



รายงานผลการวิจัย
ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

๔
เรื่อง

การศึกษาการไอโทปแบบต่างๆ ในกระเบื้องสุกผสม
(กระเบื้องปลัก × กระเบื้องแม่น้ำ)

โดย

วิวัฒน์ ขวามิถุน
ทวีศักดิ์ จันทร์ประทีป
สุมิตรา วัฒนไศร

ทท
ชท 15
008365

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย



การศึกษาคาโรไทป์แบบต่างๆในกระป๋องลูกผสม

(กระป๋องปลัก X กระป๋องแม่น้ำ)

โดย

วิวัฒน์ ชวนะนิกุล

พีรศักดิ์ จันทร์ประทีป

สุมิตรา วัฒนบุตร

สิงหาคม 2534

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี พ.ศ. 2533

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณอัญชลี ณ เชียงใหม่ ผู้ประสานงานวิจัยนี้ คุณนิทัศน์ อ่อนหวาน ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลำพูนกลาง คุณทองทวี ตีมะการ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างเลือด และเก็บข้อมูลลักษณะภายนอก นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังได้รับการสนับสนุนจาก รศ.ดร. วัฒนา วัฒนวิจารย์ ในการใช้ห้องปฏิบัติการหน่วยไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาคาไรโอไทป์แบบต่างๆในกระบือลูกผสม(กระบือปลัก X กระบือแม่น้ำ)

ชื่อผู้วิจัย วิวัฒน์ ชวนะนิกุล พิศศักดิ์ จันทร์ประทีป และสมิตรา วัฒนนคร

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ สิงหาคม พ.ศ. 2534

บทย่อ

ศึกษาคาไรโอไทป์โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว และใช้เทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดาด้วย Giemsa ในกระบือลูกผสมระหว่างกระบือปลักและกระบือแม่น้ำจำนวน 101 ตัว ซึ่งเป็นลูกผสมชั่วที่ 1 สายเลือด 50% ไร่ 6 ตัว ลูกผสมชั่วที่ 2 สายเลือด 25% ไร่ 11 ตัว สายเลือด 75% ไร่ 78 ตัว และลูกผสมชั่วที่ 3 สายเลือด 87.5% ไร่ 6 ตัว พบว่า ในลูกผสมชั่วที่ 1 มีคาไรโอไทป์แบบเดี่ยว คือ $2n = 49$ ลูกผสมชั่วที่ 2 สายเลือด 25% ไร่ มีคาไรโอไทป์ 2 แบบ คือ $2n = 48$ และ $2n = 49$ ในอัตราส่วน 1:1 ส่วนคาไรโอไทป์ของลูกผสมในชั่วที่ 2 สายเลือด 75% ไร่ พบ 2 แบบเช่นกัน แต่คนละลักษณะ คือ $2n = 49$ และ $2n = 50$ ในอัตราส่วน 1:1 ส่วนในลูกผสมชั่วที่ 3 สายเลือด 87.5% ไร่ มีคาไรโอไทป์เช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 2 สายเลือด 75% ไร่ ซึ่งอัตราส่วนรูปแบบคาไรโอไทป์ที่พบนี้ สอดคล้องกับทฤษฎีทางพันธุศาสตร์ นอกจากนี้ การศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ภายนอกในกระบือลูกผสมสายเลือด 25% ไร่ จำนวน 10 ตัว และลูกผสมสายเลือด 75% ไร่ 52 ตัว แสดงให้เห็นว่า ความแตกต่างของลักษณะสีผิวหนึ่งทีดำตัว สีขนทีดำตัว ทีหน้าผาก ทีฟูปลายหาง และทีขาส่วนใต้หัวเข้า รวมถึงลักษณะแถบคาดสีขาวทีบริเวณใต้คอ ไม่มีความสัมพันธ์กับรูปแบบคาไรโอไทป์ แต่ขึ้นกับเปอร์เซ็นต์สายเลือดเป็นสำคัญ ลูกผสมทีมีสายเลือด 25% ไร่ มีลักษณะคล้ายไปทางกระบือปลัก แต่ลูกผสมสายเลือด 75% ไร่ มีลักษณะคล้ายกระบือแม่น้ำ

คำสำคัญ โครโมโซม คาไรโอไทป์ ฟีโนไทป์ กระบือปลัก กระบือแม่น้ำ กระบือลูกผสม

Project Title Study of different karyotypes in crossbred buffaloes
(Swamp X River)

Name of Investigators Vivat Chavananikul, Peerasak Chantaraprateep
and Sumittra Wattanodorn

Year August 1991

Abstract

A total of 101 crossbred swamp and murreh buffaloes consisted of F1 50% murreh (n=6), F2 25% murreh (n=11), F2 75% murreh (n=78) and F3 87.5% murreh (n=6) were used for investigation on karyotype by lymphocyte culture and Giemsa staining technique. It was found that F1 crossbred possessed only one type of $2n=49$, while for the F2 25% murreh it had 2 types, $2n=48$ and $2n=49$ with the ratio of 1:1. The F2 75% murreh had also 2 types, but different karyotypes of $2n=49$ and $2n=50$ with the ratio of 1:1. The F3 87.5% murreh possessed the same karyotypes as those described for the latter. These findings conform to the theory of cytogenetics. Investigation on phenotypes of these crossbred buffaloes, F1 25% murreh (n=10) and F2 75% murreh (n=52) revealed that the differences of body skin color, body hair coat, hair on the front, end of the tail and on metacarpus and metatarsus as well as the chevron beneath the neck were not correlated to the karyotypes, but depended significantly on percentage of breed. Swamp-like phenotype was observed in 25% murreh crossbred and murreh-like phenotype in 75% murreh crossbred.

Keywords: chromosome karyotype phenotype swamp murreh crossbred buffalo

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ	หน้า i
บทย่อภาษาไทย	หน้า ii
บทย่อภาษาอังกฤษ	หน้า iii
สารบัญ	หน้า iv
รายการตารางประกอบ	หน้า v
รายการภาพประกอบ	หน้า vi
บทนำ	หน้า 1
การสำรวจงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	หน้า 2
วิธีการวิจัย	หน้า 6
ผลการวิจัย	หน้า 7
วิจารณ์ผล	หน้า 11
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	หน้า 15
เอกสารอ้างอิง	หน้า 16

สถาบันวิทย์บริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

- ตารางที่ 1 แสดงจำนวนโครโมโซมที่เกิดจากการผสมพันธุ์แบบต่างๆระหว่างกระบือปลัก
และกระบือแม่น้ำ หน้า 3
- ตารางที่ 2 จำนวนกระบือลูกผสม F2 ที่มีจำนวนโครโมโซม 48 49 และ 50 ที่สำรวจ
ในประเทศมาเลเซียและฟิลิปปินส์ หน้า 5
- ตารางที่ 3 สรุปจำนวนกระบือที่มีคาริโอไทป์แบบต่างๆในลูกผสมชั่วที่ 1 ชั่วที่ 2 และ
ชั่วที่ 3 หน้า 8
- ตารางที่ 4 แสดงการทดสอบค่าความแตกต่างระหว่างคาริโอไทป์ $2n=48$ กับ $2n=49$
และ $2n=49$ กับ $2n=50$ ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 หน้า 8
- ตารางที่ 5 สรุปผลเปรียบเทียบลักษณะภายนอกระหว่างกระบือลูกผสม 25% มูร่าห์และ
75% มูร่าห์ ที่มีคาริโอไทป์ต่างกัน หน้า 10

สถาบันวิจัยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขพม คพ
(สพ 15)
เลขทะเบียน 008365
วัน, เดือน, ปี 21 ส.ค. 39

รายการภาพประกอบ

รูปที่ 1	คาริโอไทป์ของกระบือปลัก(swamp type)เพศเมีย $2n=48,XX$	หน้า 19
รูปที่ 2	คาริโอไทป์ของกระบือรำหิ้นันท์(river type)เพศผู้ $2n=50,XY$	หน้า 20
รูปที่ 3	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 1(F1)50%รำหิ้นันท์เพศเมีย $2n=49,XX$ แสดง Tandem Fusion ของโครโมโซมคู่ที่ 4 และคู่ที่ 9 เป็นโครโมโซม metacentric	หน้า 21
รูปที่ 4	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2(F2)25%รำหิ้นันท์เพศเมีย $2n=48,XX$ มีโครโมโซม metacentric 1 คู่ เหมือนคาริโอไทป์ของกระบือปลัก	หน้า 22
รูปที่ 5	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2(F2)25%รำหิ้นันท์เพศผู้ $2n=49,XY$ เช่นเดียวกับคาริโอไทป์ของลูกผสมชั่วที่ 1	หน้า 23
รูปที่ 6	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2(F2)75%รำหิ้นันท์เพศเมีย $2n=49,XX$ เช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 1	หน้า 24
รูปที่ 7	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2(F2)75%รำหิ้นันท์เพศผู้ $2n=50,XY$ เหมือนคาริโอไทป์ของกระบือรำหิ้นันท์	หน้า 25
รูปที่ 8	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 3(F3)87.5%รำหิ้นันท์เพศเมีย $2n=49,XX$ เช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 1	หน้า 26
รูปที่ 9	คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 3(F3)87.5%รำหิ้นันท์เพศผู้ $2n=50,XY$ เช่นเดียวกับในกระบือรำหิ้นันท์	หน้า 27
รูปที่ 10	แสดงรอสคอด(ลูกศรชี้)บนโครโมโซม metacentric ที่เกิด Tandem Fusion ซึ่งสามารถเห็นได้ด้วยการย้อมสี Giemsa ธรรมดา ทั้งในคาริโอไทป์แบบ $2n=48$ และ $2n=49$	หน้า 28



กระบือได้ชื่อว่า เป็นสัตว์พื้นบ้านของทวีปเอเชีย (Asian animal) เพราะมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย และจำนวนกระบือส่วนใหญ่ถึง 96% หรือประมาณ 125 ล้านตัว อยู่ในบริเวณเอเชีย-แปซิฟิก (FAO Yearbook, 1988) กระบือแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ตามถิ่นกำเนิดและวัตถุประสงค์ของการเลี้ยง ได้แก่ กระบือแม่น้ำ (River buffalo) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย ปากีสถาน บังคลาเทศ และเลี้ยงไว้เพื่อรีดนมเป็นส่วนใหญ่ ส่วนอีกประเภทหนึ่งเป็นกระบือปลัก (Swamp buffalo) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่ประเทศเมียนมาร์ ไทย มาเลเซีย เขมร ลาว เวียดนาม อินโดเนเซีย จนถึงประเทศจีนตอนใต้ กระบือปลักนี้ เลี้ยงไว้เพื่อใช้เป็นแรงงานในการเกษตรกรรมและบริโภคเนื้อเป็นสำคัญ

แม้ว่า กระบือทั้งสองประเภทนี้จะมีชื่อวิทยาศาสตร์เหมือนกัน คือ Bubalus bubalis (Cockrill, 1974; Fahimuddin, 1975) แต่มีลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype) หรือรูปลักษณ์ภายนอกที่แตกต่างกัน โดยที่กระบือแม่น้ำมีลักษณะหน้าผากนูน มีเขาม้วนงอ และผิวหนังมีสีดำสนิท ส่วนกระบือปลัก มีหน้าผากแบน ลักษณะเขาส่วนใหญ่โค้งขึ้นเป็นรูปครึ่งวงกลม มีผิวหนังสีเทา (วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 2531) ความแตกต่างที่สำคัญ คือมีคาริโอไทป์ (karyotype) ที่แตกต่างกันด้วย กล่าวคือ กระบือแม่น้ำมีจำนวนโครโมโซม $2n = 50$ ส่วนกระบือปลักมีจำนวน $2n = 48$ (Ulbrich และ Fischer, 1967; Bongso และคณะ, 1977; วิวัฒน์ ชวนะนิกุล และ จันทร์จรัส ลือสกุล, 2528) ในระยะ 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ได้มีการทดลองผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกระบือ 2 ประเภทนี้ ในหลายประเทศ ได้แก่ มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ จีน เวียดนาม รวมถึงประเทศไทยด้วย ทั้งนี้ โดยมีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาพันธุ์พื้นเมืองให้ดีขึ้นที่เรียกว่า Up-grading ซึ่งเป็นวิธีการพัฒนาพันธุ์พื้นเมืองวิธีหนึ่ง โดยอาศัยหลักการของ Heterosis ทำให้ได้ลักษณะต่าง ๆ ดีขึ้น เช่น อัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น ตัวใหญ่ขึ้น ให้น้ำนมมากขึ้น เป็นต้น สำหรับประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2521 กรมปศุสัตว์ได้ส่งกระบือพันธุ์ Murrah ซึ่งเป็นประเภทกระบือแม่น้ำ จากประเทศอินเดีย เข้ามาจำนวนประมาณ 100 ตัว เพื่อผสมข้ามพันธุ์กับกระบือปลักพื้นเมือง จนถึงปัจจุบัน ได้เกิดลูกผสมจำนวนหนึ่ง ซึ่งกำลังทำการทดสอบประสิทธิภาพด้านต่างๆ อยู่ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ที่ลำพูนกลาง นครราชสีมา และที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี นอกจากนี้ ยังมีกระบือลูกผสมอีกจำนวนมาก ที่กระจายอยู่กับเกษตรกรทั่วไป โดยเกิดจากการให้บริการผสมเทียม การวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาารูปแบบของคาริโอไทป์ในกระบือลูกผสม โดยเน้นที่ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือด 25% และ 75% มูราห์ เป็นหลัก และหาอัตราส่วนจำนวนโครโมโซมแบบต่างๆ ในลูกผสมเหล่านี้ เปรียบเทียบกับอัตราส่วนที่ควรจะเป็นตามทฤษฎีพันธุศาสตร์ วัตถุประสงค์อีกประการหนึ่ง คือ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจำนวนโครโมโซม กับรูปลักษณ์ภายนอกที่เด่นชัดบางลักษณะในกระบือลูกผสมเหล่านี้

การสำรวจงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมในกระบือปลัก กระบือแม่น้ำ และกระบือลูกผสม ได้มีผู้รายงานไว้หลายราย ดังนี้ Ulbrich และ Fischer(1967) ได้รายงานจำนวนโครโมโซมของกระบือปลัก (swamp type) ในประเทศมาเลเซียและประเทศไทยว่า มีจำนวน $2n=48$ ซึ่งประกอบด้วย โครโมโซมแบบ metacentric ขนาดใหญ่ 1 คู่ submetacentric 4 คู่ และ acrocentric อีก 19 คู่ โดยมีโครโมโซมเพศ ทั้ง X และ Y เป็นแบบ acrocentric ขนาดใหญ่ที่สุดและขนาดเล็กที่สุดตามลำดับ ปีต่อมา Fischer และ Ulbrich(1968) ได้รายงานจำนวนโครโมโซมในกระบือนมพินธุร่าห์ของอินเดียว่า มี $2n=50$ ประกอบด้วยโครโมโซมแบบ submetacentric 5 คู่ acrocentric 19 คู่ และมีโครโมโซมเพศ X Y แบบเดียวกับของกระบือปลัก ในออสเตรเลีย Toll และ Halnan(1976) ได้รายงานจำนวนโครโมโซมในกระบือว่า มีจำนวน $2n=48$ ในประเทศศรีลังกา Scheurmann และคณะ(1974) และ Bongso และคณะ(1977) ได้รายงานว่า กระบือพื้นเมืองมีคาริโอไทป์ $2n=50$ เช่นเดียวกับกระบือนมในอินเดีย แต่มีรูปลักษณ์ภายนอกเหมือนกระบือปลัก ในประเทศไทย มาเลเซียและฟิลิปปินส์ ได้มีผู้รายงานเพิ่มเติมยืนยันต่อมาว่า คาริโอไทป์ของกระบือปลักมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n=48$ (Fischer และ Scheurmann, 1977; Bongso และ Jainudeen, 1979; Songsri และ Ramirez, 1979; วิวัฒน์ ชวนใช้ และ จันทรจักรัส ลือสกุล, 2528) สำหรับกระบือที่เลี้ยงไว้รีดนมในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ได้มีรายงานในประเทศอียิปต์ โดย de Hondt และ Ghanam(1971) และในอิตาลี โดย Di Berardino และคณะ(1980) ว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n=50$ เช่นเดียวกับของกระบือนมในประเทศอินเดีย

คาริโอไทป์ทั้งสองแบบที่ไม่เหมือนกัน ในกระบือทั้งสองประเภทนี้ ได้มีผู้พิสูจน์โดยใช้เทคนิค chromosome banding หลายเทคนิค สรุปผลตรงกันว่า ความแตกต่างอยู่ที่โครโมโซมคู่ที่ 4 ที่เป็น submetacentric ขนาดกลาง และคู่ที่ 9 ที่เป็น acrocentric ของกระบือแม่น้ำมาเชื่อมต่อกัน ที่เรียกว่า Tandem Fusion เป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 metacentric ขนาดใหญ่ของกระบือปลัก ทำให้จำนวนโครโมโซมลดลงจาก 50 เป็น 48 ส่วนโครโมโซมคู่อื่นๆ ซึ่งมีลักษณะแบนด์ (banding pattern) ที่เกิดบนโครโมโซมเหมือนกัน (Di Berardino และ Iannuzzi, 1981; Bongso และ Hilmi, 1982; Chowdhary และคณะ, 1989) ยกเว้นโครโมโซม Y ซึ่งมีขนาดไม่เท่ากัน และไม่ใช้เป็นโครโมโซมตัวที่เล็กที่สุด เหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ (Chuanchai, 1981)

จากการศึกษาตามหลักทฤษฎีวิวัฒนาการศาสตร์ ถึงการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกระบือปลัก และกระบือแม่น้ำ พบว่ามีได้หลายแบบ โดยให้ลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 3 แบบ คือ 48, 49 และ 50 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. แสดงจำนวนโครโมโซมที่เกิดจากการผสมพันธุ์แบบต่างๆ ระหว่างกระบือปลัก และกระบือแม่น้ำ

รูปแบบการผสมพันธุ์	จำนวนโครโมโซม
1. การผสมพันธุ์แท้กับพันธุ์แท้ (Purebred cross mating)	
Swamp x River	parent (2n) : 48 x 50
Meiosis	gamete (n) : (24) + (25)
F ₁ crossbred	offspring (2n) : 49

2. การผสมลูก F₁ กับกระบือปลัก (Backcross to swamp)	
F ₁ x swamp	parent (2n) : 49 x 48
Meiosis	gamete (n) : (24)(25) + (24)
F ₂	offspring (2n) : 48 or 49

3. การผสมลูก F₁ กับกระบือแม่น้ำ (Backcross to river)	
F ₁ x river	parent (2n) : 49 x 50
Meiosis	gamete (n) : (24)(25) + (25)
F ₂	offspring (2n) : 49 or 50

4. การผสมพันธุ์ระหว่างลูกผสมด้วยกันเอง (Inter se mating)	
F ₁ x F ₁	parent (2n) : 49 x 49
Meiosis	gamete (n) : (24)(25)+(24)(25)
F ₂	offspring (2n) : 48 or 49 or 50

ในทางทฤษฎีเซลล์พันธุศาสตร์ วิวัฒน์ ชวนะนิกุล(1986) และ Bongso(1986) ได้แสดงให้เห็นว่า น่าจะมีปัญหาในการแบ่งตัวของโครโมโซมที่มีจำนวนเป็นเลขคี่ คือ 49 ในขบวนการ gametogenesis โดสคาวิโอไทป์บางแบบมีการขาดหายของสารพันธุกรรม(genetic material) และบางแบบมีการเพิ่มสารพันธุกรรม ซึ่งน่าจะมีผลกระทบต่อการศึกษาพันธุกรรมในแง่อัตราการผสมติดด้วย ดังเช่น การผสมข้ามพันธุ์ของลูกผสม F1 กลับไปยังกระบือปลักและกระบือแม่น้ำ (backcross)

จะได้คาริโอไทป์ที่ผิดปกติ คือมีขาด (genetic loss) มีเกิน (genetic gain) ของสารพันธุกรรม 2 ใน 4 แบบ และถ้าเป็นการผสมพันธุ์ระหว่างลูกผสม F1 กับ F1 จะได้คาริโอไทป์ผิดปกติถึง 6 ใน 10 แบบ อย่างไรก็ตาม จากรายงานรูปแบบคาริโอไทป์ของลูกผสม F1, F2, F3 ที่เกิดขึ้นจริงในหลายประเทศ ปรากฏว่าไม่พบคาริโอไทป์ที่ผิดปกติเลย แต่พบเฉพาะคาริโอไทป์ที่สมดุล ที่มีจำนวนโครโมโซม 48, 49 และ 50 (Fischer, 1974; Chuanchai, 1981; Harisah และคณะ, 1989) ด้วยเหตุนี้ จึงมีผู้ให้ข้อสังเกตว่า ปรากฏการณ์นี้จะมีผลทำให้ลดอัตราการผสมติดลดลง (sub-fertility) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่ ซึ่งอาจเกิดก่อนการปฏิสนธิ (before fertilization) นั่นคือ ในขบวนการ spermatogenesis ในตัวผู้ ทำให้จำนวนตัวอ่อนลดลง หรืออาจเกิดขึ้นหลังการปฏิสนธิ (after fertilization) ในเพศเมีย ทำให้เอมบริโอตาย จึงไม่พบคาริโอไทป์ที่ผิดปกติในสัตว์ที่เกิดใหม่ (วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 1986; Bongso, 1986; Harisah และคณะ, 1989) ซึ่งปรากฏการณ์นี้ ส่อมเกิดขึ้นต่อเนื่องไปไม่มีที่สิ้นสุด ทรายาคูที่ยังมีกระบือลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่ อันก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจโดยที่ไม่มีทางแก้ไขได้เลย หากไม่ได้มีการวางแผนป้องกันไว้ล่วงหน้า กรณีเช่นนี้ ได้มีผู้รายงานไว้แล้วในโคได้แก่การผิดปกติแบบ 1/29 Robertsonian Translocation ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 59$ และพบว่า มีอัตราการผสมติดลดลง 5-8% (Gustavsson, 1975; Weber และคณะ, 1989)

การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกระบือสองประเภทนี้ ในทางปฏิบัติ ได้มีรายงานในหลายประเทศ พบว่า ได้ลูกผสม F1 ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่ คือ $2n = 49$ โดยที่มีโครโมโซมแบบ metacentric ขนาดใหญ่เพียง 1 ตัว submetacentric 9 ตัว และ acrocentric 37 ตัว ส่วนโครโมโซม X และ Y เป็นแบบ acrocentric เช่นเดียวกัน (Fischer, 1974) กระบือลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่นี้ ในรายงานเบื้องต้น พบว่า ไม่เป็นหมันเหมือนกับล่อ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างม้าและลา (Eldridge และ Blazak, 1976; Zong และ Fan, 1989) โดยสามารถให้ลูกในชั่วที่ 2 (F2) และ ชั่วที่ 3 (F3) ได้ แต่ Bongso และ Hilmi (1983) ได้รายงานการศึกษาเนื้อเยื่ออัณฑะของกระบือลูกผสมเพศผู้ อายุ 2 - 2 1/2 ปี ที่มีจำนวนโครโมโซม 49 เปรียบเทียบกับกระบือปกติและกระบือผู้ว่าพันธุแท้ พบว่า จำนวนโครโมโซม haploid ในท่อ seminiferous tubule มีหลายแบบ ตั้งแต่แบบที่มีโครโมโซม 22 ตัว จนถึงแบบที่มี 26 ตัว แต่ส่วนมากเป็นแบบที่มี 24 และ 25 ตัว และโครโมโซมมีลักษณะเป็น univalent, bivalent และ multivalent ส่วนในกระบือปกติและกระบือผู้ว่าพันธุแท้ มีโครโมโซมลักษณะ bivalent อย่างเดียว และมีจำนวน 24 และ 25 ตัว ตามลำดับ นอกจากนี้ จากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ ยังพบว่า ในกระบือลูกผสมมี vacuole และมีตัวอ่อนที่ผิดปกติ (degenerating spermatocyte, abnormal spermatid) Ramakrishnan และคณะ (1989) ได้รายงานผลการศึกษาคูคุณภาพน้ำเชื้ออสุจิ ในกระบือลูกผสม (3/4 river type) ที่มีคาริโอไทป์ $2n = 49$ และมีอายุมากกว่า 2 ปีขึ้นไป จำนวน 4 ตัว พบว่า น้ำเชื้อมีอัตราการ

เคลื่อนไหวของตัวอสุจิต่ำกว่าปกติ มี acrosome ติดที่ส่วนหัวของตัวอสุจิน้อย และพบตัวอสุจิที่ผิดปกติมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับการศึกษาจำนวนโครโมโซมในกระป๋องผสมครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ได้มีผู้สำรวจในประเทศมาเลเซียและฟิลิปปินส์ไว้เพียงรายเดียว คือ Harisah และ คณะ (1989) ได้รายงานผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมในกระป๋องผสมครั้งที่ 1 จำนวน 93 ตัว พบเฉพาะคาริโอไทป์ที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 49$ แบบเดียว และในกระป๋องผสม ครั้งที่ 2 พบคาริโอไทป์หลายแบบ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. จำนวนกระป๋องผสม F2 ที่มีจำนวนโครโมโซม 48, 49 และ 50 ที่สำรวจในประเทศมาเลเซียและฟิลิปปินส์ (Harisah และคณะ, 1989)

ประเภทของกระป๋อง	จำนวนที่สำรวจ (ตัว)	จำนวนโครโมโซม		
		$2n=48$	$2n=49$	$2n=50$
F2 (F1x F1)	46	9	22	15
75% กระป๋องปลัก (3/4 swamp)	60	37	23	0
75% กระป๋องแม่น้ำ (3/4 river)	36	0	19	17

จากการทดสอบทางสถิติ พบว่า อัตราส่วนจำนวนกระป๋องที่มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันในทั้ง 3 แบบที่สำรวจนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากอัตราส่วนที่ควรเป็นตามทฤษฎีของเมนเดล

ด้วยเหตุที่มีความแตกต่างของคาริโอไทป์ในกระป๋องผสมนี้เอง ประกอบกับในประเทศไทย ได้มีการผลิตลูกผสมนี้มาหลายปีแล้ว โดยศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลำพูนกลางและศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี ของกรมปศุสัตว์ และได้ลูกผสมครั้งที่ 2 (F2) จำนวนหนึ่ง ซึ่งมีการบันทึกประวัติและการผสมพันธุ์ไว้อย่างดีและถูกต้อง ดังนั้น จึงได้มีโครงการศึกษาคาริโอไทป์ในกระป๋องผสมเหล่านี้ขึ้น เพื่อหาอัตราส่วนคาริโอไทป์จากการผสมพันธุ์แต่ละแบบนั้นว่าเป็นไปตามทฤษฎีพันธุศาสตร์หรือไม่ และหาความสัมพันธ์ระหว่างคาริโอไทป์แต่ละแบบนี้ กับรูปลักษณะภายนอกตัวสัตว์ที่สำคัญ และเห็นได้ชัดเจน อันจะเป็นประโยชน์ในเชิงวิชาการผสมพันธุ์สัตว์ (Animal breeding) เพื่อการวางแผนการผสมพันธุ์ที่ถูกต้อง และเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ด้านอื่นๆ ต่อไป

วิธีการวิจัย

1. วิธีการเตรียมโครโมโซมและศึกษาคาร์ิโอไทป์

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นกระบือลูกผสมระหว่างกระบือปลักและกระบือมูร่าห์ จำนวนทั้งสิ้น 101 ตัว โดยแบ่งเป็นลูกผสม 50% มูร่าห์ 6 ตัว ลูกผสม 25% มูร่าห์ 11 ตัว ลูกผสม 75% มูร่าห์ 78 ตัว และ ลูกผสม 87.5% มูร่าห์ 6 ตัว กระบือทั้งหมดนี้เลี้ยงอยู่ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลําพญากลาง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 51 ตัว และที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี อีก 50 ตัว

เก็บตัวอย่างเลือด โดยใช้หลอด vacutainer tube ชนิดมี heparin และแช่เย็นในกระติกน้ำแข็งตลอดการเดินทาง การเพาะเลี้ยงเซลล์ (lymphocyte culture) ได้ทำเป็นชุดๆ จากศูนย์ลําพญากลาง 4 ชุด และจากศูนย์สุราษฎร์ธานี 3 ชุด โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ 2 ชนิด คือ ชนิด RPMI-1640 ซึ่งมีส่วนประกอบที่ต้องเตรียมเอง ดังนี้

RPMI-1640	5 มล.
L-glutamine	0.1 มล.
Foetal calf serum	1 มล. (20%)
Penicillin	100 หน่วยสากล/มล.
Streptomycin	100 ไมโครกรัม/มล.
Pokeweed	0.05 มล. (1%)
เลือดชั้น Buffy layer	0.2-0.3 มล.

และชนิด Complete chromosome medium 1A ซึ่งเติมเฉพาะสารละลาย diluent และหยดตัวอย่างเลือดจากชั้น buffy layer ลงไปเท่านั้น

หลังจากเขย่าเลือดให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเซลล์ดีแล้ว นำเข้าตู้อบที่มีอุณหภูมิ 37 °C ใช้เวลาการเพาะเลี้ยงเซลล์ 72 ชั่วโมง โดยเขย่าหลอดทุกเช้าเย็น ในชั่วโมงที่ 70 เติมสารละลาย Colchicine ให้ได้ความเข้มข้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ 0.1 ไมโครกรัม/มล. ใช้เวลาอบต่ออีก 1 1/2 ชั่วโมง เพื่อหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ที่ระยะเมตาเฟส จากนั้น ทำให้เซลล์ของตัว โดยใช้สารละลาย KCl 0.56% และอบต่ออีก 20 นาที แล้วทำการตรึงเซลล์ โดยใช้สารละลายผสม Methanol : Acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 ที่มีอุณหภูมิ 4 °C ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง และเก็บตะกอนเซลล์ใน microcentrifuge tube เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

เมื่อต้องการศึกษาโครโมโซม จึงหยดตะกอนเซลล์ลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด แล้วนำไปย้อมด้วยสี Giemsa โดยใช้อัตราส่วน Giemsa stock 1 ส่วน ต่อสารละลาย PBS 50 ส่วน ใช้เวลาย้อมนาน 20-30 นาที จากนั้น จึงนำสไลด์ไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง โดยใช้กำลังขยาย x100 และ x1,000 เท่า ศึกษาเมตาเฟสที่มีจำนวนโครโมโซมครบ และกระจายตัวดี

ตัวอย่างละไม่น้อยกว่า 30 เซลล์ เลือกถ่ายภาพเมตาเฟสที่แสดงโครโมโซมครบสมบูรณ์ ด้วยฟิล์ม Kodak technical pan film อัดรูปลงกระดาษ และตัดเรียงโครโมโซมแสดงคาริโอไทป์

รวบรวมข้อมูลโดยแยกตามเปอร์เซ็นต์สายเลือดเป็นรุ่นชั่วที่ 1, 50%มูราห์ รุ่นชั่วที่ 2, 25%มูราห์ และ 75%มูราห์ และรุ่นชั่วที่ 3, 87.5%มูราห์

ทดสอบค่าความแตกต่าง (level of significance) โดยใช้ Chi-square test ซึ่งมีสูตรดังนี้

$$X^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

O = ค่าจริงที่ได้

E = ค่าที่คาดหวัง

2. วิธีการวัดและศึกษารูปร่างลักษณะภายนอก

ใช้กระป๋องลูกผสมระหว่างพันธุ์มูราห์และกระป๋องปลัก อายุระหว่าง 6-48 เดือน รวมทั้งสิ้น 62 ตัว ประกอบด้วยลูกผสมสายเลือด 25%มูราห์ จำนวน 10 ตัว มีอายุ 8-24 เดือน (2n= 48 จำนวน 7 ตัว และ 2n= 49 จำนวน 3 ตัว) อีก 52 ตัวเป็นลูกผสมสายเลือด 75%มูราห์ อายุ 6-48 เดือน (2n= 49 และ 2n= 50 จำนวน 22 และ 30 ตัว ตามลำดับ)

ลักษณะที่ศึกษา คือ สีผิวหนังของลำตัว สีขนบริเวณลำตัว หน้าผาก หูหาง และใต้หัวเข้า รวมทั้งบันทึกลักษณะของแถบคาดสีขาที่ไคคอส (chevron) ด้วย โดยสรุปเป็นเปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาคาริโอไทป์

จากจำนวนกระป๋องลูกผสมทั้งหมด 101 ตัว ซึ่งแบ่งเป็นลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) 6 ตัว ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือดพันธุ์มูราห์ 25% (F2, 25%murrah) 11 ตัว ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือดพันธุ์มูราห์ 75% (F2, 75%murrah) 78 ตัว และชั่วที่ 3 ที่มีสายเลือดพันธุ์มูราห์ 87.5% (F3, 87.5%murrah) 6 ตัว ได้แสดงรูปคาริโอไทป์แบบต่างๆของลูกผสมเหล่านี้ โดยเปรียบเทียบกับของกระป๋องปลักและกระป๋องมูราห์พันธุ์แท้ไว้ในรูปที่ 1 ถึงรูปที่ 9 และสรุปจำนวนกระป๋องลูกผสมตามแบบของคาริโอไทป์ในชั่วที่ 1 ชั่วที่ 2 และชั่วที่ 3 ไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. สรุปจำนวนกระบือที่มีคาริโโทไพบแบบต่างๆ ในลูกผสมชั่วที่ 1(F1) ชั่วที่ 2(F2) และชั่วที่ 3(F3)

ประเภทกระบือ	จำนวนที่สำรวจ(ตัว)			จำนวนที่พบตามแบบคาริโโทไพบ (2n)		
	ลำพญากลาง	สุราษฎร์	รวม	48	49	50
F1 50% มุร่าห์	1	5	6	0	6	0
F2 25% มุร่าห์	8	3	11	8	3	0
F2 75% มุร่าห์	42	36	78	0	34	44
F3 87.5% มุร่าห์	0	6	6	0	3	3
รวม	<u>51</u>	<u>50</u>	<u>101</u>			

ตารางที่ 4. แสดงการทดสอบค่าความแตกต่างระหว่างคาริโโทไพบ 2n= 48 กับ 2n= 49 และ 2n= 49 กับ 2n= 50 ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2

ประเภทกระบือ	แบบคาริโโทไพบ	ค่าสังเกต(O)	ค่าคาดหวัง(E)	$(O-E)^2/E$	
F2 25% มุร่าห์	2n= 48	8	5.5	1.136	$\chi^2 = 2.27^*$
	2n= 49	3	5.5	1.136	
F2 75% มุร่าห์	2n= 49	34	39	0.641	$\chi^2 = 1.28^*$
	2n= 50	44	39	0.641	

* ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าในกระบือลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) พบคาริโอไทป์แบบเดียว คือ $2n = 49$ (รูปที่ 3) ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมที่มาจากกระบือปลักครึ่งหนึ่ง คือ 24 ตัว และจากกระบือมูร่าห์อีกครึ่งหนึ่ง คือ 25 ตัว รวมเป็น 49 ตัว โครโมโซมตัวที่เห็นได้ชัดเจน คือ metacentric ขนาดใหญ่ที่มาจากกระบือปลัก ผลการวิจัยนี้ตรงกับที่มีผู้รายงานไว้แล้ว (Fischer, 1974; Bongso และ Jainudeen, 1979; Harisah และคณะ, 1989)

ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 พวกที่มีสายเลือดพันธุ่มูร่าห์ 25% ที่มาจากพ่อเป็นกระบือปลัก พันธุ์แท้ และแม่เป็นลูกผสม 50% พบคาริโอไทป์ 2 แบบ คือ แบบที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ ที่เหมือนกับในกระบือปลัก (รูปที่ 4) จำนวน 8 ตัว และแบบที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 49$ ที่เหมือนลูกผสมชั่วที่ 1 (รูปที่ 5) จำนวน 3 ตัว

ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือดพันธุ่มูร่าห์ 75% ซึ่งมีแม่เป็นลูกผสม 50% และมีพ่อเป็นกระบือมูร่าห์พันธุ์แท้ พบคาริโอไทป์ 2 แบบ ที่แตกต่างไปจากที่พบในลูกผสม 25% มูร่าห์ กล่าวคือ เป็นคาริโอไทป์แบบ $2n = 49$ (รูปที่ 6) และแบบ $2n = 50$ (รูปที่ 7) จำนวน 34 ตัว และ 44 ตัว ตามลำดับ แต่ไม่พบคาริโอไทป์แบบ $2n = 48$ เลย

สำหรับกระบือลูกผสมชั่วที่ 3 (F3) ที่มีเลือดพันธุ่มูร่าห์ 87.5% โดยเกิดจากพ่อมูร่าห์ พันธุ์แท้ ผสมกับแม่พันธุ์สายเลือด 75% มูร่าห์ พบว่า มีคาริโอไทป์ 2 แบบ เช่นเดียวกับที่พบในลูกผสม 75% มูร่าห์ คือ $2n = 49$ (รูปที่ 8) จำนวน 3 ตัว และ $2n = 50$ (รูปที่ 9) จำนวน 3 ตัว

ผลการทดสอบหาระดับความแตกต่าง (level of significance) ของจำนวนกระบือระหว่างคาริโอไทป์แบบต่างๆ ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือดพันธุ่มูร่าห์ 25% และ 75% ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 ซึ่งปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างคาริโอไทป์แบบ $2n = 48$ กับ $2n = 49$ และระหว่าง $2n = 49$ กับ $2n = 50$ อย่างไรก็ตามก็เห็นที่น่าสังเกตว่า ในลูกผสมทั้งสองประเภทนี้ มีจำนวนกระบือที่มีคาริโอไทป์ปกติ คือ $2n = 48$ และ $2n = 50$ มากกว่า ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่ $2n = 49$

2. ผลการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ภายนอก

ผลการศึกษาลักษณะภายนอกระหว่างกระบือลูกผสม 25% มูร่าห์ และ 75% มูร่าห์ ซึ่งมีคาริโอไทป์ต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่า ลูกผสม 25% มูร่าห์ มีสีผิวหนังลำตัว (skin color) เป็นอัตราส่วนสีเทาต่อสีดำ 90:10 ส่วนในลูกผสม 75% มูร่าห์ สีของผิวหนังมีอัตราส่วนสีเทามากกว่าสีดำ 62:38

สีขนลำตัว (body hair color) ในลูกผสม 25% มูร่าห์ มีอัตราส่วนของสีน้ำตาลเหลืองต่อสีน้ำตาลดำ 30:70 ไม่มีสีดำสนิท ส่วนในลูกผสม 75% มูร่าห์ ไม่มีสีน้ำตาลเหลือง แต่มีอัตราส่วนสีน้ำตาลดำต่อสีดำสนิท 62:38

ตารางที่ 5 สรุปผลเปรียบเทียบลักษณะภายนอกระหว่างกระบือลูกผสม 25% มูร่าห์ และ 75% มูร่าห์ ที่มีคาริโไทป์ต่างกัน

ประเภทกระบือลูกผสม	25% มูร่าห์			75% มูร่าห์		
	2n=48	2n=49	รวม	2n=49	2n=50	รวม
1. จำนวนกระบือ, ตัว	7	3	10	22	30	52
2. ช่วงอายุ, เดือน	8-24	8-20		7-48	6-42	
3. สีผิวหนังลำตัว						
สีเทา	86%	100%	90%	59%	63%	62%
สีดำ	14%	0	10%	41%	37%	38%
4. สีขนลำตัว						
น้ำตาลเหลือง	29%	33%	30%	0	0	0
น้ำตาลดำ	71%	67%	70%	64%	60%	62%
ดำสนิท	0	0	0	36%	40%	38%
5. สีขนที่หน้าผาก						
สีน้ำตาล	29%	33%	30%	23%	20%	21%
สีน้ำตาลดำ	71%	67%	70%	32%	37%	35%
สีดำสนิท	0	0	0	45%	43%	44%
6. สีขนที่หาง						
สีดำทั้งหมด	100%	100%	100%	59%	63%	62%
มีพู่สีขาว	0	0	0	41%	37%	38%
7. สีขนที่ขาบริเวณใต้หัวเข่า						
สีขาว/เทาเหลือง	14%	67%	30%	14%	13%	14%
สีน้ำตาล	43%	33%	40%	45%	37%	40%
สีน้ำตาลดำ/ดำสนิท	43%	0	30%	41%	50%	46%
8. แถบคาดขาวที่คอ (Chevron)						
มี 1 หรือ 2 แถบ	57%	67%	60%	18%	27%	23%
ไม่มีเลย	43%	33%	40%	82%	73%	77%

สีขนของหน้าผาก(head hair color) ในลูกผสม 25%มูร่าห์ พบเพียงสองสี คือ น้ำตาลเหลืองและน้ำตาลดำในอัตราส่วน 30:70 ส่วนในลูกผสม 75%มูร่าห์ พบสามสี คือ สีน้ำตาล สีน้ำตาลดำและสีดำสนิท ในอัตราส่วน 21:35:44

สีขนที่หาง(tail hair color)หรือหนุ่หาง ในลูกผสม 25%มูร่าห์ พบว่ามีสีดำทั้งหมด แต่ใน 75%มูร่าห์ พบว่ามีบางตัวมีพู่ขนสีขาวด้วย โดยพบในอัตราส่วน พู่สีดำต่อพู่สีขาว 62:38

สีขนที่ส่วนใต้เท้าของขาหน้าและขาหลัง(metacarpal/metatarsal hair color) ในลูกผสม 25%มูร่าห์ พบว่ามีสีขาวหรือเทาเหลือง สีน้ำตาล และสีน้ำตาลดำหรือดำสนิท ในอัตราส่วน 30:40:30 ส่วนในลูกผสม 75%มูร่าห์ พบในอัตราส่วน 14:40:46 ตามลำดับ

สำหรับแถบคาดสีขาวที่ใต้คอ(chevron) ในลูกผสม 25%มูร่าห์ พบบางตัวหนึ่งหรือสองแถบและบางตัวไม่มีเลยในอัตราส่วน 60:40 แต่ในลูกผสม 75%มูร่าห์ อัตราส่วนเป็น 23:77 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า แถบคาดขาวมีแนวโน้มพบได้น้อยลง เมื่อมีสายเลือดกระบือปลักลดลง

วิจารณ์ผล

ได้มีรายงานจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่า คาร์ิโอไทป์ของกระบือปลัก (swamp buffalo) และกระบือแม่น้ำ(river buffalo) มีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน คือ $2n = 48$ และ $2n = 50$ แม้ว่าจะมีชื่อวิทยาศาสตร์เหมือนกัน คือ Bubalus bubalis ก็ตาม (Ulbrich และ Fischer, 1967; Fischer และ Ulbrich, 1968; Bongso และ Jainudeen, 1979; Chuanchai, 1981) ความแตกต่างของคาร์ิโอไทป์ทั้งสองแบบนี้ คือ ในกระบือปลัก มีโครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นโครโมโซม metacentric ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด แบบ submetacentric 4 คู่ และแบบ acrocentric อีก 18 คู่ ไม่รวมโครโมโซม X และ Y (รูปที่ 1) ส่วนในกระบือแม่น้ำมีโครโมโซม submetacentric 5 คู่ และ acrocentric 19 คู่ ซึ่งมากกว่าในกระบือปลัก 1 คู่ (รูปที่ 2) จากการศึกษาโดยอาศัยเทคนิค banding ต่างๆ สามารถพิสูจน์ได้ว่า โครโมโซมคู่ที่ 9 ของกระบือแม่น้ำเชื่อมต่อกับแขน(short arm) ของโครโมโซมคู่ที่ 4 โดยมีลักษณะของแบนด์ที่เกิดขึ้นบนโครโมโซม(banding pattern) เหมือนกับแบนด์ของโครโมโซมคู่ที่ 1 ในกระบือปลัก การเกิดเช่นนี้เรียกว่า Tandem Fusion (Di Berardino และ Iannuzzi, 1981; Bongso และ Hilmi, 1982; Chowdhary และคณะ, 1989) แม้ใช้วิธีการย้อมสีด้วย Giemsa ธรรมดา โดยเฉพาะกับเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวในระยะ late prophase ก็ยังสามารถเห็นรอยคอดตรงส่วนที่เชื่อมกันได้ชัดเจนพอสมควร (รูปที่ 10)

ในกระบือลูกผสม จากผลการวิจัยนี้ พบว่าคาร์ิโอไทป์ที่ได้ตรงกับทฤษฎีทางพันธุศาสตร์ ที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 กล่าวคือ ลูกผสมกระบือปลัก-กระบือมูร่าห์ ในชั่วที่ 1 (F1) มีจำนวน

โครโมโซม $2n = 49$ แบบเด็ชวเท่านั้น ซึ่งเป็นโครโมโซมที่มาจากคาริโอไทป์กระบือปลักครั้งหนึ่ง หรือ 24 ตัว และมาจากของกระบือมูร่าห์อีกครึ่งหนึ่ง หรือ 25 ตัว โครโมโซมคู่ที่ไม่เหมือนกัน (non-homologous) คือคู่ที่ 4 (รูปที่ 3) ซึ่งโครโมโซมตัวหนึ่งเป็น metacentric ขนาดใหญ่ นั่นคือ มาจากคู่ที่ 1 ของกระบือปลัก และอีกตัวหนึ่งเป็น submetacentric ซึ่งเป็นโครโมโซมคู่ที่ 4 ของกระบือมูร่าห์ โดยมีโครโมโซมคู่ที่ 9 เป็นโครโมโซมเด็ชว

ในชั่วที่ 2 หรือ F2 ที่มีสายเลือด 25% มูร่าห์ (backcross to swamp) คาริโอไทป์ สองแบบที่พบ คือ $2n = 48$ ซึ่งเหมือนกับคาริโอไทป์ของกระบือปลักพันธุ์แท้ และ $2n = 49$ เหมือนกับของกระบือลูกผสมชั่วที่ 1 ไม่พบคาริโอไทป์แบบ $2n = 50$ เลย นั่นคือ คาริโอไทป์ในลูกจะ เหมือนกับในพ่อและแม่ ส่วนในชั่วที่ 2 ที่มีสายเลือด 75% มูร่าห์ (backcross to river) พบ คาริโอไทป์เฉพาะ $2n = 49$ และ $2n = 50$ แต่ไม่พบแบบ $2n = 48$ เลย คาริโอไทป์ทั้งสองแบบ ที่พบในลูกนี้ ก็เหมือนกับของพ่อและแม่เช่นเดีวกัน

ในลูกผสมชั่วที่ 3 หรือ F3 ที่มีสายเลือด 87.5% มูร่าห์ ที่เกิดจากกระบือแม่พันธุ์ 75% มูร่าห์ และพ่อมูร่าห์พันธุ์แท้ พบคาริโอไทป์สองแบบเช่นเดีวกับในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 75% มูร่าห์ คือแบบ $2n = 49$ และ $2n = 50$

ส่วนลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง F1 x F1 ได้มีรายงานว่ พบลักษณะคาริโอไทป์เป็น 48:49:50 ในอัตราส่วนตามทฤษฎีพันธุศาสตร์ 1:2:1 (Harisah และคณะ, 1989)

สำหรับโครโมโซมเพศ (gonosome) ทั้ง X และ Y ในทุกแบบของคาริโอไทป์ และทุกชั่วอายุของกระบือลูกผสมนี้ พบว่าเป็นแบบ acrocentric ทั้งคู่ เหมือนกับที่ได้มีรายงานไว้แล้ว

ในการท้าวิจัยครั้งนี้ จำนวนกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 25% มูร่าห์ และชั่วที่ 3 87.5% มูร่าห์ มีจำนวนน้อย ทั้งนี้เนื่องจากกรรมพันธุ์ตัวไม่มีนโยบายที่จะผลิตลูกผสม 25% มูร่าห์ จึงมีสัตว์ให้ ทำการศึกษาน้อย ส่วนลูกผสมชั่วที่ 3 สายเลือด 87.5% มูร่าห์ จำนวนที่เกิดใหม่ยังมีน้อยอยู่ อย่างไรก็ตาม การท้าวิจัยครั้งนี้ ได้ทำกับกระบือลูกผสมที่เลี้ยงอยู่ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ของกรมปศุสัตว์ เท่านั้น ซึ่งมีการบันทึกประวัติประจำตัวสัตว์อย่างดี จึงทำให้ได้ข้อมูลประวัติสายเลือดที่ถูกต้องและเชื่อถือได้

จากผลการศึกษาอัตราส่วนรูปแบบคาริโอไทป์ระหว่าง $2n = 48$ กับ $2n = 49$ และ $2n = 49$ กับ $2n = 50$ ในกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 และที่ 3 ที่พบว่า การทดสอบทางสถิติไม่แตกต่าง จากทฤษฎีทางพันธุศาสตร์นั้น เป็นการยืนยัน และเพิ่มเติมข้อมูลจากที่ Harisah และคณะ (1989) ได้รายงานไว้แล้ว แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า พบกระบือที่มีคาริโอไทป์ปกติ ($2n = 48$ และ $2n = 50$) จำนวนมากกว่าที่มีคาริโอไทป์ผิดปกติ ($2n = 49$) หรือเกินกว่าครึ่งหนึ่ง กล่าวคือ ในลูกผสมชั่วที่ 2 สายเลือด 25% มูร่าห์ พบกระบือที่มีคาริโอไทป์ $2n = 48$ จำนวน 72.7% (8 ตัวใน 11 ตัว) และ ลูกผสมสายเลือด 75% มูร่าห์ พบกระบือที่มีคาริโอไทป์ $2n = 50$ จำนวน 56.4% (44 ตัวใน 78

ตัว) ข้อสังเกตนี้เกิดขึ้นเช่นเดียวกับที่ Harisah และคณะ(1989) ได้ทำการสำรวจกระบือลูกผสมในประเทศมาเลเซีย ที่มีการบันทึกประวัติไว้อย่างดี กล่าวคือ ในลูกผสม 25% มูร่าห์ (3/4 swamp) พบกระบือที่มีคาริโอไทป์ $2n = 48$ 58.8% (20 ใน 34 ตัว) และในลูกผสม 75% มูร่าห์ (3/4 river) พบกระบือที่มีคาริโอไทป์ $2n = 50$ 58.6% (17 ใน 29 ตัว)

คาริโอไทป์ผิดปกติ ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเลขคี่ $2n = 49$ ซึ่งพบทั้งในกระบือลูกผสมชั่วที่ 1 ชั่วที่ 2 และชั่วที่ 3 นี้ ได้มีรายงานการศึกษาถึงรายละเอียดของโครโมโซมแต่ละตัว โดยใช้เทคนิค banding ต่างๆ เช่น G-banding, C-banding, R-banding และ NOR-banding สามารถแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า เกิด Tandem Fusion ระหว่างโครโมโซมคู่ที่ 4 และคู่ที่ 9 ซึ่งบางรายงานเรียกว่า telomere-centromere tandem fusion (Di Berardino และ Iannuzzi, 1981) โดยที่มีส่วน NOR's band ของคู่ที่ 4 และส่วน centromere และ centromere heterochromatin ของคู่ที่ 9 หายไป (Chowdhary และคณะ, 1989) การที่มีบางส่วนของโครโมโซมหายไปนี้ ยังไม่มีรายงานว่ามียีนที่ควบคุมลักษณะอะไรบางอย่างที่หายไป ซึ่งต้องค้นคว้าวิจัยกันต่อไป แต่ลักษณะคาริโอไทป์ที่ผิดปกติเป็นเลขคี่นี้ มีลักษณะเหมือนกับคาริโอไทป์ $2n = 59$ ที่เกิดขึ้นในโค เนื่องจากการผิดปกติของโครโมโซมแบบ 1/29 Robertsonian Translocation ซึ่งมีรายงานว่า มีผลทำให้อัตราการผสมติดลดลง 5-8% (Gustavsson, 1975; Weber และคณะ, 1989) ในกระบือลูกผสมเองก็มีรายงานว่า พบการแบ่งตัวที่ผิดปกติของโครโมโซม ในขบวนการ spermatogenesis โดยมีจำนวนตั้งแต่ 22 ถึง 26 ตัว และพบโครโมโซมหลายลักษณะ ทั้ง univalent, bivalent และ trivalent และมีผลถึงคุณภาพน้ำเชื้อ ซึ่งยังพบว่ามียัตราการเคลื่อนไหว (motility rate) ต่ำกว่าปกติ และมีตัวอสุจิที่ผิดปกติจำนวนมากกว่าปกติ (Bongso และ Hilmi, 1983; Ramakrishnan และคณะ, 1989) นอกจากนี้ ในกระบือเพศเมียซึ่งอาจจะมีผลต่ออัตราการสุกเต็มที่หลังการปฏิสนธิของตัวอสุจิกับไข่ (วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 1986; Bongso, 1986) ทำให้ได้ลูกกระบือที่มีคาริโอไทป์ผิดปกติเกิดขึ้นน้อยกว่าที่มีคาริโอไทป์ปกติ

สำหรับการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ภายนอกในกระบือนั้น ได้มีผู้รายงานถึงความแตกต่างที่เห็นได้ชัดเจน ระหว่างกระบือปลักและกระบือมูร่าห์พันธุ์แท้ไว้หลายราย (Rife, 1962; Cockrill, 1974; Verma และคณะ, 1986; Azmi และคณะ, 1989) กล่าวคือ กระบือปลักมีสีผิวหนึ่งเป็นสีเทา ขนมีสีเทาหรือสีน้ำตาลเทา ส่วนกระบือมูร่าห์มีสีดำสนิท กระบือปลักมีแถบคาดขวางสีขาว (chevron) บริเวณใต้คอจำนวน 1 หรือ 2 แถบ โดยแถบหนึ่งอยู่ใต้คอส่วนต่อกับหน้าอก และอีกแถบหนึ่งอยู่ใต้ขากรรไกร แต่ในกระบือมูร่าห์ไม่มีแถบคาดนี้ ส่วนสีขนที่ขาหน้าและขาหลัง บริเวณใต้เท้า (metacarpus/metatarsus) ของกระบือปลัก มีขนสีเทาอ่อนหรือขาว ซึ่งในกระบือมูร่าห์เป็นขนสีดำ หน้าผากของกระบือปลักมีลักษณะค่อนข้างแบน แตกต่างจากของกระบือมูร่าห์ที่นูนเด่น ลักษณะและรูปร่างของเขาเป็นอีกลักษณะหนึ่ง ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน กล่าวคือ

กระป๋องปลั๊กมีโคนเขาใหญ่ และมีแนวเขาโค้งกว้างเป็นรูปครึ่งวงกลมขนานกับหน้าผาก ส่วนในกระป๋องมูร่าห์ มีลักษณะมีแนวบิดงอ นอกจากนี้ ในกระป๋องมูร่าห์ที่ปลายทางมักจะมีพุ่มสนสีขาว ซึ่งกระป๋องปลั๊กไม่มี

จากผลการศึกษาครั้งนี้ ที่เปรียบเทียบลักษณะภายนอกระหว่างกระป๋องผสม 25% มูร่าห์ และ 75% มูร่าห์ พบว่ามีความแตกต่างกันตามเปอร์เซ็นต์สายเลือดของพันธุ์ แต่ไม่แตกต่างกันตามรูปแบบคาร์โบไฮเดรต กระป๋องผสม 25% มูร่าห์ ซึ่งมีสายเลือดกระป๋องปลั๊ก 75% มีผิวหนังบริเวณลำตัวเป็นสีเทา พบได้มากถึง 90% ซึ่งเป็นผลจากอิทธิพลโดยตรงของกระป๋องปลั๊ก ส่วนที่ได้รับอิทธิพลจากพันธุ์มูร่าห์ที่เป็นสีดำนี้นั้น มีเพียง 10% เท่านั้น ซึ่งข้อมูลนี้เป็นข้อมูลที่ยังไม่มีรายงานมาก่อน ส่วนในลูกผสม 75% มูร่าห์ที่ศึกษาจำนวนทั้งหมด 52 ตัว สีเทายังพบได้มากกว่าสีดำ ในอัตราส่วน 62:38 ผลการศึกษานี้แตกต่างจากรายงานที่ทำในประเทศเวียดนาม จำนวน 10 ตัว ซึ่งรายงานว่าไม่มีผิวหนังสีดำนี้อีกเลย (Verma และคณะ, 1986) สำหรับสีขนบริเวณลำตัวที่พบว่า ในลูกผสม 25% มูร่าห์เป็นสีน้ำตาลเหลืองและน้ำตาลดำ ไม่พบสีดำสนิท แต่ในลูกผสม 75% มูร่าห์ กลับไม่พบสีน้ำตาลเหลืองเลย แต่พบสีน้ำตาลดำและสีดำสนิท ในอัตราส่วน 30:70 และ 62:38 ตามลำดับนั้น แสดงให้เห็นว่า เมื่อมีสายเลือดมูร่าห์มากขึ้น สีขนจะเข้มขึ้น ซึ่งตรงกับรายงานของ Verma และคณะ (1989) สำหรับสีขนบนหน้าผาก ในกระป๋องผสม 25% มูร่าห์ มีสองแบบ คือสีน้ำตาลและสีน้ำตาลดำ (30:70) ส่วนลูกผสม 75% มูร่าห์ มีถึงสามแบบ คือ สีน้ำตาล สีน้ำตาลดำ และสีดำสนิทในอัตราส่วน 21:35:44 แสดงให้เห็นว่า สีขนบนหน้าผากมีลักษณะเหมือนสีขนที่ลำตัวที่มีแนวโน้มสีเข้มขึ้น เมื่อมีเปอร์เซ็นต์สายเลือดมูร่าห์มากขึ้น

พุ่มที่ปลายทาง ซึ่งพบว่าในลูกผสม 25% มูร่าห์มีพุ่มสีดำนี้อีกทั้งหมด เช่นเดียวกับในกระป๋องปลั๊กทั่วไป แต่ในลูกผสม 75% มูร่าห์ พบว่าบางตัวมีพุ่มสีขาวด้วย ในอัตราส่วนสีดำนี้ออกสีขาว 62:38 แสดงว่าพุ่มสีขาวมีแนวโน้มพบได้มากขึ้นตามเปอร์เซ็นต์สายเลือดมูร่าห์ Cockrill (1974) ได้รายงานว่าลักษณะพุ่มสีขาวที่ทางนี้ เป็นลักษณะเด่นของกระป๋องมูร่าห์ สำหรับลักษณะสีขนที่บริเวณใต้หัวเข้าทั้งขาหน้าและขาหลังนั้น มีแนวโน้มพบขนสีเข้มน้ำตาลดำหรือดำสนิท ในกระป๋องผสมสายเลือด 75% มูร่าห์มากกว่าสายเลือด 25% มูร่าห์เช่นเดียวกับลักษณะสีขนบริเวณอื่น สำหรับลักษณะแถบคาดสีขาวที่คอ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของกระป๋องปลั๊ก ในลูกผสม 25% มูร่าห์พบ 60% ขณะที่ในลูกผสม 75% มูร่าห์ พบเพียง 23% แต่ Verma และคณะ (1989) รายงานว่า ไม่พบเลยในลูกผสม 50% มูร่าห์ และ 75% มูร่าห์ ซึ่งแสดงว่ายีนที่ควบคุมลักษณะนี้เป็นยีนด้อย (recessive gene) สำหรับลักษณะเขาไม่ได้รายงานไว้ในวารสารวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากกระป๋องส่วนใหญ่ที่ทำการศึกษาเป็นลูกกระป๋องอายุน้อยต่ำกว่าหนึ่งปี ซึ่งเขายังไม่งอก หรืองอกแล้วแต่ยังไม่เจริญเต็มที่จนเห็นเด่นชัด จึงยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนพอจะสรุปได้

จากผลการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ภายนอกนี้ ชี้ให้เห็นว่า ความแตกต่างของลักษณะภายนอก เช่น สีผิวหนัง สีขน และแถบคาดสีขาที่คอ เป็นต้น ไม่มีความสัมพันธ์กับรูปแบบของคาริโอไทป์ทั้ง 3 แบบในกระบือลูกผสม แต่มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์สายเลือด กล่าวคือ ถ้าลูกผสมนั้นมีสายเลือดกระบือปลักสูง ก็จะมีลักษณะใกล้เคียงกับกระบือปลักมาก แต่ถ้ามีสายเลือดกระบือพันธุ์มูร่าห์สูง ก็จะมีลักษณะเหมือนกับกระบือมูร่าห์มาก อย่างไรก็ตาม ควรจะได้ทำการศึกษาจากตัวอย่างที่มากกว่านี้ และมีเปอร์เซ็นต์สายเลือดหลายแบบ ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลความแตกต่างมากขึ้น อันอาจช่วยให้อาจสามารถบอกเปอร์เซ็นต์สายเลือด โดยการสังเกตลักษณะภายนอกเหล่านี้ได้

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

กระบือลูกผสมระหว่างกระบือปลักและกระบือแม่น้ำ ไม่ว่าจะในชั่วที่ 1 (F1) หรือชั่วที่ 2 (F2) หรือชั่วที่ 3 (F3) ก็ตาม มีรูปแบบคาริโอไทป์ตรงตามทฤษฎีพันธุศาสตร์ กล่าวคือ จำนวนโครโมโซมครึ่งหนึ่งมาจากพ่อและอีกครึ่งหนึ่งมาจากแม่ ฉะนั้น ในลูกผสมชั่วที่ 1 ซึ่งมีสายเลือด 50% มูร่าห์ จึงมีคาริโอไทป์ $2n = 49$ ในลูกผสมชั่วที่ 2 25% มูร่าห์ คาริโอไทป์เป็น $2n = 48$ และ $2n = 49$ ในอัตราส่วน 1:1 ในลูกผสม 75% มูร่าห์ มีคาริโอไทป์เป็น $2n = 49$ และ $2n = 50$ ในอัตราส่วน 1:1 เช่นกัน และในลูกชั่วที่ 3 ที่มีสายเลือด 87.5% มูร่าห์ มีคาริโอไทป์สองแบบเช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 2 สายเลือด 75% มูร่าห์

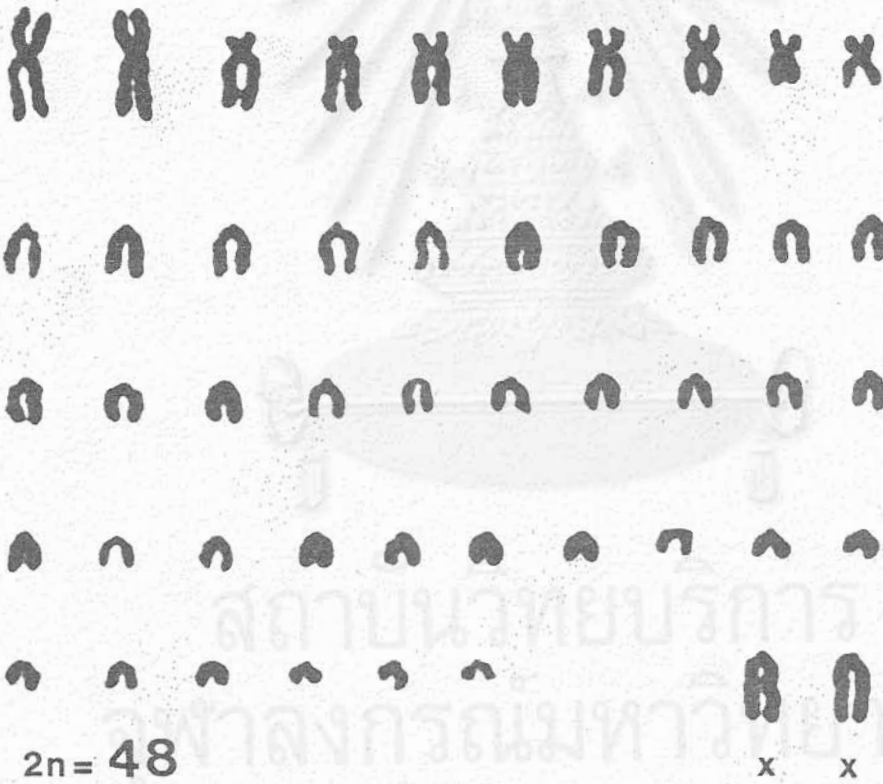
จากผลการวิจัยนี้ ชี้ให้เห็นว่า การศึกษาคาริโอไทป์ในกระบือลูกผสมมีความสำคัญและควรทำการศึกษาค่าต่อไปอีกอย่างน้อยใน 2 ด้าน คือ ด้านเซลล์พันธุศาสตร์ ที่จะต้องหาอัตราส่วนรูปแบบคาริโอไทป์ที่ชัดเจนมากขึ้น โดยเฉพาะในลูกผสมสายเลือด 25% มูร่าห์ 87.5% มูร่าห์ และรุ่นต่อไป รวมทั้งลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างลูกผสม 50% มูร่าห์ด้วยกัน (F1 x F1) การศึกษาอีกด้านหนึ่งควรทำอย่างยิ่ง คือ ศึกษาขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gamete) ในตัวผู้ (spermatogenesis) และในตัวเมีย (oogenesis) ที่มีคาริโอไทป์ผิดปกติ $2n = 49$ รวมทั้งศึกษาอัตราการผสมติด และอัตราการตายของเอ็มบริโอ ซึ่งข้อมูลจากทั้งสองด้านนี้สามารถนำมาใช้ในการกำหนดแผนการผสมพันธุ์สำหรับกระบือลูกผสม ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งในระดับสถานีเพาะพันธุ์สัตว์ของหน่วยงานราชการเอง และในระดับเกษตรกรทั่วไป ไม่ให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่ไม่สามารถแก้ไขได้ อันจะก่อประโยชน์ให้กับประเทศชาติอย่างมหาศาลต่อการพัฒนาการเลี้ยงกระบือ ทั้งในปัจจุบันและในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. วิวัฒน์ ชวนะนิกุล (1986). แนวคิดทางเซลล์พันธุศาสตร์ต่อการผสมข้ามสายพันธุ์ในกระบือ Annual report 1986. The national buffalo research and development center project, Bangkok, Thailand :8-16.
2. วิวัฒน์ ชวนะนิกุล (2531). ความรู้ปัจจุบันเรื่องกระบือ จัดพิมพ์โดยภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า :10-23
3. วิวัฒน์ ชวนะนิกุล และ จันทร์จรัส ลือสกุล (2528). การศึกษาคาริโอไทป์ปกติของโคและกระบือพื้นเมืองไทย. เวชสารสัตวแพทย์ 15(1) :67-85
4. Azmi T.I., M.K. Vidyadaran, N. Hardy (1989). Phenotypic identification of the grade (karyotype) of crossbred buffaloes. Proceedings of Seminar on Buffalo Genotypes for Small Farms in Asia, Serdang, Malaysia :171-178
5. Bongso T.A. (1986). Cytogenetic studies and their applications for improving productivity in the swamp buffalo. Buffalo J.2(2) :87-101.
6. Bongso T.A., W.L.J.S. Kumaratileke and V. Buvanendran (1977). The karyotype of the indigenous buffalo (*Bubalus bubalis*) of Sri Lanka. Ceylon Vet. J. 25 :9-11
7. Bongso T.A. and M.R. Jainudeen(1979). The karyotype of the crossbred between the Murrah and Malaysian swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Kajian Veterinar 11 :6-9
8. Bongso T.A. and M. Hilmi (1982). Chromosome banding homologies of a tandem fusion in river, swamp and crossbred buffaloes (*Bubalus bubalis*). Can. J. Genet. and Cytol. 24 :667-673
9. Bongso T.A. and M. Hilmi (1983). Testicular cells in hybrid water buffaloes (*Bubalus bubalis*). Res. Vet. Sci. 35 :253-256
10. Chowdhary B.P., I. Gustavsson, A. Kunavongkrit, C. Lohachit and A. Makinen (1989). Detailed mitotic description of the tandem fusion translocation differentiating river and swamp buffalo. Buffalo J. 5(1) :41-49

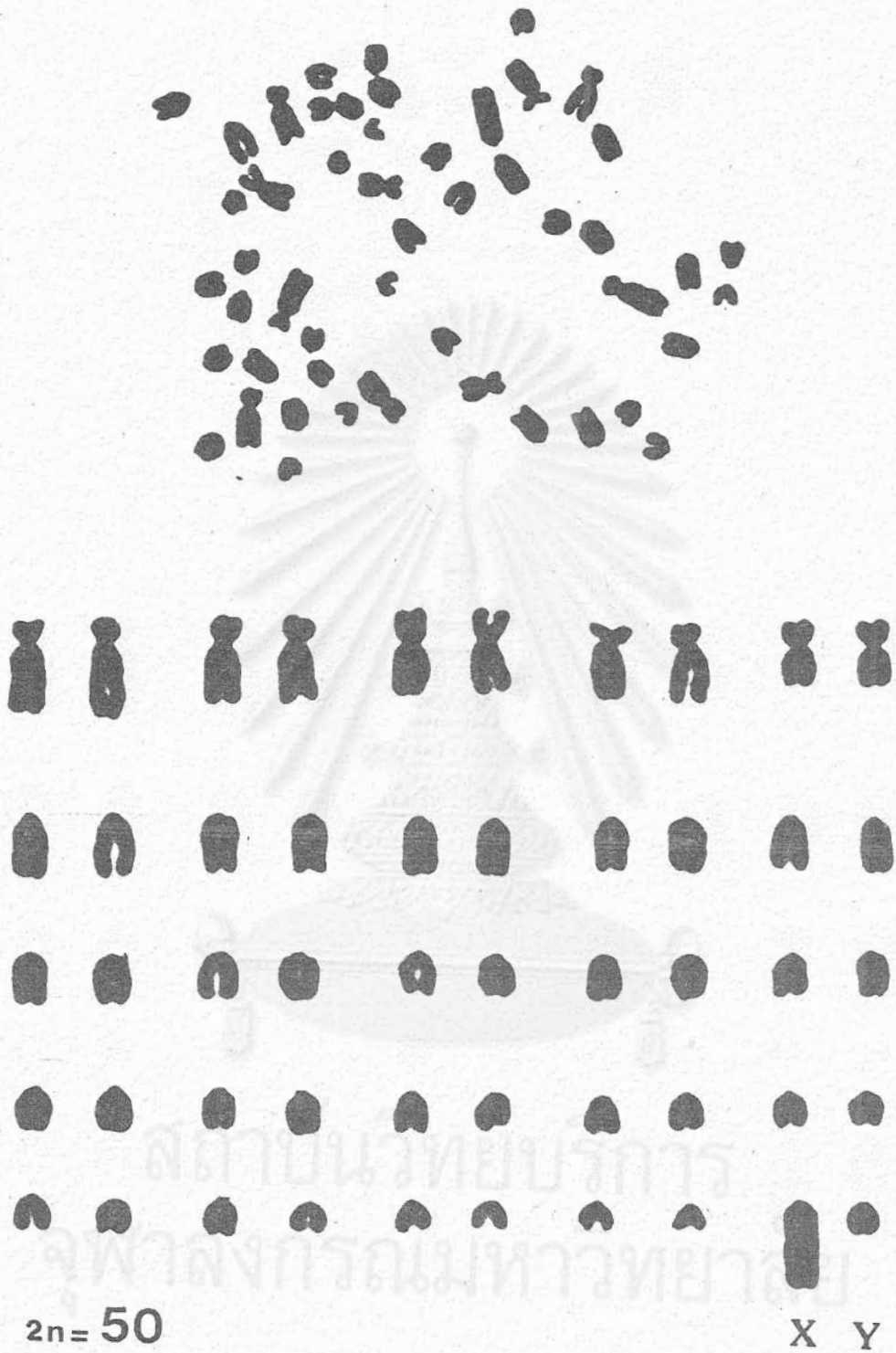
11. Chuanchai V. (1981). Differences of chromosome number and structure between Thai swamp buffalo and Murrah buffalo. Proceeding on 2nd RCM, Nuclear Techniques for Improving Buffalo Production :269-274
12. Cockrill W.R. (1974). The husbandry and health of the domestic buffalo. FAO, Rome :1-18
13. de Hondt H.A., S.A. Ghanam (1971). Cytogenetic studies of the Egyptian water buffalo (*Bubalus bubalis*). Z. Tierzuchtg. Zuchtgsbiol. 88: 64-68
14. Di Berardino D., L. Iannuzzi, T.M. Bettini, D. Matassino (1980). Karyotype evolution in cattle (*Bos taurus*) and Buffalo (*Bubalus bubalis*). 4th European Colloquium on Cytogeneticz of Domestic Animals, Uppsala, June 8-13, 1980 :272-288
15. Di Berardino D. and L. Iannuzzi (1981). Chromosome banding homologies in Swamp and Murrah buffalo. J. Heredity, 72: 183-188.
16. Eldridge F. and W.F. Blazak (1976). Horse, ass and Mule chromosomes. J. Heredity 67 : 361-367
17. Fahimuddin M. (1975). Domestic water buffalo. Oxford & Publishing Co. India :1-9
18. FAO production yearbook, vol.42, 1988.
19. Fischer H. (1974). Cytogenetic observations on crossbred between swamp and Murrah buffaloes. Zuchthygiene 9 :105-110
20. Fischer H. and F. Ulbrich (1968). Chromosomes of the Murrah buffalo and its crossbred with the Asiatic swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Z. Tierz. Zuchtungsbiol. 84 :110-114
21. Fischer H. and E. Scheurmann (1977). Cytogenetic investigations on domestic and wild animal populations in south and southeast Asia. Animal Research and Development, Vol. 6, Inst. for Scientific Cooperation : 63-71
22. Gustavsson I. (1975). New information on the reduced fertility of cattle with the 1/29 translocation. In: 2.Europ. Kolloq. Zytogenet. (Chromosomenpath.) in Veterivarmedizin Säugetier. Giessen :184-188

23. Harisah M., T.I. Azmi, T.A. Bongso, M. Hilmi, M.K. Vidyadaran, Z.M. Nava, V. Momongan, P.K. Basrur (1989). Chromosome make-up of water buffalo breedtypes in South East Asia. Proceedings of seminar on Buffalo Genotypes for Small Farms in Asia, Serdang, Malaysia :171-178
24. Ramakrishnan P., S. Adnan, Y. Nordin, S. Shanmugavelu (1989). Semen characteristics of the crossbred buffalo (3/4 river type possessing 2n=49 chromosomes). In Proceedings of Malaysian Society of Animal Production, Kuala Lumpur :199-203
25. Rife D.C. (1962). Color and harn variations in water buffalo. J. Hered. 53 :239-247
26. Scheurmann E., R. Wiesner, H. Fischer, M.R. Jainudeen (1974). Karyotype, C-banden and identifizieuring der geschlechtschromosomen des Ceylonesischen wasserbuffels (*Bubalus bubalis*). Giessener Beitr Erbpath. Zuchthygiene. 6 :1-7
27. Songsri S. and D.A. Ramirez (1979). The cytology of swamp and river types of water buffaloes and their hybrids. Phil. Agri. 62 : 262-275.
28. Ulbrich F. and H. Fischer (1967). The chromosomes of the Asiatic buffalo (*Bubalus bubalis*) and the African buffalo (*Syncerus caffer*). Z. Tierzuchtg. Zuchtgsbiol. 83 : 219-223
29. Verma R.P., M.C. Sharma, N.N. Pathak, N.V. Duc, D.V. Quang, N.V. Vac (1986). Colour pattern in murreh and swamp buffalo and their crosses (murreh x swamp) in South East Asia. Buffalo J. 2(2) :161-166
30. Weber A.F., L.C. Bouen, B.L. Terhaar, G.R. Ruth, H.W. Momont. (1989) Low fertility related to 1/29 centric fusion anomaly in cattle. J. Am. Vet. Med. Ass. 195 (5) :643-646
31. Zong E., G. Fan. (1989). The variety of sterility and gradual progression to fertility in hybrids of the horse and donkey. Hereditas, 62(3) :393-406



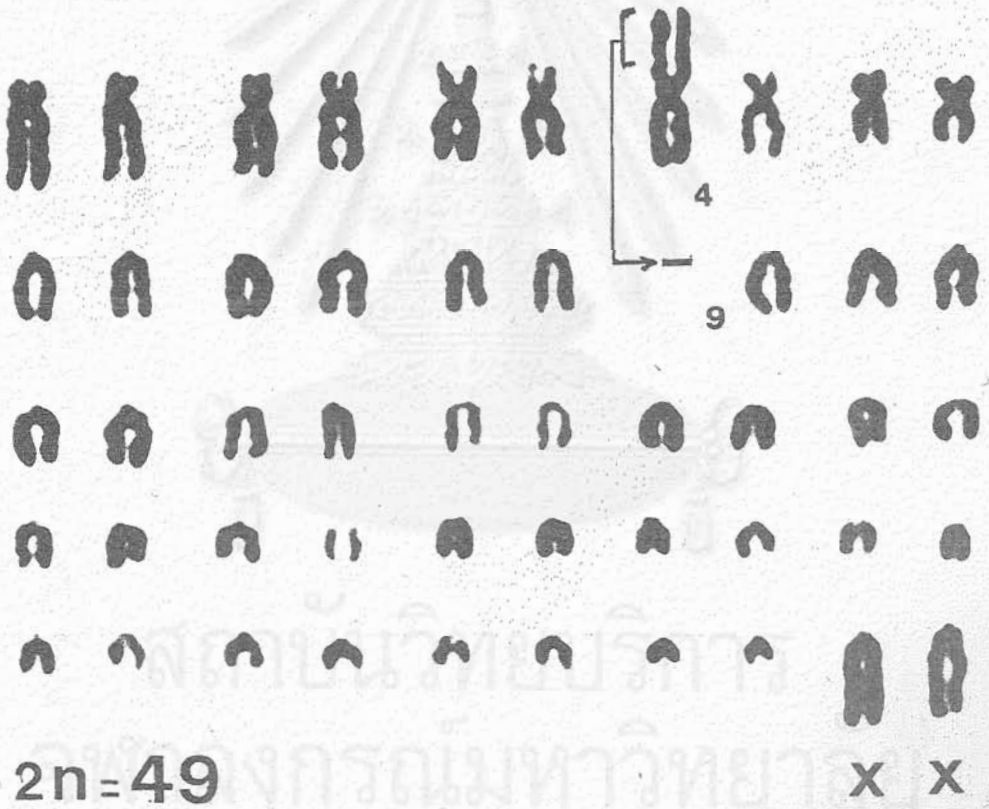
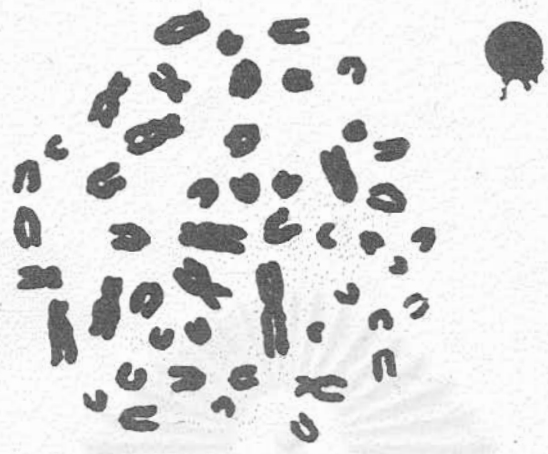
Swamp buffalo

รูปที่ 1 คาร์ิโอไทป์ของกระบือปลัก (swamp type) เพศเมีย 2n=48, XX



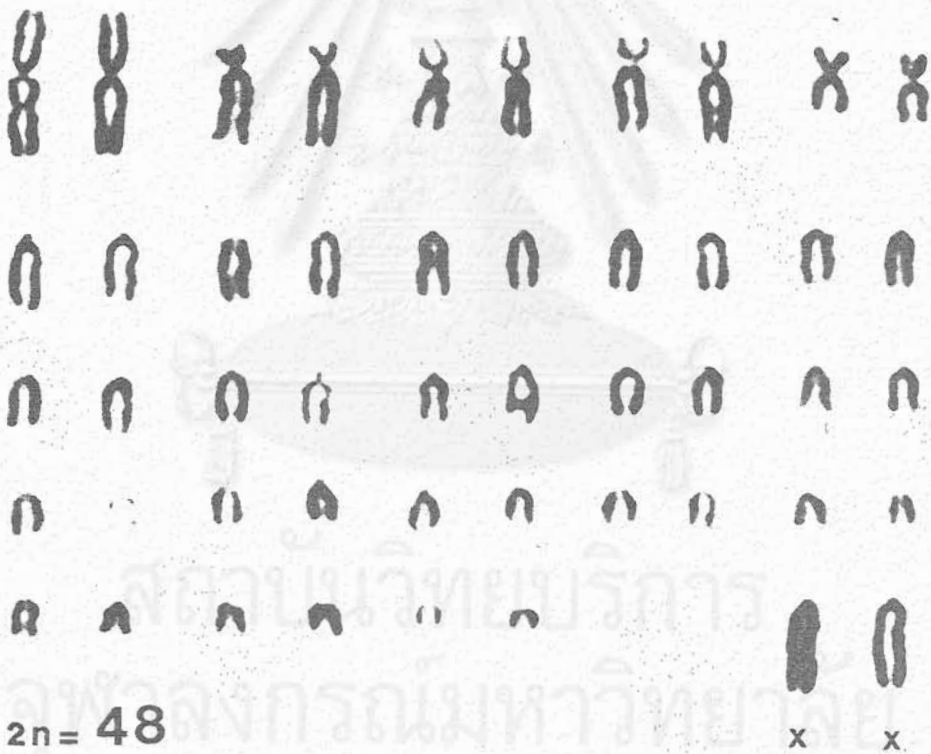
River buffalo, 100% murreh

รูปที่ 2 คาร์ิโอไทป์ของกระบือมูร่าห์พันธุ์แท้ (river type) เพศผู้ 2n=50,XY



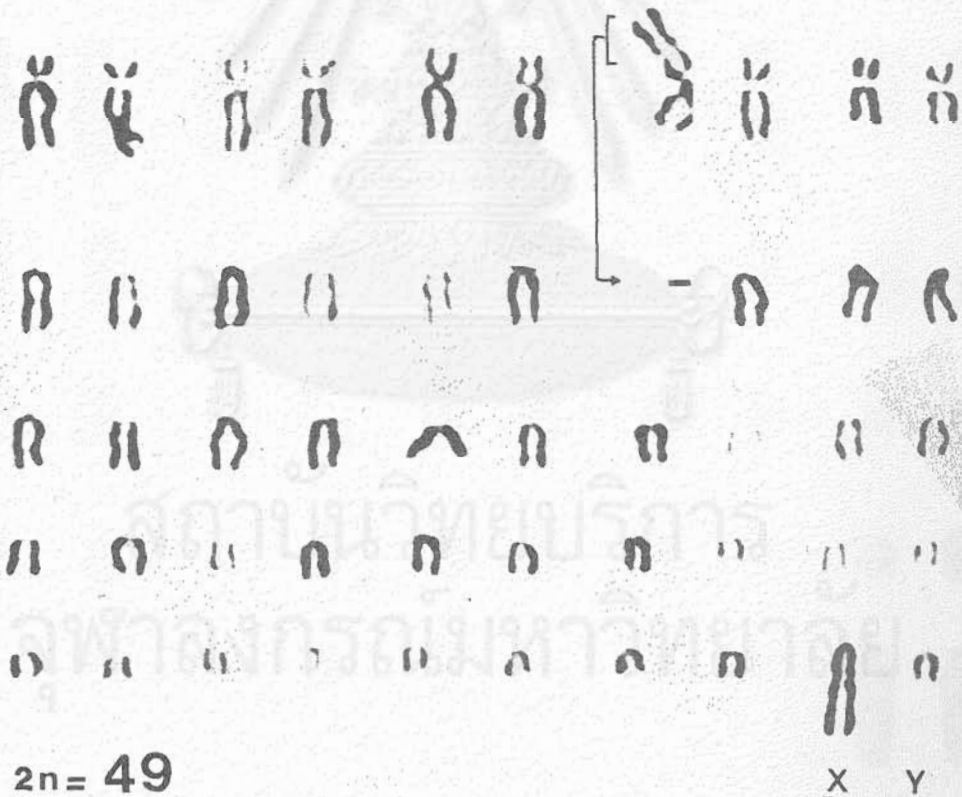
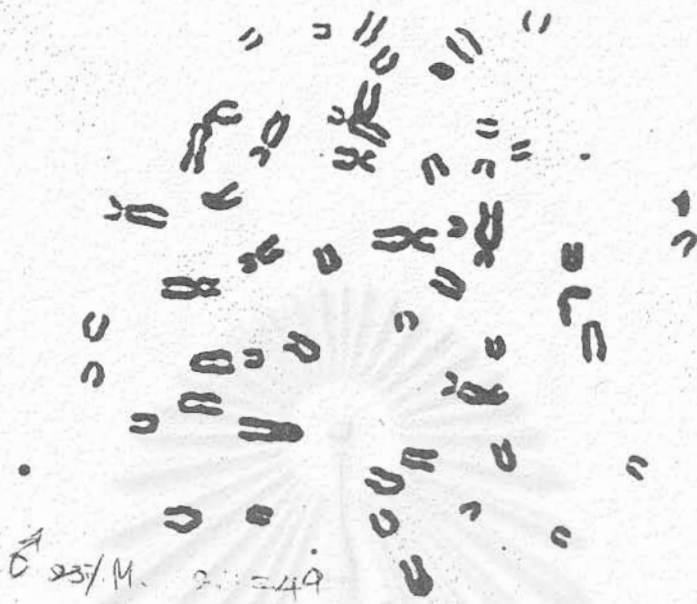
F-1 50% Murrah

รูปที่ 3 คาร์ิโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) 50% มูร่าห์เพศเมีย 2n=49, XX แสดง Tandem Fusion ของโครโมโซมคู่ที่ 4 และคู่ที่ 9 เป็นโครโมโซม metacentric



F-2 25% murreh

รูปที่ 4 คาร์ิโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) 25% มูร์ราห์ เพศเมีย 2n=48, XX มีโครโมโซม metacentric 1 คู่ เหมือนคาร์ิโอไทป์ของกระบือปลัก

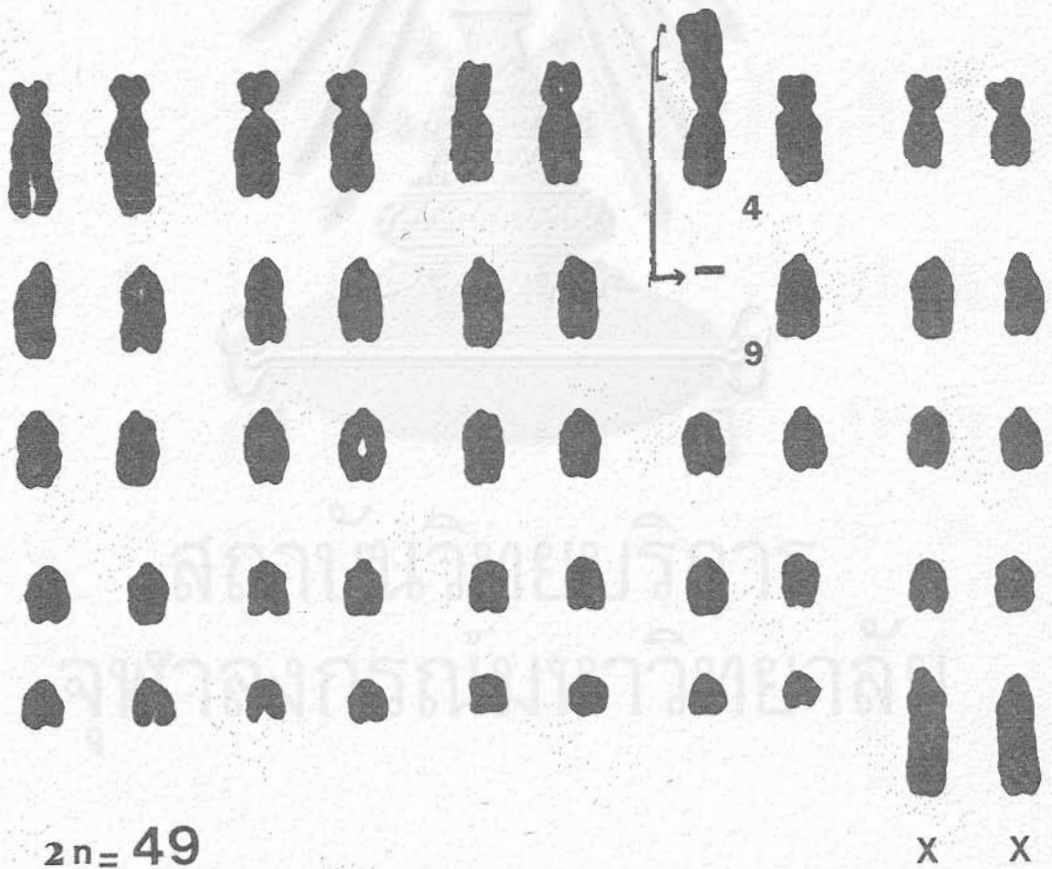


F-2 25% murrh

รูปที่ 5 คาริโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) 25% มูร์ราห์เพศผู้ 2n=49, XY
เช่นเดียวกับคาริโอไทป์ของลูกผสมชั่วที่ 1



$2n = 49$

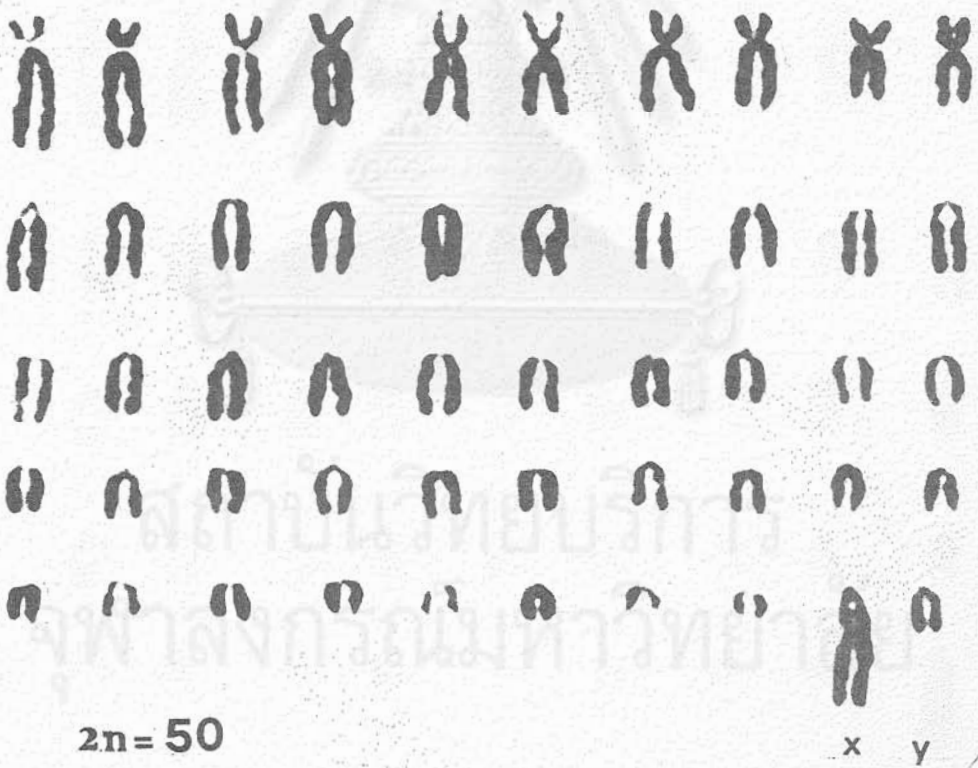
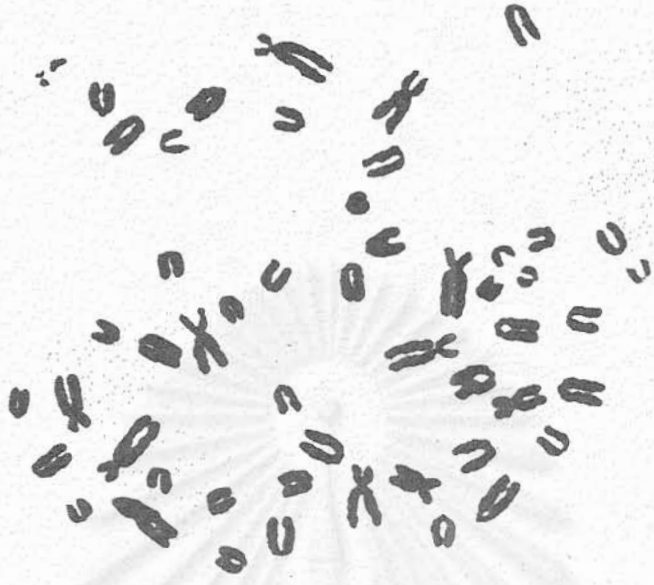


$2n = 49$

X X

F-2 75% MURRAH

รูปที่ 6 คาร์ิโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) 75% มุรราห์เพศเมีย $2n = 49, XX$
เช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 1

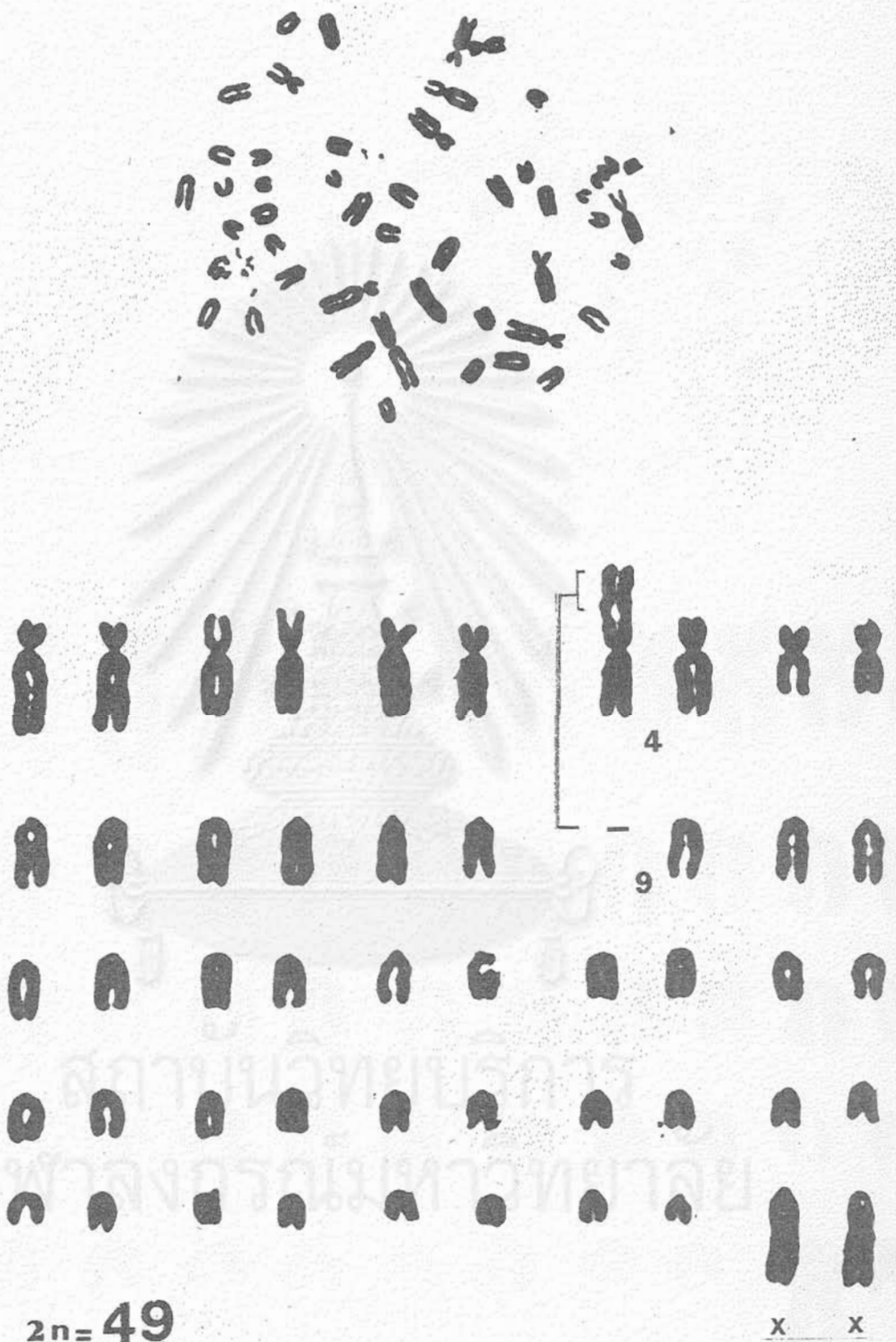


2n = 50

x y

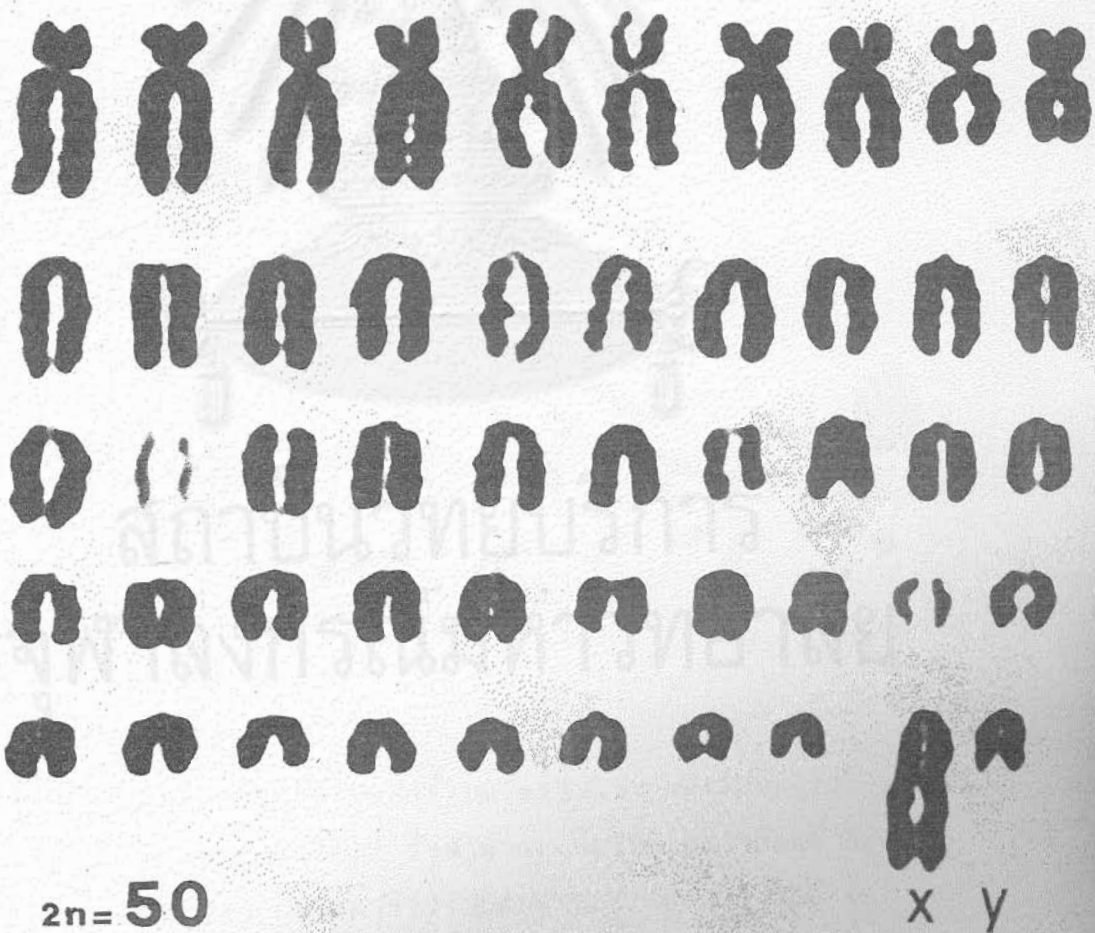
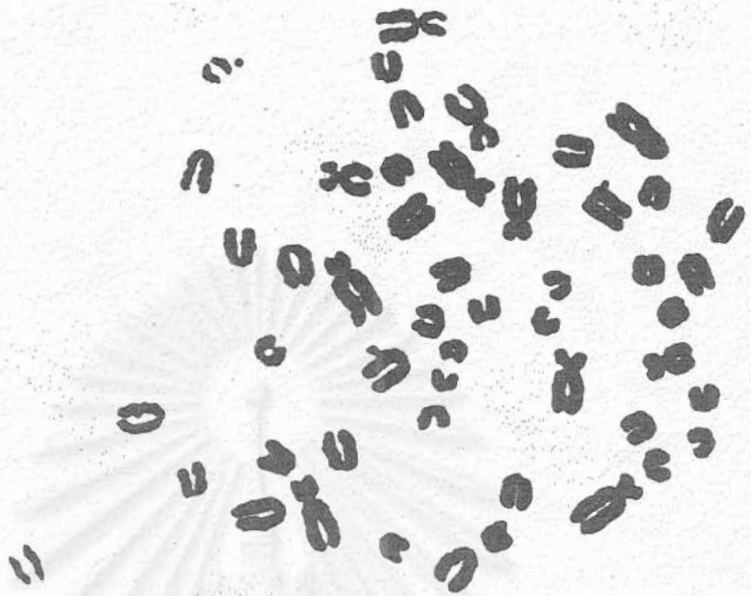
F-2 75% murrah

รูปที่ 7 คาร์ิโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) 75% มูร่าห์เพศผู้ 2n=50, XY
เหมือนคาร์ิโอไทป์ของกระบือมูร่าห์พันธุ์แท้



F-3 87.5% Murrah

รูปที่ 8 คาร์ิโอไทป์ของกระป๋องลูกผสมชั่วที่ 3 (F3) 87.5% มูร่าห์เพศเมีย $2n=49, X$
เช่นเดียวกับในลูกผสมชั่วที่ 1



2n=50

X Y

F-3 87.5% murreh

รูปที่ 9 คาร์ิโอไทป์ของกระบือลูกผสมชั่วที่ 3 (F3) 87.5% มูราห์เพศผู้ 2n=50, XY
 เช่นเดียวกับในกระบือมูราห์พันธุ์แท้



รูปที่ 10 แสดงรอยคอด(ลูกศรชี้)บนโครโมโซม metacentric ที่เกิด Tandem Fusion ซึ่งสามารถเห็นได้ด้วยการย้อมสี Giemsa ธรรมดา ทั้งในคาริโอไทป์แบบ $2n=48$ และ $2n=49$