สัมมนาวิชาการพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา ครั้งที่ 1: ก้าวแรกแห่งคลังทรัพยากร, 47-56
The 1st Symposium of the Natural History Museum: Initial Steps For Conserving Natural Rosource Depositories, 47-56.

การระบุเพศนกปรอดภูเขา (*Ixos mcclellandii*) ด้วยขนนกโดยใช้อณูชีววิทยาเทคนิค

Using Feather Samples to Identify Sex of Mountain Bulbul (*Ixos mcclellandii*) Based on Molecular Techniques

จิตต์มาศ อินทิพย์[1]
ศุภลักษณ์ ศิริ[1]
ยุวดี พลพิทักษ์[1]
ประทีป ด้วงแค[1]
ครศร ศรีกุลนาถ[2]
สุธีร์ ดวงใจ[1*]

Jitmat Thintip[1]
Supalak Siri[1]
Yuwadee Ponpithuk[1]
Prateep Duengkae[1]
Kornsorn Srikulnath[2]
Sutee Duangjai[1, *]

[1] ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
[1] Department of Forest Biology, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2] ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
[2] Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University

*Corresponding author. E-mail: fforsud@ku.ac.th

รับเรื่อง: 15 ตุลาคม 2563 รับลงพิมพ์: 10 ธันวาคม 2563

บทคัดย่อ

นกปรอดภูเขาเป็นนกที่ไม่สามารถระบุเพศได้จากลักษณะภายนอก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุเพศ และตรวจสอบความแตกต่างด้านลักษณะสัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขาที่มีความสัมพันธ์กันกับเพศ โดยการระบุเพศนกใช้ตำแหน่ง Chromodomain-helicase-DNA-binding (CHD gene) ด้วยไพรเมอร์ P2/P8, 1237L/1272H และ 2550F/2718R มีเพียงไพรเมอร์เดียวที่สามารถระบุเพศของนกปรอดภูเขาได้คือ ไพรเมอร์ 2550F/2718R ผลผลิตพีซีอาร์พบว่าเพศเมียมีแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ ที่มีชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 450 คู่เบส (CHD-W) และขนาด 600 คู่เบส (CHD-Z) และนกเพศผู้มีแถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ ของอัลลีล CHD-Z และการศึกษาความแตกต่างระหว่างเพศโดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างเพศที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งหมด 11 ลักษณะ ได้แก่ Weight, Total length with feathers (TLF), Length of exposed culmen (LEC), Length of from nostril (LBN), Length of tomium (LT), Length of rictus (LR), Width of mandible at base (WMB), Length of exposed ramus (LER), Tibia, Diameter of middle of tarsus (Mtarsus) และ Length of outer claw (T-outer) โดยมีมีค่า $p < 0.05$ ซึ่งผลการศึกษาของการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม (discriminant analysis) โดยใช้ลักษณะ 2 ลักษณะที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเพศได้ คือ ลักษณะ LR โดยเพศเมียมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.61±0.27 มิลลิเมตร และ เพศผู้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 7.23±0.72 มิลลิเมตร และลักษณะ TLF โดยเพศเมียมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 206±10.6 มิลลิเมตร และเพศผู้มีคาเฉลี่ยอยู่ที่ 222±3.30 มิลลิเมตร ในการทำนายสำหรับสร้างแบบจำลองโดยมีสมการการพยากรณ์ของสมาชิก Y = -77.71+TLF(0.27)+LR (2.78) ที่ Cutoff value = 0 จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการประเมินโครงสร้างประชากร อัตราส่วนระหว่างเพศเพื่อการอนุรักษ์ต่อไป

คำสำคัญ การระบุเพศนก นกปรอดภูเขา อณูชีววิทยาเทคนิค

ABSTRACT

Morphological measurements cannot discriminate the sex of Mountain Bulbul. Sex identification is an important issue that needs to be addressed for ecological and evolutionary biology studies, as well as to improve breeding and conservation management. Sex identification from feathers of Mountain Bulbul was performed by amplification of the CHD gene (Chromodomain-helicase-DNA-binding) with polymerase chain reaction (PCR) using universal primers P2/P8, 1237L/1272H and 2550F/2718R. The 2550F/2718R primer set gave the best results as amplified by a single band in male (ZZ) and two bands, differing in fragment sizes, in female (ZW). CHD-W showed a band at 450 bp, while CHD-Z showed a band at 600 bp. The other primer showed no band for this species. Morphological measurements coupled with molecular techniques such as PCR based sex genotyping could further facilitate conservation of Mountain Bulbul. And the study of the sex difference with 11 statistically significant morphological mean values: Weight, TLF, LEC, LBN, LT, LR, WMB, LER, Tibia, Mtarsus, and T-outer with $p < 0.05$. (discriminant analysis) using 2 traits that can differentiate between the sexes: the LR trait, with the mean female being 5.61 ± 0.27 mm, the male mean at 7.23 ± 0.72 mm and the TLF trait by sex. The mean females were 206 ± 10.6 mm and the mean males were 222 ± 3.30 mm. In the prediction for modeling with the predictive equation of members $Y = -77.71 + TLF\ (0.27) + LR\ (2.78)$ Where Cutoff value = 0 from this study can be used to assess population structure. sex ratio for further conservation.

KEYWORDS: Identify sex, mountain bulbul, molecular techniques

คำนำ

นกประจำถิ่นมีความสำคัญอย่างมากต่อระบบนิเวศ โดยเฉพาะระบบนิเวศป่าไม้เนื่องจากมีบทบาทในการช่วยกระจายเมล็ดพันธุ์ไม้ ควบคุมและกำจัดประชากรของหนอนและแมลง รวมไปถึงช่วยผสมเกสร ซึ่งส่งผลทำให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ของป่า นอกจากนี้นกประจำถิ่นเป็นนกที่มีการกระจายพันธุ์ในแต่ละถิ่นอาศัยที่เหมาะสมของแต่ละชนิดสามารถเป็นตัวชีวัดความอุดมสมบูรณ์ของป่าได้ (Duengkae, 2550) ซึ่งนกปรอดเป็นนกในวงศ์ Pycnonotidae ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของระบบนิเวศป่าฝนเขตร้อนและนกชนิดนี้มีความหลากหลายทางนิเวศวิทยาสามารถอยู่ได้หลายพื้นที่ที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบของพืชพรรณที่แตกต่างกัน มีนิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลาย โดยนกปรอดแต่ละสกุลมีถิ่นอาศัยที่แตกต่างกันไปตามความเหมาะสมและสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดความอุดมสมบูรณ์ของป่าได้ เนื่องจากนกปรอดถือเป็นผู้ช่วยกระจายเมล็ด (seed disperser) ที่สำคัญในระบบนิเวศ (Duengkae, 2550) มีรายงานพบนกปรอดกินพืชผลไม้ประมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ของพืชผล และการเคลื่อนที่ของนกปรอดยังมีความสัมพันธ์กับความพร้อมของอาหารในแต่ละฤดูกาล จึงส่งผลให้นกปรอดมีรูปแบบการกระจายเมล็ดพันธุ์พืชในป่าได้หลากหลาย (Sankamethawee *et al*., 2011; Khamcha *et al*., 2012; Khamcha and Gale, 2012) ซึ่งชนิดของนกขึ้นอยู่กับโครงสร้างองค์ประกอบของพืชและแหล่งอาหารสำหรับการสืบพันธุ์เพื่อการอยู่รอดและความไวต่อการเปลี่ยนแปลงที่อยู่อาศัย

นกปรอดภูเขาทั่วโลกมี 9 ชนิดย่อย ซึ่งในประเทศไทยพบ 4 ชนิดย่อย มีการกระจายพันธุ์ในเทือกเขาหิมาลัย จีนตอนใต้ พม่า ไทย ลาว กัมพูชา เวียดนาม เกาะไหหลำ และมาเลเซีย (จารุจินต์, 2555; Khobkhet, 2001) เป็นเป็นนกที่มีความสำคัญในการกระจายเมล็ดพันธุ์ในภูมิภาคเอเชียโดยเฉพาะในถิ่นที่อยู่อาศัยที่เสื่อมโทรม นกปรอดภูเขากินพืชได้หลายชนิด และสามารถเป็นตัวกระจายเมล็ดพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Corlett, 2017; Shakya and Sheldon, 2017; Sankamethawee *et al*., 2011) แต่ในปัจจุบันมีการเติบโตของประชากรมนุษย์อย่างรวดเร็วส่งผลให้ปัญหาการบุกรุกทำลายถิ่นที่อยู่อาศัยของสัตว์ อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงทางสภาพภูมิอากาศส่งผลต่อโครงสร้างประชากร โดยเฉพาะใน

พื้นที่เขตสงวนชีวมณฑลแม่สา-คอกม้า ที่มีปัญหาไฟป่าและการบุกรุกพื้นที่ได้ส่งผลกระทบต่อการสูญเสียถิ่นที่อยู่อาศัยเป็นผลทำให้นกปรอดภูเขาลดลง (Sekercioglu, 2002) อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงทางสภาพภูมิอากาศส่งผลต่อความหลากหลายทางพันธุกรรม (โองการ, 2556) และอัตราส่วนระหว่างเพศ ก่อให้เกิดการขาดสมดุลของโครงสร้างประชากรและการสือต่อพันธุ์ในอนาคต แต่นกปรอดภูเขาไม่สามารถระบุเพศจากลักษณะสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้นควรศึกษาการระบุเพศของนกปรอดภูเขาเพื่อใช้บ่งชี้ถึงอัตราส่วนระหว่างเพศนกปรอดภูเขา ดังนั้นควรให้ความสำคัญและศึกษาเกี่ยวกับการระบุเพศของนกปรอดภูเขาและศึกษาความแตกต่างระหว่างสัณฐานวิทยาระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เพื่อสามารถใช้เป็นข้อมูลด้านโครงสร้างประชากร อัตราส่วนระหว่างเพศ และตรวจสอบความแตกต่างในลักษณะสัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขาที่มีความสัมพันธ์กันกับเพศ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการจัดการโครงสร้างของประชากรเพื่อการอนุรักษ์นกปรอดภูเขาต่อไป

อุปกรณ์ และวิธีการ

วิธีการศึกษา

1. พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการศึกษาในแปลงถาวรขนาด 16 เฮกตาร์ บริเวณพื้นที่สงวนชีวมณฑลแม่สา-คอกม้า ซึ่งตั้งอยู่ภายในพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการเก็บข้อมูลเป็นประจำทุกเดือน ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562

2. การตั้งตาข่ายดักนก

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของนกปรอด ดำเนินการดักจับนกปรอดภูเขา (*Ixos mcclellandii* Horsfield, 1840) โดยวิธีการสุ่มตั้งตาข่าย (mist net) ในแปลงศึกษาสังคมพืชถาวรขนาด 400×400 เมตร ทั้งหมด 12 จุด โดยแต่ละจุดมีตำแหน่งการตั้งตาข่ายดักนกแบ่งออกเป็น 3 ตำแหน่ง คือ 1) บริเวณช่องว่างของเรือนยอด (Forest gap; ความสูงของตาข่าย 9 เมตร ยาว 18 เมตร) เป็นบริเวณที่เกิดช่องว่างป่าตามธรรมชาติ มีสาเหตุมาจากการเกิดจากโค่นล้มของไม้ใหญ่ (Richards, 1996; De Souza *et al*., 2001) 2) บริเวณรอยต่อระหว่างช่องว่างของเรือนยอดกับบริเวณเรือนยอดที่แน่นทึบ (Gap edge; ความสูงของตาข่าย 4 เมตร) และ 3) บริเวณเรือนยอดแน่นทึบ (Forest; ความสูงของตาข่าย 4 เมตร ยาว 18 เมตร) (Figure 1) ดำเนินการดักจับนกตั้งแต่ช่วงเวลา 6:00 นาฬิกา ถึง 16:00 นาฬิกา โดยทำการเช็คนกที่เข้าติดในตาข่าย ทุก ๆ 30 นาที ภายหลังทำการเปิดตาข่ายดักนกในช่วงเวลาที่กำหนด หากฝนตกจะทำการปิดตาข่ายทันทีเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายต่อตัวนก (Wunderle *et al*., 2005) โดยทุกขั้นตอนคำนึงถึงความปลอดภัยของนก

Figure 1. Mist net.

Table 1. Characteristics and methods used to measure bird morphology. (Baldwin *et al*., 1931).

Characteristics	Codes	Methods
Weight	W	Weigh the bird with a digital scale.
Total length with feathers	TLF	Measure the length from mouth to tail.
Length of exposed culmen	LEC	Measure the length from the forehead to tip of upper lip.
Length of total culmen	LTC	Measure the hair length from the forehead to tip of upper lip.

Table 1. (Continued).

Characteristics	Codes	Methods
Length of bill from gape	LBG	Measure the length from tip of jaw to tip of upper mouth.
Length of from nostril	LBN	Measure the length from center of nostril to top of mouth.
Length of bill to feathers on side of maxilla	LBFSM	Measure the length from top of mouth to forehead.
Height of bill at base	HBB	Measure the height from forehead to lower jaw.
Height of bill at nostrils	HBN	Measure the height from center of nostril to lower scissors.
Width of bill at base	WBB	Measure the width of forehead
Width of bill at gape	WBG	Measure the width of mandible.
Length of tomium	LT	Measure the length from top of mouth to edge of mouth.
Length of rictus	LR	Measure the length from edge of mouth to jaw.
Greatest height of maxilla	GHM	Measure the height from forehead to edge of mouth.
Total length of mandible	TLM	Measure the length from tip of lower lip to tip of jaw.
Length of exposed mandible	LEM	Measure the length from lower lip to edge of bill.
Width of mandible at base	WMB	Measure the width of the bill.
Length of exposed ramus	LER	Measure the length of bottom groove to tip of jaw.
Length of gonys	LG	Measure the length of bottom groove to tip of bill.
Length of rectal bristles	LRB	Measure the length of tentacles pointed out to longest side.
Length of head	LH	Measure the length from crown.
Length of bill form head	HB	Measure the length of the fontanelle to the tip of the bill.
Greatest width of head	GWH	Measure the width between the 2 ears.
Interorbital width of head	IWH	Measure the width between the 2 eyes.
Height of eye	HEye	Measure the height of the bird's eye
Length of eye	LEye	Measure the length of the bird's eye
Length of frontal antiae	LFA	Measure the length of the tentacles pointed out the longest front.
Length of tail	Ltail	Measure tail length
Distance from upper tail-coverts to end tail	DUTET	Measure the length between top hair and tip of the tail.
Length of tibia	Tibia	Measure the length of tibia

Table 1. (Continued).

Characteristics	Codes	Methods
Length of tarsus	Tarsus	Measure the length of tarsus.
Diameter of middle of tarsus	Mtarsus	Measure the diameter of the tarsus.
Length of inner toe	T-inner	Measure the length of the inner toe.
Length of middle toe	T-middle	Measure the length of the middle toe.
Length of outer toe	T-outer	Measure the length of the outer toe.
Length of digit toe	T-digit	Measure the length of the digit toe.
Length of inner claw	C-inner	Measure the length of the inner claw.
Length of middle claw	C-middle	Measure the length of the middle claw.
Length of outer claw	C-outer	Measure the length of the outer claw.
Length of digit claw	C-digit	Measure the length of the digit claw.

เป็นอันดับแรก (Bloom *et al*., 2007) โดยกิจกรรมที่ดำเนินการสอดคล้องกับหลักเกณฑ์ของกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย DNP 0907.4/9819

3. การวัดลักษณะสัณฐานวิทยาของนก

นกทุกตัวที่ติดตาข่าย ทำการติดห่วงขานก (Bird ringing) ทุกครั้ง จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลสัณฐานวิทยาทั้งหมด 42 ลักษณะ (Table 1)

จากนั้นเก็บตัวอย่างขนบนหลังนก จำนวน 7-9 ก้าน เป็นบริเวณที่มีขนอ่อนนุ่มและไม่ส่งผลกระทบต่อการบินของนก ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และปล่อยนกกลับสู่ธรรมชาติ

4. การวิเคราะห์ DNA ในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณปลอกขนนกมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี salting outmethod จากนั้นระบุเพศด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล ทำได้โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบนยีน Chromo-helicase DNA binding protein (CHD) โดยใช้ไพรเมอร์ 2550F/2718R (Fridolfsson and Ellegren, 1999) 1237L/1272H (Goh *et al*., 2013) และไพรเมอร์ P2/P8 (Griffiths *et al*., 1998) เพื่อหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สุดในการระบุเพศนกปรอดภูเขา โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะมีสารทั้งหมด 15 ไมโครลิตรต่อหลอดทดลอง ประกอบด้วย 2X Taq master mix ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1X ไพรเมอร์ 2550/2718R หรือไพรเมอร์ P2/P8 หรือไพรเมอร์ 1237L/1272H โดยแต่ละไพรเมอร์มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1 ไมโครโมลาร์ เติม nuclease free water จนครบ 15 ไมโครลิตร นำไปเข้าเครื่อง DNA thermal cycler โดยมีสภาวะดังนี้ (ตารางที่ 2) จากนั้นนำไปตรวจสอบภายใต้แสงยูวีด้วยเครื่อง gel documentation และถ่ายภาพด้วยโปรแกรม Gene Snap form SnyGene

Table 2. PCR thermal cycler parameters.

Primer	Initial Denature	Denature	Anneal	Extension	Final Extension
P2/P8	95°C 3 Min	95°C 45 S	56°C 45 S	72°C 45 S	72°C 10 Min
1237L/1271H	95°C 3 Min	95°C 45 S	54°C 45 S	72°C 45 S	72°C 10 Min
2550F/2718R	95°C 3 Min	95°C 45 S	50°C 45 S	72°C 45 S	72°C 10 Min

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างของลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกระหว่างเพศจำนวน 42 ลักษณะที่ได้จากการวัดจากตัวอย่าง มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม RStudio ด้วย T-Test เพื่อใช้ทดสอบความแตกต่าง หรือเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะของนกระหว่างเพศผู้และเพศเมีย จากนั้นนำมาทดสอบ Generalized Linear Model (GLM) เพื่อหาสมการที่เหมาะสมที่สุดต่อไป

ผล และวิจารณ์

1. ผลการระบุเพศนกปรอดภูเขา

จากการทดสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน CHD เพื่อระบุเพศนกปรอดภูเขา พบว่าไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ ไพรเมอร์ 2550F/2718R ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของอัลลีล CHD-Z และอัลลีล CHD-W ได้อย่างชัดเจน และมีความแตกต่าง ระหว่างอัลลีล 150 คู่เบส โดยเพศผู้เกิด 1 แถบของอัลลีล CHD-Z มีขนาดชิ้นดีเอ็นเอประมาณ 600 คู่เบส และเพศเมียเกิด 2 แถบของอัลลีล CHD-Z และอัลลีล CHD-W ซึ่งมีขนาดชิ้นดีเอ็นเอประมาณ 600 และ 450 คู่เบส ตามลำดับ (Figure 2)

2. การศึกษาความแตกต่างโดยใช้ค่าเฉลี่ย และความแปรปรวนระหว่างเพศจากลักษณะทาง สัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขา

2.1 การศึกษาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างเพศจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขา ใช้จำนวนเพศผู้ 19 ตัว และเพศเมีย 28 ตัว โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ภายนอกที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างเพศที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งหมด 11 ลักษณะ ได้แก่ Weight, TLF, LEC, LBN, LT, LR, WMB, LER, Tibia, Mtarsus

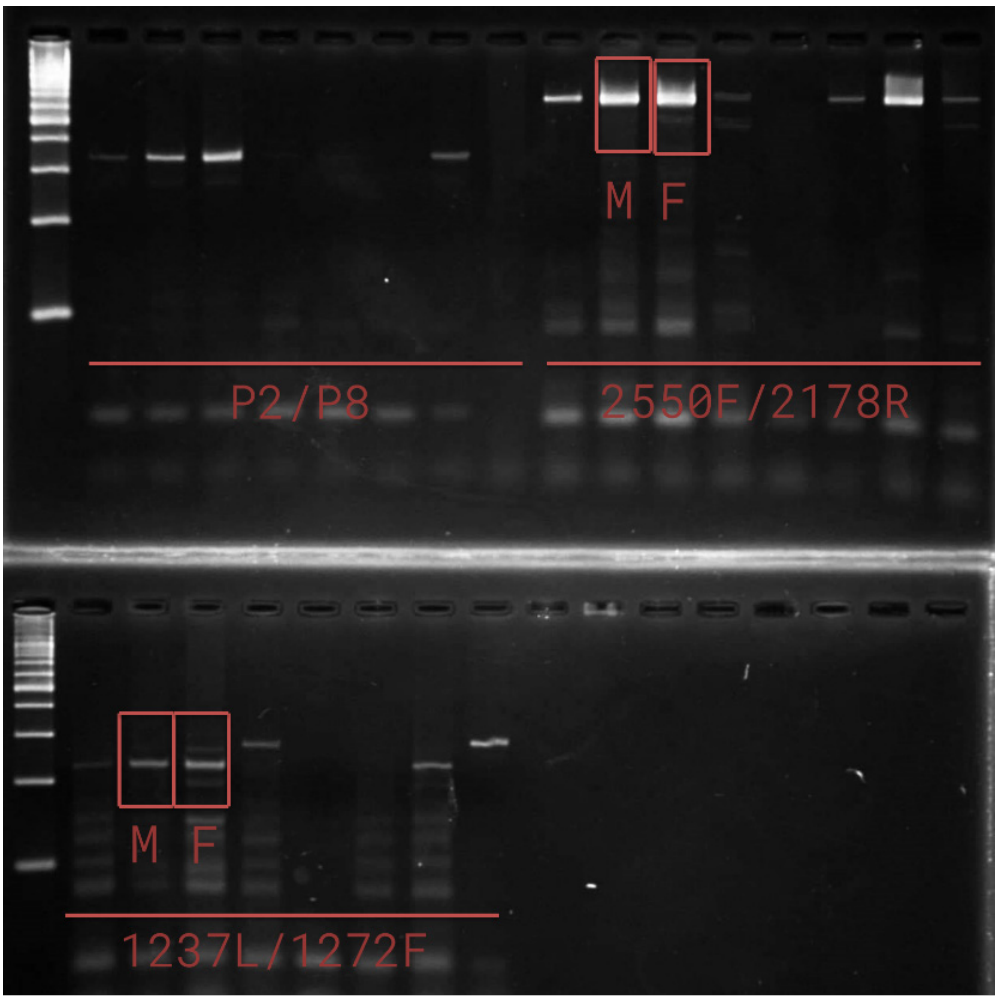

Figure 2. Tests for suitable universal primers were given to determine the sex of the mountain bulbul.

Table 3. Mean of each morphological value ($\overline{X}$) using the number of mountain bulbul Using 19 males and 28 females, the confidence interval was 100%.

ลักษณะของนก	p-value
Weight	0.004
TLF	0.035
LEC	0.035
LBN,	0.025
LT	0.046
LR	0.028
WMB	0.042
LER	0.040
Tibia	0.006
Mtarsus	0.007
T-outer	0.030

และ T-outer โดยมีมีค่า $p < 0.05$ (Table 3) โดยลักษณะของเพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมียซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Darwin (1874) พบว่านกเพศผู้จะมีขนาดตัวที่ใหญ่กว่านกเพศเมียเพื่อใช้ในการต่อสู้แก่งแย่งตัวเมียในการสืบพันธุ์ถ่ายทอดพันธุกรรมสู้รุ่นลูก และ Sz´ekely *et al*. (2007) ได้รวบรวมข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของนกทั้งหมด 3,767 ชนิด พบว่า Body mass, Wing length, Tarsus length, Bill length และ Tail length ระหว่างเพศผู้และเพศเมียมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (X2=50.316, df=10, P<0.001)

2.2 การศึกษาความแตกต่างโดยใช้การวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม (Discriminant analysis) ระหว่าง เพศจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขา โดยใช้ลักษณะ TLF และ LR ที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างเพศที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยมีสมการการพยากรณ์ของสมาชิก ดังนี้

$$Y = -77.71+TLF(0.27)+LR(2.78)$$

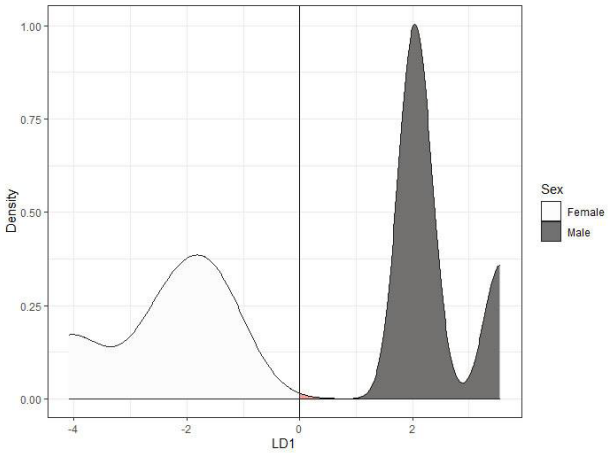

Figure 3. Sexual grouping of the Mountain Bulbul species using TLF and LR morphology; Cutoff value = 0.

Classification Results สรุปผลลัพธ์การทำนาย โดยให้ค่าการทำนายของหน่วยตัวอย่าง ถูกต้อง 100% สามารถทำนายการเป็นสมาชิกของเพศผู้ ได้ถูกต้อง 100% และสามารถทำนายการ เป็นสมาชิกของเพศเมีย ได้ถูกต้อง 100% โดยการจัดสมาชิกเข้ากลุ่มเพื่อแยกเพศของนกปรอดภูเขา มีค่า Cutoff value เท่ากับ (Figure 3)

การศึกษาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างเพศจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของนกปรอดภูเขา โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างเพศที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งหมด 2 ลักษณะ ได้แก่ TLFและ LT โดยมีค่า $p < 0.05$ ซึ่งลักษณะ LR โดยเพศเมียมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.61±0.27 มิลลิเมตร และเพศผู้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 7.23±0.72 มิลลิเมตร และลักษณะ TLF โดยเพศเมียมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 206±10.6 มิลลิเมตร และเพศผู้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 222±3.30 มิลลิเมตร (Figure 4) จากรายงานของ Brittion (1971) ได้ศึกษาขนาดของนกในวงศ์ปรอด (PYCNOTIDAE) ระหว่างเพศผู้และเพศเมียของนกปรอดแต่ละชนิดพบว่านกในวงศ์ปรอดเพศผู้มีขนาดใหญ่มากว่าเพศเมีย เมื่อขนาดเป็นมาตรฐานตามความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เช่นความแตกต่างของความยาวปีกจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกที่ชัดเจนระหว่างขนาดของเพศผู้และเพศเมีย (Abouheif and Fairbairn, 1997; Fairbairn, 1997) โดยขนาดที่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมียสามารถเกิดได้จาก 3 สาเหตุ ได้แก่

1) ข้อจำกัดด้านวิวัฒนาการ (Clutton-Brock *et al*., 1977; Webster, 1992; Fairbairn, 1997) เพศจะตอบสนองแตกต่างกันไปตามแรงกดดันในการเลือกขนาดร่างกายที่คล้ายคลึงกัน ตัวอย่างเช่นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในเพศผู้และเพศเมียอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดทางเพศได้หากเพศที่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมต่อขนาดของร่างกายเพื่อสนองต่อทางวิวัฒนาการที่ดีกว่าในการคัดเลือก (Leutenegger and Cheverud, 1982)

2) การคัดเลือกโดยธรรมชาติเช่นการแข่งขันทรัพยากรทางเพศ (Clutton-Brock *et al*., 1977; Payne, 1984; Webster, 1992; Fairbairn, 1997) ยังสามารถก่อให้เกิด allometry ขนาดทางเพศ เช่นหากขนาดตัวที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลดจำนวนของการแข่งขันระหว่างกัน (MacArthur, 1972) สิ่งมีชีวิตที่มีขนาดใหญ่ขึ้นอาจ

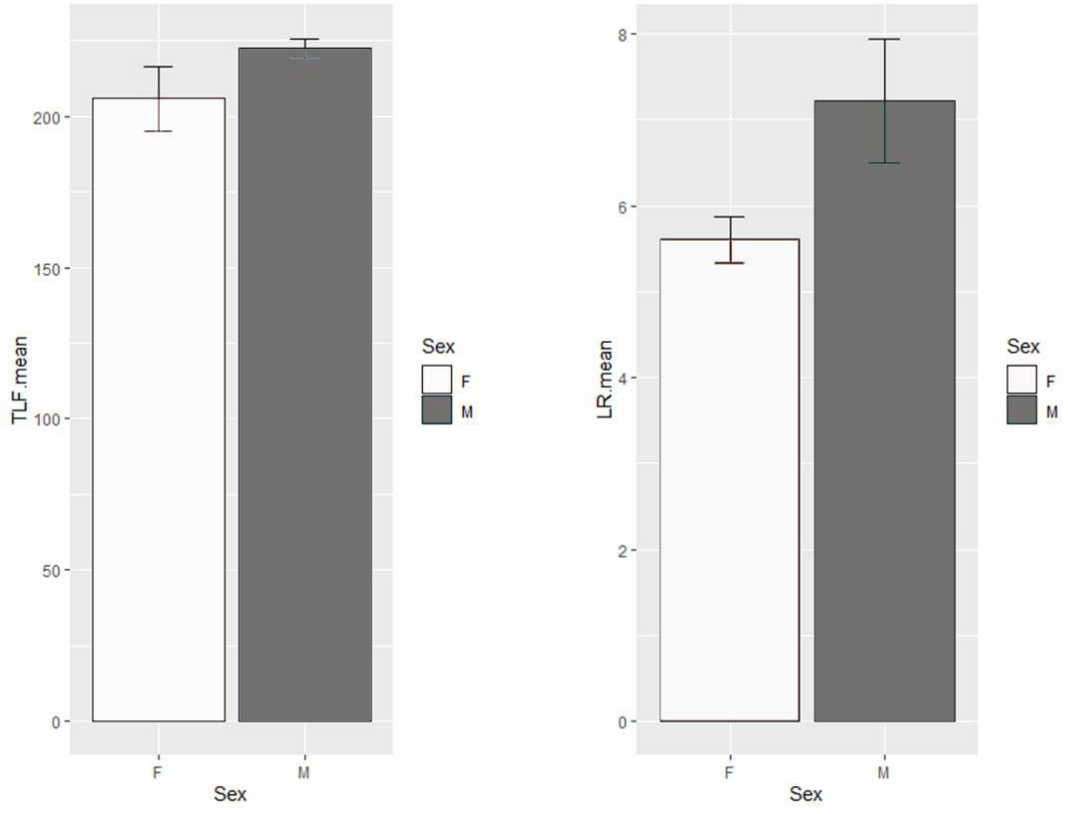

Figure 4. Difference of sex mean from the morphological characteristics of mountain bulbul.

มีจำนวนที่น้อยกว่าเนื่องจากเพศแตกต่างกันไปตามนิเวศวิทยา

3) การเลือกเพศแบบมีทิศทางทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการที่สัมพันธ์กัน (Smith 1977; Payne 1984; Webster 1992; Abouheif & Fairbairn 1997; Fairbairn 1997) ในสถานการณ์ทั่วไปที่ขนาดของเพศผู้จะมีผลต่อการเลือกของเพศเมีย

สรุป

1. จากการทดสอบไพร์เมอร์ที่ใช้ในการระบุเพศของนกปรอดภูเขาบน Chromodomain-helicase-DNA-binding ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ไพรเมอร์ที่สามารถระบุเพศของนกปรอดภูเขาได้ คือ 2550F/2718R มีชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 450 คู่เบส (CHD-W) และขนาด 600 คู่เบส (CHD-Z)

2. การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างเพศผู้และเพศเมียด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาทั้งหมด 42 ลักษณะ พบว่ามี 11 ลักษณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ Weight, TLF, LEC, LTC, LBG, LR, WMB, LER, Tibia, Mtarsus และ T-outer

3. ผลการศึกษาของการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม (Discriminant analysis) ที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างเพศที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ และมีการกระจายโดยทดสอบเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมกันระหว่างเพศผู้กับเพศเมียทั้งสองกลุ่มพบว่าความแปรปรวนร่วมกันระหว่างเพศแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยที่ลักษณะ TLF และ LR

คำนิยม

ขอขอบคุณ อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ที่อนุญาตให้เข้าใช้พื้นที่ ตลอดจนนางสาวศุภลักณ์ ศิริ นางสาวยุวดี พลพิทักษ์ นายปานวริศร์ ปานศรี นายจักรพงษ์ ทองสวี นายกุลภัสร์ กระบวนแสง และนางสาวนรารัตน์ เหล่าพิเชียรพงษ์ สำหรับคำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ และคอยสนับสนุนจนทำให้วิจัยในครั้งนี้แล้วเสร็จ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จารุจินต์ นภีตะภัฏ กานต์ เลขะกุล และ วัชระ สงวนสมบัติ. 2555. **นกเมืองไทย**. ด่านสุทธาการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร.

โองการ วณิชาชีวะ. 2556. **Application of molecular markers to assess genetic diversity in genus *Gynura* for sustainable conservation**. มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. กรุงเทพมหานคร.

Abouheif, E. and D.J. Fairbairn. 1997. A comparative analysis of allometry for sexual size dimorphism: assessing Rensch's rule. **Am. Nat.** 149: 540–562. doi:10.1086/286004.

Baldwin, S.P., H.C. Oberholser and L.G. Worley, 1931. **Measurements of Birds**. Cleveland museum of natural, Ohio.

Bloom, P.D., W.S. Clark and W.J. Kidd. 2007. **Raptor Research and Management Techniques.** Washington: Hancock House Publishers.

Brittion, P. L. 1972. Weights of African bulbuls (Pycnonotidae). **Ostrich** 43(1): 23–42.

Corlett RT. 2017. Frugivory and seed dispersal by vertebrates in tropical and subtropical Asia: an update. **Global Ecol Conserv** 11: 1–22.

Clutton-Brock, T.H., P.H. Harvey and B. Rudder. 1977. Sexual dimorphism, socionomic sex-ratio and body-weight in primates. **Nature** 269: 797–800. doi:10.1038/269797a0.

Darwin, C.R. 1874. **The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex**. London: John Murray. 2d ed.; tenth thousand.

De Souza, O., J.H. Schoereder, V. Brown and R.O. Birregaard, Jr. 2001. **Atheoretical Overview of**

The Processes Determining Species Richness in Forest Fragment. In: R.O. Bierregaard Jr, C Gascon, TE Lovejoy,

Fairbairn, D.J. 1997. Allometry for sexual size dimorphism: pattern and process in the coevolution of body size in males and females. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 28: 659–687. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.28.1.659.

Fridolfsson, A.-K. and H. Ellegren. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of nonratite birds. **Journal of Avian Biology** 20: 116–121.

Goh, W., C. Lim and M. Rahman. 2013. Isolation of mitochondrial control region for white-nest swiftlets (aerodramus fuciphagus) using primer walking techniques. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science** 36(2): 115–122.

Griffiths, R., M.C. Double, K. Orr and R.J. Dawson. 1998. A DNA test to sex most birds. **Molecular Ecology** 7: 1071–1075.

Leutenegger, W. and Cheverud. 1982. Correlates of sexual dimorphism in primates: ecological and size variables. **Int. J. Primatol**. 3: 387–402. doi:10.1007/BF02693740.

MacArthur, R.H. **Geographical ecology.** New York, NY: Harper and Row. Mesquita R (eds) Lessons from Amazonia: the ecology and conservation of a fragmented forest. New Haven, London.

Payne, R.B. 1984. Sexual selection, lek and arena behaviour, and sexual size dimorphism in birds. **Ornithol. Monogr.** 33: 1–52.

Richards, P.W. 1996. **The Tropical Rain Forest: an Ecological Study.** Cambridge University, UK.

Sankamethawee, W., A.J. Pierce, G.A. Gale and B.D Hardesty. 2011. Plant frugivore interaction in an intact tropical forest in north-east Thailand. **Integr Zool** 6(3): 195–212.

Sekercioglu, C.H. 2002. Forest fragmentation hits insectivorous birds hard. **Directions in Science** 1: 62–64.

Shakya, S.B. and F.H. Sheldon. 2017. The phylogeny of the world's bulbuls (Pycnonotidae) inferred using a supermatrix approach. **Ibis** 159(3): 498–509.

Smith, J.M. 1977. Parental investment—a prospective analysis. **Anim. Behav.** 25: 1–9. doi:10.1016/0003-3472(77)90062-8

Sz´ekely, T., T. Lislevand and J. Figrola. 2007. **Sexual Size Dimorphism in Birds.** Pp. 27–37. *In* D.J. Fairbairn, W.U. Blanckehorn and T. Sz´ekely (eds.). **Sex Size and Gender Roles.** Oxford University Press, Oxford, U.K.

Khamcha, D.and G. A. Gale. 2012. The use of tree-fall gaps by a forest interior avian frugivore in a tropical evergreen forest. Forktail 28: 53–56.

Khamcha, D., T. Savini, W.Y. Brockeman and V. Khobkhet. 2001. **Birds in Thailand.** Documentary, Bangkok.

Sankmethawee, W., A.J. Pierce, G.A. Gale and B.D. Hardesty. 2011. Plant-frugivore interactions in an intact tropical forest in north-east Thailand. **Integr. Zool.** 6: 195–212.

Webster, M.S. 1992. Sexual dimorphism, mating system and body size in New-World blackbirds (Icterinae). **Evolution** 46: 1621–1641. doi:10.2307/2410020.