- 1 มี.ค. 2543

สำนักหอสมุด
มหาวิทยาลัยทักษิณ

116215

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาโครโมโซมของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยที่พบในประเทศไทย

A Chromosome study on two species of shrimps

Penaeus monodon Fabricius and *Penaeus merguiensis* de Man from Thailand

โดย

นางแจ่มจันทร์ เพชรศิริ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยทักษิณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2540

หนังสือนี้เป็นสมบัติของสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยทักษิณ
หากตกอยู่กับผู้ใดโดยไม่ชอบธรรม
ผู้พบเห็นกรุณานำส่งสำนักหอสมุดด้วย จักเป็นกุศลยิ่งนัก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณ แผนกเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี และภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ใช้สถานที่ และครุภัณฑ์ในการวิจัย สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดปัตตานี ที่อนุเคราะห์พันธุ์กุ้งแชบ๊วย รวมทั้งขอขอบคุณ อาจารย์รพีพร เรืองช่วย และอาจารย์เศวต ไชยมงคล ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานการวิจัยนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจ พร้อมทั้งยินดีรับฟังความคิดเห็น และข้อเสนอแนะเพื่อนำไปปรับปรุงในการวิจัยครั้งต่อไป

แจ่มจันทร์ เพชรศิริ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยทักษิณ

การศึกษาโครโมโซมของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยที่พบในประเทศไทย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาโครโมโซมของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) และกุ้งแชบ๊วย (Penaeus merguiensis de Man) ที่พบในประเทศไทย โดยนำกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยทั้งเพศผู้และเพศเมีย จำนวนชนิดละ 50 ตัว ขนาดความยาวเฉลี่ย 14.00 เซนติเมตร และ 7.00 เซนติเมตร ตามลำดับ มาตัดขาเดินคู่ที่ 2 เลี้ยงไว้ 1 สัปดาห์ นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่งอกใหม่ (Regeneration blastema) ของขาเดินคู่ที่ 2 มาผ่านขั้นตอนการเตรียมโครโมโซม ตามวิธีของ ฮายาชิและฟูจิวารา (Hayashi and Fujiwara , 1988) นับจำนวนโครโมโซมในระยะเมตาเฟส (Metaphase) จำนวน 50 เซลล์ และการจำแนกโครโมโซมถือเอาตามวิธีของลีแวนและคณะ (Levan et al.. ,1964) พบว่ากุ้งกุลาดำมีจำนวนโครโมโซม แบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 88 ส่วนคาริโอไทพ์ประกอบด้วยโครโมโซมเป็นแบบเมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก 28 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 16 คู่ ส่วนกุ้งแชบ๊วยมีจำนวนโครโมโซม แบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 88 ส่วนคาริโอไทพ์เป็นแบบเมตาเซนตริก และสับเมตาเซนตริก 10 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 34 คู่

ผลการทดลองสรุปได้ว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด ข้อมูลด้านไซโตจีเนติกเหล่านี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปใช้ในการผสมพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ หรือการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมของกุ้งทั้งสองชนิดนี้และกุ้งชนิดอื่นต่อไปในอนาคต

Abstract

A chromosome study was conducted in two species of shrimps , *Penaeus monodon* Fabricius and *Penaeus merguiensis* de Man found in Thailand. Fifty specimens of each male and female were studied. Each species average length standard 14.00 cm. and 7.00 cm. respectively, were cut off a second pair of periopods. These mutilated specimens were kept in a small aquarium for one week to induce the regeneration blastema. The method of chromosome preparation was followed the Hayashi and Fujiwara techinque (1988). The classification of chromosomes followed the method recommended by Levan et al. 1964 . The results of this study are as follows :

The diploid chromosome of *Penaeus monodon* Fabricius is 88 . The karyotype consists of 28 metacentric and submetacentric 16 telocentric and acrocentric pairs. The diploid chromosome of *Penaeus merguiensis* de Man is 88. The karyotype consists of 10 metacentric and submetacentric , and 34 subtelocentric and acrocentric pairs.

This result might be concluded that *Penaeus monodon* were closely related to *Penaeus merguiensis*. This cytogenetic data may become a basic database of cytotaxonomy study about Giant tiger prawn and White prawn in the future such as inbreeding , genetic improvement or chromosome manipulation of both shrimps or other shrimps.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	1
สารบัญภาพ	2
บทที่ 1 บทนำ	3
ความสำคัญของปัญหา	3
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ขอบเขตของการวิจัย	4
สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย	4
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	5
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	13
บทที่ 4 ผลการทดลอง	15
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	23
บรรณานุกรม	24
ภาคผนวก	26

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	แสดงความถี่ในการกระจายของโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะเมตาเฟส ของการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีสของกุ้งกุลาดำ	16
ตารางที่ 2	แสดงความถี่ในการกระจายของโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะเมตาเฟส ของการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีสของกุ้งแชบ๊วย	16
ตารางที่ 3	แสดงจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) และคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย	17

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	แสดงลักษณะและขนาดของกุ้งกุลาดำที่นำมาใช้ในการทดลองหาจำนวนโครโมโซม	19
ภาพที่ 2	แสดงลักษณะและขนาดของกุ้งแชบ๊วยที่นำมาใช้ในการทดลองหาจำนวนโครโมโซม	19
ภาพที่ 3	แสดงเนื้อเยื่อที่งอกใหม่จากบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 ของกุ้งกุลาดำ	20
ภาพที่ 4	แสดงเนื้อเยื่อที่งอกใหม่จากบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 ของกุ้งแชบ๊วย	20
ภาพที่ 5	แสดงจำนวนโครโมโซมแบบของกุ้งกุลาดำ $2n = 88$	21
ภาพที่ 6	แสดงจำนวนโครโมโซมของกุ้งแชบ๊วย $2n = 88$	21
ภาพที่ 7	แสดงคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำ	22
ภาพที่ 8	แสดงคาริโอไทพ์ของกุ้งแชบ๊วย	23

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

กุ้งทะเลเป็นกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นอย่างมาก จึงมีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้กระทำติดต่อกันมานานเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 20 ปี และมีจำนวนผู้เลี้ยงและเนื้อที่เพาะเลี้ยงกุ้งทะเลเพิ่มมากขึ้นทุกปี มีผลให้ปริมาณและมูลค่าในการส่งออกมากกว่าข้าวและยางพารา ซึ่งเป็นสินค้าส่งออกที่มีมูลค่าในอันดับต้น และเคยเป็นสินค้าหลักของประเทศ เช่นในปี พ.ศ. 2536 2537 และ 2538 ได้มีการส่งออกกุ้งทะเลคิดเป็นมูลค่าทั้งสิ้น 38,622 49,874 และ 51,246 ล้านบาท ตามลำดับ (กรมประมง,2540) แต่ปัจจุบันแนวโน้มการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งเพื่อใช้ในการเพาะพันธุ์มีมากขึ้น เนื่องจากความต้องการลูกกุ้งเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสรีรวิทยา ชีววิทยา รวมทั้งนิเวศวิทยาของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ซึ่งนำไปเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก เพื่อประโยชน์ทางการศึกษาและการพัฒนาทางวิชาการที่ถูกต้อง ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตเป็นประโยชน์ทางเศรษฐกิจให้ยาวนาน ไม่ขาดตอน การรวบรวมความรู้เกี่ยวกับการศึกษาโครโมโซมและคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยยังไม่มีรายงานว่ามีผู้ใดศึกษามาก่อนในประเทศไทย จึงเป็นสิ่งที่น่าให้ความสนใจในการศึกษาอย่างยิ่งว่า โครโมโซมของกุ้งชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทพ์แตกต่างกันมากน้อยเพียงใด ผลที่ได้จากการศึกษาอาจนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านไซโตแทกโซโนมีและด้านการปรับปรุงสายพันธุ์ของกุ้งทะเลชนิดอื่นๆ ตลอดจนเป็นแนวทางในการปรับปรุงประสิทธิภาพในการใช้พ่อแม่พันธุ์กุ้งให้สูงขึ้นต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาโครโมโซมและคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านไซโตแทกโซโนมีของกุ้ง
2. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงสายพันธุ์กุ้ง

ขอบเขตของการวิจัย

เก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำจากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง จำนวน 50 ตัว และกุ้งแชบ๊วยจากสถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดปัตตานี จำนวน 50 ตัว มาทำการนับจำนวนโครโมโซมจำนวนชนิดละ 50 เซลล์ และจัดทำคาริโอไทพ์

สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำจากฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดปัตตานี และเก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยจากสถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดปัตตานี นำมาตัดขาบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 เลี้ยงไว้ที่ แผนกเทคโนโลยีประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อ. เมือง จ. ปัตตานี เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำเนื้อเยื่อที่งอกใหม่มาผ่านขั้นตอนการศึกษาโครโมโซม นับจำนวนโครโมโซม และจัดทำคาริโอไทพ์ ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อ. เมือง จ. สงขลา

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม 2540 ถึงเดือน มิถุนายน 2540 รวมระยะเวลา 6 เดือน

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในเอเชีย (ชมรมพัฒนาการประมง,2521) มีความยาวลำตัว (Body length) ถึง 270 มิลลิเมตร มีน้ำหนักถึง 260 กรัม มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Giant tiger prawn มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius เป็นที่นิยมของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก เพราะมีรสชาติดี ประกอบอาหารได้หลายชนิด เป็นที่ต้องการของตลาดมาก ราคาดี จึงทำให้มีการเพาะเลี้ยงและพยายามพัฒนาคุณภาพ เทคนิค วิธีการเพาะเลี้ยงให้ได้ผลดีขึ้นตลอดเวลา

ลักษณะทั่วไปและการจัดอันดับทางอนุกรมวิธาน

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ มีสีสรรสดใส ผิวเป็นมันมองเห็นได้ชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจากมีการสะสมของเม็ดสี (Chromatophore) ที่เปลือกคลุม (Cuticle) มักจะมีสีแดงถึงแดงคล้ำ ถ้าจับจากทะเลลึกใหม่ๆ จะเห็นเป็นสีแดงสดและมีวงแหวนสีขาวสลับสีดำของแต่ละปล้องตลอดลำตัว และมักจะมีจุดสีเข้มประอยู่กระจายทั่วไป หนวดจะมีสีเทาปนเขียวหรือน้ำตาล ส่วนระยางค์มักจะมีสีน้ำตาลและมีขนอ่อนสีแดงอยู่โดยรอบของปลายหาง และขาว่ายน้ำมีขนสีแดง (กรมประมง,2530) อย่างไรก็ตามสีของกุ้งสามารถจะเปลี่ยนแปลงไปได้ตามสภาพแวดล้อมและการปรับตัว เช่นมักจะพบว่ากุ้งในเขตน้ำกร่อยที่ไม่ลึกนักมักจะมีสีน้ำตาลเข้มหรือกุ้งที่เลี้ยงในบ่อมักมีสีจางซีด (สุเมธ,2531) นอกจากนี้สีของกุ้งก็จะเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการลอกคราบด้วย เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสรีระจึงทำให้ขบวนการสร้างและสะสมเม็ดสีเปลี่ยนไป จะเห็นว่ากุ้งที่ลอกคราบใหม่ๆ สีจะซีดไม่สดใส หรือกุ้งที่กำลังจะลอกคราบสีก็จะจางลงกว่าปกติ

ลำตัวของกุ้งจะเป็นข้อปล้อง รวม 19 ปล้อง แต่ละปล้องมีระยางค์ 1 คู่ มีหน้าที่เฉพาะ โดยส่วนหัวกับอกรวมกันเป็นส่วนหัว-อก (Cephalothorax) อยู่ภายใต้เปลือกคลุมหัว (Carapace) ภายในจะมีอวัยวะภายในต่างๆ เรียงตัวกันอยู่ และด้านบนของเปลือกคลุมหัวจะมีกรี (Rostrum) ลักษณะเรียวแหลม โค้งเล็กน้อยยื่นออกไปข้างหน้ายาวกว่าตาเล็กน้อย ด้านบนของกรีจะมีหนามเป็นฟันหยักชี้ไปข้างหน้า 6-8 ซี่ ด้านล่าง 2-4 ซี่ ด้านข้างของกรีจะมีขอบสันนูนยาวเข้ามาในเปลือกหัวจนเกือบถึงหนามซี่ในสุดด้านบนของกรี แต่สันนูนของกรียาวจนเกือบสุดเปลือกหัว ลูกตาติดอยู่กับก้านตาที่ยื่นยาวออกมาจากเบ้าตา สามารถโยกคลอนได้ หลังเบ้าตามีหนามเล็กๆ และมีรอยสันนูน ซึ่งอยู่ระหว่างขอบเปลือกหลังเบ้าตาถึง Hepatic spine ซึ่งอาจจะยาว 1/3 –1/2 ของช่วงนี้ และถัดลงมาด้านล่างจะเป็นรอยสันนูนอีกอันหนึ่ง

ระยางค์ส่วนหัว (Cephalic appendages) มีรวม 5 คู่ ประกอบด้วย

1. หนวดคู่สั้น (Antennule) มีปลาย 2 แฉก
2. หนวดคู่ยาว (Antenna) ซึ่งใช้สัมผัสรับความรู้สึก
3. ระยางค์ส่วนปาก ขากรรไกรบน ล่าง ใช้ขบเคี้ยว บดอาหาร มีรวม 3 คู่

ระยางค์ส่วนอก (Thoracic appendages) มีรวม 8 คู่ ประกอบด้วย

1. แมกซิลิเปด (Maxillipeds) 3 คู่แรกทำหน้าที่ในการช่วยจับอาหาร ช่วยในการกินอาหาร
2. ขาเดินหรือเพอริโอพอด (Periopods) ทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่และต่อสู้ป้องกันตัว โดยที่ 3 คู่แรกของขาเดิน ปล้องส่วนปลายจะมีลักษณะเป็นก้าม (Chelate) ส่วน 2 คู่หลังมีปลายแหลมตามปกติ

ระยางค์ส่วนท้อง (Abdominal appendages) มีรวม 6 คู่ ประกอบด้วย

ระยางค์ส่วนนี้เรียกรวมกันว่า ขาว่ายน้ำ (Pleopods หรือ Swimmerets) มีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ คล้ายใบพาย ทำหน้าที่ในการว่ายน้ำโบกพัดให้เคลื่อนที่มีรวม 5 คู่ ในแต่ละปล้อง แต่คู่สุดท้ายจะเปลี่ยนสภาพไปเป็นแพนหาง (Uropods) ติดกับหาง (Telson) เป็นแพนคล้ายหางเสือ ทำหน้าที่กำหนดทิศทางในการเคลื่อนที่ของกุ้ง

การจัดอันดับทางอนุกรมวิธานสามารถจัดได้ดังนี้

Phylum	Arthropoda
Class	Crustacea
Order	Decapoda
Family	Penaeidae
Genus	*Penaeus*
Species	*monodon*

การแพร่กระจายและแหล่งที่อยู่อาศัย

กุ้งกุลาดำสามารถอาศัยได้ในน้ำกร่อยและน้ำเค็ม จะชอบอยู่ในบริเวณที่มีความเค็มมากกว่า แต่ก็ขึ้นอยู่กับช่วงชีวิตของกุ้งเอง เพราะบางช่วง เช่น ในช่วงวัยรุ่น กุ้งจะมาอาศัยหากินบริเวณเขตชายฝั่งซึ่งมักเป็นเขตน้ำกร่อยที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง มีการอพยพโยกย้ายถิ่นเพื่อการสืบพันธุ์ในทะเลลึก ดังนั้นกุ้งกุลาดำจึงมีการย้ายถิ่นเพื่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ตลอดเวลา

เขตที่พบกุ้งกุลาดำมากและหนาแน่นชุกชุมมากกว่าบริเวณอื่นได้แก่ เขตมหาสมุทรอินเดีย จนถึงเขตตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิค (Indo-west pacific region) ซึ่งครอบคลุมอาณาเขตตั้งแต่ทางใต้ของทวีปอาฟริกา ขึ้นมาถึงเขตกลุ่มประเทศอาหรับและคาบสมุทรอินเดียเรื่อยมาถึงกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ คาบสมุทรเกาหลี ญี่ปุ่น และทวีปออสเตรเลีย แต่แหล่งที่พบมากในเขตร้อนได้แก่ เขตประเทศฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย และตอนใต้ของประเทศไทย ซึ่งพบแพร่กระจายทั่วไปในอ่าวไทย แต่จะพบมากบริเวณเกาะช้าง บริเวณนอกฝั่งจังหวัดชุมพรถึงนครศรีธรรมราช และทางฝั่งมหาสมุทรอินเดีย แหล่งที่อยู่อาศัยของกุ้งจึงกระจายอยู่ทั้งเขตชายฝั่ง ที่มีพื้นดินเป็นทราย ปนโคลน หรือทรายปนเปลือกหอยและหินปะการัง ป่าชายเลน และเขตทะเลลึกนอกไหล่ทวีป ขึ้นอยู่กับพัฒนาการของกุ้ง อายุของกุ้ง ซึ่งจะทำให้กุ้งที่อยู่ในระยะต่างๆ มีความต้องการแหล่งที่อยู่อาศัยต่างกันไป กุ้งกุลาดำอาศัยอยู่ได้ในแหล่งน้ำที่มีความเค็มอยู่ระหว่าง 5-35 ส่วนในพันส่วน แต่ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-30 ส่วนในพันส่วนและอุณหภูมิน้ำ 22-34 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามอาจจะพบกุ้งกุลาดำในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากนี้ไปบ้างทั้งนี้เพราะกุ้งสามารถปรับตัวได้เหมือนกันขึ้นอยู่กับความแข็งแรง และสรีระของกุ้งตัวนั้นๆ

การสืบพันธุ์

กุ้งกุลาดำมีเพศแยก ซึ่งสามารถแยกจากการสังเกตจากลักษณะภายนอกของอวัยวะช่วยในการสืบพันธุ์ของแต่ละเพศได้อย่างชัดเจน โดยที่กุ้งเพศผู้จะมีอวัยวะเพศผู้เรียกว่าปีแตสมา (Petasma) มีลักษณะเป็นเดือยโค้งแข็งรูปตัว s 2 อันข้างซ้ายและขวายึดติดกันด้วยแผ่นเยื่อบางๆ ซ้อนทับกันหลายชั้นติดอยู่ระหว่างโคนขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 ตรงกลางของปีแตสมาจะเชื่อมติดกันมีลักษณะคล้ายซิปซึ่งสามารถจะถูกยก และทำให้เกิดลักษณะคล้ายร่องขณะผสมพันธุ์ ดังนั้นในสภาพปกติ ปีแตสมาจะวางตัวทอดยาวจากขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 ถึงโคนขาเดินคู่ที่ 4 นอกจากนี้ในเพศผู้มีอวัยวะช่วยผสมพันธุ์อีกอย่างหนึ่งคือ แอบเพนดิกซ์ มาสคูไล (Appendix masculina) ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากระยางค์ของขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 และช่องเปิดของอสุจิมี 2 ข้าง ระหว่างโคนขาเดินคู่ที่ 5

ส่วนเพศเมียอวัยวะช่วยสืบพันธุ์ภายนอกที่มองเห็นได้คือ ทีไลคัม (Thelycum) มีลักษณะเป็นแผ่นแข็งข้างในเป็นลอนคล้ายพูเล็กๆ เรียงกันภายในจะมีถุงเก็บน้ำเชื้อเพศผู้ (Spermatophore หรือ Seminal receptacle) ไว้สำหรับเก็บน้ำเชื้อเวลาผสมพันธุ์เอาไว้ก่อนเพื่อปล่อยผสมกับไข่สุกเต็มที่พร้อมที่จะปล่อยออกมาผสม โดยที่ทีไลคัมจะมีขนอ่อนๆ อยู่ช่วยโบกพัดเอาอสุจิเข้าไปเก็บไว้ และตำแหน่งอยู่ระหว่างโคนขาเดินคู่ที่ 4-5 โดยที่ช่องเปิดของไข่จะอยู่ระหว่างโคนขาเดินคู่ที่ 3 และช่องเปิดของอสุจิที่เก็บไว้ในทีไลคัมจะอยู่ระหว่างโคนขาเดินคู่ที่ 4 และโดยทั่วไปกุ้งตัวผู้มักจะมีขนาดเล็กรูปร่างปราดเปรียวว่องไวกว่าตัวเมีย

เมื่อกุ้งกุลาดำสมบูรณ์เพศจะทำการผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน และเมื่อแม่กุ้งพร้อมจะวางไข่ใช้เวลาประมาณ 3-5 นาที สำหรับการวางไข่ ไข่ที่ผสมแล้วขณะออกมาใหม่ๆ จะมีลักษณะกลมมีเมือกหุ้ม และจะเจริญฟักออกเป็นตัวภายใน 14-16 ชั่วโมง จากนั้นลูกกุ้งจะมีการวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การเจริญเติบโตโดยอาศัยการลอกคราบไปตามขั้นตอน

กุ้งแชบ๊วย

จัดเป็นกุ้งทะเลขนาดใหญ่ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีชื่อภาษาอังกฤษว่า White prawn มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Penaeus merguensis* de Man

การจัดอันดับทางอนุกรมวิธานสามารถจัดได้ดังนี้

Phylum	Arthropoda
Class	Crustacea
Order	Decapoda
Family	Penaeidae
Genus	*Penaeus*
Species	*merguiensis*

ลักษณะทั่วไป

ลำตัวมีสีเหลือง มีจุดสีน้ำตาลแดง ไม่มีลายบนลำตัวและหนวด (Gray , Dall และ Baker , 1983) มีกรีอยู่ในแนวระดับยาวเป็น 0.8 เท่า ของความยาวของเปลือกหัวและยาวเลยเอ็กโซโพไดท์ (Exopodite) ของหนวดคู่ที่ 1 สันกรีสูง ปลายกรีแคบ ส่วนของกรีมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยม สีน้ำเงิน ฟันกรีด้านบนมี 6-7 ซี่ ในจำนวนนี้จะมี 3 ซี่ ที่ตั้งอยู่บนสันของเปลือกหัว และฟันกรีซี่สุดท้าย อยู่ที่ระยะ 1 ใน 3 ของเปลือกหัว ฟันกรีด้านล่างมี 4-5 ซี่ ร่องข้างกรีและร่องบนกรีตื้น และจะหายไปในแถบตอนกลางของเปลือกหัว กุ้งชนิดนี้มีสีขาวครีม มีมากในบริเวณน้ำตื้นประมาณ 10 เมตร (ปกรณ์ ,2531) พบทั่วไปในแถบอินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยกุ้งชนิดนี้พบมากในนากุ้ง บริเวณปากแม่น้ำ พื้นที่ๆ เป็นโคลนปนทราย

อัตราความเจริญเติบโต

เท่าที่พบจากอวนลาก ตัวโตเต็มวัยเพศผู้มีความยาว 20 เซนติเมตร หนัก 30 กรัม เพศเมียมีความยาว 24 เซนติเมตร (สมนึก,2530) ถ้าเลี้ยงในเวลา 2 เดือน จะยาวประมาณ 12 เซนติเมตร และเลี้ยงในเวลา 4-5 เดือนจะมีความยาวประมาณ 15 เซนติเมตร

การวางไข่

กุ้งแชบ๊วยจะวางไข่ตลอดปี แต่ชุกชุมมากในเดือน พฤษภาคม – พฤศจิกายน ซึ่งมักจะมีไข่แก่ในฤดูมรสุม หรือฤดูฝนและหลังฤดูฝน วางไข่บริเวณปากแม่น้ำ ลำคลองซึ่งมีน้ำกร่อย

ลักษณะเพศ

กุ้งแชบ๊วยจะสังเกตุความแตกต่างระหว่างตัวผู้กับตัวเมียได้ง่ายโดยดูจากลักษณะภายนอกคือ ในกุ้งตัวผู้จะเห็นมีอวัยวะเป็นระยางค์ยื่นอยู่ที่โคนขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 (1st Swimmerret) ซึ่งเรียกว่า ปีแตสมา (Petasma) เป็นอวัยวะที่ช่วยในการสืบพันธุ์ ส่วนตัวเมียไม่มีอวัยวะดังกล่าว แต่จะมีอวัยวะเป็นที่สังเกตุอยู่ที่ทรวงอกระหว่างขาเดินคู่ที่ 4 และคู่ที่ 5 (4th 5th Walking leg) ซึ่งเรียกว่า ทีไลกัม (Thelycum) ลักษณะของอวัยวะดังกล่าวของกุ้งแต่ละชนิดย่อมแตกต่างกัน ซึ่งมักเป็นประโยชน์อย่างมากในการจำแนกชนิดของกุ้ง

ความแตกต่างระหว่างกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย

กุ้งกุลาดำต่างกับกุ้งแชบ๊วยตรงที่กุ้งกุลาดำมีสีสรรสวยกว่า มีหนวดสีดำ (ประพันธ์,2531)

การศึกษาโครโมโซมและคาริโอไทพ์

สมัยก่อนการศึกษาโครโมโซมของพวกครัสเตเชียน (Crustacean) ทำการศึกษาโดยตัดเนื้อเยื่อจากอวัยวะสืบพันธุ์หรือโดยวิธีขยี้เซลล์ (Squashing method) (Hayashi และ Fujiwara , 1988) ต่อมาได้ปรับปรุงมาใช้วิธีการทำ air – drying ซึ่งทำให้สามารถตรวจนับจำนวนโครโมโซมได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยฉีดโคลชิซินเข้าช่องท้อง แล้วเก็บตัวอย่างจากบริเวณเหงือก ตับอ่อน มาศึกษานับจำนวนโครโมโซม ซึ่งเหมือนกับวิธีการศึกษาโครโมโซมของปลา (ธวัชและวิเชียร,2535) ซึ่งพบว่าการเก็บตัวอย่างจากเหงือกและตับอ่อนของกุ้ง ตัวอย่างที่ได้จะปนเปื้อนด้วยสิ่งสกปรก ยิ่งไปกว่านั้นต้องฆ่าสัตว์ทดลองเพื่อเก็บตัวอย่างมาศึกษา ปัจจุบันใช้วิธีการเก็บตัวอย่างจากเนื้อเยื่อส่วนที่งอกใหม่ (Regeneration blastema) ซึ่งสามารถทำได้โดยตัดขาเดินของกุ้งคู่ที่ 2 ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ แล้วตัดเนื้อเยื่อส่วนที่งอกใหม่นั้นมาแช่ในสารละลายโคลชิซิน ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะกับพวกครัสเตเชียนและมีข้อดีกว่าการเก็บตัวอย่างแบบเก่าหลายอย่างคือ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่งอกใหม่มีขนาดสั้น ตัวอย่างที่ได้

สะอาดไม่ปนเปื้อนสิ่งสกปรก และที่สำคัญไม่ต้องฆ่าสัตว์ทดลองเพียงแต่ตัดเนื้อเยื่อส่วนที่งอกใหม่บริเวณขาเดินคู่ที่ 2 และสามารถทำการทดลองซ้ำได้ในระยะเวลาอันสั้น โดยใช้สัตว์ทดลองตัวเดิม และไม่มีอิทธิพลจากฤดูกาลเข้ามาเกี่ยวข้องเหมือนกับการเก็บตัวอย่างจากอวัยวะสืบพันธุ์ และจะพบเซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟสจำนวนมากเพราะการแบ่งเซลล์จะเกิดขึ้นตลอดเวลา

จำนวนโครโมโซมของสัตว์ในอันดับ เดคาพอด (Order decapod) พวกครัสเตเชียน มีจำนวนมากกว่าในสัตว์ชนิดอื่น คือมีจำนวนตั้งแต่ 12 ถึง 127 แท่ง (Mital และ Dhall , 1971) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการนับจำนวนโครโมโซมในระยะเมตาเฟส (Metaphase) จากหลายๆ เซลล์ หรือหลายๆ ตัวอย่าง เพื่อที่จะหาจำนวนโครโมโซมที่แน่นอน ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมไม่เพียงแต่จะใช้ในการแยกกลุ่มของสัตว์ในอันดับเดียวกัน แต่ยังใช้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ภายในชนิด (Spicies) เดียวกันด้วย

Murofushi and Deguchi, 1990 กล่าวว่ากุ้งสกุลพีเนียสมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 88-90 แท่ง โดยในปี 1976 Milligan ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของกุ้ง 3 ชนิดคือ *Penaeus aztecus* *P. duorarum* และ *P. setiferus* พบว่า *Penaeus aztecus* และ *P. duorarum* มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 88 ส่วน *P. setiferus* มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 90 และในปี 1988 Hayashi และ Fujiwara ได้มีการศึกษากุ้งในสกุลนี้เพิ่มอีก 1 ชนิด คือ *P. japonicus* มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 86 ต่อมาในปี 1990 Hayashi, Fujiwara และ Tatara ได้ศึกษาทั้งจำนวนและคาริโอไทพ์ ของกุ้งชนิด *Metapenaeopsis barbata* ซึ่งเป็นชนิดแรกในครอบครัวพีเนียดีที่มีการศึกษาทั้งจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทพ์ ซึ่งพบว่ามีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 80 คาริโอไทพ์ประกอบด้วย โครโมโซมแบบ เมตาเซนตริก (Metacentric) หรือ ซับเมตาเซนตริก (Submetacentric) 36 คู่ และทีโลเซนตริก (Telocentric) และสับทีโลเซนตริก (Subtelocentric) 4 คู่

Mittal และ Dhall,1971 พบว่า ถึงแม้ว่ากุ้งในครอบครัวเดียวกันแต่มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน เช่น *Paratelphusa masoniana* และ *Potamon koolooense* มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 67 และ 80 ตามลำดับ ซึ่งตรงข้ามกับกุ้งชนิด *Macrobrachium siwalikensis* มีจำนวนโครโมโซมแบบแฮพลอยด์ (hapliod) (n) เท่ากับ 50 ซึ่งมีจำนวนใกล้เคียงกับกุ้งชนิด *Ovalipes punctatus* มีจำนวนโครโมโซมแบบแฮพพลอยด์ (n) เท่ากับ 51, 52 ทั้งๆ ที่กุ้งทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และ Hayashi และ Fujiwara , 1988 พบว่ากุ้งในสกุลเดียวกันอาจมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันหรือแตกต่างกันก็ได้ เช่น *Penaeus japonicus* มีโครโมโซมแบบดิพลอยด์ เท่ากับ 86 ส่วน *Penaus aztecus* และ *Penaeus duorarum* มีโครโมโซมแบบ

ดิพลอยด์ เท่ากับ 88 ซึ่งต่างจาก *Penaeus japonicus* ส่วน *Peneus setiferus* มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์เท่ากับ 90

คาริโอไทพ์ (Karyotype)

คาริโอไทพ์หมายถึง การนำเอาโครโมโซมแต่ละอันจากเซลล์ในระยะเมตาเฟส (โดยอาศัยจากเซลล์ใดเซลล์หนึ่งเท่านั้น) มาเรียงเป็นคู่โฮโมโลกัส (Homologous) เรียงตามลำดับจากใหญ่จนถึงเล็ก การวางโครโมโซมจะวางโดยให้แขนข้างสั้นตั้งขึ้น และนิยมวางโครโมโซมเพศอยู่ที่มุมขวาสุดของภาพ (อมรา,2536) การทำคาริโอไทพ์นิยมทำโดยการใช้ภาพที่ถ่ายจากกล้อง สิ่งที่สำคัญที่สุดในการทำคาริโอไทพ์คือต้องมีรูปภาพโครโมโซมที่ดี ชัดเจน การทำคาริโอไทพ์ในพืชและสัตว์มักจะได้รับการเรียงตามความเห็นสวยงามของผู้ศึกษาเอง ปกติจะเรียงจากโครโมโซมใหญ่ที่สุดไปจนถึงเล็กสุด และเรียงภาพโครโมโซมประมาณ 6 คู่ใน 1 แถว โดยมีโครโมโซมเพศปรากฏอยู่ที่มุมภาพล่างด้านขวาสุด โดยเลือกภาพโครโมโซมที่กระจายดีจากเซลล์เมตาเฟสอันใดอันหนึ่ง แล้วตัดโครโมโซมออก อาจใช้กาวทาด้านหลังภาพโครโมโซม หรือใช้เทปใสทับภาพติดโครโมโซมลงไปบนกระดาษรองภาพสีขาว

ชนิดของโครโมโซมในระยะเมตาเฟส

มีการจำแนกโครโมโซมในระยะเมตาเฟส โดยอาศัยตำแหน่งของเซนโตรเมียร์ออกเป็น 4 ชนิดคือ

เมตาเซนตริก (Metacentric) โครโมโซมเมตาเฟสที่มีเซนโตรเมียร์อยู่กึ่งกลางของโครโมโซม มีผลทำให้แขนของโครโมโซมทั้งสองข้างมีความยาวเท่ากัน

สับเมตาเซนตริก (Submetacentric) โครโมโซมที่มีเซนโตรเมียร์ค่อนไปทางด้านใดด้านหนึ่งของปลายโครโมโซม มีผลทำให้แขนทั้งสองข้างของโครโมโซมยาวไม่เท่ากัน จึงมีการกำหนดสัญญลักษณ์ของแขนข้างสั้นคือ "p" และแขนข้างยาว "q"

ทีโลเซนตริก (Telocentric) โครโมโซมเมตาเฟสที่มีเซนโตรเมียร์อยู่ตอนปลายสุดของโครโมโซมมีผลทำให้โครโมโซมมีแขนเพียงข้างเดียว

อะโครเซนตริก (Acrocentric) โครโมโซมเมตาเฟสที่มีเซนโตรเมียร์อยู่เกือบปลายสุดของโครโมโซมซึ่งแขนข้างสั้นมีความสั้นมากจนแทบไม่ปรากฏ

Levan et al., 1964 ได้กำหนดชนิดของโครโมโซมโดยหาอัตราส่วนระหว่างแขนยาวต่อแขนสั้นและความสัมพันธ์ของโครโมโซมแต่ละอันเพื่อนำมาวิเคราะห์คาริโอไทพ์ ความยาวสัมพันธ์คำนวนได้จากสูตรความยาวสัมพันธ์เท่ากับความยาวทั้งหมด (Total length) ของโครโมโซมแต่ละคู่

x 100 ต่อความยาวของแขนทั้งหมดของโครโมโซมที่เป็นส่วนประกอบ การจำแนกโครโมโซมยึดหลักอัตราส่วนของแขนยาวต่อแขนสั้น (Long arm / Short arm) มีช่วงความยาวอยู่ระหว่าง 1.00 – 1.70 โครโมโซมเป็นแบบเมตาเซนตริก (m) ถ้าอัตราส่วนระหว่างแขนยาวต่อแขนสั้นมีช่วงความยาวอยู่ระหว่าง 1.71 – 2.99 โครโมโซมเป็นแบบสับเมตาเซนตริก (sm) ถ้าอัตราส่วนระหว่างแขนยาวต่อแขนสั้นมีช่วงความยาวอยู่ระหว่าง 3.00 – 6.99 โครโมโซมเป็นแบบทีโลเซนตริก (t) ถ้าอัตราส่วนระหว่างแขนยาวต่อแขนสั้นมีช่วงความยาวมากกว่า 7.00 โครโมโซมเป็นแบบอะโครเซนตริก (a) จำนวนแขนของโครโมโซม (Arm number หรือ FN) แบ่งออกเป็น 2 พวก คือพวกที่มีโครโมโซมแขนเดียว (Monoarmed group) ประกอบด้วยโครโมโซมแบบอะโครเซนตริกกับ แบบทีโลเซนตริก กับอีกพวกหนึ่งคือพวกที่มีโครโมโซม 2 แขน (Biarmed group) ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมแบบเมตาเซนตริกกับสับเมตาเซนตริก

บทที่3
อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ชนิดละ 50 ตัว
2. ตู้กระจกขนาด 18 x 24 x18 ลูกบาศก์นิ้ว จำนวน 20 ตู้
3. กล้องจุลทรรศน์แบบผสมพร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพครบชุด
4. เครื่องพ่นออกซิเจน
5. ภาชนะวางสไลด์ย้อมสี
6. หลอดดูดปลายแหลม
7. กรรไกร ปากคีบ
8. สไลด์ และกระจกปิดสไลด์
9. สวิง
10. เครื่องอุ่นสไลด์ (Slide warmmer)
11. โคลชิชิน
12. โพแทสเซี่ยมคลอไรด์
13. กรดอะซิติก
14. แอลกอฮอล์
15. สีกิมซ่า
16. ไดโซเดี่ยมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
17. โซเดี่ยมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4)

วิธีการศึกษา

1. รวบรวมกุ้งกุลาดำขนาดความยาวเฉลี่ย 14 .00 เซนติเมตร จากบ่อเลี้ยงจำนวน 50 ตัว และรวบรวมกุ้งแชบ๊วยจากสถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดปัตตานี ขนาดความยาวเฉลี่ย 7.00 เซนติเมตร จำนวน 50 ตัว
2. นำมาตัดขาเดินคู่ที่ 2 และแยกเลี้ยงในตู้กระจก ตู้ละ 5 ตัว เป็นเวลา 7 สัปดาห์ และให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า - เย็น ถ่ายน้ำทุกวัน และให้เครื่องพ่นอากาศตลอดเวลา
3. ตัดเนื้อเยื่อส่วนของขาเดินคู่ที่ 2 ที่งอกออกมาใหม่ (Regeneration blastemas) ซึ่งมีความยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร นำมาแช่ในสายละลายโคลชิชินความเข้มข้น 0.01 % เป็นเวลา 30 – 60 นาที เพื่อให้โครโมโซมหดตัวสั้นและแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส

มากขึ้น เพราะสารชนิดนี้จะไปยับยั้งการทำงานของเส้นใยสปินเดิล (Spindle fiber) ทำให้พบโครโมโซมในระยะเมตาเฟสมากขึ้น ซึ่งง่ายแก่การศึกษา

4. เมื่อแช่ตัวอย่างในสารละลายโคลชิซิน ครบ 30 – 60 นาที แล้วเปลี่ยนมาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.4 % ซึ่งเป็นไฮโปโทนิค ซูลูชั่น (Hypotonic solution) เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำให้เซลล์พอง
5. นำตัวอย่างมาแช่ในน้ำยา fixative ซึ่งประกอบด้วย กรดอะซิติก 1 ส่วน ผสมกับแอลกอฮอล์ 3 ส่วน ที่เตรียมใหม่ เนื่องจากน้ำยาที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจะเกิดปฏิกิริยาสร้างเอสเทอร์ขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำการแช่ในน้ำยา fixative อย่างน้อย 2 ครั้ง ครั้งละอย่างน้อย 30 นาที เพื่อตรึงโครโมโซมไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง รักษาสภาพของไซโตพลาสซึมและเนื้อเยื่อให้อยู่ในสภาพสมบูรณ์ไม่เปลี่ยนแปลง
6. เอาเนื้อเยื่อออกจาก fixative วางบนกระดาษกรองเพื่อซับเอา fixative ที่ตกค้างออก
7. หลังซับเอา fixative ออกจากเนื้อเยื่อแล้ว วางเนื้อเยื่อบนสไลด์หลุม หยดกรดอะซิติกความเข้มข้น 50 % จำนวน 2 – 3 หยด เพื่อทำให้เนื้อเยื่อกระจายออกจากกัน ใช้หลอดหยดดูดเข้าออกจะช่วยให้เซลล์กระจายตัวดีขึ้น
8. ดูดเอาส่วนที่บดละเอียดแล้วไปหยดบนสไลด์ที่สะอาดอุณหภูมิ 40 – 50 °C บนเครื่องอุ่นสไลด์ การเพิ่มอุณหภูมิช่วยให้เซลล์กระจายและเพิ่มจำนวนเซลล์รอบๆ วงมากขึ้น แต่อุณหภูมิสูง (> 50 °C) จะทำลายโครโมโซม การหยดเนื้อเยื่อบนสไลด์ต้องให้บางที่สุดเพื่อที่เซลล์กระจายไม่ทับกันหนาทึบ และหยดเป็นวง สไลด์ละ 2 – 3 วง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ประมาณ 1 คืน เพื่อให้เนื้อเยื่อติดสไลด์
9. เมื่อเนื้อเยื่อติดสไลด์ดีแล้ว นำสไลด์มาย้อมสี ด้วยสีกิมซ่า ความเข้มข้น 0.4 % ใน 0.01 M phosphate buffer pH 6.8 ที่เตรียมใหม่ทุกครั้ง นาน 15 – 30 นาที
10. นำสไลด์ขึ้นจากสี ล้างสีที่เกินพอด้วยน้ำกลั่น ทิ้งให้แห้งในอากาศหรือวางในไซลีนนาน 10 นาที เพื่อทำให้เซลล์ใส แล้วนำไปตรวจหาโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์
11. บันทึกภาพโครโมโซมและอัดขยาย เพื่อนำมานับจำนวนโครโมโซมและจัดคาริโอไทพ์และตั้งชื่อชนิดของโครโมโซม โดยใช้ความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความยาวแขน (แขนยาว/แขนสั้น) ตามวิธีของลีแวนและคณะ (Levan et. Al., 1964) และเรียงลำดับโครโมโซมตามขนาดที่ลดลง

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius ขนาดความยาวเฉลี่ย 14.00 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) และกุ้งแชบ๊วย *Penaeus merguiensis* de Man ขนาดความยาวเฉลี่ย 7.00 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) โดยศึกษาจากเนื้อเยื่อที่งอกใหม่จากบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 (ภาพที่ 3 และ 4) พบว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย มีจำนวนโครโมโซม ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส ที่นับได้จากเซลล์แต่ละเซลล์มีจำนวนและความถี่สูงสุดคือ 2n = 88 (ตารางที่ 1 และ 2) จากความถี่ของโครโมโซมที่นับได้ นี้สรุปได้ว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยมีจำนวนโครโมโซม 2n = 88 (ภาพที่ 5 และ 6) คาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำประกอบด้วย โครโมโซมแบบเมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก 28 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 16 คู่ (ภาพที่ 7 และตารางที่ 3) ส่วนคาริโอไทพ์ของกุ้งแชบ๊วย ประกอบด้วยโครโมโซมแบบเมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก 10 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 34 คู่ (ภาพที่ 8 และตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 แสดงความถี่ในการกระจายของโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบ ไมโตซีสของกุ้งกุลาดำ

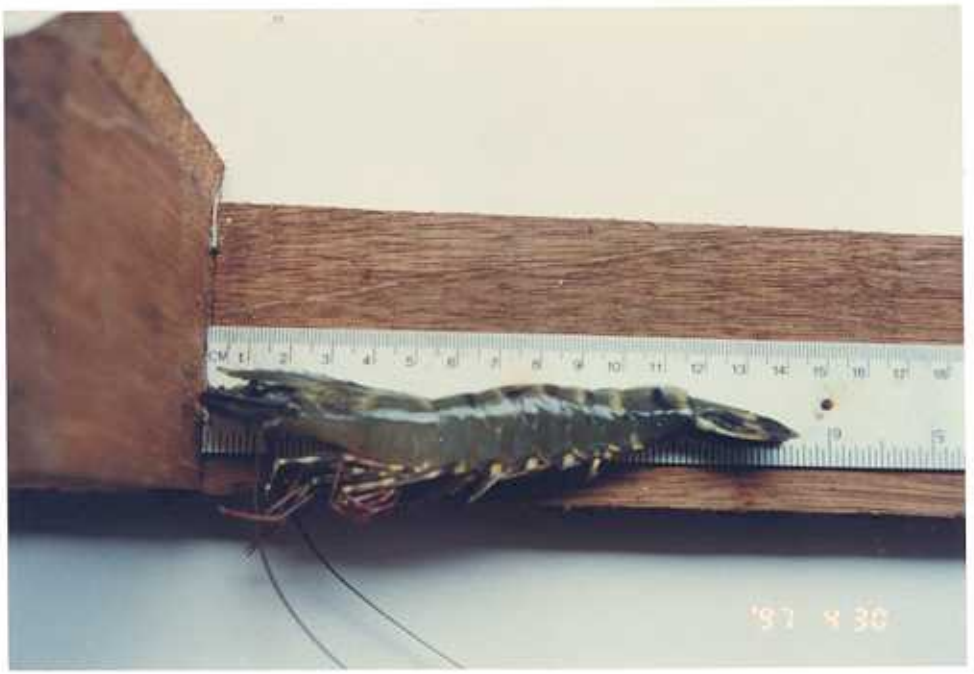
จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์	80	82	84	86	88	90	92	รวมเซลล์
จำนวนความถี่	8	7	8	5	22	-	-	50

ตารางที่ 2 แสดงความถี่ในการกระจายของโครโมโซมแบบดิพลอยด์ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบ ไมโตซีสของกุ้งแชบ๊วย

จำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์	80	82	84	86	88	90	92	รวมเซลล์
จำนวนความถี่	5	9	6	10	20	-	-	50

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (2n) และคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย

ชนิดของกุ้ง	จำนวนโครโมโซม (2n)	โครโมโซมแบบ	
		เมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก	ทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก
กุ้งกุลาดำ	88	56	32
กุ้งแชบ๊วย	88	20	68

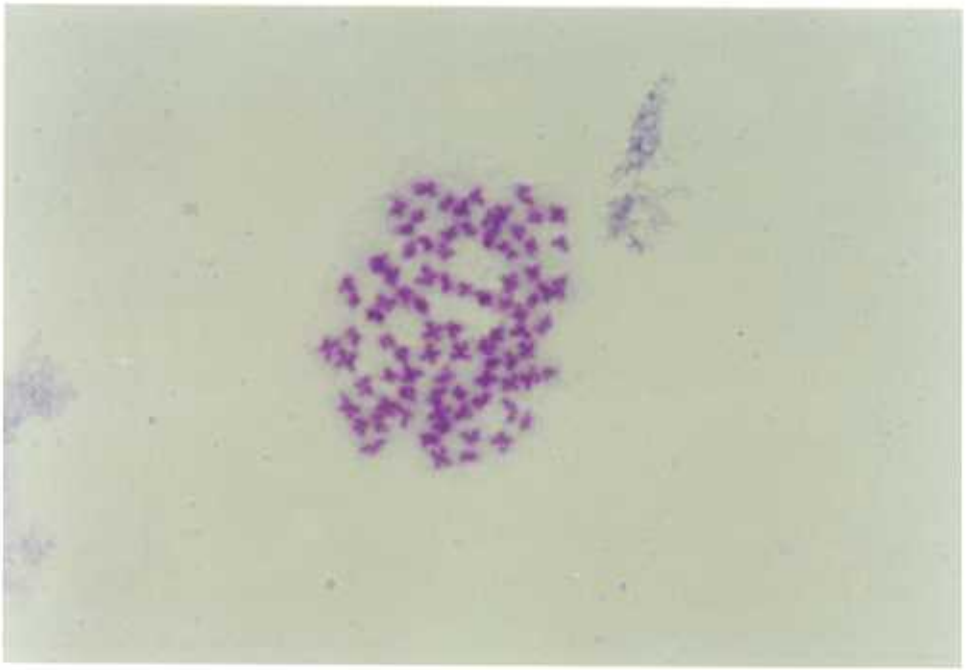


ภาพที่ 1 แสดงลักษณะและขนาดของกุ้งกุลาดำที่นำมาใช้ในการทดลองหาจำนวนโครโมโซม

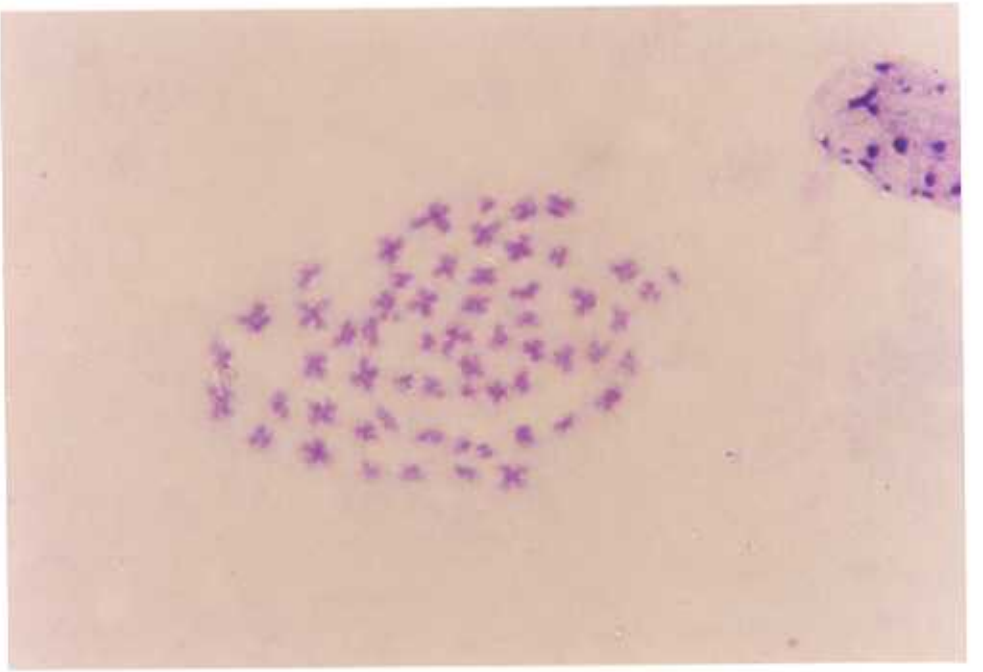
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะและขนาดของกุ้งแชบ๊วยที่นำมาใช้ในการทดลองหาจำนวนโครโมโซม

ภาพที่ 3 แสดงเนื้อเยื่อที่งอกใหม่จากบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 ของกุ้งกุลาดำ

ภาพที่ 4 แสดงเนื้อเยื่อที่งอกใหม่จากบริเวณขาเดินคู่ที่ 2 ของกุ้งแชบ๊วย

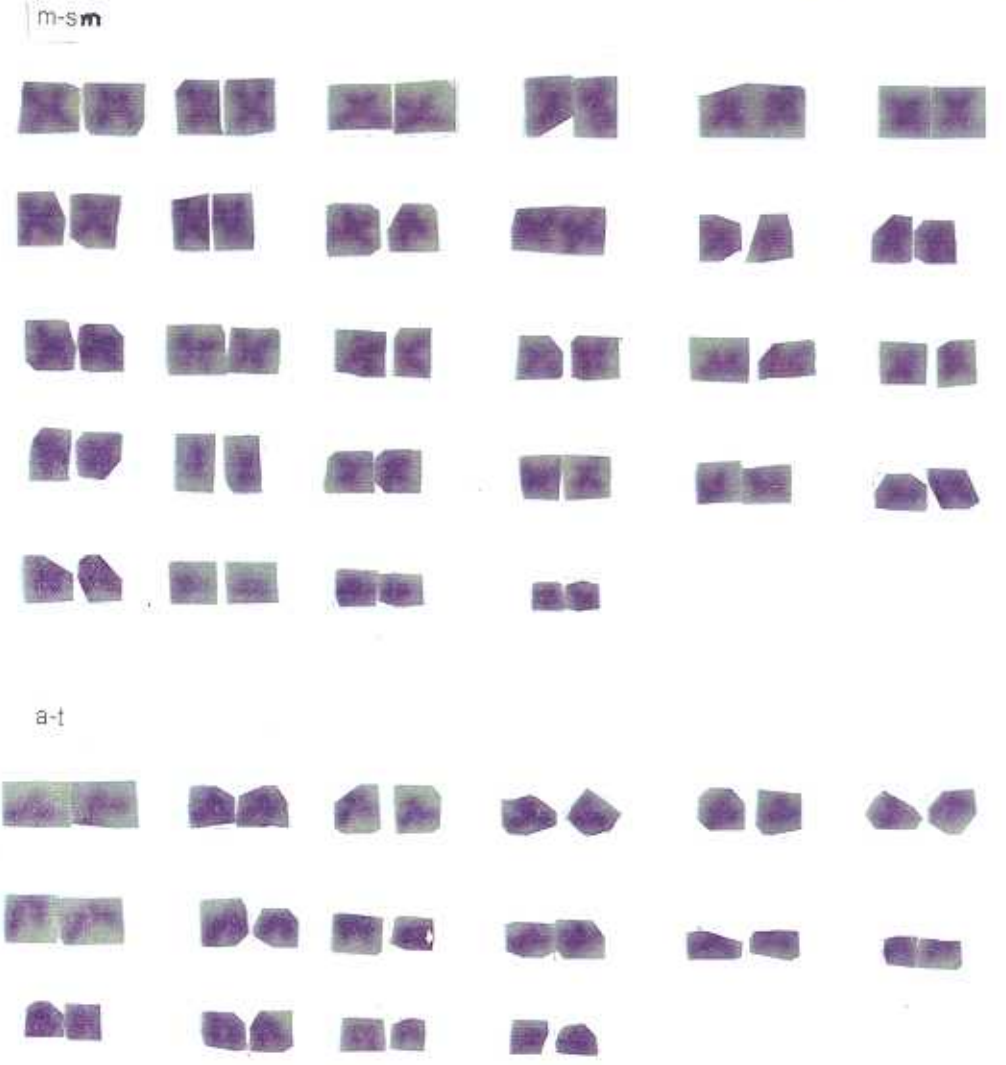


ภาพที่ 5 แสดงจำนวนโครโมโซมของกุ้งกุลาดำ 2n = 88



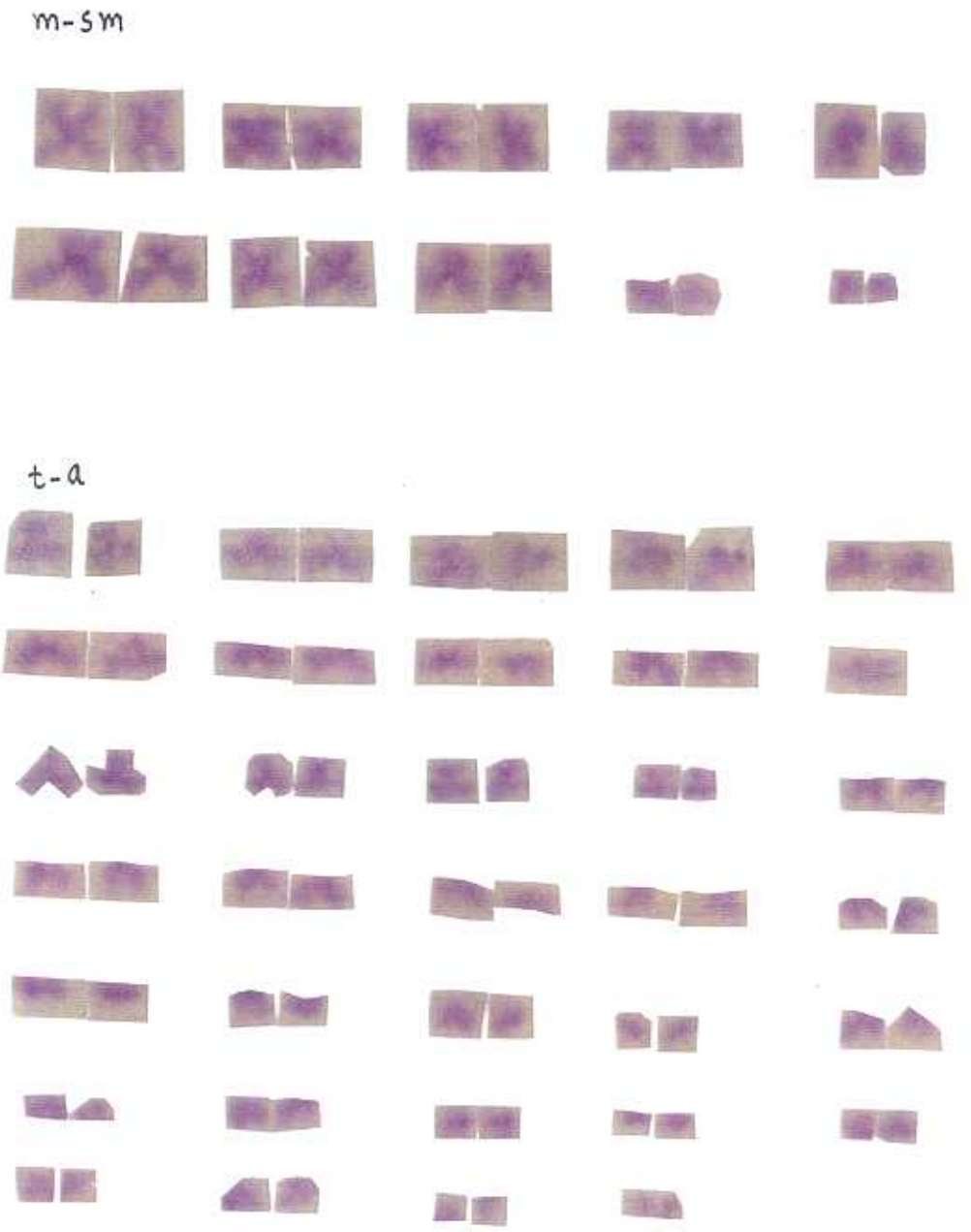
ภาพที่ 6 แสดงจำนวนโครโมโซมของกุ้งแชบ๊วย 2n = 88

21
สำนักหอสมุด
มหาวิทยาลัยหัวเฉียว



ภาพที่ 7 แสดงคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำ

116215



ภาพที่ 8 แสดงคาริโอไทพ์ของกุ้งแชบ๊วย

บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาโครโมโซมของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยที่พบในประเทศไทย พบว่ากุ้งทั้งสองชนิดมีจำนวนโครโมโซม 2n = 88 เท่ากัน คาริโอไทพ์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดต่างๆ แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย คือคาริโอไทพ์ของกุ้งกุลาดำประกอบด้วยโครโมโซมแบบเมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก 28 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 16 คู่ ในขณะเดียวกันกุ้งแชบ๊วยมีคาริโอไทพ์ประกอบด้วยโครโมโซมแบบเมตาเซนตริกและสับเมตาเซนตริก 10 คู่ น้อยกว่าของกุ้งกุลาดำ 18 คู่ แบบทีโลเซนตริกและอะโครเซนตริก 34 คู่ มากกว่ากุ้งกุลาดำ 18 คู่ จำนวนโครโมโซมของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยต่างก็มีจำนวนเท่ากับกุ้งในสกุลเดียวกันชนิด *Penaeus aztecus* และ *Penaeus duorarum* ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 88 แต่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่ากุ้งในสกุลเดียวกันชนิด *Penaeus japonicus* ซึ่งมีโครโมโซม 2n = 86 และ มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่ากุ้งในสกุลเดียวกันชนิด *Penaeus setiferus* ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 90 และในกุ้งสกุลพีเนียสทั้ง 4 ชนิดนี้ยังไม่มีการศึกษาคาริโอไทพ์มาก่อน สำหรับกุ้งในครอบครัวพีเนียดีซึ่งเป็นครอบครัวเดียวกับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยมีเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีการศึกษาทั้งจำนวนและคาริโอไทพ์ คือกุ้งชนิด *Metapenaeopsis barbata* คาริโอไทพ์เป็นแบบเมตาเซนตริก 36 คู่ ซึ่งมากกว่ากุ้งกุลาดำ 8 คู่ และมากกว่ากุ้งแชบ๊วย 26 คู่ และแบบทีโลเซนตริกและสับทีโลเซนตริก 4 คู่ ซึ่งน้อยกว่ากุ้งกุลาดำ 12 คู่ และ น้อยกว่ากุ้งแชบ๊วย 30 คู่ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Murofushi and Deguchi , 1990 ที่พบว่ากุ้งสกุลพีเนียสมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 88 – 90 แท่ง และผลการศึกษาครั้งนี้ตรงกับการทดลองของ Hayashi and Fujiwara , 1988 ที่พบว่ากุ้งในสกุลเดียวกันอาจมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันหรือแตกต่างกันก็ได้ ซึ่งจากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกุ้งในสกุลพีเนียส พอจะสรุปได้ว่ามีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 86 - 90 ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Murofushi and Deguchi , 1990 และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนโครโมโซมของกุ้งในสกุลพีเนียสมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนโครโมโซมของกุ้งในครอบครัว พาลีโมนิดี (Palaemonid) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 100 – 118 แท่ง ตามที่กล่าวมานี้จะเห็นได้ว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด และเหมาะแล้วที่กุ้งทั้งสองชนิดนี้จัดเอาไว้ในสกุลเดียวกัน และจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่ากุ้งในครอบครัวเดียวกันหรือสกุลเดียวกันอาจมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันหรือแตกต่างกันก็ได้ แต่จะมีแบบของโครโมโซมหรือคาริโอไทพ์ต่างกัน ฉะนั้นการศึกษาคาริโอไทพ์ของกุ้งสามารถใช้แยกชนิดของกุ้งได้อีกวิธีหนึ่งด้วย

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2530. ภาพปลาและสัตว์น้ำของไทย. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพ ฯ. 325 หน้า

กรมประมง. 2540. สำมะโนประมงทะเล พ. ศ. 2538. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ

ชมรมพัฒนาการประมง. 2521. การแยกชนิดของกุ้ง. วิทยาสารประมงฉบับการเพาะเลี้ยงกุ้งในเมืองไทย. วิทยาสารประมงประจำปี 2520 – 21 คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 7 – 9.

ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากตุ่น. 2535. การศึกษาโครโมโซมของปลาหลดจุด ปลาหลดภูเขา ปลาหลดและปลากระทิงดำ ที่พบในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน กรุงเทพ ฯ. 25 หน้า.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2531. เทคนิคการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. สำนักพิมพ์ช่อนนทรี. กรุงเทพ ฯ. 91 หน้า.

ประพันธ์ ธารบุปผา. 2531. การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร กองประมงน้ำกร่อย กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ

สมนึก ใช้เทียมวงศ์. 2530. กุ้งทะเล. รายงานประจำปี 2529. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 222 หน้า.

สุเมธ ชัยวัชรากุล. 2531. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เอกสารประกอบการอบรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 23 – 58.

อมรา คัมภิรานนท์. 2536. พันธุศาสตร์ของเซลล์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพ ฯ. 322 หน้า.

Gray, D.L., Dall, W., and Baker, A. 1983. A guide to the Australian Penaeus Prawns. 140 pp.

Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A.A. 1964. "Nomenclature for centromeric position on Chromosome". Hereditas. 52 : 201 – 220.

Hayashi, K., and Fujiwara. Y. 1988. A new method for obtaining metaphase chromosome from the regeneration blastema of *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 54 : 1563 – 1565.

Hayashi, K., Fujiwara Y. and Tatara A. 1990. Chromosome of whiskered velvet shimp, *Metapenaeopsis babata* (De Haan) (Decapoda , Penaeidae) . Researches on crustacea , No. 18 Carcinological Society of Japan. 4 pp.

Mittal , O. P. and Dhall , U. 1971 . Chromosome studies in three species of freshwater Decapods (crustaces). Cytologia. 36 : 633 – 638.

Milligan , J .D . 1976. A method for obtaining metaphase chromosome spead from marine shimp with notes on the karyotype of *Penaeus aztecus* , *P. setiferus* , *P. duorarum* . Proc. VII World mariculture Soc. San Diego , Calif., 327 – 332 .

Murofushi , M. and Deguchi , Y ., 1990 . Karyotype evolution in Decapoda , Crustacea. In: R. Hirano and I. Hanyu (Editors). Proc . Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society , Tokyo , Japan , pp . 549 – 553.

ภาคผนวก

การเตรียมน้ำยา

1. การเตรียมน้ำยา pretreatment โดยใช้สารละลาย colchicine 0.01 % ใช้ colchicine 0.01 กรัมละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร
2. เตรียม hypotonic treatment 0.4 % ใช้โปแตสเซียมคลอไรด์ 0.4 กรัม ละลายน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
3. เตรียม fixative solution ใช้ glacial acetic acid 1 ส่วน ผสม absolute methanol 3 ส่วน
4. เตรียมสีกิมซ่า (giemsa) 5 % ใช้สีกิมซ่า 5 มิลลิลิตร เติม phosphate buffer ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.8

การเตรียม phosphate buffer

Na_2HPO_4 2.75 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

NaH_2PO_4 2.84 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ใช้อัตราส่วน Na_2HPO_4 : NaH_2PO_4 = 1 : 1 เป็นสารละลาย phosphate buffer