wang และคณะ (1984) รายงานว่าอีเห็นเครือมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก 24 แห่ง อะโครเซนทริก 18 แห่ง Masashi และ Harumi (1993)



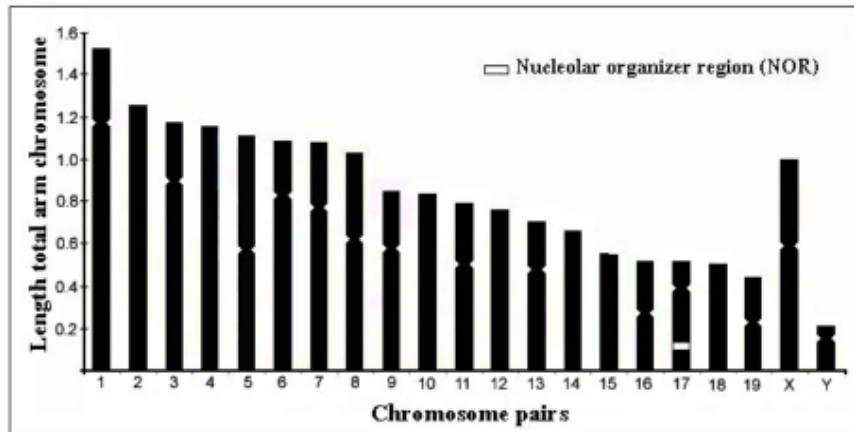


Figure 4. Idiogram of Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*)  $2n$  (diploid) = 40

รายงานว่ามีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก 8 แห่ง อะโครเซนทริก 8 แห่ง ซับเทโลเซนทริก 16 แห่ง นอกจากนี้ Wurster และ Benirschke (1967, 1968) รายงานว่ามีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง อะโครเซนทริกและซับอะโครเซนทริก 20 แห่ง

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าอีเห็นหน้าขาวหูต่างมีโครโมโซมเครื่องหมาย (chromosome marker) โดยพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 17 (1 คู่) จัดเป็น satellite chromosome (มีบริเวณของ nucleolar organizer region, NOR) พบว่ามีความคล้ายกับรายงานการศึกษาของสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน ได้แก่ Wurster และ Benirschke (1967, 1968) ที่รายงานว่ามีโครโมโซมที่เป็น satellite chromosome จำนวน 2 แห่ง (1 คู่) Ray-Chaudhuri และคณะ (1966) ที่รายงานว่าโครโมโซมคู่ที่ 4 ของอีเห็นข้างลายเป็น satellite chromosome นอกจากนี้ Wurster และ Benirschke (1967, 1968); Wang และคณะ (1984); Masashi และ Harumi (1993) รายงานว่าอีเห็นเครื่องมือโครโมโซมที่เป็น satellite chromosome จำนวน 2 แห่ง (1 คู่)

จากการนำเซลล์ที่อยู่ในระยะเมทาเฟสของอีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ มาทำการวัดขนาดของโครโมโซม พบว่าโครโมโซมของอีเห็นหน้าขาวหูต่างมีค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความ

ยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่า RL และ CI (Table 2)

อีเห็นหน้าขาวหูต่างมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างของรายงานการศึกษา ได้แก่ หมิวมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นเมทาเซนทริกขนาดเล็ก (Wurster and Benirschke, 1967, 1968) อีเห็นข้างลายมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกที่มีขนาดเล็กมากที่สุด (Ray-Chaudhuri *et al.*, 1966) อีเห็นเครื่องมือโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดอะโครเซนทริก (Wang *et al.*, 1984) มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดเมทาเซนทริก (Wurster and Benirschke, 1967, 1968; Masashi and Harumi, 1993)

การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมของสัตว์ที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน (วงศ์ Viverridae) แต่ไม่ได้อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกันกับอีเห็นหน้าขาวหูต่าง ได้แก่ Small-spotted genet (*Genetta genetta*); ชะมดเข็ด (*Viverricular indica*); African civet (*Civettictis civetta*); ชะมดแปลงลายแถบ (*Prionodon linsang*) อยู่ในวงศ์ย่อย Viverrinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม  $2n$  เท่ากับ 52, 36, 38 และ 34

**Table 2.** Mean of length short arm chromosome (Ls), length long arm chromosome, length total arm chromosome (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI from metaphase chromosome 20 cells in male and female Small-toothed palm civet (*Arctogalidia trivirgata*) 2n (diploid) = 40.

Chromosome pairs	Ls	Li	LT	RL+SD	CI+SD	Size of Chromosome	Type of Chromosome
1	0.35	1.17	1.52	8.61±0.000	0.769±0.008	L	a
2	0.00	1.25	1.25	7.08±0.001	1.000±0.000	L	t
3	0.27	0.90	1.17	6.62±0.001	0.765±0.006	L	a
4	0.00	1.15	1.15	6.51±0.001	1.000±0.000	L	t
5	0.54	0.57	1.11	6.28±0.000	0.515±0.010	L	m
6	0.25	0.83	1.08	6.11±0.001	0.823±0.018	L	a
7	0.30	0.77	1.06	6.00±0.000	0.726±0.013	L	a
8	0.41	0.62	1.03	5.83±0.001	0.601±0.007	L	sm
9	0.26	0.58	0.84	5.66±0.001	0.690±0.019	M	sm
10	0.00	0.83	0.83	4.70±0.000	1.000±0.000	M	t
11	0.29	0.50	0.79	4.47±0.001	0.632±0.011	M	sm
12	0.00	0.76	0.76	4.30±0.001	1.000±0.000	M	t
13	0.22	0.48	0.70	3.96±0.000	0.685±0.018	S	sm
14	0.00	0.66	0.66	3.73±0.001	1.000±0.000	S	t
15	0.00	0.55	0.55	3.11±0.001	1.000±0.000	S	t
16	0.25	0.27	0.52	2.94±0.001	0.519±0.025	S	m
17	0.12	0.39	0.51	2.88±0.000	0.764±0.011	S	a
18	0.00	0.50	0.50	2.83±0.001	1.000±0.000	S	t
19	0.21	0.23	0.43	2.43±0.001	0.534±0.013	S	m
X	0.40	0.59	0.99	5.66±0.001	0.595±0.013	L	m
Y	0.05	0.15	0.20	1.13±0.000	0.750±0.002	S	a

- L = large chromosome (mean of LT > 0.975)
- M = medium chromosome (mean of LT = 0.760-0.975)
- S = small chromosome (mean of LT < 0.760)
- m = metacentric chromosome
- sm = submetacentric chromosome
- a = acrocentric chromosome
- t = telocentric chromosome

แห่ง ตามลำดับ Fossa (*Cryptoprocta ferox*) อยู่ในวงศ์ย่อย Cryptoprotinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง และ Hose's palm civet (*Diplogale hosei*); อีเห็นลายพาด (*Himigalus derbyanus*) อยู่ในวงศ์ย่อย Hemigalinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง (Wurster and Benirschke, 1967, 1968) จะเห็นได้ว่าสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ Viverrinae มีจำนวนโครโมโซมที่มีความหลากหลาย และยังไม่พบว่ามีสัตว์ชนิดใดที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับอีเห็นหน้าขาวหูต่าง

สูตรคาริโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศผู้ คือ

$$2n (40) = L_2^m + L_2^{sm} + L_8^a + L_4^t + M_4^{sm} + M_4^t + S_4^m + S_2^{sm} + S_2^a + S_6^t + X + Y$$

หรือ

$$= L_3^m + L_2^{sm} + L_8^a + L_4^t + M_4^{sm} + M_4^t + S_4^m + S_2^{sm} + S_3^a + S_6^t$$

สูตรคาริโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศเมีย คือ

$$2n (40) = L_2^m + L_2^{sm} + L_8^a + L_4^t + M_4^{sm} + M_4^t + S_4^m + S_2^{sm} + S_2^a + S_6^t + X + X$$

หรือ

$$= L_4^m + L_2^{sm} + L_8^a + L_4^t + M_4^{sm} + M_4^t + S_4^m + S_2^{sm} + S_2^a + S_6^t$$

### สรุปผลการทดลอง

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของอีเห็นหน้าขาวหูต่าง ผลการศึกษาพบว่าอีเห็นหน้าขาวหูต่างมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 40 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง โครโมโซมคู่ที่ 17 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด

สูตรคาร์ิโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศผู้ คือ

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^l_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^l_6 + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L^m_3 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^l_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_3 + S^l_6$$

สูตรคาร์ิโอไทป์อีเห็นหน้าขาวหูต่างเพศเมีย คือ

$$2n (40) = L^m_2 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^l_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^l_6 + X + X$$

$$\text{หรือ} = L^m_4 + L^{sm}_2 + L^a_8 + L^l_4 + M^{sm}_4 + M^t_4 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^l_6$$

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้สนับสนุนเงินทุนสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการสวนสัตว์ดุสิต ที่ได้อนุญาตทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดอีเห็นหน้าขาวหูต่าง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานสวนสัตว์ทุกท่าน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

กันยรัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.

ประทีป ด่วงแคว. 2541. Wild mammals in Thailand. สำนักนโยบาย และแผนสิ่งแวดล้อม: กรุงเทพมหานคร. 118 หน้า.

สมชาย เลี้ยงพรพรรณ. 2540. การอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์ป่าในประเทศไทย. ภาควิชาภูมิศาสตร์ คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา. 233 หน้า.

อมรา คัมภีรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 312 หน้า.

โอภาส ขอบเขตต์. 2541. ทรัพยากรสัตว์ป่า. การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 143 หน้า.

Fredge, K. 1972. Comparative chromosome studies in mongosses (Carnivora, Viverridae). *Hereditas*. 71: 1-74.

Hickman, C.P. and Roberts, L.S. 1994. Biology of animals. Wm. C. Brown Communications: United Kingdom. 207 p.

Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1977. Mammals of Thailand. 1<sup>st</sup>ed. Kurusapha Ladprao Press: Bangkok, Thailand. 758 p.

Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1988. Mammals of Thailand. 2<sup>nd</sup>ed. Sahakarn Bhaet: Bangkok, Thailand. 758.

Masashi, H. and Harumi, T. 1993. Karyotype study of the Masked palm civet, *Paguma lavata* in Japan (Viverridae). *J. of the Mam. Soc. of Japan*. 18: 39-42.

Nash, W.G. and O'Brien, S.J. 1987. A comparative chromosome banding analysis of Ursidae and their relationship to other carnivores. *Cytogenet. Cell Genet.* 45: 206-212.

Ray-Chaudhuri, S.P., Ranjini, P.V. and Sharma, T. 1966. Somatic chromosome of the common palm civet, *Paradoxurus hermaphroditus* (Viverridae-Carnivora). *Experientia*. 22(11): 740-741.

- Wada, M.Y., Lim, Y. and Wurster-Hill, D.H. 1991. Banded karyotype of wild-caught male Korean raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides koreensis*. *Geno.* 34: 302-306.
- Wada, M.Y., Nakamura, A. and Yoshida, T.H. 1983. An easy technique to obtain the blood by the Clew-cutting from small mammals and bird, and karyotype of some animals from blood culture. *Kromoso.* 58(112): 971-976.
- Wang, Z., Quan, G., Yie, Z. and Wang, S. 1984. Karyotype of three species of Carnivora. *Acta Zoo. Sin.* 30: 188-195.
- Wilson, D.E. and Cole, F.R. 2000. Common names of mammals of the world. Smithsonian Institution: United States of America. 204 p.
- Wurster, D.H. and Benirschke, K. 1967. Chromosome numbers in thirty species of carnivora, Mammal. *Chromo. News.* 8: 195-216.
- Wurster, D.H. and Benirschke, K. 1968. Comparative cytogenetic studies in the Order Carnivora. *Chromo (Berl.).* 24: 336-382.
- <http://www.chiangmaizoo.com/animal/pg-an013.asp>