

# การศึกษาแคริโอไทป์ของตั๊กแตนตัวห้ำหัวหอกเพศผู้ (*Palaeograecia brunnea*) และตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้ (*Hieroglyphus banian*) ในภาคเหนือของประเทศไทย

## Karyotypic Study of Male Predaceous Spear-headed Katydid (*Palaeograecia brunnea*) and Male Bluish-green Rice Grasshopper (*Hieroglyphus banian*) in Northern Thailand

อรอนงค์ ยามเลย<sup>1</sup>, อิศสระ ปะทะวัง<sup>2\*</sup>

Onanong Yamloei<sup>1</sup>, Isara Patawang<sup>2\*</sup>

Received: 3 July 2019 ; Revised: 29 October 2019 ; Accepted: 22 November 2019

### บทคัดย่อ

การศึกษาแคริโอไทป์และอิดิโอแกรมของตั๊กแตนตัวห้ำหัวหอกเพศผู้ [*Palaeograecia brunnea* (Ingrisch, 1998)] และตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้ [*Hieroglyphus banian* (Fabricius, 1798)] ในภาคเหนือของประเทศไทย เก็บตัวอย่างจากจังหวัดลำพูน และเชียงใหม่ เตรียมโครโมโซมไมโทซิสโดยตรงจากเนื้อเยื่อทางเดินอาหารและอวัยวะของตั๊กแตนเพศผู้ ด้วยเทคนิคการใช้โคลชิซิน-สารละลายไฮโปโทนิก-น้ำยาตรึงเซลล์ ย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาด้วยความเข้มข้น 20% (v/v) ตรวจสอบโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาที่กำลังขยาย 1,000 เท่า ผลการศึกษาพบว่าตั๊กแตนตัวห้ำหัวหอกเพศผู้ที่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 13 แห่ง ประกอบด้วยออโตโซม 12 แห่ง และโครโมโซมเอ็กซ์ 1 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ  $2n(13)=L_{12}^m + X(L^m)$  chromosome ตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้ที่มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง ประกอบด้วยออโตโซม 22 แห่ง และโครโมโซมเอ็กซ์ 1 แห่ง มีสูตรแคริโอไทป์คือ  $2n(23)=L_8^l + M_6^l + S_8^l + X(L^l)$  chromosome

**คำสำคัญ:** ตั๊กแตนตัวห้ำหัวหอก ตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัส แคริโอไทป์ โครโมโซม ภาคเหนือของประเทศไทย

### Abstract

Karyotypic and idiogram studies were performed using male predaceous spear-headed katydid, *Palaeograecia brunnea* (Ingrisch, 1998), and male bluish-green rice grasshopper, *Hieroglyphus banian* (Fabricius, 1798), collected from Lamphun and Chiang Mai provinces in Northern Thailand. The mitotic chromosomes were directly prepared from gut tissue and male testis tissue by colchicine-hypotonic-fixation techniques and stained by conventional staining 20% (v/v) Giemsa working solution. Chromosomes were observed under compound light microscope (1,000 times). The results showed that the diploid chromosome number of the male *Palaeograecia brunnea* was  $2n=13$ , including 12 autosomes and 1 X chromosome. The karyotype formula of the male *Palaeograecia brunnea* was deduced as:  $2n(13)=L_{12}^m + X(L^m)$  chromosome. The diploid chromosome number of the male *Hieroglyphus banian* was  $2n=23$ , including 22 autosomes and 1 X chromosome. The karyotype formula of the male *Hieroglyphus banian* was deduced as:  $2n(23)=L_8^l + M_6^l + S_8^l + X(L^l)$  chromosome.

**Keywords:** *Palaeograecia brunnea*, *Hieroglyphus banian*, Karyotype, Chromosome, North Thailand

<sup>1</sup> นักศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup> อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup> Master's degree student, Graduate School, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Mueang District, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup> Instructor, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Mueang District, Chiang Mai 50200, Thailand

\* Corresponding author: isara.p@cmu.ac.th

**บทนำ**

ด้กัแตนตัวห้ำหัวหอก [*Palaeograecia brunnea* (Ingrisch, 1998)] เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในไฟลัม Arthropoda ชั้น Insecta อันดับ Orthoptera วงศ์ Tettigoniidae วงศ์ย่อย Conocephalinae และเผ่า Agraeciini ด้กัแตนตัวห้ำหัวหอก มีเขตการแพร่กระจายพันธุ์ตั้งแต่ อินเดีย ตะวันออกเฉียงใต้ ของเทือกเขาหิมาลัย มาเลเซีย และประเทศไทย1 ปัจจุบัน ด้กัแตนตัวห้ำหัวหอกในสกุล *Palaeograecia* มี 6 ชนิด ได้แก่ *P. ascenda*, *P. brunnea*, *P. chyzeri*, *P. globiceratus*, *P. lutea* และ *P. philippina* ลักษณะเด่นภายนอกของด้กัแตนตัวห้ำหัวหอก คือ ลำตัวสีครีมอมชมพู มีแถบบนหัว ออก และ โคนปีกด้านบนสีดำ ลักษณะเฉพาะที่ใช้จำแนกชนิดของ ด้กัแตนตัวห้ำหัวหอกคือ ส่วนของสันหัวและอกมีแถบสีน้ำตาล เข้มอยู่ตรงกลาง ส่วนท้องด้านบนปล้องที่ 10 แบ่งเป็นสองพู มีขนาดใหญ่ และโป่งออกเป็นมุมแหลมยื่นออกมา ปลายท้อง มี styli อยู่ชิดติดกัน และมี subgenital plate อยู่กึ่งกลางทาง ด้านท้ายส่วนท้อง<sup>3</sup>

ด้กัแตนข้าวไฮโรไกลฟัส [*Hieroglyphus banian* (Fabricius, 1798)] จัดอยู่ในวงศ์ Acrididae วงศ์ย่อย Hemiacridinae และเผ่า Hieroglyphini<sup>1</sup> ด้กัแตนข้าวไฮโรไกลฟัสในสกุล *Hieroglyphus* มี 13 ชนิด ได้แก่ *H. acuticercus*, *H. africanus*, *H. akbari*, *H. banian*, *H. annulicornis*, *H. concolor*, *H. daganensis*, *H. indicus*, *H. kolhapurnensis*, *H. nigrorepletus*, *H. oryzivorus*, *H. perpolita* และ *H. tonkinensis* ลักษณะเด่นภายนอกของด้กัแตนข้าวไฮโรไกลฟัส คือ ตัวเต็มวัยมีสีเหลืองปนเขียวหรือน้ำตาลอ่อนปนเขียว ความยาวของลำตัว 30-50 มิลลิเมตร หนวดสีน้ำตาล ตรงข้อต่อมีสีเหลืองปนเขียว ส่วนหัวโต หน้าผากกว้าง ตารูปไข่มีขีดยาวสีดำในดวงตา สีของนัยน์ตาสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลแดง ส่วนอกเป็นทรงรูปกระบอกและมีรอยคาดขวาง สีดำ 4 เส้น ปีกยาวคลุมปล้องท้องจนมิด ทิเบียของขาคู่หลังมีสีฟ้า<sup>2</sup> ลักษณะเฉพาะที่ใช้จำแนกด้กัแตนชนิดข้าวไฮโรไกลฟัส คือ ส่วนปลายแพนหางมี 2 แฉก ลักษณะเรียวยาวแหลม แฉกบนโค้งลง ส่วนแฉกล่างยาวและแหลม<sup>4</sup>

ระบบกำหนดเพศของด้กัแตนในวงศ์ Tettigoniidae และ Acrididae โดยส่วนใหญ่แล้วเป็นระบบโครโมโซมเพศแบบ XX/XO (XX ในเพศเมีย และ XO ในเพศผู้)<sup>5,6</sup> ในอดีตมีรายงานการศึกษาโครโมโซมของด้กัแตนในวงศ์ Tettigoniidae พบว่ามีความผันแปรของจำนวนโครโมโซมหลายรูปแบบ ได้แก่ ด้กัแตนเพศผู้บางชนิดมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 21 แห่ง7 บางชนิดมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง8 ในเพศผู้ 24 แห่ง9 ในเพศเมีย<sup>7,8,9</sup> นอกจากนี้ยังมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 24 แห่ง ซึ่งมีระบบโครโมโซมเพศแบบ neo-XY system<sup>10</sup> จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 27

แห่ง<sup>7,10,11,12</sup> จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 29 แห่งในเพศผู้ 30 แห่งในเพศเมีย<sup>6,9,11,12,13,14</sup> จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 31<sup>6,7</sup> แห่ง 33 แห่ง และ 35 แห่งในเพศผู้<sup>7,14</sup> 32 แห่ง และ 34 แห่ง ในเพศเมีย<sup>7,14</sup> สำหรับด้กัแตนในสกุล *Palaeograecia* ยังไม่มีรายงานการศึกษาโครโมโซมมาก่อน การศึกษาโครโมโซมในด้กัแตนตัวห้ำหัวหอก (*Palaeograecia brunnea*) ครั้งนี้ จึงเป็นรายงานแรกของสกุล *Palaeograecia*

ส่วนด้กัแตนในวงศ์ Acrididae มีรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมของด้กัแตนเพศผู้มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 19 แห่ง และ 20 แห่งในเพศเมีย<sup>5</sup> บางชนิดมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 21 แห่งในเพศผู้ และ 22 แห่งในเพศเมีย<sup>15,16</sup> นอกจากนี้ยังมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่งในเพศผู้ และ 24 แห่งในเพศเมีย<sup>5,15,16,17,18,19,20,21,22</sup> สำหรับด้กัแตนในสกุล *Hieroglyphus* เคยมีรายงานไว้ในชนิด *Hieroglyphus banian* มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 แห่ง และมีระบบโครโมโซมเพศเป็น XX/XO<sup>17,19</sup>

**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการศึกษา**

ใช้ตัวอย่างด้กัแตนตัวห้ำหัวหอกเพศผู้ 10 ตัว (หมายเลข AC i1-i10) และด้กัแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้ 10 ตัว (หมายเลข AC i11-i20) (Figure 1) โดยเทียบเคียงกับคำบรรยายลักษณะพื้นฐานวิทยาจากเอกสารของพิสุทธิ<sup>2</sup> รูปวิธานของสกุล *Palaeograecia* ตามเอกสารของ Kim and Lee<sup>3</sup> และรูปวิธานของสกุล *Hieroglyphus* ตามเอกสารของ Kumar and Usmani<sup>4</sup> ซึ่งใช้ลักษณะของสีลำตัว หนวด หัว ออก โคนปีก ทิเบียของขาคู่หลัง แพนหาง และ subgenital plate เพื่อจำแนก โดยเก็บรวบรวมจากพื้นที่จังหวัดลำพูน และเชียงใหม่ ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 นำด้กัแตนมาผ่านขั้นตอนการกระตุ้นด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.01% (w/v) โดยฉีดเข้าบริเวณช่องท้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเตรียมโครโมโซมโดยตรงจากเนื้อเยื่อทางเดินอาหารและเนื้อเยื่ออวัยวะ สับให้ละเอียดในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ (M) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อ นาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที และทำการตรึงเซลล์ด้วยน้ำยาตรึงเซลล์สูตรคาร์นอย (Carnoy's fixative) จำนวน 3 รอบ จากนั้นหยดเซลล์ลงบนสไลด์และนำไปย้อมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา (conventional Giemsa) ด้วยสีจิมซาคความเข้มข้น 20% (v/v) ตรวจสอบโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาที่กำลังขยาย 1,000 เท่า ถ่ายภาพเพื่อนำมาวิเคราะห์ จัดทำแคโรไพอ์จากโครโมโซมระยะเมทาเฟส จำแนกชนิดโครโมโซมโดยอ้างอิงตามวิธีการของอลงกลด และคณะ<sup>23</sup> และ Turpin and Lejeune<sup>24</sup>

ตัวอย่างตักแตนที่เหลือจากการตัดเอาเนื้อเยื่อทางเดินอาหารและอวัยวะ อนุรักษ์สภาพไว้ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% จัดทำบันทึกทะเบียนตัวอย่างและเก็บรักษาไว้ ณ แหล่งรวบรวมสัตว์ของห้องปฏิบัติการวิจัยพันธุศาสตร์ระดับเซลล์และเซลล์ชีวเคมีคัลส์ (Animal Collection of Cytogenetics and Cytosystematics Research, AC) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาค้นคว้าที่เกี่ยวข้องต่อไปในอนาคต

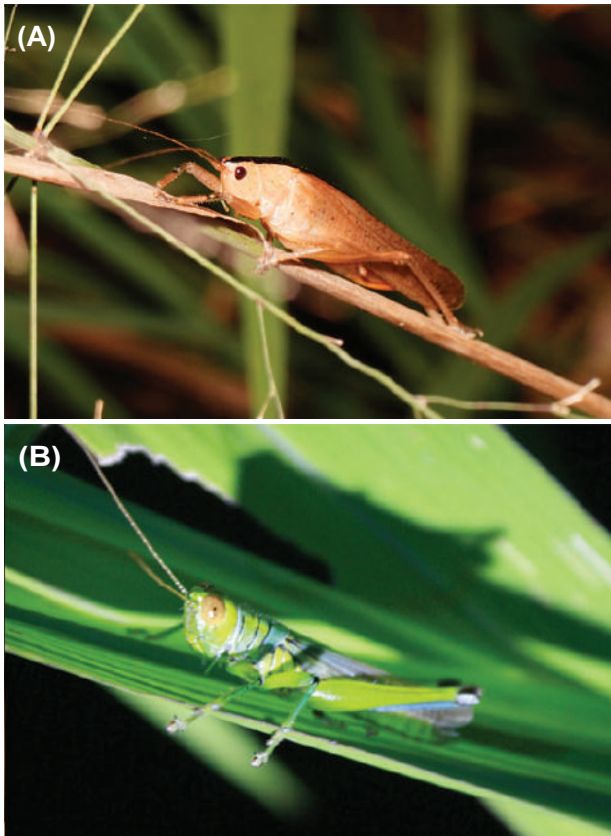


Figure 1 General characteristics of *Palaeoagraecia brunnea* (A) and *Hieroglyphus banian* (B)

**ผลการศึกษา**

ตักแตนตัวห้ำหอกเพศผู้มีชุดโครโมโซมแบบดิพลอยด์จำนวน 13 แห่ง ประกอบด้วยอโตโซม 12 แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ (large metacentric) ทั้งหมด และโครโมโซมเพศ 1 แห่ง โดยเป็นโครโมโซม X ซึ่งเป็นชนิดเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ โครโมโซมเครื่องหมายที่สังเกตจากลักษณะรูปร่างโดยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาสามารถตรวจพบที่โครโมโซมคู่ที่ 4 มีลักษณะเป็นรอยคอดที่สองซึ่งเป็นบริเวณที่เป็นตำแหน่งของเอ็นโออาร์ (NOR) ปรากฏบนแขนข้างสั้นใกล้กับตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (Figures 2, 4A and Table 1A) และสามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ได้ดังนี้

$$2n (13) = L_{12}^m + X (L^m) \text{ chromosome}$$

ตักแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้มีชุดโครโมโซมแบบดิพลอยด์จำนวน 23 แห่ง ประกอบด้วยอโตโซม 22 แห่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก (telocentric) ทั้งหมด โดยแบ่งออกเป็น 3 ขนาด ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 4 คู่ (คู่ที่ 1-4) ขนาดกลาง 3 คู่ (คู่ที่ 5-7) และขนาดเล็ก 4 คู่ (คู่ที่ 8-11) และโครโมโซมเพศ 1 แห่ง โดยเป็นโครโมโซม X ที่มีขนาดใหญ่ ทั้งนี้จากการย้อมสีโครโมโซมด้วยสีจิมซ่าแบบธรรมดา ไม่สามารถตรวจพบตำแหน่งรอยคอดที่สองหรือตำแหน่งเอ็นโออาร์บนแคโรไทป์ของตักแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้ได้ (Figures 3, 4B and Table 1B) และสามารถเขียนสูตรแคโรไทป์ได้ดังนี้

$$2n (23) = L_8^l + M_6^l + S_8^l + X (L^l) \text{ chromosome}$$

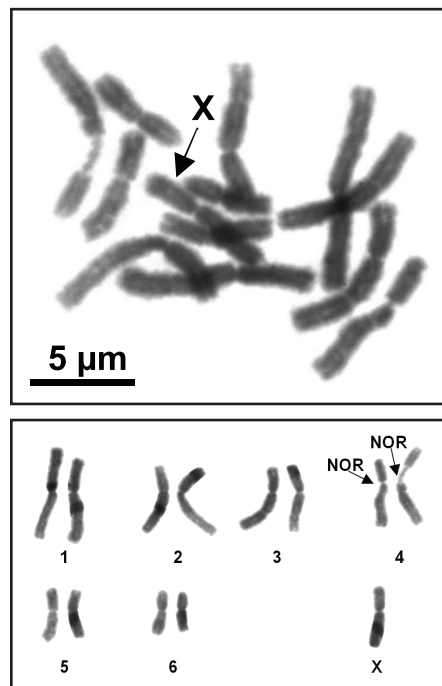
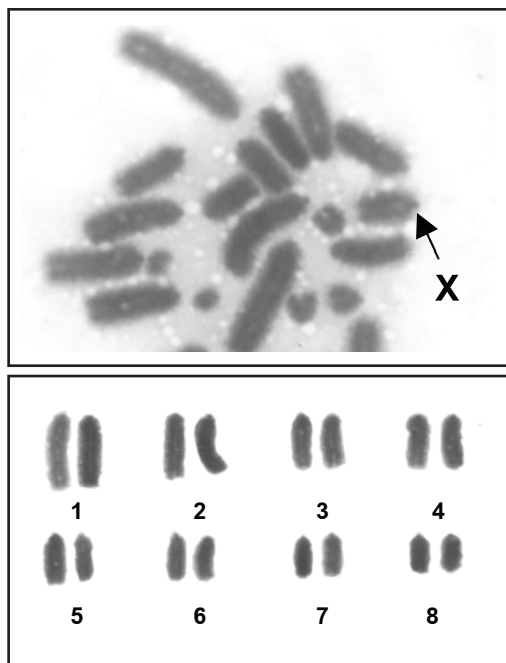


Figure 2 Metaphase chromosome plate and karyotype of male predaceous spear-headed katydid (*Palaeoagraecia brunnea*, 2n=13) by conventional staining technique



**วิจารณ์และสรุปผล**

ผลการศึกษาโครโมโซมของตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัส (*Hieroglyphus banian*) พบว่าโครโมโซมของตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัส สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุถึงจำนวนโครโมโซมดีพลอยด์ในตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัสเพศผู้เท่ากับ 23 แท่ง มีรูปแบบแคริโอไทป์แบบเทโลเซนทริกทั้งหมด และพบโครโมโซมเพศเป็นระบบ XX/XO<sup>17,19</sup> (Table 3) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับลักษณะแคริโอไทป์ส่วนใหญ่ของตั๊กแตนในวงศ์ Acrididae ที่ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก และโครโมโซมเพศเป็นระบบ XX/XO โดยเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น XX และเพศผู้เป็น XO<sup>5,15-22</sup>

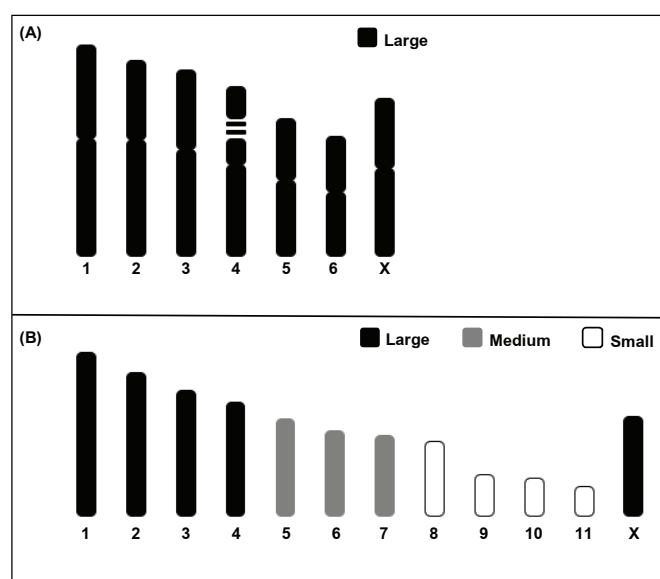
**Figure 3** Metaphase chromosome plate and karyotype of male bluish-green rice grasshopper (*Hieroglyphus banian*, 2n=23) by conventional staining technique

**Table 1** Mean length of the short arm chromosome (Ls), long arm chromosome (LI), total arm chromosome (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI from metaphase cell of male predaceous spear-headed katydid (*Palaeograecia brunnea*, 2n=13) (A) and male bluish-green rice grasshopper (*Hieroglyphus banian*, 2n=23) (B)

Species	Pair	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Size	Type
A	1	4.023	5.090	9.113	0.180±0.012	0.559±0.036	Large	Metacentric
	2	3.415	5.001	8.416	0.166±0.007	0.594±0.044	Large	Metacentric
	3	3.409	4.604	8.013	0.158±0.007	0.575±0.035	Large	Metacentric
	4	3.387	3.944	7.331	0.144±0.009	0.538±0.030	Large	Metacentric
	5	2.635	3.278	5.913	0.117±0.006	0.554±0.030	Large	Metacentric
	6	2.439	2.738	5.177	0.102±0.007	0.529±0.031	Large	Metacentric
	X	3.018	3.765	6.783	0.134±0.008	0.555±0.037	Large	Metacentric
B	1	0.000	6.677	6.677	0.149±0.024	1.000+0.000	Large	Telocentric
	2	0.000	5.843	5.843	0.131±0.011	1.000+0.000	Large	Telocentric
	3	0.000	5.108	5.108	0.114±0.029	1.000+0.000	Large	Telocentric
	4	0.000	4.649	4.649	0.104±0.030	1.000+0.000	Large	Telocentric
	5	0.000	3.962	3.962	0.089±0.019	1.000+0.000	Medium	Telocentric
	6	0.000	3.473	3.473	0.078±0.016	1.000+0.000	Medium	Telocentric
	7	0.000	3.303	3.303	0.074±0.017	1.000+0.000	Medium	Telocentric

**Table 1** Mean length of the short arm chromosome (Ls), long arm chromosome (LI), total arm chromosome (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI from metaphase cell of male predaceous spear-headed katydid (*Palaeograecia brunnea*, 2n=13) (A) and male bluish-green rice grasshopper (*Hieroglyphus banian*, 2n=23) (B) (continue)

Species	Pair	Ls	LI	LT	RL±SD	CI±SD	Size	Type
	8	0.000	3.065	3.065	0.069±0.015	1.000+0.000	Small	Telocentric
	9	0.000	1.716	1.716	0.038±0.010	1.000+0.000	Small	Telocentric
	10	0.000	1.560	1.560	0.035±0.008	1.000+0.000	Small	Telocentric
	11	0.000	1.228	1.228	0.027±0.004	1.000+0.000	Small	Telocentric
	X	0.000	4.088	4.088	0.092±0.037	1.000+0.000	Large	Telocentric



**Figure 4** Idiograms of male *Palaeograecia brunnea*, 2n=13 (A) and male *Hieroglyphus banian*, 2n=23 (B) by conventional staining technique

**Table 2** Review of cytogenetic reports in the family Tettigoniidae

Family	2n	Sex determination system	Reference
Tettigoniidae	21(♂),	XX/XO	Na and Bing-Zhong <sup>6</sup> , Ferreira and Mesa <sup>7,14</sup> , Warchalowska-Sliwa <i>et al.</i> <sup>8,12</sup> , Grzywacz <i>et al.</i> <sup>10</sup> , Hemp <i>et al.</i> <sup>9,11</sup> , Barranco <i>et al.</i> <sup>13</sup>
	23(♂) 24(♀), 27(♂),		
	29(♂) 30(♀),		
	31(♂) 32(♀),		
	33(♂) 34(♀),		
	35(♂)		
	24(♂) 24(♀)	Neo-XY	Grzywacz <i>et al.</i> <sup>10</sup>
Only genus <i>Palaeograecia</i>	<i>P. brunnea</i> 13(♂)	XX/XO	This study



**Table 3** Review of cytogenetic reports in the family Acrididae

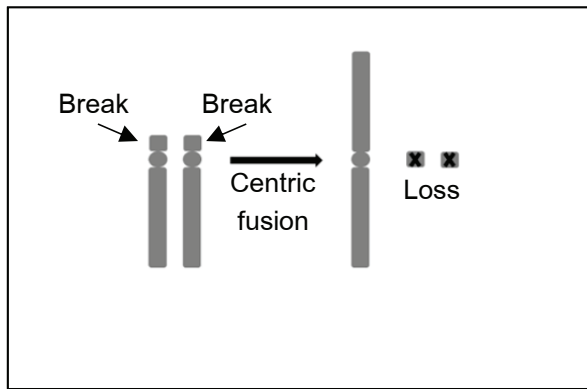
Family	2n	Sex determination system	Reference
Acrididae	19(♂) 20(♀),	XX/XO	Mesa and Fontanetti <sup>5</sup> , Grzywacz <i>et al.</i> <sup>15</sup> , Bugrov <i>et al.</i> <sup>16</sup> , บังอร <sup>17</sup> , Ashok <sup>18</sup> , Koli <i>et al.</i> <sup>19</sup> , Phimphan <i>et al.</i> <sup>20</sup> , Sandhu and Chadha <sup>21</sup> , John and Naylor <sup>22</sup>
	21(♂) 22(♀),		
	23(♂) 24(♀)		
Only genus <i>Hieroglyphus</i>	<i>H. banian</i>	23(♂)	XX/XO บังอร <sup>17</sup> , Koli <i>et al.</i> <sup>19</sup> , This study

แคริโอไทป์ของตั๊กแตนข้าวไฮโรไกลฟัสมีลักษณะแบบโบราณ (primitive) เนื่องจากมีโครโมโซมเป็นชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด ซึ่งเป็นลักษณะแคริโอไทป์แบบโบราณที่ถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษ โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Mesa and Fontanetti ที่พบว่าตั๊กแตนในวงศ์ Acrididae มีการอนุรักษ์รูปแบบของแคริโอไทป์แบบโบราณไว้สูง คือ จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 23 ในเพศผู้ และเป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด<sup>5</sup>

ผลการศึกษาในตั๊กแตนตัวห้าหัวหอกพบว่า มีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 13 แท่ง และลักษณะแคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ทั้งหมด ซึ่งมีความแตกต่างจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ของตั๊กแตนชนิดอื่นในวงศ์ Tettigoniidae ทั้งจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ขนาดของโครโมโซม และชนิดของโครโมโซม พบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ตั้งแต่ 21 ถึง 35 แท่ง (Table 2) นอกจากนี้ยังพบความผันแปรของรูปร่างโครโมโซมในแบบต่างๆ คือมีรูปแบบแคริโอไทป์ที่ประกอบไปด้วยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกหรืออะโครเซนทริก ทั้งขนาดใหญ่และขนาดกลาง ซึ่งเป็นลักษณะแคริโอไทป์แบบโบราณของบรรพบุรุษเริ่มแรก<sup>6-14</sup> ส่วนระบบโครโมโซมเพศไม่แตกต่างกันคือเป็นแบบ XX/XO โดยโครโมโซม X เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกเกือบทั้งหมด ยกเว้น Grzywacz *et al.* ซึ่งพบว่ามีตั๊กแตนบางชนิดที่มีระบบโครโมโซมเพศแบบ neo-XY<sup>10</sup>

เมื่อเปรียบเทียบแคริโอไทป์ของตั๊กแตนตัวห้าหัวหอกกับตั๊กแตนชนิดอื่นในวงศ์ Tettigoniidae พบว่าแคริโอไทป์ของตั๊กแตนตัวห้าหัวหอกมีลักษณะแบบพัฒนาหรือมีอายุวิวัฒนาการค่อนข้างน้อย เกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมที่แยกออกมาจากสายสัมพันธ์หลัก โดยสอดคล้องกับทฤษฎีวิวัฒนาการระดับโครโมโซมของ White<sup>25</sup> คือโครโมโซมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงมาจากบรรพบุรุษที่เกิดการแตกหักของชิ้นส่วนโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกหรืออะโครเซนทริก 2 แท่ง แล้วเกิดการเชื่อมรวมกันที่บริเวณเซนโทรเมียร์ (centric fusion) เปลี่ยนแปลงเป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกหรือซับเมทาเซนทริกจำนวน 1 แท่ง ชิ้นส่วนโครโมโซมบางส่วนที่ไม่มีเซนโทรเมียร์จะเกิดการสูญหาย (loss) และมีผลทำให้จำนวนโครโมโซมลดลง (Figure 5)

แบบจำลองนี้เป็นเพียงสมมติฐานการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโครโมโซมที่เกิดขึ้นระหว่างวิวัฒนาการโดยใช้ข้อมูลทางพันธุศาสตร์ระดับเซลล์สนับสนุน ในการพิสูจน์สมมติฐานตามแบบจำลองการเกิดวิวัฒนาการระดับโครโมโซมของตั๊กแตนวงศ์ Tettigoniidae จะต้องศึกษาเพิ่มเติมด้วยเทคนิคอื่นๆต่อไปในอนาคตเพื่อสนับสนุนและให้ได้แบบจำลองสมมติฐานที่ถูกต้องที่สุด



2 acrocentrics 1 metacentric

**Figure 5** Model of chromosome rearrangement by centric fusion

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) และได้รับอนุญาตการใช้สิทธิ์ทดลองตามมาตรฐานสถาบันพัฒนาการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (เลขที่คำขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์ U1-04491-2559)

### เอกสารอ้างอิง

1. Cigliano MM. Orthoptera Species File. Version 12.10. Species File Group. 2019. Available: <https://doi.org/10.15468/nn7jhc> Accessed 19 February, 2019.
2. พิสุทธิ เอกอำนวยการ. โลกของตั๊กแตน จิ้งหรีด 2 ตั๊กแตนต่างๆ Grasshoppers. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: พลัสเพรส ; 2556: 10-34.
3. Kim T, Lee KW. A new record of *Palaeoagraecia lutea* (Orthoptera: Tettigoniidae: Conocephalinae: Agraeciini) in Korea. *Animal Systematics, Evolution and Diversity* 2019 ; 35(3): 143-150.
4. Kumar H, Usmani M. A review of the genus *Hieroglyphus* (Acrididae: Hemiacridinae) from India, with description of a new species. *Tropical Zoology* 2015 ; 28:1-21.
5. Mesa A, Fontanetti CS. Karyotypes of nine Brazilian species of acridids (Orthoptera, Acridoidea). *Revista Brasileira de Genetica* 1983 ; 6(2): 295-305.
6. Na L, Bing-Zhong R. Karyotypes of Tettigoniidae (Orthoptera: Tettigonioidae) in Northeast China. *Zootaxa* 2007 ; 1475: 61-68.

7. Ferreira A, Mesa A. Cytogenetics studies in thirteen Brazilian species of Phaneropterinae (Orthoptera: Tettigonioidae: Tettigoniidae): main evolutive trends based on their karyological traits. *Neotropical Entomology* 2007 ; 36(4): 503-509.
8. Warchalowska-Sliwa E, Grzywacz B, Maryanska-Nadachowska A, Karamysheva TV, Rubtsov NB, Chobanov DP. Chromosomal differentiation among bisexual European species of Saga (Orthoptera: Tettigoniidae: Saginae) detected by both classical and molecular methods. *European Journal of Entomology* 2009 ; 106(1): 1-9.
9. Hemp C, Heller K, Warchalowska-Sliwa E, Grzywacz B. A molecular phylogeny of east African amyttia (Orthoptera: Tettigoniidae, Meconematinae) with data on their cytogenetics. *Systematic Entomology* 2018 ; 43(2): 239-249.
10. Grzywacz B, Hemp C, Heller KG, Hemp A, Chobanov DP, Warchalowska-Sliwa E. Cytogenetics and molecular differentiation in the African armoured ground bushcrickets (Orthoptera: Tettigoniidae: Hetrodinae). *Zoologischer Anzeiger* 2015 ; 259(1): 22-30.
11. Hemp C, Heller KC, Warchalowska-Sliwa E, Grzywacz B, Hemp A. Ecology, acoustics and chromosomes of the East African genus *Afroanthracites* Hemp & Ingrisich (Orthoptera, Tettigoniidae, Conocephalinae, Agraeciini) with the description of new species. *Organisms Diversity & Evolution* 2015 ; 15: 351-368.
12. Warchalowska-Sliwa E, Grzywacz B, Maryanska-Nadachowska A, Karamysheva TV, Chobanov DP, Heller KG. Cytogenetic variability among bradyporinae species (Orthoptera: Tettigoniidae). *European Journal of Entomology* 2013 ; 110(1): 1-12.
13. Barranco P, Cabrero J, Camacho JPM, Pascual F. Chromosomal basis for a bilateral gynandromorph in *Pycnogaster inermis* (Rambur, 1838) (Orthoptera, Tettigoniidae). *Contribution to Zoology* 1995 ; 65(2): 123-127.

14. Ferreira A, Mesa A. Cytogenetics studies in brazilian species of Pseudophyllinae (Orthoptera: Tettigoniidae):  $2n(\sigma)=35$  and  $FN=35$  the probable basic and ancestral karyotype of the family Tettigoniidae. Neotropical Entomology 2010 ; 39(4): 590-594.
15. Grzywacz B, Tatsuta H, Shikat K, Elzbieta W. A comparative chromosome mapping study in Japanese Podismini grasshoppers (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). Cytogenetic and Genome Research 2018 ; 154(1): 37-44.
16. Bugrov A, Warchalowska-Sliwa E, Maryanska - Nadachowska A. Karyotype evolution and chromosome C-banding patterns in some podismini grasshoppers (Orthoptera, Acrididae). Caryologia 1994 ; 47(2): 183-191.
17. บังอร กองอิม. ไมโทติกคาริโอไทป์ของตั๊กแตนหนวดสั้นบางชนิดในจังหวัดขอนแก่นและ สกลนคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น ; 2544: 108-109.
18. Ashok KS. Cytology and cytotaxonomy of Acrididae: a summary. Records of the Zoological Survey of India 2006 ; 106(3): 47-78.
19. Koli YJ, Gaikwad SM, Bharmal DL, Bhawane GP. Karyotypic studies of six species of grasshopper (Orthoptera: Acrididae) from Kolhapur District, Maharashtra, India. Cytologia 2013 ; 78(3): 255-260.
20. Phimphan S, Sangpakdee W, Sangpakdee K, Tanomtong A. Chromosomal analysis and meiosis studies of *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acrididae) from Thailand. The Nucleus 2017 ; 60(1): 9-15.
21. Sandhu SK, Chadha P. Karyological studies of four species of grasshoppers from Gurdaspur District of Punjab, India. The Nucleus 2012 ; 55(3): 167-170.
22. John B, Naylor B. Anomalous chromosome behavior in the germ line of *Schistocerca gregaria*. Heredity 1961 ; 16: 187-198.
23. อลงกลด แทนอมทอง กฤษณ์ ปิ่นทอง และอิสสระ ปะทะวัง. พันธุศาสตร์ระดับเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ; 2562: 429-505.
24. Turpin R, Lejeune J. Les chromosomes humains (caryotype normal et variations pathologiques). Paris: Gauthier Villars 1965 ; (6): 965-966.
25. White MJD. Animal cytology and evolution. Cambridge University Press, Cambridge ; 1973: 961.