

รายงานทางพันธุศาสตร์เซลล์ระดับโมเลกุลครั้งแรกของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า (*Draco volans*) นอกเขตป่าอนุรักษ์ฮาลา-บาลา อำเภอรันโต จังหวัดยะลาของประเทศไทย

First Molecular Cytogenetics Report of Blue-headed Flying Lizard (*Draco volans*) outside Protected Area of Hala-bala Forest at Than To District, Yala Province, Thailand

วรกานต์ ขาวพรทิพย์¹, สิทธิศักดิ์ จันทรรัตน์^{1*}, ประวีร์ณ สุพรรณอ่วม³, สมศักดิ์ บัวทิพย์¹, เทียนทิพย์ ไกรพรหม²,

ณัฐสุดา ดรบบัณฑิต⁵, วีระ ทองเนตร⁴ และ อลงกลด แทนอมทอง⁵

Warakan Khawporntip¹, Sitthisak Jantarat^{1*}, Praween Supanuam³, Somsak Buatip¹, Thaintip Kraiprom²,

Nattasuda Donbundi⁵, Weera Thongnet⁴, and Alongklod Tanomtong⁵

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ประเทศไทย

² สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ประเทศไทย

³ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ประเทศไทย

⁴ สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ประเทศไทย

⁵ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

¹ Department of Science, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani Campus, Thailand

² Department of Agricultural and Fishery Science, Faculty of Science and Technology,
Prince of Songkla University, Pattani Campus, Thailand

³ Biology Department, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Thailand

⁴ Biology Department, Department of Science, Faculty of Science and Technology,
Rajamangala University of Technology Krungthep, Thailand

⁵ Biology Department, Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand

Received : 13 February 2024, Received in revised form : 23 June 2024, Accepted : 6 July 2024

Available online : 25 July 2024

บทคัดย่อ

ที่มาและวัตถุประสงค์ : เนื่องจากประเทศไทยมีระบบนิเวศที่หลากหลายทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยเฉพาะสัตว์เลื้อยคลานในกลุ่มกิ้งก่าบินในประเทศไทยพบถึง 10 ชนิดพันธุ์ จากกิ้งก่าบินมีทั้งหมด 31 ชนิดพันธุ์ที่พบทั่วโลกแต่ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ทั้งในระดับเซลล์และเซลล์ระดับโมเลกุลน้อยมาก นำมาสู่วัตถุประสงค์ คือ เพื่อศึกษาแคโรไทป์ชนิดของโครโมโซม จำนวนของโครโมโซมและรูปแบบการกระจายตัวของลำดับเบสซ้ำด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์อินซิทูไฮบริไดเซชัน บนโครโมโซมของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า

วิธีดำเนินการวิจัย : เตรียมโครโมโซมด้วยการฉีดสารโคลชิซิน 0.05% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 10 กรัม นำไขกระดูกแช่ในสารละลายไพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.075 โมล/ลิตร ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงหลังจากนั้นหยดเซลล์ที่ได้บนกระจกสไลด์

ที่สะอาด และย้อมสีโครโมโซมแถบธรรมดา แถบเอ็นโออาร์ และย้อมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ อินซิทู ไฮบริไดเซชัน นำสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และกล้องฟลูออเรสเซนซ์

ผลการวิจัย : แคริโอไทป์ของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 34 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เมทาเซนตริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง และเทโลเซนตริกขนาดเล็ก 22 แท่ง พบตำแหน่งเอ็นโออาร์บริเวณโครโมโซมคู่ที่ 1 (1q cen) ปรางภูบริเวณใกล้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์บนแขนข้างยาวของโครโมโซม รูปแบบการซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์พบว่า รูปแบบการซ้ำของโพรบ d(GC)₁₅ d(TA)₁₅ d(CAG)₁₀ และ d(CAA)₁₀ พบสัญญาณโพรบสะสมกระจายทั่วบนโครโมโซม

สรุปผลการวิจัย : จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) ของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า เท่ากับ 34 แท่ง มีโครโมโซมชุดใหญ่ 12 แท่ง และโครโมโซมชุดเล็ก 22 แท่ง มีโครโมโซมพื้นฐานคือ 46 พบตำแหน่งเอ็นโออาร์บริเวณโครโมโซมคู่ที่ 1 (1q cen) ผลการศึกษา รูปแบบการซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์ พบว่า รูปแบบการซ้ำของโพรบพบสัญญาณโพรบสะสมกระจายทั่วบนโครโมโซม การศึกษาครั้งนี้เป็นการเพิ่มข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาพันธุศาสตร์ในอนาคต กิ้งก่าบินหัวสีฟ้าสูตรแคริโอไทป์ดังนี้

$$2n (34) = L_8^m + L_2^{sm} + S_2^m + Mi_{22}^{dot} \quad (1)$$

คำสำคัญ : กิ้งก่าบินหัวสีฟ้า ; แคริโอไทป์ ; เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์อินซิทูไฮบริไดเซชัน

Abstract

Background and Objectives : Variety of ecosystems in Thailand promote high biodiversity, particularly among crawling animals in the flying lizard group. Thailand harbors 10 species out of a total of 31 species of flying lizards that have been found in the world. However, there are very few studies on cellular and molecular genetics. This study aims to analyze the karyotype, chromosome type, number and distribution patterns of repeat base sequences in the chromosomes of the Blue-headed Flying Lizard (*Draco volans*) using fluorescence in situ hybridization technique (FISH).

Methodology : Prepare chromosomes using the direct method by injecting 0.1 milliliters of a 0.05% colchicine solution per 10 grams of body weight. Subsequently, immerse the bone marrow in potassium chloride solution (KCl) 0.075 mol/L, centrifuge, and then drop the obtained cells onto clean slides. Stain the chromosomes using conventional staining, NOR-banded, and additionally, stain using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. Finally, The prepared slides were examined under compound and fluorescence microscopy.

Main Results : The karyotype of the blue-headed flying lizard reveals a diploid chromosome number of 34 and a fundamental chromosome number of 46. Comprising of 8 pairs of large metacentric chromosomes, 2 pairs of

small metacentric chromosomes, 2 pairs of large submetacentric chromosomes, and 22 pairs of small telocentric chromosomes, the karyotype of the blue-headed flying lizard displays a total of 34 chromosomes. Notably, the NOR (nucleolus organizer region) is observed on the telomeric region of the long arm of chromosome pair 1 (1q cen). Microsatellite repeat patterns indicate the presence of d(GC)₁₅, d(TA)₁₅, d(CAG)₁₀, and d(CAA)₁₀, with cumulative signals dispersed throughout the chromosomes.

Conclusions : The diploid chromosome number of the blue-headed flying lizard is 34, consisting of 12 pairs of large chromosomes and 22 pairs of small chromosomes. The fundamental chromosome number is 46. The NOR (nucleolus organizer region) is located on of chromosome pair 1 (1q cen). The study of microsatellite repeat patterns revealed that the repeat patterns of the probe exhibited cumulative signals dispersed throughout the chromosomes. This research adds fundamental information for future studies in genetics. The blue-headed flying is karyotype formula is as follows (1).

$$2n (34) = L_8^m + L_2^{sm} + S_2^m + Mi_{22}^{dot} \quad (1)$$

Keywords : Blue-Headed Flying Lizard ; *Draco volans* ; karyotype ; Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH)

*Corresponding author. E-mail : sitthisak.j@psu.ac.th

บทนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีระบบนิเวศที่หลากหลายส่งผลให้พบสิ่งมีชีวิตที่หลากหลาย โดยเฉพาะในกลุ่มของสัตว์เลื้อยคลาน (reptiles) ในประเทศไทยมีประมาณ 413 ชนิด เป็นอันดับเต่า (Order Testudines) 31 ชนิด อันดับจระเข้ (Order Crocodilia) 3 ชนิด อันดับกิ้งก่าและงู (Order Squamata) 379 ชนิด เป็นกลุ่มงู 213 ชนิด เป็นกลุ่มกิ้งก่า 166 ชนิด ซึ่งในวงศ์ Agamidae มีทั้งหมด 51 ชนิด 11 สกุล และกิ้งก่าบินสกุล *Draco* เป็น 1 ในกิ้งก่าวงศ์ Agamidae ที่มีความหลากหลายสูง พบทั้งหมด 31 ชนิด ทั่วโลกและในไทย พบ 10 ชนิดเนื่องจากมีการค้นพบที่มากขึ้นโดยลำดับจึงส่งผลให้มีรายงานข้อมูลของแต่ละชนิดในน่านวนน้อย (Lauhachinda, 2009 ; Chuaynkern & Chuaynkern, 2012)

กิ้งก่าบินหัวสีฟ้า (*Draco volans*) จัดเป็นสัตว์ในวงศ์ Agamidae วงศ์ย่อย Agaminae สกุล *Draco* เป็นกิ้งก่าสามารถร่อนในอากาศเป็นระยะทางไกลได้ เนื่องจากมีกระดูกซี่โครงที่สามารถยืดยาวออกมาจากลำตัวเพื่อใช้ค้ำจุนแผ่นหนังขณะร่อนในอากาศ มีลวดลายและสีบนลำตัวที่สวยงาม มีลำตัวขนาดเล็กตัวเต็มวัยมีขนาดไม่เกิน 20 เซนติเมตร ส่วนใหญ่ออกหากินในเวลากลางวัน กิ้งก่าที่อยู่ในสกุลนี้มีนิสัยอยู่รวมกันเป็นสังคม และกินอาหารในกลุ่มสัตว์ขาปล้องหรือ Arthropod (Lauhachinda, 2009) โดยสามารถพบได้บริเวณต้นไม้ ในป่าเบญจพรรณ ป่าดิบชื้น และป่าโปร่งที่มีความอุดมสมบูรณ์

ป่าฮาลา-บาลาถือได้ว่าเป็นป่าดิบชื้นหรือป่าฝนเขตร้อนที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของประเทศไทยมีความชื้นสูงตลอดปี และขึ้นชื่อว่าเป็นแอมะซอนแห่งอาเซียนพบสัตว์หลายชนิดซึ่งเป็นสัตว์หายากในไทย โดยในการศึกษาค้างคาวนี้มุ่งศึกษาถึงถิ่นอาศัยบริเวณนอกเขตป่าอนุรักษ์ ทั้งนี้ปัจจุบันมีการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลอย่างกว้างขวางในสัตว์หลายชนิด (Wajidee *et al.*, 2013) แต่ในการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลในกลุ่มค้างคาวยังมีน้อยมาก จึงทำให้การศึกษาทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลในกลุ่มค้างคาวเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการจัดจำแนกอนุกรมวิธานและทำให้เข้าใจวิวัฒนาการของกลุ่มค้างคาว นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาโครโมโซมของสัตว์เลื้อยคลานกลุ่มงูและตุ๊กแกในสกุลอื่นได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างโดยเดินสำรวจในเวลา 07.00-10.00 น. ตามเส้นทางธรรมชาติหมู่บ้านวังไทร ตำบลแม่หวาด อำเภอยะลา จังหวัดยะลา เป็นชุมชนติดกับพื้นที่ป่าอนุรักษ์ฮาลา-บาลา และอุทยานแห่งชาติบางลาง เพื่อสังเกตถิ่นอาศัยค้างคาว เมื่อพบถิ่นอาศัยค้างคาวบริเวณต้นไม้จะวางถังดักพร้อมใส่อาหารลงไปเพื่อล่อ เวลา 13.00-15.00 น.ทำการเก็บตัวอย่างเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว (Figure 1) (Suwanwaree *et al.*, 2013) งานวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ AI003/2022

2. การเตรียมโครโมโซม

ฉีดสารโคลชิซิน 0.05% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 10 กรัม เข้าไปบริเวณช่องท้อง ทั้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการการุณยฆาต ตามวิจัยของ (AVMA, 2020) แล้วผ่าตัดนำเอาไขกระดูกมาแช่และตัดให้เป็นชิ้นเล็กในโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.075 โมล/ลิตร 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดเอาส่วนใสทิ้งเติมน้ำยาตรึงเซลล์ ให้ได้ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการหยดตัวอย่างลงบนกระจกสไลด์ที่แห้งและสะอาด ทั้งไว้ให้แห้งเพื่อนำไปย้อมสีโครโมโซม (modified from Tanomtong & Pinthong, 2019)

3. การย้อมสีโครโมโซม

3.1 วิธีการย้อมแบบธรรมดา (conventional staining technique)

นำสไลด์ที่มีการหยดเซลล์แล้วย้อมด้วยสีจีมาซ่า 20% จาก stock Giemsa's solution เป็นระยะเวลา 30 นาที ตามวิธีของ (Phimphan, *et al.*, 2021)

3.2 การย้อมแถบเงินไออาร์ (NOR-banding technique หรือ silver staining)

หยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate) ความเข้มข้น 50% จำนวน 2 หยด ตามด้วยหยดสารละลายเจลาติน (gelatin) ความเข้มข้น 2% จำนวน 1 หยด แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำสไลด์ไปต้มในตู้บ่มอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที ตามวิธีของ (Phimphan, *et al.*, 2021)

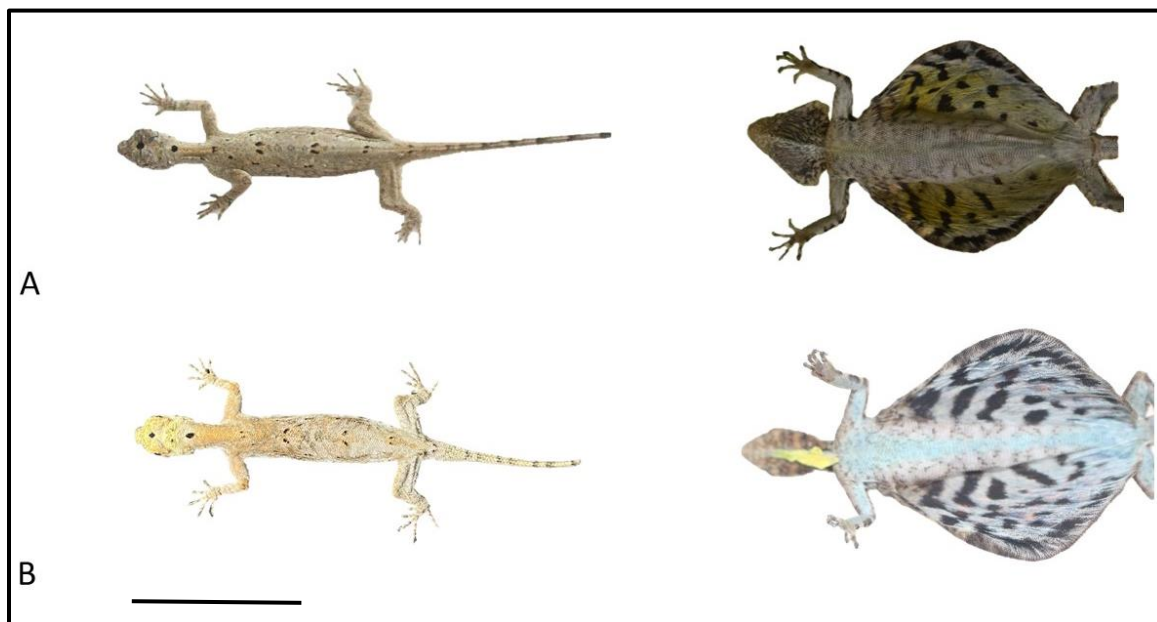


Figure 1 External morphological characteristics of Blue-headed flying lizard (*Draco volans*) of male (A) and female (B). Scale bar indicates 5 cm.

3.3 การย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ อินซิทู ไฮบริไดเซชัน

(fluorescence in situ hybridization, FISH)

โดยโพรบที่ศึกษาเป็นชนิดไมโครแซทเทลไลต์ จำนวน 4 โพรบ ได้แก่ (GC)₁₅ (TA)₁₅ (CAA)₁₀ และ (CAG)₁₀ ตามวิธีของ (Phimphan, et al., 2021)

4.การจัดทำแคริโอไทป์และไอดีโอแกรม

การจัดทำแคริโอไทป์และไอดีโอแกรม โดยเลือกภาพถ่ายเซลล์ระยะเมทาเฟส 20 เซลล์ที่โครโมโซมกระจายตัวดี มีจำนวนโครโมโซมครบในการจัดทำแคริโอไทป์และไอดีโอแกรม ตามวิธีของ (Phimphan, et al., 2021)

ผลการวิจัย

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ระดับโมเลกุลของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้าจากบริเวณพื้นที่นอกเขตป่าอนุรักษ์ฮาลา-บาลา อำเภอรือเสาะจังหวัดยะลา โดยการเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีตรงจากไขกระดูก พบว่ามีโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 34 แท่ง (Figure 2) มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 แท่ง สามารถแยกตามขนาดของโครโมโซมได้ 2 ขนาด คือ โครโมโซมชุดใหญ่ 12 แท่ง และโครโมโซมชุดเล็ก 22 แท่ง (Table 1) แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง

เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 22 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศในเพศผู้และเพศเมีย สูตรแคโรไทป์มาตรฐานของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า ดังนี้

$$2n (34) = L_8^m + L_2^{sm} + S_2^m + Mi_{22}^{dot} \quad (1)$$

การศึกษาตำแหน่ง nucleolar organizing regions (NORs) ด้วยเทคนิคการย้อมแถบเอ็นไออาร์ พบว่า กิ้งก่าบินหัวสีฟ้ามีตำแหน่งเอ็นไออาร์ 2 ตำแหน่ง ปรากฏบริเวณใกล้กับตำแหน่งเซนโทรเมียร์บนแขนข้างยาวของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่คู่ที่ 1 (Figure 2 B, Figure 3)

การศึกษารูปแบบการซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์ด้วยเทคนิค FISH พบว่า รูปแบบการซ้ำของโพรบไมโครแซทเทลไลต์ $d(GC)_{15}$, $d(TA)_{15}$, $d(CAA)_{10}$ และ $d(CAG)_{10}$ สัญญาณกระจายทั่วทั้งโครโมโซมของโครโมโซมส่วนใหญ่ (Figure 4)

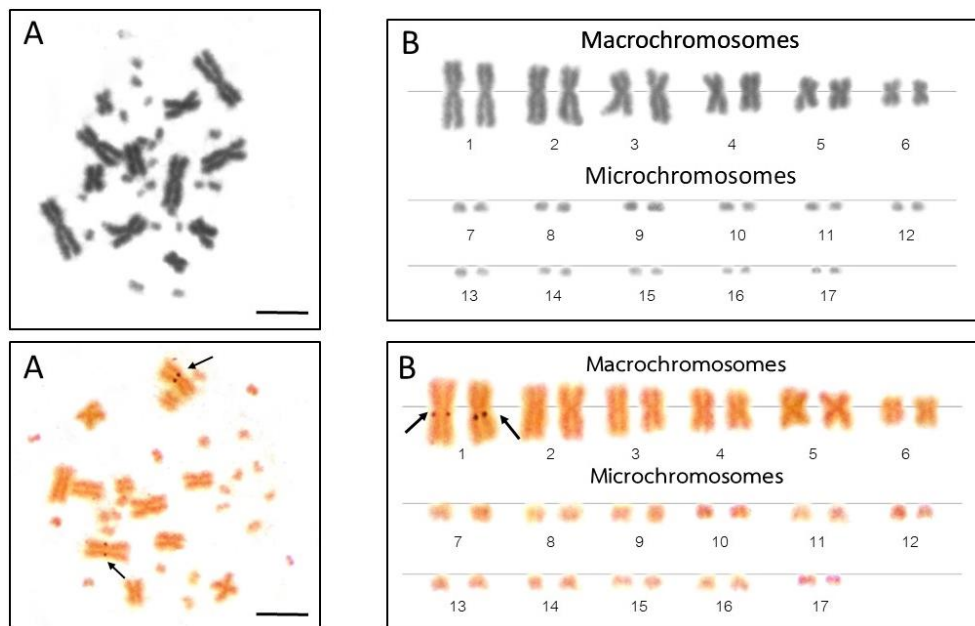


Figure 2 Metaphase chromosome plates and karyotypes of Blue-headed flying lizard (*D. volans*), $2n = 34$, by conventional staining (A) and Ag-NOR staining technique.(B) the arrows indicate NORs pair 1. Scale bars indicate 5 μm.

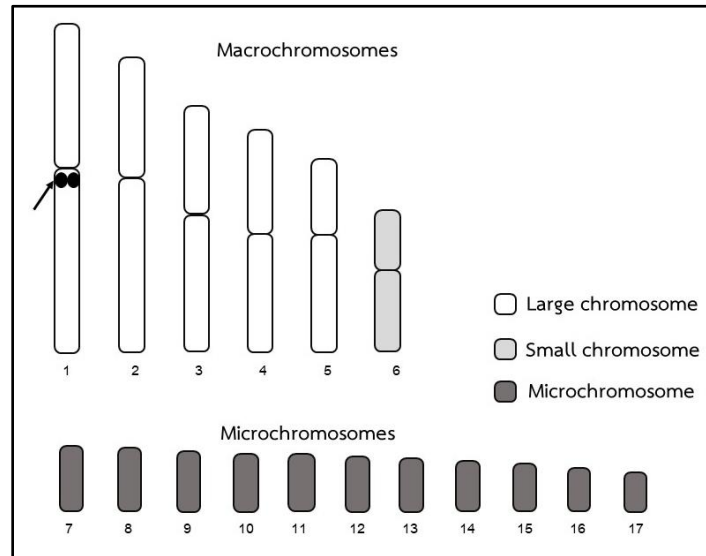


Figure 3 Ideograms showing length and shape of chromosome of blue-headed flying lizard (*D. volans*) the arrows indicate NORs pair 1

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า กิ้งก่าบินหัวสีฟ้า (Blue-headed flying lizard *D. volans*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 34 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ (Ota and Hikida, 1989) ในกิ้งก่าบิน 3 ชนิดคือ *D. cornutus*, *D. haematopogon* และ *D. quinquefasciatus* และการศึกษาของ (Kritpetcharat *et al.*, 1999) ในกิ้งก่าวงศ์ Agamidae ชนิด *D. belliana* (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมพื้นฐานและรูปแบบแคโรไทป์ประกอบไปด้วย 2 ขนาด คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ และโครโมโซมขนาดเล็ก พบว่า มีความแตกต่างกันโดยการศึกษาครั้งนี้พบจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 และแคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 10 แท่ง ชนิดซับเมทาเซนทริก 2 แท่ง และโครโมโซมชุดเล็ก 22 แท่ง แต่การศึกษาของ (Ota and Hikida, 1989) ในกิ้งก่าบินทั้ง 3 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 50 แคโรไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง และ โครโมโซมชุดเล็ก 22 แท่ง การศึกษาของ (Kritpetcharat *et al.*, 1999) ใน *D. belliana* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 64 แคโรไทป์ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 26 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 4 แท่ง และโครโมโซมชุดเล็ก 4 แท่ง (Table 2) ความแตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากกิ้งก่าที่นำมาศึกษาต่างกลุ่มประชากร เกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของโครโมโซมแตกต่างกัน นอกจากนี้ อาจเกิดจากกระบวนการวิวัฒนาการของกิ้งก่าบิน เช่น เกิดการต่อสลับแบบมีเซนโทรเมียร์ร่วมกัน (Pericentric inversion) ทำให้รูปแบบของโครโมโซมแตกต่างกัน อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัยส่งผลทำให้เกิดความแปรผันของรูปแบบโครโมโซมได้ (Tanomtong, 2010)

การศึกษาย้อมแถบสีโครโมโซมแถบเอ็นโออาร์ในกิ้งก่าบินหัวสีฟ้าเพื่อหาตำแหน่งของ nucleolar organizer regions พบตำแหน่งเอ็นโออาร์เพียง 1 คู่ ปรากฏบริเวณใกล้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์บนแขนข้างยาวของโครโมโซมชนิดเมทา-



เซนทริกขนาดใหญ่คู่ที่ 1 (1q cen) ทั้งนี้ตำแหน่งเอ็นโออาร์มีความแปรผันภายในหรือระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆได้ ดังนั้นตำแหน่งเอ็นโออาร์บนโครโมโซมที่เฉพาะเจาะจงกับสิ่งมีชีวิตสามารถนำมาใช้เป็นโครโมโซมเครื่องหมายได้ (Tanomtong & Pinthong, 2019) ซึ่งการศึกษาค้นนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่พบตำแหน่งเอ็นโออาร์ของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า

การศึกษารูปแบบการซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์ด้วยเทคนิค FISH พบว่า รูปแบบการซ้ำของโพรบไมโครแซทเทลไลต์ d(GC)₁₅ d(TA)₁₅ d(CAG)₁₀ และ d(CAA)₁₀ สัญญาณสะสมกระจายทั่วโครโมโซม ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกที่ศึกษารูปแบบการซ้ำของโพรบในกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า

Table 1 Means length of short arm (Ls), long arm (Li), Total arm chromosome length (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI from metaphase chromosomes in cells of Blue-headed flying lizard (*D. volans*), 2n=34

Chromosome pair	LS	LI	LT	CI±SD	RL±SD	Type	Size
1	120.289	152.559	272.847	0.558±0.033	0.078±3.129	m	L
2	100.914	143.540	244.454	0.585±0.035	0.070±2.798	m	L
3	90.685	114.132	204.816	0.557±0.032	0.059±2.348	m	L
4	86.383	98.556	184.939	0.533±0.033	0.053±2.132	m	L
5	63.152	97.430	160.581	0.607±0.023	0.046±1.852	sm	L
6	51.170	67.387	118.557	0.568±0.037	0.034±1.366	m	S
7	-	61.642	61.642	-	0.018±0.709	dot	mi
8	-	59.136	59.136	-	0.017±0.681	dot	mi
9	-	56.466	56.466	-	0.016±0.650	dot	mi
10	-	54.503	54.503	-	0.016±0.627	dot	mi
11	-	52.986	52.986	-	0.015±0.609	dot	mi
12	-	51.339	51.339	-	0.015±0.590	dot	mi
13	-	49.755	49.755	-	0.014±0.572	dot	mi
14	-	47.188	47.188	-	0.014±0.543	dot	mi
15	-	44.385	44.385	-	0.013±0.510	dot	mi
16	-	40.604	40.604	-	0.012±0.466	dot	mi
17	-	36.263	36.263	-	0.010±0.418	dot	mi

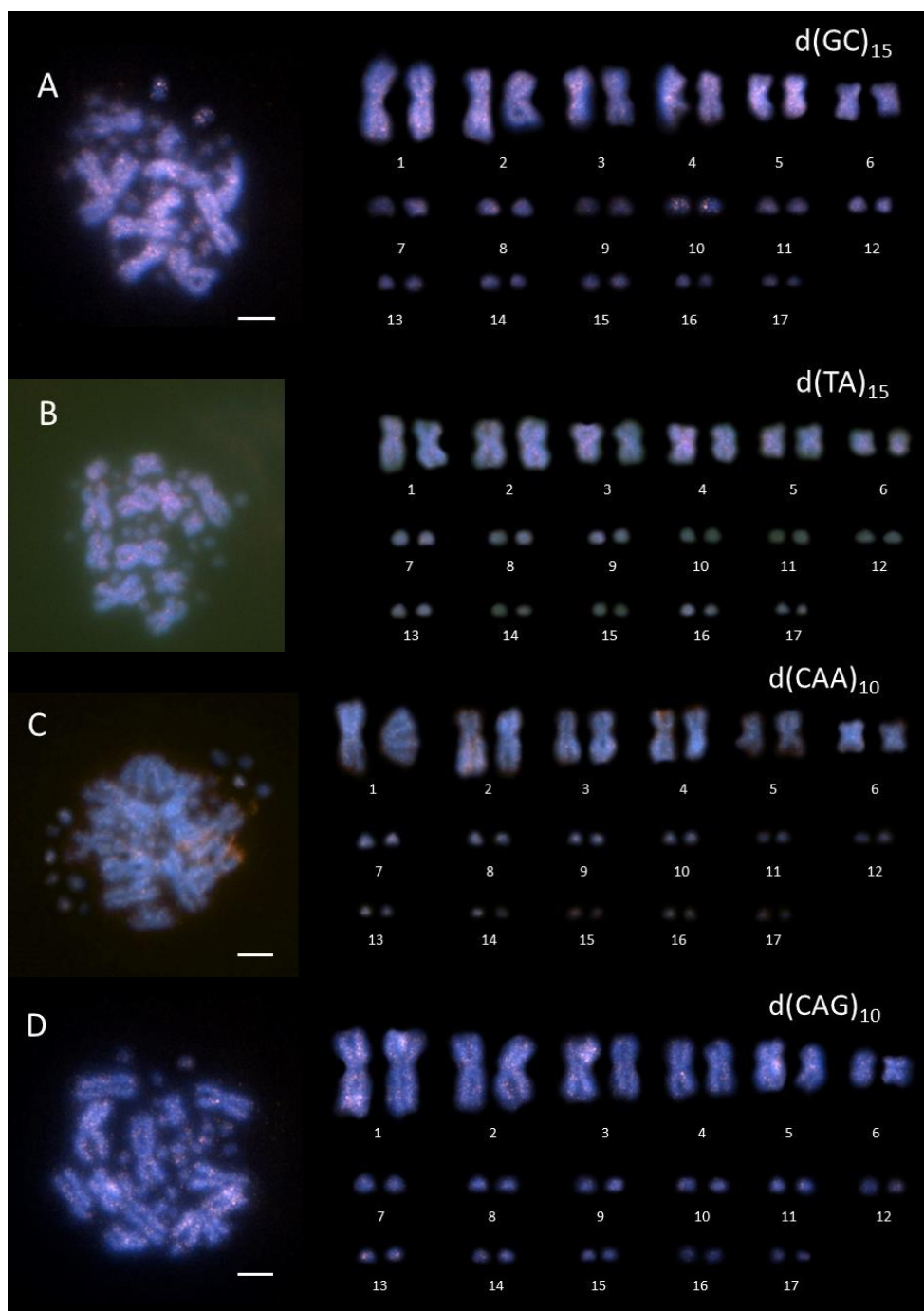


Figure 4 Metaphase chromosome plates and karyotypes of Blue-headed flying lizard (*D. volans*), $2n = 34$, by fluorescence *in situ* hybridization, FISH d(GC)₁₅(A), d(TA)₁₅(B), d(CAA)₁₀(C), and d(CAG)₁₀(D). Scale bars indicate 5 μm.

Table 2 Review of the karyotypes data of other species the genus *Draco*

Species	2n	NF	Types of chromosomes					NORs	Reference
			m	sm	a	t	mi		
<i>D. cornutus</i>	34	50	16	-	18	-	-	-	Ota and Hikida, 1989
<i>D. haematopogon</i>	34	50	16	-	18	-	-	-	
<i>D. quinquefasciatus</i>	34	50	16	-	18	-	-	-	
<i>D. belliana</i>	34	64	26	4	-	-	4	-	Kritpetcharat <i>et al.</i> 1999
<i>D. volans</i>	34	46	10	2	-	-	22	1q cen	This study

*m = metacentric, sm = submetacentric, a = acrocentric, t = telocentric and mi = microchromosome

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาแคโรไทป์ของกิ้งก่าบินหัวสีฟ้า พบว่า จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 34 แท่ง จำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 22 แท่ง การวิเคราะห์โครโมโซมเครื่องหมายด้วยการย้อมแถบเอ็นไออาร์ พบว่า กิ้งก่าบินหัวสีฟ้ามีตำแหน่งเอ็นไออาร์เพียง 2 ตำแหน่ง ปรากฏบริเวณใกล้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์บนแขนข้างยาวของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่คู่ที่ 1 การวิเคราะห์รูปแบบการซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์ด้วยเทคนิค FISH โดยใช้โพรบไมโครแซทเทลไลต์ 4 โพรบ ได้แก่ d(GC)₁₅ d(TA)₁₅ d(CAG)₁₀ และ d(CAA)₁₀ พบสัญญาณโพรบสะสมกระจายทั่วทั้งโครโมโซม กิ้งก่าบินหัวสีฟ้าสูตรแคโรไทป์ดังนี้

$$2n (34) = L_8^m + L_2^{sm} + S_2^m + Mi_{22}^{dot} \quad (1)$$

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี สนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาประจำปีการศึกษา 2565 และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้สถานที่และอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์สำหรับทำการวิจัย



เอกสารอ้างอิง

- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals. 2020 Edition. Available online: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf> [February 25, 2023]
- Chuaynkern, Y., & Chuaynkern, C. (2012). List of reptiles found in Thailand. *Journal of Wildlife in Thailand*, 19(1), 75-162. (in Thai)
- Kritpetcharat, O., Kritpetcharata, C., Luangpirom, A., & Watcharanon, P.(1999). Karyotype of Four Agamidae Species from the Phu Phan National Park in Thailand.*Journal ScienceAsia*, 25, 185-188.
- Lauhachinda, W. (2009). *Herpetology of reptiles and amphibians*. Kasetsart University. (in Thai)
- Ota, H., & Hikida, T. 1989. Karyotypes of three species of the genus *Draco* (Agamidae: Lacertilia) from Sabah, Malaysia. *Japanese journal of herpetology*, 13(1), 1-6.
- Phimphan, S., Aiumsumang, S., Tanomtong, A., & Jantararat, S. (2021). Karyomorphological delineation and linear differentiation of microsatellite patterns, and meiosis in giant Asian river frog (*Limnonectes blythii*) from Thailand. *Journal springer*, 64, 249-254.
- Tanomtong, A., & Pinthong, K. (2019). *Cytogenetics*. (1). Chulalongkorn University. (in Thai)
- Tanomtong, A. (2010). *Cytogenetics*. Khon Kaen University Press. Khon Kaen. (in Thai)
- Suwanwaree, P., Aroon, S., Suwanrat, J., Hengbunmee, S., & Strine, C.T. (2013). Biodiversity of Mammals, Birds, Reptiles, Amphibians and Fishes in Plant Genetic Protection Area of RSPG Nampung Dam, Sakon Nakhon. In *Research Funding from Suranaree University of Technology*. Biology Department: Suranaree University of Technology. (in Thai)
- Wajidee, A., Tanyongwaree, A., Chanthasri, B., & Rio, M. (2013). The epic of the forest 'Hala-Bala'. In Srikumkwan, A., *San Sai Yai Watthantham Hua Jai Deaw Kan*.(pp. 6-7). Narathiwat Province: Phong Narakan Printing. (in Thai)