

การศึกษาการโอโตไทป์ของลิงไ้เงี้ยว (*Macaca assamensis*) ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา

อลงกลด แทนอมทอง¹ สัมภาษณ์ คุณสุข² วิวรรณ แก่นสา³
และ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์⁴

Abstract

Tanomtong, A.¹, Khunsook, S.¹, Kaensa, W.¹ and Bunjongrat, R.²

A study on karyotype of Assam Macaque, *Macaca assamensis*

(Primate, Cercopithecidae) by using conventional staining method

Songklanakar J. Sci. Technol., 2005, 27(6) : 1199-1208

This research was the first karyotypic study of Assam macaque (*Macaca assamensis*). Blood samples were taken from two males and two females kept in Nakhon Ratchasima Zoo and Songkhla Zoo. After the standard whole blood lymphocyte culture at 37°C for 72 hr. in presence of Colchicine, the metaphase spreads were performed on microscopic slides and air-dried. Conventional Giemsa's staining were applied to stain the chromosome. The results showed that the number of diploid chromosome of Assam macaque was $2n = 42$, the fundamental number (NF) was 83 in male and 84 in female. The type of autosomes were 6 large

¹Genetics Program, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand. ²Genetics Program, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phaya Thai, Bangkok 10400, Thailand.

¹วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ²Ph.D.(Molecular genetics) ³นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002 ⁴วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ 10400

Corresponding e-mail: Tanomtong@hotmail.com

รับต้นฉบับ 10 มกราคม 2548

รับลงพิมพ์ 25 พฤษภาคม 2548

metacentric, 8 large submetacentric, 4 medium metacentric, 12 medium submetacentric, 8 small metacentric and 2 small submetacentric chromosomes. In addition, a pair of the short arm of chromosome 13 showed clearly observable satellite chromosome. X-chromosome was the medium submetacentric and Y chromosome was the smallest telocentric chromosome.

The karyotype formula for the male Assam macaque (*Macaca assamensis*) is as follows :

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + Y \\ = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{13}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + S_1^t$$

The karyotype formula for the female Assam macaque (*Macaca assamensis*) is as follows :

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + X \\ = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{14}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm}$$

Key words : cytogenetics, chromosome, Assam macaque (*Macaca assamensis*)

บทคัดย่อ

อลงกลด แทนอมตอง สัมภาษณ์ คุณสุข วิวรรณ แก่นสา และ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์ การศึกษาคาริโอไทป์ของลิงไ้เจียะ (*Macaca assamensis*) ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(6) : 1199-1208

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาคาริโอไทป์ของลิงไ้เจียะ ใช้ตัวอย่างสัตว์เพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว จากสวนสัตว์นครราชสีมาและสวนสัตว์สงขลา เตรียมโครโมโซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเทคนิคโคลชิซิน-ไฮโปโทนิก-ฟิกเชชั่น-แอร์ดาร์ยอิง ย้อมด้วยสีจิมซ่า ผลการศึกษาพบว่าลิงไ้เจียะมีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 83 ในเพศผู้ และ 84 ในเพศเมีย โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 8 แท่ง และซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แท่ง บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด มีสูตรคาริโอไทป์ ดังต่อไปนี้

สูตรคาริโอไทป์ลิงไ้เจียะเพศผู้ คือ

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{13}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + S_1^t$$

สูตรคาริโอไทป์ลิงไ้เจียะเพศเมีย คือ

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + X$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{14}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm}$$

สัตว์ในอันดับ (order) ไพรเมท (primate) มีทั้งหมด 13 วงศ์ (family) 60 สกุล (genus) และ 232 ชนิด (species) (Wilson and Cole, 2000) ในประเทศไทยพบ สัตว์ในอันดับไพรเมท 3 วงศ์ 5 สกุล และ 13 ชนิด เป็นลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* 5 ชนิด ได้แก่ ลิงเสน (Stump-tailed macaque, *Macaca arctoides* Geoffroy, 1831) ลิงไ้เจียะหรือวอกภูเขา (Assam macaque, *Macaca*

assamensis McClelland, 1839) ลิงแสม (Long-tailed macaque, *Macaca fascicularis* Raffles, 1821) ลิงวอกธรรมดา (Rhesus monkey, *Macaca mulatta* Zimmermann, 1780) และลิงกัง (Pigtail macaque, *Macaca nemestrina* Linnaeus, 1766) (วรเรน, 2524; Lekagul and McNeely, 1977, 1988)

ลิงไ้เจียะสามารถที่จะจัดอนุกรมวิธานได้ดังต่อไปนี้

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mammal
Order : Primate
Family : Cercopithecidae
Subfamily : Cercopithecinae
Genus : *Macaca*
Species : *Macaca assamensis*
ลักษณะที่สำคัญของลิงไ้เงี้ยว ได้แก่ มีหางยาวครึ่งหนึ่งของความยาวหัวและลำตัว รูปร่างคล้ายลิงวอก ลำตัวมีสีเหลืองอมเทาจนถึงน้ำตาลเข้ม มีก้นและหางสีน้ำตาลหรือสีเทา อาศัยอยู่ในป่าดิบเขาในระดับต่ำ ความสูงประมาณ 500 เมตร จากระดับน้ำทะเล แต่ก็พบได้บ่อยบนภูเขาสูงอาหารที่กิน ได้แก่ ผลไม้ แมลง สัตว์เลื้อยคลานขนาดเล็ก และยอดอ่อนต้นไม้ (วรเรน, 2524; Lekagul and McNeely, 1977, 1988)

จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัย พบว่ายังไม่มีรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของลิงไ้เงี้ยว แต่พบว่ามีการ

ศึกษาในสัตว์ที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน ที่เป็นสัตว์ที่พบได้ในประเทศไทย ได้แก่ ลิงเสน ลิงแสม ลิงวอกธรรมดา และลิงกัง ดังรายงานการศึกษาของ Chiarelli (1962), Napier และ Napier (1976), Small และ Stanyon (1985), Brown และคณะ (1986), Hirai และคณะ (1991) (Table 1)

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาได้จากลิงไ้เงี้ยวเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในสวนสัตว์นครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา และสวนสัตว์สงขลา จังหวัดสงขลา ทำการเจาะเก็บเลือดโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) จากหลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) เก็บในหลอดสุญญากาศ (vacuum tube) ขนาด 10 มล. ที่บรรจุสาร heparin เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วทำการแช่ในกระดิกน้ำแข็งตลอดการเดินทางจนถึงห้องปฏิบัติการ การดำเนินการทดลองแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนคือ

Table 1. Karyotypic studies of animals species in the subfamily Cercopithecinae (Primate, Cercopithecidae).

Species	2n	NF	m	sm	X	Y	Reference
Stump-tailed macaque (<i>Macaca arctoides</i>)	42	84 in male and female	18	22	sm(-)	sm(-)	Brown <i>et al.</i> (1986)
	42	-	12	28	sm(-)	sm(-)	Chiarelli (1962)
Long-tailed macaque (<i>Macaca fascicularis</i>)	42	84 in male and female	18	22	m(-)	t(-)	Brown <i>et al.</i> (1986)
	42	84 in male and female	18	22	m(M)	t(S)	Hirai <i>et al.</i> (1991)
Rhesus monkey (<i>Macaca mulatta</i>)	42	84 in male and female	18	22	m(-)	m(-)	Brown <i>et al.</i> (1986)
	42	84 in male and female	18	22	m(M)	m(S)	Napier and Napier (1976)
	42	84 in male and female	18	22	m(M)	m(S)	Small and Stanyon (1985)
Pigtail macaque (<i>Macaca nemestrina</i>)	42	84 in male and female	18	22	sm(-)	t(-)	Brown <i>et al.</i> (1986)

2n = diploid number NF = fundamental number m = metacentric
sm = submetacentric t = telocentric X = X-chromosome
Y = Y-chromosome M = medium chromosome S = small chromosome

1. การเตรียมเซลล์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ที่ตัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ของ อมรา (2540) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเลือดปริมาณน้อย (whole blood microculture)

1.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

1) เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด RPMI 1640 ที่มีสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (mitogen) คือ PHA (Phytohemagglutinin) ความเข้มข้น 2% นำ stock อาหารแบ่งลงในขวดอาหารเลี้ยงเม็ดเลือดขาวขวดละ 5 มล.

2) นำเลือดลิงไอ้เงี้ยวจำนวน 0.5 มล. หยดลงในขวดเพาะเลี้ยง เขย่าให้สารละลายและเลือดเข้ากัน ปิดฝาขวดหลวมๆ นำไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 37°C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเขย่าเลือดทุกเช้าและทุกเย็น

3) เมื่อครบเวลาเก็บเกี่ยวเซลล์คือ ชั่วโมงที่ 72 ทำการหยุดสารละลาย Colchicine เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที

1.2 การเก็บเกี่ยวเซลล์

1) ทำการย้ายสารละลายเลือดจากขวดเพาะเลี้ยงเลือดลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (graduated centrifuge) ขนาด 12 มล. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนใส (supernatant) ทิ้ง

2) ทำให้เซลล์ฟองตัวเพื่อที่โครโมโซมจะมีการกระจายตัวดี โดยทำการหยุด 0.075 M KCl ที่เป็น hypotonic solution จำนวน 10 มล. ลงในตะกอนเซลล์ ทำการผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture แล้วบ่มต่อไปอีก 30 นาที

3) เมื่อครบกำหนดทำการแยกเอา KCl ออก โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนใสทิ้ง

4) ทำการตรึงเซลล์ (fix) โดยการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ที่แช่เย็นและเตรียมใหม่เสมอ (fresh cold fixative) ที่มีอัตราส่วนของ methanol : glacial acetic acid เป็น 3 : 1 ใช้หลอดหยด หยดน้ำยาตรึงเซลล์ที่ละลายพร้อมทั้งผสมเซลล์ให้เข้ากับสารละลายด้วย vortex mixture เติมนจนได้ปริมาตรประมาณ 8 มล. นำไปปั่น

เหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดส่วนน้ำยาตรึงเซลล์ด้านบนทิ้ง

5) ทำซ้ำในข้อ 4 อีก โดยค่อยๆ ลดปริมาณน้ำยาตรึงเซลล์ที่ใช้แต่ละครั้งลง จำนวนครั้งขึ้นอยู่กับความใสของสารละลาย ทำซ้ำจนได้สารละลายที่ใสและมีตะกอนเซลล์ที่กั้นหลอด ทำการดูดสารละลายด้านบนทิ้งจนเกือบหมด แล้วทำการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ลงไปอีก 1 มล. ทำการผสมให้เข้ากัน

6) ใช้ micropipette ดูดสารละลายตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาวปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ที่สะอาดและเย็นจัด ทำการฟุ้งสไลด์ให้แห้ง (air dry technique)

7) ย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (conventional staining) ด้วยสี Giemsa's 10% เป็นเวลา 15 นาที ทำการล้างสีออกด้วยน้ำประปา ฟุ้งสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปศึกษาต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิดถ่ายภาพได้

2. การตรวจสอบโครโมโซม

ทำการคัดเลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) ที่มีโครโมโซมไม่สั้นหรือยาวเกินไป และมีการกระจายตัวของโครโมโซมไม่ซ้อนทับกัน ถ่ายภาพโครโมโซมลิงไอ้เงี้ยวเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ นำภาพมาขยายที่ 3,800 เท่า ศึกษาโครโมโซมตามแบบของ กันยารัตน์ (2532) โดยใช้เวอร์เนียร์วัดความยาวของ แขนโครโมโซมข้างยาว (length long, Ll) ข้างสั้น (length short, Ls) ทำการคำนวณหาค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (length total, LT) ค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) แล้วนำค่า Ll, Ls, LT, RL และ CI ของโครโมโซมทั้ง 20 เซลล์ มาหาค่าเฉลี่ย (mean) นำค่า RL และ CI มาหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD)

ค่าความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)

= ความยาวแขนข้างยาว (Ll) + แขนข้างสั้น (Ls)

ค่า relative length (RL)

= LT/ความยาวของโครโมโซมทุกคู่ (Σ LT) x 100

ค่า centromeric index (CI)

= Ll / LT

การจับคู่ของโครโมโซมยี่ดหลัก ดังต่อไปนี้

1. ทำการจับคู่ของโครโมโซม โดยดูจากความยาว และตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (centromere) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน กำหนดหมายเลขโครโมโซมแต่ละแห่ง

2. วัดความยาวของโครโมโซมแต่ละแห่งจากภาพถ่าย

3. กำหนดชนิดของโครโมโซมจากค่า CI ดังต่อไปนี้

ค่า CI	ชนิดของโครโมโซม
0.500-0.599	เมทาเซนทริก
0.600-0.699	ซับเมทาเซนทริก
0.700-0.899	อะโครเซนทริก
0.900-1.000	เทโลเซนทริก

4. กำหนดขนาดของโครโมโซม โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นโครโมโซมคู่ใหญ่สุด (large, L) โครโมโซมขนาดกลาง (medium, M) คือ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่สุดรวมกับโครโมโซมคู่เล็กสุด และโครโมโซมขนาดเล็ก (small, S) คือ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ใหญ่สุด

$$\begin{aligned} \text{โครโมโซมขนาดใหญ่ (L)} &= \text{โครโมโซมคู่ที่ 1} \\ \text{โครโมโซมขนาดกลาง (M)} &< (\text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1} + \text{LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย}) / 2 \\ \text{โครโมโซมขนาดเล็ก (S)} &< \text{LT เฉลี่ยคู่ที่ 1} / 2 \end{aligned}$$

ผลและวิจารณ์การทดลอง

เป็นรายงานครั้งแรกของการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงไ้เงี้ยะ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวและย้อมสีแบบธรรมดา พบว่าลิงไ้เงี้ยะมีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 40 แห่ง และโครโมโซมเพศ 2 แห่ง (Figure 1 and 2) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับลิงที่อยู่ในวงศ์ย่อย Cercopithecinae พบว่ามีจำนวนโครโมโซมที่เท่ากัน ดังรายงานของ Brown และคณะ (1986) ที่พบว่าลิงสกุล *Macaca* 6 ชนิด ได้แก่ ลิงเสน ลิงแสม ลิงวอกธรรมดา ลิงกัง ลิง Celebes crested ลิง Bonnet และลิงสกุล *Cercocebus* 1 ชนิด คือ ลิง Mangabey มีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง ประกอบด้วยโครโมโซม

ร่างกาย 40 แห่ง และโครโมโซมเพศ 2 แห่ง Hirai และคณะ (1991) รายงานว่าลิงแสมมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง และ Napier และ Napier (1976), Small และ Stanyon (1985) รายงานว่าลิงวอกธรรมดา มีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 42 แห่ง ลิงไ้เงี้ยะมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamentatal number, NF) เท่ากับ 83 ในเพศผู้และ 84 ในเพศเมีย เมื่อทำการเปรียบเทียบกับลิงแสม พบว่า มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานที่เท่ากัน (Hirai *et al.*, 1991)

ลิงไ้เงี้ยะมีโครโมโซมร่างกาย 2 ชนิด คือ ชนิดเมทาเซนทริก (18 แห่ง) และซับเมทาเซนทริก (22 แห่ง) และประกอบด้วยโครโมโซมทุกขนาด (ใหญ่ กลาง และเล็ก) โดยมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 6-4-8 แห่ง ตามลำดับ ชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 8-12-2 แห่ง ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* พบว่า ลิงเสนว่ามีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริก 14 แห่ง ชนิดซับเมทาเซนทริก 26 แห่ง สำหรับลิงแสม ลิงวอกธรรมดา และลิงกัง มีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริก 18 แห่ง ชนิดซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง (Brown *et al.*, 1986) Hirai และคณะ (1991) ศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงแสม พบว่ามีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริก 18 แห่ง ชนิดซับเมทาเซนทริก 22 แห่ง และ Napier และ Napier (1976), Small และ Stanyon (1985) ศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงวอกธรรมดา พบว่ามีโครโมโซม ร่างกายชนิดเมทาเซนทริกจำนวน 18 แห่ง และชนิดซับเมทาเซนทริกจำนวน 22 แห่ง อิดิโอแกรม (idiogram) ของลิงไ้เงี้ยะแสดงให้เห็นถึงการลดขนาดของโครโมโซมร่างกายลงไปตามลำดับ จากขนาดใหญ่ไปขนาดเล็ก (Figure 3)

ลิงไ้เงี้ยะมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง และมีโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* พบว่าลิงเสน ลิงแสม ลิงวอกธรรมดา และลิงกัง มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริก เมทาเซนทริก เมทาเซนทริก และซับเมทาเซนทริก ตามลำดับ และโครโมโซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริก เทโลเซนทริก เมทาเซนทริก และเทโลเซนทริก ตามลำดับ ซึ่งโครโมโซม

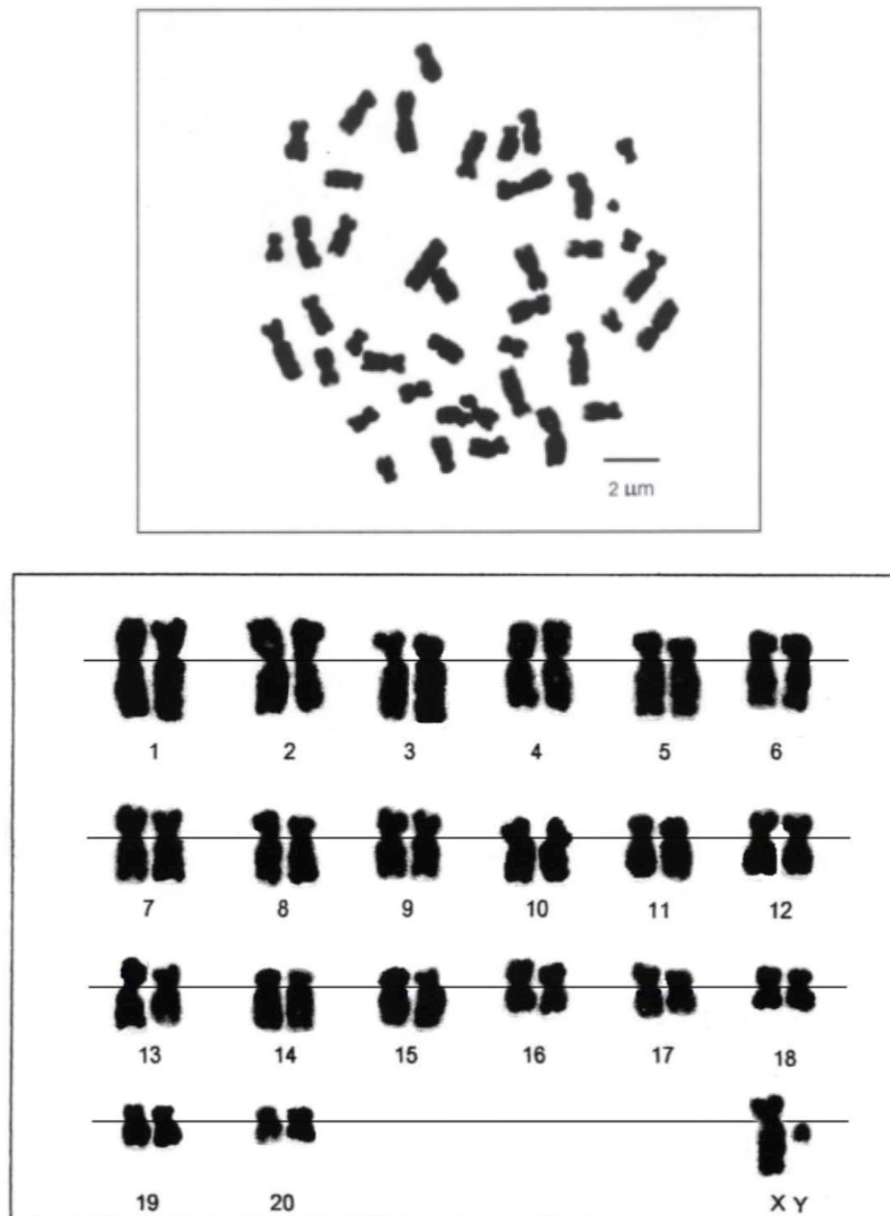


Figure 1. Metaphase chromosome and karyotype of male Assam macaque (*Macaca assamensis*) $2n$ (diploid) = 42, by using conventional staining method.

วายเป็นชนิดเล็กที่สุดในคาริโอไทป์ (Brown *et al.*, 1986) Hirai และคณะ (1991) รายงานว่าลิงแสมมีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็กที่สุด Napier และ Napier (1976), Small และ Stanyon (1985) รายงาน

ว่าลิงวอกธรรมดา มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดเล็กที่สุด

จากรายงานการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าโครโมโซมเพศของลิงสกุล *Macaca* มีความแปรผันทั้งรูปร่างและ

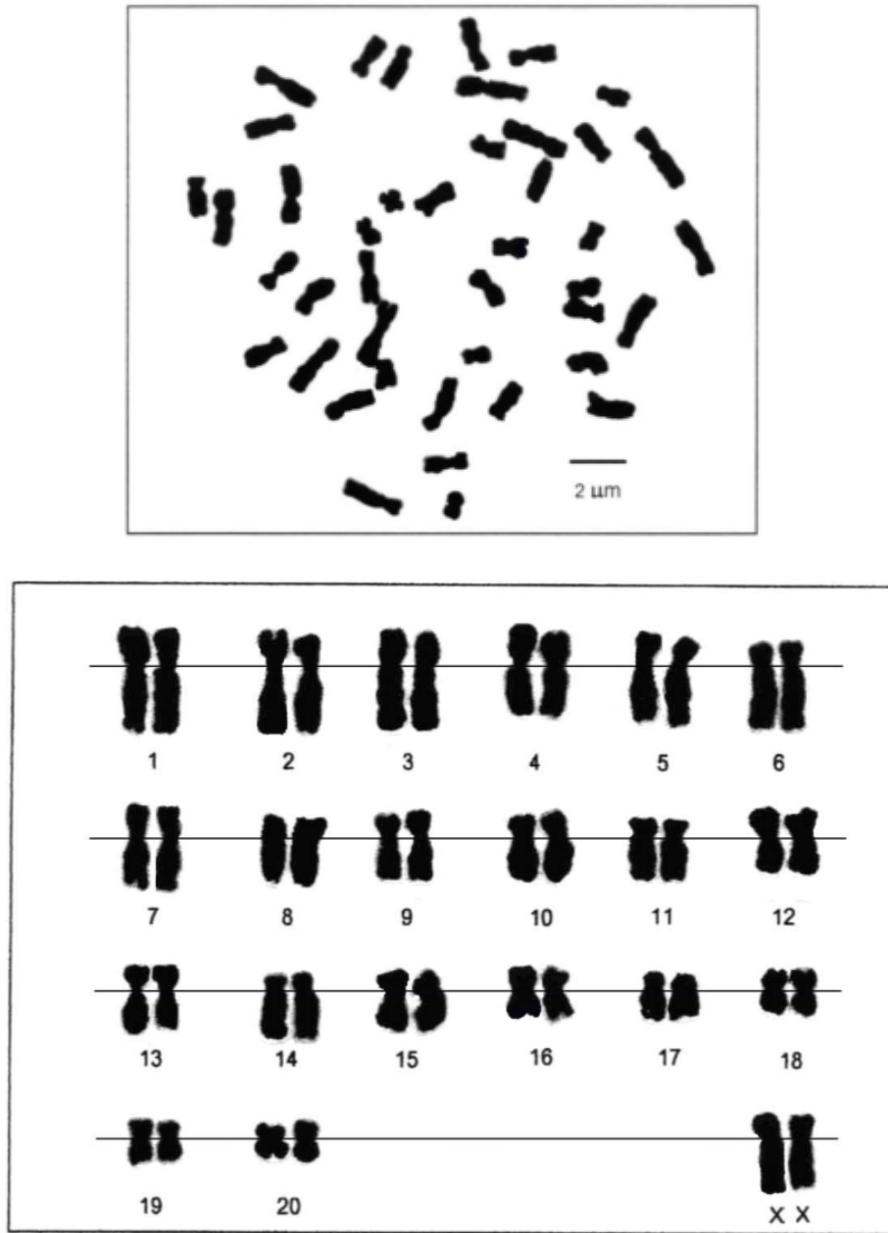


Figure 2. Metaphase chromosome and karyotype of female Assam macaque (*Macaca assamensis*) $2n$ (diploid) = 42, by using conventional staining method.

ขนาดที่แตกต่างกัน โดยโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดเมทา-
เซนทริก และซับเมทาเซนทริก โครโมโซมวายเป็นชนิด
เมทาเซนทริก ซับเมทาเซนทริก และเทโลเซนทริก ดัง
รายงานการศึกษาของ Brown และคณะ (1986) ซึ่งพบ
ว่าลิงสกุล *Macaca* ได้แก่ ลิงเสน ลิงแสม ลิงวอกธรรมดา

ลิงกัง ลิง Celebes crested และลิง Bonnet มีความ
แปรผันของโครโมโซมเอ็กซ์ และโครโมโซมวาย Napier
และ Napier (1976) พบว่า โครโมโซมวายของลิงสกุล
Macaca มีขนาดเล็กมาก และมีรูปร่างแตกต่างกัน บาง
ครั้งไม่สามารถบอกรักษาตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ และจำแนก

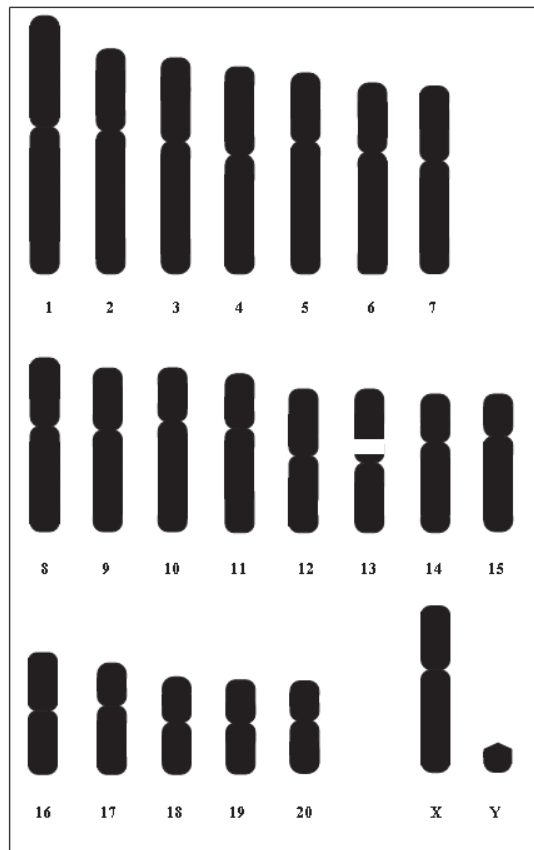


Figure 3. Idiogram of Assam macaque (*Macaca assamensis*) 2n (diploid) = 42, Chromosome pair 13 show satellite chromosome.

ชนิดของโครโมโซมได้ชัดเจน Hirai และคณะ (1991) พบว่าโครโมโซมสายของลิงสกุล *Macaca* มีความแปรผันทั้งขนาดและรูปร่าง ซึ่งพบได้ในลิงวอกธรรมดา ลิงกัง ลิง Japanese และลิง Taiwan (*M. cyclopis*) Stanyon (1983) รายงานพบความแตกต่างในการติดแถบสีซี (C-band) ของโครโมโซมสายในลิงสกุล *Macaca* และลิงสกุล *Cercocebus* ได้แก่ ลิง Japanese และลิง *Cercocebus aterrimus* นอกจากนี้ Makino และ Takagi (1965) ศึกษาความแปรผันของโครโมโซมสายในมนุษย์ พบว่าเป็นโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก ที่มีขนาดความยาวผันแปรในแต่ละบุคคล

ในการศึกษาครั้งนี้ พบโครโมโซมเครื่องหมาย (chromosome marker) ของลิงไต้เงี้ยว คือ มี nucleolar organizer region (NORs) อยู่บนแขนข้างสั้นของโคร-

โมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกคู่ที่ 13 เพียงคู่เดียว เมื่อทำการเปรียบเทียบกับลิงที่อยู่ในวงศ์ย่อย Cercopithecinae พบว่า Brown และคณะ (1986) รายงานว่าลิงกัง ลิงวอกธรรมดา ลิงแสม และลิงเสน ลิง Celebes crested ลิง Bonnet และลิง Mangabey พบ NORs บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมร่างกายคู่ที่ 9 เพียงคู่เดียว สำหรับคู่ NORs ที่มีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากวิธีการจัดคาริโอไทป์ และวิธีการวัดความยาวของโครโมโซม รายงานของ Jones และคณะ (1994) พบว่า ลิงสกุล *Macaca* ลิงบาบูน (baboon) และชะนี มี NORs บนโครโมโซมร่างกาย 1 คู่ รายงานของ Stanyon (1983) พบ NORs อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซม 1 คู่ คือ คู่ที่ 13 ในลิง Japanese ลิง *Cercocebus aterrimus* ซึ่งเป็นลิงในวงศ์เดียวกัน แต่มีขนาดของ NORs แตกต่างกัน เมื่อตรวจดูเซลล์ระยะ

เมทาเฟสของลิงสกุล *Macaca* ในประเทศไทย จะสังเกตเห็นโครโมโซมเครื่องหมายคือ โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ที่สุดเห็นได้อย่างเด่นชัด นอกจากนี้โครโมโซมวายเป็นโครโมโซมเครื่องหมายที่สามารถจำแนกชนิดของลิงในสกุล *Macaca* ออกจากกันได้สอดคล้องกับรายงานศึกษาของ Napier และ Napier (1976), Small และ Stanyon (1985), Brown และคณะ (1986), Hiria และคณะ (1991)

จากการนำเซลล์ที่อยู่ในระยะเมทาเฟสของลิงไ้เงี้ยวเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 เซลล์ มาทำการวัดขนาดของโครโมโซมที่ขนาดกำลังขยาย 3,800 เท่า พบว่าโครโมโซมของลิงไ้เงี้ยวมีค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้าง

สั้น (Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LI) ความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ (LT) ค่า relative length (RL) ค่า centromeric index (CI) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่า RL และ CI และทำการกำหนดขนาดและชนิดของโครโมโซม (Table 2)

สูตรคาร์ิโอไทป์ลิงไ้เงี้ยวเพศผู้ คือ

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{13}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + S_1^1$$

สูตรคาร์ิโอไทป์ลิงไ้เงี้ยวเพศเมีย คือ

$$2n (44) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + X$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{14}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm}$$

Table 2. Mean of length short arm chromosome (Ls), length long arm chromosome, length total arm chromosome (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI from metaphase chromosome 20 cells in male and female Assam macaque (*Macaca assamensis*) 2n (diploid) = 42.

Chromosome Pair	Ls	LI	LT	RL ± SD	CI ± SD	Size of Chromosome	Type of Chromosome
1	0.808	1.167	1.976	7.48±0.007	0.591±0.029	L	m
2	0.608	1.098	1.705	6.45±0.007	0.644±0.026	L	sm
3	0.584	1.023	1.607	6.08±0.007	0.637±0.015	L	sm
4	0.706	0.882	1.588	6.01±0.004	0.555±0.013	L	m
5	0.501	1.055	1.556	5.89±0.004	0.678±0.030	L	sm
6	0.527	0.969	1.495	5.66±0.003	0.648±0.023	L	sm
7	0.592	0.883	1.474	5.58±0.004	0.599±0.034	L	m
8	0.513	0.819	1.332	5.04±0.007	0.615±0.026	M	sm
9	0.487	0.816	1.303	4.93±0.006	0.626±0.031	M	sm
10	0.423	0.871	1.294	4.89±0.006	0.673±0.025	M	sm
11	0.414	0.815	1.229	4.65±0.003	0.663±0.018	M	sm
12	0.528	0.589	1.118	4.23±0.005	0.527±0.028	M	m
13	0.535	0.575	1.110	4.20±0.004	0.518±0.022	M	m
14	0.346	0.756	1.103	4.17±0.005	0.686±0.027	M	sm
15	0.323	0.748	1.071	4.05±0.006	0.699±0.014	M	sm
16	0.435	0.474	0.908	3.43±0.004	0.522±0.023	S	m
17	0.323	0.559	0.883	3.34±0.004	0.634±0.019	S	sm
18	0.353	0.378	0.731	2.76±0.005	0.518±0.021	S	m
19	0.343	0.358	0.702	2.65±0.007	0.511±0.028	S	m
20	0.299	0.397	0.695	2.63±0.005	0.570±0.016	S	m
X	0.519	0.786	1.305	4.94±0.004	0.602±0.025	M	sm
Y	0.000	0.224	0.224	0.84±0.007	1.000±0.033	S	t

L = large chromosome, M = medium chromosome, S = small chromosome,
m = metacentric, sm = submetacentric, t = telocentric

สรุปผลการทดลอง

ลิงไอล็องมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 42 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 83 ในเพศผู้ และ 84 ในเพศเมีย โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 6 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง 12 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดเล็ก 8 แห่ง และซับเมทาเซนทริกขนาดเล็ก 2 แห่ง บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด

สูตรคาริโอไทป์ลิงไอล็องเพศผู้ คือ

$$2n (42) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + Y$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{13}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + S_1^t$$

สูตรคาริโอไทป์ลิงไอล็องเพศเมีย คือ

$$2n (44) = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{12}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm} + X + X$$

$$\text{หรือ} = L_6^m + L_8^{sm} + M_4^m + M_{14}^{sm} + S_8^m + S_2^{sm}$$

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้สนับสนุนเงินทุนสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้อำนวยการองค์การสวนสัตว์ นายโสภณ ดำน่วย ผู้อำนวยการฝ่ายวิชาการองค์การสวนสัตว์ น.สพ.สุเมธ กมลนรนาท ผู้อำนวยการสวนสัตว์นครราชสีมา นาวาอากาศโทกระวี กรีฑาพล และผู้อำนวยการสวนสัตว์สงขลา นายบัญญัติ อินทร์สุวรรณ ที่ได้อนุญาตทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดลิงไอล็อง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานสวนสัตว์ทุกท่าน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุด. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.

วารเรน บรอดเคลแมน. 2524. สัตว์จำพวกลิงในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว: กรุงเทพฯ. 45 หน้า.

อมรา คัมภีรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 312 หน้า.

Brown, C.J., Dunbar, V.G. and Shafer, D.A. 1986. A comparison of the karyotypes of six species of the genus *Macaca* and a species of the genus *Cercocebus*. *Folia prima*. 46(3): 164-172.

Chiarelli, B. 1962. Comparative and morphometric analysis of primate chromosomes: The chromosomes of genera *Macaca*, *Papio*, *Theropithecus* and *Cercocebus*. *Caryo*. 15: 401-420.

Hirai, S., Terao, K., Cho, F. and Honjo, S. 1991. Chromosome studies on cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Prima Today*. 24: 619-622.

Jones, S., Martin, R., Pilbeam, D. 1994. The Cambridge Encyclopedia of Human Evolution. Cambridge University Press: Cambridge. 506 p.

Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1977. Mammals of Thailand. 1st ed. Kurusapha Ladprao Press: Bangkok, Thailand. 758 p.

Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1988. Mammals of Thailand. 2nd ed. Sahakarn Bhaet: Bangkok, Thailand. 758 p.

Makino, S. and Takagi, N. 1965. Some morphological aspects of the abnormal human Y chromosome. *Cytolo*. 30: 274-291.

Napier, J.R. and Napier, P.H. 1976. A Handbook of Living Primates. John Wiley and Sons: New York. 456 p.

Small, M.F. and Stanyon, R. 1985. High-resolution chromosome of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Amer. J. of Prima*. 9: 63-67.

Stanyon, R., Ardito, G., Lamberti, L. and Bigatti, P. 1983. The banded karyotype of *Macaca fuscata* compared with *Cercocebus atterimus*. *Folia Prima*. 41: 137-146.

Wilson, D.E. and Cole, F.R. 2000. Common Names of Mammals of the World. Smithsonian Institution Press: Washington. 204 p.