

พันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอ (*Arctictis binturong*) ในประเทศไทย

ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา

Cytogenetics of Binturong (*Arctictis binturong*) in Thailand

by Using Conventional Staining

อลงกลด แทนอมทอง

สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

เรื่องวิทย์ บรรจงรัตน์ และ อภิรดี ศรีภูมิ

สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พญาไท ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10300

ณัฐพงษ์ ศรีสมุทร

สาขาพันธุศาสตร์โมเลกุล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอในประเทศไทย ใช้ตัวอย่างสัตว์จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และสวนสัตว์คูคต เตรียมโครโมโซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเทคนิคโคลชิซิน-ไฮโปโทนิค-ฟิกเซชัน-แอร์คาร์ยอิง ย้อมด้วยสีจิมซ่า ผลการศึกษาพบว่าหมีขอมีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 ในเพศเมียและเพศผู้ โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่งเทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 6 แห่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง โครโมโซมคู่ที่ 19 จัดเป็น Satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด สูตรการไอโทปีหมีขอเพศผู้ คือ $2n (42) = L^{sm}_2 + L^a_6 + L^l_6 + M^a_4 + M^l_2 + S^{sm}_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^l_{10} + X + Y$ และเพศเมีย คือ $2n (42) = L^{sm}_2 + L^a_6 + L^l_6 + M^a_4 + M^l_2 + S^{sm}_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^l_{10} + X + X$

คำสำคัญ : เทคนิคโคลชิซิน -ไฮโปโทนิค-ฟิกเซชัน-แอร์คาร์ยอิง หมีขอ การย้อมสีแบบธรรมดา

Abstract

This research was the first cytogenetic study of Binturong, *Arctictis binturong* (Carnivora, Viverridae) in Thailand. Blood samples were taken from the species kept in Khoa Kheow Open Zoo and Dusit Zoo. After the standard whole blood lymphocyte culture in presence of Colchicine, the metaphase spreads were performed on microscopic slides

and air-dried. Conventional Giemsa's staining was applied to stain chromosome. The results showed that the number of diploid chromosome of Binturong was determined to be $2n=42$, the fundamental number (NF) are 46 chromosomes in female and male. The type of autosome are 2 large submetacentric, 6 large acrocentric, 6 large telocentric, 4 medium acrocentric, 2 medium telocentric, 2 small metacentric, 2 small submetacentric, 6 small acrocentric and 10 small telocentric chromosome. In addition, a pair of chromosome 19 with clearly observable satellite chromosome. X-chromosome is the large metacentric and Y chromosome is a smallest submetacentric chromosome. The karyotype formula for the male is as follows, $2n (42) = L^{sm}_2 + L^a_6 + L^l_6 + M^a_4 + M^t_2 + S^{sm}_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^l_{10} + X + Y$ and the female, $2n (42) = L^{sm}_2 + L^a_6 + L^l_6 + M^a_4 + M^t_2 + S^{sm}_2 + S^{sm}_2 + S^a_6 + S^l_{10} + X + X$.

Keyword : *Arctictis binturong* , conventional staining , colchicine , karyotype formula

1. บทนำ

หมีขอล (Binturong) สามารถที่จะจัดจำแนกอนุกรมวิธานได้ดังต่อไปนี้

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Mammal

Order : Carnivora

Family : Viverridae

Subfamily: Paradoxurinae

Genus : *Arctictis*

Species : *Arctictis binturong*

สัตว์กินเนื้อ (Carnivores) ทั่วโลกมีอยู่ 11 วงศ์ 23 วงศ์ย่อย 129 สกุล 271 ชนิด [1] วงศ์สัตว์กินเนื้อที่พบได้ทั้งหมด ได้แก่ สุนัข (dogs) หมี (bears) แรคคูนและสัตว์ที่ใกล้เคียง (Raccoons and relative) อีเห็น ชะมด หมีขอล (civets and relative) ไฮยีนา (hyenas) เสือ แมว (cats) พังพอน (mongooses) วิซัส แบดเจอร์ สะคัง นาก (Weasels, Badgers, Skunks, Otters) วอลรัส (Walrus) สิงโตทะเล (Sea lions) และแมวน้ำ (seals) [2]

สัตว์ในวงศ์ Viverridae ทั่วโลกมีอยู่ทั้งสิ้น 6 วงศ์ย่อย 20 สกุล และ 38 ชนิด [1] สำหรับในประเทศไทยพบทั้งหมด 3 วงศ์ย่อย 9 สกุล และ 11 ชนิด ได้แก่

1. วงศ์ย่อย Paradoxurinae ประกอบด้วยหมีขอลหรือบินตุง (Binturong, *Arctictis binturong*) อีเห็นข้างลายหรืออีเห็นธรรมดา (Asian palm civet, *Paradoxurus hermaphroditus*) อีเห็นเครือ (Masked palm civet, *Paguma lavata*) และอีเห็นหน้าขาวหูค้าง (Small-toothed palm civet, *Arctogalidia trivirgata*)

2. วงศ์ย่อย Viverrinae ประกอบด้วยชะมดแปลงลายแถบ (Banded linsang, *Prionodon linsang*) ชะมดแปลงลายจุด (Spotted linsang, *Prionodon pardicolor*) ชะมดแผงสันหางดำ (Large-spotted civet, *Viverra megaspila*) ชะมดแผงหางปล้อง (Large Indian

civet, *Viverra zibetha*) และชะมดเซียด (Small Indian civet, *Viverricular indica*)

3. วงศ์ย่อย Hemigalinae ประกอบด้วยอีเห็นน้ำ (Otter civet, *Cynogale bennettii*) และอีเห็นลายลาด (Banded palm civet, *Hemigalus derbyanus*) [3, 4, 5, 1]

หมีขอในประเทศไทยพบมีเพียงชนิดย่อยเดียว ได้แก่ *Arctictis binturong binturong* [4, 5] ลักษณะทั่วไปของหมีขอ พบว่ามีขนาดใหญ่ที่สุดในสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ Viverridae มีการแพร่กระจายในอินเดีย พม่า ไทย แลวมอินโดจีน สุมาตรา ซาบา เบอร์เนียว และฟิลิปปินส์ ในประเทศไทยมีมากในป่าดงดิบของภาคใต้ มีรูปร่างคล้ายสัตว์จำพวกหมีตัวอ้วน มีขนยาวและหยาบสีดำ หมีลักษณะกลมและขนปลายหูสีขาว หางยาวและมีขนเป็นพวงคล้ายกับหางของกระรอก และสามารถใช้งาเกี่ยวกิ่งไม้ได้ ความยาวลำตัวและหัว 61-69 ซม. ความยาวหาง 50-84 ซม. น้ำหนักประมาณ 9-20 กก. อาศัยอยู่ตามเรือนยอดของต้นไม้ในป่าดงดิบ และลงมาหากินบนพื้นดินบ้างเป็นบางครั้ง ออกหากินตามลำพังหรือเป็นครอบครัวเล็ก ๆ มักพบออกหากินเวลากลางคืน พักผ่อนหลับนอนตอนกลางวัน อาหารได้แก่ ผลไม้ หนู ลูกนก เป็นต้น ตั้งท้องนานประมาณ 92 วัน ออกลูกครั้งละ 1-3 ตัว อายุยืนประมาณ 23 ปี [4, 5] รูปหมีขอแสดงไว้ดังภาพที่ 1

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number, NF) เท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โครโมโซมร่างกาย (autosome) ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก (metacentric) และซับเมทาเซนทริก (submetacentric) 22 แท่ง ชนิดอะโครเซนทริก (acrocentric) และซับอะโครเซนทริก (subacrocentric) 18 แท่ง โครโมโซมเพศ (sex-chromosome) พบว่าโครโมโซมเอ็กซ์ (X-chromosome) เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวาย (Y-chromosome) เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็กมาก พบโครโมโซมที่เป็น satellite chromosome (มีบริเวณของ

nucleolar organizer region, NOR) จำนวน 2 แท่ง ในโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก หรือซับเมทาเซนทริก [6]

จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัย พบรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอเพียงรายงานเดียว [6] และพบว่ามีการศึกษาในสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Paradoxurinae เดียวกัน ที่เป็นสัตว์ที่พบได้ในประเทศไทย ได้แก่ อีเห็นข้างลาย และอีเห็นเครือ [6, 7, 8, 9, 10, 11] สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอมาก่อน จึงควรที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน และนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยอื่น ๆ ต่อไป การศึกษาในครั้งนี้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphocyte culture) และการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining) เพื่อทำการเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้

2. วิธีดำเนินการศึกษา

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาได้จากหมีขอเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี และสวนสัตว์คูสิต จังหวัดกรุงเทพมหานคร ทำการเจาะเก็บเลือดโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) จากเส้นเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) เก็บในหลอดสุญญากาศ (vacuum tube) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่บรรจุสาร heparin เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วทำการแช่ในกระดิกน้ำแข็งตลอดการเดินทางจนถึงห้องปฏิบัติการ การดำเนินการทดลองแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนดังต่อไปนี้

2.1 การเตรียมเซลล์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ [12] ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเลือดปริมาณน้อย (whole blood microculture)

การเพาะเลี้ยงเซลล์

1. เตรียม stock อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด RPMI 1640 ที่มีสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (mitogen)

คือ PHA (Phytohemagglutinin) ความเข้มข้น 2% นำ stock อาหารแบ่งลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขวดละ 5 มิลลิลิตร

2. นำเลือดหมioxจำนวน 0.5 มิลลิลิตร หยดลงในขวดเลี้ยงเชื้อ เขย่าให้สารละลายและเลือดเข้ากัน ปิดฝาขวดหลวม ๆ นำไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเขย่าเลือดทุกเช้าเย็น

3. เมื่อครบเวลาเก็บเกี่ยวเซลล์ คือ ชั่วโมงที่ 72 ทำการหยุดสารละลาย Colchicine เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที

การเก็บเกี่ยวเซลล์

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

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

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

4. ทำการตรึงเซลล์ (fix) โดยการเติม fresh cold fixative ที่มีอัตราส่วนของ methanol : glacial acetic acid เป็น 3 : 1 (ต้องนำไปแช่เย็นและเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง) ใช้หลอดหยด หยด fresh cold fixative ทีละหยดพร้อมกับผสมเซลล์ให้เข้ากับสารละลายด้วย vortex mixture เติมนจนได้ปริมาตรประมาณ 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดส่วน fixative ด้านบนทิ้ง

5. ทำซ้ำในข้อ 4 อีก โดยค่อย ๆ ลดปริมาตร fixative ที่ใช้แต่ละครั้งลง จำนวนครั้งขึ้นอยู่กับความใสของสารละลาย ทำซ้ำจนได้สารละลายที่ใสและมีตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด ทำการดูดสารละลายด้านบนทิ้งจนเกือบ

หมด แล้วทำการเติม fixative ลงไปอีก 1 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน

6. ใช้ micropipette ดูดสารละลายตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาวปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบน สไลด์ที่สะอาด และเย็นจัด ทำการฝังสไลด์ให้แห้ง (air dry technique)

7. ย้อมสีโครโมโซมแบบดั้งเดิม (conventional staining) ด้วยสี Giemsa's 10% เป็นเวลา 15 นาที ทำการล้างสีออกด้วยน้ำประปา ฝังสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปศึกษาต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.2 การตรวจสอบโครโมโซม

ทำการคัดเลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) ที่มีโครโมโซมไม่สั้นหรือยาวเกินไป และมีการกระจายตัวของโครโมโซมไม่ซ้อนทับกัน ถ่ายภาพโครโมโซมหมiox เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ ทำการหาความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (length long, LI) ข้างสั้น (length short, Ls) ทำการคำนวณหาค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (length total, LT) ค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) แล้วนำค่า LI, Ls, LT, RL และ CI ของโครโมโซมทั้ง 20 เซลล์ มาหาค่าเฉลี่ย (mean) นำค่า RL และ CI มาหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) [13] การคำนวณใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Excel 2000

ค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT) = ความยาวแขนข้างยาว (LI) + แขนข้างสั้น (Ls)

ค่า relative length (RL) = LT/ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมทุกคู่ (Σ LT)

ค่า centromeric index (CI) = LI/LT

การจัดคู่ของโครโมโซมชนิดหลัก ดังต่อไปนี้

1. ทำการจับคู่ของโครโมโซม โดยดูจากความยาวและตำแหน่งของ Centromere ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน กำหนดหมายเลขโครโมโซมแต่ละแท่ง

2. วัดความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่งจากภาพถ่าย

3. กำหนดชนิดของโครโมโซมจากค่า CI ดังต่อไปนี้

ค่า CI	ชนิดของโครโมโซม
0.500-0.599	เมทาเซนตริก
0.600-0.699	ซับเมทาเซนตริก
0.700-0.899	อโครเซนตริก
0.900-1.000	เทโลเซนตริก

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

โครโมโซมขนาดใหญ่ (L) = โครโมโซมคู่ที่ 1

โครโมโซมขนาดกลาง (M) < (LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย) / 2

โครโมโซมขนาดเล็ก (S) < LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 / 2

3. ผลและวิจารณ์การศึกษา

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของหมีขอ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แห่ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่รายงานว่าหมีขอมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง [13] เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Paradoxurinae เดียวกันกับหมีขอ คือ อีเห็นข้างลาย และอีเห็นเครือ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 และ 44 แห่ง ตามลำดับ [7, 8, 9, 10, 12, 13] จะเห็นได้ว่าหมีขอมีจำนวนโครโมโซมที่เท่ากับอีเห็นข้างลาย โครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟส และคาริโอไทป์ของหมีขอเพศผู้และเพศเมีย แสดงดังภาพที่ 2 และ 3

หมีขอมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 46 ทั้งในเพศเมียและเพศผู้ ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่รายงานว่าหมีขอมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย [13] เมื่อทำการเปรียบเทียบ กับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่าง

ของรายงานการศึกษา ได้แก่ อีเห็นข้างลายมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย [13] อีเห็นเครือมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 69 ในเพศผู้และ 68 ในเพศเมีย [10] เท่ากับ 66 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย [7] เท่ากับ 68 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย [13] และอิดิโอแกรม (idiogram) ของหมีขอแสดงถึงโครโมโซมขนาดใหญ่คู่ย่อย ๆ ลดขนาดลงไปเรื่อย ๆ รูปอิดิโอแกรมแสดงดังภาพที่ 4

หมีขอมีโครโมโซมร่างกาย 40 แห่ง (20 คู่) ที่ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง อะโครเซนตริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง เทโลเซนตริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง อะโครเซนตริกขนาดกลาง 4 แห่ง เทโลเซนตริกขนาดกลาง 2 แห่ง เมทาเซนตริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ซับเมทาเซนตริกขนาดเล็ก 2 แห่ง อะโครเซนตริกขนาดเล็ก 6 แห่งและเทโลเซนตริกขนาดเล็ก 10 แห่ง ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่รายงานว่าหมีขอมีโครโมโซมร่างกายชนิดซับเมทาเซนตริกและซับเมทาเซนตริก 22 แห่ง ชนิดอะโครเซนตริกและซับอะโครเซนตริก (subacrocentric) 18 แห่ง [13]

เมื่อทำการเปรียบเทียบชนิดของโครโมโซมร่างกายกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกันกับหมีขอ พบว่ามีความแตกต่างของรายงานการศึกษา ได้แก่ อีเห็นข้างลายมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนตริก 8 แห่ง ซับเมทาเซนตริก 12 แห่ง ซับเทโลเซนตริก (subtelocentric) 14 แห่ง เทโลเซนตริก 6 แห่ง [8] มีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนตริกและ ซับเมทาเซนตริก 22 แห่ง อะโครเซนตริกและซับอะโครเซนตริก 18 แห่ง [13] อีเห็นเครือมีโครโมโซมร่างกายชนิด เมทาเซนตริกและซับเมทาเซนตริก 24 แห่ง อะโครเซนตริก 18 แห่ง [10] มีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนตริกและ ซับเมทาเซนตริก 8 แห่ง อะโครเซนตริก 18 แห่ง ซับเทโลเซนตริก 16 แห่ง [7] และมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนตริกและซับเมทาเซนตริก 22 แห่ง อะโครเซนตริกและซับอะโครเซนตริก 20 แห่ง [13]

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าหมีขอมีเครื่องหมายทางพันธุศาสตร์ (genetic marker) โดยพบว่าโครโมโซมคู่

ที่ 19 (1 คู่) จัดเป็น satellite chromosome (มีบริเวณของ nucleolar organizer region, NOR) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่รายงานว่าหมีขอมมีโครโมโซมที่เป็น satellite chromosome จำนวน 2 แท่ง (1 คู่) [13] และมีความคล้ายกับรายงานการศึกษาของสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน ได้แก่ อีเห็นข้างลายมีโครโมโซมคู่ที่ 4 เป็น satellite chromosome [8] และอีเห็นเครื่องมือโครโมโซมที่เป็น satellite chromosome จำนวน 2 แท่ง (1 คู่) [7, 10, 12, 13]

จากการนำเซลล์ที่อยู่ในระยะเมทาเฟสของหมีขอมเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ มาทำการวัดขนาดของโครโมโซมที่มีหน่วยเป็นเซนติเมตร พบว่าโครโมโซมของหมีขอมมีค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (Ll) ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่า RL และ CI แสดงดังตารางที่ 1

หมีขอมมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่รายงานว่าหมีขอมมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นเมทาเซนทริกขนาดเล็ก [13] เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกันกับหมีขอม พบว่ามีความแตกต่างของรายงานการศึกษา ได้แก่ อีเห็นข้างลายมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซม

วายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกที่มีขนาดเล็กมากที่สุด [8] อีเห็นเครื่องมือโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดอะโครเซนทริก [10] มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดเมทาเซนทริก [7, 13]

การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมของสัตว์ที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน (วงศ์ Viverridae) แต่ไม่ได้อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกันกับหมีขอม ได้แก่ Small-spotted genet (*Genetta genetta*), ชะมดเซียด (*Viverricular indica*), African civet (*Civettictis civetta*), ชะมดแปลงลายแถบ (*Prionodon linsang*) อยู่ในวงศ์ย่อย Viverrinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 52, 36, 38 และ 34 แท่ง ตามลำดับ Fossa (*Cryptoprocta ferox*) อยู่ในวงศ์ย่อย Cryptoprotinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แท่ง และ Hose's palm civet (*Diplogale hosei*), อีเห็นลายพาด (*Himigalus derbyanus*) อยู่ในวงศ์ย่อย Hemigalinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แท่ง [13] จะเห็นได้ว่าสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ Viverridae มีจำนวนโครโมโซมที่มีความหลากหลาย และพบว่าสัตว์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับหมีขอมคือ Fossa, Hose's palm civet และอีเห็นลายพาด

สูตรคาริโอไทป์หมีขอมเพศผู้ คือ

$$2n(42) = L_2^{sm} + L_6^a + L_6^i + M_4^a + M_2^i + S_2^{sm} + S_2^{sm} + S_6^a + S_{10}^i + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L_1^m + L_2^{sm} + L_6^a + L_6^i + M_4^a + M_2^i + S_2^{sm} + S_3^{sm} + S_6^a + S_{10}^i$$

สูตรคาริโอไทป์หมีขอมเพศเมีย คือ

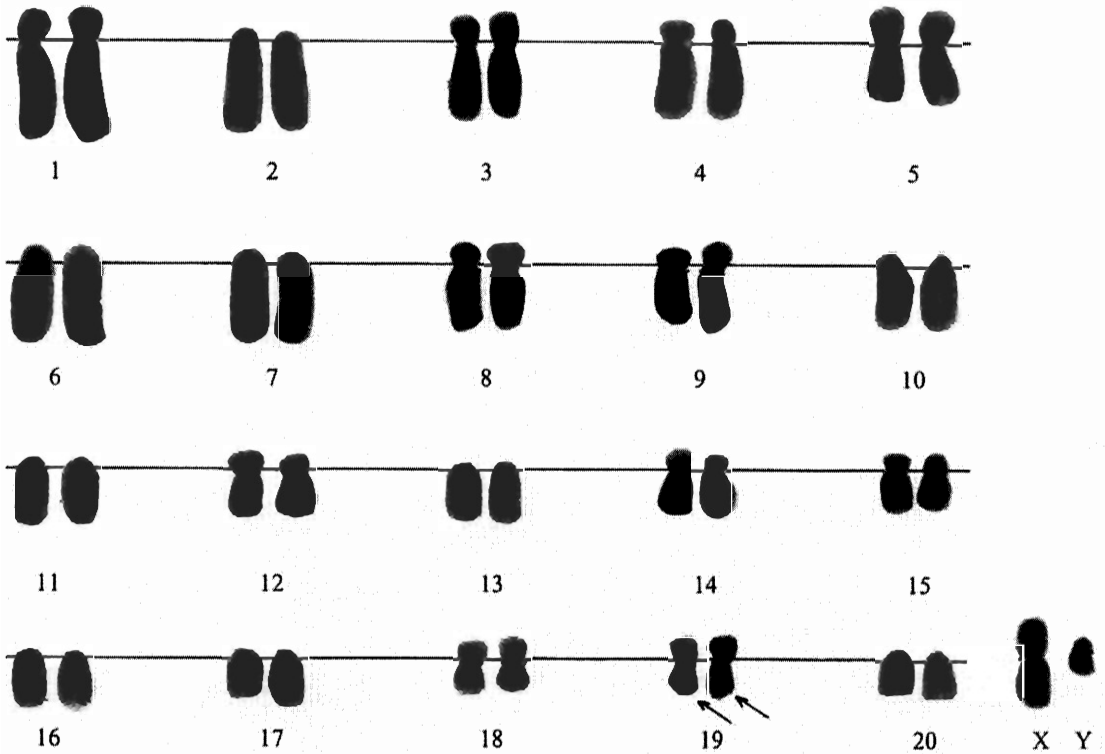
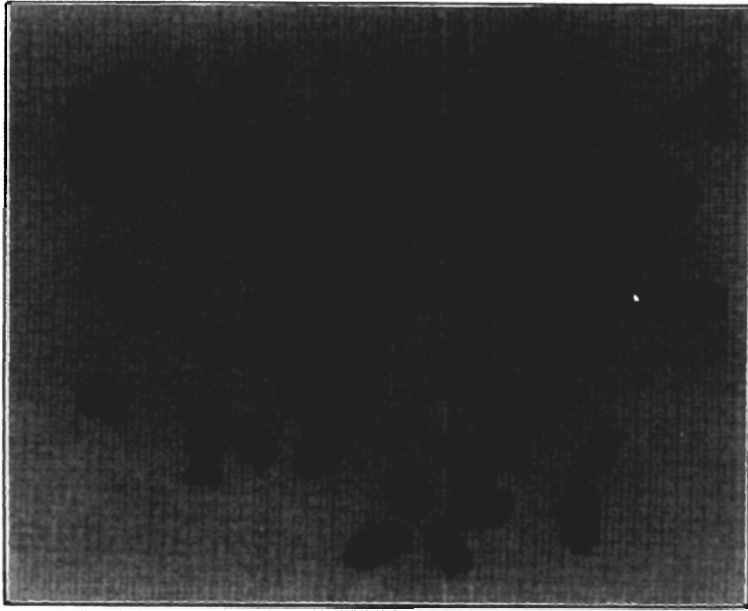
$$2n(42) = L_2^{sm} + L_6^a + L_6^i + M_4^a + M_2^i + S_2^{sm} + S_2^{sm} + S_6^a + S_{10}^i + X + X$$

$$\text{หรือ} = L_2^m + L_2^{sm} + L_6^a + L_6^i + M_4^a + M_2^i + S_2^{sm} + S_2^{sm} + S_6^a + S_{10}^i$$

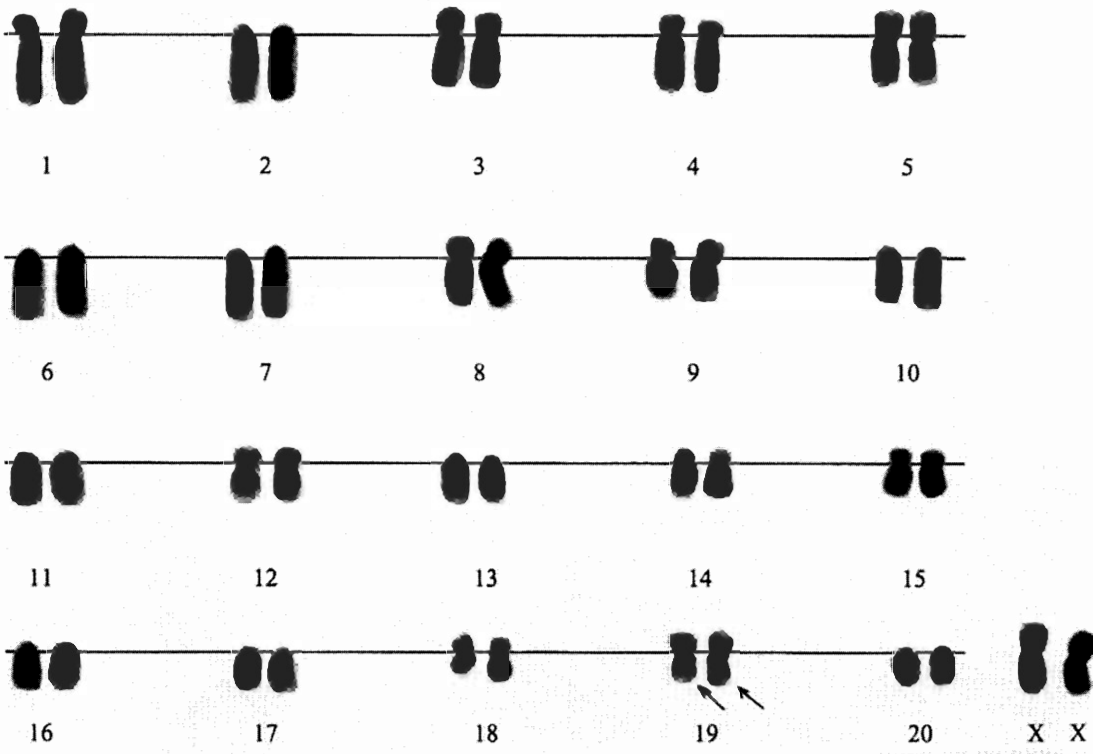
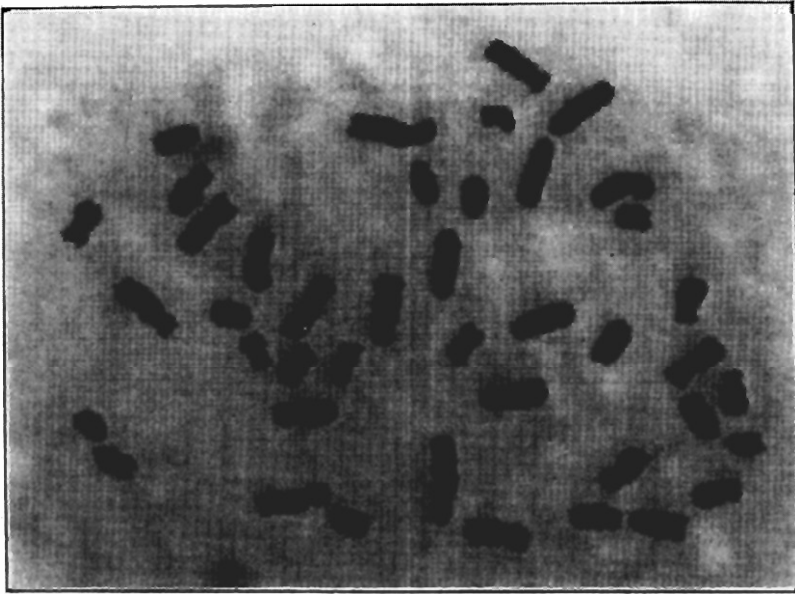


ภาพที่ 1 หมิ่นขอ (*Arctictis binturong*)

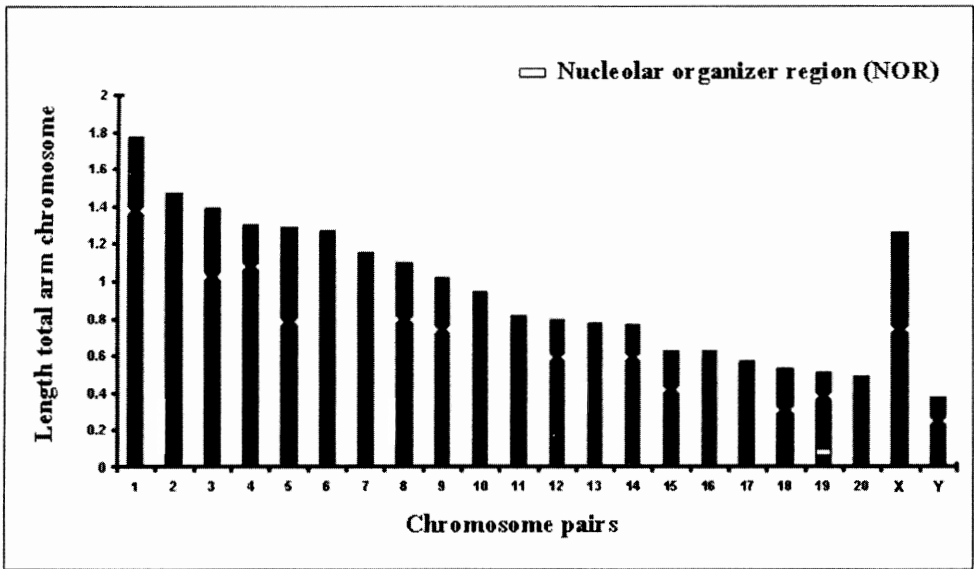
ที่มา : <http://homepage1.nifty.com/wildlife-chiba/mammal/civit.html>



ภาพที่ 2 โครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟส (กำลังขยาย 3,800 เท่า) และคาริโอไทป์ของหมีขอ (*Arctictis binturong*) เพศผู้ $2n$ (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง ลูกศรชี้แสดง satellite chromosome



รูปที่ 3 โครโมโซมจากเซลล์ระยะเมทาเฟส (กำลังขยาย 3,800 เท่า) และคาริโอไทป์ของหมีขอ (*Arctictis binturong*) เพศเมีย 2n (diploid) เท่ากับ 42 แห่ง ลูกศรชี้แสดง satellite chromosome



ภาพที่ 4 อีคิโอแกรมของหมีขอ (*Arctictis binturong*) 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ข้างยาว (LI) ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) เป็นเซนติเมตร ค่าเฉลี่ย relative length (RL) centromeric index (CI) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของค่า RL และ CI ของหมีขอ (*Arctictis binturong*) เพศผู้และเพศเมีย จาก 20 เซลล์

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	ขนาดของโครโมโซม	รูปร่างของโครโมโซม
1	0.41	1.37	1.78	0.085±0.001	0.769±0.030	L	a
2	0.00	1.48	1.48	0.071±0.001	1.000±0.000	L	t
3	0.37	1.02	1.39	0.067±0.001	0.733±0.015	L	a
4	0.22	1.08	1.30	0.062±0.003	0.830±0.011	L	a
5	0.51	0.78	1.29	0.062±0.004	0.604±0.022	L	sm
6	0.00	1.27	1.27	0.061±0.001	1.000±0.000	L	t
7	0.00	1.16	1.16	0.056±0.001	1.000±0.000	L	t
8	0.32	0.78	1.10	0.053±0.003	0.709±0.015	M	a
9	0.28	0.74	1.02	0.049±0.001	0.725±0.033	M	a
10	0.00	0.94	0.94	0.045±0.002	1.000±0.000	M	t
11	0.00	0.82	0.82	0.039±0.001	1.000±0.000	S	t

โครโมโซมคู่ที่	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	ขนาดของโครโมโซม	รูปร่างของโครโมโซม
12	0.21	0.59	0.80	0.038±0.001	0.737±0.032	S	a
13	0.00	0.78	0.78	0.037±0.001	1.000±0.000	S	t
14	0.18	0.59	0.77	0.037±0.002	0.766±0.027	S	a
15	0.22	0.41	0.63	0.030±0.001	0.650±0.035	S	sm
16	0.00	0.63	0.63	0.030±0.001	1.000±0.000	S	t
17	0.00	0.57	0.57	0.027±0.000	1.000±0.000	S	t
18	0.22	0.31	0.53	0.025±0.002	0.584±0.028	S	m
19	0.13	0.38	0.51	0.024±0.001	0.745±0.031	S	a
20	0.00	0.49	0.49	0.023±0.001	1.000±0.000	S	t
X	0.52	0.74	1.26	0.060±0.001	0.587±0.037	L	m
Y	0.12	0.25	0.37	0.018±0.001	0.675±0.037	S	sm

L คือ โครโมโซมขนาดใหญ่ที่มีค่าเฉลี่ย LT มากกว่า 1.135 เซนติเมตร

M คือ โครโมโซมขนาดกลางที่มีค่าเฉลี่ย LT อยู่ระหว่าง 0.890 ถึง 1.135 เซนติเมตร

S คือ โครโมโซมขนาดเล็กที่มีค่าเฉลี่ย LT น้อยกว่า 0.890 เซนติเมตร

M คือ โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก

sm คือ โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก

a คือ โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก

t คือ โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก

4. สรุปผลการศึกษา

หมีขอมมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 46 ในเพศเมียและเพศผู้ โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 2 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็ก 6 แห่งและเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 10 แห่ง โครโมโซมคู่ที่ 19 จัดเป็น Satellite

chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ และโครโมโซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด หมีขอมมีสูตรคาริโอไทป์ ดังต่อไปนี้

สูตรคาริโอไทป์หมีขอมเพศผู้คือ

$$2n (42) = L^m_2 + L^a_6 + L^i_6 + M^a_4 + M^i_2 + S^m_2 + S^sm_2 + S^a_6 + S^t_{10} + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L^m_1 + L^sm_2 + L^a_6 + L^i_6 + M^a_4 + M^i_2 + S^m_2 + S^sm_3 + S^a_6 + S^t_{10}$$

สูตรคาริโอไทป์หมีขอมเพศเมียคือ

$$2n (42) = L^m_2 + L^a_6 + L^i_6 + M^a_4 + M^i_2 + S^m_2 + S^sm_2 + S^a_6 + S^t_{10} + X + X$$

$$\text{หรือ} = L^m_2 + L^sm_2 + L^a_6 + L^i_6 + M^a_4 + M^i_2 + S^m_2 + S^sm_2 + S^a_6 + S^t_{10}$$

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้สนับสนุนเงินทุนสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการองค์การสวนสัตว์ นายโสภณ คำนุ้ย ผู้อำนวยการสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และผู้อำนวยการสวนสัตว์ดุสิต ที่ได้อนุญาตทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดหมิวขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานสวนสัตว์ทุกท่านที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Wilson, D.E. and Cole, F.R., Common Names of Mammals of the World, Smithsonian Institution, United States of America, 267 p, 2000.
- [2] Hickman, C.P. and Roberts, L.S., Biology of Animals, Wm.C. Brown Communications, United Kingdom, 473 p, 1994.
- [3] โอภาส ขอบเขตต์, ทรัพยากรสัตว์ป่า, การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย, คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 154 น, 2541.
- [4] Lekagul, B. and McNeely, J.A., Mammals of Thailand, 1st ed, Kurusapha Ladprao Press, Bangkok, Thailand, 758 p, 1977.
- [5] Lekagul, B. and McNeely, J.A., Mammals of Thailand, 2nd ed, Sahakarn Bhact, Bangkok, Thailand, 758 p, 1988.
- [6] Wurster, D.H. and Benirschke, K., Comparative Cytogenetic Studies in the Order Carnivora, Chromosoma (Berl.), Vol. 24 ; pp. 336-382, 1968.
- [7] Masashi, H. and Harumi, T., Karyotype Study of the Masked Palm Civet *Paguma lavata* in Japan (Viverridae), Journal of the Mammalogical Society of Japan, Vol. 18 ; pp. 39-42, 1993.
- [8] Ray-Chaudhuri, S.P., Ranjini, P.V. and Sharma, T., Somatic Chromosome of the Common Palm Civet *Paradoxurus hermaphroditus* (Viverridae-Carnivora), Experientia, Vol. 22 (11) ; pp. 740-741, 1966.
- [9] Wada, M.Y., Nakamura, A. and Yoshida, T.H., An Easy Technique to Obtain the Blood by the Clew-Cutting From Small Mammals and Bird and Karyotype of Some Animals From Blood Culture, Kromosomu, Vol. 58 (112) ; pp. 971-976, 1983.
- [10] Wang, Z., Quan, G., Yie, Z. and Wang, S., Karyotype of Three Species of Carnivora. Acta Zoologica Sinica, Vol. 30 ; pp. 188-195, 1984.
- [11] Wurster, D.H. and Benirschke, K., Chromosome Numbers in Thirty Species of Carnivores Mammal, Chromosome Newsletter, Vol. 8 ; pp. 195-216, 1967.
- [12] อมรา คัมภีรานนท์, พันธุศาสตร์ของเซลล์, ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 253 น, 2540.
- [13] กัญยรัตน์ ไชยสุด, เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 260 น, 2532.
- [14] <http://homepage1.nifty.com/wildlifechiba/mammal/civit.html>