การศึกษาโครโมโซมของหอยทากบกในเทือกเขาภูพาน
Chromosome Study of Land Snails in Phu Phan Mountain Range

จุฑาทิพย์ วรรณุทรวง (Jutatip Wannuchoung)* ดร.บังอร แถวโนนงิ้ว (Dr.Bungorn Thaewnon-ngiw)**
ดร.บังอร กองอิ้ม (Dr.Bangon Kongim)[1]***

บทคัดย่อ

การศึกษาโครโมโซมของหอยทากบกจำนวน 3 วงศ์ 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* วงศ์ Cyclophoridae, *Cryptozona siamensis* และ *Sarika resplendens* วงศ์ Ariophantidae และ *Pseudobuliminus siamensis* วงศ์ Bradybaenidae ในเทือกเขาภูพานทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยเตรียมโครโมโซมไมโตติกจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ด้วยเทคนิค hypotonic air drying method และย้อมสีโครโมโซมด้วยสี เกียมซา ผลการศึกษาพบว่าหอยทั้งสี่สปีชีส์มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 28, 66, 66 และ 58 ตามลำดับ และมีจำนวนแขนโครโมโซม (FN) เท่ากับ 56, 132, 132 และ 114 ตามลำดับ สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ดังนี้ *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* 2n (28) = $L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$, *Cryptozona siamensis* 2n (66) = $L_{12}^m + L_8^{sm} + M_6^m + M_2^{sm} + S_{20}^m + S_{18}^{sm}$, *Sarika resplendens* 2n (66) = $L_{20}^m + L_{12}^{sm} + M_{14}^m + M_6^{sm} + S_{12}^m + S_2^{st}$ และ *Pseudobuliminus siamensis* 2n (58) = $L_{26}^m + L_{10}^{sm} + M_8^m + M_8^{st} + S_4^m + S_2^t$ การศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ของหอยทากบกในประเทศไทยเพิ่มมากขึ้น

ABSTRACT

The chromosomes of land snails *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* (Family Cyclophoridae), *Cryptozona siamensis* and *Sarika resplendens* (Family Ariophantidae) and *Pseudobuliminus siamensis* (Family Bradybaenidae) in Phu Phan mountain range, northeastern Thailand were studied The mitotic chromosomes were prepared from gonad tissue using hypotonic air drying method and Giemsa staining. The results showed that diploid chromosome (2n) were 28, 66, 66, and 58, respectively. The fundamental chromosome numbers (FN) were 56, 132, 132, and 114, respectively. Karyotypes from diploid cell of snail were formulated as following 2n (28) $L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$ in *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*, 2n (66) $L_{12}^m + L_8^{sm} + M_6^m + M_2^{sm} + S_{20}^m + S_{18}^{sm}$ in *Cryptozona siamensis*, 2n (66) $L_{20}^m + L_{12}^{sm} + M_{14}^m + M_6^{sm} + S_{12}^m + S_2^{st}$ in Sarika resplendens and 2n (58)

[1] *Correspondent author: kongimb@yahoo.com*
** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*
*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*
**** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*

$L_{26}^{m} + L_{10}^{sm} + M_{8}^{m} + M_{8}^{st} + S_{4}^{m} + S_{2}^{t}$ in *Pseudobuliminus siamensis*. This is the increasing of cytogenetic data of land snaisl in Thailand.

คำสำคัญ : หอยทากบก โครโมโซม แคริโอไทป์มาตรฐาน
Keywords : Land snails, Chromosome, Standardized karyotype

บทนำ

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของหอยทากบกนั้นมีการศึกษามาเป็นระยะเวลานาน โดยแรกเริ่มเป็นการศึกษาในระดับสัณฐานวิทยา ซึ่งใช้ลักษณะของเปลือกเป็นหลัก การใช้ลักษณะของเปลือกเพียงอย่างเดียวก็ไม่สามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกสปีชีส์ได้ เนื่องจากมีความแปรผันของลักษณะเปลือกภายในสปีชีส์สูง [1] และการใช้ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ (anatomy reproductive) ยังมีข้อจำกัดซึ่งสามารถนำมาใช้จัดจำแนกหอยทากบกได้บางกลุ่มเท่านั้น และส่วนใหญ่มีลักษณะแตกต่างกันในระดับสกุล มีเพียงบางกลุ่มที่สามารถจัดจำแนกได้จนถึงในระดับสปีชีส์ สำหรับการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถนำข้อมูลมาระบุสปีชีส์ของหอยทากบกได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาแคริโอไทป์ของหอยทากบกหลายสปีชีส์มีความแตกต่างของรูปแบบแคริโอไทป์และนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบจัดจำแนกสปีชีส์ของหอยทากบกได้ [2-3] นอกจากนี้ความแปรผันของแคริโอไทป์ยังถูกใช้เป็นหลักฐานในการพบชิบลิ่งสปีชีส์ (sibling species) และสปีชีส์ที่แยกออกมา (distinct species) อีกด้วย [4-5] ดังนั้นนอกจากการศึกษาแคริโอไทป์จะเป็นประโยชน์ในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตแล้ว ข้อมูลที่ได้ยังสามารถนำไปใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการได้ต่อไป นอกจากนี้ปัจจุบันมีการนำข้อมูลจากเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ของหอยทากบกมาใช้ประกอบการจัดจำแนกสปีชีส์ และศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการประกอบกับข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ ร่วมกับสัณฐานวิทยา [6]

การศึกษาแคริโอไทป์ในสัตว์กลุ่มหอยมีรายงานน้อยมากเนื่องจากส่วนใหญ่หอยมีจำนวนโครโมโซมมากและโครโมโซมมีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับสัตว์ชนิดอื่น เช่น แมลง กบ หรือ เขียด ทำให้การเตรียมโครโมโซมที่มีจำนวนโครโมโซมครบสมบูรณ์และไม่ซ้อนทับกันทำได้ยาก การศึกษาโครโมโซมที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะรายงานเพียงจำนวนโครโมโซมเท่านั้น เช่น การศึกษาโครโมโซมของหอยในวงศ์ Camaenidae จำนวน 14 สกุล 25 สปีชีส์ และหอยทั้งหมดมีจำนวนโครโมโซมแฮพลอยด์ n = 29 [7] จำนวนโครโมโซมแฮพลอยด์ของหอยทากบกวงศ์ Helicidae จากประเทศสเปนและโปรตุเกส พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง n = 21 ถึง n = 30 [8] และการศึกษาของแคริโอไทป์ของหอยทากจิ๋ววงศ์ Diplommatinidae ในประเทศญี่ปุ่น จำนวน 11 สปีชีส์พบว่ามีค่าจำนวนโครโมโซมแฮพลอยด์เท่ากันทั้งหมดคือ n = 13 [9] สำหรับการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของหอยทากบกในประเทศไทย ซึ่งมีรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกจำนวน 14 สปีชีส์ จาก 4 วงศ์ ได้แก่ Achatinidae, Ariophantidae, Heliocarionidae และ Succineidae ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมแฮพลอยด์ อยู่ระหว่าง 24-33 [10] การศึกษาจำนวนโครโมโซมและแคริโอไทป์ของหอยทาบกสกุล *Cyclophorus* (Cyclophoridae) ในประเทศไทย พบว่าทุกสปีชีส์มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 2n =28 แต่มีสูตรแคริโอไทป์แตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ [1] และในปี 2013 Kongim และคณะ [11] ได้รายงานจำนวนโครโมโซม และแคริโอไทป์ของหอยทากบก สกุล *Pollicaria* ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่าทุกสปีชีส์

มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ 2n = 26 และแต่ละสปีชีส์มีสูตรแคริโอไทป์แตกต่างกัน และ Kongim [12] ได้รายงานจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกสกุล *Rhiostoma* และ *Pterocyclos* ในประเทศไทย พบว่า ทุกสปีชีส์มีค่า 2n = 28 และแต่ละสปีชีส์มีสูตรแคริโอไทป์ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกจำนวน 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Succinea minuta*, *Ganesella* sp. และ *Cryptaus tenia gadinodromica* พบว่า มีค่าแฮพพลอยด์เท่ากับ 19 30 และ 21 ตามลำดับ [13]

การศึกษาโครโมโซมของหอยทากบกในเทือกเขาภูพานครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลจำนวนโครโมโซมและรูปแบบแคริโอไทป์ของหอยทากบกทั้งกลุ่มที่หายใจด้วยเหงือก (Prosobranchia) และกลุ่มที่หายใจด้วยปอด (Pulmonata) ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อเป็นข้อมูลในการบริหารจัดการทรัพยากรความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในประเทศไทยต่อไปในอนาคตได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมและรูปแบบแคริโอไทป์ของหอยทากบกในเทือกเขาภูพาน

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างและการระบุสปีชีส์

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยทากบกในเทือกเขาภูพานโดยนำตัวอย่างหอยที่มีชีวิตมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ และจัดจำแนกสปีชีส์หอยทากด้วยลักษณะเปลือกตามเอกสารของ Reeve [14]; Möllendorff [15]; Tomlin [16]; Habe [17]; Panha [18]; Panha และ Burch [19] และ Tumpeesuwan [20]

การศึกษาโครโมโซม

การเตรียมโครโมโซมจะถูกเตรียมจากเนื้อเยื่ออวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gonad tissue) เนื่องจากเป็นเนื้อเยื่อที่มีการแบ่งเซลล์จำนวนมากและมีอัตราการแบ่งตัวสูงจึงเหมาะแก่การนำมาเตรียมโครโมโซม และศึกษาแคริโอไทป์ด้วยวิธี hypotonic air-drying ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Patterson และ Burch [21] Park [22] และ Kongim et al. [1] โดยฉีดสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เข้าบริเวณเนื้อเยื่อเซลล์สืบพันธุ์ (gonad tissue) โดยตรงแล้วปล่อยหอยไว้ในกล่องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นตัดเนื้อเยื่อเซลล์สืบพันธุ์ออกมาและตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.07% ทิ้งไว้ 45 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดส่วนที่เป็นของเหลวใสออกแล้วเติม Carnoy's fixative ที่เตรียมจาก 95 % Methanol กับ Glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 ทิ้งไว้ 45 นาทีก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1000 รอบ/นาที เป็นเวลา10 นาที ทำซ้ำอย่างน้อย 2 รอบ แล้วหยดสารละลายเซลล์ (cell suspension) ที่เตรียมได้ลงบนกระจกสไลด์ที่สะอาดและให้ความร้อนประมาณ 45 องศาเซียลเซียส เมื่อไสลด์แห้งนำไปย้อมด้วย 4% Giemsa เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นตรวจสอบโครโมโซมบนสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Olympus BX50 System Microscope เลือกถ่ายภาพโครโมโซมที่กระจายตัวดี จำนวน 10 เซลล์ จากนั้นวัดความยาวแขนของโครโมโซม และคำนวณค่า Relative length และ Centromeric index เพื่อระบุขนาดและรูปร่างของโครโมโซม ตามวิธีการของ Levan และคณะ [23] เพื่อระบุและเขียนสูตรแคริโอไทป์

ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างและเตรียมโครโมโซมของหอยทากบกในพื้นที่เทือกเขาภูพานจำนวน 3 วงศ์ 4 สปีชีส์ได้แก่ วงศ์ Cyclophoridae จำนวน 1 สปีชีส์ วงศ์ Ariophantidae จำนวน 2 สปีชีส์ และ

วงศ์ Bradybaenidae จำนวน 1 สปีชีส์ (ภาพที่ 1) ได้แก่ *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* (*Cyclophoridae*) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 28 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ $L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$ ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 4 แท่ง และขนาดเล็ก 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 2 แท่ง และขนาดกลาง 6 แท่ง และโครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริก ขนาดกลาง 4 แท่ง (ภาพที่ 2A 3A และตารางที่ 1) ส่วนหอยทากบกสปีชีส์ *Cryptozona siamensis* (Ariophantidae) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 66 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ $L_{12}^m + L_8^{sm} + M_6^m + M_2^{sm} + S_{20}^m + S_{18}^{sm}$ ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 12 แท่ง ขนาดกลาง 6 แท่ง และขนาดเล็ก 20 แท่ง และโครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก ขนาดขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 2 แท่ง และขนาดเล็ก 18 แท่ง (ภาพที่ 2B 3B และตารางที่ 1) สำหรับหอยทากบกสปีชีส์ *Sarika resplendens* (Ariophantidae) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 66 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ $L_{20}^m + L_{12}^{sm} + M_{14}^m + M_6^{sm} + S_{12}^m + S_2^{st}$ ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 20 แท่ง ขนาดกลาง 14 แท่งและขนาดเล็ก 12 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 12 แท่ง ขนาดกลาง 6 แท่ง และโครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริกมีขนาดเล็ก 2 แท่ง (ภาพที่ 2c 3c และตารางที่ 1) และหอยทากบกสปีชีส์ *Pseudobuliminus siamensis* (Bradybaenidae) มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 58 แท่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ $L_{26}^m + L_{10}^{sm} + M_8^m + M_8^{st} + S_4^m + S_2^t$ ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก ขนาดใหญ่ 26 แท่งขนาดกลาง 8 แท่ง และขนาดเล็ก 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 10 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเทโลเซนทริกมีขนาดกลาง 8 แท่ง และเทโลเซนทริก ขนาดเล็ก 2 แท่ง (ภาพที่ 2D 3D และตารางที่ 1)

อภิปราย และสรุปผลการวิจัย

จากการนับจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกกลุ่มที่มีเหงือกอยู่หน้าหัวใจ และมีฝาปิดเปลือก(operculated land snail) ใน subclass Prosobranchia พบว่ามีจำนวนโครโมโซมค่อนข้างคงที่และมีจำนวนน้อย เช่น *Cyclophorus* (Cyclophoridae), *Pterocyclos* และ *Rhiostoma* (Cyclophoridae) (2n) = 28, *Pollicaria* (Pupinidae) (2n) = 26 [1,11–12] ส่วนหอยทากบกกลุ่มหอยทากบกแท้ซึ่งหายใจด้วยปอดและไม่มีฝาปิดเปลือก subclass Pulmonata มักจะมีโครโมโซมจำนวนมากและไม่คงที่ และพบมีความแปรผันแม้ในวงศ์เดียวกัน เช่น วงศ์ Ariophantidae มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) อยู่ระหว่าง 16 – 66 [12, 21, 24–27] และวงศ์ Bradybaenidae มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) อยู่ระหว่าง 56 – 58 [28–31] (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหอยกลุ่มที่ไม่มีฝาปิดเปลือกอาจได้รับแรงกดดันจากนักล่า พยาธิหรือปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ที่ส่งผลทำให้หอยเกิดการปรับตัว และการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์พันธุศาสตร์ ส่วนในหอยทากบกที่มีฝาปิดเปลือก จะมีลักษณะที่อนุรักษ์มากกว่า กล่าวคือหอยทากบกที่มีฝาปิดเปลือกในวงศ์เดียวกันมักจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันในทุกสปีชีส์ [32]

การศึกษาจำนวนโครโมโซมและแคริโอไทป์ของหอยทากบกกลุ่มมีฝาปิดเปลือกในวงศ์ Cyclophoridae จำนวน 1 สปีชีส์ ได้แก่ *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* พบว่า มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 28 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ บังอร และสมศักดิ์ [32] กล่าวมีจำนวนแขนของโครโมโซม (FN) เท่ากับ 56 และสามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ได้คือ $2n\ (28) = L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$ ซึ่งแตกต่างจากรายงานการวิจัยของบังอร และสมศักดิ์ [32] คือหอยทากบกสปีชีส์ *Cyclotus* และ *C.* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*

มีค่า FN = 50 52 และรายงานสูตรคาริโอไปท์คือ 2n (28) = 7m + 4sm + 2t + 1a และ 2n (28) = 9m + 3sm + 1t + 1a ตามลำดับในการเขียนสูตรแคริโอไทป์ในการวิจัยครั้งนี้นับจำนวนแท่งในสูตรแคริโอไทป์ร่วมกับระบุขนาดโครโมโซมด้วย แต่งานวิจัยก่อนหน้านี้ใช้เป็นคู่ อย่างไรก็ดี ก็สามารถเปรียบเทียบจำนวนของโครโมโซมแต่ละชนิดได้ส่วนหอยกลุ่มหายใจด้วยปอดในวงศ์ Ariophantidae จำนวน 2 สปีชีส์ ได้แก่ *Cryptozona siamensis* และ *Sarika resplendens* พบว่าใน *C. siamensis* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 66 สอดคล้องจากรายงานของ พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา และคณะ [10] ทั้งนี้การศึกษาในครั้งนี้ได้รายงานสูตรแคริโอไทป์เพิ่มเติมคือ 2n (66) =L_{12}^{m} + L_{8}^{sm} + M_{6}^{m} + M_{2}^{sm} + S_{20}^{m} + S_{18}^{sm} ซึ่งเป็นการรายงานสูตรแคริโอไทป์เป็นครั้งแรกและถือเป็นข้อมูลใหม่ทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของหอยทากบกสปีชีส์นี้ ส่วน Sarika resplendens มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 66 และจำนวนแขนโครโมโซม (FN) เท่ากับ 132 ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมสอดคล้องกับรายงานของ Khrueanet et al. [27] แต่มีสูตรแคริโอไทป์แตกต่างกันกล่าวคือการศึกษาในครั้งนี้ *S. resplendens* มีสูตรแคริโอไทป์เป็น 2n (66) = L_{20}^{m} + L_{12}^{sm} + M_{14}^{m} + M_{6}^{sm} + S_{12}^{m} + S_{2}^{st} ขณะที่ Khrueanet *et al.* [27] ซึ่งทำการศึกษาตัวอย่างหอยสปีชีส์นี้จากจังหวัดนครราชสีมาพบว่ามีสูตรแคริโอไทป์คือ 2n (66) = L_{6}^{m} + L_{2}^{sm} + M_{26}^{m} + S_{32}^{sm} ส่วนหอยทากบกวงศ์ Bradybaenidae จำนวน 1 สปีชีส์ คือ *Pseudobuliminus siamensis* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) เท่ากับ 58 แท่ง และมีจำนวนแขนของโครโมโซม (FN) เท่ากับ 114 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Thiriot – Quiévreux [31] ที่ได้รวบรวมข้อมูลจำนวนโครโมโซมของหอยทากในวงศ์ Bradybaenidae มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ (2n) อยู่ระหว่าง 56 – 58 และการศึกษาในครั้งนี้ได้รายงานสูตรแคริโอไทป์เพิ่มเติมคือ 2n (58) =L_{26}^{m} + L_{10}^{sm} + M_{8}^{m} + M_{8}^{st} + S_{4}^{m} + S_{2}^{t} ซึ่งรายงานครั้งนี้เป็นการรายงานทั้งจำนวนโครโมโซมและสูตรแคริโอไทป์ของหอยทากบกสปีชีส์นี้เป็นครั้งแรก

ผลการศึกษาโครโมโซมและแคริโอไทป์ในครั้งนี้ถือเป็นข้อมูลใหม่ทางชีววิทยาโดยเฉพาะข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ของหอยทากบกในประเทศไทย ทำให้ข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมและแคริโอไทป์ของหอยทากเพิ่มมากขึ้นและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานทางอนุกรมวิธานและการศึกษาวิวัฒนาการของหอยทากบกต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

1. Kongim B, Naggs F, Panha S. Karyotypes of operculate land snail of the genus *Cyclophorus* (Prosobranchia: Cylophoridae) in Thailand. Invertebr Repr Dev. 2006; 49(1-2): 1-8.
2. Kasinathan R, Natarajan R. Chromosome number of five species of Cyclophoridae (Prosobranchia: Mesogastropoda) from South India. Malacol Rev. 1975; 8:109-110.
3. Choudhury BRE, Pandit RK.Chromosomes of three Prosobranch gastropods from Viviparide, Pilidae and Cyclophoridae (Order:Mesogastropoda). Caryologia. 1997; 50: 303-315.
4. Kongim B, Sutcharit C, Tongkerd P, PanhaS. Karyotype differentiation within the elephant pupinind snail, *Pollicaria mouhoti* (Pfeiffer, 1862) (Caenogastropoda: Pupinidae). The Natural History Journal of Chulalongkorn University. 2009; 9(2): 201-208.

5. Kongim B, Sutchait C, Tongkerd P, Tan Q, Naggs F, Panha S. Karyotype variation in the genus *Pollicaria* (Caenogastropoda: Pupinidae). Zool Stud. 2010; 49(1): 125-131.
6. Wade CM, Mordan PB, Clarke B. A Phylogeny of the land snails (Gastropoda: Pulmonata). Proc R Soc London, Ser B. 2001; 268: 413-422.
7. Laws HM . The chromosome of some Australian camaenid land snails. Cytologia. 1973; 38: 229-235.
8. Ramos MA, Aparicio MT. A cytotaxonomic study of some Spanish and Portuguese Helicidae (Pulmonata: Geophila). Malacol Rev. 1985; 18: 73-82.
9. Ieyama H, Tada A. Chromosome studies and the quantitative evaluation of nuclear images stained with Feulgen dye in the Diplommatinidae. Venus. 1991; 50(1): 68-78.
10. Dumrongrojwattana P, Mesukkho C, Khunsook C. Chromosome study of fourteen land pulmonate snails in Thailand (Pulmonata: Achatinidae, Succineidae, Helicarionidae, Ariophantidae). KKU Res J. 2007; 12: 102–109. Thai.
11. Kongim B, Sutchait C, Naggs F, Panha S. Taxonomic revision of the elephant pupinid snail genus *Pollicaria* Gould, 1856 (Prosobranchia, Pupinidae). Zookeys. 2013; 281 : 19-40.
12. Kongim B, Sutchait C, Tongkerd P, Panha S. Karyotypes of land operculates nails of the genus *Pterocyclos* and *Rhiostoma* (prosobranchia: cyclophoridae). Raffles Bull Zool. 2013; 16(1): 13-20.
13. Paungpee P, Dumrongrojwattana P. Chromosome study of three land pulmonate snail in Thailand. Prroceedings of 49th Kasetsart University Annual conference: science; 2011 Feb 1- 4; Bangkok; 2011: 545-551. Thai.
14. Reeve LA. Monograph of the genus *Cyclophorus.* Conchologia Iconica, London; 1861.
15. MÖllendorff OF von. On a collection of land shells from Samui Islands, Gulf of Siam. Proc Zool Soc Lond; 1894. 62: 146–156.
16. Tomlin JR LEB. The land shells of Kaw Tao. Journal of the Siam Society of the Natural History. 1929; 8(1): 15-17.
17. Habe T. Operculate land molluscs from Southeast Asia. Fauna and Flora Research Society, Kyoto University. 1964; 4: 111-127.
18. Panha S. A checklist and classification of the terrestrial pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 1996; 8(19): 31-40.
19. Panha S, Burch JB. An introduction to the microsnails of Thailand. Malacol Rev. 2005; 37-38, 1-155.
20. Tumpeesuwan C. Species diversity distribution and habitat relationships ofterrestrial snails on the Phu Phan mountain range of Norteastern Thailand. [PhD thesis] Bangkok: Chulalongkorn University; 2007.
21. Patterson CM, Burch JB. Chromosomes of pulmonate mollusks. In: Fretter V and Peake J (eds.) Pulmonates: Systematics and Ecology. New York, Academic Press. 1978; 171–217.

22. Park GM. Cytotaxonomic studies of freshwater gastropods in Korea. Malacol Rev. 1994; 27: 23–41.
23. Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas. 1964; 52: 201–220.
24. Alfy ENZ. Karyotype meiosis and sperm formation in the land snail *Macrochlamys Indica*. Qatar University Science Journal. 1994; 14(1): 122–128.
25. Vitturi R., Libertini A, Panozzo M, Mezzapelle G. Karyotype analysis and genome size in three mediterranean species of periwinkles (Prosobranchia: Mesogastropoda). Malacologia. 1995; 37: 123–132.
26. Mattayassook N. Karyotype of some land pulmonate snails in KhaoAng Rue Nai and Khao Soi Dao wildlife sanctuaries. [MSc thesis]. Bangkok: Chulalongkorn University; 1996. Thai.
27. Khrueanet W, Supiwong W, Tumpeesuwan C, Tumpeesuwan S, Pinthong K, Tanomtong A. First chromosome analysis and localization of the nucleolar organizer region of land snail, *Sarika resplendens* (Stylommatophora, Ariophantidae) in Thailand.Cytologia. 2013; 78(3): 213–222.
28. Tatewaki R, Kitada J. Karyological studies of five species of land snails (Helicoidea: Mollusca). Genetica. 1987; 74(1): 73–80.
29. Lee JS, Kwon OK. Chromosomal studies of eight species of Bradybaenidae in Korea. Korean J Malacol. 1993; 9: 30–43.
30. Sun T. Chromosomal studies in three land snail. Sinozoologia. 1995; 12: 154–162
31. Thiriot-Quiévreux C, Seapy R. Advances in chromosomal studies of gastropod molluscs. J Molluscan Stud. 2003; 69: 187–202.
32. Kongim B, Panha S. Species diversity and cytogenetics of land operculate snail family Cyclophoridae in northeastem Thailand. Full report. Bangkok: office of the Education commission and The Thailand research fund; 2009. Thai.

ตารางที่ 1 จำนวนโครโมโซม (2n) จำนวนแขนโครโมโซม (FN) และสูตรแคริโอไทป์ของหอยทากบก

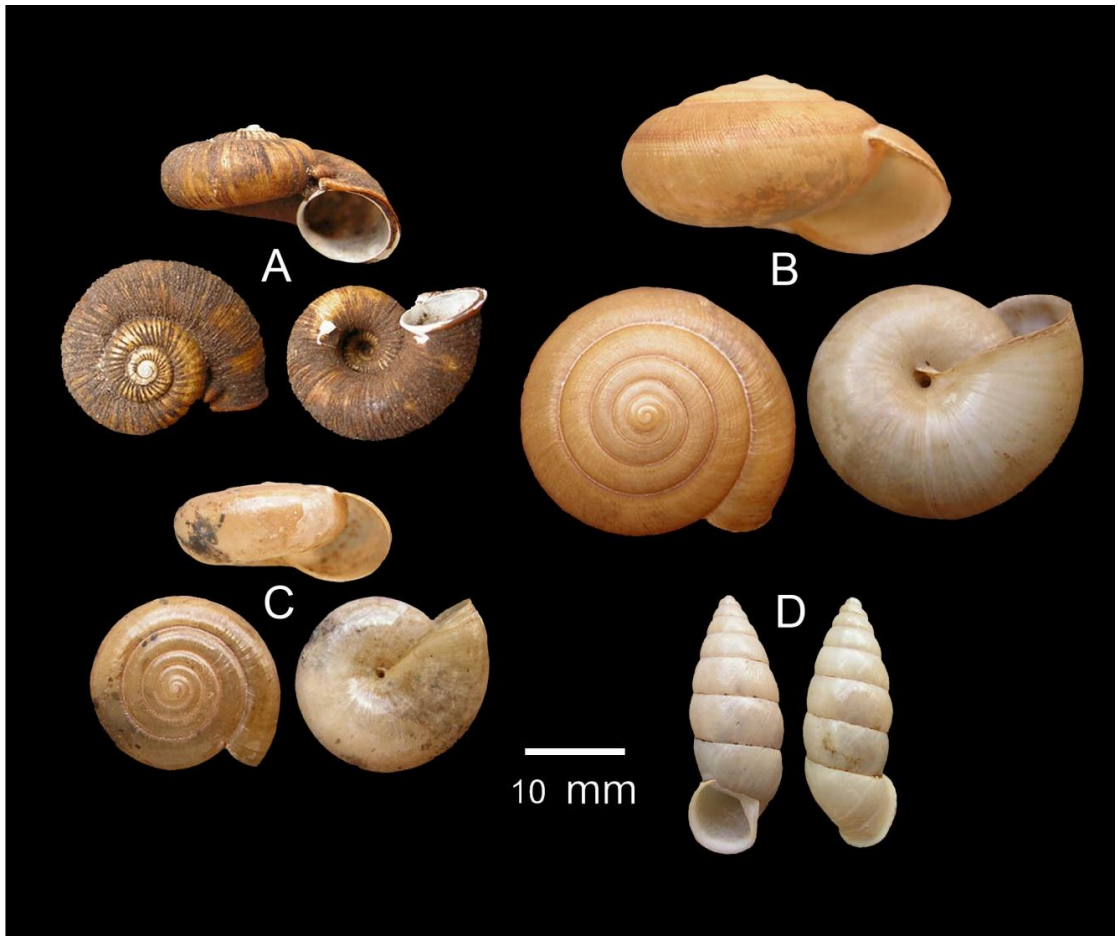
วงศ์	สปีชีส์	2n	FN	สูตรแคริโอไทป์
Cyclophoridae	*Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*	28	56	$L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$
Ariophantidae	*Cryptozona siamensis*	66	132	$L_{12}^m + L_8^{sm} + M_6^m + M_2^{sm} + S_{20}^m + S_{18}^{sm}$
	Sarika resplendens	66	132	$L_{20}^m + L_{12}^{sm} + M_{14}^m + M_6^{sm} + S_{12}^m + S_2^{st}$
Bradybaenidae	*Pseudobuliminus siamensis*	58	114	$L_{26}^m + L_{10}^{sm} + M_8^m + M_8^{st} + S_4^m + S_2^t$

ตารางที่ 2 สรุปรายงานผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมดิพลอย์ (2n) จำนวนแขนของโครโมโซม (FN) และแคริโอไทป์ของหอยทากบก

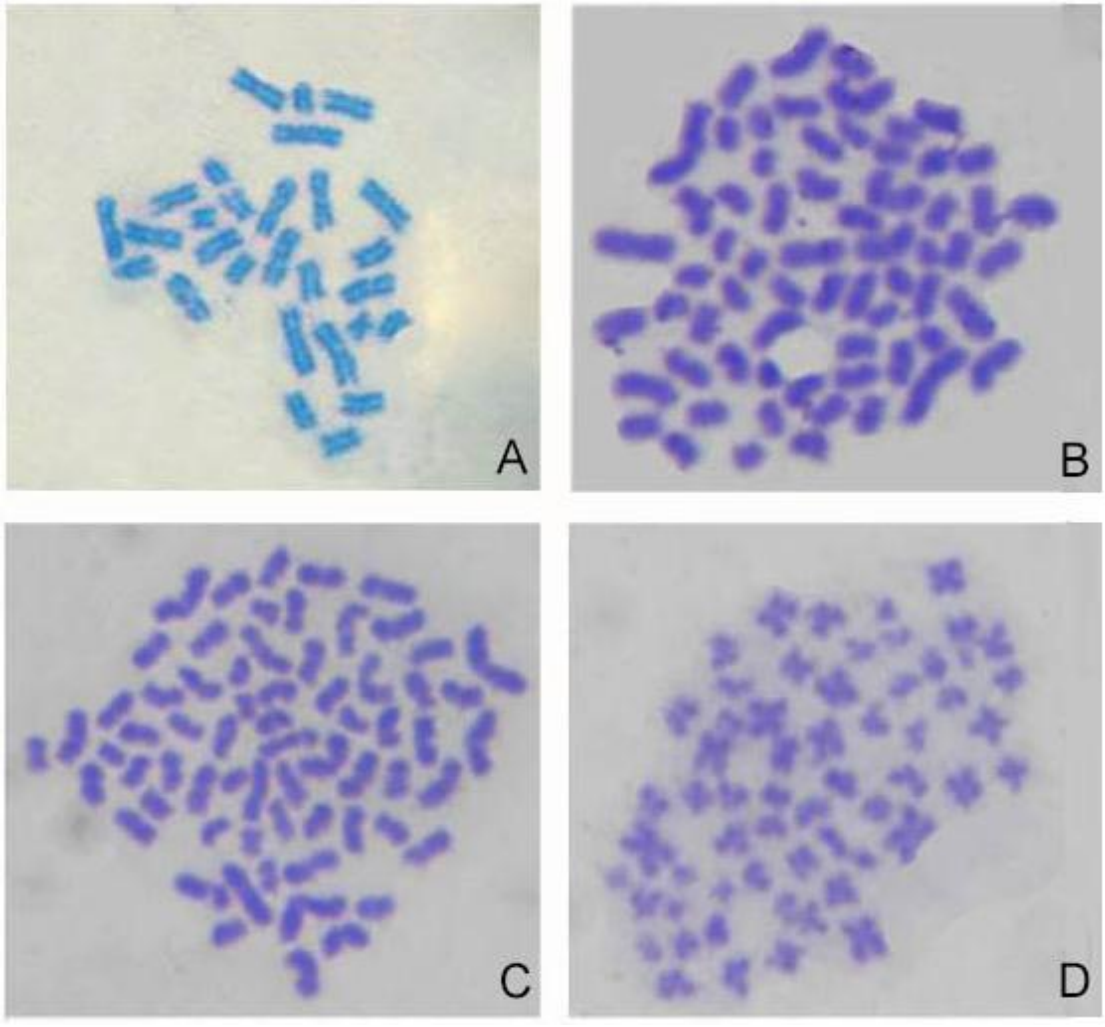
สปีชีส์	2n	FN	แคริโอไทป์	อ้างอิง
Prosobrandchia (Cyclophoridae)				
Pterocyclus bilabiatus (Sowerby)	28	-	-	Kasinathan & Natarajan (1975)
Theobaldius ravidus (Benson)	28	-	-	Kasinathan & Natarajan (1975)
T. shiplayi (Pfeiffer)	28	-	-	Kasinathan & Natarajan (1975)
Micraulax scabra Theobald	28	-	-	Kasinathan & Natarajan (1975)
Cyclophorus jerdoni (Benson)	28	-	-	Kasinathan & Natarajan (1975)
C. polynema (Pfeiffer)	28	-	-	Choundhury & Pandit (1997)
C. aurantiacus (Schumacher)	28	56	7m + 7sm	Kongim *et al*. (2006)
C. cantor (Benson)	28	56	5m + 9sm	Kongim *et al*. (2006)
C. courbeti Ancey	28	56	10m + 4sm	Kongim *et al*. (2006)
C. diplochilus Möllendorff	28	56	6m + 8sm	Kongim *et al*. (2006)
C. fulguratus (Pfeiffer)	28	56	13m + 1sm	Kongim *et al*. (2006)
C. malayanus (Benson)	28	56	7m + 7sm	Kongim *et al*. (2006)
C. saturnus Pfeiffer	28	56	9m + 5sm	Kongim *et al*. (2006)
C. speciosus (Philippi)	28	56	8m + 6sm	Kongim *et al*. (2006)
C. subfloridus Ancey	28	56	11m + 3sm	Kongim *et al*. (2006)
C. volvulus (Müller)	28	56	14m	Kongim *et al*. (2006)
C. orthostylus	28	56	10m + 4sm	Kongim *et al*. (2009)
Cyclotus (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*	28	50, 52	7m + 4sm + 2t + 1a, 9m + 3sm + 1t + 1a	Kongim *et al*. (2009)
	28	56	8m + 4sm + 2t	Kongim *et al*. (2013)
Pterocyclos sp.	28	56	7m + 5sm + 2t	Kongim *et al*. (2013)
Phiostoma blandi Benson	28	50	3m + 7sm + 1st +3t	Kongim *et al*. (2013)
Rhiostoma asiphon Möllendorft	28	54	6m + 5sm + 2st + 1a	Kongim *et al*. (2013)
R. chupingense Tomlin	28	56	7m + 4sm + 3st	Kongim *et al*. (2013)
R. hainesi Pfeiffer	28	56, 54	9m + 2sm + 3st,	Kongim *et al*. (2013)
R. housei (Haines)			9m + 2sm + 2st + 1a	
	28	54	2m + 9sm + 2st + 1t	Kongim *et al*. (2013)
R. jalorensis Sykes	28	54	5m + 5sm + 1st + 3a	Kongim *et al*. (2013)
R. samuiense Tomlin				
Cyclotus (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*	28	56	$L_8^m + L_2^{sm} + M_4^m + M_6^{sm} + M_4^{st} + S_4^m$	การวิจัยครั้งนี้

ตารางที่ 2 สรุปรายงานผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมดิพลอย์ (2n) จำนวนแขนของโครโมโซม (FN) และแคริโอไทป์ของหอยทากบก (ต่อ)

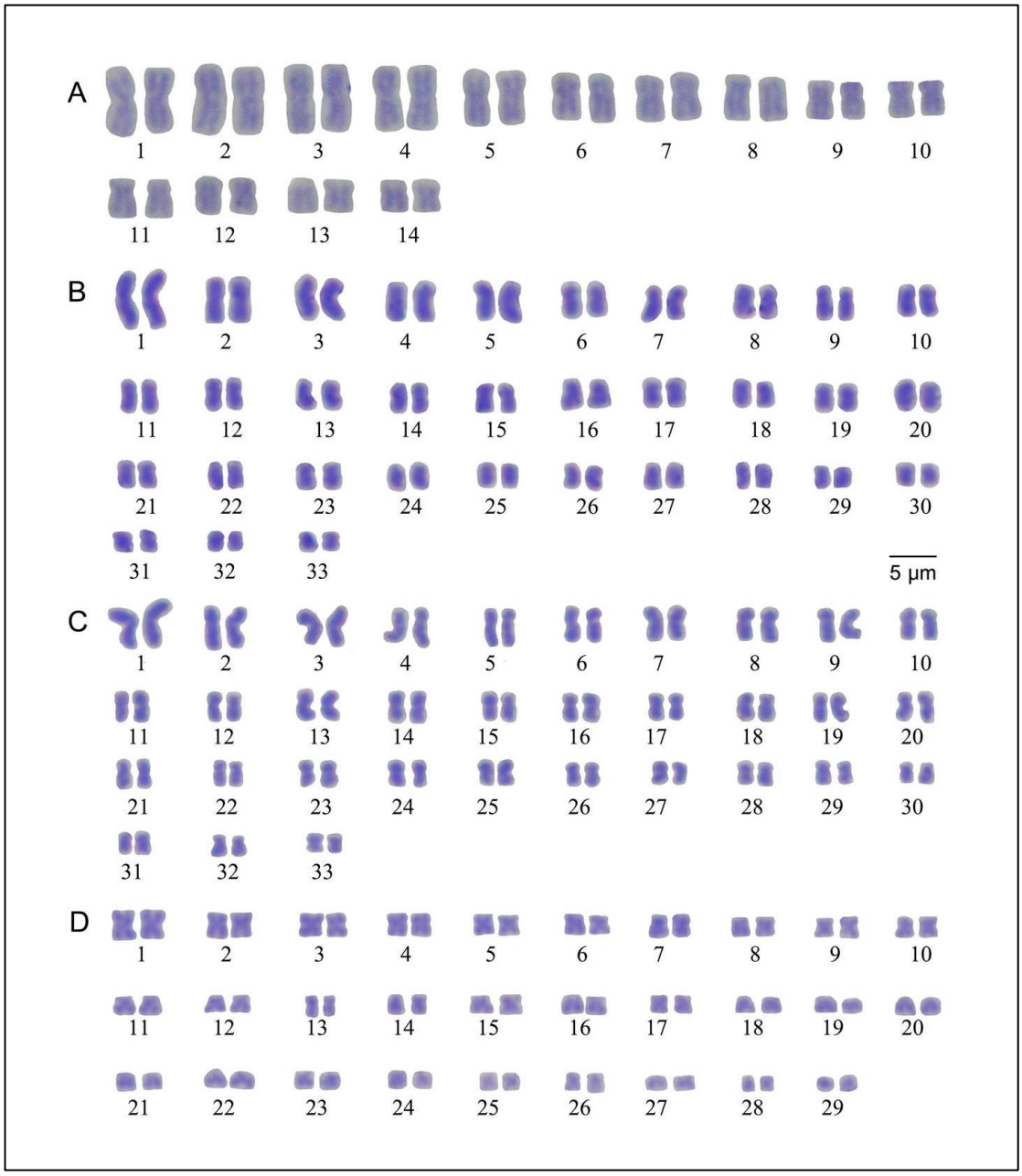
สปีชีส์	2n	FN	แคริโอไทป์	อ้างอิง
Pulmonata(Ariophantidae)				
Cryptozona siamensis	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
	16	-	-	Mattayassook (1996)
Dyakia salangana	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
	50-54	-	-	Mattayassook (1996)
	50-54	-	-	Vitturi *et al.* (1995)
Durgella libas	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
Hemiplecta distincta	60	-	-	Patterson and Burch (1978)
	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
H. weinkauffiana	58	-	-	Mattayassook (1996)
	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
Macrochlamys indica	48	-	18m + 30sm	Alfy (1994)
Ma. splendens	20	32	10m + 2sm + 8t	Mattayassook (1996)
Sarika asamurai	58	-	-	Mattayassook (1996)
	66	-	58m + 8sm	Dumrongrojwattana *et al.* (2005)
S. diadema	20	40	16 + 4sm	Mattayassook (1996)
	66	-	56m + 10sm	Dumrongrojwattana *et al.* (2005)
	66	-	-	Dumrongrojwattana *et al.* (2007)
S. resplendens	66	132	$L_6^m + L_2^{sm} + M_{26}^m + S_{32}^{sm}$	Khrueanet *et a*l. (2013)
Cryptozona siamensis	66	132	$L_{12}^m + L_8^{sm} + M_6^m + M_2^{sm} + S_{20}^m + S_{18}^{sm}$	การวิจัยครั้งนี้
Sarika resplendens	66	132	$L_{20}^m + L_{12}^{sm} + M_{14}^m + M_6^{sm} + S_{12}^m + S_2^{st}$	การวิจัยครั้งนี้
(Bradybaenidae)				
Acustadespecta sieboldiana	58	-	21m, 7sm, 1st	Tatewaki & Kitada (1987)
	-	-	12m, 17sm	Lee & Kwon (1993)
Aegista chosenica	-	-	10m, 18sm	Lee & Kwon (1993)
A. (*Plectotropis*) *diversa*	-	-	14m, 14sm	Lee & Kwon (1993)
A. (*P.*) *quelpartensis*	-	-	15m, 10sm, 3st	Lee & Kwon (1993)
Bradybaena ravida	58	-	19m, 3sm, 7t	Sun (1995)
Cathaica fasciola	60	-	7m, 1sm, 22t	Sun (1995)
Euhadra amaliae	56	-	19m, 9sm	Tatewaki & Kitada (1987)
E. callizona	56	-	19m, 9sm	Tatewaki *et al*. (1987)
E. dixoni	56	-	19m, 9sm	Tatewaki & Kitada (1984, 1987)
E. eoa	56	-	19m, 9sm	Tatewaki & Kitada (1996)
E. sandai oki	56	-	21m, 7sm	Tatewaki & Kitada (1994)
E. peliomphila simodae	56	-	18m, 10sm	Tatewaki *et al*. (1987)
E. subnimbosa	56	-	21m, 9sm	Tatewaki & Kitada (1984)
Koreanohadra adamsi	-	-	10m, 18sm, 1st	Lee & Kwon (1993)
K. koreana	-	-	10m, 13sm, 1st, 5t	Lee & Kwon (1993)
K. kurodana	-	-	11m, 17sm, 1t	Lee & Kwon (1993)
Nesiohelix samarangae	-	-	12m, 9sm, 2st, 1t	Lee & Kwon (1993)
Pseudobuliminus siamensis	58	114	$L_{26}^m + L_{10}^{sm} + M_8^m + M_8^{st} + S_4^m + S_2^t$	การวิจัยครั้งนี้



ภาพที่ 1 เปลือกหอยทากบก A, *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis*; B, *Cryptozona siamensis*; *C*, *Sarika resplendens*; D, *Pseudobuliminus siamensis*



ภาพที่ 2 เซลล์เมทาเฟสโครโมโซมของหอยทากบก A, *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* (2n = 28); B, *Cryptozona siamensis* (2n = 66); C, *Sarika resplendens* (2n = 66); D, *Pseudobuliminus siamensis* (2n = 58)



ภาพที่ 3 แคริโอไทป์ของหอยทากบก A, *Cyclotus* (*Siphonocyclotus*) *hinlapensis* (2n = 28); B, *Cryptozona siamensis* (2n = 66); C, *Sarika resplendens* (2n = 66); D, *Pseudobuliminus siamensis* (2n = 58)