



รายงานผลการดำเนินงานโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก
ในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จ. อุบลราชธานี

Cytogenetics and Biodiversity of Amphibians in Patam National Park
Ubon Ratchathani Province

หัวหน้าโครงการ

นาย ถาวร สุภาพรม

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้ร่วมโครงการ

นายแก้ว อุดมสิริชาคร

ได้รับจัดสรรงบประมาณดำเนินงานโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรมจาก

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2548

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณาบดีคณะวิทยาศาสตร์และหัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ และเครื่องมือบางอย่างที่จำเป็นในการวิจัย ขอขอบคุณหัวหน้าอุทยานแห่งชาติผาแต้มและเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้อำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำในการสำรวจและเก็บสัตว์ตัวอย่างในเขตบริเวณอุทยานแห่งชาติผาแต้ม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคุณวันเพ็ญ กาคำผุย คุณชลธิชา จินาพรและคุณกรรณิการ์ ประทุมภักดิ์ ผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยเหลือในห้องปฏิบัติการ รวบรวมข้อมูลและเตรียมต้นฉบับและพิมพ์รายงานวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้ใหญ่บ้าน ชาวบ้านในเขตหมู่บ้านคันท่าเกษม บ้านปากลา และญาติพี่น้องที่ไม่ได้ระบุนามไว้ ณ ที่นี้ ที่ได้อำนวยความสะดวกในการออกสำรวจเก็บตัวอย่าง และช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบริเวณอุทยานแห่งชาติผาแต้ม ทำให้งานวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์และสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญ	๗
สารบัญตาราง	ก
สารบัญรูป	๔
หลักการและเหตุผล	1
วัตถุประสงค์	4
อุปกรณ์และวิธีการ	5
ผลการศึกษา	8
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	27
ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	32
ภาคผนวก	36
บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย	40

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 เกณฑ์การจำแนกรูปร่างโครโมโซมโดยอาศัยค่า CR และ/หรือ CI เพื่อกำหนดตำแหน่งของเซนโตรเมียร์บนโครโมโซม	7
ตารางที่ 2 ชื่อ จำนวนที่เก็บ และสถานภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ที่สำรวจพบทั้ง 17 ชนิด	14
ตารางที่ 3 จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ chromosome marker และคาริโอไทป์ ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก จำนวน 17 ชนิด	16

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด	8
รูปที่ 2 คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (<i>B. melanostictus</i>) เพศเมีย ลูกศรชี้แสดงลักษณะ satellite กำลังขยาย 5,000 เท่า	19
รูปที่ 3 คาริโอไทป์ของอึ่ง 6 ชนิด a) อึ่งน้ำเต้า (<i>M. ornata</i>) เพศเมีย b) อึ่งขาคำ (<i>M. pulchra</i>) เพศเมีย c) อึ่งลาย (<i>C. guttulata</i>) เพศเมีย d) อึ่งอ่างปากขวด (<i>G. molossus</i>) เพศเมีย e) อึ่งอ่างก้นขีด (<i>K. melanostictus</i>) เพศผู้ และ g) อึ่งอ่างบ้าน (<i>K. pulchra</i>) เพศเมีย ลูกศรชี้ตำแหน่งรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)	20
รูปที่ 4 คาริโอไทป์ของกบเขียด 9 ชนิด a) กบนา (<i>H. rugulosus</i>) เพศผู้ b) เขียดอีไม่หิน (<i>Fejervarya</i> sp.) เพศผู้ c) กบหนอง (<i>F. limnocharis</i>) เพศเมีย d) กบบัว (<i>R. erythraea</i>) เพศผู้ e) กบหงอน (<i>L. pileatus</i>) เพศเมีย f) กบอึ่ง (<i>R. nigrovittata</i>) เพศผู้ g) เขียดจะนา (<i>O. lima</i>) เพศเมีย h) เขียดหลังป้อม (<i>O. magnapustulosus</i>) เพศเมีย และ i) กบหลังไหล (<i>R. lateralis</i>) เพศเมีย ลูกศรชี้ตำแหน่งรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)	22
รูปที่ 5 คาริโอไทป์ของปาด (<i>R. leucomystax</i>) เพศเมีย ลูกศรชี้ตำแหน่งรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)	23
รูปที่ 6 G-banded somatic metaphases ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 4 ชนิด a) คางคกบ้าน (<i>B. melanostictus</i>) เพศเมีย b) อึ่งปากขวด (<i>G. molossus</i>) เพศเมีย c) กบหงอน (<i>L. pileatus</i>) เพศผู้ และ d) ปาดบ้าน (<i>R. leucomystax</i>) เพศเมีย โครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีการหดตัวมาก ทำให้การชักนำให้เกิดแถบมืดแถบสว่างบนโครโมโซมด้วยเอนไซม์ทริปซิน เกิดได้ไม่ดี	24
รูปที่ 7 C-banded somatic metaphases ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 4 ชนิด a) อึ่งปากขวด (<i>G. molossus</i>) เพศเมีย b) กบหงอน (<i>L. pileatus</i>) เพศผู้ c) กบหลังไหล (<i>R. lateralis</i>) เพศผู้ และ d) ปาดบ้าน (<i>R. leucomystax</i>) เพศเมีย สัตว์แต่ละชนิดจะมีบริเวณติด C - positive spots และ C - negative spots ในโครโมโซมแตกต่างกัน (ลูกศรชี้)	25

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่

หน้า

- รูปที่ 8 NOR-banded somatic metaphases ที่ย้อมด้วย silver nitrate และย้อมสีจิมซ่า
ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 2 ชนิด a) กบหลังไพล (*R. lateralis*) เพศผู้ และ
b) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย บริเวณที่ติด NOR-positive spots
จะเป็นบริเวณรอยคอด secondary constriction (ลูกศรชี้)

26

หลักการและเหตุผล

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (amphibians) เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังพวกแรก ที่วิวัฒนาการเพื่อที่จะอาศัยอยู่บนบก และเป็นตัวเชื่อมระหว่างสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำกับสัตว์ที่อาศัยอยู่บนบก ทำให้วงจรชีวิตของสัตว์พวกนี้ ช่วงหนึ่งอาศัยอยู่ในน้ำและอีกช่วงหนึ่งอาศัยอยู่บนบก เรียกวงจรชีวิตแบบนี้ว่า biphasic life cycle

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยมีความหลากหลายสูง มีความสำคัญต่อระบบนิเวศและสมดุลของสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ โดยเฉพาะความชุ่มชื้นของระบบนิเวศ สภาพของกลุ่มประชากรสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกสามารถบ่งบอกหรือเตือนล่วงหน้าให้ทราบถึงสถานการณ์ของสิ่งแวดล้อมที่กำลังเสียสมดุลได้ เปรียบเสมือนมาตรวัดสุขภาพของโลก (world health indicator) เพราะมีผิวหนังที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันถึงสองแบบ ดังนั้นเมื่อใดที่สัตว์พวกนี้หายไปจากพื้นที่จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศนั้นได้

ปัจจุบันสถานภาพของสัตว์ในกลุ่มนี้เป็นที่น่าวิตก บางชนิดมีจำนวนลดลงจนอาจสูญพันธุ์ได้ ทั้งนี้เพราะถิ่นอาศัยอยู่ในภาวะวิกฤตเนื่องจากการบุกรุกทำลายป่า การใช้สารเคมี ยาฆ่าแมลงและศัตรูพืช การล่าเพราะความกลัวหรือเกลียดชัง การล่าหรือจับเพื่อการค้าอย่างไร้ขอบเขต ตลอดจนการขาดข้อมูลหรือองค์ความรู้พื้นฐานของสัตว์ในกลุ่มนี้เนื่องจากการละเลยและมองข้ามความสำคัญของกลุ่มนักวิชาการไทยและไม่ได้ทำการศึกษากันคว้าสร้างองค์ความรู้ใหม่ของตัวเองตั้งแต่ต้น ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่เราต้องศึกษาวิจัยสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับสัตว์ในกลุ่มนี้ให้เพียงพอและครบถ้วน เพื่อนำมาประกอบและประยุกต์ใช้ในการอนุรักษ์ การจัดการและการใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม ยั่งยืนและรู้คุณค่าในอนาคต เพื่อตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมต่างๆ ทำให้สิ่งมีชีวิตต้องมีการปรับตัวและมีวิวัฒนาการอยู่ตลอดเวลา ภายใต้พลังการคัดเลือกของธรรมชาติ โดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตคุณสมบัติ และลักษณะเฉพาะของโครโมโซม สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิวัฒนาการ และการจัดจำแนกกลุ่มหรือชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ การศึกษารายละเอียดโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตโดยศึกษาทั้งจำนวนขนาดและรูปร่างแล้วทำการจับคู่โครโมโซมเรียงจากขนาดใหญ่ไปหาเล็ก ที่เรียกว่า คาร์ิโอไทป์ (karyotype) ซึ่งคาร์ิโอไทป์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีลักษณะคงที่ มีจำนวนที่แน่นอน และมีเอกลักษณ์เฉพาะประจำสปีชีส์นั้นๆ ด้วยเหตุนี้จึงสามารถใช้คุณสมบัติและลักษณะดังกล่าวมาใช้ตรวจยืนยันและจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ และยังสามารถนำไปประกอบกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาเพื่อเชื่อมโยงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้ละเอียดมากยิ่งขึ้น เป็นที่ทราบกันดีว่าการขาดข้อมูลและความรู้พื้นฐานที่จะนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการจัดการที่เหมาะสม และวางแผนทางอนุรักษ์ ตลอดจนเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพคุ้มค่าและยั่งยืน นับเป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้จำนวนประชากรในธรรมชาติของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยลดลงเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่

ต้องสนับสนุนการศึกษาในสัตว์กลุ่มนี้ทั้งในเชิงกว้างและลึก เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ของตัวเอง โดยนักวิจัยในประเทศ

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ และความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้มครั้งนี้ ซึ่งเป็นอุทยานแห่งชาติและแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญในจังหวัดอุบลราชธานี โดยเป็นการสำรวจชนิดของสัตว์ในสภาพธรรมชาติ ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับจำนวน ขนาดและรูปร่างของโครโมโซม และคาริโอไทป์ อันจะนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์มากยิ่งขึ้น ข้อมูลที่ได้จึงมีความสำคัญและจำเป็นต่อการจัดจำแนกชนิดและการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

อุทยานแห่งชาติผาแต้ม ได้รับการประกาศเป็นเขตอุทยานแห่งชาติ เมื่อปี พ.ศ. 2534 นับเป็นอุทยานแห่งชาติ ลำดับที่ 74 ของประเทศไทย มีพื้นที่ขนาดใหญ่ ประมาณ 212,500 ไร่ ตั้งอยู่บนแนวเทือกเขาพนมดงรัก ลักษณะทางธรณีวิทยาเป็นภูเขาหินทราย (sand stone) พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสูง มีที่ราบลุ่มตามแนวแม่น้ำโขง อาณาเขตติดต่อกับมณฑลทิสเหนือจกอำเภอเขมรราชู ทิศใต้จกอำเภอบุณฑริก ทิศตะวันออกติดแม่น้ำโขง และทิศตะวันออกจกอำเภอพิบูลมังสาหาร

จากการสำรวจและยืนยันชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย พบว่ามีจำนวน 141 ชนิด กลุ่มที่พบมากที่สุดคือ anurans ได้แก่ กบ เขียด อึ่ง ปาด และคางคก พบว่ามีจำนวนถึง 134 ชนิด กลุ่มที่พบน้อยที่สุดคือ salamanders พบเพียงชนิดเดียวคือ กระต่ายหรือจิ้งจกน้ำคอยอินทนนท์ และมีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พบเฉพาะในประเทศไทยเพียงแห่งเดียวในโลกมากกว่า 10 ชนิด ซึ่งจัดเป็นสัตว์เฉพาะถิ่นของไทย เช่น กบท่าสาร ปาดลายเลอะ คางคกห้วยไทย เป็นต้น (ธัญญา, 2546) สถานภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย แม้จะยังไม่มีรายงานว่ามีสัตว์ชนิดใดสูญพันธุ์ แต่จากการรายงานของจอร์จันด์และวิเชียร (2536) พบว่ามีอยู่ 2 ชนิด ที่จัดอยู่ในสภาพถูกคุกคามจนใกล้ที่จะสูญพันธุ์ คือ กระต่ายหรือจิ้งจกน้ำคอยอินทนนท์หรือจิ้งก้าน้ำ (*Tylototriton verrucosus*) และกบอกหนาม (*Paa fasciculispina*) ผลจากการสำรวจของนักวิจัยชาวไทยและชาวต่างชาติ ทำให้พบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดใหม่ (new species) หลายชนิด ได้แก่ กบชะง่อนผาคอยอินทนนท์ (*Rana archotaphus*) (Inger and Chan-Ard, 1997) อึ่งกรายลายเลอะ (*Leptobrachium smithi*) (Matsui et al, 1999) กบพนมดงรักหรือกบภูจอง (*Limnonectes* sp.) (Supaprom, 2003 และธัญญา, 2546) เขียดอีไม่หิน (*Ferjervarya* sp.) (Supaprom, 2003 และธัญญา, 2546) เป็นต้น แสดงว่ายังมีสัตว์กลุ่มนี้จำนวนมากที่รอการศึกษาและรอการค้นพบ

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย ยังมีน้อยและอยู่ในวงจำกัด จากรายงานของนงลักษณ์ (2518) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตและคาริโอไทป์ของอึ่งอ่าง (*Microhyla ornata*) กบหนอง (*Ferjervarya limnocharis*) และคางคกไทย (*Bufo melanostictus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 24 26 และ 22 ตามลำดับ ถาวรและประภาพร (2533) ได้รายงานข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ ประกอบด้วยจำนวนโครโมโซม รูปร่างโครโมโซม โครงสร้างพิเศษบนโครโมโซมและคาริโอ-

โทปีของอิงอ่างบ้าน (*Kaloula pulchra*) และคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) ที่ละเอียดมากขึ้นพบว่า จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ ของอิงอ่างบ้าน เท่ากับ 28 ($2n=28$) และคางคกบ้านเท่ากับ 22 ($2n=22$) และพบโครงสร้างพิเศษ (chromosome marker) ที่มีลักษณะ satellite บนส่วนปลายสุดของแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 22 ในคางคกบ้านด้วย ต่อมา มีรายงานข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์ในกลุ่มนี้อีกหลายชนิด เช่น เขียดบัว (*Rana erythraea*) กบหนองหรือเขียดอีโม (*F. limnocharis*) (ถาวรและคณะ, 2534) อึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus*) ปาดบ้าน (*Polypedates leucomystax*) (ถาวรและคณะ, 2535a) เขียดเหลือง (*Rana lateralis*) อึ่งแว่น (*Calluella guttulata*) (ถาวรและคณะ, 2535b) กบหงอน (*Limnonectes pileatus*) (ถาวรและคณะ, 2536) อรอนงค์และคณะ (2541) ได้รายงานจำนวนโครโมโซมและคาริโอโทปีของกบ 4 ชนิด ที่เก็บจากเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน คือ กบหงอน (*L. pileatus*) กบหนอง (*F. limnocharis*) กบบัว (*Rana lateralis*) และกบอึ่ง (*Rana nigrovittata*) วรวิติ และคณะ (2541) ได้รายงานศึกษาโครโมโซมเพศในกบบูลูฟร็อก (*Rana catesbeiana*) พบว่าไม่พบ sex chromosome ถาวรและคณะ (2542) ได้รายงานจำนวนโครโมโซมและคาริโอโทปีของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 7 ชนิด ต่อมาถาวรและคณะ (2543) ได้ศึกษาโครโมโซมของกบออกหนามและเขียดหลังปุ่ม จากนั้นถาวร (2545) ได้รายงานผลการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกของไทยจำนวน 33 ชนิด และคำธร (2543) ได้เสนอแนะว่าการวิจัยและศึกษาสัตว์ในกลุ่มนี้ควรทำการศึกษาในเชิงลึกเน้นเฉพาะแต่ละชนิด แต่ละกลุ่มหรือแต่ละแหล่งให้มากขึ้น เพื่อจะได้ข้อมูลที่ละเอียดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง ซึ่งพบว่ารายงานวิจัยในช่วงต่อมา นักวิจัยไทยมักศึกษาสัตว์พวกนี้เฉพาะกลุ่มมากขึ้น เช่น อึ่ง (Supaprom and Baimai, 2002) กบเขียด (Supaprom and Baimai, 2004) และอึ่งกราย (Supaprom Baimai and Chan-Arth, 2006) หรือศึกษาโดยการย้อมแถบโครโมโซม (Supaprom and Baimai, 2005)

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1) เพื่อสำรวจชนิดและถิ่นที่อยู่อาศัยของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม
- 2) เพื่อศึกษาจำนวน รูปร่างของโครโมโซมและคาริโอไทป์ของประชากรสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและจับได้
- 3) วิเคราะห์และเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในแต่ละกลุ่มที่สัมพันธ์กับถิ่นที่อยู่อาศัยเฉพาะ (microhabitat)

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

คณะผู้วิจัยได้ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติในแต่ละฤดู ในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 7 ครั้ง การออกสำรวจและเก็บตัวอย่างทุกครั้ง มีการจดบันทึกข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับ แหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ สถานที่เก็บ วัน เดือน ปี ที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และมีการบันทึกภาพก่อนที่จะนำสัตว์มาเตรียมโครโมโซมจากเซลล์ไขกระดูก ตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั้งหมด ภายหลังจากเตรียมโครโมโซมแล้ว จะถูกคงด้วยแอลกอฮอล์ 95% และเก็บไว้ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์

การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก คณะผู้วิจัยได้ใช้เอกสารตำราของ Taylor (1962) Chan-Ard (1999) และ Frost (2000) เป็นหลักในการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจสอบด้วยตนเองได้หรือกรณีที่มีข้อสงสัย จะนำสัตว์ตัวอย่างไปให้ผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งเป็นนักวิชาการด้านการจำแนกสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (amphibian taxonomist) ที่พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาองค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี ช่วยตรวจสอบชื่อที่ถูกต้อง

การเตรียมโครโมโซมจากเซลล์ไขกระดูก

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทุกชนิด จะถูกนำมาเตรียมโครโมโซมโดยตรงจากเซลล์ไขกระดูกโดยวิธี *in vivo* colcemid treatment ตามวิธีของ ถาวร (2545) ดังนี้

1. ฉีด colcemid ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ประมาณ 0.1 มล./100 กรัม น้ำหนักตัว เข้าที่บริเวณช่องท้อง (intraperitoneal cavity) เพื่อหยุดกระบวนการแบ่งเซลล์ที่ระยะเมตาเฟส (metaphase) ปักย้อมทิ้งไว้ประมาณ 16-18 ชั่วโมง

2. ทำให้สัตว์สลบด้วยอีเทอร์ ตัดเอากระดูกขาหน้าและขาหลัง พยายามตัดเอากล้ามเนื้อออกจากกระดูกให้หมด จากนั้นตัดปลายกระดูกทั้งสองด้านออกด้วยกรรไกร ดันเอาไขกระดูกมาจากโพรงกระดูกด้วยสารละลายเกลือเจือจาง (0.075M KCl) ที่บรรจุในกระบอกฉีดยาที่มีเข็มติดอยู่ บดไขกระดูกในสารละลายเกลือเจือจาง โดยตอนแรกบดไขกระดูกในสารละลายเกลือเจือจางในปริมาณเล็กน้อย

ประมาณ 1 มล. เมื่อไขกระดูกละเอียดดีแล้วจึงเติมสารละลายเกล็ดเลือดจากลงไปให้ได้ปริมาณ 10 มล. ผสมตะกอนเซลล์ให้เข้ากับสารละลายเกล็ดเลือด ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เพื่อให้เซลล์บวม

3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ส่วนที่ใส (supernatant) ทิ้งให้เหลือปริมาตร 1-2 มล. ผสมตะกอนเซลล์ให้เข้ากับสารละลายที่เหลือยู่ (resuspension) ด้วย Pasteur pipette หรือ vortex mixer แล้วตรึงเซลล์ (fix) ด้วยน้ำยา fixative (methanol : acetic acid = 3:1) ที่เตรียมใหม่และเย็นที่ละลายพร้อมกับเขย่าอย่างแรงด้วย vortex mixer เติมน้ำยา fixative จนได้ปริมาตร 5 มล. ขั้นตอนนี้จะต้องทำการ resuspension ตะกอนให้ดีก่อนหยดน้ำยา fixative มิฉะนั้นเมื่อหยดน้ำยา fixative เซลล์จะเกาะกลุ่มกัน ซึ่งอาจจะทำให้การเตรียมโครโมโซมประสบความสำเร็จได้

4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ส่วนที่ใสทิ้ง เติมน้ำยา fixative ใหม่ ทำตามขั้นตอนในข้อ 3 ซ้ำอย่างน้อย 2-3 ครั้ง เพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด จนกระทั่งได้ตะกอนเซลล์สีขาวที่ก้นหลอด ในการปั่นเหวี่ยงครั้งสุดท้ายให้เติมน้ำยา fixative เก้าออกจนหมด เติมน้ำยา fixative ใหม่ลงไปประมาณ 1-2 มล. ขึ้นกับปริมาณตะกอนเซลล์ที่ได้ แล้วนำไปเตรียมโครโมโซมบนสไลด์ ถ้าหากจะเก็บตะกอนไว้ให้ปิดฝาหลอดให้แน่นหรือปิดปากหลอดด้วยพาราฟิล์ม (parafilm) หนาหลายชั้น จากนั้นจึงนำไปเก็บในตู้เย็นช่องแช่แข็ง

การเตรียมโครโมโซมบนสไลด์

ก่อนเตรียมโครโมโซมบนสไลด์ให้ resuspension ตะกอนให้เข้ากับน้ำยา fixative อย่างดี หยดสารละลายตะกอนที่เตรียมได้ลงบนสไลด์ที่สะอาดและเย็น โดยหยดให้สูงจากสไลด์ประมาณ 2-3 ฟุต เพื่อให้โครโมโซมกระจายตัวดี วางสไลด์ลงบนถาดความร้อน (hot plate) หรือผ่านเปลวไฟเพื่อให้โครโมโซมมีความคงตัว (aging) ในการเตรียมสไลด์สัตว์ตัวอย่าง 1 ตัว อาจจะต้องเตรียมสไลด์ 3-4 แผ่นเพื่อนำไปย้อมสีและย้อมแถบโครโมโซมแบบต่าง ๆ

การย้อมสีและย้อมแถบโครโมโซม

สไลด์ที่เตรียมได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกจะนำไปย้อมสี Giemsa แบบ conventional staining โดยย้อมโครโมโซมด้วยสีจิมซ่า 15% ในสารละลาย phosphate buffer pH 6.8 นาน 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำสะอาด ปล่อยให้แห้ง (air dry) อีกกลุ่มหนึ่งจะนำไปย้อมแถบโครโมโซมแบบต่าง ๆ เช่น แบบซี (C-banding : constitutive heterochromatin banding) แบบเอ็นโออาร์ (NOR-banding : nucleolar organizer region banding) แบบจี (G-banding : Giemsa banding) โดยการย้อมแถบแบบซี คัดแปลงตามวิธี

ของ Sumner (1972) แบบเอ็น โออาร์ดัดแปลงตามวิธีของ Goodpasture and Bloom (1975) แบบจี ดัดแปลงตามวิธีของ Seabright (1971) (ภาคผนวก)

การวิเคราะห์โครโมโซมและการจัดทำคาริโอไทป์

การวิเคราะห์โครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำโดยคัดเลือกและตรวจนับเมตาเฟส ที่มีสภาพดี ขนาดของโครโมโซมไม่สั้นหรือยาวเกินไป มีการกระจายตัวดีไม่ซ้อนทับกัน ประมาณอย่างน้อย 25 เมตาเฟสต่อสไลด์ตัวอย่าง 1 ตัว เลือกเมตาเฟสที่มีคุณภาพคืออย่างน้อย 10 เมตาเฟส เพื่อถ่ายภาพ อัดขยายภาพ จากนั้นวัดขนาดและความยาวของโครโมโซมเพื่อคำนวณหาค่า relative length (RL) และค่า centromeric ratio (CR) แล้วนำค่าทั้งสองมาใช้จำแนกรูปร่างของโครโมโซม ตามวิธี Green and Sessions (1991) (ตารางที่ 1) แล้วจัดทำคาริโอไทป์

ตารางที่ 1 เกณฑ์การจำแนกรูปร่างโครโมโซมโดยอาศัยค่า CR และ/หรือ CI เพื่อกำหนดตำแหน่งของเซนโตรเมียร์บนโครโมโซม

Chromosome Type	Abbreviation	Centromeric Ratio (CR) ¹	Centromeric Index (CI) ²
metacentric	m	1.00-1.67	0.500-0.375
submetacentric	sm	1.68-3.00	0.374-0.250
subtelocentric (acrocentric)	st (ac)	3.01-7.00	0.249-0.125
telocentric	t	7.01-∞	0.124-0.000

หมายเหตุ : centromeric ratio (CR) หรือ arm ratio

¹ อัตราส่วนของความยาวของแขนยาว (q) ต่อความยาวของแขนสั้น (p) ของโครโมโซมแต่ละแท่ง

² อัตราส่วนของความยาวของแขนสั้นต่อความยาวทั้งหมดของโครโมโซม

ผลการศึกษา

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเขตอุทยานแห่งชาติผาแต้ม จังหวัดอุบลราชธานี รวม 7 ครั้ง คณะผู้วิจัยสามารถจับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกได้ทั้งสิ้นจำนวน 17 ชนิด รวมทั้งหมด 514 ตัว จำแนกเป็น 1 ออร์เดอร์ (order) 4 แฟมิลี (family) 11 จีนัส (genus) 17 สปีชีส์ (species) (รูปที่ 1 และตารางที่ 2) และสามารถนับจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (diploid chromosome number) วิเคราะห์รูปร่างโครโมโซม และจัดทำคาริโอไทป์ได้ทั้ง 17 ชนิด (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดมีขนาดเล็ก ทำให้ประสบการณ์ยากลำบากในการเตรียมโครโมโซมและต้องใช้จำนวนสัตว์ตัวอย่างหลายตัว



คางคกบ้าน (black – spined toad) : *Bufo melanostictus* Schneider, 1799



อึ่งน้ำเต้า (ornate chorus frog) : *Microhyla ornata* (Dumeril & Bibron, 1841)

รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด



อึ่งขาคำ หรือ อึ่งหลังจั่ว (painted chorus frog) : *Microhyla pulchra* (Hallowell, 1861)

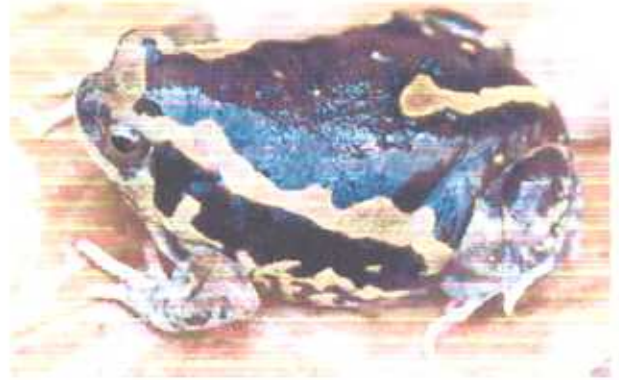


อึ่งลาย หรือ อึ่งแว่น (striped spadefoot frog) : *Calluella guttulata* (Blyth, 1855)



อึ่งปากขวด หรือ อึ่งเพ้า (truncate – snouted burrowing frog) : *Glyphoglossus molossus* Gunther, 1869

รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด (ต่อ)



อึ่งอ่างก้นขีด (median – striped bullfrog) : *Kaloula mediolineata* (Smith, 1917)



อึ่งอ่างบ้าน (painted bullfrog) : *Kaloula pulchra* Gray, 1831

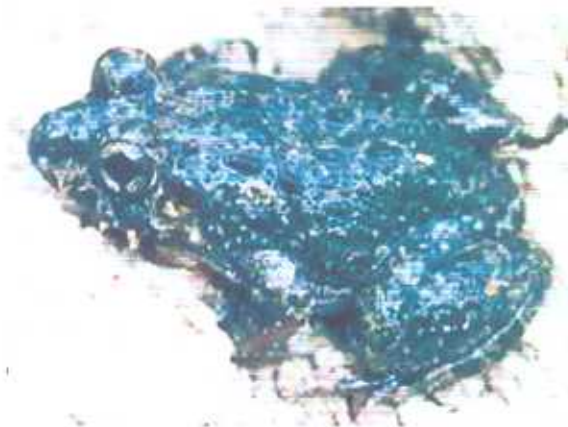


กบหลังไพล หรือ เขียดเหลือง (yellow frog) : *Rana lateralis* Boulenger, 1887

รูปที่ 1 ตัวสะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด (ต่อ)



กบนา (rugose frog) : *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1835)



เขียดอีไม่หิน (sandstone frog) : *Fejervarya* sp.



กบหนอง หรือ เขียดอีไม่นา (rice field frog) : *Fejervarya limnocharis* (Gravenhorst, 1829)

รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด (ต่อ)



กบบัว หรือ เขียดจิก (green – backed frog) : *Rana erythraea* (Schlegel, 1837)

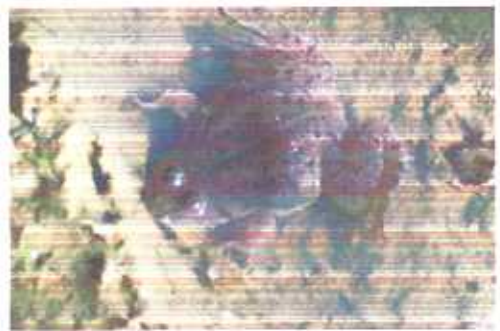


กบหงอน หรือ กบจุก (capped frog) : *Limnonectes pileatus* (Boulenger, 1916)



กบอ่องเล็ก หรือ เขียดเห้งเจ้า (dark - sided frog) : *Rana nigrovittata* (Blyth, 1856)

รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด (ต่อ)



เจียดจะนา (common paddle frog) : *Occidozyga lima* (Gravenhorst, 1829)



เจียดหงษ์ (pearl – tipped pustuled puddle frog) : *Occidozyga magnapustulosus* (Taylor & Elbel, 1958)



ปาดบ้าน (common tree frog) : *Polypedates leucomystax* (Gravenhorst, 1829)

รูปที่ 1 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบและทำการศึกษาจำนวน 17 ชนิด (ต่อ)

ตารางที่ 2 ชื่อ จำนวนที่เก็บ และสถานภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบทั้ง 17 ชนิด

Order	Family	Species	จำนวนที่เก็บ (ตัว)	สถานภาพ
Anura	Bufonidae	1. คางคกบ้าน (<i>Bufo melanostictus</i>)	13	พบบานกลาง
	Microhylidae	1. อึ่งน้ำเต้า (<i>Microhyla ornata</i>)	81	พบบาก
		2. อึ่งขาคำ (<i>Microhyla pulchra</i>)	28	พบบาก
		3. อึ่งลาย (<i>Callueta guttulata</i>)	49	พบบาก
		4. อึ่งปากขวด (<i>Glyphoglossus molossus</i>)	58	พบบาก
		5. อึ่งอ่างก้นขีด (<i>Kaloula medilineata</i>)	69	พบบาก
		6. อึ่งอ่างบ้าน (<i>Kaloula pulchra</i>)	25	พบบาก
	Ranidae	1. กบนา (<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>)	11	พบบานกลาง
		2. เขียดอีไม่หิน (<i>Fejervarya</i> sp.)	47	พบบาก
		3. กบหนอง (<i>Limnonectes limnocharis</i>)	27	พบบาก
		4. กบบัว (<i>Rana erythraea</i>)	1	พบบาก
		5. กบหงอน (<i>Limnonectes pileatus</i>)	12	พบบานกลาง
		6. กบอ่อง (<i>Rana nigrovittata</i>)	32	พบบาก
		7. เขียดจะนา (<i>Occidozyga lima</i>)	15	พบบาก
		8. เขียดหลังปุ่ม (<i>Occidozyga magnapustulosus</i>)	20	พบบาก
		9. กบหลังไพล (<i>Rana lateralis</i>)	7	พบน้อย
	Rhacophoridae	1. ปาดบ้าน (<i>Rhacophorus leucomystax</i>)	23	พบบานกลาง
รวม ทั้งหมด	4 Family	17 Species	514 ตัว	

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจพบมากที่สุด คือ กบเขียด (ranid frogs) พบทั้งหมด 9 ชนิด ในจำนวนนี้มีเขียดอีโมห์หรือกบอีโมห์ (*Fejervarya* sp.) เป็นชนิดที่ยังไม่เคยมีรายงานการแพร่กระจายว่า พบที่อุทยานแห่งชาติผาแต้มมาก่อน และพบว่ากบหลังไหล (*Rana lateralis*) เป็นชนิดที่สำรวจพบน้อยที่สุด สำหรับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่สำรวจไม่พบคือ กะท่าง (salamander) อึ่งกราย (megophryid frogs) และ เขียดงู (caecilian) และในจำนวนสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พบมากที่สุด คณะผู้วิจัยสำรวจพบพวกคางคก (bufonid frogs) เพียง 1 ชนิด จากที่มีอยู่ทั้งหมด 9 ชนิดในประเทศ สำรวจพบพวกอึ่ง (microhylid frogs) 6 ชนิด จากที่มีอยู่ในประเทศทั้งหมด 15 ชนิด สถานภาพของสัตว์กลุ่มนี้ยังพบเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะ อึ่งอ่างก้นขีด (*K. mediolineata*) อึ่งอ่างบ้าน (*K. pulchra*) อึ่งลาย (*C. guttulata*) และอึ่งปากขวด (*G. molossus*) และสำรวจพบพวกปาด (tree frogs) เพียง 1 ชนิด จากทั้งหมด 27 ชนิดที่มีอยู่ในประเทศ เนื่องจากสัตว์กลุ่มนี้มีถิ่นที่อยู่อาศัยอยู่บนต้นไม้จึงสำรวจได้ลำบาก

จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก จำนวน 17 ชนิด แบ่งได้ 4 แบบ คือ แบบ $2n = 22$ พบในคางคก แบบ $2n = 24$ พบในอึ่งน้ำเต้า (*M. ornata*) อึ่งขาคำ (*M. pulchra*) แบบ $2n = 26$ พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกพวกที่เหลือทั้งหมด โดยเฉพาะกบเขียด และแบบ $2n = 28$ พบในอึ่งอ่างก้นขีด (*K. mediolineata*) และอึ่งอ่างบ้าน (*K. pulchra*) ส่วนรูปร่างโครโมโซมที่พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั้ง 17 ชนิด พบว่ามี 3 แบบ คือ แบบเมตาเซนตริก และสับเมตาเซนตริกเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด และแบบสับทีโลเซนตริกพบน้อยที่สุด โดยพบในพวกกบเขียดบางชนิดและปาดบ้าน แต่ในพวกอึ่งไม่พบรูปร่างโครโมโซมแบบนี้ โครงสร้างพิเศษบนโครโมโซม หรือ chromosome marker ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นรอยคอด secondary constriction พบ chromosome marker ที่มีลักษณะเป็นดิ่งขนาดเล็ก (satellite) ยื่นออกมาจากแขนโครโมโซมในคางคกบ้าน (*B. melanostictus*) และ เขียดหลังป้อม (*O. magnapustulosus*) เท่านั้น รอยคอด secondary constriction เป็นบริเวณที่ย้อมไม่ติดสี Giemsa ทำให้มองเห็นคล้ายช่องว่าง (gap) ความกว้างของช่องว่างนี้มีความผันแปรตามระดับการหดตัวของโครโมโซม (chromosome condensation) และอาจจะไม่พบหรือไม่สามารถสังเกตเห็นในบางเซลล์หากโครโมโซมมีการหดตัวมากเกินไป และในโครโมโซมที่เป็นคู่กัน (homologous chromosome) จะพบรอยคอดนี้เหมือนกัน ซึ่งความกว้างของรอยคอดอาจจะเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้ ตำแหน่งรอยคอด secondary constriction ส่วนใหญ่จะเป็นตำแหน่งเดียวกับตำแหน่ง nucleolar organizer region ซึ่งสามารถตรวจสอบตำแหน่งนี้ได้โดยการย้อมแถบโครโมโซมแบบเอ็นไออาร์ โครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั้ง 17 ชนิด พบว่ามีเพียง 3 ชนิดเท่านั้นที่ไม่พบรอยคอด secondary constriction คือ อึ่งน้ำเต้า (*M. ornata*) เขียดอีโมห์ (*Fejervarya* sp.) และเขียดจะนา (*O. lima*) อีก 15 ชนิดจะพบตำแหน่งนี้ โดยส่วนใหญ่จะพบในโครโมโซมเพียงคู่เดียว แต่ก็มีหลายชนิดที่พบตำแหน่งนี้ในโครโมโซมมากกว่า 1 คู่ เช่น ปาดบ้านพบ 3 ตำแหน่ง อึ่งลายพบ 2 ตำแหน่ง ตำแหน่งที่พบ chromosome marker ในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันเป็นส่วนใหญ่ จึงสามารถใช้ตำแหน่งนี้เป็นจุดสังเกต (landmark) หรือเครื่องหมาย (marker) ที่ใช้ประกอบในการระบุชนิดของสัตว์แต่ละชนิดได้

ตารางที่ 3 จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ chromosome marker และคาริโอไทป์ ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก จำนวน 17 ชนิด (p=short arm ; q=long arm ; sat=satellite ; ter= terminal)

Common name and scientific name	2n	Karyotype and chromosome shapes
1. คางคกบ้าน (<i>Bufo melanostictus</i>)	22	Metacentric : 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11 Submetacentric : 4, 8 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : sat. on 11p
2. อึ่งน้ำเต้า (<i>Microhyla ornata</i>)	24	Metacentric : 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 Submetacentric : 2, 10, 12 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : -
3. อึ่งขาค้ำ (<i>Microhyla pulchra</i>)	24	Metacentric : 1, 5, 6, 9, 11, 12 Submetacentric : 2, 3, 4, 7, 8, 10 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 9q
4. อึ่งลาย (<i>Calluella guttulata</i>)	26	Metacentric : 1, 2, 5, 7, 8, 9, 11, 13 Submetacentric : 3, 4, 6, 10, 12 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 6q, 7p
5. อึ่งปากขวด (<i>Glyphoglossus molossus</i>)	26	Metacentric : 1, 2, 5, 7, 8, 10, 13 Submetacentric : 3, 4, 6, 9, 11, 12 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 6q

ตารางที่ 3 (ต่อ)

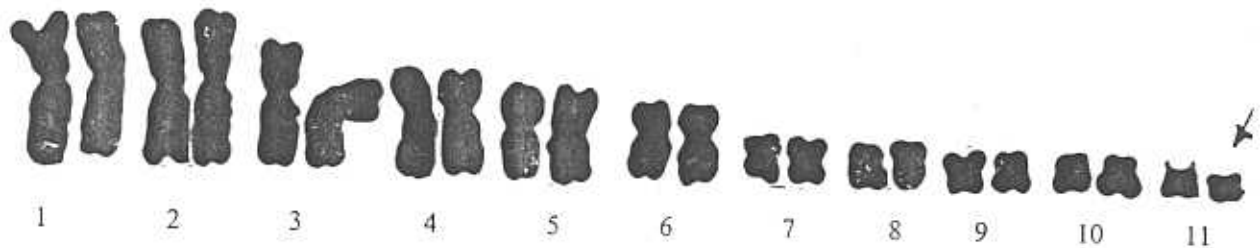
Common name and scientific name	2n	Karyotype and chromosome shapes
6. อึ่งอ่างก้นขีด (<i>Kaloula mediotineata</i>)	28	Metacentric : 1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 14 Submetacentric : 3, 6, 8, 10, 12, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 6q
7. อึ่งอ่างบ้าน (<i>Kaloula pulchra</i>)	28	Metacentric : 1, 2, 4, 6, 9, 10, 11, 14 Submetacentric : 3, 5, 7, 8, 12, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 5q
8. กบนา (<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>)	26	Metacentric : 1, 5, 8, 10, 12, 13 Submetacentric : 2, 3, 4, 6, 7, 9, 11 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 6q
9. เขียดอีโม้หิน (<i>Fejervarya</i> sp.)	26	Metacentric : 1, 2, 5, 6, 10, 11, 12, 13 Submetacentric : 3, 4, 7, 8, 9 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : -
10. กบหนอง (<i>Limnonectes limnocharis</i>)	26	Metacentric : 1, 9, 10, 12, 13 Submetacentric : 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 8p
11. กบบัว (<i>Rana erythraea</i>)	26	Metacentric : 1, 4, 5, 6, 7, 9, 12 Submetacentric : 2, 3, 8, 10, 11, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 10q

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Common name and scientific name	2n	Karyotype and chromosome shapes
12. กบหนอง (<i>Limnonectes pileatus</i>)	26	Metacentric : 1, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13 Submetacentric : 2, 3, 4, 8, 9 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 9q
13. กบอ่อง (<i>Rana nigrovittata</i>)	26	Metacentric : 1, 4, 5, 6, 7 Submetacentric : 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 11q
14. เขียดจระนา (<i>Occidozyga lima</i>)	26	Metacentric : 1, 5, 6, 7, 10, 11 Submetacentric : 2, 3, 4, 8, 9, 12, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : -
15. เขียดหลังปุ่ม (<i>Occidozyga magnapustulosus</i>)	26	Metacentric : 1, 5, 6, 10, 11, 12, 13 Submetacentric : 2, 3, 4, 7, 8, 9 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 3qter
16. กบหลังไพล (<i>Rana lateralis</i>)	26	Metacentric : 1, 4, 5, 6, 7, 8 Submetacentric : 2, 3, 9, 10, 11, 12, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 10q
17. ปาดบ้าน (<i>Polypedates leucomystax</i>)	26	Metacentric : 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 Submetacentric : 3, 6, 13 Subtelocentric : - Telocentric : - Marker chromosome : 6q, 8p, 12p

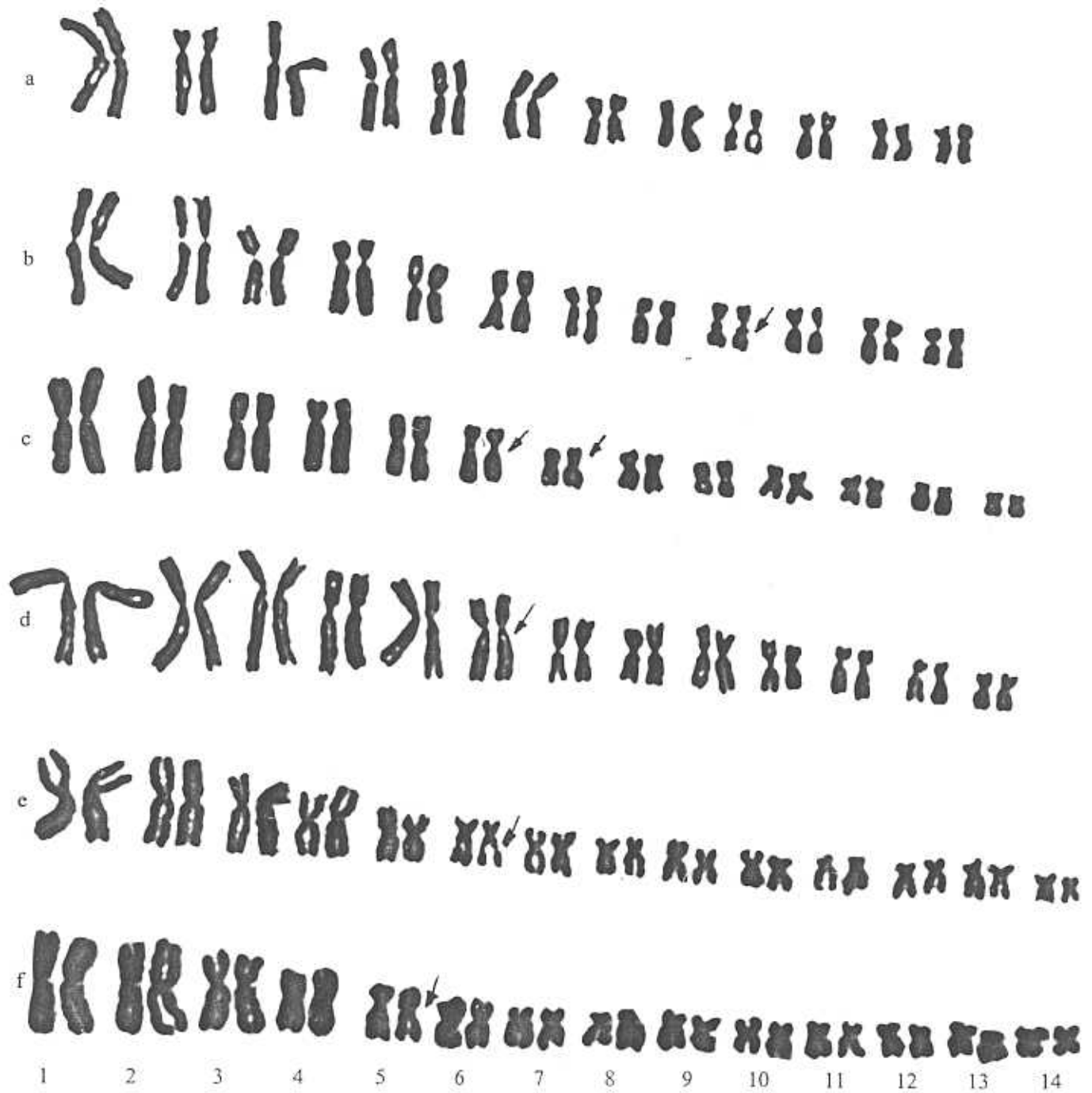
คาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั้ง 17 ชนิด จะเป็นแบบ asymmetric karyotype กล่าวคือ รูปร่างของโครโมโซมภายในคาริโอไทป์จะมีหลายแบบ ขนาดของโครโมโซมจะเรียงลดหลั่นกันไปจากขนาดใหญ่จนถึงขนาดเล็กตามค่า relative length จากมากไปหาน้อย

คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน ($2n=22$) (รูปที่ 2) มีสูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $6 + 5$ karyotype ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ (คู่ที่ 1 ถึง 6) และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 5 คู่ รูปร่างโครโมโซมในคาริโอไทป์มี 2 แบบ คือ เมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริกเท่านั้น พบ chromosome marker มีลักษณะเป็น satellite บนปลายแขนสั้นของโครโมโซม คู่ที่ 11 ซึ่งเป็นเอกลักษณ์และลักษณะพิเศษของคางคกชนิดนี้



รูปที่ 2 คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน (*B. melanostictus*) เพศเมีย ลูกศรชี้แสดงลักษณะ satellite
กำลังขยาย 5,000 เท่า

คาริโอไทป์ของอีก 6 ชนิด (รูปที่ 3) พวกนี้มีจำนวนโครโมโซมผันแปรตั้งแต่ $2n = 24$ ถึง 28 และมีสูตรคาริโอไทป์แตกต่างกันหลายแบบ ในอ่างน้ำจืดและอ่างน้ำจืดจะพบ $2n=28$ สูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $5 + 9$ karyotype ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 5 คู่ (คู่ที่ 1 ถึง 5) และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 9 คู่ ในอ่างน้ำจืด และอ่างน้ำจืดจะพบ $2n=26$ สูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $6 + 7$ karyotype ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 7 คู่ และในอ่างน้ำจืดและอ่างน้ำจืดจะพบ $2n=24$ สูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $6 + 6$ karyotype ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 6 คู่ พบ chromosome marker ที่เป็นลักษณะรอยคอด secondary constriction ในอ่าง 5 ชนิด ยกเว้นในอ่างน้ำจืดจะไม่พบรอยคอด secondary structure แต่ในอ่างน้ำจืดจะเห็น chromosome marker 2 ตำแหน่ง คือ บนโครโมโซมคู่ที่ 6 และ 7 และในอ่างน้ำจืดตำแหน่ง chromosome marker บนโครโมโซมคู่ที่ 6 จะคล้ายคลึงกับของอ่างน้ำจืดมาก แต่พบเฉพาะบนโครโมโซมคู่ที่ 6 นี้เท่านั้น



รูปที่ 3 คาร์ิโอไทป์ของฉี่ง 6 ชนิด a) ฉี่งน้ำเต้า (*M. ornata*) เพศเมีย b) ฉี่งขาคำ (*M. pulchra*) เพศเมีย c) ฉี่งลาย (*C. guttulata*) เพศเมีย d) ฉี่งอังกาบขาว (*G. molossus*) เพศเมีย e) ฉี่งอังกาบดำ (*K. melanostictus*) เพศผู้ และ f) ฉี่งอังกาบ (*K. pulchra*) เพศเมีย ถูกตรึงตำแหน่งรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

คาริโอไทป์ของกบเขียวทั้ง 9 ชนิด ($2n=26$) (รูปที่ 4) มีสูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $5 + 8$ karyotype มีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 5 คู่ (คู่ที่ 1 ถึง 5) และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 8 คู่ ไม่พบ chromosome marker ในเขียดจระนา และเขียดอีโม่หินเท่านั้น ที่เหลืออีก 7 ชนิดจะพบ chromosome marker ที่เป็นลักษณะรอยคอด secondary constriction ยกเว้นในเขียดหลังไม่พบจะเห็น chromosome marker ที่เป็นลักษณะปุ่มเล็ก ๆ (knob-like structure) บนปลายแขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 3 ตำแหน่งของ chromosome marker และรูปร่างของโครโมโซมภายในคาริโอไทป์จะสามารถใช้ระบุชนิดและบอกความแตกต่างของกบเขียวแต่ละชนิดได้ กบหนองหรือเขียดอีโม่นากับเขียดอีโม่หินจะมีลักษณะภายนอก (morphological characters) รวมทั้งเสียงร้องคล้ายคลึงกันมาก แต่จะมีคาริโอไทป์แตกต่างกัน

คาริโอไทป์ของปาดบ้าน ($2n=26$) (รูปที่ 5) มีสูตรคาริโอไทป์เป็นแบบ $6 + 7$ karyotype ประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ (คู่ที่ 1 ถึง 6) และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 7 คู่ พบ chromosome marker ที่เป็นลักษณะรอยคอด secondary constriction ในปาดชนิดนี้ถึง 3 คู่ โดยเฉพาะที่แขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 6 จะเห็นตำแหน่งนี้เป็นช่องว่างที่กว้างมาก



รูปที่ 4 คาร์ิโอไทป์ของกบเขียด 9 ชนิด a) กบนา (*H. rugulosus*) เพศผู้ b) เขียดอีไม่หิน (*Fejervarya* sp.) เพศผู้ c) กบหนอง (*F. limnocharis*) เพศเมีย d) กบบัว (*R. erythraea*) เพศผู้ e) กบหงอน (*L. pileatus*) เพศเมีย f) กบอ่อง (*R. nigrovittata*) เพศผู้ g) เขียดจระนา (*O. lima*) เพศเมีย h) เขียดหลังปุ่น (*O. magnapustulosus*) เพศเมีย และ i) กบหลังไพล (*R. lateralis*) เพศเมีย ถูกสรุชื่อดำเนินการรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)



รูปที่ 5 คาร์ิโอไทป์ของปลา (*R. leucomystax*) เพศเมีย ลูกศรชี้ตำแหน่งรอยคอด secondary constriction (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

การย้อมแถบแบบจี (G-banding) ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (รูปที่ 6) ยังได้คุณภาพแถบ (band) ไม่ชัดเจน ทั้งนี้เพราะโครโมโซมมีการหดตัวมากเกินไป (high condensation) ทำให้การย้อมเพื่อชักนำให้เกิดแถบบนโครโมโซมด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) เกิดได้ไม่ดี ความแตกต่างหรือการแยกแถบมืด (dark band) และแถบสว่าง (light band) เห็นไม่ชัดเจน ใน कांगคกบ้าน (รูปที่ 6a) อังปากขวด (รูปที่ 6b) กบหงอน (รูปที่ 6c) และปลาบ้าน (รูปที่ 6d) โครโมโซมที่ยังหดตัวไม่มากการชักนำให้เกิดแถบจะเกิดได้ง่ายกว่า เมื่อตอนโครโมโซมหดตัวมาก และเมื่อย้อมแถบโครโมโซมแบบซี (C-banding) (รูปที่ 7) ตำแหน่งที่ติด C-positive บนโครโมโซมมี 3 บริเวณ คือ ตำแหน่งเซนโตเมียร์ (centromeric) ตำแหน่งปลายสุดของแขนโครโมโซม (telomeric) และตำแหน่งภายในแขนของโครโมโซม (interstitial) รูปแบบของ C-positive บนโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน และยังพบ C-band heterochromatin บนโครโมโซมต่างคู่กัน ในอังปากขวดพบที่แขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 6 และยังพบที่แขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 8 ของอังปากขวดคิ้ว (รูปที่ 7a) กบหงอนพบที่แขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 (รูปที่ 7b) กบหลังไหลพบที่แขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 2 (รูปที่ 7c) และในปลาบ้านพบในโครโมโซมคู่ที่ 6 (รูปที่ 7d) ส่วนการย้อมแถบแบบเอ็นโออาร์ (NOR-banding) (รูปที่ 8) ยังไม่ประสบความสำเร็จมากนัก ในกบหลังไหล และ ปลาบ้าน เห็น Ag spot หรือ NOR-positive บนโครโมโซมตรงตำแหน่งเดียวกันกับที่ปรากฏรอยคอด secondary constriction จึงเป็นการยืนยันว่า บริเวณ NOR กับรอยคอด secondary constriction มักจะเป็นตำแหน่งเดียวกัน



a) คางคกบ้าน (*B. melanostictus*) เพศเมีย



b) อึ่งปากขวด (*G. molossus*) เพศเมีย



c) กบหนอง (*L. pileatus*) เพศผู้ และ



d) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย

รูปที่ 6 G-banded somatic metaphases ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 4 ชนิด

a) คางคกบ้าน (*B. melanostictus*) เพศเมีย b) อึ่งปากขวด (*G. molossus*) เพศเมีย

c) กบหนอง (*L. pileatus*) เพศผู้ และ d) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย

โครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีการหดตัวมาก ทำให้การชักนำให้เกิดแถบมืดแถบสว่างบนโครโมโซมด้วยเอนไซม์ทริปซินเกิดได้ไม่ดี



a) อึ่งปากขวด (*G. molossus*) เพศเมีย



b) กบหนอง (*L. pileatus*) เพศผู้



c) กบหลังไหล (*R. lateralis*) เพศผู้



d) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย

รูปที่ 7 C-banded somatic metaphases ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 4 ชนิด

a) อึ่งปากขวด (*G. molossus*) เพศเมีย b) กบหนอง (*L. pileatus*) เพศผู้

c) กบหลังไหล (*R. lateralis*) เพศผู้ และ d) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย

สัตว์แต่ละชนิดจะมีบริเวณติด C - positive spots และ C - negative spots ในโครโมโซม

แตกต่างกัน (ลูกศรชี้) ซึ่งสามารถใช้ตำแหน่งดังกล่าวบอกเอกลักษณ์ของสัตว์แต่ละชนิดได้



a) กบหลังไหล (*R. lateralis*) เพศผู้



b) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย

รูปที่ 8 NOR-banded somatic metaphases ที่ย้อมด้วย silver nitrate และย้อมสีจิมซ่าของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 2 ชนิด a) กบหลังไหล (*R. lateralis*) เพศผู้ และ b) ปาดบ้าน (*R. leucomystax*) เพศเมีย บริเวณที่ติด NOR-positive spots จะเป็นบริเวณรอยคอด secondary constriction (ลูกศรชี้) ที่ทำหน้าที่สร้าง ribosome RNA และ nucleous

สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการสำรวจอย่างจริงจัง และกว้างขวางมากขึ้นของนักวิชาการทั้งชาวไทย และชาวต่างชาติ ทำให้มีการค้นพบจำนวนชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศเพิ่มมากขึ้น เป็นลำดับ จากเดิมมีรายงานพบ 100 ชนิด (Taylor, 1962) 106 ชนิด (จารุจินต์ และวิเชียร, 2536) 105 ชนิด (Chan-Ard et al., 1999) 130 ชนิด (Khonsue and Thirakhupt, 2001) และล่าสุดมีรายงานว่าพบมากขึ้นถึง 141 ชนิด (ธัญญา, 2546) จำนวนชนิดที่เพิ่มขึ้นมีทั้งเป็นชนิดใหม่ที่เพิ่งค้นพบ (new species) เช่น กบชะง่อนผาดอยอินทนนท์ (*Rana archotaphus*) (Inger and Chan-Ard, 1997) คางคกหัวอินทนนท์ (*Ansonia inthanon*) (Matsui et al., 1998), ปาดจุดฟ้า (*Rhacophorus cyanopunctatus*) (Manthey and Steiof, 1998) และ อึ่งกรายลายเลอะ (*Leptobrachium smithi*) (Matsui et al., 1999) กบพนมคงรักหรือกบภูเขา (*Limnonectes* sp.) และ เขียดอีไม่หิน (*Fejervarya* sp.) (ธัญญา, 2546 และ Supaprom, 2003) และได้รวมเอากบต่างประเทศที่นำเข้ามาเพาะเลี้ยงเป็นฟาร์มเพื่อการค้า เช่น กบบูลฟร็อก (*Rana catesbeiana*) เข้าไว้ด้วย ในการวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้สำรวจพบเขียด 1 ชนิด ที่เป็นการรายงานเขตกการแพร่กระจายพันธุ์ในอุทยานแห่งชาติผาแต้มเป็นครั้งแรก คือ เขียดอีไม่หิน (*Fejervarya* sp.) จากเดิมที่เคยมีรายงานว่าพบที่เขตนอุทยานภูสิงห์-ภูผาผึ้ง อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ สัตว์ชนิดนี้ได้รับการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ โดยนักวิชาการกองวิจัยธรรมชาติวิทยา พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติโดยตั้งชื่อสามัญเป็นภาษาไทยว่า กบอีไม่หินหรือเขียดอีไม่หิน (sandstone frog) (ธัญญา, 2546) และตัวอย่างสัตว์ส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่นั่นด้วย กำนร (2543) ได้รายงานว่ามิสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกไม่น้อยกว่า 34 ชนิด มีข้อมูลด้านอนุกรมวิธานไม่ครบถ้วนชัดเจน จะต้องมีการจัดจำแนกให้ถูกต้อง ในรายงานวิจัยฉบับนี้ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ตามพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ การเน้นศึกษารายละเอียดเฉพาะกลุ่มหรือเฉพาะแหล่งทำให้สถานการณ์ภาพความรู้ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศดีขึ้น แม้กระนั้นก็ยังมิมีต่ำกว่า 41 ชนิด ที่มีข้อมูลด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาน้อยมากหรือไม่มีเลย (กำนร, 2543) และพบว่ามิหลายชนิดที่ยังมิรู้สถานการณ์และยังมิมีข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ที่ครบถ้วนสมบูรณ์ แต่สัตว์ชนิดดังกล่าวมีความล่อแหลมที่จำนวนประชากรในธรรมชาติลดลงจนน่าเป็นห่วงและมีความเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์ เช่น กบหลังไพล (*Rana lateralis*) เป็นต้น

จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกของไทย มีตั้งแต่ $2n = 22$ ถึง 28 คณะผู้วิจัยมิพบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกของไทยที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบ polyploid เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Kuramoto (1990) พบว่า จำนวนโครโมโซมของคางคกบ้าน ($2n = 22$) อึ่งอ่างบ้าน ($2n = 28$) อึ่งน้ำเต้า ($2n = 24$) เขียดจะนา ($2n = 26$) กบบัว ($2n = 26$) กบหนอง ($2n = 26$) กบอ่อง ($2n = 26$) กบนาน ($2n = 26$) ปาดบ้าน ($2n = 26$) มีจำนวนตรงกันและสอดคล้องกับการรายงานของ Kuramoto และมีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำนวน 8 ชนิดคือ กบหลังไพล ($2n = 26$) กบหงอน ($2n = 26$) เขียดอีไม่หิน

($2n = 26$) เขียดหลังป้อม ($2n = 26$) อึ่งลาย ($2n = 26$) อึ่งปากขวด ($2n = 26$) อึ่งอ่างก้นขีด ($2n = 28$) และ อึ่งขา
คำ ($2n = 24$) ที่มีจำนวนโครโมโซมสอดคล้องและตรงกับการรายงานของ Supaprom and Baimai (2002,
2004)

คาริโอไทป์ของคางคกบ้าน มีรูปร่างโครโมโซมเพียง 2 แบบ คือ แบบเมตาเซนตริก และสับเมตาเซน
ตริกเท่านั้น และขนาดของโครโมโซมแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มขนาดใหญ่กับกลุ่มขนาดเล็ก สอดคล้องกับ
การศึกษาคางคกในเยอรมันและญี่ปุ่นโดย Ullerich (1996) Schmid (1978a), Birstein and Mazin (1982) และ
Matsui et al (1985) ตามลำดับ คางคกบ้านพบ chromosome marker ที่มีลักษณะเป็นดั่งขนาดเล็ก
(satellite)บนโครโมโซมคู่ที่ 11 สอดคล้องกับการรายงานของ Bogart (1972).

คาริโอไทป์ของอึ่งอ่างก้นขีดและอึ่งอ่างบ้านมีลักษณะคล้ายกัน ประกอบด้วย กลุ่มโครโมโซมขนาด
ใหญ่ 4 คู่ และกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 10 คู่ แต่ตำแหน่งที่พบ chromosome marker แตกต่างกัน ในอึ่งอ่าง
บ้าน ผลการศึกษาสอดคล้องกับการรายงานของ Morescalchi (1968) และ Schmid(1978b) แต่แตกต่างจาก
ผลการศึกษาของ Bogart and Nelson (1976) ที่รายงานว่าจำนวนโครโมโซมของอึ่งอ่างบ้าน $2n = 24$ ซึ่งความ
แตกต่างดังกล่าว อาจะมาจากความผันแปรของจำนวนโครโมโซมภายในอึ่งอ่างชนิดนี้ (intraspecific
chromosomal variation) (Supaprom and Baimai, 2002) หรืออาจจะมาจากความแตกต่างของกลุ่มสปีชีส์ที่
ซับซ้อน (*K. pulchra* complex) ก็ได้ (Kasahara and Haddal, 1997) หรือเป็นไปได้ที่อาจจะเกิดจากการ
กระเด็นหายไปอย่างสุ่ม (random loss) ของโครโมโซมในระหว่างการเตรียมโครโมโซมบนแผ่นสไลด์ ทำ
ให้การตรวจนับจำนวนโครโมโซมผิดพลาดได้ Bogart and Nelson (1976) ได้รายงานคาริโอไทป์ของอึ่งจาก
อเมริกาใต้ และ Kuramoto and Allison (1989) ที่ศึกษาคาริโอไทป์ของอึ่งจากปาปัวนิวกินีพบว่า คาริโอไทป์
ของพวกอึ่งทั้งจากอเมริกาใต้และจากปาปัวนิวกินีล้วนประกอบด้วย กลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 5 คู่ และ
กลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 8 คู่ แต่ผลจากการศึกษาคาริโอไทป์ของอึ่งในประเทศไทยมีความแตกต่างไปจากที่
กล่าวมาคือ คาริโอไทป์ของอึ่งลาย และอึ่งปากขวด ประกอบด้วย โครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ และกลุ่ม
โครโมโซมขนาดเล็ก 7 คู่ ในขณะที่คาริโอไทป์ของอึ่งป้อมประกอบด้วยกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ 4 คู่ และ
กลุ่มโครโมโซมขนาดเล็ก 9 คู่ ดังนั้นข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์นี้ชี้ให้เห็นว่าอึ่งจากประเทศไทยมีความ
แตกต่างและไม่มีความสัมพันธ์กับอึ่งจากอเมริกาใต้ และจากปาปัวนิวกินี(Supaprom and Baimai,2002)
เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของกลุ่มโครโมโซมขนาดใหญ่ในอึ่งขา คำ อึ่งแม่หนาว และอึ่งลายแด้ม ทำให้เชื่อว่า
มีความเป็นไปได้ที่โครโมโซมขนาดใหญ่บางแท่งของอึ่งลายแด้ม เกิดจาก chromosomal rearrangement ใน
สายบรรพบุรุษของสกุล *Microhyla* เพราะจำนวนโครโมโซมของอึ่งลายแด้มมีน้อยที่สุดในบรรดาอึ่งที่พบ
ในประเทศไทยคือ $2n=22$ (Supaprom and Baimai, 2002)

คาริโอไทป์ของพวกกบเขียดมีความคล้ายคลึงกัน โครโมโซมคู่ที่ 1 ถึง 5 มีขนาดใหญ่ และคู่ที่ 6
ถึง 13 มีขนาดเล็ก สอดคล้องกับการศึกษาของ Seto(1965), Kuramoto(1980), Matsui and Seto (1985) และ
Matsui et al (1995) chromosome marker จะพบแต่เฉพาะในกลุ่มโครโมโซมขนาดเล็กเท่านั้น โดยเฉพาะใน

คู่ที่ 10 พบในกบหลังไฟด กบบัว สอดคล้องกับการศึกษาในสกุล *Rana* หลายชนิดของ Schmid (1978b) ที่พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 10 จะมีรอยคอด secondary constriction ที่ติด NOR positive และเรียกตำแหน่งนี้ว่า Standard-NOR และ Schmid ยังได้ชี้ให้เห็นว่าตำแหน่งดังกล่าวถูกอนุรักษ์ไว้ในสายวิวัฒนาการของพวกสกุล *Rana* โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง แสดงว่าคาร์ิโอไทป์ของพวกกลุ่มกบเขียดมีลักษณะอนุรักษ์เช่นเดียวกับพวกคางคก กบหนองหรือเขียดอีไม่น่ากับเขียดอีไม่หินมีจำนวน โครโมโซมเท่ากัน ($2n=26$) และมีลักษณะภายนอก (morphological characters) รวมทั้งเสียงร้องคล้ายคลึงกันมาก แต่ก็มีคาร์ิโอไทป์แตกต่างกัน ความแตกต่างกันของคาร์ิโอไทป์ในเขียดทั้ง 2 ชนิด น่าจะเกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของโครโมโซมกลุ่มขนาดเล็กแบบ end-to-end fusion หรือ unequal translocation กรณีเดียวกับแบบที่เกิดขึ้นในกบสีน้ำตาล (brown frog) (Miura et al., 1995) ซึ่งน่าจะมีการศึกษาเชิงลึกต่อไป

คาร์ิโอไทป์ของปลาบ้าน มีคาร์ิโอไทป์ต่างจากปลาหินเหลืองอีสาน (*Rhacophorus orlovi*) ที่รายงานโดย Supaprom (2003) โดยเฉพาะพบตำแหน่งของ chromosome marker บนโครโมโซม 3 คู่ คือ คู่ที่ 6 8 และ 12 และ Supaprom (2003) ยังได้รายงานว่าคาร์ิโอไทป์ของปลาบ้านที่เก็บตัวอย่างมาจากต่างแหล่งกัน ไม่พบความผันของรูปร่างโครโมโซม และตำแหน่งของ chromosome marker เลย แสดงว่าปลาบ้านที่มีเขตกระจายทั่วทางภูมิภาคของประเทศยังคงมีความเหมือนกันในองค์ประกอบของโครงสร้างทางพันธุกรรม (homokaryotype)

ผลการย้อมแถบโครโมโซมแบบต่าง ๆ ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกพบว่า คุณภาพของแถบที่ได้และความคงตัวของแถบ มีความผันแปรมากในแต่ละกลุ่มของสัตว์พวกนี้ ทั้งนี้เพราะโครโมโซมของสัตว์พวกนี้มีการหดตัวมาก สอดคล้องกับการรายงานของ Schmid (1978a) และ Supaprom (2003) เช่น กรณีชักนำให้เกิดแถบจี (G-banding) เพื่อให้ได้แถบโครโมโซมที่ชัดเจนโดยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) เป็นระยะเวลานาน จะกระทำไม่ได้เลยในโครโมโซมของสัตว์พวกนี้ และการย้อมแถบแบบซี (C-banding) ถ้าหากแช่สไลด์ในสารละลาย $Ba(OH)_2$ ที่เข้มข้นนานเกินไป จะทำให้ส่วนปลายสุดของโครโมโซม (telomere) ย้อมไม่ติดสี และทำให้ตำแหน่งเซนโตรเมียร์และบริเวณ NOR ย้อมติดสีจาง (Schmid, 1978b) ปัจจัยเหล่านี้คือสาเหตุของการไม่ประสบความสำเร็จในการย้อมแถบโครโมโซมของสัตว์พวกนี้ มีรายงานว่าประสบความสำเร็จในการย้อมแถบโครโมโซมแบบต่าง ๆ โดยเฉพาะแบบซีในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดเท่านั้น (Supaprom and Baimai, 2005) ทำให้ข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์บางส่วนยังไม่สมบูรณ์ครบถ้วน อย่างไรก็ตามข้อมูลพื้นฐานทางด้านจำนวนรูปร่างของโครโมโซม ตำแหน่ง chromosome marker และรูปแบบของคาร์ิโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำนวน 17 ชนิด ของประเทศในรายงานเล่มนี้ จัดเป็นฐานองค์ความรู้เบื้องต้นที่จะนำไปสู่การศึกษาในเชิงลึกและเชิงกว้างต่อไป และยังเป็นต้นแบบหรือแนวทางในการศึกษาองค์ความรู้ทางด้านนี้ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มอื่นๆหรือบริเวณอื่นของประเทศในอนาคต

ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะ

1. สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเป็นสัตว์ที่ออกหากินในเวลากลางคืน (nocturnal animal) จึงมีปัญหาในการออกสำรวจและจับสัตว์ในเวลากลางคืน เพราะมีอันตรายจากสัตว์ที่มีพิษร้ายแรง เช่น งูเห่า งูจงอาง ซึ่งก็ออกมาหากินในเวลาเดียวกัน และสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดมีขนาดลำตัวเล็ก เช่น อึ่งน้ำเต้า เขียดหลังปุ่น ทำให้มีความยุ่งยากในการเตรียมโครโมโซมจากไขกระดูก

2. สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกส่วนใหญ่จะออกมาผสมพันธุ์ตอนต้นฤดูฝน จากการสำรวจ พบว่า มีชาวบ้านออกมาจับสัตว์กลุ่มนี้เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะพวกอึ่งและกบเขียด โดยมีการนำกระสอบมาใส่หรือขังสัตว์ มีการนำรถบรรทุกถึงใส่น้ำแข็งเข้ามาจับสัตว์ในเขตอุทยานแห่งชาติเป็นจำนวนมาก เพื่อนำไปขายที่ตลาด ซึ่งให้เห็นว่ามีการใช้ประโยชน์จากสัตว์ในกลุ่มนี้มากเกินไป แนวโน้มเช่นนี้จึงน่าเป็นห่วงที่จะทำให้สัตว์พวกนี้มีประชากรในธรรมชาติลดลง จนเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์ได้ในอนาคต เช่น กบหลังไหล พบว่า มีจำนวนลดลงอย่างเห็นได้ชัด จึงควรมีแนวทางในการควบคุมและป้องกัน เช่น จำกัดจำนวนครั้งในการเข้าไปจับสัตว์ หรือ ห้ามนำภาชนะบางอย่างเข้าไปจับสัตว์

3. ความรู้เกี่ยวกับสัตว์ในกลุ่มนี้ ในกลุ่มนักวิชาการชาวไทยยังไม่แพร่หลาย เนื่องจากได้มองข้ามความสำคัญของสัตว์กลุ่มนี้ไป และไม่ได้ทำการศึกษาเพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ของตนเองตั้งแต่ที่แรก ทั้งๆที่ประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิภาคที่มีความหลากหลายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกสูงมาก เพราะมีรายงานว่าพบมากถึง 141 ชนิด แต่สถานภาพความรู้ด้านชีววิทยา นิเวศวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์ยังมีน้อยมาก ข้อมูลมีปรากฏบ้างในสัตว์บางชนิดเท่านั้น หากเปรียบเทียบกับประเทศในเขตอบอุ่น ซึ่งมีความหลากหลายของสัตว์กลุ่มนี้น้อยกว่า แต่กลับมีข้อมูลด้านอนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ และวิวัฒนาการ ตลอดจนการอนุรักษ์ ที่ก้าวหน้ากว่ามาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่จะต้องสนับสนุน กระตุ้นให้มหาวิทยาลัย สถาบันวิจัยต่างๆ มีการวางแผนสร้างนักวิชาการทางด้านนี้อย่างเพียงพอ สร้างองค์ความรู้ของตนเอง สนับสนุนให้มีการจัดประชุมทางวิชาการเพื่อถ่ายทอดและแลกเปลี่ยนความรู้ระหว่างกันอย่างสม่ำเสมอ มีหน่วยงานที่มีศักยภาพจัดทำวารสารด้านความหลากหลายทางชีวภาพ เพื่อรวบรวมและเผยแพร่ข้อมูลข่าวสารที่มีประโยชน์และสำคัญ ไม่ให้สูญหายไป สนับสนุนให้มีการจัดทำพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติที่ได้มาตรฐานเพื่อรวบรวมตัวอย่างสัตว์ จะได้ใช้เป็นแหล่งอ้างอิง ฝึกอบรม และเผยแพร่ข้อมูลเพื่อให้คนไทยและชาวชนรับรู้เรื่องราวของสัตว์กลุ่มนี้มากขึ้น อันจะนำไปสู่การวางแผนเพื่อการอนุรักษ์ และการใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสมต่อไป

4. การศึกษาวิจัยสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในอนาคต ควรเน้นรายละเอียดในสัตว์เฉพาะชนิด หรือเฉพาะกลุ่ม หรือเฉพาะแหล่งมากขึ้น เพื่อจะได้ความรู้ที่ครบถ้วน สมบูรณ์และนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง เช่น พวกเขียดงูและพวกอึ่งกราย ที่แทบจะไม่มีความรู้เกี่ยวกับสัตว์พวกนี้เลย นอกจากนี้

พวกปลาซึ่งอาศัยอยู่ตามคันไม้ ช่วยควบคุมจำนวนแมลงในระบบนิเวศที่อยู่เหนือพื้นดิน และพบในประเทศถึง 27 ชนิด แต่ในรายงานนี้ก็กลับมีเพียง 1 ชนิดเท่านั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเร่งศึกษาสัตว์กลุ่มนี้

บรรณานุกรม

1. กำธร ชีรกุลปต์ (2543): สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานใน : บทความปริทัศน์งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. โครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (Biodiversity Research and Training Program : BRT) หน้า 149-179.
2. จารุจินต์ นฤตะภักฏ และ วิเชียร คงทอง (2536): วิกฤตการณ์การสูญเสียวความหลากหลายทางชีวภาพ ของสัตว์ป่าและแนวทางแก้ไขที่ยั่งยืน ใน : คนกับธรรมชาติ : วิกฤตการณ์การสูญเสียวความหลากหลายทางชีวภาพและแนวทางการแก้ไขที่ยั่งยืน ณ ดึกสันดิไมตรี ทำเนียบรัฐบาล คณะอนุกรรมการว่าด้วยวความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย ร่วมกับคณะกรรมการสาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา สภาวิจัยแห่งชาติ. หน้า 129-219.
3. ถาวร สุภาพรม, ขนิษฐา ทุมมาภรณ์, ประจักษ์ จันทร์ศรี และวิสุทธิ์ โบไม้ (2543): การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของกบอกหนามและเขียดหลังป้อม. รวมบทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 26. 18-20 ตุลาคม 2543.
4. ถาวร สุภาพรม, ประจักษ์ จันทร์ศรี และวาริณี พลเสาร (2542): รายงานวิจัยเรื่อง การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 36 หน้า.
5. ถาวร สุภาพรม และ ประภาพร กัลยาประสิทธิ์ (2533): การศึกษาโครโมโซมของอึ่งอ่างบ้าน (*Kaloula pulchra*) และคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) กำหนดการและบทคัดย่อในการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 7 เรื่องพันธุศาสตร์เพื่อการพัฒนาคุณภาพชีวิต 21-23 พฤศจิกายน 2533. โรงแรมขอนแก่น ไฮเล็ค ขอนแก่น. หน้า 107-109.
6. ถาวร สุภาพรม, นงเยาว์ ฉาโรสง และนิยะดา ห่อนาค (2534): การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดจิกและเขียดอีไม่ รวมบทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 17 24-26 ตุลาคม 2534. หน้า B-060.

7. ถาวร สุภาพรม, วาริณี อรุณมงคลผล และแก้ว อุดมศิริชาคร. 2535a. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของอึ่งปากขาว (*Glyphoglossus molossus*) และปาดบ้าน (*Rhacophorus leucomystax*). รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 30, 29 มกราคม – 14 กุมภาพันธ์ 2535., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และการพลังงาน น.717 – 724.
8. ถาวร สุภาพรม อริยากรณ์ พงษ์รัตน์ และอุไรวรรณ นิลเพชร. 2535b. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของเขียดเหลือง (*Rana lateralis*) และอึ่งแอ่น (*Calluella guttulata*). การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18, 27-29 ตุลาคม 2535 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ น.400 –401.
9. ถาวร สุภาพรม, บุษกร อารยางกูร, แก้ว อุดมศิริชาคร และวาริณี อรุณมงคลผล (2536): การศึกษาคาร์ิโอไทป์และการย้อมแถบโครโมโซมแบบซีของกบจุก (*Rana pileata* Boulenger) ใน : พันธุศาสตร์ยุคใหม่ รวมผลงานสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 8. ดำรง กังวานพงศ์ วิสุทธิ ใบไม้ (บรรณาธิการ). นิวธรรมดาการพิมพ์. หน้า 212-220.
10. ถาวร สุภาพรม. (2545): การศึกษาพันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ใน : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ พันธุศาสตร์เชิงประชากรของ (1) แมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่สัมพันธ์กับ *Wolbachia* และ (2) สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Population Genetics of (1) Economically Important Insects in Relation to *Wolbachia*, and (2) Amphibians). วิสุทธิ ใบไม้ บรรณาธิการ. หน้า 119 – 162.
11. ธีญา จันอาจ (2546): คู่มือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเมืองไทย. คำนสุทธการพิมพ์. 175 หน้า.
12. นงลักษณ์ นาคเกษม (2518): การศึกษาการเจริญเติบโตและคาร์ิโอไทป์ของกบ อีอ่า และคางคกไทย วิทยานิพนธ์ปริญญาโทระดับบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.
13. วรวิติ จุฬาลักษณ์นกุล, ศุสดี ปริยานนท์ และ เฟลินทิส โชลชัยชำนาญกิจ (2541): การศึกษาโครโมโซมเพศของกบบูลฟ็อก (*Rana catesbeiana*) ประมวลผลงานวิจัย เล่ม 2 ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยเฉลิมฉลอง 80 ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. หน้า 735-742.
14. อรอนงค์ กฤษเพชรรัตน์, ขวจิต กฤษเพชรรัตน์ และ อำพา เหลืองภิรมย์ (2541): คาร์ิโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์กบเขียดที่พบในอุทยานแห่งชาติภูพาน จ.สกลนคร และ จ.กาฬสินธุ์. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 24 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์. กรุงเทพฯ. หน้า 530-531.

15. Birstein, V.J. & Mazin, A.L. (1982): Chromosomal polymorphism of *Bufo bufo* :
Karyotype and C-banding pattern of *B. b Verrucosissima*. *Genetica* **59**: 93-98.
16. Bogart, J.P. (1972) Karyotypes. In : Blair WF, editor. *Evolution in the genus Bufo*, Austin –
London, University of Texas Press : p. 171 - 195
17. Bogart, J.P. & Nelson C.E. (1976): Evolutionary implications from karyotypic analysis of frogs of
the families Microhylidae and Rhinophrynidae. *Herpetologica* **32**: 199-209.
18. Chan-Ard, T., Grossmann, W., Gumprecht, A. & Schulz, K.D. (1999): *Amphibians and Reptiles of
Peninsular Malaysia and Thailand (an illustrated checklist)*. Germany, Wuerselen,
Busmaster Publications.
19. Frost, DR.(2000) *Amphibian species of the world : An online Reference version 2.20*. The
American Museum of Natural History 2000.
20. Goodpasture, C., Bloom, S.E. (1975): Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian
chromosome using silver staining. *Chromosoma* **53**: 37-50.
21. Green, D.M. & Sessions, S.K. (1991): Nomenclature for chromosomes. pp. 431-432. In :
Amphibian Cytogenetics and evolution edition by D.M. Green and S.K. Sessions.
Academic Press. New York.
22. Inger, R.F. & Chan-Ard, T. (1997): A new species of Ranid frog from Thailand, with
comments on *Rana livida* Blyth. *Nat. Hist. Bull. Siam. Soc.* **45**: 65-70.
23. Kasahara, S., Haddad, C.F.B. (1997): Karyotypes of two Brazilian microhylid frogs of
the Genus *Chiasmocleis*, including a new case of polyploidy. *J. Herpetol.* **31**:
139-142.
24. Khonsue, W., Thirakhupt, K. (2001): A checklist of the amphibians in Thailand. *Nat.
Hist. J.Chulalongkorn Univ.* **1**: 69-82.
25. Kuramoto, M. (1980): Karyotypes of several frogs from Korea, Taiwan and the
Phillipines. *Experientia* **36**: 826-828.
26. Kuramoto M. (1990). A list of chromosome numbers of anuran amphibians. *Bull.
Fukuoka Univ. Educ.* **39**: 83-127.

27. Kuramoto, M. & Allison, A. (1989): Karyotypes of microhylid frogs of Papua New Guinea and their systematic implications. *Herpetologica* **45** : 250-259.
28. Manthey, U. & Steiof, C. (1998). *Rhacophorus cyanopunctatus* sp. n. (Anura : Rhacophoridae), ein neuer Flugfrosch von der Malaiischen Halbinsel, Sumatra und Borneo. – *Sauria*, Berlin, 20 (3): 37 – 42.
29. Matsui, M., Nabhitabhata, J. & S. Panha (1998) : A new *Ansonia* from northern Thailand (Anura : Bufonidae). *Herpetologica* **54** : 448-454.
30. Matsui, M., Nabhitabhata J. & S. Panha (1999) : On *Leptobrachium* from Thailand with a description of a new species (Anura : Pelobatidae). *Jpn. J. Herpetol* **18**:19-29.
31. Matsui, M., Ota, H., Lau, M.N., & Bogadek, A. (1995): Cytotaxonomic studies of three ranid species (Amphibia: Anura) from Hong Kong. *Jpn. J. Herpetol.* **16**: 12-18.
32. Matsui, M & Seto, T. (1985): Karyotype of an Asian ranid frog, *Staurois latopamatus*. *Jpn. J. Herpetol.* **11**: 1-4.
33. Matsui, M., Seto, T., Hohsaka, Y., Borkin, L.J.(1985): Bearing of chromosome C-banding patterns on the Classification of Eurasian Toads of the *Bufo bufo* complex. *Amphibia-Reptilia* **6** : 23-33.
34. Mimura, I., Nishioka, M., Borkin, L.J. & Wu, Z. (1995) : The origin of the brown frogs with $2n = 24$ chromosome. *Experientia* :51:179 – 188.
35. Morescalchi, A. (1968): Initial cytotaxonomic data on certain families of amphibious Anura (Diplasiocoela, after Noble). *Experientia* :24:280 – 283.
36. Schmid, M. (1978a): Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma* **66**: 361-388.

37. Schmid, M. (1978b): Chromosome banding in Amphibia. II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranidae, Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma* **68**: 131-148.
38. Scott, E., (2005): A phylogeny of ranid frogs (Anura: Ranoidea: Ranidae), based on a simultaneous analysis of morphological and molecular data. *Cladistics* **21**: 507 – 574.
39. Seabright, M. (1971): A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* **2**: 971-972.
40. Seto, T. (1965): Cytogenetic studies in lower vertebrates. II. Karyological studies of several species of frogs (Ranidae). *Cytologia* **30**: 437-446.
41. Sumner, A.T. (1972): A simple technique for demonstrating centromeric heteromatin. *Exp. Cell Res.* **75**: 304-306
42. Supaprom, T. 2001. C-banded Mitotic chromosome Characteristics of *Glyphoglossus molossus* Gunther 1868 and *Polypedates leucomystax* (Gravenhorst) 1828 (Amphibia; Anura) Second National Symposium on Graduate research Faculty of Graduate studies Mahidol University (26-27 April 2001) pp.164.
43. Supaprom, T., and V. Baimai. 2002. Mitotic karyotypes of eight species of microhylid frogs from Thailand (Anura: Microhylidae). *Amphibia-Reptilia* **23**: 510-516.
44. Supaprom, T., and V. Baimai. 2004. Mitotic karyotypes of ten species of Ranid frogs (Anura: Ranidae) from Thailand. *Amphibia-Reptilia* **25**: 104-111.
45. Supaprom, T., and V. Baimai. 2005. Characterization of C-banded mitotic chromosomes for the four species of anuran amphibians from Thailand. *Amphibia-Reptilia* **26**: 367-371.
46. Supaprom, T., Baimai, V., and Chan-Ard, T. 2006. Mitotic karyotypes of four megophryid frogs (Anura: Megophryidae) from Thailand. (inpress).
47. Supaprom, T. 2003. Cytogenetics of Amphibians in Thailand. A thesis of the degree of doctor of philosophy. Mahidol University. 123.

48. Taylor EH. (1962): The Amphibians fauna of Thailand. Univ. of Kansas Sci. Bull. 43 : 265 – 599.
49. Ullerich, F.H. (1996): Karyotype und Dns-Gehalt von *Bufo bufo*, *B. viridis*, *B. Bufo* X *B. Viridis* Und *B. calamita* (Amphibia, Anura). Chromosoma (Berl) 18: 316-342.

ภาคผนวก

1. การย้อมแถบโครโมโซมแบบ G – banding หรือ GTG – banding

การย้อมแถบโครโมโซมแบบจี เป็นการย้อมแถบโครโมโซมโดยการย่อยโครโมโซมด้วยสารละลาย trypsin แล้วย้อมสี Giemsa โดยอาศัยหลักการที่ว่าตลอดความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่งมีการจัดเรียงตัวของโครมาติน (chromatin) แตกต่างกัน บางช่วงโครมาตินหดตัวมากและมีโปรตีนเกาะอยู่หนาแน่น (constitutive heterochromatin) บริเวณนี้จะถูกย่อยออกน้อย จึงติดสีเข้ม (dark band) บางช่วงโครมาตินมีการหดตัวน้อยและมีโปรตีนเกาะไม่หนาแน่น โปรตีนจะถูกย่อยออกไปมาก เมื่อย้อมสีจึงติดสีจาง (light band)

การย้อมแถบแบบนี้ โครโมโซมแต่ละตัวจะติดสีเข้มและจางสลับกันเป็นลักษณะเฉพาะสำหรับโครโมโซมแต่ละคู่ ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ส่วนต่างๆของโครโมโซมได้

ขั้นตอนการย้อมมีดังนี้

1. อบสไลด์ที่อุณหภูมิ 80 – 90 °C นาน 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้โครโมโซมคงตัวและมีอายุ (stable and aging)
2. แช่สไลด์ในสารละลาย 0.025% trypsin ในสารละลาย 0.9% NaCl นาน 45 วินาที หลังจากนั้นล้างด้วย phosphate buffer
3. แช่สไลด์ในสารละลาย 10% Giemsa ใน phosphate buffer นาน 15 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ตั้งสไลด์ทิ้งไว้ให้แห้งจึงนำไปตรวจวิเคราะห์

2. การย้อมแถบโครโมโซมแบบ C – banding หรือ CBG – banding

การย้อมแถบโครโมโซมแบบซี เป็นการย้อมติดส่วนของโครโมโซมส่วนที่เป็น constitutive heterochromatin ซึ่งมักจะเป็นบริเวณตำแหน่ง centromere และ telomere ของโครโมโซม หลังจากที้นำสไลด์แช่ในสารละลาย กรด ค้าง และ hot saline citrate ตามลำดับ จากนั้นย้อมด้วยสี Giemsa บริเวณที่เป็น constitutive heterochromatin จะติดสีเข้ม (C - positive) เช่น centromere หรือ secondary constriction ส่วนที่ไม่ใช่ constitutive heterochromatin จะไม่ติดสี (C - negative) ดังนั้นการย้อมแถบโครโมโซมแบบซี จึงเป็นประโยชน์มากต่อการตรวจสอบความผิดปกติของโครโมโซมชนิดที่มีการจัดเรียงตัวใหม่ของเนื้อโครโมโซมรอบๆตำแหน่งเซนโตรเมียร์ (new rearrangement) เช่น การเกิด pericentric inversion การศึกษา polymorphism หรือ heteromorphism ของโครโมโซม

การย้อมแถบโครโมโซมแบบซี มีขั้นตอนดังนี้

1. แช่สไลด์ในสารละลาย 0.2 N HCl ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที
2. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วแช่สไลด์ในสารละลาย 0.05 N NaOH หรือ 0.07 N Ba(OH)₂ ที่อุณหภูมิ 65 °C 30 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วแช่สไลด์ในสารละลาย 2xSSC ที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 45 นาที – 2 ชั่วโมง
3. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น แล้วย้อมด้วยสี 10% Giemsa ใน phosphate buffer นาน 20 – 45 นาที ล้างออกด้วยน้ำสะอาด ปล่อยสไลด์ให้แห้งจึงนำไปวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การย้อมแถบโครโมโซมแบบ NOR – banding

การย้อมแถบโครโมโซมแบบเอ็นโออาร์ เป็นการย้อมติดส่วนของโครโมโซมส่วนที่มียีนที่สร้าง ribosomal RNA ซึ่งมักจะเป็นรอยคอด secondary constriction และมักจะถูกติดกับ nucleolus(nucleolar organizer region) หลังจากนำสไลด์แช่ในสารละลาย silver nitrate แล้วบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ แล้วย้อมด้วยสี Giemsa บริเวณที่มียีน ribosomal RNA จะติดสีเข้ม (NOR - positive) ของสารละลาย silver nitrate ส่วนที่ไม่มียีนนี้อยู่จะไม่ติดสี(NOR - negative) ดังนั้นการย้อมแถบแบบนี้ จึงเป็นการระบุตำแหน่งของยีนที่สร้าง ribosomal RNA

การย้อมแถบโครโมโซมแบบเอ็นโออาร์ มีขั้นตอนดังนี้

1. หยดสารละลาย silver nitrate ที่กรองแล้วลงบนสไลด์ แล้วปิดด้วย cover slip จากนั้น สนิ๊กหรือ seal ด้วยน้ำยาทาเล็บ
2. วางแผ่นสไลด์ใน petridisc หรือภาชนะที่มีฝาปิดสนิท โดยภายใน petridisc ต้องมีความชื้นสูง
3. นำ petridisc แช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 1 – 2 ชั่วโมง
4. จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น แล้วย้อมด้วยสี 10% Giemsa ใน phosphate buffer นาน 3-5 นาที ล้างออกด้วยน้ำสะอาด ปล่อยสไลด์ให้แห้งจึงนำไปวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียม 0.075 M KCl (hypotonic solution)
ชั่งผลึก KCl 0.5588 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ห้ามใช้เกิน 1 สัปดาห์)
2. การเตรียม fixative
fixative ที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมโครโมโซมเป็นชนิด fresh cold fixative ก็คือ ต้องเตรียมใหม่เสมอและก่อนใช้ต้องแช่ในตู้เย็นในช่องแข็งนาน 15 – 30 นาที โดยการผสม absolute methanol หรือ ethanol 3 ส่วน กับ 100% glacial acetic acid 1 ส่วน ผสมให้สารผสมกันอย่างดี

3. การเตรียมสี Giemsa

ละลายผงสี Giemsa 0.75 กรัมในกลีเซอรอล 25 มิลลิลิตร และ absolute methanol 75 มิลลิลิตร โดยบดและผสมผงสี Giemsa ให้ละลายจนหมด จากนั้นเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 1 สัปดาห์ สารละลายสี Giemsa ที่เตรียมได้นี้คือ stock Giemsa solution

4. การเตรียม phosphate buffer pH 6.8 (soresen's buffer)

1. ชั่งผลึก K_2HPO_4 9.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร สารละลายที่ได้นี้เรียก stock A
2. ชั่งผลึก NaH_2PO_4 9.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร สารละลายที่ได้นี้เรียก stock B

ในการย้อมสีโครโมโซมและย้อมแถบโครโมโซม จะใช้ 10% Giemsa ในสารละลาย

0.01 M phosphate buffer pH 0.8 โดยกระทำได้ดังนี้ เตรียม 0.01 M phosphate buffer pH 6.8 โดยใช้สารละลาย stock A 50.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย stock B 49.2 มิลลิลิตร แล้วนำมาเตรียม 10% Giemsa โดยใช้ phosphate buffer pH 6.8 90 มิลลิลิตร ผสมกับ stock Giemsa solution 10 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง ก่อนใช้เสมอ

5. การเตรียมสารละลาย trypsin

สารละลาย trypsin ที่ใช้ในการย้อมแถบโครโมโซมแบบ G-banding มีความเข้มข้น 0.025% trypsin โดยนำสารละลาย stock trypsin 5 % มา 1 มิลลิลิตร มาผสมกับ 0.9% NaCl 19 ml จะได้ working trypsin (0.025%) ที่ใช้อย่างโครโมโซม

6. การเตรียมสารละลาย barium hydroxide ชั่งผลึก $Ba(OH)_2$ 11.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดที่ปิดฝาสนิท

7. การเตรียมสารละลาย 2 x SSC

สารละลาย 2 x SSC มีส่วนประกอบต่อไปนี้

NaCl	17.53 กรัม
Trisodic citrate $2H_2O$	8.82 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 กรัม

ละลายสารทั้ง 2 ในน้ำกลั่น แล้วปรับ pH ให้ได้ 7 ก่อนนำมาใช้

8. การเตรียม 0.2 HCl

ใช้ 1 N HCl 20 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย 0.2 N HCl

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย

รวบรวมจาก ธีัญญา(2546), Supaprom(2003), Khonsue and Thirakhupt(2001) และ Chan-Ard et. al.(1999)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
1	Caudata	Salamandridae	วงศ์กระต่า มีเพียง 1 ชนิด คือ 1. กระต่า	1. <i>Tylototriton verrucosus</i> Anderson, 1871	พบตามลำธารหรือแอ่งน้ำ บนภูเขาสูง
2	Gymnophiona	Ichthyophiidae	วงศ์เขียดงูหาคเนย์ มี 6 ชนิด คือ 1. เขียดงูมลายู 2. เขียดงูดำ 3. เขียดงูหัวแหลม 4. เขียดงูเกาะเต่า 5. เขียดงูศุภชัย 6. เขียดงูดอยสุเทพ	1. <i>Caudacaecilia asplenica</i> (Taylor, 1965) 2. <i>Caudacaecilia larutensis</i> (Taylor, 1960) 3. <i>Ichthyophis acuminatus</i> (Taylor, 1960) 4. <i>Ichthyophis kohtaoensis</i> (Taylor, 1960) 5. <i>Ichthyophis supachai's</i> (Taylor, 1960) 6. <i>Ichthyophis youngorum</i> (Taylor, 1963)	อาศัยอยู่ใต้โคลนหรือใต้ ขอนไม้ - พบที่ จ. ยะลา - พบที่ จ. นราธิวาส - พบที่ อ. แม่วัง จ. เชียงใหม่ - พบทั้งบนที่ราบและบน ภูเขา - พบตั้งแต่ จ. นครศรี ธรรมราชลงไป - พบที่ดอยสุเทพ จ. เชียงใหม่
3	Anura	Megophryidae	วงศ์อึ่งกราย มี 17 ชนิด คือ 1. อึ่งกรายคางาว 2. อึ่งกรายลายจุด	1. <i>Leptobrachium chapaense</i> (Bourret, 1937) 2. <i>Leptobrachium hendricksoni</i> (Taylor, 1962)	พบตามพื้นที่ป่าและบริเวณ ใกล้ลำธารในป่าดิบแล้ง ถึงป่าดิบเขา - พบที่ดอยอินทนนท์ จ. เชียงใหม่ - พบทางภาคใต้

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Megophryidae	วงศ์อึ่งกราย		
			3. อึ่งกรายลายเลอะ	3. <i>Leptobrachium smithi</i> (Matsui, Nabhitabhata and Panha, 1999)	- พบตั้งแต่ภาคเหนือ ภาค ตะวันตก ลงไปถึงภาคใต้
			4. อึ่งกรายคอก อินทนนท์	4. <i>Leptolalax bourreti</i> (Dubois, 1983)	พบบริเวณลำห้วยในอ่าง กาหลวงบนคอกอิน ทนนท์ จ. เชียงใหม่
			5. อึ่งกรายทองผา ภูมิ	5. <i>Leptolalax gracilis</i> (Gunther, 1872)	- พบที่ อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
			6. อึ่งกรายหลาก ลาย	6. <i>Leptolalax heteropus</i> (Boulenger, 1900)	- พบที่ จ. นราธิวาส
			7. อึ่งกรายหนังปูม	7. <i>Leptolalax pelodytoides</i> (Boulenger, 1893)	- พบทางภาคเหนือ และ ภาคตะวันตก
			8. อึ่งกรายข้างแถบ	8. <i>Brachytarsophrys</i> <i>carinense</i> (Boulenger, 1899)	- พบทางภาคตะวันตก จาก จ. เชียงใหม่ จนไป ถึง จ. สุราษฎร์ธานี
			9. อึ่งกรายพม่า	9. <i>Brachytarsophrys feae</i> (Boulenger, 1887)	- พบที่อ่างกาหลวงบน คอกอินทนนท์ จ. เชียงใหม่
			10. อึ่งกราย หัวแหลม	10. <i>Megophrys nasuta</i> (Schlegel, 1858)	- พบทางภาคใต้ตอนล่าง
			11. อึ่งกรายหัวมน	11. <i>Megophrys aceras</i> (Boulenger, 1903)	- พบทางภาคใต้
			12. อึ่งกรายขาขาว	12. <i>Megophrys longipes</i> (Boulenger, 1886) (<i>Megophrys lateralis</i>)	- พบทางภาคใต้ตอนล่าง

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Megophryidae	วงศ์อึ่งกราย 13. อึ่งกรายหัวใหญ่ 14. อึ่งกรายแคระ 15. อึ่งกรายหัวเล็ก 16. อึ่งกรายจันทบุรี 17. อึ่งกรายปากแคบ	13. <i>Megophrys major</i> (Anderson, 1871) 14. <i>Megophrys minor</i> (Stejneger, 1962) 15. <i>Megophrys parva</i> (Boulenger, 1893) 16. <i>Megophrys</i> sp. 17. <i>Ophryophryne microstoma</i> (Boulenger, 1893)	- พบทางภาคเหนือและภาคตะวันตก - พบบนคอกสูง จ. เชียงใหม่ และเชียงราย - พบทางภาคเหนือและภาคตะวันตก - พบในป่าดิบชื้น บนเขาชอยดาว และเขาสระบาป จ. จันทบุรี - พบที่คอกภูคา จ. น่าน
3	Anura	Bufo nidae	วงศ์คางคก มี 10 ชนิด คือ 1. คางคกหัวอินทนนท์ 2. คางคกหัวขมลาย 3. คางคกหัวไทย 4. จงโคร่ง	1. <i>Ansonia inthanon</i> (Matsui, Nabhitabhata and Panha, 1998) 2. <i>Ansonia malayana</i> (Inger, 1960) 3. <i>Ansonia siamensis</i> (Kiew, 1984) 4. <i>Bufo asper</i> (Gravenhorst, 1829)	พบตามพื้นที่ป่า ลำธาร บางชนิดอยู่บนต้นไม้ - พบที่คอกอินทนนท์ จ. เชียงใหม่ - พบทางภาคใต้ - พบที่ จ. ตรัง - พบตามลำธารขนาดใหญ่ที่มีแก่งหินในป่าดิบแล้งถึงป่าดิบชื้น พบทางภาคตะวันตกและภาคใต้

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Bufo	วงศ์คางคก 5. คางคกแคะมะลาญ 6. คางคกหัวรบ 7. คางคกบ้าน 8. คางคกแคะ 9. คางคกขาขาว 10. คางคกคันไม้	5. <i>Bufo divergens</i> (Peters, 1871) 6. <i>Bufo macrotis</i> (Boulenger, 1888) 7. <i>Bufo melanostictus</i> (Schneider, 1799) 8. <i>Bufo parvus</i> (Boulenger, 1887) 9. <i>Leptophryne borbonica</i> (Tschudi, 1838) 10. <i>Pedostibes hosii</i> (Gunther, 1876)	- พบตามป่าดิบชื้นริมลำธารขนาดเล็กถึงลำธารขนาดกลาง ทางภาคใต้ตอนล่าง - พบตามป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณ - พบทุกภาค - พบตามป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้ง - พบทางภาคใต้ตอนล่าง - อยู่บนคันไม้ริมลำธารขนาดใหญ่ในป่าดิบชื้น
3	Anura	Hylidae	วงศ์ปาดเมืองจีน มี 1 ชนิด 1. ปาดเมืองจีน	1. <i>Hyla annectans</i> (Jerdon, 1870)	- อยู่บนคันไม้ริมลำธารในป่าดิบชื้น - พบที่ จ.แม่ฮ่องสอน
3	Anura	Microhylidae	วงศ์อึ่งอ่าง มี 17 ชนิด คือ 1. อึ่งขี้ดินหนาม 2. อึ่งลาย 3. อึ่งเห่า	1. <i>Chaperina cf. fusca</i> (Mocquard, 1892) 2. <i>Calluella guttulata</i> (Blyth, 1855) 3. <i>Glyphoglossus molossus</i> (Gunther, 1869)	พบตามป่า - พบที่ จ. สุราษฎร์ธานี - พบตามป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้ง - พบตามพื้นที่ป่าเต็งรัง

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Microhylidae	วงศ์อึ่งอ่าง		
			4. อึ่งไม่หลังลาย	4. <i>Kalophrynus interlineatus</i> (Blyth, 1855)	- พบตามพื้นดินในป่าดิบ แล้ง
			5. อึ่งไม่มลายู	5. <i>Kalophrynus - pleurostigma</i> (Tschudi, 1838)	- พบทางภาคใต้
			6. อึ่งอ่างมลายู	6. <i>Kaloula baleata</i> (Muller, 1836)	- พบทางภาคใต้
			7. อึ่งอ่างกันขี้ด	7. <i>Kaloula medilineata</i> (Smith, 1917)	- พบตามป่าเต็งรัง
			8. อึ่งอ่างบ้าน	8. <i>Kaloula pulchra</i> (Gray, 1831)	- พบทุกภาค
			9. อึ่งท้องแดง	9. <i>Phrynella pulchra</i> (Boulenger, 1887)	- พบที่ จ. นราธิวาส
			10. อึ่งอันนัม	10. <i>Microhyla annamensis</i> (Smith, 1923)	- พบที่เขาสอยดาว จ. จันทบุรี
			11. อึ่งแม่หนาว	11. <i>Microhyla berdmorei</i> (Blyth, 1856)	- พบทุกภาค
			12. อึ่งบอร์เนียว	12. <i>Microhyla borneensis</i> (Parker, 1926)	- พบตามป่าดิบชื้น เฉพาะ ทางภาคใต้
			13. อึ่งลายเลอะ	13. <i>Microhyla butleri</i> (Boulenger, 1900)	- พบตามป่า พื้นที่ เกษตรกรรม และสวน ผลไม้ พบทุกภาค
			14. อึ่งข้างดำ	14. <i>Microhyla heymonsi</i> (Vogt, 1911)	- พบตามป่า พื้นที่ เกษตรกรรม และสวน ผลไม้ พบทุกภาค

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Microhylidae	วงศ์อึ่งอ่าง 15. อึ่งน้ำเต้า 16. อึ่งขาคำ 17. อึ่งหลังขีด	15. <i>Microhyla ornata</i> (Dumeril & Bibron, 1841) 16. <i>Microhyla-pulchra</i> (Hallowell, 1861) 17. <i>Micryletta inornata</i> (Boulenger, 1890)	- พบทุกภาค - พบทางภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาค ตะวันออก - พบตามป่าแถบภูเขาสูง
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด มี 57 ชนิด 1. กบลายหินได้ 2. กบลายหินเหนือ 3. กบลายหิน ตะนาวศรี 4. กบคอยช้าง 5. กบน้ำเค็ม 6. กบหนอง	1. <i>Amolops larutensis</i> (Boulenger, 1899) 2. <i>Amolops marmoratus</i> (Blyth, 1855) 3. <i>Amolops</i> sp. 4. <i>Chaparana aenea</i> (Smith, 1922) 5. <i>Fejervarya cancrivora</i> (Gravenhorst, 1829) 6. <i>Fejervarya limnocharis</i> (Gravenhorst, 1829)	บนพื้นดิน บนต้นไม้ แหล่งน้ำนิ่ง และตามลำ ธาร - พบทางภาคใต้ - พบทางภาคเหนือ - พบทางภาคตะวันตกลง ไปถึงภาคใต้ตอนบน - พบที่ จ. เชียงใหม่ - พบตามชายฝั่งทะเลและ ป่าชายเลนบริเวณปาก แม่น้ำ - พบตามที่ราบพื้นที่ เกษตร ป่าไม้ และสนาม หญ้า

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด		
			7. กบราชา	7. <i>Fejervarya raja</i> (Smith, 1930)	- พบตามชายฝั่งทะเลและ ป่าชายเลนบริเวณปาก แม่น้ำ
			8. กบอีโม้หิน	8. <i>Fejervarya</i> sp.	- พบตามลำธารตื้นๆของ ภูเขาหินทราย
			9. กบนา	9. <i>Hoplobatrachus rugulosus</i> (Wiegmann, 1835)	- พบทุกภาค
			10. กบเขียดนาม	10. <i>Huia nasica</i> (Boulenger, 1903)	- พบตามลำธารที่มีความ ลาดชันสูง หรือตามหน้าผา น้ำตกที่ลาดชัน
			11. กบท่าสาร	11. <i>Ingerana tasanae</i> (Smith, 1921)	- พบตามลำธารในป่าดง ดิบบนภูเขา
			12. กบตะนาวศรี	12. <i>Ingerana tenasserimensis</i> (Sclater, 1892)	- พบตามลำธารในป่าดิบ แล้งตามภูเขา
			13. กบทูด	13. <i>Limnonectes blythii</i> (Boulenger, 1920)	- อาศัยอยู่ในป่าดิบบนภูเขา
			14. กบทูดมลายู	14. <i>Limnonectes malesianus</i> (Kiew, 1984)	- อาศัยอยู่ในป่าพรุบนที่ ราบของป่าดิบชื้น
			15. กบป่าพรุ	15. <i>Limnonectes paramacrodon</i> (Inger, 1966)	- อาศัยอยู่ในป่าพรุ ไล่ตั้งแต่ จ. นราธิวาส
			16. กบมัน หรือ กบหัวขำไม่	16. <i>Limnonectes kuhlii</i> (Tschudi, 1838)	- พบตามลำธารบนภูเขา สูง
			17. กบหลังคา พับ	17. <i>Limnonectes lacticeps</i> (Boulenger, 1882)	- พบตามลำธารบนภูเขา
			18. กบดอร์เรีย	18. <i>Limnonectes doriae</i> (Boulenger, 1887)	- พบตามลำธารทางภาค ตะวันตกและภาคใต้

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด		
			19. กบเกาะช้าง	19. <i>Limnonectes kohchangae</i> (Smith, 1922)	- อาศัยตามลำธารในป่าดิบ ชื้นบนเกาะช้างและภูเขา ตามชายฝั่งทะเล
			20. กบหัวโต	20. <i>Limnonectes macrognathus</i> (Boulenger, 1917)	- พบตามลำธารทาง ภาคเหนือและภาคใต้
			21. กบหงอน	21. <i>Limnonectes pileatus</i> (Boulenger, 1916)	- อาศัยอยู่ในป่าดิบแล้ง
			22. กบแรด	22. <i>Limnonectes plicatellus</i> (Stoliczka, 1873)	- อาศัยอยู่ตามลำธารตื้นๆ ในป่าดิบชื้น
			23. กบพนมดง รัก	23. <i>Limnonectes</i> sp.	- พบตามลำธารบน เทือกเขาพนมดงรักและ ภูเขาทรายบริเวณใกล้เชิง
			24. เขียดลิ้น	24. <i>Occidozyga laevis</i> (Gunther, 1859)	- พบทางภาคใต้ตอนล่าง
			25. เขียดจะนา	25. <i>Occidozyga lima</i> (Gravenhorst, 1829)	- พบตามแหล่งน้ำจืด เช่น หนอง บึง คู คลอง และนา ข้าว
			26. เขียดหลังป้อม	26. <i>Occidozyga magnapustulosus</i> (Taylor & Elbel, 1958)	- พบตามแหล่งน้ำบนภูเขา
			27. เขียดทราย หรือเขียดน้ำนอง	27. <i>Occidozyga martensii</i> (Peters, 1867)	- อาศัยอยู่ตามป่าที่ราบ
			28. กบคอดำห่ม ปก	28. <i>Paa bourreti</i> (Dubois, 1987)	- พบบนคอดำห่มปก จ. เชียงใหม่
			29. กบอกหนาม	29. <i>Paa fasciculispina</i> (Inger, 1970)	- พบที่เขาสอยดาว เขาคิชฌกูฏ และเขาสระ บาป

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด		
			30. กบภูหลวง	30. <i>Rana chapaensis</i> (Bourret, 1947)	- พบตามลำธารน้ำนิ่งหรือ แอ่งพรุนบนยอดภูหลวง
			31. กบหลัง ลายเฉียง	31. <i>Rana miopus</i> (Boulenger, 1918)	- พบที่ จ. กระบี่ และทาง ภาคใต้ตอนล่าง
			32. กบว้ากเล็ก	32. <i>Rana baramica</i> (Boettger, 1901)	- พบในป่าพรุและป่าดิบ ชื้น
			33. กบว้ากใหญ่	33. <i>Rana glandulosa</i> (Boulenger, 1882)	- พบในป่าพรุหรือแอ่งน้ำ นิ่ง
			34. กบเขาห้อง ลาย	34. <i>Rana luctuosa</i> (Peters, 1871)	- พบบนเขาหลวง จ. นครศรีธรรมราช
			35. กบหลังจุด	35. <i>Rana signata</i> (Gunther, 1872)	- อาศัยอยู่ตามลำธารใน ภาคใต้
			36. กบหูดำ	36. <i>Rana cubitalis</i> (Smith, 1917)	- พบเหนือภาคใต้ขึ้นมา
			37. กบสังขละ	37. <i>Rana leptoglossa</i> (Cope, 1868)	- พบที่ จ. กาญจนบุรี และ บริเวณใกล้เคียง
			38. กบเขาใหญ่	38. <i>Rana milleti</i> (Smith, 1921)	- อาศัยอยู่ตามพื้นป่าและ บริเวณลำธาร
			39. กบเขาสอย ดาว	39. <i>Rana montivaga</i> (Smith, 1921)	- พบที่เขาสอยดาว จ. จันทบุรี
			40. กบอ่องใหญ่	40. <i>Rana mortenseni</i> (Boulenger, 1903)	- พบตามลำธารในป่าดิบ ชื้นที่เกาะช้าง
			41. กบนิโคบาร์	41. <i>Rana nicobariensis</i> (Stoliczka, 1870)	- พบที่ จ.นครศรีธรรมราช และ จ. ยะลา
			42. กบอ่องเล็ก	42. <i>Rana nigrovittata</i> (Blyth, 1856)	- อาศัยอยู่ตามลำธารทั่วไป

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด		
			43. กบหวีด หรือกบ ชะง่อนผาใต้	43. <i>Rana hosii</i> (Boulenger, 1891)	- พบทางภาคใต้
			44. กบเขาหลังดอง	44. <i>Rana raniceps</i> (Peters, 1871)	- พบทางภาคใต้
			45. กบชะง่อนผาถอย อินทนนท์	45. <i>Rana archotaphus</i> (Inger & Chan – ard, 1996)	- พบบนคอกยสูง จ. เชียงใหม่และ เชียงราย
			46. กบชะง่อนผา ตะนาวศรี	46. <i>Rana livida</i> (Blyth, 1856)	- พบทางภาคตะวันตกถึง ภาคใต้ตอนบน
			47. กบชะง่อนผา อีสาน	47. <i>Rana cf. livida</i>	- พบที่ จ.เชียงใหม่ จ.เลย จ. ชัยภูมิ และที่เขาค้อใหญ่
			48. กบชะง่อนผาภู หลวง	48. <i>Rana</i> sp.	- พบที่ภูหลวง จ.เลย
			49. เขียดบัวหรือ เขียดจิก	49. <i>Rana erythraea</i> (Schlegel, 1837)	- พบทุกภาค
			50. เขียดหลังขี้ด	50. <i>Rana macrodactyla</i> (Schlegel, 1837)	- อาศัยตามที่ราบลุ่มทั่วไป พบทุกภาค
			51. เขียดไค้ห้วย	51. <i>Rana taipehensis</i> (Van Denburgh, 1909)	- พบตามป่าบนภูเขา
			52. กบเขาสูง	52. <i>Rana cf. alticola</i> (Boulenger, 1882)	- พบทางภาคตะวันตก ถึง ภาคใต้ตอนบน
			53. กบคอกยอินทนนท์	53. <i>Rana schmackeri</i> (Boettger, 1892)	- พบบนคอกยอินทนนท์ จ. เชียงใหม่
			54. กบสีชมพู	54. <i>Rana johnsi</i> (Smith, 1921)	- พบบนภูหลวง จ. เลย
			55. กบหลังไหล	55. <i>Rana lateralis</i> (Boulenger, 1887)	- อาศัยอยู่ตามป่าที่แห้งแล้ง เช่น ป่าเต็งรัง

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Ranidae	วงศ์กบ เขียด 56. กบกา 57. กบป่าไผ่	56. <i>Taylorana limborgi</i> (Sclater, 1892) 57. <i>Taylorana hascheana</i> (Stoliczka, 1870)	- พบทางภาคตะวันตก - พบทางภาคใต้
3	Anura	Rhacophoridae	วงศ์ปาด มี 32 ชนิด 1. ปาดจิวหลังขีด 2. ปาดจิวศรีราชา 3. ปาดจิวลายแต้ม 4. ปาดจิวพม่า 5. ปาดป่าจูดขาว 6. ปาดแกระหลังขีด 7. ปาดแกระขาเรียว 8. ปาดแกระป่า 9. ปาดแกระลาย เหลือง 10. ปาดแกระห้องลาย	1. <i>Chirixalus doriae</i> (Boulenger, 1893) 2. <i>Chirixalus hansenae</i> (Cochran, 1827) 3. <i>Chirixalus nongkhorensis</i> (Cochran, 1927) 4. <i>Chirixalus vittatus</i> (Boulenger, 1887) 5. <i>Nyctixalus pictus</i> (Peters, 1871) 6. <i>Philautus carinensis</i> (Boulenger, 1887) 7. <i>Philautus gracilipes</i> (Bourret, 1937) 8. <i>Philautus parvulus</i> (Boulenger, 1893) 9. <i>Philautus petersi</i> (Boulenger, 1900) 10. <i>Philautus vermiculatus</i> (Boulenger, 1900)	อาศัยอยู่ตามไม้พุ่มหรือ บนต้นไม้ - พบทางภาคเหนือและ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ - พบทางภาคตะวันออก ถึงภาคตะวันออกเฉียงใต้ - พบทุกภาคยกเว้น ภาคใต้ - พบทางภาคเหนือและ ภาคตะวันตก - พบทางภาคใต้ - พบที่ดอยอินทนนท์ จ. เชียงใหม่ - พบที่ดอยอินทนนท์ จ. เชียงใหม่ - พบทุกภาคยกเว้น ภาคใต้ - อาศัยอยู่ในป่าดิบชื้น พบทางภาคใต้ตอนล่าง - พบทางภาคใต้ตอนล่าง

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Rhacophoridae	วงศ์ปาด		
			11. ปาดนิ้วเขมรลาย	11. <i>Polypedates colletti</i> (Boulenger, 1890)	- อาศัยอยู่ในป่าพรุและป่า ดิบชื้นในภาคใต้
			12. ปาดบ้าน	12. <i>Polypedates</i> <i>leucomystax</i> (Gravenhorst, 1829)	- พบทุกภาค
			13. ปาดหูดำ	13. <i>Polypedates macrotis</i> (Boulenger, 1891)	- พบทางภาคใต้
			14. เขียดตะปาด	14. <i>Polypedates mutus</i> (Smith, 1940)	- พบทางภาคเหนือ ตะวันตก ตะวันออกเฉียง เหนือถึงตะวันออกเฉียง ใต้
			15. ปาดลายเลอะใต้	15. <i>Rhacophorus</i> <i>appendiculatus</i> (Gunther, 1859)	- พบทางภาคใต้
			16. ปาดลายเลอะ อีสาน	16. <i>Rhacophorus bisacculus</i> (Taylor, 1962)	- พบทางภาคตะวันออก เฉียงเหนือ ถึงตะวันออก เฉียงใต้
			17. ปาดลายเลอะ เหนือ	17. <i>Rhacophorus</i> <i>verrucosus</i> (Boulenger, 1893)	- พบทางภาคเหนือ ตะวันตก และภาคใต้ ตอนบน
			18. ปาดคิน เหลืองเหนือ	18. <i>Rhacophorus</i> <i>bipunctatus</i> (Ahl, 1927)	- พบทางภาคเหนือถึง ภาคใต้ตอนบน
			19. ปาดจุดฟ้า	19. <i>Rhacophorus</i> <i>cyanopunctatus</i> (Manthey & Steioff, 1998)	- พบทางภาคใต้

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Rhacophoridae	วงศ์ปาด		
			20. ปาดตีนเหลือง อีสาน	20. <i>Rhacophorus orlovi</i> (Zeigler & Kohler, 2001)	- อาศัยอยู่ตามเหือกเขาภูพานถึงเหือกเขานมดงรัก
			21. ปาดตีนเหลืองเขาใหญ่	21. <i>Rhacophorus</i> sp.	- พบบนเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา
			22. ปาดคอยอินทนนท์	22. <i>Rhacophorus feae</i> (Boulenger, 1893)	- อาศัยอยู่ในป่าดิบเขาบนภูเขาสูง
			23. ปาดชักษ์	23. <i>Rhacophorus maximus</i> (Gunther, 1859)	- พบที่ จ.ราชบุรี และ จ. เพชรบุรี
			24. ปาดเขียวคั่นดำ	24. <i>Rhacophorus nigropalmatus</i> (Boulenger, 1896)	- พบทางภาคใต้
			25. ปาดตีนแดง	25. <i>Rhacophorus pardalis</i> (Gunther, 1858)	- พบที่ จ.นราธิวาส และ จ. สุราษฎร์ธานี
			26. ปาดเขียวคั่นแดง	26. <i>Rhacophorus prominans</i> (Smith, 1914)	- พบที่ จ.นราธิวาส
			27. ปาดเขียวคั่นลาย	27. <i>Rhacophorus reinwardtii</i> (Schlegel, 1837)	- พบที่ จ.กาญจนบุรี และ ภาคใต้ตอนล่าง
			28. ปาดขาลาย	28. <i>Rhacophorus robinsoni</i> (Boulenger, 1903)	- พบที่น้ำตกทรายขาว จ. ปัตตานี
			29. ปาดตะปุ่มเล็ก	29. <i>Theloderma asperum</i> (Boulenger, 1886)	- พบทุกภาค
			30. ปาดตะปุ่มใหญ่	30. <i>Theloderma gordonii</i>	- พบที่ จ. เชียงใหม่

บัญชีรายชื่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย (ต่อ)

เลขที่	Order	Family	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	การแพร่กระจาย
3	Anura	Rhacophoridae	วงศ์ปาด 31. ปาดตะปุ่มมลายู 32. ปาดตะปุ่มจันทบุรี	31. <i>Theلودerma horridum</i> (Boulenger, 1903) 32. <i>Theلودerma stellatum</i> (Taylor, 1962)	- พบที่ จ.นราธิวาส และ จ.ยะลา - พบทางภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนล่าง และภาค ตะวันออกเฉียงใต้