บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

(Discussion)

1. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของกบชนิด Rana limnocharis limnocharis Gravenhorst, อึ่งอ่างชนิด Microhyla ornata Duméril and Bibron และคางคกชนิด Bufo melanostictus Schneider เปรียบเทียบกัน (ตารางที่ 1 และกราฟที่ 1) จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า (1) การเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ จนถึงระยะมีหาง (Tail bud stage) ของกบและอึ่งอ่างกินเวลาเท่ากัน คือ 17 ชั่วโมง แต่ระยะอื่น ๆ ก่อนระยะมีหางใช้เวลาไม่เท่ากัน กบถึงระยะ cleavage เมื่ออายุ 1.01 ชม. ถึงระยะ Morula เมื่ออายุ 1.39 ชม. ถึงระยะ Blastula เมื่ออายุ 2.06 ชม. ถึงระยะ Gastrula เมื่ออายุ 2.65 ชม. ถึงระยะ Neurula เมื่ออายุ 9.74 ชม. ส่วนอึ่งอ่างถึงระยะ Cleavage เมื่ออายุ 0.78 ชม. ถึงระยะ Morula เมื่ออายุ 1.12 ชม. ถึงระยะ Blastula เมื่ออายุ 2.55 ชม. ถึงระยะ Gastrula เมื่ออายุ 4.10 ชม. ถึงระยะ Neurula เมื่ออายุ 10.47 ชม. ส่วนคางคกใช้เวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ จนถึงระยะมีหางมากกว่ากบ และอึ่งอ่างคือ 30 ชม. ระยะอื่น ๆ ก่อนระยะมีหางก็ใช้เวลาไม่เท่ากับกบ และอึ่งอ่าง คือถึงระยะ Cleavage เมื่ออายุ 2.43 ชม. ถึงระยะ Morula เมื่ออายุ 2.84 ชม. ถึงระยะ Blastula เมื่ออายุ 4.97 ชม. ถึงระยะ Gastrula เมื่ออายุ 5.53 ชม. ถึงระยะ Neurula เมื่ออายุ 8.72 ชม. และ (2) การเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ จนเป็นตัวสำเร็จ กบกินเวลานานที่สุด คือ 42 วัน กบเกิดตุ่มขาหลังเมื่ออายุ 5 วัน เกิดขาหน้าเมื่ออายุ 40 วัน เป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 42 วัน อึ่งอ่างเกิดตุ่มขาหลังเมื่ออายุ 4 วัน เกิดขาหน้าเมื่ออายุ 35 วัน เป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 38 วัน ส่วนคางคกเกิดตุ่มขาหลังเมื่ออายุ 4 วัน เกิดขาหน้าเมื่ออายุ 24 วัน และเป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุ 28 วัน ในการเจริญขั้นต้นตั้งแต่ขั้น 1 เซลล์ จนถึงระยะมีหาง กบและอึ่งอ่างเจริญเติบโตเร็วเท่ากัน และเจริญเร็วกว่าคางคก อาจจะเป็นเพราะลักษณะการอยู่เป็นกลุ่มของไข่กบ และอึ่งอ่างคล้ายกัน คือเป็นแพลอยอยู่บนผิวน้ำ ไข่กบมีขนาดใหญ่กว่าไข่อึ่งอ่างนิดหน่อย ส่วนไข่คางคกนั้นรวมอยู่ในลักษณะเป็นสาย ในธรรมชาติแม่คางคกจะวางไข่เป็นสายพันอยู่กับต้นหญ้าเล็ก ๆ ที่ขึ้นอยู่ตามขอบสระ สายของไข่จะยืด ไข่แต่ละเม็ดอยู่ห่างกันได้ระยะ และไข่จะ

อยู่บริ่ม ๆ น้ำ เมื่อเก็บไข่มาเลี้ยงในห้องทดลอง สายของไข่คางคกจะจมลงไปอยู่ก้นอ่าง สายของไข่หดสั้นไข่แต่ละเม็ดเข้ามาอยู่ชิดกันมากกว่าเดิมในธรรมชาติ การเก็บไข่ของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิดมาเลี้ยงในห้องทดลอง ไข่ของคางคกจึงได้รับการเปลี่ยนแปลงมากกว่าไข่ของกบ และไข่ของอึ่งอ่าง ซึ่งก็อาจเป็นสาเหตุทำให้ไข่ของคางคกเจริญเติบโตช้ากว่าไข่ของกบ และอึ่งอ่างในระยะแรก ๆ ตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ จนถึงระยะมีหาง หลังจากระยะมีหาง จนถึงระยะตัวสำเร็จ ปรากฏว่าลูกอ๊อดคางคกมีการเจริญเติบโตเร็วที่สุดต่อมาคือลูกอ๊อดอึ่งอ่าง และลูกอ๊อดกบตามลำดับ อัตราการเจริญในระยะหลังไม่เท่ากันนี้ เพราะการกินอาหารของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด เริ่มตั้งแต่ตอนต้นของระยะ Premetamorphosis (ระยะตุ่มขาหลังและระยะขาหลัง) ระยะนี้เหงือกภายนอกของตัวอ่อนหลุดหมดแล้ว ปากของตัวอ่อนมีการเจริญดี กินอาหารได้ การที่สัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด ใช้เวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะมีหาง จนถึงระยะตัวสำเร็จไม่เท่ากัน อาจเป็นเพราะ การกินอาหารไม่เหมือนกัน ลูกอ๊อดคางคกกินอาหารเหมือนลูกอ๊อดกบ คือกัดกินผักกาดขาวต้ม จากการสังเกตพบว่าลูกอ๊อดคางคกกินอาหารเกือบตลอดเวลา อาหารที่ให้ในแต่ละวันเหลือน้อยกว่าของลูกอ๊อดกบ ส่วนลูกอ๊อดอึ่งอ่างกินพวกสาหร่ายเล็ก ๆ ที่มีอยู่ในน้ำ ในการวัดขนาดความยาวของสัตว์ทดลอง เริ่มวัดตั้งแต่สัตว์ทดลองมีอายุได้ 3 วัน วัดทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งสัตว์ทดลองเจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จหมด ผลแสดงไว้ในกราฟที่ 1 พบว่า ขนาดความยาวของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิดจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และความยาวจะมากที่สุดก่อนที่สัตว์ทดลองจะเกิดขาหน้า กบ ความยาวเฉลี่ยมากที่สุด เมื่ออายุประมาณ 33วัน เกิดขาหน้าโดยเฉลี่ยเมื่ออายุ 40 วัน อึ่งอ่างความยาวเฉลี่ยมากที่สุดเมื่ออายุประมาณ 30 วัน เกิดขาหน้าโดยเฉลี่ยเมื่ออายุ 35 วัน คางคกมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดเมื่ออายุประมาณ 21 วัน เกิดขาหน้าโดยเฉลี่ยเมื่ออายุประมาณ 24 วัน เนื่องจากลูกอ๊อดคางคกมีการเจริญดี กินอาหารเก่งทุกตัว ค่า Standard deviation ตั้งแต่เริ่มวัดขนาดวันแรก ๆ จนถึงเมื่อมีความยาวมากที่สุด จึงมีค่าไม่มาก ส่วนลูกอ๊อดกบ การเจริญเติบโตช้ากว่าลูกอ๊อดคางคก ลูกอ๊อดแต่ละตัวมีการเจริญเติบโตไม่ค่อยเท่ากัน ขนาดความยาวที่วัดตั้งแต่แรกจนถึงตอนที่มีความยาวมากที่สุด จึงมีค่า Standard deviation มาก แต่หลังจากที่ลูกอ๊อดกบ และลูกอ๊อดคางคกมีความยาวมากที่สุดแล้ว ต่อไปลูกอ๊อดแต่ละตัวจะเริ่มมีความยาวต่าง ๆ กัน เพราะบางตัวเริ่มเกิดขาหน้าบางตัวหางหดสั้น และบางตัวก็เจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จ ดังนั้นค่า Standard deviation ในช่วงนี้จึงมีมากทั้งกบ และคางคก ส่วนความยาวของอึ่งอ่าง ตั้งแต่เริ่มวัดจนถึงตอนที่มีความยาวมากที่สุด แต่ละตัวมีขนาดต่าง ๆ กันค่า Standard deviation จึงมีมาก เนื่องจากลูกอ๊อดอึ่งอ่างกินอาหารไม่เหมือนลูกอ๊อด

คางคกและลูกอ๊อดกบ ความยาวตอนที่มากที่สุดของลูกอ๊อดอึ่งอ่าง จึงน้อยกว่าความยาวของลูกอ๊อดคางคก และกบมากหลังจากที่ลูกอ๊อดอึ่งอ่างมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดแล้ว (อายุประมาณ 30 วัน) จะเริ่มเกิดขาหน้า หางหดสั้น และเจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จ แต่การที่ค่า Standard deviation ในช่วงนี้มีน้อยกว่าของกบและคางคก เป็นเพราะลูกอ๊อดอึ่งอ่างมีขนาดเล็กกว่าลูกอ๊อดกบและคางคกมาก ดังนั้นค่า Standard deviation จึงน้อยกว่า

การเจริญเติบโตของกบชนิด Rana limnocharis limnocharis เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของกบ genus Rana ที่มีผู้ศึกษาเอาไว้ ได้แก่ Shumway (1940) ซึ่งได้ศึกษาการเจริญเติบโตของกบชนิด Rana pipiens พบว่าใช้เวลาในการเจริญเติบโตไม่เท่ากับ Rana limnocharis limnocharis คือ Rana pipiens เลี้ยงในที่ ๆ มีอุณหภูมิ 18° C ปรากฏว่าถึงระยะ Cleavage เมื่ออายุ 5 ชม. ถึงระยะ Morula เมื่ออายุ 8 ชม. ถึงระยะ Blastula เมื่ออายุ 18 ชม. ถึงระยะ Gastrula เมื่ออายุ 34 ชม. ถึงระยะ Neurula เมื่ออายุ 72 ชม. และถึงระยะมีหางเมื่ออายุ 84 ชม. (3.5 วัน) เจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุประมาณ 90 วัน แต่ถ้าเลี้ยงในที่ ๆ มีอุณหภูมิ 25° C เวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตก็แตกต่างออกไปคือ ถึงระยะ Cleavage เมื่ออายุ 4 ชม. ถึงระยะ Morula เมื่ออายุ 8 ชม. ถึงระยะ Blastula เมื่ออายุ 12 ชม. ถึงระยะ Gastrula เมื่ออายุ 20 ชม. ถึงระยะ Neurula เมื่ออายุ 56 ชม. ถึงระยะมีหางเมื่ออายุ 66 ชม. (2.8 วัน) และเจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุประมาณ 75 วัน การที่ Rana pipiens ใช้เวลาในการเจริญเติบโตมากกว่า Rana limnocharis limnocharis อาจจะเป็นเพราะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน คือ Rana limnocharis limnocharis เลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 28 -30° C และข้อสำคัญก็คือ เป็นสัตว์คนละชนิดกัน

การเจริญเติบโตของ Bufo melanostictus เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับของ ศิริวรรณ โกมารทัต (1971) ซึ่งได้ศึกษาการเจริญเติบโตตามปกติของ Bufo melanostictus ตั้งแต่สัตว์ทดลองมีอายุได้ 3 วัน โดยเลี้ยงสัตว์ทดลองในห้องที่มีอุณหภูมิ 29 - 35° C พบว่าได้ผลไม่เหมือนกัน Bufo melanostictus ที่ ศิริวรรณ (1971) เลี้ยง ปรากฏว่าทุกตัวเกิดขาหลังเมื่ออายุ 11 วัน เริ่มเกิดขาหน้าพวกแรกเมื่ออายุ 15 วัน และเริ่มสำเร็จเป็นลูกคางคกตัวแรกเมื่ออายุ 18 วัน แต่ผลจากการศึกษาการเจริญเติบโตของ

Bufo melanostictus โดยเลี้ยงในห้องทดลองที่มีอุณหภูมิ 28 - 30° C พบว่าสัตว์ทดลองทุกตัวเกิดตุ่มขาหลังเมื่ออายุ 4วัน เกิดขาหน้าโดยเฉลี่ยเมื่ออายุประมาณ 24วัน เจริญเติบโตเป็นตัวสำเร็จเมื่ออายุประมาณ 28วัน การเลี้ยงใช้อ่างแก้วขนาดเดียวกัน เลี้ยงอ่างละ 100 ตัวเหมือนกัน ต่างกันที่อุณหภูมิ และอาหาร อาหารที่ใช้เลี้ยงลูกอ๊อดคางคกได้แก่ผักกาดขาวต้ม แต่ศิริวรรณ เลี้ยงลูกอ๊อดคางคกด้วยผักกาดหอมต้ม ส่วนรายละเอียดอื่น ๆ เช่น ปริมาตรของน้ำในอ่างทดลอง, วิธีการเปลี่ยนน้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง ไม่ทราบแน่ชัดว่าเหมือนกันหรือต่างกัน เพราะสิ่งเหล่านี้ต่างก็มีผลต่อการเจริญเติบโต และเหตุที่อายุของสัตว์ทดลองตอนเกิดตุ่มขาหลังต่างกับของศิริวรรณมาก อาจเนื่องจากสัตว์ทดลองไม่ได้อยู่ในระยะเดียวกันจริง ๆ เพราะจากรูปถ่ายที่ศิริวรรณได้แสดงไว้ เห็นได้ชัดว่าขาหลังเจริญออกมาแล้ว มิใช่เพิ่งเกิดตุ่มขาหลังเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองกับในธรรมชาติ พบว่าการเจริญเติบโตในธรรมชาติจะเร็วกว่าในห้องทดลองมาก โดยเฉพาะในวันที่มีแดดจัด อุณหภูมิสูง ดังนั้นอุณหภูมิ, อาหาร และสภาพแวดล้อม จึงเป็นสิ่งสำคัญในการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองมาก

2. จากการศึกษา karyotype ของสัตว์ทั้ง 3ชนิด คือ Rana limnocharis limnocharis (Ranidae), Microhyla ornata (Microhylidae)และ Bufo melanostictus (Bufonidae) พบว่ามีจำนวน chromosome ต่างกัน คือ มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 26, 2n = 24 และ 2n = 22 ตามลำดับ สัตว์ใน Family Ranidae genus Rana มีผู้ศึกษาไว้แล้วถึง 26 ชนิด ปรากฏว่า 22 ชนิดมีจำนวน chromosome เป็น 2n = 26ทั้งหมด และมีอยู่เพียง 3ชนิดเท่านั้น ที่มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 24 ได้แก่ Rana arvalis, R chensinensis, R ornativentris (Wickbom, 1945; Witschi, Kodani and Mikamo, 1958; Kobayashi, 1962; Seto, 1965 จาก Kuramoto, 1970)และอีก 1ชนิด คือ Rana namiyei มีจำนวน chromosome 2n = 22 (Kuramoto, 1972) การที่กบใน genus Rana มีจำนวน chromosome ต่าง ๆ กันนี้ อาจเป็นเพราะเกิด dysploidyคือการที่สัตว์ใน genus หรือ species เดียวกัน มีจำนวน chromosome ต่าง ๆ กัน โดยที่ต่างก็เป็นปกติตามธรรมชาติ ดังนั้น basic number ของ chromosome กบใน genus Rana จึงเป็น 11 คือเป็นครึ่งหนึ่งของจำนวน chromosome ที่น้อยที่สุด ใน genusนี้ สำหรับจำนวน chromosome ของสัตว์ใน Family Bufonidae genus Bufo ได้มีผู้ศึกษาเอาไว้ 13 ชนิด พบว่าทั้ง 13 ชนิด มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 22 ทั้งหมด

(Bianchi and Laguens, 1964; Ullerich, 1966; Beckert and Doyle, 1967; Cole, Lowe and Wright, 1968; Becak, Denaro and Becak, 1970) สำหรับ Family Microhylidae Morescalchi (1968) ได้ศึกษาใน 4 genera คือ Gastrophryne carolinensis, Breviceps gibbosus, Kaloula Pulchra, Phrynomerus bifasciatus พบว่ามีจำนวน chromosome เป็น 22, 24, 28 และ 26 ตามลำดับ

Sato (1933) ศึกษาจำนวน chromosome ของกบชนิด Rana limnocharis limnocharis พบว่ามีจำนวน chromosome เป็น 2n = 26 ต่อมาในปี 1969 Kuramoto ได้ทดลองผสมเทียม Rana limnocharis vittigera ตัวผู้กับ Rana limnocharis limnocharis ตัวเมีย ปรากฏว่าได้ลูกอ๊อดที่มีการเจริญเติบโตตามปกติ ทั้ง ๆ ที่สัตว์ 2 subspecies นี้มีลักษณะภายนอกแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ในปี 1970 Kuramoto ได้ศึกษา karyotype ของ Rana limnocharis limnocharis ในเกาะ Fukuoka และในเกาะ Amami และ Rana limnocharis vittigera ในฟิลิปปินส์เปรียบเทียบกัน ปรากฏว่า chromosome ของ Rana limnocharis limnocharis แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีขนาดใหญ่ ประกอบด้วย chromosome 5 คู่ (คู่ที่ 1 - คู่ที่ 5) และ กลุ่มที่มีขนาดเล็กประกอบด้วย chromosome 8 คู่ (คู่ที่ 6 - คู่ที่ 13) ทั้งนี้โดยให้หมายเลข chromosome ตามขนาดความยาวจากคู่ที่ยาวที่สุด (คู่ที่ 1) ไปหาคู่ที่สั้นที่สุด (คู่ที่ 13) ยกเว้นคู่ที่ 4 ของ Rana limnocharis limnocharis จากเกาะ Fukuoka มีขนาดใหญ่กว่าคู่ที่ 3 ทั้งนี้เพราะพิจารณาค่า C.I. เป็นหลัก แล้วให้หมายเลข chromosome ที่เป็น homologue กับ chromosome ของ Rana limnocharis limnocharis จากเกาะ Amami ตามหมายเลข chromosome ของ Rana limnocharis limnocharis จากเกาะ Amami ในการคิดค่า Centromeric index (arm ratio) Kuramoto คิดเป็นค่าอัตราส่วนระหว่างความยาวของ long arm : ความยาวของ short arm chromosome ของ Rana limnocharis limnocharis ในเกาะทั้งสองนี้ เมื่อเปรียบเทียบกันที่ละคู่ (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 81) ปรากฏว่ามี 9 คู่ (คู่ที่ 1, 5, 6, 8 - 13) เหมือนกันทั้งตำแหน่งของ Centromere และขนาดของ chromosome การจัดชนิดของ chromosome ก็พบว่าเหมือนกัน คือ คู่ที่ 1 เป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 4, 8 เป็น Acrocentric chromosome คู่อื่น ๆ นอกจากคู่ที่ 1,4,8 เป็น Submetacentric chromosome หมด และคู่ที่ 7 ยังมี secondary constriction

อยู่บน short armใกล้ตำแหน่ง centromere เหมือนกันอีกด้วย ส่วนคู่ที่ต่างกันมี 4 คู่ได้แก่ คู่ที่ 2, 7 มีตำแหน่ง centromere ต่างกัน คู่ที่ 3, 4 มีขนาดต่างกัน chromosome ของ Rana limnocharis vittigera คู่ที่ 1 เป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 4, 7 เป็น Acrocentric chromosome คู่อื่น ๆ นอกเหนือจากนี้เป็น Submetacentric chromosome หมด และคู่ที่ 9 มี secondary constriction karyotype ของ Rana limnocharis vittigera พบว่าคล้ายกับของ Rana limnocharis limnocharis ในเกาะ Amami มากกว่าในเกาะ Fukuoka เมื่อนำเอา karyotype ของ Rana limnocharis limnocharis ในประเทศไทย ไปเปรียบเทียบกับในเกาะ Fukuoka และในเกาะ Amami โดยดูจากภาพ idiogram ประกอบกับค่า C.I. แล้ว พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกัน คือ คู่ที่ 1 เป็น Metacentric chromosome เหมือนกัน คู่ที่ 2, 3, 5, 6, 9 - 13 เป็น Submetacentric chromosome เหมือนกัน คู่ที่ไม่เหมือนกันได้แก่คู่ที่ 4, 8 ของ Rana limnocharis limnocharis จากเกาะ Amami และเกาะ Fukuoka เป็น Acrocentric chromosome แต่ของในประเทศไทยเป็น Submetacentric chromosome คู่ที่ 7 ของ Rana limnocharis limnocharis จากเกาะ Amami และเกาะ Fukuoka เป็น Submetacentric chromosomeมี secondary constrictionบน short arm แต่คู่ที่ 7 ของ Rana limnocharis limnocharis ในประเทศไทย เป็น Acrocentric chromosome และพบ secondary constriction ในบางเซลล์เท่านั้น ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า คู่ที่ 7 อาจเป็น Satellite chromosome ซึ่งเรื่องนี้น่าจะได้มีผู้ศึกษาตรวจสอบความแน่นอนอีกครั้ง และการที่พบว่า karyotype ของ Rana limnocharis limnocharis ในประเทศไทยไม่เหมือนกับในเกาะ Amami และเกาะ Fukuoka อาจเป็นเพราะเป็นกบคนละชนิดกันก็ได้ เพราะ karyotype ของ Rana limnocharis limnocharis ในเกาะทั้งสองที่ Kuramoto ศึกษานั้นมิได้บ่งชี้ถึง author เอาไว้ จึงไม่อาจทราบได้ว่าเป็นสัตว์ชนิดเดียวกันหรือไม่

ตารางที่ 81 แสดงค่าเฉลี่ย Relative length และ Arm ratio (m ± 2SE) ของ chromosome ทั้ง 13 คู่ จากเซลล์ในระยะ metaphase 10 เซลล์ ใน Rana limnocharis 2 subspecies จากเกาะ Fukuoka, เกาะ Amami และฟิลิปปินส์(Kuramoto, 1971)

No.	R.l.limnocharis (Fukuoka)		R.l.limnocharis (Amami)		R.l.vittigera (Philippines)	
	R.l.x100	Arm ratio	R.l.x100	Arm ratio	R.l.x100	Arm ratio
1	15.47± 0.45	1.16± 0.05	15.66± 0.32	1.12± 0.04	15.79± 0.36	1.26± 0.06
2	12.37± 0.28	1.50± 0.07	11.92± 0.49	1.87± 0.20	13.18± 0.33	1.50± 0.06
3	10.75± 0.17	1.47± 0.07	11.60± 0.49	1.47± 0.08	11.55± 0.30	1.39± 0.06
4	11.15± 0.40	2.02± 0.08	10.35± 0.23	1.96± 0.12	11.44± 0.31	2.27± 0.13
5	9.75± 0.21	1.30± 0.03	10.00± 0.27	1.34± 0.06	10.63± 0.22	1.39± 0.09
6	5.97± 0.14	1.47± 0.07	5.86± 0.15	1.53± 0.12	5.66± 0.13	1.56± 0.17
7	5.93± 0.20	1.27± 0.07	5.87± 0.17	1.45± 0.06	5.30± 0.11	1.52± 0.13
8	5.50± 0.19	2.46± 0.09	5.74± 0.23	2.49± 0.19	5.40± 0.17	2.40± 0.12
9	5.44± 0.13	1.43± 0.11	5.34± 0.21	1.35± 0.07	4.65± 0.15	1.33± 0.19
10	4.81± 0.27	1.31± 0.07	4.89± 0.23	1.46± 0.11	4.29± 0.18	1.38± 0.10
11	4.56± 0.18	1.60± 0.11	4.56± 0.13	1.72± 0.10	4.47± 0.09	1.97± 0.08
12	4.32± 0.10	1.37± 0.09	4.16± 0.15	1.55± 0.11	4.20± 0.13	1.61± 0.13
13	4.02± 0.12	1.41± 0.05	4.01± 0.12	1.36± 0.09	3.46± 0.10	1.33± 0.04

จากการตรวจเอกสารวิจัย karyotype ของอึ่งอ่างชนิด Microhyla ornata ยังไม่พบว่ามีผู้ใดศึกษามาก่อน แต่สัตว์ชนิดอื่น ใน Family Microhylidae นี้ ปรากฏว่ามีผู้ได้ศึกษาไว้บ้าง เช่น Morescalchi (1968) ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของสัตว์ใน Order Salientia โดยพิจารณาจาก karyotype เป็นหลัก พบว่า ลำดับขั้นจาก primitive ไป advance เรียงจาก Family Ascaphidae, Dicoglossidae, Rhinophrynidae, Pelobatidae และ Microhylidae ตามลำดับ ทั้งนี้เพราะมี micro chromosome และ acrocentric chromosome ซึ่งเป็นลักษณะ primitive ทาง karyotype ต่อมามีวิวัฒนาการของ chromosome โดยมี centric fusions จากการศึกษา karyotype ของสัตว์ใน Family Microhylidae 4 ชนิด ได้แก่ Gastrophryne carolinensis (2n = 22) Breviceps gibbosus (2n = 24) Kaloula pulchra (2n = 28) Phrynomerus bifasciatus (2n = 26) พบว่า karyotype ของแต่ละชนิดแตกต่างกันมาก และไม่มีลักษณะprimitive จากรูปร่าง chromosome ของสัตว์ใน Family Microhylidae ที่ specialize มาก ๆ ทำให้เขาคิดว่า อาจจะมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับสัตว์ใน Family Ranidae รายละเอียดอื่น ๆ นอกจากที่กล่าวมานี้ มิได้แสดงไว้สำหรับการศึกษา karyotype ของ Microhyla ornata พบว่าประกอบด้วยจำนวน chromosome เป็น 2n = 24 ไม่มี micro chromosome แต่มี Acrocentric chromosome 1 คู่ คือ คู่ที่ 4 chromosome อื่น ๆ จัดได้เป็น Metacentric และ Submetacentric chromosome การศึกษา karyotype ของ Microhyla ornata ครั้งนี้จึงพอจะเป็นข้อสนับสนุน Morescalchi ที่ว่าสัตว์ใน Family Microhylidae น่าจะมีความสัมพันธ์กับสัตว์ใน Family Ranidae เพราะลักษณะ karyotype ของ Microhyla ornata ประกอบด้วย chromosome ที่จัดได้เป็น Metacentric, Submetacentric และ Acrocentric chromosome เหมือนกับใน genus Rana และจำนวน chromosome ก็ต่างกันเพียง 1 คู่ คือใน genus Rana ส่วนใหญ่มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 26 ส่วน Microhyla ornata มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 24

karyotype ของ Bufo melanostictus เท่าที่ทราบก็ยังไม่มีผู้ศึกษามาก่อนเช่นกัน แต่ใน genus Bufo ชนิดอื่น ๆ ได้มีผู้ศึกษาเอาไว้ถึง 13 ชนิด ทุกชนิดมีจำนวน chromosome เป็น 2n = 22 ได้แก่ Bufo arenarum (Bianchi and Laguens, 1954) มี chromosome แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม

ตามขนาด คือ 5 คู่ใหญ่ กับ 6 คู่เล็ก Bufo bufo, B viridis และB calamita (Ullerich, 1966) 3 ชนิดนี้มี chromosome แบ่งออกเป็น 6 คู่ใหญ่ และ 5 คู่เล็ก ใน chromosome คู่ที่ 6 ของ Bufo bufo และ B viridis พบ secondary constriction Bufo marinus (Beckert and Doyle, 1967) chromosome แบ่งออกได้เป็น 5 คู่ใหญ่ กับ 6 คู่เล็ก karyotype ของ Bufo marinus มีลักษณะเฉพาะหลายอย่าง คือ มี acromatic region ใกล้ centromere ใน short arm ของ chromosome คู่ที่ 7 chromosomeคู่ที่ 4 มีค่า C.I. สูงสุด คู่ที่ 8 และคู่ที่ 9 มีลักษณะคล้ายกันมากกว่าคู่อื่น ๆ ทั้งหมด ทำให้ identify ได้ยาก ในปี 1968 Cole, Lowe and Wright ได้ศึกษา karyotype ของคางคกใน genus Bufo ในอเมริกาเหนือไว้อีก 8 species คือ Bufo alvarius, B cognatus, B microscaphus, B punctatus, B retiformis, B valliceps, B woodhousii และ B marinus พบว่า 7 species แรกมี karyotype คล้ายกันมาก มีจำนวน chromosome 2n = 22 และ chromosome จัดได้เป็น Metacentric และ Submetacentric chromosome chromosome แบ่งออกตามขนาดได้เป็น 6 คู่ใหญ่ กับ 5 คู่เล็ก chromosome คู่ที่ 1 ซึ่งเป็นคู่ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด จัดได้เป็น Metacentric chromosome มี secondary constriction ใกล้ centromere ส่วนผลการศึกษา karyotype ของ Bufo marinus พบว่า ต่างจาก 7 species แรกอย่างเห็นได้ชัด และไม่เหมือนกับผลที่ Beckert and Doyle ได้ศึกษาไว้ในปี 1967 คือประกอบด้วยจำนวน chromosome 2n = 22 chromosome จัดได้เป็น Metacentric และ Submetacentric chromosome แบ่งออกตามขนาดได้เป็น 6 คู่ใหญ่ 4 คู่เล็ก กับอีก 1 คู่มีขนาดกลาง chromosome ที่มีขนาดกลาง (คู่ที่ 7) เป็น Submetacentric chromosome มี secondary constriction ใน short arm ใกล้ centromere เห็นได้ชัด karyotype ของ Bufo marinus คล้ายกับ karyotype ของ Bufo arenarum ในอเมริกาใต้ ผลการศึกษาของเขาเป็นการช่วยสนับสนุน สมมุติฐานว่า ทั้ง Bufo arenarum และ Bufo marinus ต่างเปลี่ยนแปลงมาจากคางคก (Bufo) ที่มีอยู่เดิมในอเมริกาใต้ แต่ถูกแยกออกมา ภายหลังกลายเป็น species ส่วนใหญ่ในอเมริกาเหนือ Becak, Denaro and Becak (1970) ได้ศึกษา karyotype ของสัตว์ใน Family ต่อไปนี้ คือ Ceratophrydidae, Leptodactylidae, Hylidae, Brachycephalidae และ Bufonidae พบว่า karyotype

ของสัตว์ใน 3 Family แรกเป็น heterogeneous karyotype คือในแต่ละFamily มีจำนวน chromosome ต่าง ๆ กัน ส่วน Family Bufonidae ได้ศึกษา karyotype ของ Bufo granulosus granulosus และ Bufo granulosus d' orbignyi พบว่าทั้ง 2 subspecies นี้มีจำนวน chromosome เป็น 2n = 22 เท่ากัน chromosome คู่ที่ 9 เป็น Submetacentric chromosome ส่วนคู่อื่น ๆ เป็น Metacentric chromosome หมด จากการศึกษา karyotype ของสัตว์ใน Family เหล่านี้ เมื่อพิจารณาดูการเปลี่ยนแปลงของ chromosome (structural rearrangement) ทำให้ได้ข้อคิดว่า centric fusion ที่เกิดขึ้นในวิวัฒนาการ เป็นสิ่งที่ทำให้ chromosome ใน Family ต่าง ๆ มีจำนวนต่าง ๆ กันไป สำหรับ karyotype ของ Bufo melanostictus เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ species อื่น ๆ ที่ได้มีผู้ศึกษาเอาไว้ เช่น Bufo alvarius, B cognatus, B microscaphus, B punctatus, B retiformis, B valliceps B woodhousii (Cole, Lowe and Wright, 1968) พบว่ามีจำนวน chromosome เป็น 2n = 22 เท่ากัน chromosome แบ่งออกได้เป็น 6 คู่ใหญ่ กับ 5 คู่เล็กเหมือนกัน แต่ทั้ง 7 species นี้ มี chromosome คู่ที่ 1, 5 - 7, 9 - 11 เป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 2, 3, 4, 8 เป็น Submetacentric chromosome และคู่ที่ 1 มี secondary constriction ซึ่งต่างกับ Bufo melanostictus ที่มี chromosome คู่ที่ 1, 5, 7, 9 เป็น Metacentric chromosome คู่ที่ 8 เป็น Acrocentric chromosome คู่ที่ 2 - 4, 6, 10, 11 เป็น Submetacentric chromosome และมี secondary constriction ใน chromosome คู่ที่ 11 ในบางเซลล์เท่านั้น

จากการศึกษา karyotype ของ Rana limnocharis limnocharis, Microhyla ornata และ Bufo melanostictus ไม่พบว่ามี chromosome คู่ใดเป็น heteromorphic sex chromosomes และเท่าที่มีผู้ศึกษามาแล้วใน Anurans ชนิดอื่น ๆ ก็ไม่พบว่ามี heteromorphic sex chromosomes การเปรียบเทียบ karyotype ของสัตว์ทั้ง 3 ชนิดนี้ เนื่องจากเป็นสัตว์คนละ Family และมีจำนวน chromosome ไม่เท่ากัน คือ Rana limnocharis limnocharis มี 13 คู่ Microhyla ornata มี 12 คู่ Bufo melanostictus มี 11 คู่ การนำ chromosome มาเปรียบเทียบกันทีละคู่ยอมทำไม่ได้ นอกจากว่าจะนำสัตว์เหล่านี้

มาผสมพันธุ์กัน (ผสมเทียม) แล้วตรวจดู chromosome ในตัวลูกจึงจะทราบว่า chromosome คู่ไหนที่เป็น homologue กัน โดยตรวจดูการแบ่ง nucleus ในระยะ Meiosis chromosome คู่ที่เป็น homologue กันจะเห็นเป็น bivalent ส่วน chromosome ที่เกินไม่มี homologous chromosome มาเข้าคู่ จะเห็นเป็น univalent ตัวอย่างการศึกษาเช่นนี้ได้แก่ Nishioka(1972) ได้ศึกษาเปรียบเทียบ karyotype ของกบ 2 ชนิด คือ Rana brevipoda และ Rana nigromaculata แล้วศึกษา chromosome ของ reciprocal diploid hybrid และ reciprocal triploid hybrid พบว่า karyotype ของกบ 2 ชนิดนี้คล้ายกันมาก ต่างกันเล็กน้อยก็เฉพาะค่า R.L. และ C.I. ของบาง chromosome เท่านั้น ใน reciprocal diploid hybrid พบว่า chromosome ที่เป็นคู่กันมักจะมีขนาดต่างกัน และใน reciprocal triploid hybrids พบว่าในแต่ละ triplet chromosome จะมี 2 chromosome ที่เหมือนกันและต่างกับอีก 1 chromosome ที่เหลือ

สำหรับประโยชน์ที่ได้จากการศึกษา karyotype อาจนำไปใช้ในทางการศึกษาด้านจัดหมวดหมู่พืชและสัตว์ (Taxonomy) และในการศึกษาวิวัฒนาการ (Evolution) เพราะในการที่จะจัดหมวดหมู่ของพืชหรือสัตว์ บางครั้งดูจากรูปร่างลักษณะภายนอกไม่ได้ สัตว์หรือพืชบางชนิดอาจมีรูปร่างลักษณะภายนอกเหมือนกันจนน่าจะเป็นชนิดเดียวกัน แต่เมื่อตรวจดูทาง karyotype จึงจะทราบว่าไม่ใช่ชนิดเดียวกัน ในการศึกษาวิวัฒนาการก็สามารถนำผลการศึกษาทาง karyotype ไปใช้ได้ เช่น Cole, Lowe และ Wright ได้ศึกษา karyotype ของคางคก genus Bufo ในอเมริกาเหนือไว้ 8 ชนิด ผลจากการศึกษา karyotype ที่ได้นี้เป็นการช่วยสนับสนุน hypothesis ว่า Bufo arenarum และ Bufo marinus คอย ๆ เกิดการเปลี่ยนแปลงมาจาก Bufo ที่มีอยู่เดิมในอเมริกาใต้ แต่ภายหลังถูกแยกออกมากลายเป็น Bufo หลาย ๆ ชนิดในอเมริกาเหนือ การศึกษาในที่นี้จึงคาดว่าจะเป็นแนวทางให้มีการศึกษารายละเอียดด้านอื่น ๆ ต่อไป