

การศึกษาสมรรถนะการผลิตและคุณภาพซากของสุกรป่าที่ได้รับอาหารโปรตีน  
2 ระดับในการเลี้ยงแบบปล่อยแปลงและแบบขังคอก

A study on performance and carcass quality of wild boar using two levels  
of protein diet under free range and intensive management

วัชรพงษ์ วัฒนกุล  
ถาวร สุภาพรม  
อินทร์ ศาลางม  
ชนิษฐา ทูมมากรณ์  
วรพงษ์ สุริยจันทร์ทอง  
ธีระพล บันสิทธิ์  
เกรียงไกร โชประการ  
นิภาพรรณ สิงห์ทองดา

- การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในสุกรป่าของไทย  
Mitotic karyotype of Thai wild boar (*Sus Scrofa vitattus*)
- การศึกษาสมรรถนะการผลิตและคุณภาพซากของสุกรป่าที่ได้รับอาหารโปรตีน 2 ระดับในการเลี้ยงแบบปล่อยแปลงและแบบขังคอก  
A study on performance and carcass quality of wild boar using two levels of protein diet under free range and intensive management
- การศึกษาพฤติกรรมสุกรป่าที่เลี้ยงแบบปล่อยแปลงและขังคอก  
A study on behaviour of wild boar under free range and intensive management

คณะเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ทุนอุดหนุนเพื่อการวิจัย สำนักงบประมาณ  
ประจำปี 2543

รหัสโครงการ 04102900-0003

ISBN 974-609-092-5

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ และสำนักงานไรฟีกทดลองและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความอนุเคราะห์สารเคมีบางชนิดในการทำการทดลองในครั้งนี้ และ ขอขอบคุณ คุณมุกดา บุตรวงศ์ นักศึกษาจุลชีววิทยา คุณประสิทธิ์ เสวีชูศรี คุณสรพรพิทธิ แปลงแก้ว และ คุณสำราญ มูลโคตร นักศึกษาสาขาสัตวศาสตร์ คุณวีระพงษ์ บัวเขียว งานคอมพิวเตอร์คณะเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยเหลืองานในการดำเนินการทดลองและการจัดทำรายงานเป็นอย่างดี ตลอดจนผู้ให้เงินทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

คณะผู้จัดทำ

13 มีนาคม 2545

## การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในสุกรป่าของไทย

### Mitotic Karyotype of Thai Wild Boar (*Sus scrofa vitattus*)

ถาวร สุภาพรม<sup>1</sup>

ขนิษฐา ทุมมากรณ์<sup>1</sup>

วัชรพงษ์ วัฒนกุล<sup>2</sup>

อิน ศาลางาม<sup>2</sup>

<sup>1</sup> หน่วยปฏิบัติการเซลล์พันธุศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>2</sup> คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

## สารบัญ

สารบัญตาราง.....	3
สารบัญภาพ.....	3
บทคัดย่อ.....	4
คำนำ.....	5
วิธีการทดลอง.....	6
ผลการทดลอง.....	7
วิจารณ์และสรุปผล.....	14
เอกสารอ้างอิง.....	15

**สารบัญตาราง**

ตารางที่ 1 จำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทย .....8

**สารบัญภาพ**

ภาพที่ 1 สุกรป่าที่นำมาจากฟาร์มของเกษตรกรในเขต อ.เมือง จ.จันทบุรี ..... 8

ภาพที่ 2 somatic metaphase ของสุกรป่าไทยเพศเมีย ลูกศรชี้โครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ ไม่ติดสีซ็อม (กำลังขยาย 5000 เท่า) ..... 9

ภาพที่ 3 somatic metaphase ของสุกรป่าไทยเพศผู้ ลูกศรชี้โครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ ไม่ติดสีซ็อม (กำลังขยาย 5000 เท่า) ..... 9

ภาพที่ 4 Giemsa-stained karyotype ของสุกรป่าไทยเพศเมีย (38,XX) ลูกศรชี้ให้เห็นบริเวณ ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีซ็อม (กำลังขยาย 5000 เท่า) ..... 10

ภาพที่ 5 G-banded karyotype ของสุกรป่าไทยเพศเมีย (38,XX) กำลังขยาย 5000 เท่า ..... 11

ภาพที่ 6 Giemsa-stained karyotype ของสุกรป่าไทยเพศผู้ (38,XY) ลูกศรชี้ให้เห็นบริเวณ ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีซ็อม (กำลังขยาย 5000 เท่า) ..... 12

ภาพที่ 7 G-banded karyotype ของสุกรป่าไทยเพศผู้(38,XY) ลูกศรชี้ให้เห็นบริเวณตำแหน่ง เซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีซ็อม (กำลังขยาย 5000 เท่า) ..... 13

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในสุกรป่าของไทย

Mitotic Karyotype of Thai Wild Boar (*Sus scrofa vittatus*)

ถาวร สุภาพรม<sup>1</sup>, ขนิษฐา ทุมมากรณ์<sup>1</sup>, วัชรพงษ์ วัฒนกุล<sup>2</sup> และ อิน ศาถางาม<sup>2</sup>

บทคัดย่อ

จากการศึกษาโครโมโซมและคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทย (*Sus scrofa vittatus*) ที่จับมาจากฟาร์มของเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี โดยเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ทิมโฟไซต์ และย้อมแถบโครโมโซมแบบจี (G-banding) พบว่าสุกรป่าไทยมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 38 ( $2n=38$ ) รูปร่างของโครโมโซมในคาริโอไทป์มี 3 แบบ คือ แบบเมตาเซนตริก (คู่ที่ 10-12), สับเมตาเซนตริก (คู่ที่ 1-9) และ อโครเซนตริก (คู่ที่ 13-18) ขนาดของโครโมโซมในคาริโอไทป์แบ่งได้ 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม A เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างสับเมตาเซนตริกขนาดใหญ่ (มี 1 คู่) กลุ่ม B เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างอโครเซนตริก (มี 6 คู่) กลุ่ม C เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างสับเมตาเซนตริกขนาดกลาง (มี 8 คู่ และ X-chromosome) และกลุ่ม D เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างเมตาเซนตริกขนาดเล็ก (มี 3 คู่ และ Y-chromosome) นอกจากนี้ยังพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 10 บริเวณตำแหน่งเซนโตรเมียร์จะไม่ติดสีเขียว (gap) ซึ่งอาจใช้โครโมโซมคู่นี้เป็นจุดสังเกต (marker) ในการศึกษาโครโมโซมของสุกรป่า จำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทยมีลักษณะคล้ายคลึงกับสุกรป่าญี่ปุ่นและสุกรป่าเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มาก แต่มีความแตกต่างจากสุกรป่ายุโรปอย่างชัดเจน

<sup>1</sup> หน่วยปฏิบัติการเซลล์พันธุศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>2</sup> คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในสุกรป่าของไทย

Mitotic Karyotype of Thai Wild Boar (*Sus scrofa vitattus*)

ถาวร สุภาพรม<sup>1</sup>, ขนิษฐา ทุมมากรณ์<sup>1</sup>, วัชรพงษ์ วัฒนกุล<sup>2</sup> และ อิน ศาลางาม<sup>2</sup>

คำนำ

สุกรหรือหมู นับเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของ livestock เพราะมีข้อดีหลายประการ เช่น มีจำนวนโครโมโซมไม่มากจนเกินไปเมื่อเทียบกับสัตว์เลี้ยงชนิดอื่น (วัว :  $2n=60$ , ควาย :  $2n=50$ , แกะ :  $2n=54$ , แพะ :  $2n=60$  หรือม้า :  $2n=64$ ) การจำแนกและตรวจสอบรูปร่างของโครโมโซมก็สามารถทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยากหรือประสบปัญหา การเพาะเลี้ยงเซลล์ลิโอฟิไซต์ก็ให้ปริมาณเมตาเฟสสูง เพราะมีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงและจำนวนลูกในแต่ละครอกก็มีเพียงพอในการเก็บข้อมูลทางสถิติ ตลอดจนวงจรชีวิตก็ค่อนข้างสั้น

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของสุกร เริ่มมีมาตั้งแต่ปี ค.ศ.1913 โดย Wodsdalek แต่ผู้ที่รายงานจำนวนโครโมโซมที่ถูกต้องของสุกร คือ Krallinger(1931) ซึ่งจำนวนโครโมโซมของสุกร เท่ากับ 38 ( $2n=38$ ) ต่อมาในปี ค.ศ.1962 มีนักวิจัย 2 กลุ่มได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของสุกรพันธุ์ (domestic swine) โดยศึกษาจากเซลล์ไขกระดูก พบว่า จำนวนโครโมโซมของสุกรพันธุ์มีจำนวนเท่ากับ 38 ( $2n=38$ ) (Makino และคณะ, 1962 ; Gimenez-Martin และคณะ, 1962) อีก 1 ปีต่อมา Stone และ McConnell และคณะ นับเป็นกลุ่มบุคคลแรกที่ได้ศึกษาโครโมโซมของสุกรพันธุ์โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ลิโอฟิไซต์ซึ่งก็ได้ผลตรงกับกลุ่มนักวิจัยท่านอื่นๆ คือจำนวนโครโมโซมของสุกรพันธุ์เท่ากับ 38 (Stone, 1963 ; McConnell และคณะ, 1963)

ในกรณีของสุกรป่า (*Sus scrofa*) McFee และคณะ(1966) และ Rary และคณะ(1968) นับเป็นกลุ่มนักวิจัยกลุ่มแรกที่รายงานผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมของสุกรป่ายุโรป (European wild pigs) โดยใช้สุกรป่าที่จับได้ในเขตมลรัฐ Tennessee ซึ่งสุกรป่าที่นำมาจากประเทศเยอรมัน ตั้งแต่เมื่อปี ค.ศ. 1912 แต่มีสุกรป่าบางตัวได้หลุดเข้าไปในป่าของรัฐนี้ พบว่า สุกรป่าจำนวนร้อยละ 73 มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 36 ( $2n=36$ ) อีกร้อยละ 27 มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 37 และเสนอว่า ในคาริโอไทป์ของสุกรพันธุ์จะไม่พบโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดอยู่ระหว่างโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดกับโครโมโซมสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่ลำดับที่ 2 ทั้งกลุ่มวิจัยของ McFee และ Rary สรุปว่า เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า Robertsonian translocation หรือเกิด centric fusion ระหว่างโครโมโซมรูปร่างอโครเซนตริก 2 แห่งในสุกรพันธุ์ กลายเป็นโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกแห่งดังกล่าว ทำให้จำนวนโครโมโซมในสุกรป่าลดลงเหลือ 36 ( $2n=36$ ) กรณีดังกล่าวจึงเป็นข้อบ่งชี้ว่าสุกรป่ากับสุกรพันธุ์มีความเกี่ยวข้องและสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด ต่อมาทั้ง Gropp และคณะ(1969) และ Rittmannsperger(1971) ได้ยืนยันว่าจำนวน

โครโมโซมของสุกรป่ายุโรปเท่ากับ  $36(2n=36)$  และมีปรากฏการณ์ Robertsonian translocation เกิดขึ้นจริง ทำให้สุกรป่าและสุกรพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน อีก 2 ปีต่อมา Gustavsson และคณะ(1973) ได้ใช้เทคนิคการย้อมแถบโครโมโซมพิสูจน์ว่าโครโมโซมอโครเซน ตรีกคู่ที่ 15 และคู่ที่ 17 เกิด centric fusion หรือ Robertsonian translocation กลายเป็นโครโมโซมรูปร่างลับเมตาเซนตริกคู่ที่ 2 ในสุกรป่า Muramoto และคณะ(1965) ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมสุกรป่าญี่ปุ่น (*Sus vittatus leucomystax*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 38 และ Grzimek(1972) ได้ศึกษาโครโมโซมของสุกรป่าเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (*Sus scrofa vittatus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 38 เช่นเดียวกัน

ส่วนสุกรป่าไทย ยังไม่มีรายงานการย้อมแถบโครโมโซมเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์มาตรฐานของสุกรป่าไทยที่นำมาจากฟาร์มของเกษตรกรสุรศักดิ์ วุฒิกุล ต.ท่าช้าง อ.เมือง จ.จันทบุรี เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางพันธุศาสตร์ที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์สุกรป่าเพื่อการค้าให้ถูกต้องตามหลักวิชาการต่อไป

#### วิธีการทดลอง

การเตรียมโครโมโซมของสุกรป่าจะใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์ลิมโฟไซต (Lymphocyte culture) จากเลือดโดยคณะผู้วิจัยได้ดัดแปลงตามวิธีของ Hammeton (1971) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างเลือด : เจาะและดูดตัวอย่างเลือดของสุกรป่าจากเส้นเลือดดำที่ใบหูหรือโคนหาง จำนวน 1-2 ml ด้วยเข็มและกระบอกฉีดยาที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) กลับกระบอกฉีดยาไปมาให้เลือดผสมกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ในการวิจัยครั้งนี้ใช้สุกรป่าจำนวน 10 ตัว แยกเป็นเพศเมีย 5 ตัวและเพศผู้ 5 ตัว

2. การเพาะเลี้ยง : ตัวอย่างเลือดในข้อ 1 นำมาเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารต่างๆดังนี้

น้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640	4 ml
ซีรัม (fetal calf serum)	1 ml
สารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (phytohaemagglutinin)	0.1 ml
ยาปฏิชีวนะ (penicillin-streptomycin)	0.3 ml
ตัวอย่างเลือด	0.8-1 ml

ผสมน้ำยาเพาะเลี้ยงและตัวอย่างเลือดให้เข้ากันอย่างทั่วถึงเบาๆ จากนั้นนำเข้าตู้บ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  ปริมาณ  $\text{CO}_2$  5% และความชื้นสัมพัทธ์ 95% เพาะเลี้ยงนาน 48 ถึง 72 ชั่วโมง ในระหว่างนี้ให้เขย่าขวดเพาะเลี้ยงอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง



3. การเก็บเกี่ยวโครโมโซม : ครบ 48 หรือ 72 ชั่วโมงให้เติมสารละลาย colchicine หรือ colcemid (0.2 mg/ml) 0.1 ml ลงในขวดเพาะเลี้ยงจากนั้นเขย่าเบาๆแล้วนำเข้าตู้บ่ม นาน 30 นาที ครบเวลาให้นำมาปั่นที่ความเร็ว 2000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนที่ใสทิ้งให้เหลือประมาณ 1-2 ml เติมสารละลายเกลือเจือจาง (0.075M KCl) จนได้ปริมาตร 10 ml ผสมให้เข้ากัน นำเข้าตู้บ่ม 37 °C นาน 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นที่ความเร็วและเวลาเท่าเดิม ดูดส่วนที่ใสทิ้งจนเหลือปริมาตร ประมาณ 1-2 ml ให้ผสมตะกอนกับสารละลายที่เหลืออย่างทั่วถึงด้วย pasteur pipette หรือใช้ vortex mixer แล้วหยดสารละลาย fixative ลงไปจนได้ปริมาตร 5 ml นำไปปั่นและดูดส่วนที่ใสทิ้ง เติม fixative ใหม่แล้วนำไปปั่นอีกครั้ง ให้เปลี่ยน fixative ใหม่ซ้ำแบบนี้ 1-2 ครั้ง จนได้ตะกอนเซลล์ขาวที่ก้นหลอด

4. การเตรียมสไลด์และการย้อมสีโครโมโซม : หยดสารละลายตะกอนที่ได้ลงบนสไลด์ที่สะอาด ประมาณ 2-3 หยดโดยไม่ซ้ำตำแหน่งเดิม วางสไลด์ลงบนถาดอุ่นสไลด์เพื่อทำให้โครโมโซมมีความคงตัว (aging and stable) จากนั้นนำไปย้อมสี Giemsa และนำสไลด์ส่วนหนึ่งไปย้อมแถบโครโมโซมแบบจี (G-banding) โดยคัดแปลงตามวิธีของ Seabright(1971)

5. การจัดทำคาริโอไทป์และวิเคราะห์ผล : คัดเลือกกลุ่มโครโมโซมที่มีการกระจายตัวดี ทำการตรวจนับและบันทึกภาพ สุกรป่า 1 ตัวจะตรวจนับโครโมโซมอย่างน้อย 25 เมตาเฟส และถ่ายภาพอย่างน้อย 5 ภาพ จากนั้นล้างฟิล์ม อัดขยายรูปและจัดทำคาริโอไทป์ การจัดเรียงคาริโอไทป์จะถือเอาตามวิธีของ Eldridge(1985) เป็นหลัก

#### ผลการทดลอง

จำนวนโครโมโซมของสุกรป่าไทยเท่ากับ 38(2n=38) รูปร่างโครโมโซมมี 3 แบบ คือ แบบเมตาเซนตริก สับเมตาเซนตริก และอโครเซนตริก ซึ่งแบ่งได้ 4 กลุ่มดังนี้ (ตามตารางที่ 1 และรูปที่ 1-6)

กลุ่ม A : เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างสับเมตาเซนตริกขนาดใหญ่ (มี 1 คู่)

กลุ่ม B : เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างอโครเซนตริก (มี 6 คู่)

กลุ่ม C : เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างสับเมตาเซนตริกขนาดกลาง (มี 8 คู่) และ X-chromosome

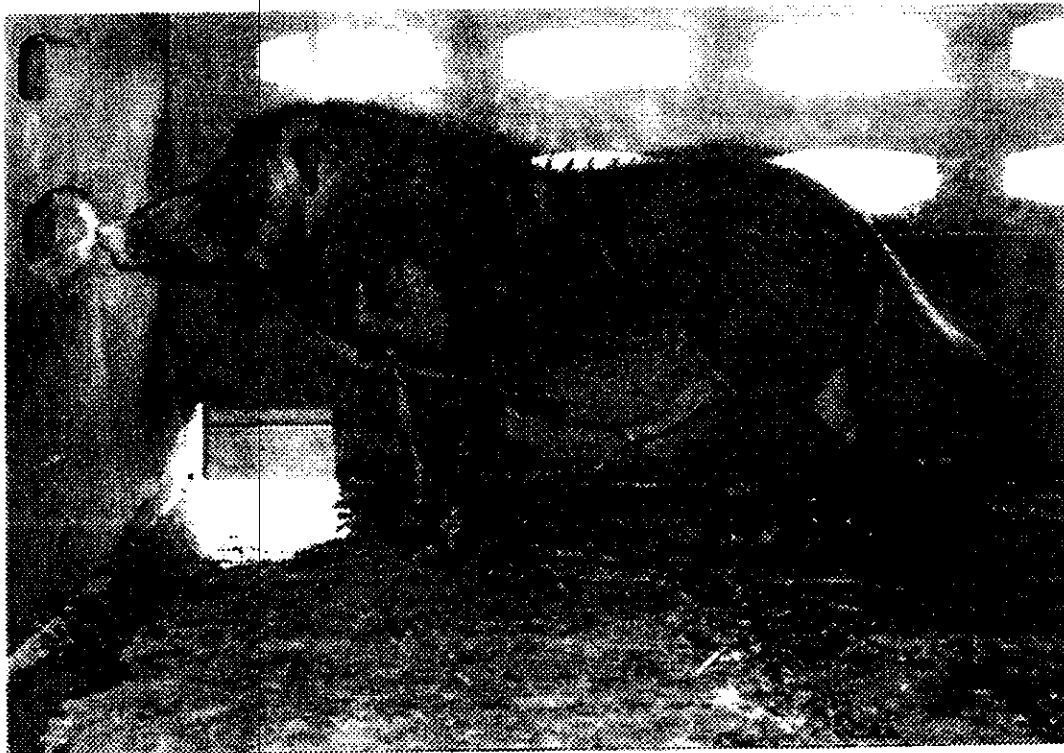
กลุ่ม D : เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างเมตาเซนตริกขนาดเล็ก (มี 3 คู่) และ Y-chromosome

โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและมีรูปร่างสับเมตาเซนตริก โครโมโซมคู่ที่ 10 เป็นโครโมโซมที่มีรูปร่างเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด และพบว่าตำแหน่งเซนโตรเมียร์จะไม่ติดสีย้อม ทำให้มองเห็นเป็นช่องว่าง (gap) ระหว่างแขนสั้นและแขนยาวของโครโมโซม ซึ่งอาจใช้โครโมโซมคู่นี้เป็นจุดสังเกต (landmark) หรือ marker ในการศึกษาโครโมโซมของสุกรป่าได้ (รูปที่ 1-6)

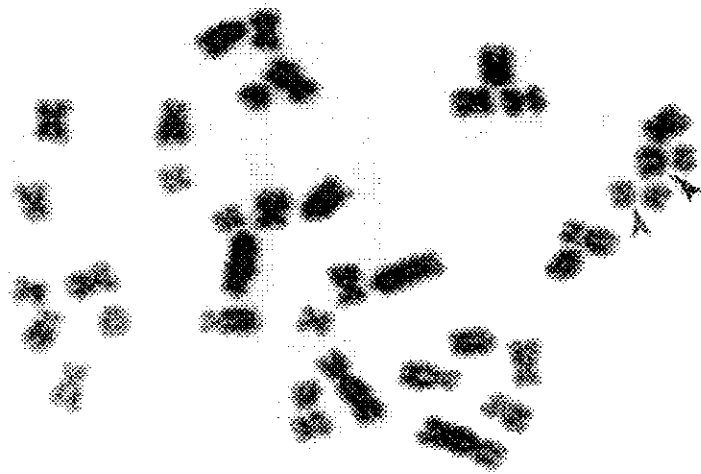
โครโมโซมเพศของสุกรป่า เพศเมียเป็น XX(38,XX) เพศผู้เป็น XY(38,XY) โดยโครโมโซมเอ็กซ์ (x-chromosome) มีรูปร่างแบบสับเมตาเซนตริกและมีขนาดใกล้เคียงกับโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกคู่อื่นๆ ทำให้ตรวจสอบและจำแนกออกจากคู่อื่นๆ ได้ยากหากย้อมโครโมโซมด้วยสี Giemsa ธรรมดา ยกเว้นกรณีย้อมแถบโครโมโซมจะจำแนก x-chromosome ได้ง่ายมาก ส่วนโครโมโซมวาย (y-chromosome) จะมีรูปร่างเมตาเซนตริกและมีขนาดเล็กที่สุด โครโมโซมวายเป็นโครโมโซมที่มีขนาดเล็กที่สุดของสุกรป่าไทย

ตารางที่ 1 จำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทย

species	diploid number	karyotype description (pairs)		
		metacentric	submetacentric	acrocentric
<i>Sus scrofa vitatus</i>	38	3 (คู่ที่ 10-12)	9 (คู่ที่ 1-9)	6 (คู่ที่ 13-18)



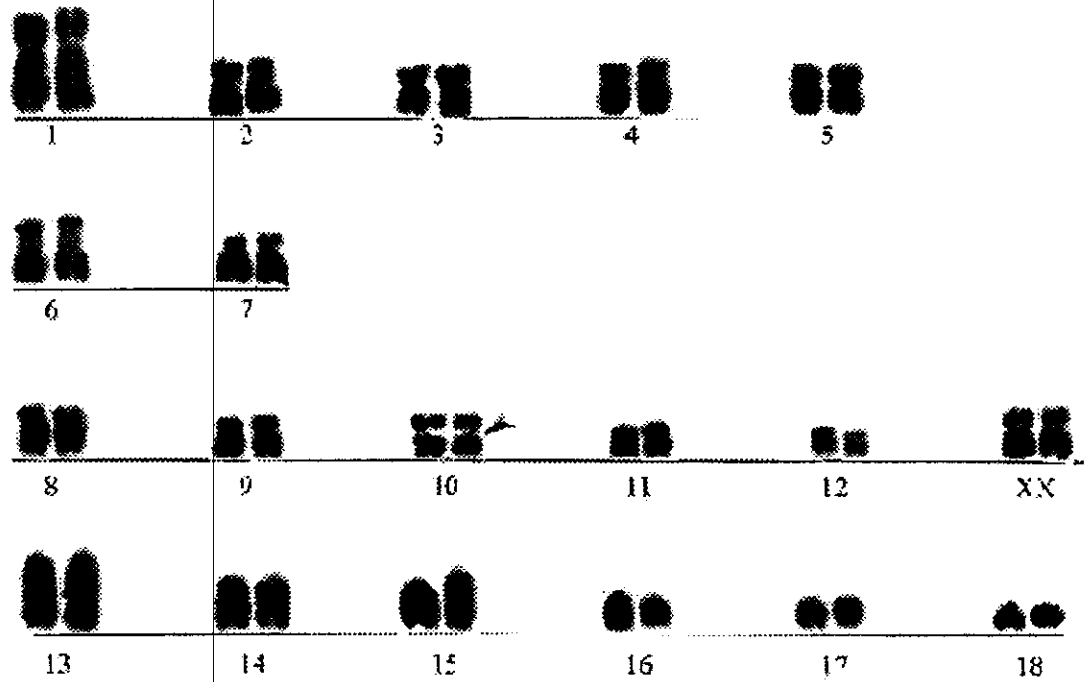
ภาพที่ 1 สุกรป่าที่นำมาจากฟาร์มของเกษตรกรในเขต อ.เมือง จ.จันทบุรี



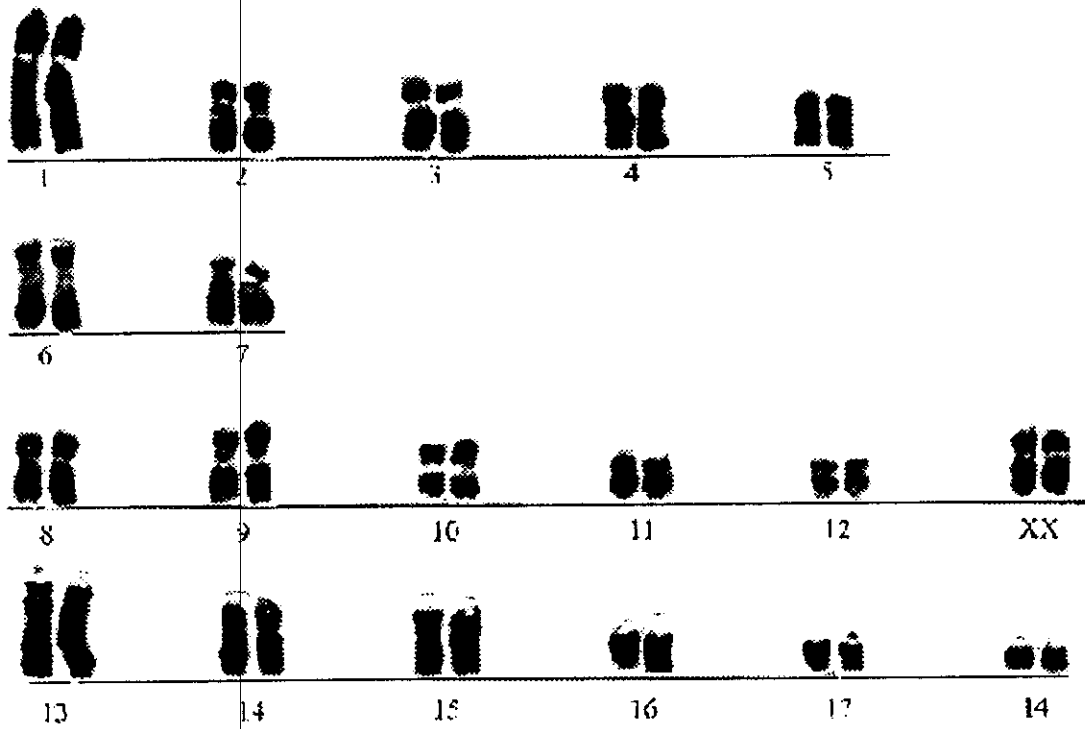
ภาพที่ 2 somatic metaphase ของสุกรป่าไทยเพศเมีย ลูกศรชี้โครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ ไม่ติดสีย้อม (กำลังขยาย 5000 เท่า)



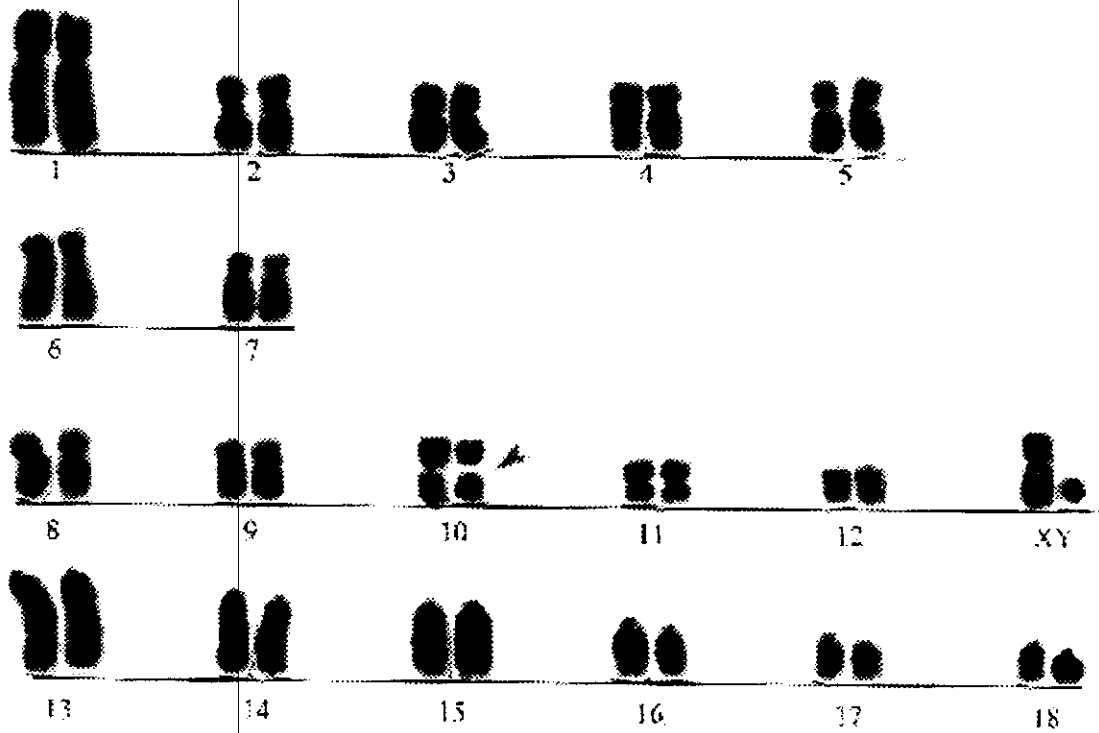
ภาพที่ 3 somatic metaphase ของสุกรป่าไทยเพศผู้ ลูกศรชี้โครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ตำแหน่งเซนโตรเมียร์ ไม่ติดสีย้อม (กำลังขยาย 5000 เท่า)



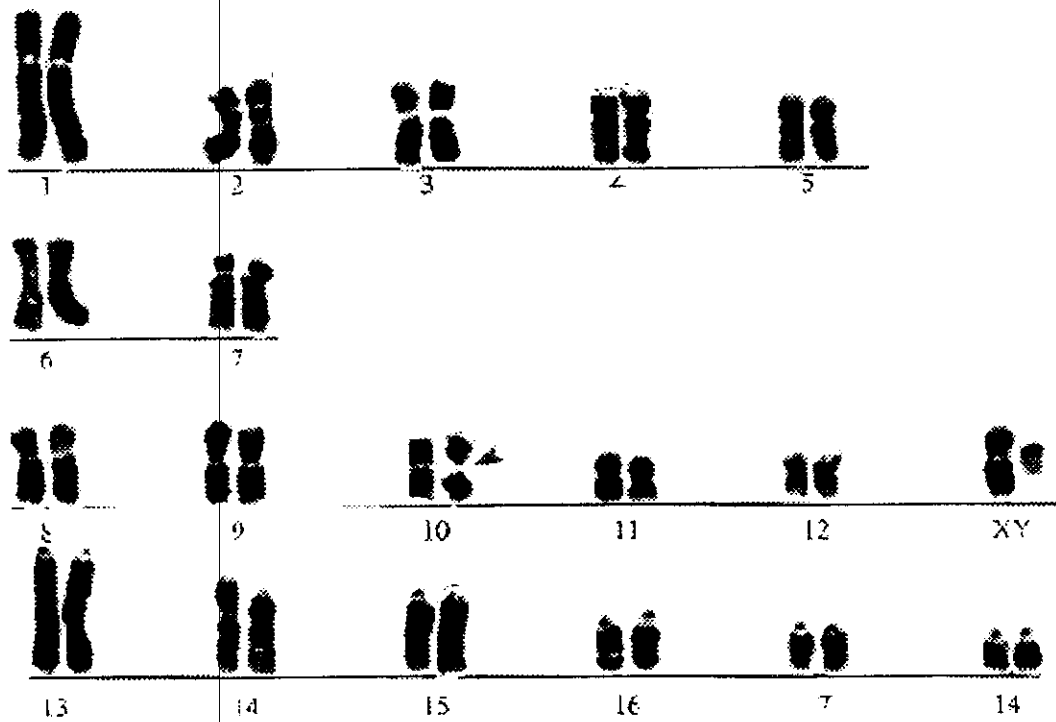
ภาพที่ 4 Giemsa-stained karyotype ของสุกรป่าไทยเพศเมีย (38,XX) ลูกศรชี้แสดงให้เห็นบริเวณตำแหน่งเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีย้อม (กำลังขยาย 5000 เท่า)



ภาพที่ 5 G-banded karyotype ของสุกรป่าไทยเทศเมีย (38,XX) กำลังขยาย 5000 เท่า



ภาพที่ 6 Giemsa-stained karyotype ของสุกรป่าไทยเพศผู้ (38,XY) ถูกตรึงแสดงให้เห็นบริเวณตำแหน่งเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีย้อม (กำลังขยาย 5000 เท่า)



ภาพที่ 7 G-banded karyotype ของสุกรป่าไทยเพศผู้(38,XY) ลูกศรชี้แสดงให้เห็นบริเวณตำแหน่งเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 10 ที่ไม่ติดสีเขียว (กำลังขยาย 5000 เท่า)

วิจารณ์และสรุปผล

สุกรป่าไทยที่ใช้ศึกษาครั้งนี้ ได้มาจากฟาร์มของเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรป่าเพื่อการค้าไทย คือ นายสุรศักดิ์ วุฒิกุล มีภูมิลำเนาอยู่ที่ ต.ท่าช้าง อ.เมือง จ.จันทบุรี ซึ่งจากการเตรียมโครโมโซมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ลิ้มโฟไซต์ พบว่า สุกรป่ามีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์เท่ากับ 38 ( $2n=38$ ) รูปร่างโครโมโซมในคาริโอไทป์จำแนกได้ 3 ชนิด คือ แบบเมตาเซนตริก(คู่ที่ 10-12) แบบสับเมตาเซนตริก(คู่ที่ 1-9) และแบบอโครเซนตริก(คู่ที่ 13-18) และขนาดของโครโมโซมในคาริโอไทป์แบ่งได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่ม A (มี 1 คู่), กลุ่ม B (มี 6 คู่), กลุ่ม C (มี 8 คู่) และกลุ่ม D (มี 3 คู่)

สุกรป่าไทยมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับสุกรป่าญี่ปุ่นและสุกรป่าจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Moramoto และคณะ, 1965 และ Grzimek, 1972) และแตกต่างจากจำนวนโครโมโซมของสุกรป่าในยุโรป ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 36( $2n=36$ ) (McFee และคณะ, 1966 และ Rary และคณะ, 1968) เมื่อเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทยกับสุกรป่ายุโรป พบว่า สุกรป่าไทยไม่มีโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่เป็นลำดับที่ 2 เหมือนที่พบในสุกรป่ายุโรป จากการรายงานของ Gustavsson และคณะ เมื่อปี 1973 ซึ่งได้ใช้เทคนิคการข้ามแถบโครโมโซมของหมูป่ายุโรปพิสูจน์ว่าโครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่เป็นลำดับที่ 2 (คู่ที่ 2) เกิดมาจากการรวมกันของเซนโตรเมียร์ของโครโมโซมอโครเซนตริก 2 แท่ง คือคู่ที่ 15 และ 17 เข้าด้วยกัน (centric fussion or Robertsonian translocation) แต่โครโมโซมรูปร่างสับเมตาเซนตริกที่มีขนาดใหญ่เป็นลำดับที่ 2 ของสุกรป่าไทย มีลักษณะของแถบแบบจี(G-banding) ค่อนข้างจำเพาะและคล้ายคลึงกับโครโมโซมคู่ที่ 2 ของสุกรพันธุ์มาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของสุกรป่าไทยกับสุกรพันธุ์พบว่ามีจำนวนโครโมโซมและรูปแบบของคาริโอไทป์คล้ายคลึงกันมาก คณะผู้วิจัยจึงมีความเห็นสอดคล้องกับคณะวิจัยของ McFee และ Rary ที่บอกว่าสุกรพันธุ์และสุกรป่ามีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดในสายวิวัฒนาการ(McFee และคณะ, 1966 และ Rary และคณะ, 1968) ในปี ค.ศ.1972 Grzimek ได้กล่าวถึงสุกรป่าญี่ปุ่นและสุกรป่าจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในหนังสือสารานุกรมชีวิตสัตว์ว่าทั้งสองสายพันธุ์นี้มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดแยกออกจากกันในระดับ subspecies ยังสามารถผสมพันธุ์กันได้ เพราะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ( $2n=38$ ) และรูปร่างโครโมโซมแทบจะไม่มี ความแตกต่างกันและสุกรป่าไทยคาดว่าจะก็ควรจะเหมือนเช่นเดียวกับสุกรป่าญี่ปุ่นและสุกรป่าเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

โครโมโซมคู่ที่ 10 ของสุกรป่าไทยมีลักษณะพิเศษคือจะไม่ติดสี่ข้อมบบริเวณรอยคอคอดเซนโตรเมียร์ ซึ่งโครโมโซมคู่นี้พบได้ทั้งสุกรป่าในยุโรปและสุกรพันธุ์ (Eldridge, 1985) อาจจะใช้โครโมโซมคู่นี้เป็นจุดสังเกต (landmark) หรือ marker ของโครโมโซมสุกรได้

ความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นในสุกรชนิดต่างๆมีหลายแบบล้วนแต่มีผลเสียต่อการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์และก่อให้เกิดการสูญเสีย เช่น การแท้ง, ถูกหมุ่ตายหรือเจริญเติบโตช้า เกิดเพศผสมหรือกระเทย (intersex swine) และเป็นหมัน (Lojda, 1975 ; King และคณะ, 1981; Eldridge, 1985) เหล่านี้เป็นต้น ดังนั้นการตรวจสอบโครโมโซมของสุกรที่มีความผิดปกติดังกล่าวสามารถช่วย



ให้คำตอบและหาสาเหตุของความผิดปกติได้ ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่าย การดูแลรักษาและการจัดการในด้านต่างๆ ได้เป็นอย่างดี ซึ่งจะเห็นว่าการศึกษางานโครโมโซมและวิเคราะห์คาริโอไทป์มาตรฐานของสุกรจึงมีความสำคัญและจำเป็นเบื้องต้น ก่อนที่จะนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ ต่อไป

#### เอกสารอ้างอิง

- Diberardino, D., H. Hayes, R. Fries & S. long. 1990. International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals (1989). *Cytogenet. Cell Genet.* 53: 65-79.
- Eldridge, E.F. 1985. *Cytogenetics of Livestock.* pp 219-238. AVI Publishing Company, Inc. Westport.
- Gimenez-Martin, G., Lopez-Saez, J.F.& Monge, F.G. 1962. Somatic chromosomes of the pig. *J. Hered.* 53(6), 281 and 290.
- Gropp, A., Giers, D. & Tattenborn, V. 1969. Chromosomes of wild swine (*Sus scrofa*). *Experientia* 25: 778.
- Grzimek, H.C.B. 1972. *Animal life Encycopedia*, vol.13. Van Nostand Reinhold, New York.
- Gustavsson, I., Hageltorn, M., Zech, L. & Reiland, 1973. Identification of the chromosome in a centric fusion/fission polymorphic system of the pig (*Sus scrofa L.*). *Hereditas* 75, 153-155.
- Hamerton, J.L., 1971. *Human Cytogenetics. Vol.I. General Cytogenetics.* Academic Press. New York.
- King, W.A., Gustavsson, J., Popescu, C.P.& Linares, T. 1981. Gametic products transmitted by rcp(13q - ; 14q+) translocation heterozygous pigs, and resulting embryonic loss. *Hereditas* 95 : 239-246.
- Krallinger. H.F. 1931. Cytological studies on some domestic animals. *Arch. Tierernaehr. Tierz. Abt. B*, 5 : 127-187.
- Lojda, L. 1975. The cytogenetic pattern in pigs with hereditary intersexuality similar to the syndrome of testicular feminization in man. *DOC. Vet. Brno.* 8: 71-82.
- Makino, S., Sasaki, M.S., Sofuni, T. & Ishikawa, T. 1962. Chromosome condition of an intesex swine. *Proc. Jpn. Acad.* 38(9), 686-689.
- McConnell, J., Fechheimer, N.S., and Gilmore, L.O. 1963. Somatic chromosomes of the domestic pig. *J. Anim. Sci.* 22(2), 374-379.
- McFee, A.F., Banner M.W. & Rary, J.M. 1966. Variation in chromosome number among European wild pigs. *Cytogenetics* 5(1-2), 75-81.

- Muramoto, J., Makino, S. & Ishikawa, T. 1965. On the chromosomes of the wild boar and the boarhybrids. Proc. Jpn. Acad. 41(3), 236-239.
- Rary, J.M., Henry, V.G., Matochke, G.H., and Murphree, R.L. 1968. The Cytogenetics of swine in the Tellico wildlife management area, Tenn. J. Hered. 59:22X, 201-204.
- Rittmannsperger, CH. 1971. Chromosome studies on wild and domestic swine. Ann. Genet. Sel. Anim. 3(1), 105(Abstr.).
- Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosome. Lancet 2:971-972.
- Stone, L. 1963. A chromosome analysis of the domestic pig (*Sus scrofa*) utilizing a peripheral blood culture technique. Can. J. Genet. Cytol. 5(1), 38-42.
- Woodsdalek, J.E. 1913. Spermatogenesis of the pig with special reference to the accessory chromosomes. Biol. Bull. 25.8.