รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2554

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง
โครงการการศึกษาลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางพันธุกรรม และพฤติกรรมของลิงลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว (Morphological characters, genetics and behaviors of hybrids between rhesus (*Macaca mulatta*) and long-tailed macaque (*M. fascicularis*) at Khao Kheow Open Zoo)

คณะผู้ดำเนินงาน
รองศาสตราจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์
จรรยา เจตน์เจริญ

หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชมารี ขอขอบคุณ คุณสุริยา แสงพงค์ ผู้อำนวยการสวนสัตว์เปิดเขาเขียว คุณอภิเดช สิงหเสนี ผู้ช่วยผู้อำนวยการสวนสัตว์เปิดเขาเขียว นสพ. วิศิษฏ์ อาศัยธรรมกุล คุณกรภัทร แก้วเนิน และทุกๆ ท่านในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่าน ที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ Prof. Dr. Yuzuru Hamada และ Assoc. Prof. Dr. Yoshi Kawamoto ณ Primate Research Institute of Kyoto University, Japan ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและด้านพันธุศาสตร์ ตามลำดับ และขอขอบคุณ Japanese Society for the Promotion of Science (JSPS), Japan ที่ให้การสนับสนุนในการเดินทางและการร่วมประชุมและนำเสนอโปสเตอร์ในงาน ASIAN-HOPE Pre-congress Symposium and Workshop ณ Inuyama, Japan ในระหว่างวันที่ 6 - 10 กันยายน 2553 และนำเสนอผลงานภาคบรรยายใน IPS XXIII Congress, Kyoto 2010 ณ Kyoto University, Kyoto, Japan ในระหว่างวันที่ 12 - 18 กันยายน 2553 แก่รองศาสตราจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ และนางจรรยา เจตน์เจริญ

บทคัดย่อ

สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ.ชลบุรี (13° 12′ N) ตั้งอยู่ในเขตพื้นที่การแพร่กระจายของลิงหางยาว (*Macaca fascicularis*) และอยู่ใต้เขตพื้นที่การแพร่กระจายของลิงวอก (*M. mulatta*) แต่จากการสำรวจเบื้องต้นของทีมผู้วิจัยในปี ค.ศ. 2005 พบทั้งลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงวอกในพื้นที่ จึงได้ทำการศึกษาประชากร ลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางพันธุกรรมของลิง พบว่าลิงแบ่งออกเป็น 3 ฝูง มีพื้นที่การแพร่กระจายซ้อนทับกัน โดยฝูงที่มุ่งเน้นศึกษา คือ ฝูงกรงนก มีประชากรทั้งหมด 229 ตัว จากการจำแนกลักษณะทางสัณฐานของลิงโตเต็มวัย จำนวน 90 ตัว (เพศผู้ 9 ตัว และเพศเมีย 81 ตัว) พบลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม จำนวน 24, 25 และ 41 ตัว ตามลำดับ จากการศึกษาประชากรลิงและลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทำให้พบว่าลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงวอกที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีอยู่ในสัดส่วนที่มากกว่า 60% (ในลิงโตเต็มวัย) และมีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างลิงสองชนิดเป็นระยะเวลานาน เมื่อตรวจวิเคราะห์หมู่เลือดระบบ ABO ในลิงทั้งหมด 40 ตัว พบว่าลิงหางยาวจำนวน 18 ตัว มีหมู่เลือด AB>O>A>B เท่ากับ 38.9, 27.8, 22.2 และ 11.1% ตามลำดับ ในลิงวอกจำนวน 5 ตัว พบหมู่เลือด A>AB=O เท่ากับ 60.0, 20.0 และ 20.0% ตามลำดับ ในขณะที่ลิงลูกผสมจำนวน 17 ตัว พบความถี่ของหมู่เลือด AB>O>A>B เท่ากับ 41.2, 29.4, 23.5 และ 5.9% ตามลำดับ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม จากไมโตรคอนเดรียลดีเอนเอ บริเวณ control region ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Kpn* I พบดีเอนเอ 2 แบบ (haplotype) คือ haplotype A และ B โดยในลิงวอกพบทั้ง 2 haplotype ในอัตราส่วนใกล้เคียงกัน ในขณะที่ลิงหางยาวและลิงลูกผสม พบ haplotype A ในอัตราส่วนที่สูงกว่า haplotype B จากผลการศึกษาในครั้งนี้กล่าวได้ว่าลิงหางยาวและลิงวอก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว สามารถผสมพันธุ์กันให้ลิงลูกผสมที่มีลักษณะปนกันระหว่างลิงทั้งสองชนิด ทั้งในแง่ของลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางพันธุกรรมได้ ดังนั้นเพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดลูกผสมระหว่างลิง 2 ชนิดนี้ และความโน้มเอียงของลักษณะต่าง ๆ ที่จะปรากฏในลูกลิงรุ่นหลัง ๆ จึงควรที่จะทำการศึกษาหาข้อมูลเพิ่มเติมในแง่ของพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และความแตกต่างแปรผันของยีนตัวอื่น ต่อไป

คำสำคัญ ลิงวอก, ลิงหางยาว, สีขน, ความยาวหาง, ไมโตคอนเดรียลดีเอนเอ, หมู่เลือด ABO

Abstract

Khao Khieow Open Zoo, Chonburi Province (13^{O} 12′ N) locates within the distribution range of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) and south of the rhesus macaques (*M. mulatta*). However, from the previous survey of our research team in 2005, we found long-tailed, rhesus and mixed-morphological characters of macaques lived together here. Thus, the studies on morphological and genetic characters of those macaques were done. There are 3 groups of macaques in Khao Kheow Open Zoo and their home ranges were overlapped. The targeted group, namely Aviary group, consisted of 229 individuals. Based on their morphological characters, 90 adults (9 males and 81 females) were classified as long-tailed, rhesus and hybrid macaques for 24, 25 and 41 individuals, respectively. In total there are approximately 60% of adult hybrid macaques in the area. It has a high variation of hybrid gradient which indicates a long-term hybridization. Based on the ABO blood group analysis in 40 monkeys, 18 long-tailed macaques exhibited the blood groups of AB>O>A>B (38.9, 27.8, 22.2 and 11.1%, respectively), 5 rhesus macaques exhibited the blood groups of A>AB=O (60.0, 20.0 and 20.0%, respectively), and 17 hybrids exhibited the blood groups of AB>O>A>B (41.2, 29.4, 23.5 and 5.9%, respectively). Based on the restriction fragment length analysis of mtDNA (control region/Hypervariable Segment II) which was excised by *Kpn* I enzyme, 2 haplotypes (A and B) were found. In rhesus macaques, the frequency of haplotype A and B were similar, however, in long-tailed macaques and hybrids, the frequency of haplotype A was higher than the haplotype B. From this study, it suggests that long-tailed and rhesus macaques at Khao Kheow Open Zoo could mate and give birth of the hybrids which are characterized by morphological characters and mtDNA analysis. Thus, to understand the mechanism how these 2 species can produce fertile hybrids and those characters which will be appeared in the next generation, the studies on sexual behaviors and genetic variations of other genes should be performed.

Keyword: macaque, long-tailed macaque, pelage color, tail length, mitochondrial DNA, ABO blood group

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำ	1
วิธีดำเนินการศึกษา	5
ผลการศึกษา	17
สรุปและวิจารณ์ผล	39
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	44
ประวัตินักวิจัยและคณะ	47

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกลิงวอก และลิงหางยาว	6
ตารางที่ 2	การประมาณอายุจาก dental formula ของลิงวอก (*Macaca mulatta*) และลิงหางยาว (*M fascicularis*) ที่นำไปประยุกต์ใช้กับลิงกัง	13
ตารางที่ 3	การแบ่งกลุ่มอายุและเพศ	17
ตารางที่ 4	จำนวนและความถี่ของลิงที่มีลักษณะทางสัณฐานเป็นลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมในฝูงที่ศึกษา ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	22
ตารางที่ 5	ลิงโตเต็มวัยเพศเมียจำนวน 75 ตัวที่จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา	24
ตารางที่ 6	ลิงโตเต็มวัยเพศผู้จำนวน 11 ตัวที่จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา	26
ตารางที่ 7	ความถี่และจำนวนของลิงจำแนกตามหมู่เลือดระบบ ABO เฉพาะลิงที่ทราบลักษณะทางสัณฐานจำนวน 40 ตัว	26
ตารางที่ 8	ผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว จำนวน 43 ตัว ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดในปีพ.ศ. 2549	28
ตารางที่ 9	สรุปผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้ และเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอในปีพ.ศ. 2549	29
ตารางที่ 10	ผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว จำนวน 23 ตัว ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากอุจจาระในปีพ.ศ. 2553	30
ตารางที่ 11	สรุปผลผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม เพศผู้และเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอในปีพ.ศ. 2553	31
ตารางที่ 12	สรุปผลผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ที่อาศัยอยู่ ณ วัดใหม่เนินพยอม อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากอุจจาระในปีพ.ศ. 2553	31
ตารางที่ 13	เพศ อายุ และพยาธิในอุจจาระของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	33
ตารางที่ 14	ค่าเลือดของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	34
ตารางที่ 15	ค่าทางชีวเคมีในเลือดของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	35

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ลิงวอกและลิงแสมที่อาศัยอยู่ร่วมกันในบริเวณสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี	3
ภาพที่ 2	ลักษณะการบวมแดงของ sex skin ที่บริเวณโคนหางและขาหนีบของลิงหางยาวเพศเมียในธรรมชาติ	7
ภาพที่ 3	ลักษณะสีแดงเข้มของ sex skin โดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ (แต่การบวมจะเห็นไม่ชัดเจน) ของผิวหนังรอบรูทวารหนัก โคนหาง กว้างลงมาจนถึงโคนขา ของลิงวอกเพศเมียในธรรมชาติ	7
ภาพที่ 4	ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกลิงวอก	8
ภาพที่ 5	การตรวจสอบหมู่เลือดระบบ ABO ของลิงวอก ลิงแสม และลิงลูกผสม โดยการนำเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนมาทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี้ในน้ำเลือดของลิง	9
ภาพที่ 6	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไม่มีการจับกลุ่ม (-) และมีการจับกลุ่มในปริมาณต่างๆ กัน (+, ++ และ +++)	10
ภาพที่ 7	กรงตาข่ายสำหรับดักจับลิงกัง ลูกศรชี้บริเวณประตูทางเข้า	12
ภาพที่ 8	การทำหมายเลขที่หน้าลิงโดยการสัก (tattooing)	12
ภาพที่ 9	แผ่นข้อมูลที่ทำการบันทึกลักษณะทางสัณฐานทั้งหมด 54 ค่า และสีขนบริเวณต่าง ๆ ทั่วร่างกาย 11 แห่ง และการตรวจดูฟันเพื่อประมาณอายุ	13
ภาพที่ 10	รูปถ่ายด้านข้าง, ด้านหลัง, ด้านบนของหัว และ ischial callosity ของลิง	15
ภาพที่ 11	code กระดาษที่จะวางประกบการถ่ายรูป	16
ภาพที่ 12	การตัดท่อนำอสุจิในผู้ชาย ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายกันกับที่ดำเนินการในลิงกังเพศผู้	16
ภาพที่ 13	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 2 – 4 พฤศจิกายน 2553	18
ภาพที่ 14	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 5, 7, 8 พฤศจิกายน 2553	18
ภาพที่ 15	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 9, 10, 11 พฤศจิกายน 2553	19
ภาพที่ 16	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 12, 13, 15 พฤศจิกายน 2553	19
ภาพที่ 17	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 16, 17, 18 พฤศจิกายน 2553	20
ภาพที่ 18	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 19, 20, 22 พฤศจิกายน 2553	20
ภาพที่ 19	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 23, 24, 25 พฤศจิกายน 2553	21
ภาพที่ 20	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 26, 27, 29 พฤศจิกายน 2553	21

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 21	พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว วันที่ 30 พฤศจิกายน 2553.....	22
ภาพที่ 22	ลิงที่มีลักษณะลิงหางยาว (A–C) ลิงวอก (D–F) และลิงลูกผสม (G–L) จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว.....	23
ภาพที่ 23	แถบดีเอนเอของยีน mtDNA ส่วน control region/hypervariable segment II ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I.....	27
ภาพที่ 24	สรุปความถี่ของ haplotype A และ haplotype B ในลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม "ฝูงกรงนก".....	31
ภาพที่ 25	ลิงหางยาวโตเต็มวัยเพศผู้ที่พบในฝูงลิงกัง(ก) และการเข้าผสมพันธุ์ระหว่างลิงหางยาวเพศผู้และลิงโตเต็มวัยเพศเมีย (ข).....	34
ภาพที่ 26	ค่าน้ำหนักตัว ความยาวตัว และความยาวฝ่าเท้าของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว.....	36
ภาพที่ 27	ค่าความยาวหางสัมพัทธ์ และความยาวหน้าสัมพัทธ์ของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว.....	37
ภาพที่ 28	ค่าสีขนของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ในแง่ของความสว่าง-มืด (L*) ความแดง-เขียว (a*) และความเหลือง-น้ำเงิน (b*).....	38

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

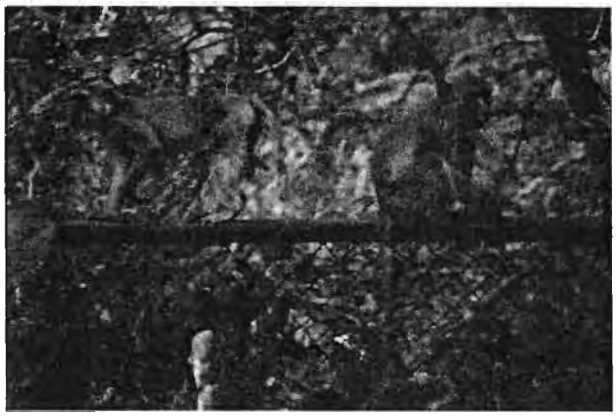
ลิงมะแคค (macaque monkey) จัดอยู่ในกลุ่มลิงโลกเก่าสกุล *Macaca* อยู่ในวงศ์ Cercopithecidae (Groves, 2001) มีอยู่ทั้งหมด 19 ชนิด และพบในประเทศไทย 5 ชนิดด้วยกันคือ ลิงแสมหรือลิงหางยาว (crab-eating or long-tailed macaque; *Macaca fascicularis*) ลิงวอก (rhesus macaque; *M. mulatta*) ลิงเสน (stump-tailed macaque; *M. arctoides*) ลิงอ้ายเงี้ยะ (assamese macaque; *M. assamensis*) และลิงกัง (pig-tailed macaque; *M. nemestrina*) (Fooden, 1971; Lekagul and McNeely, 1988; Aggimarangsee, 1992; Malaivijitnond *et al.*, 2005; 2009) ลักษณะเด่นที่ใช้ในการจำแนกชนิดคือ ความยาวของหางเมื่อเทียบกับความยาวลำตัว (จากหัวถึงก้น) การจัดเรียงของขนที่หัว และสีขน ลิงแต่ละชนิดจะมีการกระจายตัวในประเทศไทยที่ต่างกัน ลิงมะแคคเป็นสัตว์สังคม มีการจัดระเบียบและแบ่งแยกสถานะในสังคม ส่วนใหญ่แล้วเราจะพบลิงสกุลนี้ตามป่าสูงและภูเขา แต่เนื่องจากในปัจจุบันมีการรุกล้ำทำลายพื้นที่ที่เป็นแหล่งอาศัยและ แหล่งอาหาร ของสัตว์ป่าอย่างมาก แต่ในช่วงเวลาที่ผ่านมาการสูญเสียพื้นที่ป่าและที่อยู่อาศัยในธรรมชาติเกิดในอัตราที่สูงยิ่ง จึงทำให้ลิงมะแคคส่วนใหญ่ต้องมาอาศัยร่วมกับมนุษย์อยู่ในแหล่งชุมชน เช่นที่ศาลพระกาฬ จังหวัดลพบุรี ศาลเจ้าแม่สามมุข บางแสน และวัดต่างๆ ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวทำให้จำนวนประชากรของลิงมะแคคบางชนิดที่สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมดังกล่าวได้ดี เช่น ลิงหางยาว มีจำนวนประชากรเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว จนประสบสภาวะประชากรล้นจำนวน (overpopulation) ในบางแห่ง ซึ่งเมื่อเทียบจำนวนประชากร ณ ปัจจุบันกับที่มีรายงานมาเมื่อประมาณ 10 ปีที่แล้ว (Aggimarangsee, 1992) พบว่ามีจำนวนเพิ่มมากขึ้นจากในอดีตถึง 2–10 เท่า (Malaivijintond *et al.*, 2005; 2009) เนื่องจากขาดผู้ล่าตามธรรมชาติและได้รับอาหารอยู่ตลอดเวลาจากนักท่องเที่ยว ขณะที่ลิงมะแคคบางชนิดไม่สามารถปรับตัวต่อสภาพดังกล่าวได้และได้รับผลกระทบจากการแบ่งแยกพื้นป่าที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัย (forest fragmentation or habitat fragmentation) จึงทำให้การแพร่กระจายลดลง เช่น ลิงวอก ซึ่งในปัจจุบันพบเพียง 19 ฝูงเท่านั้นในประเทศไทย (Malaivijitnond et al., 2009) รายงานเกี่ยวกับลิงวอกในประเทศไทยมีน้อยมาก และการศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นในแง่ของการแพร่กระจาย (Fooden, 1971) ในปี ค.ศ. 1998 รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ ได้ไปพบฝูงลิงวอกในธรรมชาติเป็นครั้งแรก (Malaivijitnond and Varavudhi, 2002) หลังจากที่ไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับลิงชนิดนี้ในประเทศไทยมานานกว่า 30 ปี โดยพบที่วัดถ้ำผาหมากฮ่อ อ.วังสะพุง จ.เลย ซึ่งเมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากรลิงวอกดังกล่าว พบว่าลิงบริเวณดังกล่าวมีขนาดเล็กกว่าลิงวอกจากประเทศอินเดียและประเทศจีนที่เลี้ยงอยู่ที่ Primate Research Institute ประมาณ 20 % แต่มีขนาดหางที่ยาวกว่าประมาณ 10–17.5% (Hamada *et al.*, 2006) จึงสรุปว่าเนื่องจากจังหวัดเลยเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้กับ hypothetical border area ระหว่างลิงหางยาวและลิงวอก ดังนั้นจึงน่าจะเกิดการการผสมข้ามพันธุ์กันของลิงวอกและลิงหางยาวในบริเวณดังกล่าวจึงทำให้ลิงวอกที่จังหวัดเลยมีลักษณะต่างจากลิงวอกประเทศอินเดียและจีน

Fooden (1980) จำแนกลิงสกุล *Macaca* ที่มีอยู่ในโลกนี้ทั้งหมด 19 ชนิด ออกเป็น 4 species group คือ silenus-sylvanus, sinica, arctoides และ fascicularis group และได้จำแนกให้ลิงวอกและลิงหางยาวอยู่ในกลุ่ม "Fascicularis group" เนื่องจากลิงทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะต่างๆ ทางสัณฐานวิทยา อวัยวะสืบพันธุ์ และพันธุกรรมคล้ายกัน และลิงทั้งสองชนิดนี้มีการแพร่กระจายแบบไม่ซ้อนทับกัน (Parapatric) โดยลิงวอก (*Macaca mulatta*) มีพื้นที่การกระจายตามธรรมชาติในเขตอบอุ่น ในช่วงละติจูด 15–35 องศาเหนือ ในอัฟกานิสถาน อินเดีย จีน รวมทั้งเวียดนามและไทย (Fooden, 2000) โดยในประเทศไทยสามารถพบได้ใน

บริเวณภาคตะวันตกและภาคเหนือตอนบน ในขณะที่ลิงหางยาวหรือลิงแสม (*M. fascicularis*) อาศัยในเขตร้อน ช่วงละติจูด 15 องศาเหนือ–10 องศาใต้ จากประเทศไทย พม่า ลงไปจนถึงเกาะต่างๆ ของอินโดนีเซีย (Fooden, 1995) โดยในประเทศไทยสามารถพบลิงหางยาวได้ตั้งแต่ภาคตะวันตกและภาคเหนือตอนล่าง ไปจนจรดทางใต้สุดของประเทศไทย (Fooden, 1971; 1995; 2000; Malaivijitnond et al., 2005) ทั้งนี้เนื่องจากลิงวอกจะอาศัยอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิต่ำ (subtropical zone) ในขณะที่ลิงหางยาวจะอาศัยอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิสูงกว่า (tropical zone) แต่ลิงทั้งสองชนิดจะอาศัยอยู่ในป่าชนิดเดียวกันคือ Non-broadleaf evergreen (Fooden, 1982) ดังนั้นที่บริเวณละติจูด 15–20 องศาเหนือจึงจัดเป็น boundary zone ระหว่างลิง 2 ชนิดนี้ นั่นคือลิงวอกและลิงหางยาวในธรรมชาติจะแยกออกจากกันตามลักษณะทางภูมิศาสตร์ แต่ถ้าเมื่อใดก็ตามที่ลิงทั้งสองชนิดนี้เข้ามาอยู่รวมกันจะสามารถข้ามผสมพันธุ์กันได้เป็นอย่างดี และลูกผสมที่ได้ไม่เป็นหมัน (Bernstein and Gordon, 1980) ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะทำให้เกิดภาวะปนเปื้อนทางพันธุกรรม (genetic pollution) เกิดขึ้น และจะทำให้เกิดการสูญเสียสัตว์พันธุ์แท้ไป ซึ่งจะมีผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของลิงมะแคคในประเทศไทย

ลิงวอกสามารถแบ่งเป็นสามกลุ่มหลักๆ ได้แก่ กลุ่มทางตะวันตก (ในอินเดียและบริเวณใกล้เคียง) กลุ่มทางตะวันออก (ในจีนและบริเวณใกล้เคียง) และกลุ่มทางใต้ (ในเขตอินโดจีน รวมทั้งประเทศไทย) ทั้งนี้เขตที่เป็นรอยต่อของพื้นที่อาศัยระหว่างลิงสองชนิดนี้อยู่ในช่วงละติจูดประมาณ 15–20 องศาเหนือ ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานการเกิดการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงสองชนิดนี้ (Hamada et al., 2008) Hamada et al. (2006) พบว่าลิงวอกไทยมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าลิงวอกในอินเดียและจีนประมาณ 20% แต่มีหางยาวกว่าประมาณ 10–17.5% ซึ่งเป็นไปได้ว่าลิงวอกในไทยมีการผสมข้ามพันธุ์กับลิงหางยาวที่อยู่ตอนบนของประเทศ จากการศึกษาทางพันธุกรรมโดยใช้ยีน mtDNA โดย Malaivijitnond et al. (2007a) พบว่าลิงวอกไทยมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้กับลิงหางยาวในไทยมากกว่าลิงวอกในอินเดียและจีน และ Malaivijitnond et al. (2008) ยังศึกษาพบว่าลิงวอกไทยมีหมู่เลือด ABO ทั้ง 4 หมู่ คือ A, B, AB และ O เช่นเดียวกับลิงหางยาว แต่แตกต่างจากลิงวอกอินเดียและจีน ที่มีหมู่เลือด B เพียงหมู่เดียวเท่านั้น ในการสืบพันธุ์โดยธรรมชาติลิงวอกจะมีฤดูผสมพันธุ์ที่ชัดเจน (Fooden, 2000) โดยจะเข้าผสมพันธุ์กันในช่วงเดือนพฤศจิกายน–มีนาคม (Malaivijitnond et al., 2007a) ในขณะที่ลิงหางยาวจะไม่มีฤดูกาลในการสืบพันธุ์ สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งปี (Fooden, 1995)

ในปี ค.ศ. 2005 รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ และคณะ (Malaivijitnond and Hamada, 2008) ได้ไปสำรวจที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี (13°12´N) และพบลิงหางยาว 2 ฝูง (ฝูง A และ B) โดยลิงฝูง A พบลิงที่มีลักษณะทางสัณฐานทั้งแบบลิงหางยาว ลิงวอก และแบบผสมของลิงทั้งสองชนิด (รูปที่ 1) ซึ่งคาดว่าเป็นลิงลูกผสมที่เกิดจากลิงหางยาว และลิงวอก (Malaivijitnond and Hamada, 2008) จากการสอบถามสัตวแพทย์ประจำสวนสัตว์ พบว่าสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ก่อตั้งในปี ค.ศ. 1974 และก่อนการก่อตั้งก็พบมีลิงหางยาวอาศัยอยู่บนเขาเขียวแล้ว ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ามีการปล่อยหรือการหลุดของลิงวอก (ซึ่งไม่ทราบว่าจากที่ใด??) เข้ามาในพื้นที่ของลิงหางยาวและทำให้เกิดการผสมข้ามสายพันธุ์เกิดขึ้น และด้วยเหตุที่ว่ายังสามารถพบลักษณะดั้งเดิมของลิงหางยาว และลิงวอกในฝูงลิงนี้อยู่ จึงคาดว่าการเกิดลูกผสมพึ่งจะเกิดขึ้นเร็วๆ นี้ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจอย่างในการศึกษาเปรียบระหว่างลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางพันธุกรรม และพฤติกรรมของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเข้าใจในเรื่องดังกล่าว จึงได้ทำการศึกษาประชากร ลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางพันธุกรรม และพฤติกรรมของลิงที่อาศัยตามธรรมชาติในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี



ภาพที่ 1 ลิงวอกและลิงแสมที่อาศัยอยู่ร่วมกันในบริเวณสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี

วัตถุประสงค์ของโครงการขอบเขตการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางพันธุกรรม และพฤติกรรมของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว
2. เพื่อศึกษาเปรียบระหว่างลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางพันธุกรรม ของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว เปรียบเทียบกับลิงหางยาวและลิงวอกสายพันธุ์แท้ที่บริเวณอื่น ๆ ของประเทศไทย
3. เพื่อจัดตั้ง DNA bank ของลิงตระกูลมะแคคในประเทศไทย

พื้นที่สำรวจและเก็บตัวอย่าง

พื้นที่ในการศึกษา คือ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ต. บางพระ อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี พิกัดทางภูมิศาสตร์ 13°12'เหนือ 101°03' ตะวันออก ซึ่งมีพื้นที่ประมาณ 5,000 ไร่ แบ่งออกเป็นพื้นที่ที่เป็นส่วนจัดแสดงสัตว์ประมาณ 1,000 ไร่ ส่วนที่เป็นพื้นที่ป่าประมาณ 4,500 ไร่ และส่วนบริการอีก 500 ไร่ ทั้งนี้บริเวณที่ใช้ศึกษาจะครอบคลุมพื้นที่ที่ลิงอยู่อาศัยและออกมาหากินในทั้งสามพื้นที่โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ป่าซึ่งเป็นป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณ

วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี/หรือแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

ดำเนินการวิจัยทั้งในภาคสนามและในห้องปฏิบัติการ โดยในภาคสนามจะเก็บข้อมูลทางด้านกลุ่มประชากร จำนวนประชากรในแต่ละกลุ่ม จากนั้นจำแนกลิงตามเพศและช่วงอายุในกลุ่มที่สนใจ (กลุ่มกรงนก) ศึกษาลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางพฤติกรรม จากนั้นเก็บตัวอย่างอุจจาระมาทำการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม (mitochondrial DNA) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางพันธุกรรม และพฤติกรรมของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อที่จะทำให้ทราบสาเหตุที่ทำให้เกิดลิงลูกผสมจากลิงหางยาวและลิงวอกในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และเพื่อที่จะได้วางแผนการจัดการลิงกลุ่มดังกล่าวได้อย่างถูกต้อง

2. เพื่อไม่ให้ลักษณะพันธุกรรมดังกล่าวแพร่กระจายไปยังลิงฝูงอื่น ๆ ที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงต่อไป

3. เพื่อที่จะนำข้อมูลดังกล่าวไปเป็นแนวทางในการอธิบายการเกิดลิงลูกผสมในธรรมชาติ (ที่เกิดขึ้นในอดีต) ระหว่างลิงทั้งสองชนิดนี้

วิธีดำเนินการศึกษา

<u>การสำรวจประชากรและพื้นที่อาศัยของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม ฝูงกรงนก</u>

จากการสำรวจประชากรและพื้นที่อาศัยของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว พบฝูงลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม จำนวน 3 ฝูง รวมประชากรทั้งหมดประมาณ 500 ตัว ฝูงที่ใช้เป็นฝูงหลักในการศึกษาให้ชื่อว่า "ฝูงกรงนก" เนื่องจากส่วนใหญ่จะพบบริเวณกรมนก (Aviary area) มีจำนวนประชากรนับในเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 ทั้งหมด 229 ตัว ประกอบด้วย adult male 9 ตัว, adult female 91 ตัว, sub-adult male 26 ตัว, sub-adult female 31 ตัว, juvenile 59 ตัว และ infant 13 ตัว อัตราส่วนของลิงโตเต็มวัยเพศผู้ต่อลิงโตเต็มวัยเพศเมีย (adult sex ratio) เท่ากับ 1: 10.1 โดยพื้นที่อาศัย (home range) ของลิงฝูงกรงนก ที่ติดตามในช่วงเดือนมกราคม-สิงหาคม 2553 มีขนาดประมาณ 550 ไร่ หรือประมาณ 11% ของพื้นที่ทั้งหมดของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ในรายงานประจำปีที่ 2 นี้เป็นการสำรวจประชากรลิงฝูงกรงนก จากทั้งหมด 3 ฝูง ในเดือนตุลาคม-ธันวาคม 2553 โดยทำการสำรวจเกี่ยวกับ

1. โครงสร้างประชากร โดยมีการจำแนก sex-class และ age-class เป็น Adult, Sub-adult, Juvenile, และ Infant ตามเกณฑ์ดังนี้

Adult male หมายถึง ลิงเพศผู้ที่มีขนาดตัวใหญ่ มีเขี้ยว (canine) ใหญ่เจริญเต็มที่ และอัณฑะเคลื่อนตัวเข้ามาอยู่ในถุงหุ้มอัณฑะหมดแล้ว

Sub-adult male หมายถึง ลิงเพศผู้ที่มีขนาดตัวปานกลาง เขี้ยว (canine) ยังเจริญไม่เต็มที่ มีขนาดสั้น และอัณฑะเคลื่อนตัวเข้ามาอยู่ในถุงหุ้มอัณฑะแล้ว แต่ยังไม่สมบูรณ์

Adult female หมายถึง ลิงเพศเมียที่มีขนาดใหญ่ หัวนมมีขนาดใหญ่ ยาว และมีสีแดง และบริเวณ sexual skin ในช่วงฤดูผสมพันธุ์มีสีแดงเข้ม

Sub-adult female หมายถึง ลิงเพศเมียที่มีขนาดปานกลาง หัวนมมีขนาดเล็ก สั้น และสีไม่ค่อยแดง และบริเวณ sexual skin ในช่วงฤดูผสมพันธุ์มีสีแดงเข้ม

Juvenile หมายถึง ถ้าเป็นลิงเพศผู้จะมีขนาดตัวเล็ก อัณฑะยังไม่เคลื่อนตัวลงมาอยู่ในถุงหุ้มอัณฑะ และมักอยู่รวมกันเป็นฝูงกับลิงตัวอื่น ๆ แต่ถ้าเป็นลิงเพศเมียจะเป็นลิงที่มีขนาดตัวเล็ก และมักอยู่รวมกันเป็นฝูงกับลิงตัวอื่น ๆ

Infant หมายถึง ลูกลิงที่ยังเกาะอกแม่ลิงอยู่ (อายุ < 1 ปี) มีขนาดเล็ก ผิวหนังที่บริเวณใบหน้ามีลักษณะเป็นรอยย่นและมีขนสีดำขึ้นรอบๆ และในขณะที่ลูกลิงเล่นอยู่มักจะมีแม่ลิงคอยดูแลอยู่ใกล้ ๆ

2. คำนวณ Adult sex ratio ทั้งนี้จะใช้การจำแนกลิงแต่ละตัว ทำโดยการจดบันทึกในภาคสนามและใช้รูปถ่ายของลิงแต่ละตัวในการจำแนก
3. หาเส้นทางการเดินทางและพื้นที่อาศัยของลิงฝูงกรงนก

<u>การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม</u>

ในเบื้องต้นศึกษาลักษณะทางสัณฐานของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากภาพถ่ายของลิงแต่ละตัว เริ่มจากการจำแนกและจดจำลิงแต่ละตัวก่อน จากนั้นจึงถ่ายภาพลิงแต่ละตัวด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล (Cannon, Japan) เพื่อเก็บเข้าระบบเอกสาร และใช้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานในภายหลัง ได้แก่ ความยาวหางสัมพัทธ์ (Relative tail length, RTL, %) สีขน (pelage color) ขนที่หัว (crown hair) ขนที่แก้ม (cheek hair) และขนาดและลักษณะการบวมของ sex skin ในลิงเพศเมีย (ดังตารางที่ 1 และรูปที่ 2-4) ซึ่งหากลักษณะทางสัณฐานมีลักษณะคาบเกี่ยว (intermediate) ระหว่างลิงสองชนิด จะ

จำแนกเป็นลิงลูกผสม (อ้างตาม: Fooden, 1995, 2000; Hamada et al., 2006, 2008, Malaivijitnond et al., 2007b)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกลิงวอก และลิงหางยาว

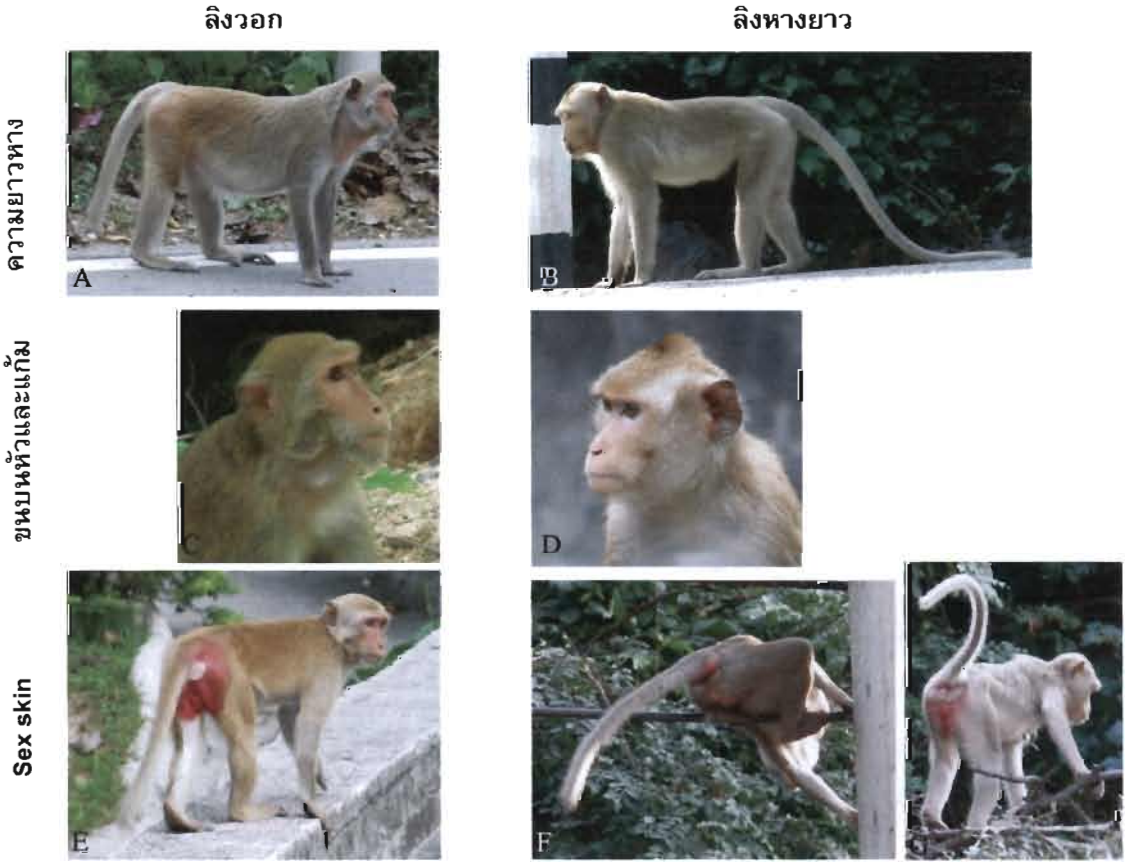
ลักษณะที่พบ	ความยาวหางสัมพัทธ์ (%)	สีขน	ขนบนหัว	Cheek hair	การเปลี่ยนแปลงของ sex skin ในลิงเพศเมีย
ลิงวอก	50–58%	สีขนบริเวณหลังสีเหลืองน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอ่อน ขนบริเวณ hindquarter สีเหลืองส้มหรือส้มแดง ทำให้ขนทั้งตัวแยกเป็น 2 สี ที่เรียกว่า "bipartite pattern"	สั้นและเรียบลู่ไปทางด้านหลัง	วนเป็นก้นหอยอยู่ใต้โหนกแก้ม (Infrazygomatic crest)	มีสีแดงเข้มโดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ (แต่การบวมจะเห็นไม่ชัดเจน) ของผิวหนังรอบรูทวารหนัก โคนหาง กว้างลงมาจนถึงโคนขา
ลิงหางยาว	109–120%	ขนที่บริเวณหลังและ hindquarter มีสีน้ำตาลเทาคล้ายกับบริเวณอื่น ๆ ทั่วลำตัว ไม่มีลักษณะ bipartite pattern	มักมีลักษณะเป็นปลายยอดแหลมคล้ายจุก สีเข้มกว่าส่วนอื่น ๆ	ไม่วนเป็นก้นหอย มักจัดเรียงตัวพาดผ่านโหนกแก้ม (Tranzygomatic crest)	การบวมและแดงที่โคนหาง และบางครั้งในลิงวัยรุ่นพบการบวมที่โคนขาคล้ายอัณฑะ

หมายเหตุ 1)ความยาวหางสัมพัทธ์ หมายถึง ความยาวหาง/ความยาวตัว x100

2) Sex skin หมายถึง ผิวหนังบริเวณรอบ ๆ อวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์เพศเมีย ได้แก่ ผิวหนังรอบช่องคลอด (perineal skin) บริเวณรูทวารหนัก (anogenital region) และ โคนหาง (base of the tail) ซึ่งในสัตว์อันดับไพรเมท (Order Primates) สามารถพบการเปลี่ยนแปลงของ sex skin ได้ในพวกกลุ่มลิงโลกเก่า (Old world monkeys) และ ลิงเอพส์ การเปลี่ยนแปลงที่พบได้แก่ การบวม (swelling) และแดง (reddening) ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งจะมีค่าสูงในช่วงก่อนตกไข่ โดยการเปลี่ยนแปลงของ sex skin มีความสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและการตกไข่ เชื่อว่าเป็นปัจจัยที่ช่วยให้ลิงเพศผู้สามารถรับรู้ได้ว่าควรที่จะเข้าผสมพันธุ์กับลิงเพศเมีย เพื่อที่จะทำให้โอกาสที่สเปิร์มเข้าผสมกับไข่และได้ตัวอ่อนสูงขึ้น ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของ sex skin จึงมักพบได้ในลิงที่อาศัยอยู่ร่วมกันเป็นสังคมชนิด multi-male multi-female group ที่ลิงตัวผู้หนึ่งตัวสามารถผสมพันธุ์กับลิงเพศเมียได้หลายตัว และลิงเพศเมียแต่ละตัวสามารถผสมพันธุ์กับลิงเพศผู้ได้หลายตัว เช่น ลิงหางยาว และลิงวอก เป็นต้น โดยการเปลี่ยนแปลงของ sex skin ในลิงหางยาวจะเป็นการบวมและแดงที่โคนหาง ในขณะที่ลิงวอกจะเป็นการแดง (แต่การบวมจะเห็นไม่ชัดเจน) ของผิวหนังรอบรูทวารหนัก โคนหาง กว้างลงมาจนถึงโคนขา ดังรูปที่ 2 และ3

ภาพที่ 2 ลักษณะการบวมแดงของ sex skin ที่บริเวณโคนหางและขาหนีบของลิงหางยาวเพศเมียในธรรมชาติ

ภาพที่ 3 ลักษณะสีแดงเข้มของ sex skin โดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ (แต่การบวมจะเห็นไม่ชัดเจน) ของผิวหนังรอบรูทวารหนัก โคนหาง กว้างลงมาจนถึงโคนขา ของลิงวอกเพศเมียในธรรมชาติ



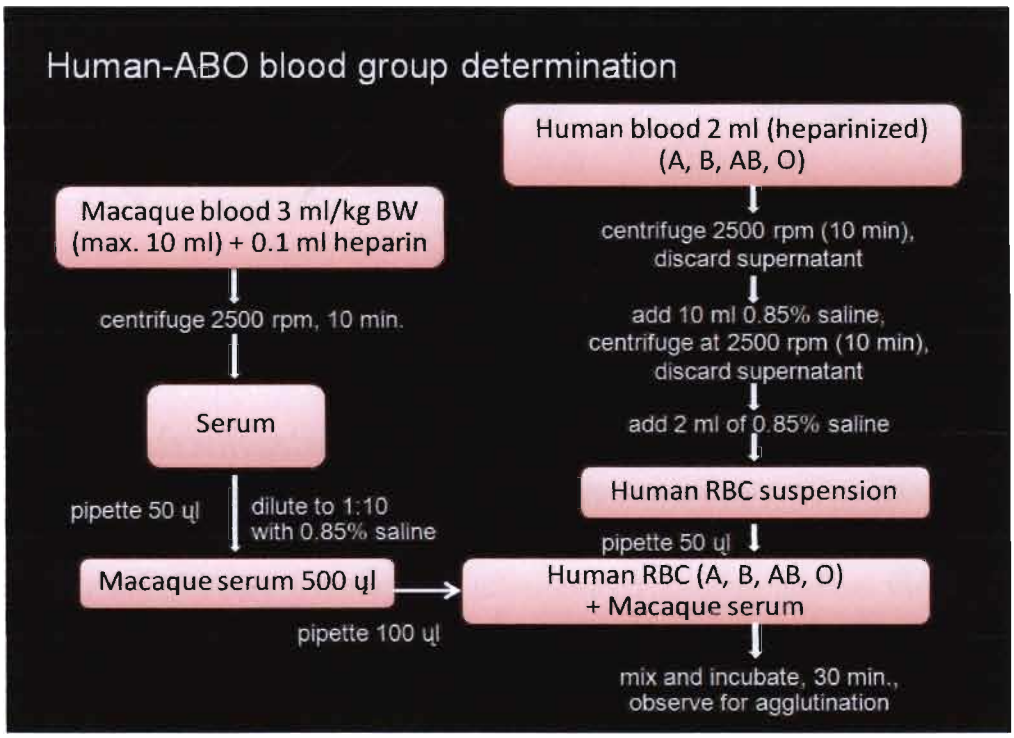
ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกลิงวอก (ภาพด้านซ้ายมือ: A, C และ E) และลิงหางยาว (ภาพด้านขวามือ: B, C และ F) โดยลิงวอกจะมีหางสั้นกว่าลิงหางยาว (A และ B: ลิงวอก 50-58% RTL; ลิงหางยาว 109-120% RTL) ลิงวอกมีขนศีรษะเรียบและกวาดไปทางด้านหลังศีรษะและส่วนใหญ่มีขนแก้มแบบ infrazygomatic (C) แต่ลิงหางยาวมีขนกลางศีรษะสีเข้มและมักมีลักษณะแหลมและชี้ขึ้นคล้ายจุก (D) ในลิงวอกเพศเมีย sex skin จะมีสีแดงเป็นพื้นที่กว้าง (E) แต่ในลิงหางยาวจะมีสีแดงและมีการบวมที่บริเวณโคนหาง (F)

หลังจากการศึกษาลักษณะเบื้องต้นแล้ว ได้มีการจำแนกลักษณะทางสัณฐานอีกครั้ง โดยวัดความยาวหางสัมพัทธ์จากภาพถ่าย และตรวจสอบสีขนที่แก้ม และ ที่ sex skin ในลิงเพศเมียเพิ่มเติม โดยได้ศึกษาลิงโตเต็มวัยเพศเมียจำนวน 75 ตัว และเพศผู้จำนวน 11 ตัว เกณฑ์ในการจำแนกชนิดของความยาวหางสัมพัทธ์ คือ ถ้าความยาวหางสัมพัทธ์ ≤70% จัดเป็นลิงวอก (Hamada et al., 2005, 2006) และถ้าค่า ≥ 103% จัดเป็นลิงหางยาว (Hamada et al., 2008) และถ้าค่าอยู่ระหว่าง 70-103% จัดเป็นลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว

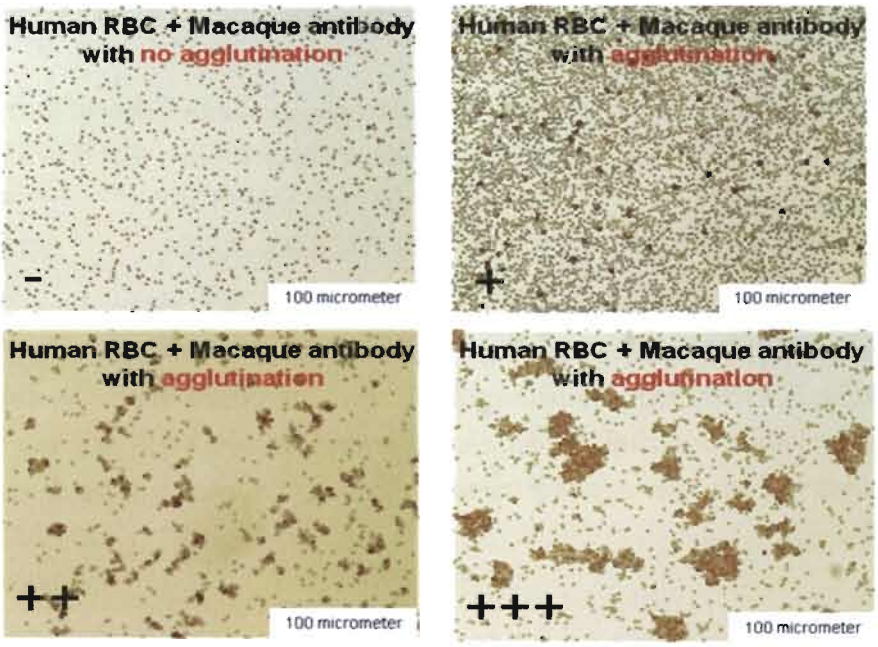
<u>การศึกษาหมู่เลือดระบบ ABO ของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม</u>

หมู่เลือด ABO พบครั้งแรกในคน โดย Lansdsteiner ในปี ค.ศ. 1901 ซึ่งจะมีอยู่ด้วยกันทั้งหมด 4 หมู่ คือ A, B, O และ AB โดยจะมีการปรากฏของ antigen A และ/หรือ B ที่ผิวของเม็ดเลือดแดง และ antibody a และ/หรือ b ในซีรั่ม ต่อมาก็มีการค้นพบหมู่เลือด ABO ในไพรเมททุกชนิด ในปีค.ศ. 1972 Wiener และคณะพบว่าในลิงตระกูลมะแคค (genus *Macaca*) มีลักษณะพิเศษคือ antigen A/B ไม่อยู่บนผิวของเม็ด

เลือดแดงแต่จะอยู่ในน้ำลาย (saliva) โดยยังคงมี antibody a/b ในซีรั่มอยู่ ดังนั้นการตรวจวัด Human-type ABO blood group ในลิงหางยาวและลิงวอกจึงมีวิธีการที่แตกต่างจากการตรวจวัดในคน โดยจะดูการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงคนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ภายหลังจากที่ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกริยากับซีรั่มลิงในหลอดทดลอง โดยวิธี saline agglutination ดำเนินการตามวิธีของ Terao *et al.* (1979) และมีการปรับปรุงภายหลังโดย Sae-low and Malaivijitnond (2003) วิธีการโดยย่อคือนำเลือดของคนหมู่ A, B, AB และ O มาทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี้ในน้ำเลือดของลิง (ดังรูปที่ 5) แล้วสังเกตการจับกลุ่ม (agglutination) ของเม็ดเลือดแดงใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ +, ++ และ +++ (รูปที่ 6 ทำโดยการใช้ตัวอย่างพลาสมาที่เก็บได้จากการวางกรงดักจับและเจาะเลือดลิงเมื่อปี พ.ศ. 2549 จากลิงจากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จำนวน 42 ตัว และรวมตัวอย่างจาก unknown macaque จำนวน 2 ตัวอย่าง)



ภาพที่ 5 การตรวจสอบหมู่เลือดระบบ ABO ของลิงวอก ลิงแสม และลิงลูกผสม โดยการนำเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนมาทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี้ในน้ำเลือดของลิง



ภาพที่ 6 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไม่มีการจับกลุ่ม (-) และมีการจับกลุ่มในปริมาณต่างๆ กัน (+, ++ และ +++)

<u>การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม</u>

ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสมโดยใช้ยีนไมโตรคอนเดรีย (mitochondrial DNA; mtDNA) ทำโดยใช้ตัวอย่าง ดีเอนเอทั้งหมด 66 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างจำนวน 43 ตัวอย่าง ได้จากการสกัดดีเอนเอจาก buffy coat (เม็ดเลือดขาวรวมอยู่กับเกล็ดเลือด) ที่ได้จากการเจาะเก็บเลือดลิงโดยการวางกรงดักจับลิงเมื่อปี 2549 และอีก 21 ตัวอย่างได้จากการสกัดดีเอนเอจากอุจจาระของลิงที่เก็บในปี 2553 นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างจากลิงหางยาวนอกพื้นที่สำรวจ (บริเวณวัดใหม่เนินพยอม อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี; 13° 7´N 100° 53´E) อีกจำนวน 2 ตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างอุจจาระที่ลิงถ่ายออกมา ในภาคสนาม เพื่อนำไปวิเคราะห์ดีเอนเอ โดยใช้ก้านสำลี ที่จุ่มอยู่ใน lysis buffer ไปเกลี่ย ที่บริเวณผิวด้านนอกของอุจจาระลิง เพื่อให้ได้เซลล์ทวารหนัก (rectal cells) ที่ติดมากับอุจจาระ จากนั้นเก็บตัวอย่างเซลล์ที่ได้ในหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตรที่มี lysis buffer บรรจุอยู่ประมาณ 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่าง rectal cells ไปสกัดดีเอนเอต่อไปในห้องปฏิบัติการ

สกัดดีเอนเอจาก buffy-coat ที่มีเม็ดเลือดขาวอยู่ โดยวิธี phenol-chloroform extraction ตามวิธีการของ Sambrook *et al*. (1989) ดีเอ็นเอที่สกัดด้วยวิธีนี้ค่อนข้างบริสุทธิ์และสามารถเก็บตัวอย่างดีเอนเอและจัดทำเป็น DNA bank ไว้เพื่อการศึกษาอื่น ๆ (ที่ 4 องศาเซลเซียส) ได้นานกว่า 20 ปี **โดยจะเก็บไว้ที่หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งขณะนี้ได้เก็บตัวอย่างดีเอนเอของลิงสกุล *Macaca* ชนิดต่าง ๆ รวมประมาณ 1,600 ตัวอย่าง**

สกัดดีเอ็นเอจากอุจาระโดยนำดีเอนเอใน lysis buffer ไปปั่นแยกที่ 15000 rpm 10 นาที แล้วปิเปตส่วนของเหลวด้านบนออกมา จากนั้นเติม 5M NaCl 0.5 ml, ClAA 2 ml และ phenol 2 ml นำไปผสมด้วย

เครื่อง rotator เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อแยกโปรตีนออก นำส่วนใสไปปั่นที่ 2500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเฉพาะส่วนใสด้านบนใส่ใน dialysis bag (membrane) เพื่อทำให้ดีเอนเอ บริสุทธิ์ด้วยวิธี dialysis ทิ้งไว้ข้ามคืน

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนไมโตรคอนเดรีย บริเวณ control region ส่วน Hypervariable Segment II ด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ตาม Kawamoto et al. (2008) ดังนี้

LqqF	TCCTAGGGCAATCAGAAAGAAAG
KWI51R	AGTCACGGGAGATTTCCATG

โดยขั้นตอนในการทำ PCR ประกอบไปด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และที่ 98 องศาเซลเซียส 10 วินาที, annealing ที่ 58 องศาเซลเซียส 30 วินาที, และ extension ที่ 68 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 35 รอบ นำดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Promega Wizard SV Gel and PCR Clean-up System นำดีเอ็นเอที่ได้ไปตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *KpnI* (โดยการเติม reaction ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ *KpnI* buffer และน้ำ) ซึ่งมี restriction site ในตำแหน่งดังนี้

...GGTAC C...

...C CATGG...

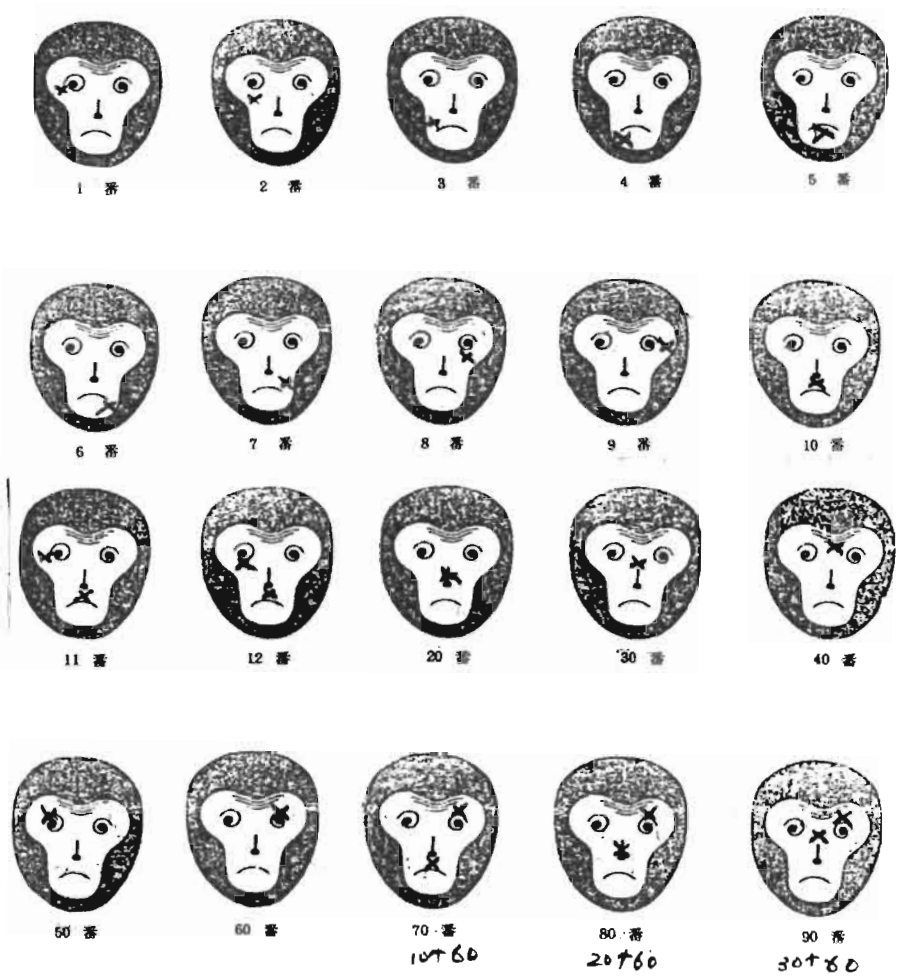
โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแยกชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ตัดได้ด้วย 1% agarose gel electrophoresis ย้อมชิ้นดีเอนเอที่ได้ด้วย ethidium bromide ถ่ายรูปแถบดีเอ็นเอ เพื่อนำไปใช้ในการจัดจำแนกชนิด (haplotype) ในภายหลัง

<u>การวางกรงดักจับลิงกัง (pig-tailed macaques; *Macaca fascicularis*)</u>

จากการสำรวจการแพร่กระจายและจำนวนฝูงลิงและจำนวนประชากรของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงวอก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว พบว่ามีฝูงลิงกังที่อาศัยอยู่ในพื้นที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียวเช่นเดียวกัน อีกทั้งยังพบลิงหางยาวในฝูงลิงกังนี้ด้วย พร้อมทั้งยังสังเกตพบว่าลิงหางยาวโตเต็มวัยเพศผู้ เข้าผสมพันธุ์กับลิงกังโตเต็มวัยเพศเมีย ซึ่งอาจจะเป็นโอกาสที่ทำให้เกิดลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงกังได้เช่นกัน จึงได้ทำการวางกรงดักจับลิงกัง รวมทั้งการทำหมันลิงเพศผู้และเพศเมียโตเต็มวัย ในระหว่างวันที่ 26–29 ธันวาคม 2553

ทำการวางกรงขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 5 x 5 x 2 เมตร หรือเท่ากับ 6 x 6 x 10 เมตร (รูปที่ 7) เพื่อดักจับลิงกัง หลังจากนั้นจะเริ่มจับโดยจะเปิดประตู ล่อลิงให้เข้ามาในกรงจำนวนมากพอ จากนั้นจะปิดประตูกรง ปลดตาข่ายด้านข้างกรงออก ลิงถูกดักอยู่ภายในกรง คลุมลิงแต่ละตัวที่อยู่ในกรงด้วยกระสอบเพื่อป้องกันลิงตกใจและส่งเสียงเรียก (alarm call) ให้ลิงตัวอื่นเข้ามาช่วย ฉีดยาสลบ (5-15 mg/kg BW of ketamine hydrochloride (Biomedic-VTC Company) and 1-2 mg/kg BW of xylacine (ILIUM XYLAZIL-100) เข้าที่กล้ามเนื้อเพื่อสลบลิง เมื่อลิงสลบแล้ว เปิดประตูกรงและนำลิงออกมาจากกรง ติดหมายเลขที่ขาลิงแต่ละตัวเพื่อป้องกันการสับสน จากนั้นนำลิงไปชั่งน้ำหนัก วัดขนาดร่างกาย (somatometry) วัดสีขน (pelage color) ดูฟันเพื่อใช้ในการประมาณอายุ เก็บอุจจาระ ถ่ายรูป ตรวจสุขภาพ และเจาะเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์ จากนั้นใช้สีย้อมผม (สีดำ) แต้มที่ปลายหาง เพื่อใช้เป็นสัญลักษณ์ว่าลิงตัวดังกล่าวเคยถูกจับแล้ว เพื่อป้องกันการจับลิงตัวเดิมซ้ำอีกครั้ง พร้อมทั้งทำการสักที่หน้า (รูปที่ 8) เพื่อใช้ในการติดตามศึกษาพฤติกรรมต่อในอนาคต รอจนกระทั่งลิงฟื้นเต็มที่ จึงปล่อยลิงกลับฝูงเดิมต่อไป

ภาพที่ 7 กรงตาข่ายสำหรับดักจับลิงกัง ลูกศรชี้บริเวณประตูทางเข้า

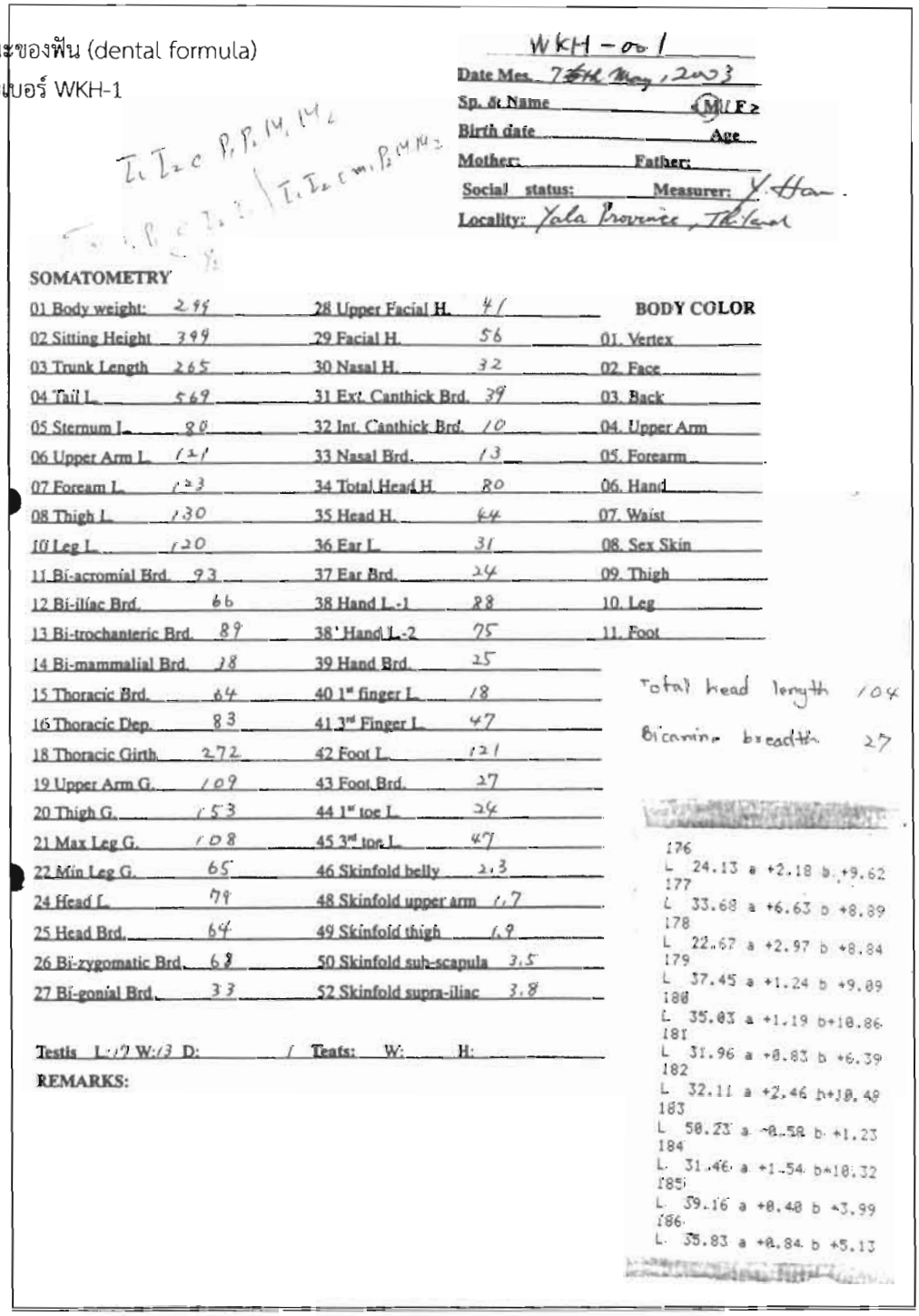


ภาพที่ 8 การทำหมายเลขที่หน้าลิงโดยการสัก (tattooing) โดยอ้างอิงจาก Primate Research Institute of Kyoto University, Japan

<u>การตรวจวัดค่าทางสัณฐาน (somatometry) ของลิงกังที่จับได้</u>

นำลิงกังที่สลบมาวัดส่วนต่าง ๆ ทั้งหมด 54 ลักษณะ โดยดำเนินการตามวิธีของ Martin *et al.* (1957) และมีการปรับปรุงภายหลังโดย Iwamoto (1971) (รูปที่ 9) พร้อมกับดูฟัน (dental formula) เพื่อใช้ในการประมาณอายุของลิง (Iwamoto *et al.*, 1984; Iwamoto *et al.*, 1987) (ตารางที่ 2)

ลักษณะของฟัน (dental formula)
ของลิงเบอร์ WKH-1



WKH-001
Date Mes. 7th May, 2003
Sp. & Name (M) F2
Birth date Age
Mother: Father:
Social status: Measurer: Y. Han
Locality: Yala Province, Thailand

SOMATOMETRY

01 Body weight:	2.95	28 Upper Facial H.	41	BODY COLOR	
02 Sitting Height	399	29 Facial H.	56	01. Vertex	
03 Trunk Length	265	30 Nasal H.	32	02. Face	
04 Tail L.	569	31 Ext. Canthick Brd.	39	03. Back	
05 Sternum L.	80	32 Int. Canthick Brd.	10	04. Upper Arm	
06 Upper Arm L.	121	33 Nasal Brd.	13	05. Forearm	
07 Forearm L.	123	34 Total Head H.	80	06. Hand	
08 Thigh L.	130	35 Head H.	64	07. Waist	
10 Leg L.	120	36 Ear L.	31	08. Sex Skin	
11 Bi-acromial Brd.	93	37 Ear Brd.	24	09. Thigh	
12 Bi-iliac Brd.	66	38 Hand L.-1	88	10. Leg	
13 Bi-trochanteric Brd.	89	38' Hand L.-2	75	11. Foot	
14 Bi-mammalial Brd.	78	39 Hand Brd.	25		
15 Thoracic Brd.	64	40 1st finger L.	18		
16 Thoracic Dep.	83	41 3rd Finger L.	47		
18 Thoracic Girth	272	42 Foot L.	121		
19 Upper Arm G.	109	43 Foot Brd.	27		
20 Thigh G.	153	44 1st toe L.	24		
21 Max Leg G.	108	45 3rd toe L.	47		
22 Min Leg G.	65	46 Skinfold belly	2.3		
24 Head L.	79	48 Skinfold upper arm	1.7		
25 Head Brd.	64	49 Skinfold thigh	1.9		
26 Bi-zygomatic Brd.	68	50 Skinfold sub-scapula	3.5		
27 Bi-gonial Brd.	33	52 Skinfold supra-iliac	3.8		

Testis L:/7 W:/3 D: / Teats: W: H:
REMARKS:

Total head length 104
Bicanine breadth 27

176
L 24.13 a +2.18 b +9.62
177
L 33.68 a +6.63 b +8.89
178
L 22.67 a +2.97 b +8.84
179
L 37.45 a +1.24 b +9.89
180
L 35.83 a +1.19 b+10.86
181
L 31.96 a +0.83 b +6.39
182
L 32.11 a +2.46 b+10.49
183
L 50.23 a -0.58 b +1.23
184
L 31.46 a +1.54 b+10.32
185
L 39.16 a +0.48 b +3.99
186
L 35.83 a +0.84 b +5.13

ภาพที่ 9 แผ่นข้อมูลที่ทำการบันทึกลักษณะทางสัณฐานทั้งหมด 54 ค่า และสีขนบริเวณต่าง ๆ ทั่วร่างกาย 11 แห่ง และการตรวจดูฟันเพื่อประมาณอายุ

ตารางที่ 2 การประมาณอายุจาก dental formula ของลิงวอก (*Macaca mulatta*) และลิงหางยาว (*M fascicularis*) ที่นำไปประยุกต์ใช้กับลิงกัง

Dental Formula		*M. mulatta*	*M.fascicularis*	
		Erupt	Erupt	Full
i i	i i	2 week	2 week	
ii ii	ii ii	1 month	1 month	
cii cii	iic iic	a little bit slower, upper slower than lower		
mcii mcii	iicm iicm	2 month	2.5 month	
mmcii mmcii	iicmm iicmm	5 month	5.5 month	
Mmmcii Mmmcii	iicmmM iicmmM	1.25 year	1.25 year	1.25 year
Mmmcil Mmmcil	licmmM licmmM	2.5 year	2.5 year	2.5 year
MmmcII MmmcII	IIcmmM IIcmmM	2.5 year	2.5 year	2.75 year
MM(mmc)II MM(mmc)II	II(cmm)MM II(cmm)MM	3.25 year	3.25 year	3.25 year
MMPP(c)II MMPP(c)II	II (c)PPMM II (c)PPMM	3.5 year	3.5 year	3.5 year
MMPPCII MMPPCII	IICPPMM IICPPMM	3.25 year	3 year	3.25 year
MMMPPCII MMMPPCII	IICPPMM IICPPMM	5.5 year	5.5 year	5.75 year

<u>การตรวจวัดสีขน (pelage color) ลิงกังที่จับได้</u>

วัดสีขนโดยใช้เครื่อง Color analyzer (Model CR-200, Minolta Co., Ltd) ซึ่งแสดงเป็นค่า 3 ค่า ดังนี้

L* = lightness from 0 (darkest) – 100 (lightest)

a* = red (+60) – green (-60)

b* = yellow (+60) – blue (-60)

โดยการวัดสีขนจะวัดตามบริเวณต่าง ๆ ของร่างกายลิงทั้งหมด 11 ตำแหน่ง คือ vertex, face, back, upper arm, forearm, head, waist, sex skin, thigh, leg และ foot ตามวิธีการของ Hamada *et al.* (2006; 2008)

การเก็บอุจจาระลิงกังที่จับได้

เก็บอุจจาระโดยใช้หลอดทดลองพลาสติกที่มีช้อนตักยึดติดอยู่ในหลอด โดยเก็บอุจจาระจากก้นของลิงโดยตรง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของพยาธิจากภายนอก จากนั้นใส่สารละลาย 10% buffer formalin ให้ท่วมอุจจาระ เขย่าให้เข้ากันและเก็บไว้จนกว่าจะนำไปตรวจหาพยาธิด้วยวิธี Simple Fecal Floatation โดยส่งตัวอย่างอุจจาระไปวิเคราะห์ที่ หน่วยปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเจาะเลือดลิงกังที่จับได้

เก็บเลือดทางเส้นเลือดหน้าขา (femoral venepuncture) โดยเก็บเลือดประมาณ 3 มิลลิลิตร/1 กิโลกรัม น้ำหนักตัว แต่ไม่เกิน 10 มิลลิลิตร/ตัว นำเลือดที่เจาะได้ผสมกับ heparin 0.1 มิลลิลิตรให้เข้ากันทันทีและแช่เลือดที่ได้ในน้ำแข็ง แยกเลือดบางส่วนก่อนที่จะนำไปปั่นใส่หลอดทดลองเพื่อนำไปวัดค่าเม็ดเลือดและค่าทางชีวเคมี โดยส่งตัวอย่างเลือดไปวัดที่ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ปั่นเลือดที่เหลือที่ความเร็ว 2,000 รอบ/นาที นาน 20 นาที แยกเก็บพลาสมา buffy-coat ที่มีเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดอยู่และเม็ดเลือดแดง แช่ไว้ที่ –20 องศาเซลเซียลจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป

ถ่ายรูปลิงกังที่จับได้

ถ่ายรูปลิงในขณะที่สลบอยู่ ตัวละ 4 ท่า คือ 1)ด้านข้าง, 2)ด้านหลัง, 3)หัว (vertex) และ 4)ischial callosity (รูปที่ 10) เพื่อนำมาศึกษาเปรียบเทียบทางสัณฐานวิทยาในภายหลัง โดยทุกครั้งที่ถ่ายรูปจะวางไม้บรรทัดที่มีสเกลและ code กระดาษ ดังรูปที่ 11 ประกบด้วยทุกครั้ง เพื่อป้องกันความสับสน

ภาพที่ 10 รูปถ่ายด้านข้าง, ด้านหลัง, ด้านบนของหัว และ ischial callosity ของลิง

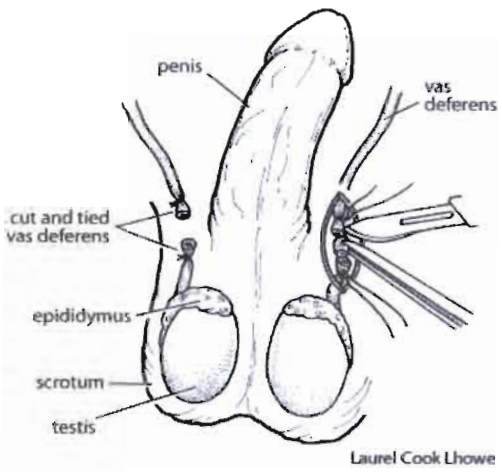
อักษรบรรทัดแรกประกอบด้วย ชื่อสถานที่ (KKZ = Khao Khieow Open Zoo) ลำดับที่ของลิงที่จับ (001 = ตัวที่ 1) เดือนและปีที่ทำการจับ (1210 = เดือนธันวาคม ค.ศ. 2010) อักษรบรรทัดที่สอง หมายถึง ชื่อวิทยาศาสตร์ *M. nemestrina* =ลิงกัง อักษรบรรทัดที่สาม หมายถึง เพศ (M = male)

KKZ 0011210
M. nemestrina
M-F

ภาพที่ 11. code กระดาษที่จะวางประกบการถ่ายรูป

ตรวจสุขภาพลิงกังและการทำหมันลิงเพศผู้และลิงเพศเมียโตเต็มวัย

ในขณะที่ลิงสลบอยู่ ทำการตรวจสุขภาพ ถ้าหากมีรอยแผลจะทำการเย็บและฉีด antibiotic จะทำหมันลิงลิงเพศผู้โดยทำการผ่าตัดและตัดท่อนำอสุจิ (vas deference) (รูปที่ 12) และผูกท่อนำไข่ (tubal ligation) ในลิงเพศเมีย ซึ่งวิธีการทำหมันดังกล่าวนี้จะไม่มีผลกระทบต่อการผลิตฮอร์โมนเพศของลิงทั้งสองเพศ ทำให้ไม่มีผลต่อความสัมพันธ์ทางสังคม (social relationship) ลำดับชั้น (hierarchy) และพฤติกรรมทางเพศของลิง



ภาพที่ 12 การตัดท่อนำอสุจิในผู้ชาย ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายกันกับที่ดำเนินการในลิงกังเพศผู้

การวิเคราะห์หมู่เลือด ABOของลิกังที่จับได้

นำพลาสมาของลิงกังที่จับได้มาวิเคราะห์หมู่เลือด (Human-type ABO blood group) ทั้งนี้เนื่องจากลิงกังไม่มี antigen ที่ผิวเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกับลิงหางยาวและลิงวอก จึงต้องวัด antibody ในน้ำเลือด และวิเคราะห์หาหมู่เลือดตามวิธีของ Terao *et al.* (1979) และมีการปรับปรุงภายหลังโดย Sae-low and Malaivijitnond (2003)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าต่าง ๆ เช่น ค่าฮีมาโตคริตในเลือด, พยาธิในอุจจาระ หมู่เลือด ABO และค่าทางสัณฐานวิทยา ตามความแตกต่างของอายุ และเพศ โดยใช้สถิติ one-way ANOVA (LSD test) และหาความสัมพันธ์ของชุดข้อมูลดังกล่าวโดยใช้สถิติ correlation and regression analysis โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 10.0 และยอมรับค่าความแตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการศึกษา

ประชากรลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมฝูงกรงนก และพื้นที่อาศัย

จากการติดตามประชากรลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมฝูงกรงนก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ในช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม 2553 พบว่าประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 94 ตัว แบ่งตาม Age-sex class ได้ดังตารางที่ 3 ได้แก่ Adult, Sub-adult, Juvenile และ Infant จำนวน 27, 16, 34 และ 17 ตัว ตามลำดับ ค่า Adult sex ratio (adult male: adult female) เท่ากับ 1:2 และในระยะนี้ลิงเพศเมียบางตัวอยู่ในระยะเริ่มตั้งท้อง ลิงในฝูงนี้ประกอบด้วยลิงที่มีลักษณะผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว เช่นเดียวกับฝูงแรกที่ทำการศึกษาในเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 และลิงฝูงนี้มีการใช้พื้นที่คาบเกี่ยวกับลิงฝูงแรกด้วย

ตารางที่ 3. การแบ่งกลุ่มอายุและเพศ

กลุ่มอายุ	เพศผู้	เพศเมีย	รวม
Adult	9	18	27
Sub-adult	4	12	16
Juvenile	-	-	34
Infant	-	-	17
รวม			**94**

สำหรับพื้นที่หากินของลิง จากการสำรวจในเดือนพฤศจิกายน 2553 พบว่าลิงมีเส้นทางหากิน ดังรูปที่ 13 - 21 ตามแนวจากทิศตะวันตกเฉียงเหนือไปยังทิศตะวันออกเฉียงใต้ของพื้นที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียว

ทั้งนี้ข้อมูลพื้นที่ที่ลิงใช้ มีบางจุดที่มีศักยภาพในการกำหนดเป็นจุดที่จะวางกับดักลิงเพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ และเจาะเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์ดีเอนเอ ได้แก่ 1)บริเวณศาลาเล็กๆ ใกล้คอกเลี้ยงผาและแกะบาร์บารี เนื่องจากลิงจะใช้พื้นที่นี้ในการเคลื่อนฝูงในระหว่างการหากินในแต่ละวัน แต่พื้นที่นี้มีบริเวณไม่กว้างนัก 2)บริเวณหลังคอกช้าง ซึ่งมีห้องเก็บอาหารช้าง เช่น กล้วย อ้อย ซึ่งอาจปรับใช้เป็นพื้นที่ในเจาะเลือดได้ เพราะมีบริเวณพื้นที่โดยรอบกว้างและไม่ถูกรบกวนจากนักท่องเที่ยวในการวางกับดักจับลิง และ 3)บริเวณลานเชิงเขาใกล้กรงนกกระตั้ว ที่อาจจะใช้เป็นพื้นที่ดักจับลิงฝูงนี้ได้เช่นกัน

ข้อเสนอแนะในส่วนของประชากรลิงและผลกระทบกับส่วนแสดงสัตว์ต่างๆ ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว เพื่อลดผลกระทบจากการที่ลิงไปขโมยหรือแย่งอาหาร คือ การระดมความคิดเห็นหรือจัดประกวดแนวคิด วิธีการ หรือการออกแบบลักษณะการให้อาหารสัตว์ในสวนสัตว์ ที่ทำให้ลิงไม่สามารถขโมยได้หรือขโมยได้น้อยลง เนื่องจากหากลิงมาขโมยอาหารในส่วนแสดงต่างๆ นอกจากสวนสัตว์ในสวนสัตว์จะถูกรบกวนแล้ว ในระหว่างที่ลิงเคลื่อนย้ายไปที่ส่วนแสดงต่างๆ ก็มักถูกขู่ไล่ ยิงด้วยหนังสติ๊ก ปืน หรือจุดประทัดไล่ เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสวัสดิภาพและพฤติกรรมของลิงที่กำลังศึกษาอยู่อีกด้วย

ภาพที่ 13 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 2 – 4 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 2, สีเหลือง=วันที่ 3, สีแดง=วันที่ 4 พฤศจิกายน 2553)

ภาพที่ 14 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 5, 7, 8 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว= วันที่ 5, สีเหลือง=วันที่ 7, สีแดง=วันที่ 8 และ สัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 15 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 9, 10, 11 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 9, สีเหลือง=วันที่ 10, สีแดง=วันที่ 11 และ สัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 16 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 12, 13, 15 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 12, สีเหลือง=วันที่ 13, สีแดง=วันที่ 15และ สัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

กาพที่ 17 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 16, 17, 18 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 16, สีเหลือง=วันที่ 17, สีแดง=วันที่ 18และ สัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 18 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 19, 20, 22 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 19, สีเหลือง=วันที่ 20, สีแดง=วันที่ 22 และสัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 19 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 23, 24, 25 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 23, สีเหลือง=วันที่ 24, สีแดง=วันที่ 25 และสัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 20 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตั้งแต่วันที่ 26, 27, 29 พฤศจิกายน 2553 (สีเขียว=วันที่ 26, สีเหลือง=วันที่ 27, สีแดง=วันที่ 29 และ สัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้)

ภาพที่ 21 พื้นที่หากินของลิง (ฝูงกรงนก) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว วันที่ 30 พฤศจิกายน 2553 และสัญลักษณ์ ★ =จุดที่คาดว่าจะวางกับดักได้

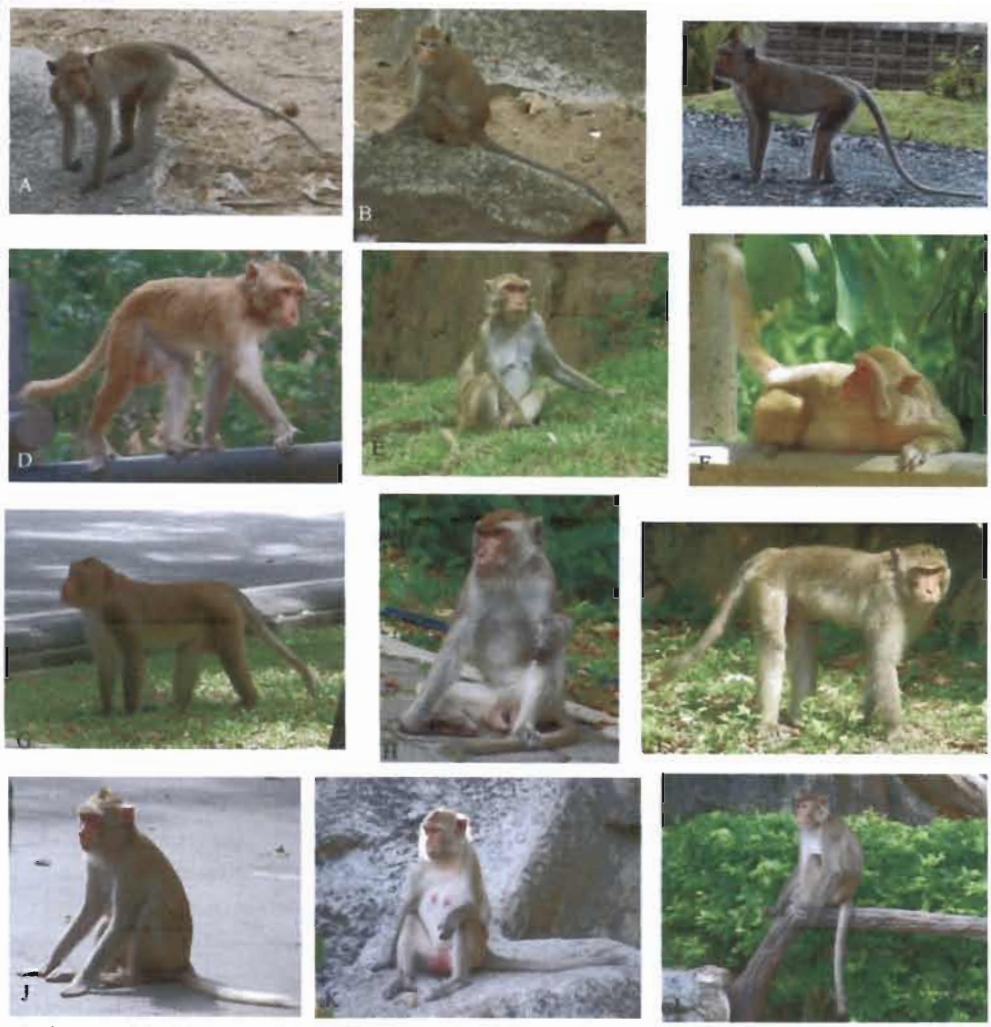
<u>การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม</u>

จากการจำแนกลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ความยาวหางสัมพัทธ์ (Relative tail length, RTL, %) สีขน (pelage color) ขนที่หัว (crown hair) ขนที่แก้ม (cheek hair) และขนาดและลักษณะการบวมและของ sex skin ในลิงเพศเมีย พบว่าลิงโตเต็มวัยเพศผู้ทั้งหมด 9 ตัว มีลักษณะของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม จำนวน 4, 1 และ 4 ตัว ตามลำดับ สำหรับในลิงโตเต็มวัยเพศเมีย จำนวน 91 ตัว มีลักษณะของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม จำนวน 20, 24 และ 37 ตัว ตามลำดับ ทั้งนี้มีลิงเพศเมียที่ยังมีข้อมูลไม่เพียงพอในการจำแนกอีกจำนวน 10 ตัว (ตารางที่ 4, รูปที่ 22)

จากจำนวนลิงโตเต็มวัยที่จำแนกลักษณะทางสัณฐานจำนวน 90 ตัว พบลิงที่มีลักษณะของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม จำนวน 24, 25 และ 41 ตัว หรือ 26.7, 27.8 และ 45.5% ตามลำดับ

ตารางที่ 4 จำนวนและความถี่ของลิงที่มีลักษณะทางสัณฐานเป็นลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมในฝูงที่ศึกษา ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว

เพศ	จำนวนลิงหางยาว (%)	จำนวนลิงวอก (%)	จำนวนลิงลูกผสม (%)	ลิงที่ยังไม่จำแนก (%)	รวม
เพศผู้	4 (44.4%)	1 (11.1%)	4 (44.4%)	–	9
เพศเมีย	20 (24.7%)	24 (29.6%)	37 (45.7%)	10	81
รวม	24 (26.7%)	25 (27.8%)	41 (45.5%)	–	90



ภาพที่ 22 ลิงที่มีลักษณะลิงหางยาว (A–C) ลิงวอก (D–F) และลิงลูกผสม (G–L) จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ในลิงลูกผสมเพศผู้ G, H และ L มีลักษณะคล้ายลิงหางยาวแต่ทั้งสามตัวมีหางสั้นกว่า นอกจากนี้ลิง L ยังมีขนที่แก้มเป็นแบบ infrazygomatic ด้วย สำหรับลิงลูกผสมเพศเมีย J, K และ L ทั้งสามมีขนที่แก้มคล้ายลิงวอกแต่มีความยาวหางอยู่ในช่วงระหว่างความยาวหางของลิงหางยาวและลิงวอก นอกจากนี้ลิง J และ K ยังมีลักษณะขนที่หัวตั้งขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะของลิงหางยาว

จากการศึกษารายละเอียดลักษณะทางสัณฐานเพิ่มเติม โดยศึกษาลิงโตเต็มวัยเพศเมียจำนวน 75 ตัว และเพศผู้จำนวน 11 ตัว (เนื่องจากระหว่างที่ศึกษาในปี 2554 มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนลิงเพศผู้ในฝูง) โดยให้ความยาวหางสัมพัทธ์ที่วัดได้จากรูปถ่าย ประกอบกับลักษณะ สีขน (pelage color) ขนที่หัว (crown hair) ขนที่แก้ม (cheek hair) และขนาดและลักษณะการบวมและของ sex skin ในลิงเพศเมีย พบว่าลิงเพศเมียมีลักษณะทางสัณฐานเป็นลิงหางยาวจำนวน 22 ตัว ลิงวอก 3 ตัว และลิงลูกผสม 50 ตัว (ในจำนวนนี้มีลิงลูกผสมที่หายหรือตายไปจำนวน 3 ตัว) (ตารางที่ 5) ในลิงเพศเมียที่มีลักษณะทางสัณฐานเป็นลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม มีความยาวหางสัมพัทธ์เฉลี่ย 114.2% (104.5–135.2%, n=21), 65.3% (61.7–66.7%, n=3) และ 91.9% (37.8–119.9%) ตามลำดับ

สำหรับลิงเพศผู้พบลิงที่มีลักษณะทางสัณฐานของลิงหางยาวจำนวน 4 ตัว และลิงลูกผสม 7 ตัว (ตารางที่ 6) โดยลิงลูกผสมเพศผู้ 1 ตัวมีลักษณะคล้ายลิงวอก แต่มีความยาวหางมากกว่าลิงวอกไทย ในลิงเพศ

ผู้ที่มีลักษณะทางสัณฐานเป็นลิงหางยาว และลิงลูกผสม มีความยาวหางสัมพัทธ์เฉลี่ย 122.2% (105.1–132.4%, n=4) และ 91.7% (76.2–107.8%) ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ลิงโตเต็มวัยเพศเมียจำนวน 75 ตัวที่จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

No.	%RTL	Morpho					Ratio L:R:H	Morpho L, R, H	Note
		RTL	BP	Crown hair	Cheek hair	Sex skin			
1	135.2	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
2	125.5	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
3	124.8	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
4	120.7	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
5	120.4	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
6		L	L	L	L	L	100:0:0	L	
7	119.4	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
8	119.2	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
9	117.1	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
10	116.6	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
11	115.5	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
12	112.8	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
13	111.6	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
14	108.4	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
15	108.1	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
16	105.4	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
17	104.2	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
18	102.8	L	L	L	L	L	100:0:0	L	
19	106.2	L	L	L	L	L	100:0:0	L?	
20	104.6	L	L?	L	L	L	100:0:0	L?	
21	115.8	L	L	L	L	L?	100:0:0	L?	
22	104.5	L	L	L	L?	L	100:0:0	L?	
23	97.3	H	L	L	L	L	80:0:20	H	
24	99.7	H	L	L	L	L	80:0:20	H	
25	100.2	H	L	L	L	L	80:0:20	H	
26	101.3	H	L	L	L	L	80:0:20	H	
27	100.3	H	L	L	L	L	80:0:20	H	
28	115.8	L	L	L	L	R?	80:20:0	H	
29	103.3	L	L	L	L	R	80:20:0	H	
30	98.6	L	L	L	L	R	80:20:0	H	
31	104.4	L	L	L	R	L	80:20:0	H	
32	100.3	L	L	L	R	L	80:20:0	H	
33	119.9	L	L	H?	L	L	80:20:0	H?	
34	119.7	L	L	R?	L?	L	80:20:0	H?	
35	37.8	R?	L	L	L	L	80:20:0	H	
36	102.6	L	H	L	R	L	60:20:20	H	
37	103.3	L	R?	L	H	L	60:20:20	H	
38	86.4	H	R	L	L	L	60:20:20	H	
39	107.4	L	R	L	L	R	60:40:0	H	
40	101.0	L	R?	L	R	R	40:60:0	H	

หมายเหตุ ? หรือ ช่องว่าง หมายถึง ยังไม่มีข้อมูลหรือรอตรวจสอบข้อมูล

ตารางที่ 5 ลิงโตเต็มวัยเพศเมียจำนวน 75 ตัวที่จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ต่อ)

No.	%RTL	Morpho					Ratio	Morpho	Note
		RTL	BP	Crown hair	Cheek hair	Sex skin	L:R:H	L, R, H	
41	94.6	L	L	R	R	L	60:40:0	H	
42	95.0	L	L	L	R	R	60:40:0	H	Absent
43	86.6	H	R	L	L	R	40:40:20	H	
44	86.9	H	L	H	R	L?	40:20:40	H	
45	84.4	H	H	L	R	L	40:20:40	H	Absent
46	92.1	L	L	H?	H	R	40:20:40	H	
47	92.4	L	L	R	R	R	40:60:0	H	
48	94.4	L	L	R	R	R	40:60:0	H	
49	108.2	L	L	R	R	R	40:60:0	H	
50	96.5	L	R	L	R	R	40:60:0	H	
51	82.9	H	R	L	R	R	20:60:20	H	
52	86.6	H	L	R	R	R	20:60:20	H	
53	86.2	H	L	R	R	R	20:60:20	H	
54	100.0	L	H	R	R	R	20:60:20	H	
55	95.9	L	H?	R	R	R	20:60:20	H	
56	89.7	L	H?	R	R	R	20:60:20	H	
57	81.5	H	L	R	R	R	20:60:20	H	
58	92.2	L	H?	R	R	H	20:40:40	H	
59	76.3	R	R	R	R	L	20:80:0	H	
60	90.8	L	R?	R	R	R	20:80:0	H	
61	83.4	H	H	R	H	H	0:20:80	H	
62	85.4	H	R?	R	R	H	0:60:40	H	
63	89.4	H	H	R	R	R	0:60:40	H	
64	89.1	H	R	R	R	R	0:80:20	H	
65	84.0	H	R?	R	R	R?	0:80:20	H	
66	79.8	H	R	R	R	R	0:80:20	H	
67		H	R?	R	R	R	0:80:20	H	
68	81.4	H	R?	R	R	R	0:80:20	H	
69	74.8	H	R	R	R	R	0:80:20	H	Absent
70	75.5	H	R	R	R	R	80:0:20	H	
71	74.5	H	R	R	R	R	0:80:20	H	
72	73.1	H	R	R	R	R	0:80:20	H	
73	66.7	R	R?	R	R	R	0:100:0	R	
74	67.5	R	R?	R	R	R	0:100:0	R	
75	61.7	R	R	R	R	R	0:100:0	R	

หมายเหตุ ? หรือ ช่องว่าง หมายถึง ยังไม่มีข้อมูลหรือรอตรวจสอบข้อมูล

ตารางที่ 6 ลิงโตเต็มวัยเพศผู้จำนวน 11 ตัวที่จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

No.	%RTL	Morpho				Ratio L:R:H	Morpho L, R, H	Note
		RTL	BP	Crown hair	Cheek hair			
1	127.1	L	L	L	L	100:0:0	L	
2	132.4	L	L	L	L	100:0:0	L	
3	124.4	L	L	L	L	100:0:0	L	
4	105.1	L	L	L	L	100:0:0	L	
8	>100	L	L	R	L	75:25:00	H	
9	>100	L	L	L	R	75:25:00	H	
5	98.5	H	L	L	L	80:0:20	H	
6	90.5	H	R	R	L	25:50:25	H	
7	85.7	H	R	L	R	25:50:25	H	
10	107.8	L	L	L	R	75:25:00	H	
11	76.2	H	R	R	R	75:0:25	H	

<u>การศึกษาหมู่เลือดระบบ ABO ของลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม</u>

การตรวจหมู่เลือดลิงระบบ ABO ในลิงจำนวน 40 ตัว เมื่อแยกลิงจากลักษณะทางสัณฐาน พบว่าในลิงหางยาวจำนวน 18 ตัว มีหมู่เลือด AB>O>A>B จำนวน 7, 5, 4 และ 2 ตัว หรือคิดเป็นความถี่ 38.9, 27.8, 22.2 และ 11.1% ตามลำดับ ในลิงวอกจำนวน 5 ตัว ตรวจพบหมู่เลือด A>AB=O จำนวน 3, 1 และ 1 หรือ 60.0, 20.0 และ 20.0% ตามลำดับ ในขณะที่ในลิงลูกผสมจำนวน 17 ตัว พบจำนวนและความถี่คล้ายกับในลิงหางยาวมากกว่าลิงวอก คือมีหมู่เลือด AB>O>A>B จำนวน 7, 5, 4 และ 1 ตัว หรือคิดเป็นความถี่ 41.2, 29.4, 23.5 และ 5.9% ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างจากลิงที่ไม่ทราบลักษณะทางสัณฐานจำนวน 2 ตัวอย่าง พบว่าเป็นหมู่เลือด AB และ O (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ความถี่และจำนวนของลิงจำแนกตามหมู่เลือดระบบ ABO เฉพาะลิงที่ทราบลักษณะทางสัณฐานจำนวน 40 ตัว

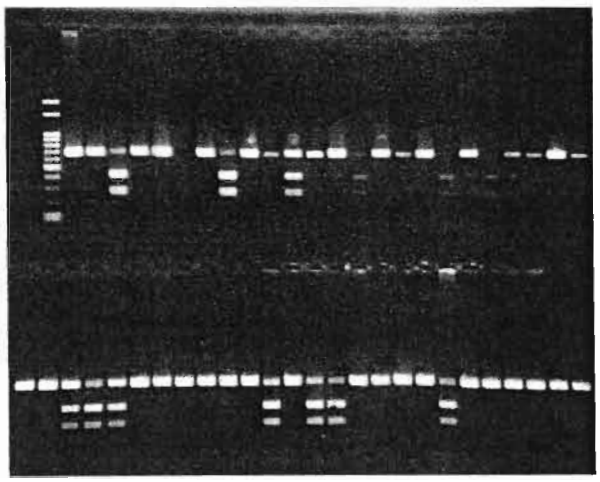
หมู่เลือด	A	B	AB	O
ลิงหางยาว (n=18)	22.2 (4)	11.1 (2)	38.9 (7)	27.8 (5)
ลิงลูกผสม (n=17)	23.5 (4)	5.9 (1)	41.2 (7)	29.4 (5)
ลิงวอก (n=5)	60.0 (3)	–	20.0 (1)	20.0 (1)
รวม (n=40)	27.5 (11)	7.5 (3)	37.5 (15)	27.5(11)

<u>การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสมโดยใช้ยีน mtDNA</u>

จากการวิเคราะห์แถบดีเอนเอของยีน mtDNA ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Kpn*I และแยกด้วย 1% agarose gel electrophoresis ในลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม พบแถบดีเอนเอ 2 แบบ (haplotype) คือแบบที่ไม่มีการตัด ที่ผลปรากฏบนเจลเป็นแถบดีเอนเอเพียงแถบเดียว จัดเป็น "haplotype

A" และแบบที่สายดีเอนเอถูกตัดโดยเอนไซม์ ซึ่งจะเห็นแถบดีเอนเอปรากฏเป็นสองแถบ หรือบางครั้งอาจเห็นเป็น 3 แถบ ถ้าเอนไซม์ทำปฏิกิริยาในการตัดดีเอนเอไม่สมบูรณ์ จัดเป็น "haplotype B" ดังรูปที่ 23

จากตัวอย่างดีเอนเอของลิงในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวที่เก็บในปี 2549 จำนวนทั้งหมด 43 ตัวอย่าง พบทั้ง type A และ type B ในทั้งลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม ทั้งในลิงเพศผู้และเพศเมีย โดยพบ type A 65.1% และ type B 34.9% ของลิงทั้งหมด (ตารางที่ 8 และ 9) ในขณะที่ตัวอย่างดีเอนเอที่เก็บในปี 2553 จำนวน 21 ตัวอย่าง พบ type A 71.4% และ type B 28.6% (ตารางที่ 10 และ 11) จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่างดีเอนเอของลิงหางยาวที่อาศัยอยู่ ณ วัดใหม่เนินพยอม ซึ่งอยู่ห่างจากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ประมาณ 20 กิโลเมตร จำนวน 2 ตัวอย่างพบว่ารูปแบบของแถบดีเอนเอเป็น haplotype A ทั้งสองตัวอย่าง (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 23 แถบดีเอนเอของยีน mtDNA ส่วน control region/hypervariable segment II ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I

แถวบนจากขวามาซ้าย คือ L001, L002, KKF001,...,KKF021, KKZ001 และ 100 bp-marker
แถวล่างจากขวามาซ้าย คือ KKZ002-KKZ027 โดยรหัสตัวอย่างดีเอนเออ้างจากตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *KpnI* ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว จำนวน 43 ตัว ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดในปีพ.ศ. 2549 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์)

ลำดับที่	รหัสตัวอย่าง	เพศ	อายุ (ปี)	ลักษณะทางสัณฐาน	mtDNA haplotype
1	Mfas KKZ 001	F	1.5	L	A
2	Mfas KKZ 002	M	0.2	H	A
3	Mfas KKZ 003	F	6	H	A
4	Mfas KKZ 004	F	6	H	A
5	Mfas KKZ 005	F	3.5	H	A
6	Mfas KKZ 006	M	1.5	L	A
7	Mfas KKZ 007	F	2	L	A
8	Mfas KKZ 008	M	12	L	B
9	Mfas KKZ 009	F	1	H	A
10	Mfas KKZ 010	M	5	H	A
11	Mfas KKZ 011	M	5	L	A
12	Mfas KKZ 012	F	4	L	A
13	Mfas KKZ 013	M	2	H	B
14	Mfas KKZ 014	M	6	R	B
15	Mfas KKZ 015	M	3	L	A
16	Mfas KKZ 016	F	2	L	B
17	Mfas KKZ 017	F	12	H	A
18	Mfas KKZ 018	F	2	L	A
19	Mfas KKZ 019	F	2.5	L	A
20	Mfas KKZ 020	M	7	L	A
21	Mfas KKZ 021	M	12	H	A
22	Mfas KKZ 022	F	3	H	A
23	Mfas KKZ 023	M	2	L	B
24	Mfas KKZ 024	F	3	L	B
25	Mfas KKZ 025	F	3.5	R	B
26	Mfas KKZ 026	F	1	L	A
27	Mfas KKZ 027	F	6	L	A
28	Mfas KKZ 028	F	2	H	B
29	Mfas KKZ 029	F	5.5	L	A
30	Mfas KKZ 030	M	2	H	B
31	Mfas KKZ 031	F	1.5	L	B
32	Mfas KKZ 032	F	12	R	A
33	Mfas KKZ 033	F	1	-	A
34	Mfas KKZ 034	F	7	H	A
35	Mfas KKZ 035	F	3.5	H	A

ตารางที่ 8. ผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว จำนวน 43 ตัว ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดในปีพ.ศ. 2549 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์) (ต่อ)

ลำดับที่	รหัสตัวอย่าง	เพศ	อายุ (ปี)	ลักษณะทางสัณฐาน	mtDNA haplotype
36	Mfas KKZ 036	F	1	L	A
37	Mfas KKZ 037	F	12	R	B
38	Mfas KKZ 038	F	1	H	B
39	Mfas KKZ 039	F	3.5	H	B
40	Mfas KKZ 040	M	1	H	B
41	Mfas KKZ 041	M	12	R	B
42	Mfas KKZ 042	unk	unk	unk	A
43	Mfas KKZ 043	unk	unk	unk	A

ตารางที่ 9 สรุปผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Kpn*I ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้ และเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอในปีพ.ศ. 2549 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์)

เพศ	ชนิดของลิง	haplotype A	haplotype B	รวม
เมีย	ลิงหางยาว	9	3	12
	ลิงลูกผสม	8	3	11
	ลิงวอก	1	2	3
ผู้	ลิงหางยาว	4	2	6
	ลิงลูกผสม	3	3	6
	ลิงวอก	-	2	2
Unknown		3	-	3
รวม		28	15	43
เปอร์เซ็นต์		65.1	34.9	100.0

ตารางที่ 10 ผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *KpnI* ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว จำนวน 23 ตัว ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากอุจจาระในปีพ.ศ. 2553 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์)

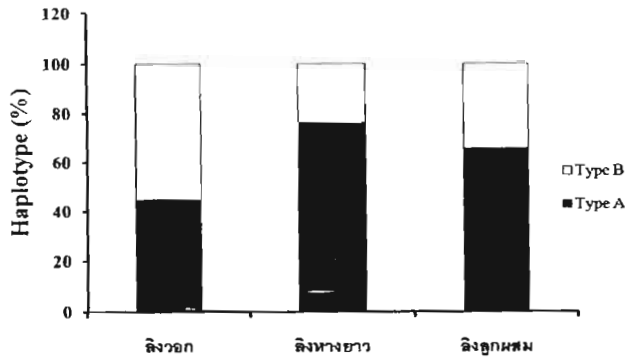
ลำดับที่	รหัสตัวอย่าง	เพศ	อายุ	ลักษณะทางสัณฐาน	mtDNA haplotype
1	L001	F	Adult	L	A
2	L002	F	Juvenile	L	A
3	KKF001	F	Adult	H	A
4	KKF002	F	Adult	H	A
5	KKF003	M	Adult	H	B
6	KKF004	F	Adult	H	A
7	KKF005	F	Adult	H	B
8	KKF007	F	Adult	H	A
9	KKF008	F	Adult	H	A
10	KKF009	M	Adult	H	B
11	KKF014	M	Adult	H	A
12	KKF015	F	Adult	H	B
13	KKF018	F	Adult	H	A
14	KKF021	F	Adult	H	A
15	KKF006	F	Adult	L	A
16	KKF010	F	Adult	L	A
17	KKF013	F	Adult	L	A
18	KKF019	M	Adult	L	A
19	KKF020	F	Adult	L	B
20	KKF011	F	Adult	R	A
21	KKF012	F	Adult	R	B
22	KKF016	F	Adult	R	A
23	KKF017	F	Adult	R	A

ตารางที่ 11. สรุปผลผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *KpnI* ในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมเพศผู้และเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอในปีพ.ศ. 2553 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์)

เพศ	ชนิดของลิง	haplotype A	haplotype B	รวม
เมีย	ลิงหางยาว	3	1	4
	ลิงลูกผสม	7	2	9
	ลิงวอก	3	1	4
ผู้	ลิงหางยาว	1	-	1
	ลิงลูกผสม	1	2	3
รวม		15	6	21
เปอร์เซ็นต์		71.4	28.6	100.0

ตารางที่ 12 สรุปผลผลจากการวิเคราะห์ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *KpnI* ในลิงหางยาว ที่อาศัยอยู่ ณ วัดใหม่เนินพยอม อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี จากการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากอุจจาระในปีพ.ศ. 2553 (haplotype A หมายถึงไม่มีการตัด, haplotype B มีการตัดโดยเอนไซม์)

ลิงหางยาว	haplotype A	haplotype B	รวม
เพศเมีย	2	-	2
รวม	2	-	2



ภาพที่ 24 สรุปความถี่ของ haplotype A และ haplotype B ในลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม "ฝูงกรงนก"

การวางกรงดักจับลิงกัง และผลพยาธิในอุจจาระ และหมู่เลือด ABO

จากการวางกรงตาข่ายขนาด 5 x 5 x 2 เมตร สามารถดักจับลิงกังได้ 35 ตัว ที่สามารถจำแนกเพศและอายุตามลักษณะฟัน (dental formula) ได้ดังตารางที่ 13 โดยพบลิงอายุระหว่าง 1 – 20 ปี ที่สามารถจำแนกตาม age-class ได้เป็น 3 ช่วงอายุ คือ juvenile (อายุ 1-3 ปี), sub-adult (อายุ >3-6 ปี) and adult (อายุ >6 ปี)

เมื่อนำอุจจาระส่งตรวจพยาธิในอุจจาระ พบพยาธิ 3 ชนิด คือ *Strongyle* spp., *Trichuris* spp. และ *Balantidium* spp. โดยในลิงบางตัวสามารถพบพยาธิทั้ง 3 ชนิดในอุจจาระ

จากการวิเคราะห์หมู่เลือด ABO โดยให้ anti-A และ anti-B agglutinin ในพลาสมาของลิงกังเกิดการจับกลุ่มและตกตะกอนกับเม็ดเลือดแดงของคนที่รู้หมู่เลือดแน่นอน คือ A, B, AB และ O โดยสังเกตการตกตะกอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งสามารถแบ่งการตกตะกอนออกได้เป็น 4 ระดับ คือ large (+++), medium (++), low (+) and none (-) ตามรายงานของ Malaivijitnond et al. (2007) พบว่าการตกตะกอนและขนาดของตะกอนที่ได้ไม่สัมพันธ์กับอายุของลิง โดยรวมพบหมู่เลือดแค่ 2 ชนิดในลิงกังฝูงนี้ คือ B และ O โดยมีค่าความถี่เท่ากับ 88.6 และ 11.4% (หรือเท่ากับลิงจำนวน 31 และ 4 ตัว ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างจากรายงานประจำปีก่อนหน้านี้ที่พบหมู่เลือดทั้ง 4 ชนิดในลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงวอกที่อาศัยอยู่ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

จากการเข้ามาสำรวจสถานที่เพื่อหาบริเวณที่เหมาะสมในการวางกรงดักจับลิงกัง ในช่วงก่อนการวางกรงดัก สังเกตพบลิงหางยาวโตเต็มวัยเพศผู้ในลิงกังฝูงนี้ และลิงหางยาวเพศผู้ยังเข้าผสมพันธุ์กับลิงกังโตเต็มวัยเพศเมียอีกด้วย ดังรูปที่ 24 ซึ่งอาจจะเป็นโอกาสที่ทำให้เกิดลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงกังได้ในอนาคตเช่นกัน

ตารางที่ 13. เพศ อายุ และพยาธิในอุจจาระของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว

ลำดับที่	เพศ	อายุ	พยาธิในอุจจาระ	หมู่เลือด ABO
1	F	18	Strongyle egg	B
2	F	3.5	Strongyle egg	B
3	F	13	Strongyle egg	B
4	F	1	Not found	B
5	M	18	Strongyle egg, *Balantidium coli*	B
6	F	13	Strongyle egg	B
7	M	20	*Balantidium coli*	B
8	F	14	*Thichuris* spp.	B
9	F	2	Strongyle egg, *Thichuris* spp	B
10	F	10	Strongyle egg,*Thichuris* spp	B
11	F	2.5	Strongyle egg, *Balantidium coli*	O
12	F	1	*Thichuris* spp.	B
13	F	20	Strongyle egg, *Balantidium coli*	B
14	M	2	Strongyle egg, *Balantidium coli*	O
15	F	2	Strongyle egg,*Thichuris* spp. *Balantidium coli*	B
16	M	2	*Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
17	F	3	Strongyle egg, *Balantidium coli*	O
18	F	11	Strongyle egg	B
19	F	4	Strongyle egg, *Balantidium coli*	B
20	F	15	Thichuris spp., *Balantidium coli*	B
21	F	18	Strongyle egg	B
22	M	2	*Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
23	F	2	*Thichuris* spp.	B
24	F	3	Strongyle egg	B
25	F	6	Strongyle egg	B
26	F	7	Strongyle egg, *Balantidium coli*	B
27	F	6	Strongyle egg, *Thichuris* spp.	B
28	F	14	Strongyle egg, *Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
29	F	4	Strongyle egg,*Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
30	F	2	Strongyle egg, *Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
31	M	2	*Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B
32	F	2	Strongyle egg, *Balantidium coli*	B
33	F	1.5	Strongyle egg, *Balantidium coli*	O
34	M	1.5	Not found	B
35	M	2	Strongyle egg, *Thichuris* spp., *Balantidium coli*	B

ภาพที่ 25 ลิงหางยาวโตเต็มวัยเพศผู้ที่พบในฝูงลิงกัง(ก) และการเข้าผสมพันธุ์ระหว่างลิงหางยาวเพศผู้และลิงโตเต็มวัยเพศเมีย (ข)

ค่าเลือดและค่าทางชีวเคมีในเลือดของลิงกัง

จากการวิเคราะห์ค่าเลือดและค่าทางชีวเคมีในเลือดของลิงกังที่จับได้จำนวน 35 ตัว นำค่าที่ได้มาแยกตาม age-class ในแต่ละเพศ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 14 และ 15

ตารางที่ 14 ค่าเลือดของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว

Hematology	Females			Males	
	Juvenile	Sub-adult	Adult	Sub-adult	Adult
Animal number	11	5	11	6	2
WBC (10^3/µl)	10.49±2.89	10.37±1.20	12.63±8.39	13.59±4.61	7.70,9.11
RBC (10^3/µl)	4.69±0.37	4.49±0.33	4.62±0.41	4.72±0.17	5.00,4.70
Glycated hemoglobin (g/dl)	9.76±0.76	9.76±0.71	9.50±0.84	9.93±0.41	10.6,10.9
Hematocrit (%)	29.69±2.31	29.04±2.12	29.36±2.48	30.20±1.17	33.1,32.3
Mean corpuscular volume (MCV, fl)	63.34±2.14	64.72±2.06	63.59±2.24	63.98±2.57	66.2,68.8
Mean corpuscular hemoglobin (MCH, pg)	20.84±0.88	21.78±1.04	20.56±0.77	21.08±1.14	21.2,23.3
Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC, g/dl)	32.89±0.54	33.64±0.62	32.34±0.75	32.90±0.67	32.1,33.8
Platelet count (10^3/ µl)	153.39±87.82	128.79±67.42	155.23±50.52	153.88±95.61	152,62
Red blood cell distribution width (RDW, %)	15.65±1.33	14.68±0.97	14.92±0.91	15.43±1.02	15.9,14.7
Platelet distribution width (PDW, fl)	18.71±2.67	18.20±1.77	18.43±1.87	17.58±0.79	19.3,17.8
Mean platelet volume (MPV, fl)	8.17±0.83	8.16±1.30	7.71±1.23	7.84±0.77	6.9,7.1
PCT (%)	0.13±0.08	0.12±0.05	0.12±0.04	0.13±0.07	0.10,0.04
Lymphocytes (%)	28.30±7.67	34.52±17.27	29.99±12.89	30.77±19.53	30.5,25.6
Monocytes (%)	4.13±1.87	3.88±1.74	2.81±1.27	3.02±1.28	3.3,3.0
Neutrophils (%)	63.68±6.72	58.06±16.45	61.04±15.12	63.05±18.06	52.9,63.1
Eosinophils (%)	2.89±1.85	2.58±1.53	5.30±2.63	2.38±1.20	12.0,7.1
Basophils (%)	0.98±0.55	0.92±0.40	0.87±0.49	0.83±0.08	1.4,1.1

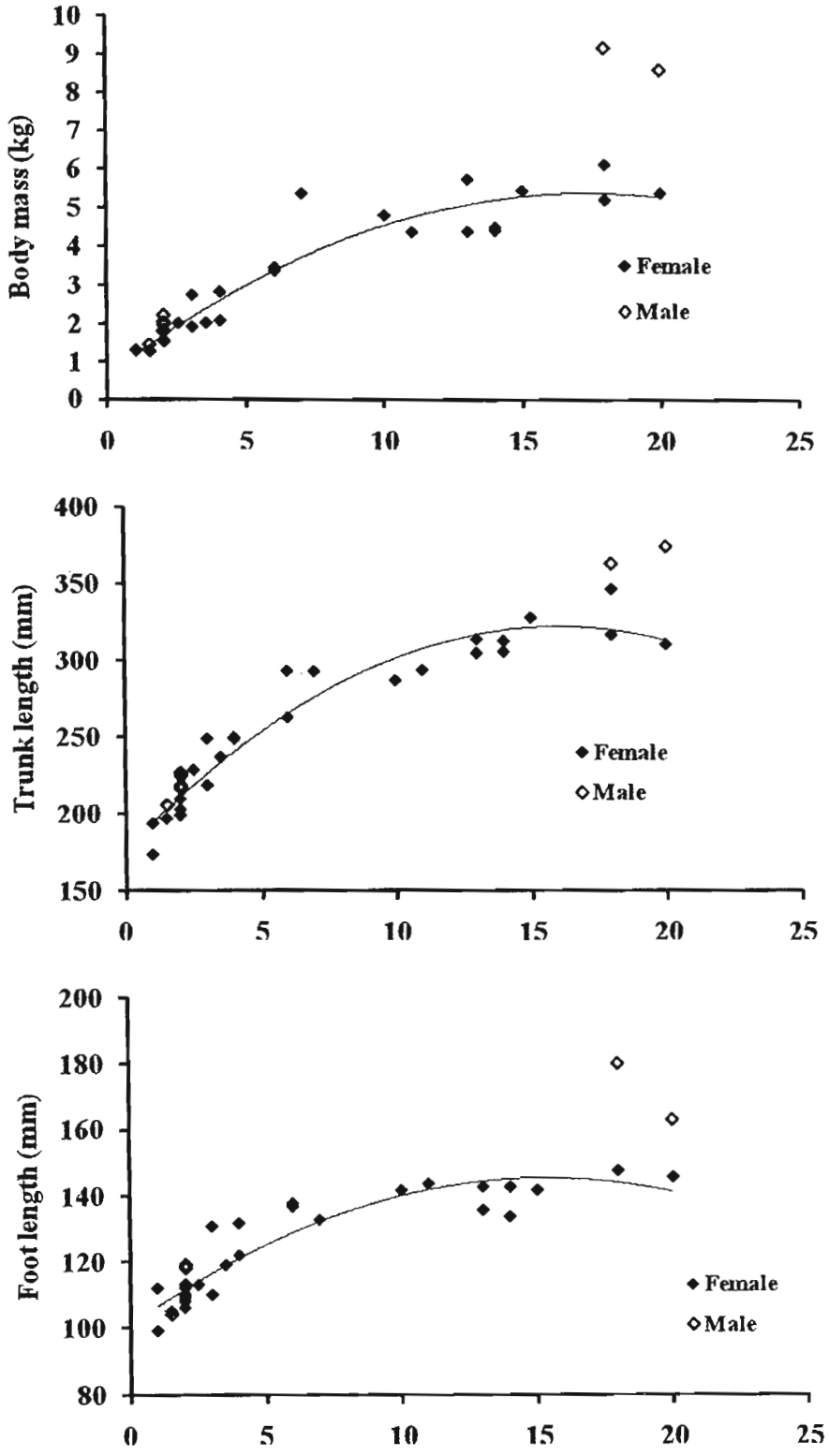
ตารางที่ 15 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว

Hematology	Females			Males	
	Juvenile	Sub-adult	Adult	Juvenile	Adult
Animal number	11	5	11	6	2
Blood urea nitrogen (BUN) (mg/dl)	13.16±8.61	15.28±9.42	10.27±7.22	18.57±10.73	10.3,8.3
Creatinine (mg/dl)	0.54±0.28	0.62±0.08	0.70±0.26	0.72±0.16	1.06,1.35
Cholesterol (mg/dl)	55.64±37.72	59.80±31.89	49.73±33.37	64.17±30.73	67,74
Triglyceride (mg/dl)	60.00±49.79	41.60±34.88	36.55±23.73	72.17±47.91	57,95
Albumin (g/dl)	2.53±1.84	2.80±1.63	2.53±1.21	3.18±1.57	3.4,3.6
Aspartate transaminase (SGOT, U/L)	44.64±33.26	48.72±24.09	38.99±24.98	65.53±30.34	72,68.7
Alanine transminase (SGPT, U/L)	10.94±8.79	12.08±9.32	11.30±7.33	6.93±2.86	17.9,29.1
Alkaline phosphatase (ALP, U/L)	297.73±240.62	308.00±196.37	85.45±58.24	411.50±211.24	99,274

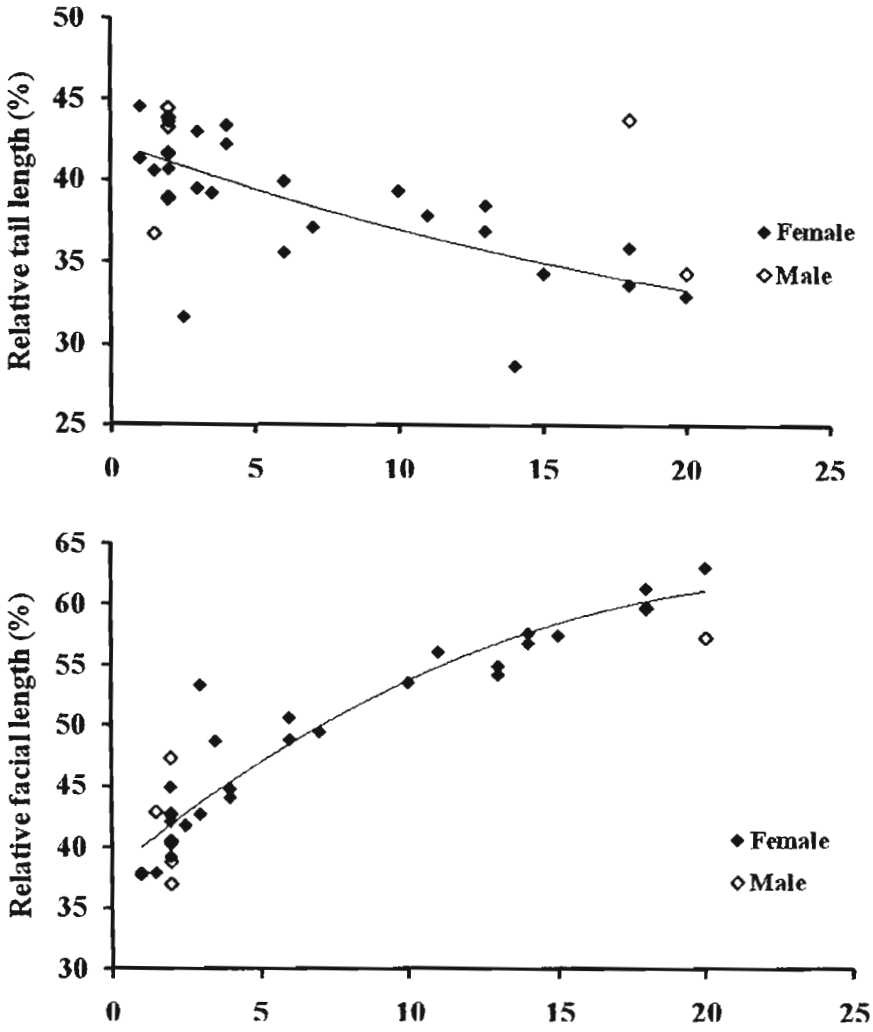
ค่าลักษณะทางสัณฐานของลิงกัง

จากรูปที่ 25 และ 26 พบว่าลิงกังทั้งสองเพศมีน้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ และค่าน้ำหนักตัวในลิงเพศเมีย จะมีค่าที่คงที่เมื่ออายุประมาณ 10 ปี เป็นต้นไป (เนื่องจากจับลิงกังโตเต็มวัยเพศผู้ได้เพียง 2 ตัว จึงไม่สามารถนำค่ามาประมาณการได้) ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของลิงกังโตเต็มวัยเพศเมียที่จับได้เท่ากับ 5.06 ± 0.61 กิโลกรัม และในลิงกังโตเต็มวัยเพศผู้เท่ากับ 8.64 และ 9.21 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังพบว่ารูปแบบการเพิ่มสูงขึ้นของความยาวตัว ความยาวฝ่าเท้า และความยาวหน้าสัมพัทธ์ (ความยาวหน้า/ความยาวหัว x 100) ของลิงกังมีลักษณะเช่นเดียวกันกับน้ำหนักตัว นั่นคือ ความยาวตัว ความยาวฝ่าเท้า และความยาวหน้าสัมพัทธ์ เพิ่มสูงขึ้นตามอายุ และเริ่มมีค่าที่คงที่เมื่ออายุประมาณ 10 ปี เป็นต้นไป ในขณะที่ความยาวหางสัมพัทธ์ (ความยาวหาง/ความยาวลำตัว x 100) แปรผกผันกับอายุของลิง นั่นคือ เมื่อลิงอายุมากขึ้นความยาวหางสัมพัทธ์จะลดลง (รูปที่ 26)

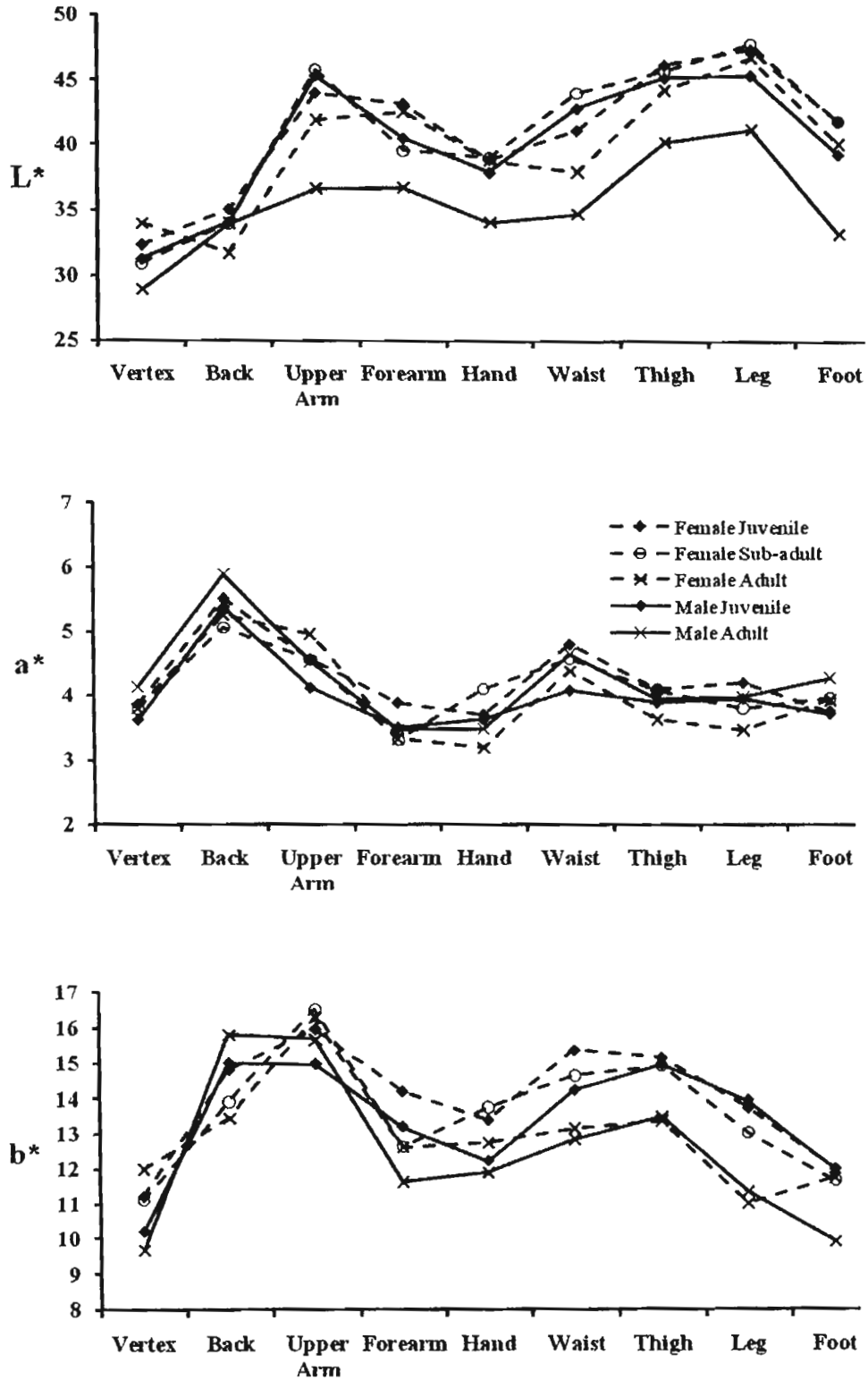
เมื่อพิจารณาสีขนโดยใช้เครื่อง Color analyzer (Model CR-200, Minolta Co., Ltd) ซึ่งแสดงเป็นค่า 3 ค่า คือ L* a* และ b* พบว่ามีการแยกสีขนช่วงบนและช่วงล่างของลำตัวลิงกังทั้ง 2 เพศ ในช่วงอายุต่าง ๆ (รูปที่ 27) นั่นคือ บริเวณส่วนบนของลำตัว (ตั้งแต่หัว – เอว) มีสีขนค่อนข้างดำ-แดง-เหลือง โดยขนมีสีดำมากที่สุดพบที่บริเวณโคนแขน แดงมากที่สุดที่บริเวณหัว และเหลืองมากที่สุดที่บริเวณหัวและโคนแขน บริเวณส่วนล่างของลำตัว (ตั้งแต่เอว – ฝ่าเท้า) มีสีขนค่อนข้างดำ-เหลือง โดยขนมีสีดำและเหลืองมากที่สุดพบที่บริเวณขา ในขณะที่สีแดงของขนจะไม่เด่นชัดในช่วงล่างของลำตัว นอกจากนี้ยังพบว่าลิงเพศผู้โตเต็มวัยมีสีขนดำมากกว่าลิงเพศเมีย และลิงช่วงอายุอื่นๆ ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ของสีขนจะช่วยให้สามารถนำไปแยกลิงลูกผสมที่อาจเกิดขึ้นมาได้



ภาพที่ 26 ค่าน้ำหนักตัว ความยาวตัว และความยาวฝ่าเท้าของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว



ภาพที่ 27 ค่าความยาวหางสัมพัทธ์ และความยาวหน้าสัมพัทธ์ของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว



ภาพที่ 28 ค่าสีขนของลิงกังที่จับได้จากการวางกรงดัก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ในแง่ของความสว่าง-มืด (L*) ความแดง-เขียว (a*) และความเหลือง-น้ำเงิน (b*)

สรุปและวิจารณ์ผล

ในสภาพธรรมชาติ ลิงวอกและลิงหางยาวจะมีการแพร่กระจายที่แตกต่างกัน โดยลิงวอกอาศัยอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิต่ำ (subtropical zone) ในขณะที่ลิงหางยาวอาศัยอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิสูงกว่า (tropical zone) จึงทำให้ไม่พบลิงทั้งสองชนิดนี้มาอาศัยอยู่รวมกัน ในสภาพธรรมชาติ แต่ถ้าเมื่อใดก็ตามที่ลิงทั้งสองชนิดนี้เข้ามาอาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกัน ดังที่พบในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ.ชลบุรี จะ**สามารถข้ามผสมพันธุ์**กันได้เป็นอย่างดี โดยลิงวอก และลิงหางยาวมีลักษณะทางสัณฐานของร่างกาย และอวัยวะสืบพันธุ์คล้ายคลึงกัน (Fooden, 1980) จึงทำให้ลิงทั้งสองชนิดนี้ สามารถผสมข้ามพันธุ์กันได้โดยง่าย และจากการเฝ้าติดตามศึกษาลิงฝูงนี้มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 2005 พบว่าลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ.ชลบุรี มีจำนวนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้จะทำให้เกิดภาวะปนเปื้อนทางพันธุกรรม (genetic pollution) เกิดขึ้น และจะทำให้เกิดการสูญเสียสัตว์พันธุ์แท้ไป ซึ่งจะมีผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของลิงมะแคคในประเทศไทยในอนาคต

ลิงวอกสามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก ๆ ได้แก่ 1)กลุ่มทางตะวันออก (อาศัยอยู่ในอินเดียและบริเวณใกล้เคียง) 2)กลุ่มทางตะวันตก (อาศัยอยู่ในจีนและบริเวณใกล้เคียง) และ 3)กลุ่มทางใต้ (อาศัยอยู่ในเขตอินโดจีน รวมทั้งประเทศไทย) ทั้งนี้บริเวณที่เป็นรอยต่อของพื้นที่อาศัยระหว่างลิงวอกและลิงหางยาวอยู่ในช่วงละติจูดประมาณ 15 – 20 องศาเหนือ ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานการเกิดการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างลิงสองชนิดนี้ (Hybridization hypothesis) ในบริเวณดังกล่าว (Hamada et al., 2008) ดังมีรายงานการศึกษาลิงวอกในไทย พบว่ามีลักษณะหลายอย่างที่แตกต่างไปจากลิงวอกจีน (กลุ่มทางตะวันตก) และลิงวอกอินเดีย (กลุ่มทางตะวันออก) แต่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างลิงวอกจีน/อินเดีย และลิงหางยาวไทย ดังเช่น Hamada et al. (2006) พบว่าลิงวอกไทยมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าลิงวอกในอินเดีย และจีนประมาณ 20% แต่มีหางยาวกว่าประมาณ 10 – 17.5% นอกจากนี้ลักษณะความต่างของสีขนที่เรียกว่า bipartite pattern ในลิงวอกไทยก็ไม่เด่นชัดเท่ากับของลิงวอกจีนและอินเดีย (Hamada et al., 2005; 2008) ซึ่งเป็นไปได้ว่าลิงวอกในไทย มีการผสมข้ามพันธุ์กับลิงหางยาวที่อยู่ตอนบนของประเทศ จากการศึกษาทางพันธุกรรมโดยใช้ยีน mtDNA โดย Malaivijitnond et al. (2007a) พบว่าลิงวอกไทยมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้กับลิงหางยาวในไทย มากกว่าลิงวอกในอินเดียและจีน และ Malaivijitnond et al. (2008) ยังศึกษาพบว่าลิงวอกไทยมีหมู่เลือด ABO ทั้ง 4 หมู่ คือ A, B, AB และ O เช่นเดียวกับลิงหางยาว แต่แตกต่างจากลิงวอกอินเดียและจีน ที่มีหมู่เลือด B เพียงหมู่เดียวเท่านั้น (Moor-Jankowski and Socha, 1978; Socha *et al*., 1995)

ลิงวอกที่พบในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว มีหมู่เลือดแตกต่างไปจากที่พบในลิงวอกจีน และลิงวอกอินเดีย แต่มีแนวโน้มคล้ายคลึงกับลิงวอกไทย ที่มีหมู่เลือด ABO ทั้ง 4 หมู่ (Malaivijitnond *et al*., 2007) ส่วนลิงหางยาวสวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีหมู่เลือด ABO ทั้ง 4 หมู่ เช่นเดียวกับลิงหางยาวจากประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ (Terao *et al*., 1981) และลิงหางยาวจากบริเวณอื่น ๆ ทั่วประเทศไทย (Malaivijitnond *et al*., 2007) และความถี่ของเลือดแต่ละหมู่มีความคล้ายคลึงกับที่พบในลิงหางยาวไทย คือมีหมู่เลือด AB มากที่สุด ดังนั้นจากผลความถี่ของหมู่เลือด ABO ของลิงวอกและลิงหางยาวที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ จึงไม่สามารถนำมาใช้ ในการจัดจำแนกลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาวได้

ในการจำแนกลิงวอก และลิงหางยาวโดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม ได้มีนักวิจัยหลายกลุ่มพยายามที่จะหา gene marker ที่เหมาะสม เช่น mtDNA (Smith et al., 2007; Blancher et al., 2008) single nucleotide polymorphism (SNP) (Street et al., 2007) และ microsatellite DNA of autosomal and sex chromosomes (Bonhomme et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตามจวบจนปัจจุบันนี้ยังไม่พบว่ามี gene

marker ตัวใดที่มีประสิทธิภาพสูงมากพอที่จะใช้ในการจัดจำแนกลิงทั้งสองชนิดนี้ได้ และจากการทดลองในครั้งนี้ ได้ทดลองหาวิธีการโดยง่ายในการจำแนกลิงวอกและลิงหางยาวออกจากกัน โดยอาศัยหลักการเดียวกับที่ทำในการจำแนกประชากรลิงวอกกลุ่มต่างๆ ในประเทศบังคลาเทศ (Feeroz et al,. 2008) นั่นคือ การเพิ่มจำนวนดีเอนเอของยีน mtDNA ส่วน control region/hypervariable segment II และตัดด้วยเอนไซม์ *KpnI* และแยกด้วย 1% agarose gel electrophoresis แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ ก็ไม่สามารถใช้ในการจำแนกลิงวอก และลิงหางยาวออกจากกันได้ เนื่องจากพบ haplotype ทั้ง 2 ชนิด ในลิงทั้ง 3 กลุ่ม (ลิงวอก, ลิงหางยาว และลิงลูกผสม) โดยลิงหางยาวและลิงลูกผสมมีแนวโน้มที่จะพบ haplotype A มากกว่า happlotype B แต่ผลที่ได้ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจาก ตัวอย่างดีเอนเอของลิงวอกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีเพียง 9 ตัวอย่าง เท่านั้น

จากผลการทดลองที่ได้ ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางพันธุกรรมของลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ.ชลบุรี พบว่าลักษณะทางสัณฐานที่สำคัญที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกลิงทั้งสองชนิดนี้ออกจากกัน และใช้ในการจำแนกลิงลูกผสม คือ ความยาวหาง และลักษณะความต่างของสีขนที่เรียกว่า bipartite pattern ในลิงทั้งสองเพศ และการเปลี่ยนแปลงของ sex skin ในลิงเพศเมีย แต่ยังไม่สามารถหา gene marker ที่เหมาะสมในการจำแนกลิงทั้งสองชนิดนี้ออกจากกันได้ และจากข้อมูลที่ว่าในการสืบพันธุ์ในสภาพธรรมชาติ ลิงวอกจะมีฤดูกาลผสมพันธุ์ที่ชัดเจน (Fooden, 2000) โดยจะเข้าผสมพันธุ์กันในช่วงเดือนพฤศจิกายน – มีนาคม (Malaivijitnond et al., 2007a) ในขณะที่ลิงหางยาวจะไม่มีฤดูกาลในการสืบพันธุ์ สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งปี (Fooden, 1995) ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ sex skin ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาต่อไปเกี่ยวกับพฤติกรรมการผสมพันธุ์ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ระหว่างลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม

เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ ยังไม่ทราบว่าลิงวอก ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีถิ่นกำเนิด หรือมาจากที่ใด จึงควรที่จะทำการศึกษาต่อไปในอนาคต และอีกหนึ่งประเด็น ที่น่าสนใจที่จะศึกษาต่อไปเช่นกันก็คือ ลักษณะทางสัณฐานของลิงลูกผสมในรุ่นต่อ ๆ มา เมื่อเวลาผ่านไป ว่าจะมีลักษณะโน้มเอียงไปในทิศทางใด จะมีลักษณะใกล้เคียงกับลิงวอกหรือลิงหางยาว

สรุป

1. จากการศึกษาประชากรลิงและลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำให้พบว่าลิงลูกผสมระหว่างลิงหางยาวและลิงวอกที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีอยู่ในสัดส่วนที่มากกว่า 60% (ในลิงโตเต็มวัย) และมีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างลิงสองชนิดเป็นระยะเวลานาน
2. ความถี่ของหมู่เลือดระบบ ABO ของลิงลูกผสมมีลักษณะคล้ายกับลิงหางยาวที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียว แสดงถึงแนวโน้มที่ลักษณะ polymorphic คือมีหมู่เลือดทั้ง A, B, AB และ O แต่เนื่องจากมีตัวอย่างเลือดจากลิงวอกที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียวเพียง 5 ตัวอย่าง แต่ก็พบว่ามีแนวโน้มเป็น polymorphic เช่นเดียวกัน และแตกต่างจากลิงวอกจีนและอินเดีย
3. ผลการวิเคราะห์การตัดจำเพาะของเอนไซม์ *KpnI* บนยีน mtDNA พบลักษณะการแสดงออกเป็น 2 haplotype คือ type A และ B โดยพบว่าลิงหางยาว ลิงวอก และลิงลูกผสม ที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียว มีลักษณะทั้ง type A และ type B ปนกันทั้ง 2 แบบ

สรุปปัญหาและข้อเสนอแนะ และการนำไปประยุกต์ใช้

เนื่องจากลิงที่พบในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวประกอบด้วยลิงลูกผสมของลิงวอกและลิงหางยาวเป็นจำนวนมาก และแสดงออกถึงความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐาน และด้วยลักษณะเช่นนี้ลิงที่หากินอิสระในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวนี้จึงมีการปนเปื้อนทางพันธุกรรมของลิงสองชนิด ดังนั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ลักษณะดังกล่าวกระจายยังบริเวณที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติอื่นๆ จึงไม่ควรมีการโยกย้าย (translocate) ลิงเหล่านี้ออกไปยังพื้นที่อื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

Aggimarangsee N. 1992. Survey for semi-tame colonies of macaques in Thailand. Nat His Bull Siam Soc. 40: 103-166.

Bernstein IS, Gordon TP. 1980. Mixed taxa introductions, hybrids and macaque systematics. In The Macaques: Studies in Ecology, Behavior and Evolution (ed D.G. Lindburg). pp 125-147. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Fooden J. 1971. Report on primates collected in western Thailand January-April, 1967. Fieldiana Zool. 59: 1-62.

Fooden J. 1980. Classification and distribution of living macaques (*Macaca* Lacepede, 1799) In The Macaques: Studies in Ecology, Behavior and Evolution (ed D.G. Lindburg). pp 125-147. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Fooden J. 1995. Systematic review of southeast Asian longtail macaques, *Macaca fascicularis* (Raffles, (1821)). Fieldiana Zool. New series, No.81, pp.205.

Fooden J. 2000. Systematic review of rhesus macaque, *Macaca mulatta* (Zimmermann, 1780). Fieldiana Zool. New Series, No. 96, pp. 180.

Fooden J. 2006. Comparative review of *Fascicularis*-Group species of macaques (Primates: *Macaca*). Fieldiana Zool., 107: 1-43.

Groves C. 2001. *Primate Taxonomy*. Smithsonian Institute Press: Washington and New York. 350 p.

Hamada Y, Suryobroto B, Goto S, Malaivijitnond S. 2008. Morphological and body color variation in Thai *Macaca fascicularis fascicularis* north and south of the Isthmus of Kra. Int J Primatol. 29: 1271-1294.

Hamada Y, Urasopon N, Hadi I, Malaivijitnond S. 2006. Body size and proportions and pelage color of free-ranging *Macaca mulatta* from a zone of hybridization in northern Thailand. Int J Primatol. 27: 497-513.

Hamada, Y., Watanabe, T., Chatani, K., Hayasawa,S. and Iwamoto, M. 2005. Morphometrical comparison between Indian- and Chinese-derived rhesus macaques (*Macaca mulatta*). Anthropol Sci. 113: 183-188.

Kawamoto Y, Kawamoto S, Matsubayashi K, Nozawa K, Watanabe T, Stanley MA, Perwitasari-Farajallah D. 2008. Genetic diversity of longtail macaques (*Macaca fascicularis*) on the island of Mauritius: an assessment of nuclear and mitochondrial DNA polymorphisms. J Med Primatol. 37:45-54.

Lekagul B, McNeely JA. 1988. Mammals of Thailand. (2^{nd} ed.). Bangkok: Darnsutha Press.

Malaivijitnond S, Hamada Y. 2005. A new record of stump-tailed macaques in Thailand and the sympatry with long-tailed macaques. Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 5: 93-96.

Malaivijitnond S, Hamada Y. 2008. Current situation and status of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Thailand. Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 8: 185-204.

Malaivijitnond S, Sae-low W, Hamada Y. 2008. The Human-ABO blood groups of free-ranging long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) and parapatric rhesus macaques (*M. mulatta*) in Thailand. J Med Primatol. 37:31-37.

Malaivijitnond S, Takenaka O, Kawamoto Y, Urasopon N, Hadi I, Hamada Y. 2007a. Anthropogenic macaque hybridization and genetic pollution of a threatened population Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 7(1):11-23.

Malaivijitnond S., Hamada Y., Suryobroto B. and Takenaka O. 2007b. Female long-tailed macaques with scrotum-like structure. Am. J. Primatol. 69: 1–15.

Malaivijitnond S, Urasopon N, Goto S, Hamada Y. 2009. Diversity study of primates in Thailand The 2nd International Symposium on Southeast Asian Primate Research" Biodiversity Study of Primates in Laos" Office of the President, Room no. 213, National University of Laos, Vientaine, 22-23 January 2009, pp.10.

Malaivijitnond S. and Varavudhi P. 2002. The last possible troop of semi-wild rhesus macaque (*Macaca mulatta*) in Thailand. Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 2: 59-61.

Moor-Jankowski J; Socha WW. 1978. Blood group of macaques: a comparative study. J Med Primatol. 7:136–45.

Sae-Low W, Malaivijitnond S. 2003. The determination of human-ABO blood groups in captive cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 3: 55-60.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Socha WW, Blancher A, Moor-Janowski J. 1995. Red cell .polymorphism in nonhuman primates: a review. J Med Primatol. 24:282–305.

Terao K, Fujimoto K, Cho F, Honjo S: 1979. Mixed cell agglutination reaction of ABO substances in the saliva and determination of human-type ABO blood groups in the cynomolgus monkey. Japanese J Med Sci Biol 32: 229-33.

Terao K, Fujinoto K, Cho F, Honjo S. 1981. Inheritance and distribution of human-type A-B-O blood groups in cynomolgus monkeys. J Med Primatol. 10:72–80.

ภาคผนวก

การเผยแพร่ผลงานวิจัยและการนำไปใช้ประโยชน์

1. Book chapter

1. **Malaivijitnond S**, Vazquez Y, Hamada Y. 2010. Human impact on long-tailed macaques in Thailand. (In Managing Commensalism in Long-tailed macaques, Lisa Jones-Engel, Michael Gumert, Augustin Fuentes, eds). Cambridge University Press, UK. Pp. 120-160.

บทความในรายงานการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Hamada Y, **Malaivijitnond S**. 2010. Population size and age-sex structure of a mixed semi-wild group of rhesus (*Macaca mulatta*) and long-tailed macaques (*M. fascicularis*) in Thailand. ASIAN-HOPE 2010 IPS Pre-Congress Symposium "Quest for Coexistence with Non-human Primates", Inuyama International Sightseeing Center, Japan. 6-7 September 2010. P-28.
2. Arsaithamkul V, **Malaivijitnond S, Jadejaroen J**, Maikaew U. 2010. Population control of free-ranging long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) by contraception and the monitoring of social behaviors. ASIAN-HOPE 2010 IPS Pre-Congress Symposium "Quest for Coexistence with Non-human Primates", Inuyama International Sightseeing Center, Japan. 6-7 September 1. Jadejaroen J, 2010. P-04.
3. **Jadejaroen J, Malaivijitnond S,** Hamada Y. 2010. Genetic survey of hybrids in a semi-wild population of long-tailed (*Macaca fascicularis*) and rhesus macaques (*Macaca mulatta*): Human-ABO blood groups. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010. Kyoto University (Yoshida Main Campus), Japan. 12-18 September 2010. pp. 113.
4. **Malaivijitnond S,** Vazquez V, Hamada Y. 2010. Human impact on long-tailed macaques in Thailand. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010. Kyoto University (Yoshida Main Campus), Japan. 12-18 September 2010. pp.205.
5. **Malaivijitnond S.** 2011. Primatology and Primate Research Institute of Thailand. PKU-CU Molecular Biology and Biotechnology Symposium. April 4-8, 2011, Peking University, Beijing, China (invited speaker)
6. **Malaivijitnond S.** 2011. What are non-human primates? Workshop of Healthy Management for Non-human Primates. Faculty of Science, Chulalongkorn Unviersity, Bangkok, 10330, Thailand. Pp. 3-13. (invited speaker)
7. **Malaivijitnond S**, Hamada Y, Arsaithamkul V. 2011. How to catch free-ranging macaque monkey. Workshop of Healthy Management for Non-human Primates. Faculty of Science, Chulalongkorn Unviersity, Bangkok, 10330, Thailand. Pp. 63-72. (invited speaker).

8. **Malaivijitnond S.** 2011. Field survey of primates in Thailand. International Symposium "Biodiversity and ecology of wildlife in Thailand. Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand. 6 September 2011 (invited speaker).

บทความในรายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ

1. **Malaivijitnond S.** 2011. การจัดตั้งศูนย์วิจัยไพรเมทแห่งชาติ. Forum: Use of Non-human Primates for Biomedical Research under the First Thai National Symposium on Animal Care & Use for Scientific Purposes (1st TACUS). 11-13 July 11. Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand
2. **สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์** และจรรยา เจตน์เจริญ. 2554. ลักษณะทางสัณฐานและลักษณะทางพันธุกรรมของลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี. อพสธ

การผลิตบัณฑิต

ระดับ	จำนวนที่สำเร็จการศึกษาแล้ว (พ.ศ. 2552)	จำนวนที่กำลังศึกษาอยู่ (พ.ศ. 2553)
ปริญญาเอก	-	1
รวม	-	1

การเรียนการสอน

1. การศึกษานอกสถานที่ของรายวิชา (2303552) ปฏิบัติการวิทยาต่อมไร้ท่อเปรียบเทียบ เรื่อง ศึกษาลักษณะการเจริญพันธุ์และพฤติกรรมทางเพศของลิงวอก ลิงหางยาว และลิงลูกผสม และเรื่อง ศึกษาการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนเพศในอุจจาระลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี ในวันที่ สิงหาคม 2553.
2. การศึกษานอกสถานที่ของรายวิชา (2303655) ปฏิบัติการสรีรวิทยาการสืบพันธุ์ เรื่อง Sex Skin Swelling and Estrogen Levels in Long-tailed Macaques โดย รองศาสตราจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี ในวันที่ 1 กันยายน 2554.
3. การศึกษานอกสถานที่ของรายวิชา (2303655) ปฏิบัติการสรีรวิทยาการสืบพันธุ์ เรื่อง Hormone Assay in Monkey Fecal Sample โดย รองศาสตราจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี ในวันที่ 1 กันยายน 2554.

การเป็นที่ปรึกษา/กรรมการ และมีส่วนร่วมในกิจกรรมต่างๆ

1. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็นที่ปรึกษาในการจัดการและควบคุมประชากรลิงหางยาว (หรือลิงแสม) ในโครงการอนุรักษ์ลิงแสมป่า บนเกาะเกล็ดแก้ว โรงเรียนชุมพลทหารเรือ กรมยุทธศึกษาทหารเรือ อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี
2. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็นประธาน session ของ symposium "Diversity, Distribution and Present Status of Non-human Primates in Asia" ภายใต้การประชุมวิชาการ International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010. Kyoto University (Yoshida Main Campus), Japan. ในวันที่ 14 กันยายน 2553

3. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็น commentator ของ symposium "Japanese monkeys and the Japanese People: History and issues in Japanese monkey conservation" ภายใต้การประชุมวิชาการ International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010. Kyoto University (Yoshida Main Campus), Japan. ในวันที่ 15 กันยายน 2553
4. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็นเลขานุการจัดการอบรมเชิงวิชาการ "Workshop of Healthy Management for Non-human Primates". 18-20 May 2011. Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand.
5. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็นประธาน session "Forum Nonhuman primate for biomedical research" ในการประชุม The 1st Thai National Symposium on Animal Care and Use for Scientific Purposes (TACUS) & Laboratory Animal Trade Exhibition 2011 11-13 กรกฎาคม 2554 ณ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพ
6. รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ เป็นประธานจัดการประชุมวิชาการนานาชาติ International Symposium "Biodiversity and ecology of wildlife in Thailand." 6 กันยายน 2554. ณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานสังกัด

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางสุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์
   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs.Suchinda Malaivijitnond
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-3099-01338-67-2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
   หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท กทม. 10330
   โทร 02-218-5275 โทรสาร 02-218-5256
   e-mail : suchinda.m@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา Ph.D. in Biological Science
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   Endocrinology, Reproductive Physiology, Molecular Biology, Primatology

<u>List of publication</u>

Book chapters

1. Hamada Y, Kurita H, Goto S, Morimitsu Y, **Malaivijitnond S**, Pathonton S, Pathontone B, Kingsada P, Vongsombath C, Samouth F, Praxaysombath B. 2010. Distribution and present status of macaques in Lao PDR. (In Conservation of Primates in Indochina, Tilo Nadler, Benjamin Miles Rawson, and Van Ngoc Thinh eds). Frankfurt Zoological Society and Conservation International, Hanoi.pp.27-42.
2. **Malaivijitnond S**, Vazquez Y, Hamada Y. 2010. Human impact on long-tailed macaques in Thailand. (In Managing Commensalism in Long-tailed macaques, Lisa Jones-Engel, Michael Gumert, Augustin Fuentes, eds). Cambridge University Press, UK. Pp. 120-160.
3. Hamada Y, Kurita H, Goto S, Morimitsu Y, **Malaivijitnond S**, Pathonton S, Pathontone B, Kingsada P, Vongsombath C, Samouth F, Praxaysombath B. 2010. Distribution and present status of long-tailed and rhesus macaques in Laos. (In Managing Commensalism in Long-tailed macaques, Lisa Jones-Engel, Michael Gumert, Augustin Fuentes, eds). Cambridge University Press, UK. Pp. 73-99.

Extended Abstracts in the International Journals

1. Kikuchi Y, **Malaivijitnond S**, Udono T, Suzuki J, Hamada Y, Takenaka O. 2001. Quantitative comparison of radial cross-sectional shapes among chimpanzees and macaques. *Primate Research.* 17(2): 129 (supplement)
2. Kikuchi Y, **Malaivijitnond S**, Udono T, Suzuki J, Hamada Y, Takenaka O. 2002. Quantitative comparison of radial cross-sectional shape among chimpanzees and macaques. *Anthropological Sci.* 110(1): 73 (IF 2005 = 0.675)

3. Hamada Y, Urasopon N, Kawin K, Suryobroto B, **Malaivjitnond S**, Takenaka O. 2004. Morphological comparison among local troops of long-tailed macaques (M. fascicularis) in Thailand and western Java. *Primate Research*, 20 (suppl.), 14.
4. **Malaivijitnond S**, Takenaka O, Takenaka A, Denduangboripant J, Urasopon N, Suryobroto B, Hamada Y. 2004. Genetic diversity between local troops of long-tailed macaques in Thailand. *Primate Research*, 20 (suppl.), 41.
5. Hamada Y, Goto S, **Malaivijitnond S.** 2005. Morphological and genetic characters of rhesus macaques (*Macaca mulatta*) inhabiting the supposed hybrid zone in northeastern Thailand. *Primate Research*. 21 (suppl.): S-12 - S-13.
6. **Malaivijitnond S**, Chansri K, Jareonporn S, Trisomboon H, Cherdshewasart W. 2006. Effects of Pueraria mirifica, an herb containing phytoestrogens, on reproduction in rodents and monkeys. *Journal of Experimental Zoology Part A Comparative Experimental Biology*. 305A: 152. (IF 2005 = 1.111)
7. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Watanabe G, Taya K. *Pueraria mirifica*, a Thai herb plant, exhibits estrogenic effect on reproduction. *J Reprod Dev*. 2006; 52: j67. (IF 2005= 1.300)
8. Seethamchai S, Putaporntip C, Areekul A, Hongsri-muang T, **Malaivijitnond S**, Charoenkorn M, Kob-Asa T, Jongwutiwes S. 2006. First report of natural Plasmodium knowlesi infection in wild macaques, Thailand. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 75:248. Supplement issue of the 55th Annual Meeting of ASTMH, Atlanta Marriott Marquis, Atlanta, Georgia, USA, November 12-16, 2006.
9. Seethamchai S, Jongwutiwes S, **Malaivijitnond S**, Cui L, Putaporntip C. 2007. Morphological and molecular analysis of Malaria and Malaria-like parasites in wild macaques, southern Thailand. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 77:156. Supplement issue of the 56th Annual Meeting of ASTMH, Philadelphia Marriott Downtown, Philadelphia, Pennsylvania, USA, November 4-8, 2007.

National Journal

1. **Malaivijitnond S,** Varavudhi P. 1995. Evidence for morphine-induced PRL release in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Sci. Soc. Thailand.* 21:243-252.
2. **Malaivijitnond S,** Varavudhi P. 1996. Effect of ketamine anesthesia on serum prolactin levels in male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Sci. Soc. Thailand* 22:285-297.
3. Ishida WS, **Malaivijitnond S,** Ishida T. 1996. Changes in serum immunoglobulin levels among cynomolgus monkeys with long term morphine treatment. *Srinagarind Med J* 11:57-63.
4. **Malaivijitnond S.**, Takenaka O. 1998. Nucleotide sequences of parathyroid gene in five species of macaque of Thailand. *J. Sci. Res. Chula. Univ.* 23:135-142.

5. **Malaivijitnond S.,** Cheewasopit W, Yoshida T. 2001. Effect of morphine and circadian rhythm on thyroxine levels in male rats. *Thai J Hlth Resch.* 15: 29-41. (in Thai)
6. **Malaivijitnond S,** Varavudhi P. 2002. The last possible troop of semi-wild rhesus macaque (Macaca mulatta) in Thailand. *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 2: 59-61.
7. Anukulthanakorn K, **Malaivijitnond S,** Takenaka O. 2002. Evolution of the parathyroid hormone gene among five groups of macaque monkey (*Macaca spp.*) *J. Sci. Res. Chula. Univ (Section T).* 1: 109-123. (in Thai)
8. Sae-Low W, **Malaivijitnond S.** 2003. The determination of human-ABO blood groups in captive cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 3(1): 55-60.
9. **Malaivijitnond S,** Hamada Y. 2005. A new record of stump-tailed macaques in Thailand and the sympatry with long-tailed macaques. *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 5: 93-96.
10. **Malaivijitnond S,** Hamada Y, Varavudhi P, Takenaka O. 2005. The current distribution and status of macaques in Thailand *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* supplement 1:35-45.
11. **Malaivijitnond S.** 2005. Establishment of the Primate Research Unit for the Promotion of Biomedical and Biodiversity Research in Thailand. *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* supplement 1: 29-34.
12. **Malaivijitnond S,** Takenaka O, Kawamoto Y, Urasopon N, Hadi I, Hamada Y. 2007. Anthropogenic macaque hybridization and genetic pollution of a threatened population *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 7(1):11-23.
13. Hamada Y, **Malaivijitnond S,** Kingsada P, Bounnam P. 2007. Distribution and present status of primates in the northern region of Lao PDR. *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 7(2): 161-191.
14. **Malaivijitnond S,** Hamada Y. 2008 Current situation and status of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Thailand *Nat Hist J of Chulalongkorn Univ.* 8: 185-204.
15. Urasopon N, Hamada Y, Asaoka K, Poungmali U, **Malaivijitnond S.** 2008. Isoflavone contents in rodent diets and its estrogenic effect on vaginal cornification in *Pueraria mirifica*-treated rats. *Science Asia.* 34: 371-376.
16. ทารีณี โลนุชิต, **สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์.** 2554. วิธีการตรวจสอบตัวอย่างกวาวเครือขาวในห้องปฏิบัติการ. วารสารวิทยาศาสตร์.
17. **สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์**, จรรยา เจตน์เจริญ, ยูซูรุ ฮามาดะ. 2554. ลักษณะทางสัณฐานและลักษณะทางพันธุกรรมของลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี. อพสธ

International Journals

1. **Malaivijitnond S.,** Varavudhi P. 1998. Evidence for morphine-induced galactorrhea in male cynomolgus monkeys. *Journal of Medical Primatology.* 27:1-9. (IF2005=1.480)

2. **Malaivijitnond S.**, Takenaka O., Sankai T., Yoshida T., Cho F., Yoshikawa Y. 1998. Effect of a single and multiple injections of ketamine hydrochloride on serum hormone levels in male cynomolgus monkeys. *Laboratoray Animal Science.* 48:270-274. (IF=0.385)
3. **Malaivijitnond S**, Takenaka O, Anukulthanakorn K, Cherdshewasart W. 2002. The nucleotide sequences of the parathyroid gene in primates (suborder Anthropoidea). *General and Comparative Endocrinology*. 125: 67-78. (IF2005 = 2.290)
4. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Watanabe G, Taya K. 2004. Estrogenic effects of *Pueraria mirifica* on the menstrual cycle and hormones-related ovarian functions in cyclic female cynomolgus monkeys. *Journal of Pharmacological Sciences*. 94: 51-59. (IF2008 = 2.599)
5. **Malaivijitnond S**, Kiatthaipipat P, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2004. Different effects of *Pueraria mirifica*, a herb containing phytoestrogens, on LH and FSH secretion in gonadectomized female and male rats. *Journal of Pharmacological Sciences*. 96: 428-435. (IF2008 = 2.599)
6. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Suzuki J, Hamada Y, Watanabe G, Taya K. 2004. Long-term treatment effects of *Pueraria mirifica* phytoestrogens on parathyroid hormone and calcium levels in aged menopausal cynomolgus monkeys. *Journal of Reproduction and Development*. 50(6):639-645. (IF2008=1.609)
7. Hamada Y, Ohsawa H, Urasopon N, **Malaivijitnond S.** 2004. Preliminary report on the distribution and status of macaques in Thailand. *Primate Research*. 20(2): 97-108.
8. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Watanabe G, Taya K. 2005. Ovulation block by *Pueraria mirifica*: a study of its endocrinological effect in female monkeys. *Endocrine*. 26: 33-39. (IF 2008= 1.842)
9. Hamada Y, Hadi I, Urasopon N, **Malaivijitnond S.** 2005. Preliminary report on yellow long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) at Kosumpee Forest Park, Thailand. *Primates*. 46: 269-273. (IF 2008=1.670)
10. Hamada Y, Ohsawa H, Goto S, Kawamoto Y, Oi T, **Malaivijitnond S**. 2005. Preliminary report on the distribution and status of macaques in SE Aisa. *Primate Research*. 21: 75-84.
11. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Watanabe G, Cherdshewasart W, Taya K. 2006. The Estrogenic effect of *Pueraria mirifica* on gonadotrophin levels in aged monkeys. *Endocrine*. 29:129-134.(IF 2008= 1.842)
12. Hamada Y, Urasopon N, Hadi I, **Malaivijitnond S**. 2006. Body size and proportions and pelage color of free-ranging *Macaca mulatta* from a zone of hybridization in northern Thailand. *International Journal of Primatology*. 27: 497-513. (IF2008= 1.788)
13. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2006. Effect of *Pueraria mirifica* on the sexual skin coloration of aged menopausal cynomolgus monkeys. *Journal of Reproduction and Development*. 52:537-542 (IF 2008= 1.609)

14. **Malaivijitnond S**, Chansri K, Kijkuokul P, Urasopon N, Cherdshewasart W. 2006. Using vaginal cytology to assess the estrogenic activity of phytoestrogen-rich herb. *Journal of Ethnopharmacology*. 107:354-360. (IF 2008= 2.260)
15. Kijkuokool P, Parhar IS, **Malaivijitnond S**. 2006. Genistein enhances N-nitrosomethylurea-induced rat mammary tumorigenesis. *Cancer Letters*. 242: 53-59. (IF 2008= 3.504)
16. Jaroenporn S, **Malaivijitnond S**, Wattanasirmkit K, Trisomboon H, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2006. Effects of *Pueraria mirifica*, an herb containing phytoestrogens, on reproductive organs and fertility of adult male mice. *Endocrine*. 30 (1): 93-101 (IF 2008= 1.842)
17. **Malaivijitnond S**, Lekprayoon C, Tandavanittj N, Panha S, Cheewatham C, Hamada Y. 2007. Stone tool usage by Thai long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*). *American Journal of Primatology*. 69 (2): 227-233 (IF 2008= 1.681)
18. Urasopon N, Hamada Y, Asaoka K, Cherdshewasart W, **Malaivijitnond S**. 2007. *Pueraria mirifica*, a phytoestrogen-rich herb, prevents bone loss in orchidectomized rats. *Maturitas*. 56:322-331. (IF 2008= 2.032)
19. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2007. Assessment of urinary gonadotropin and steroid hormone profiles of female cynomolgus monkeys after treatment with *Pueraria mirifica*. *Journal of Reproduction and Development*. 53 (2): 395-403. (IF 2008= 1.609)
20. Cherdshewasart W, Kitsamai Y, **Malaivijitnond S**. 2007. Evaluation of the estrogenic activity of the wild *Pueraria mirifica* by vaginal cornification assay. *Journal of Reproduction and Development*. 53(2):385-393. (IF 2008= 1.609)
21. **Malaivijitnond S**, Hamada Y, Suryobroto B, Takenaka O. 2007. Female long-tailed macaques with scrotum-like structure. *American Journal of Primatology*. 69 (7):721-735. (IF 2008= 1.681)
22. Watanabe K, Urasopon N, **Malaivijitnond S**. 2007. Long-tailed macaques use human hair as dental floss. *American Journal of Primatology*. 69(8):940-944. (IF 2008= 1.681)
23. Trisomboon H, **Malaivijitnond S**, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2007. The influence of *Pueraria mirifica* herb containing phytoestrogens on the urinary gonadotropin and estradiol levels in aged menopausal monkeys. *Animal Science Journal*. 78: 378-386. (IF 2008 = 0.713)
24. Jaroenporn S, **Malaivijitnond S**, Wattanasirmkit K, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2007. Assessment of fertility and reproductive toxicity in adult female mice after long-term exposure to *Pueraria mirifica*. *Journal of Reproduction and Development*. 53(5):995-1005. (IF 2008= 1.609)
25. **Malaivijitnond S**, Sae-low W, Hamada Y. 2008. The Human-ABO blood groups of free-ranging long-tailed macaques (*Macaca fascicularis)* and parapatric rhesus macaques (*M. mulatta)* in Thailand. *Journal of Medical Primatology*. *37*:31-37. (IF2008=1.047).

26. Föger F, **Malaivijitnond S,** Wannaprasert T, Huck C, Bernkop-Schnürch A, Werle M. 2008. Effect of a thiolated polymer on oral paclitaxel absorption and tumor growth in rats. *Journal of Drug Targeting*. 16(2): 149-155. (IF2008 = 2.771)
27. Taepongsorat L, Tangpraprutgul P, Kitana N, **Malaivijitnond S.** 2008. Stimulating effects of quecertin on sperm quality and reproductive organs in adult male rats. *Asian Journal of Andrology*. 10 (2) March: 249-258. (IF 2008 = 2.059)
28. Urasopon N, Hamada Y, Cherdshewasart W, **Malaivijitnond S.** 2008. Preventive effects of *Pueraria mirifica* on bone loss in ovariectomized rats. *Maturitas*. 59(2):137-148 (IF 2008= 2.032)
29. Seethamchai S, Putaporntip C, **Malaivijitnond S,** Cui L, Jongwutiwes S. 2008. Malaria and *Hepatocystis spp.* In wild macaques, southern Thailand. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 78 (4): 646-653. (IF2008 = 2.450)
30. Koyabu DB, **Malaivijitnond S,** Hamada Y. 2008. Pelage color variation of *Macaca arctoides* and its evolutionary implications. *International Journal of Primatology*. 29: 531-541 (IF2008= 1.788).
31. Masaharu Takahashi, Nobuo Masataka, Suchinda **Malaivijitnond,** Siriwat Wongsiri. 2008. Future rice is discounted less steeply than future money in Thailand. *The Psychological Record*. 58 (2): 175-190.
32. Cherdshewasart W, Bhuntaku P, Panriansaen R, Dahlan W, **Malaivijitnond S.** 2008. Androgen disruption and toxicity tests of *Butea superba* Roxb., a traditional herb used for treatment of erectile dysfunction, in male rats *Maturitas*. 60: 131-137. (IF2008 = 2.032)
33. Hamada Y, Suryobroto B, Goto S, **Malaivijitnond S.** 2008. Morphological and body color variation in Thai *Macaca fascicularis fascicularis* north and south of the Isthmus of Kra. *International Journal of Primatology*. 29: 1271-1294 (IF2008= 1.788)
34. Trisomboon H, Watanabe G, Taya K, **Malaivijitnond S.** 2008. Oral administration of Kaempferia parviflora did not disturb male reproduction in rats. *Journal of Reproduction and Development*. 54: 375-380. (IF 2008= 1.609)
35. Cherdshewasart W, Sriwatcharakul S, **Malaivijitnond S.** 2008. Variance of estrogenic activity of the phytoestrogen-rich plant. *Maturitas*. 61: 350-357. (IF 2008= 2.032)
36. **Malaivijitnond S,** Ketsuwan A, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2009. Androgenic activity of the Thai traditional male potency herb, *Butea superba* Roxb., in female rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 121(1):123-129 (IF2008 = 2.260)
37. Gumert MD, Kluck M, **Malaivijitnond S.** 2009. The physical characteristics and usage patterns of stone axe and pounding hammers used by long-tailed macaques in the Andaman sea region of Thailand. *American Journal of Primatology*. 71 (7): 594-608. (IF2008 = 1.681)

38. Richter C, Mevis L, **Malaivijitnond S,** Schulke O, Ostner J. 2009. Social relationships in free-ranging male *Macaca arctoides*. *International Journal of Primatology*. 30:625-642 (IF2008= 1.788).

39. Maruhashi T, Nilpaung W, **Malaivijitnond S.** 2009. A preliminary report on socio-ecological study of Macaca arctoides in Khao Krapuk Khao Taomo non-hunting area, Thailand. *The Journal of Human and Cultural Sciences*. 11 (3): 11-29.

40. Son VD, Malaivijitnond S, Gotoh S, Tri CQ, Hung NV, Hoang LV, Trang TC, Hamada Y. 2009. Report on present distribution and status of macaques in Vietnam. *Laboratory Primate Newsletter*. 48 (1): 10-14.

41. **Malaivijitnond S,** Tungmunnithum D, Gittarasanee S, Kawin K, Limjunyawong N. 2010. Puerarin exhibits weak estrogenic activity in female rats. *Fitoterapia*. 81: 569-576. (IF2009= 1.363).

42. **Malaivijitnond S,** Ketsuwan A, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2010. Luteinizing hormone reduction by the male potency herb, *Butea superba* Roxb. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 43(9):843-852. (IF2009= 1.075).

43. Asensio N, Brockelman WY, **Malaivijitnond S,** Reichard UH. 2011. Gibbon travel paths are goal-oriented. *Animal Cognition*. 14:395-405. (IF2009 = 3.325)

44. Gumert MD, Hoong LK, **Malaivijitnond S.** 2011. Sex differences in the stone tool-use behavior of a natural population of long-tailed macaque (*Macaca fascicularis aurea*). *American Journal of Primatology. Accepted.* (IF2010 = 1.980)

45. Gumert M, Hamada Y, **Malaivijitnond S.** 2011. Human activity negatively affects wild stone tool-using Burmese long-tailed macaques Macaca fascicularis aurea in Laeson National park, Thailand. *Oryx-The International Journal of Conservation*. Under revision.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางจรรยา เจตน์เจริญ
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs.Janya Jadejaroen
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-2599-00137-85-2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์และรักษาการหัวหน้าสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
คณะทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา
199 หมู่6 ถ.สุขุมวิท ต.ทุ่งสุขลา อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี 20230
โทรศัพท์ 038-354-587 ต่อ 2768
โทรสาร 038-354-587
e-mail: janya@src.ku.ac.th, goongjanya@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม) มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีทางอาหาร) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ นิเวศวิทยาและพฤติกรรมสัตว์

List of publication

1. Jadejaroen, J. 2003. Post-dispersal of seeds in feces of white-handed gibbons (*Hylobates lar*) by dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). MSc. Thesis. Mahidol University.
2. Jadejaroen, J., Yhamdee, A. and Sililuk, S. 2008. Long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in a fragmented forest, southeastern Thailand and their plant diets. Abstract in the proceeding of International Symposium for Conservation of Primates in Indochina 2008, Vietnam.
3. **สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์**, จรรยา เจตน์เจริญ, ยูซูรุ ฮามาดะ. 2554. ลักษณะทางสัณฐานและลักษณะทางพันธุกรรมของลิงลูกผสมระหว่างลิงวอกและลิงหางยาว ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี. อพ. สธ.