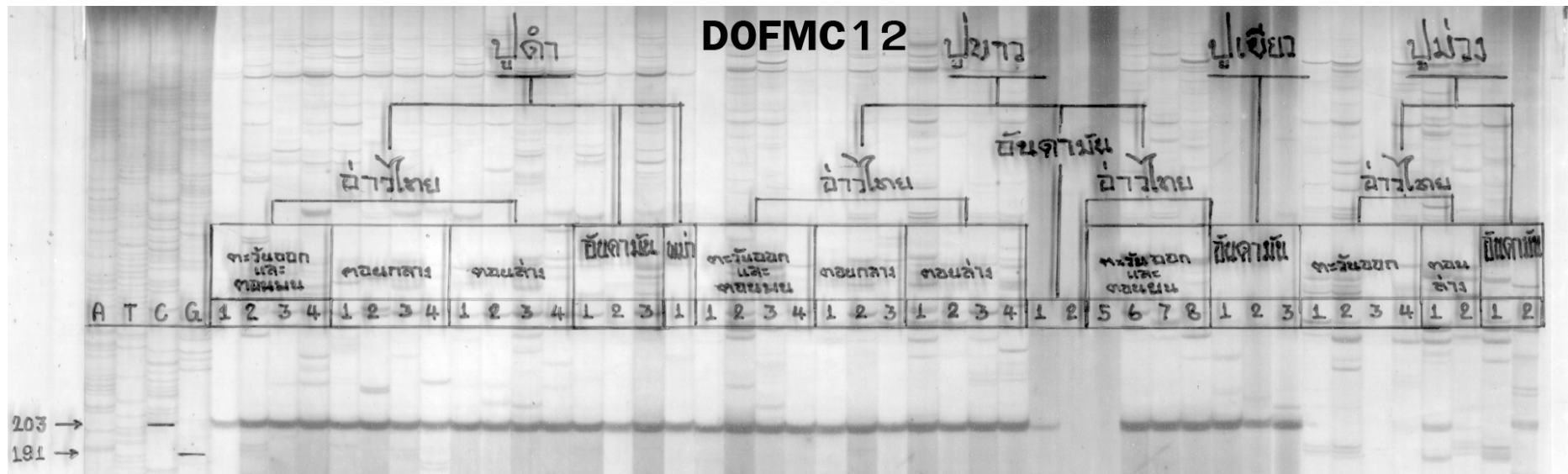
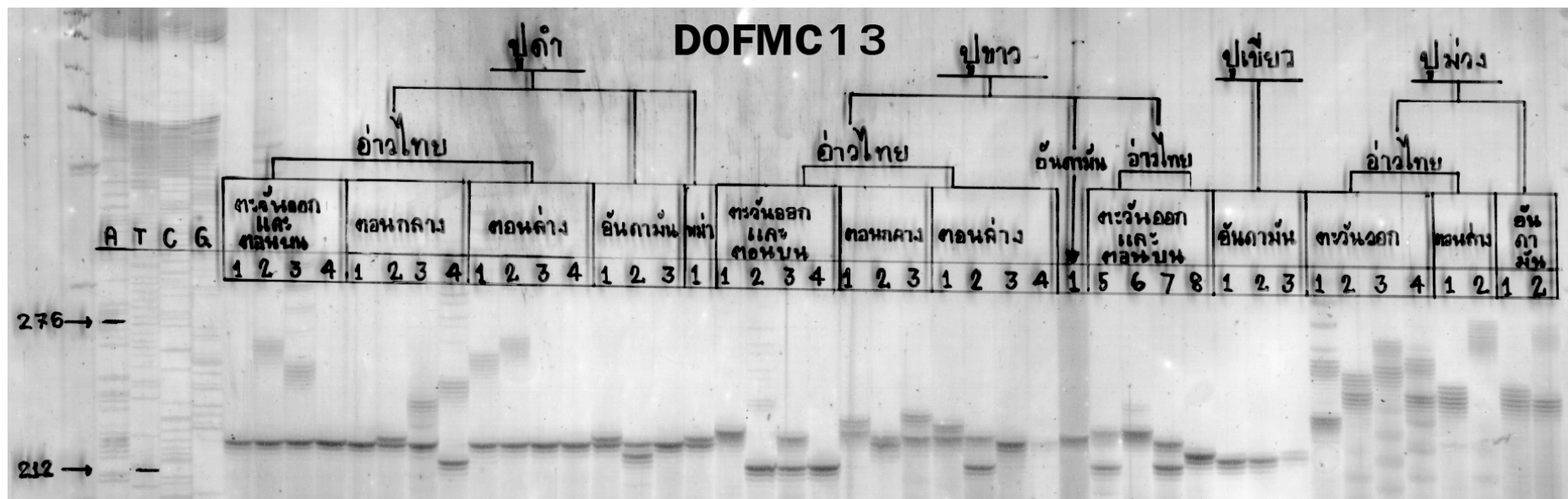




ภาพที่ 3-24 Dinucleotide bands ของ microsatellite ณ โลกัสที่วิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ DOFMC12 ในตัวอย่างปูทะเลจากแหล่งต่างๆ ของอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน อ่าวไทยตอนกลาง อ่าวไทยตอนล่าง ทะเลอันดามัน และฝั่งพม่า

หมายเหตุ: ในภาพเป็นการแสดง bands ตัวอย่างในปูทะเล ระหว่าง base pairs ที่ 191 ถึง 203 ที่เกิดจากการวิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์นี้



ภาพที่ 3-25 Dinucleotide bands ของ microsatellite ฃ โลกัศที่วิเคราะห้ด้วยไพรเมอร์ DOFMC13 ในตัวย่างปลุทะเลจากแหล่งต้งๆ ของอ่าวไทยฝั้ะวันออกและตอนบน อ่าวไทยตอนกลาง อ่าวไทยตอนล่าง ทะเลอันดามัน และฝั้ะงพม่า

หมายเหตุ: ในภาพเป็นการแสดง bands ในปลุทะเล ระหว่าง base pairs ที่ 212 ถึง 276 ที่เกิดจากการวิเคราะห้ด้วยไพรเมอร์นี้ เพื่อเป็นตัวย่าง ดังนั้น base pairs ที่แสดงไว้อาจไม่ครบตามที่ระบุในผลการศึ้ษาของบทที่ 5

3.5 สรุปผล

3.5.1 ปุ่มน้ำ

- 1) การพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมไม่โครแซทเทลไลต์ในปุ่มน้ำ พบโคลอนที่มีชนิดดีเอ็นเอแทรกในพลาสมิดจำนวน 96 โคลอนี ทำการคัดเลือกโคลอนที่มีลำดับไม่โครแซทเทลไลต์โดยวิธี colony hybridization ได้ 48 โคลอนี คิดเป็น 50%
- 2) การวิเคราะห์ลำดับเบสในปุ่มน้ำ พบว่าลำดับไม่โครแซทเทลไลต์ที่ได้เป็นแบบ dinucleotide ตามโพรบที่ใช้ โดยลำดับไม่โครแซทเทลไลต์ส่วนใหญ่ของจีโนมปุ่มน้ำมีจำนวน repeats ของ AG และ TG จำนวน 26 – 34 repeats
- 3) เป็นลำดับไม่โครแซทเทลไลต์ที่สอดคล้องกับโพรบ (AG)_n จำนวน 32 ลำดับ (66.7%) และโพรบ (TG)_n จำนวน 16 ลำดับ (33.3%) สรุปคือ จีโนมปุ่มน้ำในการศึกษานี้มีลำดับไม่โครแซทเทลไลต์ชนิด (AG)_n มากกว่า (TG)_n 2 เท่า
- 4) ออกแบบคู่ไพรเมอร์สำหรับใช้ในการเพิ่มปริมาณไม่โครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอได้จำนวน 34 คู่ คิดเป็น 70.8% โดยไพรเมอร์ปุ่มน้ำมีขนาด 19 – 26 base
- 5) การทดสอบเครื่องหมายไม่โครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอในปุ่มน้ำ พบว่าไพรเมอร์ที่สามารถหาสภาวะเหมาะสมและตรวจสอบยืนยันได้ในการทำพีซีอาร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างปุ่มน้ำ ได้แก่ไพรเมอร์ปุ่มน้ำจำนวน 10 ไพรเมอร์ คือ DOFBS3, 4, 19, 23, 25, 26, 27, 28, 29 และ 30 และไพรเมอร์ปุ่มทะเล 1 ไพรเมอร์ คือ DOFMC8 รวมเป็น 11 ไพรเมอร์
- 6) การทดสอบในปุ่มน้ำ ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากธรรมชาติทั้งในฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน จากประชากรต่างๆ จำนวน 6 แห่ง ได้แก่ จ.ตราด จ.เพชรบุรี จ.นครศรีธรรมราช จ.ระนอง จ.กระบี่ และ จ.สตูล พบว่า ไม่โครแซทเทลไลต์ดังกล่าวกระจายอยู่ในช่วง 160-430 คู่เบส

3.5.2 ปู่ทะเล

- 1) การทดสอบเครื่องหมายไม่โครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอในปู่ทะเล พบว่าไพรเมอร์ที่สามารถหาสภาวะเหมาะสมและตรวจสอบยืนยันได้ในการทำพีซีอาร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างปู่ทะเลได้ทั้งหมด 9 ไพรเมอร์ คือ DOFMC1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12 และ 13
- 2) การทดสอบในปู่ทะเลชนิดต่างๆ ได้แก่ ปู่ดำ ปู่ขาว ปู่เขียว และปู่ม่วง ซึ่งเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติทั้งในฝั่งอ่าวไทย (ตะวันออก, ตอนบน, ตอนกลาง และตอนล่าง) และฝั่งอันดามัน รวมทั้งปู่ดำจากพม่า พบว่า ไม่โครแซทเทลไลต์ดังกล่าวกระจายอยู่ในช่วง 110-280 คู่เบส

บทที่ 4

การแยก/ระบุชนิด ปุ่ม้า ปู่ทะเล โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์

4.1 เหตุผลความสำคัญ

4.1.1 ความสำคัญของชนิด

ปัจจุบันมีการรายงานชนิดปู่ทะเลในประเทศไทยมากกว่า 1 ชนิด (บรรจง และบุญรัตน์, 2545) นอกเหนือจากชนิดที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Scylla serrata* ซึ่งเป็นชื่อที่คุ้นเคยที่สุดเพราะมักใช้ระบุชนิดในรายงานการศึกษาต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับปูทะเล (ชูชาติ, 2531) จากรายงานล่าสุดของ บรรจง และบุญรัตน์ (2545) นั้น พบว่ายังคงมีความสับสนและคลุมเครือในเรื่องของชนิดปู่ทะเลอยู่มาก ถึงแม้จะมีการศึกษาพบทางถึงความแตกต่างและการจำแนกชนิด ตลอดจนถึงลักษณะโครงสร้างและวิวัฒนาการมาบ้างแล้วก็ตาม การศึกษาดังกล่าวนี้ทั้งนี้ใช้เฉพาะลักษณะรูปร่างสัณฐานภายนอก (morphological characters) (Estampador, 1949; Overton *et al.*, 1997) การศึกษาที่ใช้ลักษณะทางพันธุกรรมระดับโมเลกุล (molecular genetic characters) ทั้งโดยเทคนิค allozyme (อนวัช, 2542; Fuseya and Watanabe, 1996) และเทคนิค DNA (mtDNA โดย Gopurenko *et al.*, 1999; RAPD โดย Kinbunga *et al.*, 2000) และการศึกษาที่ใช้ข้อมูลจากหลายด้าน (allozyme, mtDNA และ morphology) ประกอบกัน (Keenan *et al.*, 1998) จะอย่างไรก็ตาม ล่าสุด บรรจง และบุญรัตน์ (2545) ก็ได้รายงานชนิดของปู่ทะเลในน่านน้ำไทยโดยใช้ลักษณะรูปร่างสัณฐานภายนอกมาวิเคราะห์ด้านหลักเกณฑ์ของ Estampador (1949) ไว้ในสกุล *Scylla* de Haan 3 ชนิด คือ ปู่ดำหรือปูแดง (*S. serrata*) ปู่ขาวหรือปูทองเหลือง (*S. oceanica*) และปูเขียวหรือปูทองเหลืองหรือปูลาย (*S. tranquebarica*) ซึ่งจากรายงานของบรรจง และบุญรัตน์ (2545) ยังได้ข้อมูลเพิ่มเติมอีกว่า ในจำนวนปู 3 ชนิด ปู่ขาวจะมีรสชาติดีที่สุดจึงมีราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนปูเขียวมีขนาดโตกว่าปูดำและปูขาวแต่รสชาติสู้ปูขาวไม่ได้จึงมีราคาถูกว่าปูขาวแต่ก็แพงกว่าปูดำ ขณะที่ปริมาณและการแพร่กระจายของปูดำมีมากกว่าปูอีกสองชนิดโดยพบว่าจะมีแพร่กระจายอยู่ทั้งทางฝั่งอันดามันและอ่าวไทย แต่อีกสองชนิดพบเฉพาะฝั่งอ่าวไทยเท่านั้น ซึ่งก็อาจเป็นด้วยสาเหตุหนึ่ง (ในธรรมชาติมีปูดำแพร่กระจายอยู่มากกว่า) ที่ทำให้ปูดำขนาดเล็กถูกจับจากธรรมชาติมาใช้ในการเลี้ยงปูเนื้ออย่าง ต่อเนื่อง และที่สำคัญกิจการเลี้ยงปูเนื้อกำลังขยายตัวอย่างมากเนื่องจากปูเนื้อมีการเติบโตและเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ ความต้องการปูตำขนาดเล็กจึงเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อย ๆ ในปัจจุบันถึงกับมีการเข้าไปจับปูจากฝั่งพม่าเพื่อมาใช้ในการเลี้ยงปูเนื้อนี้ โดยเฉพาะในบริเวณแถบจังหวัดระนองและใกล้เคียงซึ่งอยู่ใกล้จากฝั่งพม่ามากนัก ต้องยอมรับว่ากิจการเลี้ยงปูเนื้อส่งผลกระทบต่อประชากรปูทะเลในธรรมชาติของปูไทยเป็นอย่างมาก ทั้งในด้านปริมาณประชากรที่ลดลงอย่างรวดเร็ว และผลกระทบจากการเป็นอันตรายต่างประการสำหรับปูไทยว่าพบว่ามีพันธุกรรมที่แตกต่างกันระหว่างประชากรปูของไทย

เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นนี้ได้แสดงว่า ปู่ทะเลแต่ละชนิดมีปริมาณและการแพร่กระจายในธรรมชาติไม่เหมือนกัน ราคาและความต้องการปูแต่ละชนิดของตลาดต่างกัน อีกทั้งอาจมีการปนเปื้อนของปูจากต่างประเทศ/สายพันธุ์ (ปูพม่า) ดังนั้น เพื่อให้การจัดการทรัพยากรปูทะเล ทั้งการอนุรักษ์และการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยง สามารถดำเนินการได้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และเกิดประโยชน์สูงสุด **ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องทราบชนิดที่แตกต่างกันของปู่ทะเลในธรรมชาติของปูไทยให้ถูกต้องเสียก่อน**

4.1.2 เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (Allozyme markers)

เทคนิคระดับเอนไซม์โปรตีนที่รู้จักกันในนาม starch gel electrophoresis ซึ่งใช้วิเคราะห์เครื่องหมาย allozyme หรือ isozyme ยังคงเป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับว่ามีค่าความสามารรถเพียงพอสำหรับการศึกษาต้นพันธุ์ประชากรในสัตว์น้ำ (Ward and Grewe, 1995) ทั้งในระดับภายในชนิดเดียวกัน (intraspecies) (ศรีรัตน์, 2539; ศรีรัตน์ และพนม, 2541

และ 2542; พนม และคณะ, 2544) และระหว่างชนิดที่ต่างกัน (interspecies) (Sodsuk and McAndrew, 1991; Sodsuk and McAndrew, 1995; Sodsuk *et al.*, 1995; Sodsuk and Sodsuk, 2000) ถึงแม้จะมีข้อจำกัดคือมักจะแสดงความผันแปรหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งจะไม่สามารถระบุความแตกต่างระหว่างตัวอย่างแต่ละตัว (between individuals) รวมทั้งอาจไม่สามารถระบุความแตกต่างระหว่างประชากรที่ใกล้ชิดกันหรือเพียงแยกออกจากกันเมื่อไม่นานมานี้ได้ (Park and Moran, 1995) อย่างไรก็ตาม *allozyme makers* ยังคงเป็นเทคนิคที่สามารถระบุความแตกต่างระหว่างชนิดหรือแยกชนิด (species identification) ของสัตว์น้ำได้เป็นอย่างดี (Ward and Grewe, 1995) โดยเฉพาะในชนิดที่รูปลักษณะภายนอก (morphology) อาจบอกความแตกต่างได้ไม่ชัดเจนนัก (พนม, 2537; จรัสชาติ และพนม, 2542; จวาย, 2543; พนม และคณะ, 2546)

4.2 วัตถุประสงค์

4.2.1 เพื่อจำแนก หรือระบุความแตกต่างระหว่างชนิด ของปูม้ากับปูทะเล และระหว่างชนิดของปูทะเลด้วยกัน โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์

4.2.2 เพื่อแสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการ (phylogeny) ระหว่างปูม้ากับปูทะเล และระหว่างชนิดของปูทะเล โดยใช้ข้อมูลอัลโลไซม์

4.3 วิธีดำเนินการ

4.3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างปูม้า และปูทะเล (Scylla spp.) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้จากการเก็บรวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งในฝั่งอ่าวไทย (อ่าวไทยฝั่งตะวันออก ตอนบน ตอนกลาง และตอนล่าง) และฝั่งอันดามัน และจากโครงการ “การจำแนกชนิดและประเมินสถานะทรัพยากรปะการังในบริเวณคลองหวาง จ.ระนอง” ของนางสาวกาญจนา จิรพันธ์พัฒนา ที่แสดงให้เห็นได้เป็นอย่างดีในตารางที่ 4-1 ซึ่งได้นำมาศึกษาลักษณะภายนอกในบริเวณสำคัญที่สามารถแสดงความแตกต่างให้เห็นได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในปูทะเล ตามที่ Keenan *et al.* (1998) ได้ศึกษาไว้ หลังจากนั้นจึงนำปูจากหลากหลายแหล่งจำนวนชนิดละตั้งแต่ 7 ตัว (ปูเขียว) ถึงประมาณ 40 ตัว มาเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อจากส่วนขาใส่ใน microtubes แล้วนำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง (deep freezer) ความอุณหภูมิที่ -70°C เพื่อไว้ใช้สำหรับการวิเคราะห์โดยเทคนิคอัลโลไซม์ (allozyme electrophoresis) เพื่อหาความแตกต่างของแบบนอัลโลลีส (alleles) จากข้อมูลอัลโลไซม์ที่ปรากฏ

4.3.2 กระบวนการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลโลไซม์

การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลโลไซม์ ได้ดำเนินการโดยใช้เจล (gel) ที่เตรียมจาก potato starch เพื่อเป็นตัวกลางในการบวนการ electrophoresis ซึ่งอาจเรียกเทคนิคนี้ในอีกชื่อหนึ่งว่า starch gel electrophoresis ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงานประกอบด้วย 6 ขั้นตอน คือ 1) เตรียมเจล 2) เตรียมตัวอย่าง 3) ใส่ตัวอย่างลงในเจล 4) นำเจลไปผ่านกระแสไฟฟ้า 5) ตัดเจลออกเป็นแผ่นบาง ๆ และ 6) ย้อมเจลเพื่อตรวจสอบแอนไซม์ต่างๆ ตามที่ Sodsuk (1993) ได้อธิบายไว้ ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ 31 enzyme loci (ตารางที่ 4-2) ภายใต้ electrophoretic conditions และ buffer system ที่เคยมีการศึกษาไว้ในกึ่งกลางต่ำ (ศรีรัตน์, 2539) กึ่งแซบวีย (ศรีรัตน์ และพนม, 2541) และกึ่งก้ามกราม (ศรีรัตน์ และพนม, 2542) รวมทั้งประยุกต์จาก Fuseya and Watanabe (1996) ที่ได้ศึกษาไว้ในปูทะเลด้วย

การอ่านและแปลผลจากแบนด์หรือแถบสีที่ปรากฏบนเจล สามารถกระทำได้เมื่อผ่านการย้อมเจลในขั้นตอนที่ 6 ไปแล้ว เพราะขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่ทำให้แบนด์หรือโมเลกุลของแอนไซม์โปรตีนที่อยุ่บนเจลเกิดการติดสีและมองเห็นได้ ซึ่งเกิดจากคุณสมบัติเฉพาะทางเคมีของแอนไซม์แต่ละชนิดที่ถูกตรวจสอบนั้น ตามที่ Shaw and Prasad (1970) และ Harris and Hopkinson (1976) ได้อธิบายไว้

อ่านและแปลรหัสข้อมูลจากแบนด์หรือโมเลกุลของอนุกรมที่ปรากฏบนแถบ โดยระบุเป็น locus(c) และ allele(s) ดังนี้ ระบุ locus(c) โดยเรียงตามลำดับตัวเลข เริ่มต้นจากซ้ายไปขวา แบนด์หรือโมเลกุลที่มีการเคลื่อนที่ไปยังขั้ววากน้อยที่สุด ระบุให้เป็นโลตัสที่ 1 ต่อจากนั้นเป็น 2, 3 และถัดไปเรื่อย ๆ ตามลำดับ ส่วนการระบุ allele(s) ปัจจุบันนิยมระบุตามระยะทางการเคลื่อนที่ โดย allele(s) ที่พบ ณ โลตัสใดโลตัสหนึ่ง จะถูกระบุเทียบกับ common allele หรือ allele ที่พบบ่อยที่สุด ณ โลตัสนั้น ซึ่งจะถูกกำหนดให้เป็น 100 ดังนั้น allele(s) อื่นๆ ก็จะถูกกำหนดเป็นตัวเลขที่ชี้ให้เห็นว่าเป็น allele(s) ที่เรียกว่า หรือ ซ้ำกว่า คิดเป็นระยะทางร้อยละเท่าไรของ common allele นั้น allele(s) ที่มีการเคลื่อนที่ไปทางขั้วลบจะให้อ่านเครื่องหมายเป็นลบ สำหรับการเขียนและให้ชื่อ locus(c) และ allele(s) ใช้ตามระบบของ Shalee *et al.* (1990)

ตารางที่ 4-1 แหล่งตัวอย่าง และจำนวนตัวอย่าง ของผู้แต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ (ทางการศึกษาที่ใช้เทคนิคโกลด์เชมน์ และเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์วิเคราะห์ตัวอย่างในอ่างปฏิบัติการ)

แหล่งตัวอย่าง	ตัวอย่างที่เก็บภายใต้โครงการนี้					ตัวอย่างภายใต้โครงการของศูนย์ภาณุอนา			
	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี
อำเภอเมืองสระบุรี	ตรวด	30	20	11	-	10	-	-	-
	ระยอง	35	18	20	-	15	-	-	-
	ชลบุรี (เกาะสีชัง)	15	-	-	-	-	-	-	-
	อำเภอเมืองนนทบุรี	38	22	28	-	-	-	-	-
อำเภอเมืองนนทบุรี	ประจวบคีรีขันธ์	30	18	24	-	-	-	-	-
	ชุมพร	30	10	22	-	-	-	-	-
	สุราษฎร์ธานี/อ.สีชล (นครศรีฯ)	31	11	25	-	-	4	-	-
	อำเภอเมืองนนทบุรี	23	18	20	-	-	-	-	-
อำเภอเมืองนนทบุรี	สงขลา	22	8	9	-	-	-	-	-
	ปัตตานี	33	16	20	-	-	-	-	-
	นราธิวาส	31	18	10	-	10	-	-	-
	อำเภอเมืองนนทบุรี	28	20	-	-	-	20	9	7
อำเภอเมืองนนทบุรี	กระบี่/ภูเก็ต	30	20	-	-	-	-	-	-
	สตูล	25	18	-	-	-	-	-	-
	พม่า	-	20	-	-	-	-	-	-
	รวม	401	237	189	-	35	20	13	7
รวมตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมด	ปทุมธานี 401	ปทุมธานี 257	ปทุมธานี 202	ปทุมธานี 7	ปทุมธานี 44				

ตารางที่ 4-2 เอนไซม์ (enzymes) ที่ทำการตรวจสอบ, buffer system ที่ใช้, และจำนวน enzyme/allozyme loci ที่พบในแต่ละเอนไซม์

Enzyme	Enzyme number	Buffer system	Enzyme / allozyme loci ที่สำรวจพบในแต่ละเอนไซม์	
			จำนวน	Loci
Aspartate aminotransferase (AAT)	2.6.1.1	TBE	2	AAT-1* AAT-2*
Acid phosphatase (ACP)	3.1.3.2	TBE	1	ACP
Alcohol dehydrogenase (ADH)	1.1.1.1	TBE	2	ADH-1* ADH-2*
Adenylate kinase (AK)	2.7.4.3	TBE	3	AK-1* AK-2* AK-3*
Esterase (EST)	3.1.1.-	TBE	2	EST-1* EST-2*
Esterase-D (ESTD)	3.1.-.-	TBE	3	ESTD-1* ESTD-2* ESTD-3*
Fructose-biphosphate aldolase (FBALD)	4.1.2.13	TCE	1	FBALD*
Fumarate hydratase (FH)	4.2.1.2	TCE	1	FH*
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	1.2.1.12	TBE	1	GAPDH*
Glutamate dehydrogenase (GLUDH)	1.4.1.-	TBE	1	GLUDH*
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH)	1.1.1.8	TCE	1	G3PDH*
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)	1.1.1.49	TCE	1	G6PDH*
Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)	5.3.1.9	TBE	1	GPI*
Hexokinase (HK)	2.7.1.1	TCE	1	HK*
Isocitrate dehydrogenase (NADP ⁺) (IDHP)	1.1.1.42	TBE	1	IDHP*
L-Lactate dehydrogenase (LDH)	1.1.1.27	TCE	1	LDH*
Malate dehydrogenase (MDH)	1.1.1.37	TCE	1	MDH*
Malic enzyme (NADP ⁺) (MEP)	1.1.1.40	TBE	2	MEP-1* MEP-2*
Mannose-6-phosphate isomerase (MPI)	5.3.1.8	TBE	1	MPI*
Phosphogluconate dehydrogenase (PGDH)	1.1.1.44	TBE	1	PGDH*
Phosphoglucomutase (PGM)	5.4.2.2	TCE	1	PGM*
Superoxide dismutase (SOD)	1.15.1.1	TBE	1	SOD*
Xanthine dehydrogenase (XDH)	1.1.1.204	TBE	1	XDH*

หมายเหตุ TBE = Tris-borate-EDTA, pH 8.5
TCE = Tris-citrate-EDTA, pH 7

4.3.3 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการ (phylogeny)

ข้อมูลอัลโลไซม์ที่ได้ สามารถนำมาใช้เขียน phylogeny เพื่อแสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการระหว่างปูม้ากับปูทะเล และระหว่างชนิดของปูทะเล โดยจัดการข้อมูลที่ได้ให้อยู่ในรูปแบบของระบบเลข 2 ตัว (binary system) กล่าวคือ ข้อมูลจะถูกกำหนดให้เป็น 1 หรือ 0 ณ ล็อกัสใด ๆ ก็ตาม ที่พบหรือไม่มีป็นอัลลิล (presence or absence of alleles) ในตัวอย่างแต่ละชนิด (Sod Suk and McAndrew, 1991; Sod Suk, 1993; จรัสชาติตา และพนม, 2542)

การเขียน phylogeny แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดปูม้าปูทะเลในการศึกษานี้ ใช้วิธีการที่เรียกว่า Wagner parsimony (Farris, 1970) ซึ่งเป็นหนึ่งในหลายวิธีที่ง่ายที่สุดบนพื้นฐานของวิธีการที่เรียกว่า maximum parsimony (Swofford and Olsen, 1990) โดยใช้ข้อมูลที่อยู่ในรูปแบบของระบบเลข 2 ตัว (0 หรือ 1) ดังกล่าวข้างต้น เขียนโครงสร้างทั้งในแบบของการใช้ข้อมูลของ ปูม้า (ซึ่งเป็นชนิดเดียวในการศึกษานี้ที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มปูทะเล) เป็นตัวเปรียบเทียบกับนอกกลุ่มที่เรียกว่า ‘outgroup’ และในแบบของการเขียนที่ไม่กำหนด ‘outgroup’ เปรียบเทียบกัน โดยประยุกต์ใช้วิธีการสุ่มบ่อนข้อมูลทางสถิติ (resampling data) ที่รู้จักกันในชื่อ ‘bootstrap’ ผนวกเข้ากับการเขียนโครงสร้างแบบ Wagner parsimony ตามวิธีการของ Felsenstein (1985, 1990) เพื่อหลีกเลี่ยงข้อผิดพลาดจากการสุ่มข้อมูล (random errors) ในการเขียนโครงสร้างแต่ละครั้ง

การเขียนโครงสร้างโดยวิธีการที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ใน software package ที่มื่อชื่อว่า PHYLIP ของ Felsenstein (1990) ซึ่งเป็นโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หรือ phylogeny โดยเฉพาะ

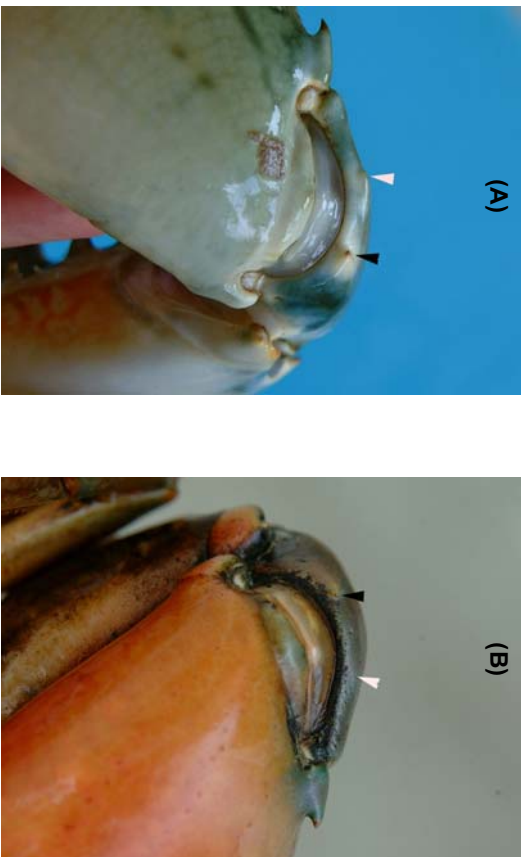
4.4 ผลการศึกษาและวิจารณ์

4.4.1 การจำแนกหรือระบุความแตกต่างระหว่างชนิด

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างในการศึกษารังนี้ ยังคงยืนยันชนิดปูม้าที่มีชื่อ common name ว่า blue swimming crab ในชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Portunus pelagicus* เพียงชนิดเดียวที่พบในน้ำน่าน้ำไทย เช่นเดียวกับที่ สุนทร (2527) ได้รายงานไว้

จากความพยายามแยกกลุ่มชนิดปูทะเลทั้งหมดที่เก็บได้จากทุกแหล่งตัวอย่าง โดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกตามการรายงานของ Keenan et al. (1998) รวมทั้งการติดต่อประสานงานกับนางสาวกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ หัวหน้าโครงการ "การจำแนกชนิดและประเมินสภาวะทรัพยากรปูทะเลในบริเวณคลองหวาว จ.ระนอง" ทำให้ปรากฏผล ณ เวลานั้นคือสามารถแยกปูทะเลออกได้เป็นกลุ่มปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง (ปูบางกลุ่มได้ตัวอย่างจากโครงการของนางสาวกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ โดยเฉพาะปูเขียว) โดยพบว่า ลักษณะสำคัญที่สุดอย่างแรกที่สามารถใช้แยกกลุ่มปูทะเลได้คือ หนามที่ข้อศอกหรือปล้องกลางด้านนอกของก้ามปู (หนามอินแแรก = inner spine, หนามอินที่สอง = outer spine) ซึ่งสามารถแยกปูทะเลออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ก่อน คือ กลุ่มปูดำและปูขาว (ปล้องกลางด้านนอกของก้ามปูชี้ข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างปรากฏ outer spine เด่นชัดเพียงอันเดียว ส่วน inner spine ลดรูปลงเป็นเพียงปุ่มเล็ก ๆ หรือเห็นเป็นเพียงรอยแผลเป็นเท่านั้น) (ภาพที่ 4-1 A, B, C และ D) และ กลุ่มปูเขียวและปูม่วง (ปล้องกลางด้านนอกของก้ามปูทั้งสองข้างปรากฏ outer spine และ inner spine เด่นชัดทั้งสองอัน) (ภาพที่ 4-2 A, B, C และ D) หลังจากนั้นจึงค่อยแยกระหว่างปูดำกับปูขาว และปูเขียวกับปูม่วงออกจากกันด้วยลักษณะระหว่างตาตำแหน่งสุดท้ายของกระดูกของปูเขียว (ภาพที่ 4-2 A และ B) ซึ่งข้อมูลทั้งหมดยืนยันกับข้อมูลที่คุณกาญจนา (ติดต่อส่วนตัว) ได้ระบุไว้ในรายงานฉบับสมบูรณ์พร้อมกับการให้ชื่อวิทยาศาสตร์แก่ปูทะเลทั้ง 4 ชนิด ตาม Keenan et al. (1998) ดังนี้

ปูดำ	Scylla olivacea
ปูขาว	Scylla paramamosain
ปูเขียว	Scylla serrata
ปูม่วง	Scylla tranquebarica



ภาพที่ 4-1

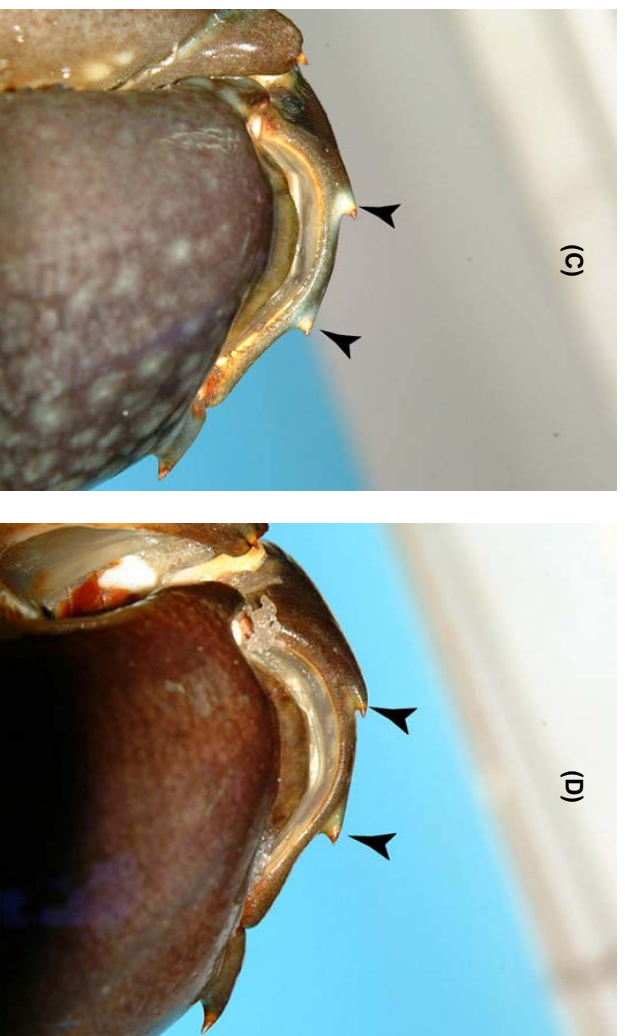
ลักษณะหนาม (inner & outer spines) ที่ปล้องกลาง (ข้อศอก) ด้านนอก ของก้ามปูขาวและปูดำ

(A) ปูขาว outer spine เติ้นชัด (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วน inner spine ลดรูปเหลือเป็นเพียงปุ่มนูนเล็กน้อย (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีขาว)

(B) ปูดำ outer spine เติ้นชัด (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วน inner spine ลดรูปเหลือเป็นเพียงรอยแผลเป็น (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีขาว)

(C) ปูขาว outer spine เติ้นชัดอันเดียวที่ข้อศอกข้างขวา (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วนข้อศอกข้างซ้ายปรากฏ inner & outer spines เติ้นชัดทั้งสองอัน

(D) ปูขาว outer spine เติ้นชัดอันเดียวที่ข้อศอกข้างซ้าย (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วนข้อศอกข้างขวาปรากฏ inner & outer spines เติ้นชัดทั้งสองอัน



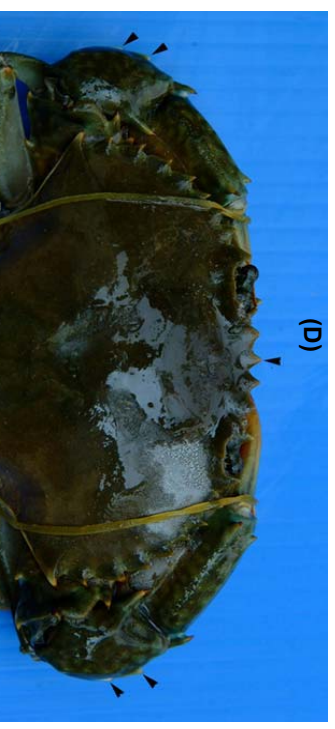
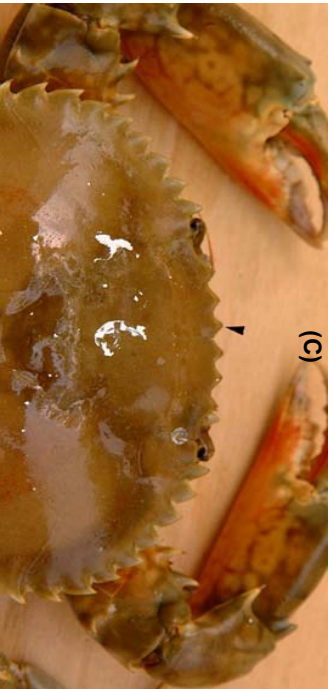
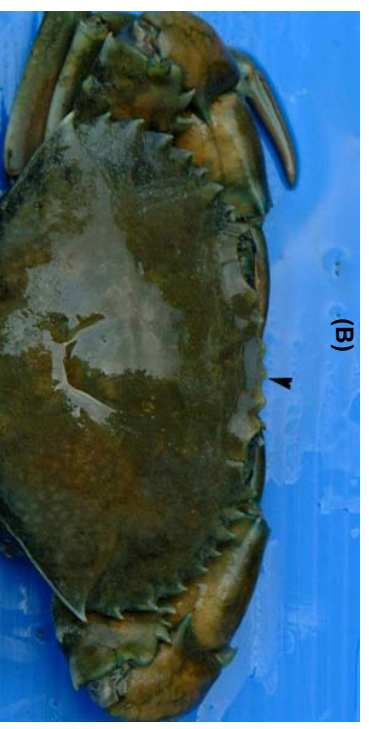
ภาพที่ 4-2

ลักษณะหนามที่ปล้องกลาง (ข้อศอก) ด้านนอก (inner & outer spines) ของก้ามปูเขี้ยว (A) และปูม่วง (B)

ซึ่งปรากฏให้เห็นเด่นชัดทั้งสองอันที่ข้อศอกทั้งข้างซ้ายและขวา และลักษณะหนามด้านน้ำสุดท้ายของกระดูกของปูเขี้ยว (A) ซึ่งมีส่วนปลายหนามเรียวยาวมากกว่าของปูม่วง (B) ที่มีส่วนปลายหนามทู่กว่าของปูเขี้ยว

(C) Inner & outer spines ของปูเขี้ยว

(D) Inner & outer spines ของปูม่วง



ภาพที่ 4-3 ลักษณะหนามระหว่างตาตำแหน่งสุดของกระดูกในปูทะเลต่างๆ

- (A) ปูดำ แสดงลักษณะหนามบริเวณตำแหน่งสุดของกระดูก (ปลายหนามบ้านหูก) และลักษณะสันโตยรวมของปูดำที่พบทั่วไป
- (B) ปูต๋า (บางตัวอย่าง) แสดงลักษณะหนามบริเวณตำแหน่งสุดของกระดูก (ปลายหนามบ้านหูก) และลักษณะสันโตยรวมที่ต่างจากปูดำทั่วไป โดยจะมีสันคล้ายปูหางปูเตี้ยว (D)
- (C) ปูขาว แสดงลักษณะหนามบริเวณตำแหน่งสุดของกระดูก (ปลายหนามแหลมกว่าปูดำ)
- (D) ปูเตี้ยว แสดงลักษณะหนามบริเวณตำแหน่งสุดของกระดูก (หนามค่อนข้างสูงปลายเตี้ยว)

นอกจากนี้ จากประสบการณ์ที่เกิดขึ้นทำให้ตระหนักได้ว่าไม่อาจใช้ลักษณะสีที่ปรากฏให้เห็นภายนอกเพียงอย่างเดียวเป็นเกณฑ์ในการแยกกลุ่มชนิดปุทะเล เพราะว่าคุณลักษณะสีของปุ๋ด้าจากเพชรบุรีและตราดบางตัวอย่างจะต่างจากสีของปุ๋ด้าที่พบทั่วไปโดยเฉพาะจาก จ.ระนอง (ภาพที่ 4-3 A, B และ D) ซึ่งชาวบ้านหรือผู้ที่มีอาชีพรวบรวมปุ๋ด้าขายเรียกปุ๋ด้านี้ว่า ‘ปุ๋ด้าเขียว’ ตามลักษณะของสีลำตัวที่เห็น แต่ด้วยลักษณะของแบนด็อลโล่โซมและหนามที่ข้อต่อกระบุงว่าเป็น ปุ๋ด้า

จากการศึกษาวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ด้าและปุ๋ด้าทะเลทั้งหมดโดยเทคนิค allozyme electrophoresis (ตารางที่ 4-2) ปรากฏว่าสามารถใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (allozyme markers) ในการแยกแยะระหว่างชนิดปุ๋ด้ากับปุ๋ด้าทะเล และระหว่างชนิดปุ๋ด้าทะเลด้วยกัน ตามที่สรุปไว้ใน ตารางที่ 4-3 และ 4-4

ตารางที่ 4-3 Allozyme markers ที่สามารถใช้แยกแยะระหว่างชนิดทุกตัวของปุ๋ด้ากับปุ๋ด้าทะเล และทุกชนิดของปุ๋ด้าทะเลด้วยกัน

กลุ่ม/ชนิด	ปุ๋ด้า	ปุ๋ด้าทะเล			
		ปุ๋ด้า	ปุ๋ด้าขาว	ปุ๋ด้าเขียว	ปุ๋ด้าม่วง
ปุ๋ด้า	–	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*	EST-2*, ESTD-2*, HK*, MEP-2* และ SOD*	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, HK*, MPI*
ปุ๋ด้า	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*	–	EST-2* และ ESTD-2*	EST-2*, ESTD-2* และ MEP-2*	EST-2* และ ESTD-2*
ปุ๋ด้าขาว	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*	EST-2* และ ESTD-2*	–	MEP-2*	MPI*
ปุ๋ด้าเขียว	EST-2*, ESTD-2*, HK*, MEP-2*, PGDH*, PGM* และ SOD*	EST-2*, ESTD-2* และ MEP-2*	–	–	MEP-2* และ MPI*
ปุ๋ด้าม่วง	ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, HK*, MPI*, PGDH*, PGM* และ SOD*	EST-2* และ ESTD-2*	MPI*	MEP-2* และ MPI*	–

ตารางที่ 4-3 แสดงเครื่องหมายพันธุกรรม (allozyme loci) ที่สามารถใช้แยกหรือระบุความแตกต่างระหว่างชนิดทุกตัว เป็นคู่ระหว่างปุ๋ด้ากับปุ๋ด้าทะเล หรือระหว่างปุ๋ด้าทะเลด้วยกัน ดังนี้

- (1) แยกแยะระหว่างปุ๋ด้ากับปุ๋ด้าทะเล (ภาพที่ 4-4 A, 4-5 A, และ 4-5 C)

 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้า ใต้แก่ ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*
 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าขาว ใต้แก่ ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, G3PDH*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*
 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าเขียว ใต้แก่ EST-2*, ESTD-2*, HK*, MEP-2*, PGDH*, PGM* และ SOD*
 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าม่วง ใต้แก่ ADH-1*, EST-2*, ESTD-2*, HK*, PGDH*, PGM* และ SOD*
- (2) แยกแยะระหว่างปุ๋ด้าทะเลด้วยกัน (ภาพที่ 4-4 B, 4-4 C, 4-6 A, 4-6 B, และ 4-6 C)

 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าขาว ใต้แก่ EST-2* และ ESTD-2*
 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าเขียว ใต้แก่ EST-2*, ESTD-2* และ MEP-2*
 - ปุ๋ด้า กับ ปุ๋ด้าม่วง ใต้แก่ EST-2* และ ESTD-2*
 - ปุ๋ด้าขาว กับ ปุ๋ด้าเขียว ใต้แก่ MEP-2*
 - ปุ๋ด้าขาว กับ ปุ๋ด้าม่วง ใต้แก่ MPI*
 - ปุ๋ด้าเขียว กับ ปุ๋ด้าม่วง ใต้แก่ MEP-2* และ MPI*

ตารางที่ 4-4 ข้อมูลเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (allozyme loci marker) ที่แสดงในรูปแบบของระบบเลข 2 ตัว โดยกำหนดให้เป็น '1' หรือ '0' ณ โลเกสต่างๆ ที่ 'พบ' หรือ 'ไม่พบ' ยีนอัลลีล (allelic band) ในตัวอย่างแต่ละชนิด (แถวตั้ง) และในระหว่างชนิดที่ต่างกัน (แถวนอน)

Allozyme loci	Allelic bands	ปูม้า	ปูดำ	ปูขาว	ปูฮิยาว	ปูม่วง
AAT-1*	*130	0	1	0	0	0
	*100	1	1	1	1	1
ADH-1*	*125	1	0	0	1	0
	*100	0	1	1	1	1
ADH-2*	*-70	0	0	1	1	0
	*-100	1	1	1	1	1
EST-1*	*125	0	0	1	0	0
	*100	1	1	1	1	1
EST-2*	*100	0	0	1	1	1
	*70	1	0	0	0	0
	*50	0	1	0	0	0
ESTD-2*	*125	0	1	0	0	0
	*100	0	0	1	1	1
G3PDH*	*75	1	0	0	0	0
	*100	1	0	0	1	1
GPI*	*75	0	1	1	1	1
	*65	0	1	1	1	0
GPI*	*135	0	1	1	0	0
	*100	1	1	1	1	1
HK*	*60	0	0	0	0	1
	*130	0	0	0	1	1
HK*	*100	0	1	1	1	1
	*80	0	1	1	0	0
HK*	*75	1	0	0	0	0
MEP-1*	*110	1	1	1	1	1
	*100	1	1	1	1	1
MEP-2*	*145	0	0	0	1	0
	*100	1	1	1	0	1
MPI*	*105	1	1	0	0	1
	*100	1	1	1	1	0
MPI*	*95	0	0	1	1	0
PGDH*	*100	0	1	1	1	1
	*95	1	0	0	0	0
PGM*	*115	0	1	1	1	1
	*100	0	1	1	1	1
PGM*	*85	1	0	0	0	0
SOD*	*130	1	0	0	0	0
	*100	0	1	1	1	1

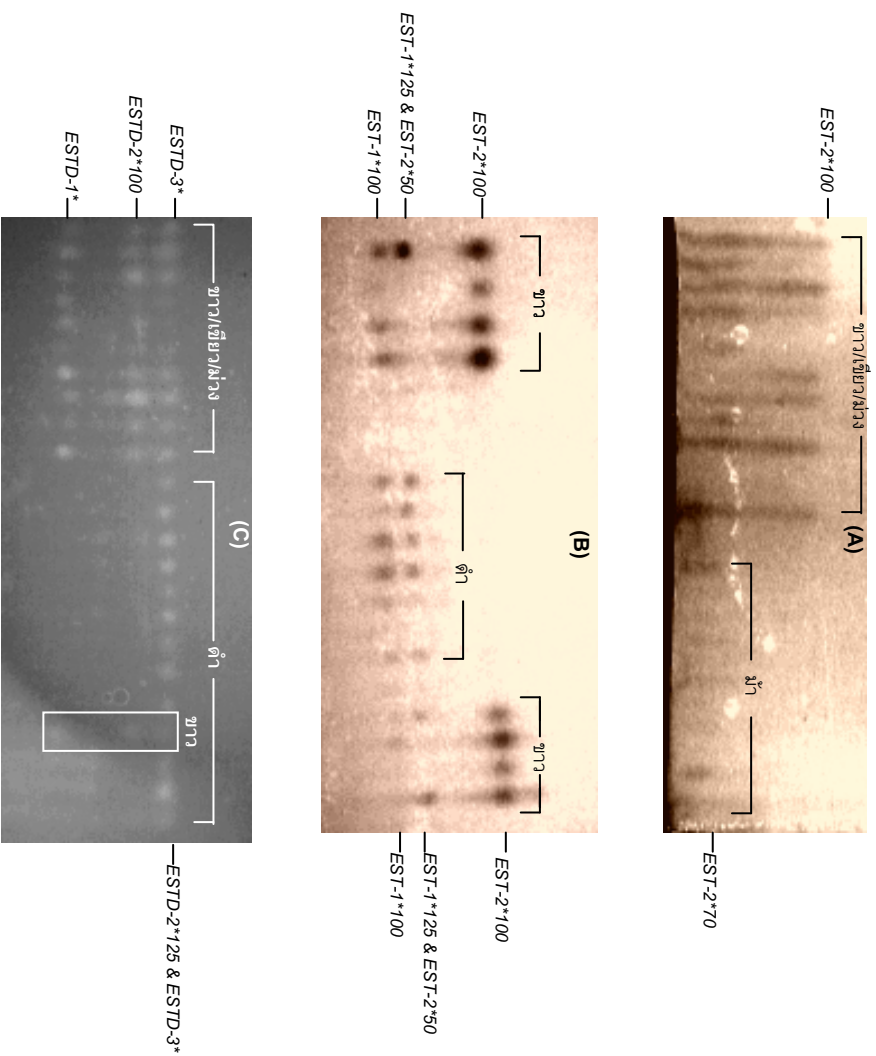
ส่วน ตารางที่ 4-4 แสดง allelic bands ในแต่ละโลคัสของ allozyme marker ที่แสดงใน ตารางที่ 4-3 ซึ่ง allelic bands เหล่านี้คือ marker ที่แสดงความแตกต่างระหว่างชุมชนแต่ละตัวของ ตารางที่ 4-3 นั้นเอง โดยถูกกำหนดให้เป็น 1 หรือ 0 ณ โลคัสใดๆ ก็ตาม ที่พบหรือไม่พบยีนอัลลีล (presence or absence of alleles) ในตัวอย่างแต่ละชนิด (Sodsuk and McAndrew, 1991; Sodsuk, 1993; จรัสธาดา และพนม, 2542) อีกทั้ง ตารางที่ 4-4 ยังแสดงโลคัสที่มีความหลากหลายของ ยีนอัลลีล หรือพบมากกว่า 1 อัลลีล (polymorphic locus) ในชุมชนต่าง ๆ อีกด้วย ซึ่งได้แก่

- AAT-1* เป็น polymorphic locus ในปูดำ
- ADH-1* เป็น polymorphic locus ในปูเขียว
- ADH-2* เป็น polymorphic locus ในปูขาว และปูเขียว
- EST-1* เป็น polymorphic locus ในปูขาว
- G3PDH* เป็น polymorphic locus ในปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง
- GP1* เป็น polymorphic locus ในปูดำ ปูขาว และปูม่วง
- HK* เป็น polymorphic locus ในปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง
- MEP-1* เป็น polymorphic locus ในปูม้า ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง
- MP1* เป็น polymorphic locus ในปูม้า ปูดำ ปูขาว และปูเขียว
- PGM* เป็น polymorphic locus ในปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง

นอกจากนี้ สามารถนำข้อมูลใน ตารางที่ 4-4 มาสร้างเป็นคีย์สำหรับแยกชนิด (identification key) ระหว่างปูม้า กับทะเล และระหว่างชนิดปูทะเลด้วยกันได้ ดังต่อไปนี้

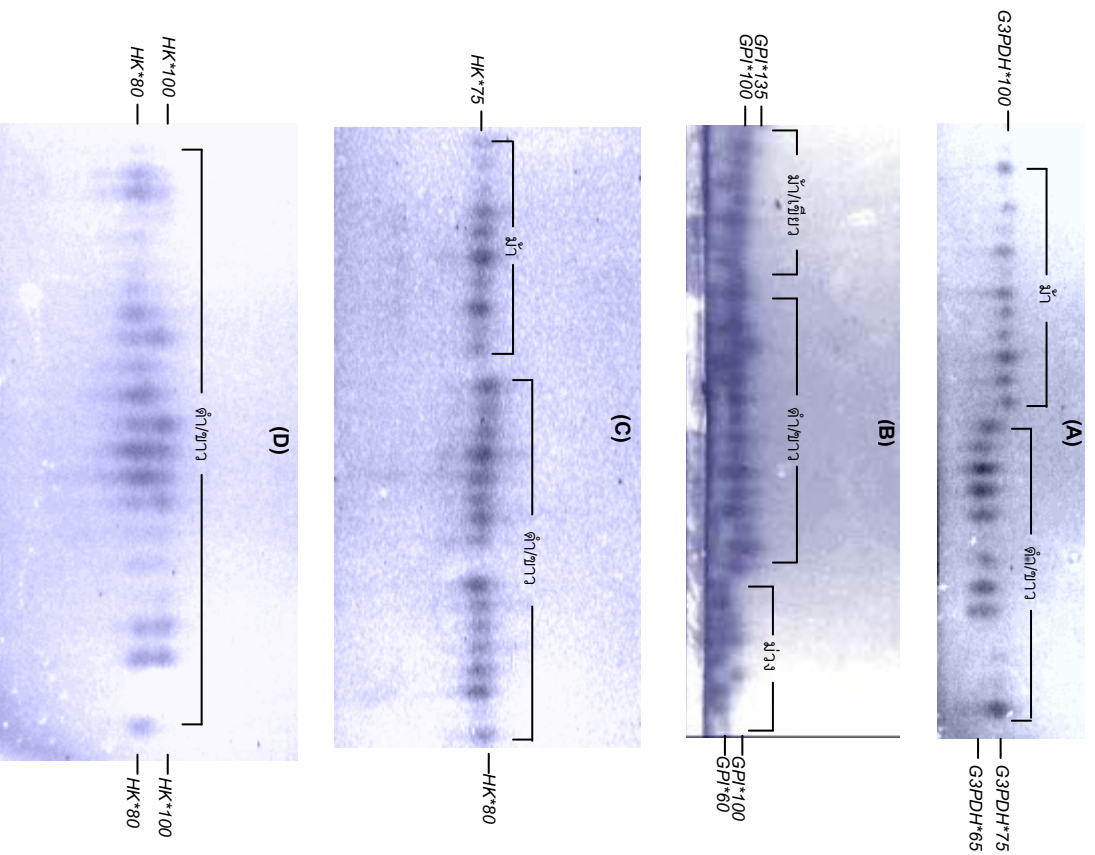
Allozyme identification key to species of blue swimming crab and mud crabs in Thailand

- (1) แยกระหว่างปูม้ากับปูทะเล
 - 1.1 ปรากฏแบนด์ EST-2*70, ESTD-2*75, HK*75, PGDH*95, PGM*85 และ SOD*130 ปูม้า
 - 1.2 ปรากฏแบนด์ EST-2 *50 หรือ *100, ESTD-2 *100 หรือ *125, HK *80 และ/หรือ *100 และ/หรือ *130, PGDH*100, PGM *100 และ/หรือ *115 และ SOD*100 ปูทะเล (2)
- (2) แยกระหว่างชนิดปูทะเล
 - 2.1 ปรากฏแบนด์ EST-2*50 และ ESTD-2*125 ปูดำ
 - 2.2 ปรากฏแบนด์ EST-2*100 และ ESTD-2*100 ปูเขียว, ขาว ม่วง (3)
- (3) แยกระหว่างปูเขียว ปูม่วง ปูขาว
 - 3.1 ปรากฏแบนด์ MEP-2*145 และ MP1*100 และ/หรือ *95 ปูเขียว
 - 3.2 ปรากฏแบนด์ MEP-2*100 และ MP1*105 ปูม่วง
 - 3.3 ปรากฏแบนด์ MEP-2*100 และ MP1*100 และ/หรือ *95 ปูขาว



ภาพที่ 4-4

- (A) EST marker แยกกลุ่มปุ๋ยและปุ๋ยทะเลออกจากกันด้วยแบนด์เครื่องหมาย (marker band) *EST-2*70* ของปุ๋ย ซึ่งต่างจากแบนด์ของกลุ่มทะเล (ดำ ขาว เขียว และม่วง)
- (B) EST marker แยกปุ๋ยออกจากกลุ่มปุ๋ยทะเลชนิดอื่นๆ (ดำ ขาว เขียว และม่วง) ระหว่าง *EST-2*50* ของปุ๋ย และ *EST-2*100* ของปุ๋ยทะเลชนิดอื่นๆ (ใช้ปุ๋ยขาวเป็นตัวแทน)
- ในภาพแสดง polymorphism ที่โลกัส *EST-1** ในปุ๋ยขาว ซึ่งมีความหลากหลายระหว่าง 2 อัลลีล (*EST-1*100* และ *EST-1*125*)
- (C) ESTD marker แยกปุ๋ยออกจากปุ๋ยทะเลชนิดอื่นๆ ด้วยแบนด์เครื่องหมาย *ESTD-2*125* ของปุ๋ยดำ และ *ESTD-2*100* ของปุ๋ยทะเลอื่นๆ
- ในภาพแสดงปุ๋ยขาว 1 ตัวอย่างที่อยู่ในกลุ่มของปุ๋ยดำ แต่สามารถแยกแอกจากกลุ่มปุ๋ยดำได้ด้วยลักษณะการปรากฏของแบนด์ที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 4-5 (A) G3PDH marker แยกออกมาได้ 2 แถว ออกจากโปรตีน ที่แยกเบนด์ได้ออกมา 5 แถว G3PDH*65 และ *75

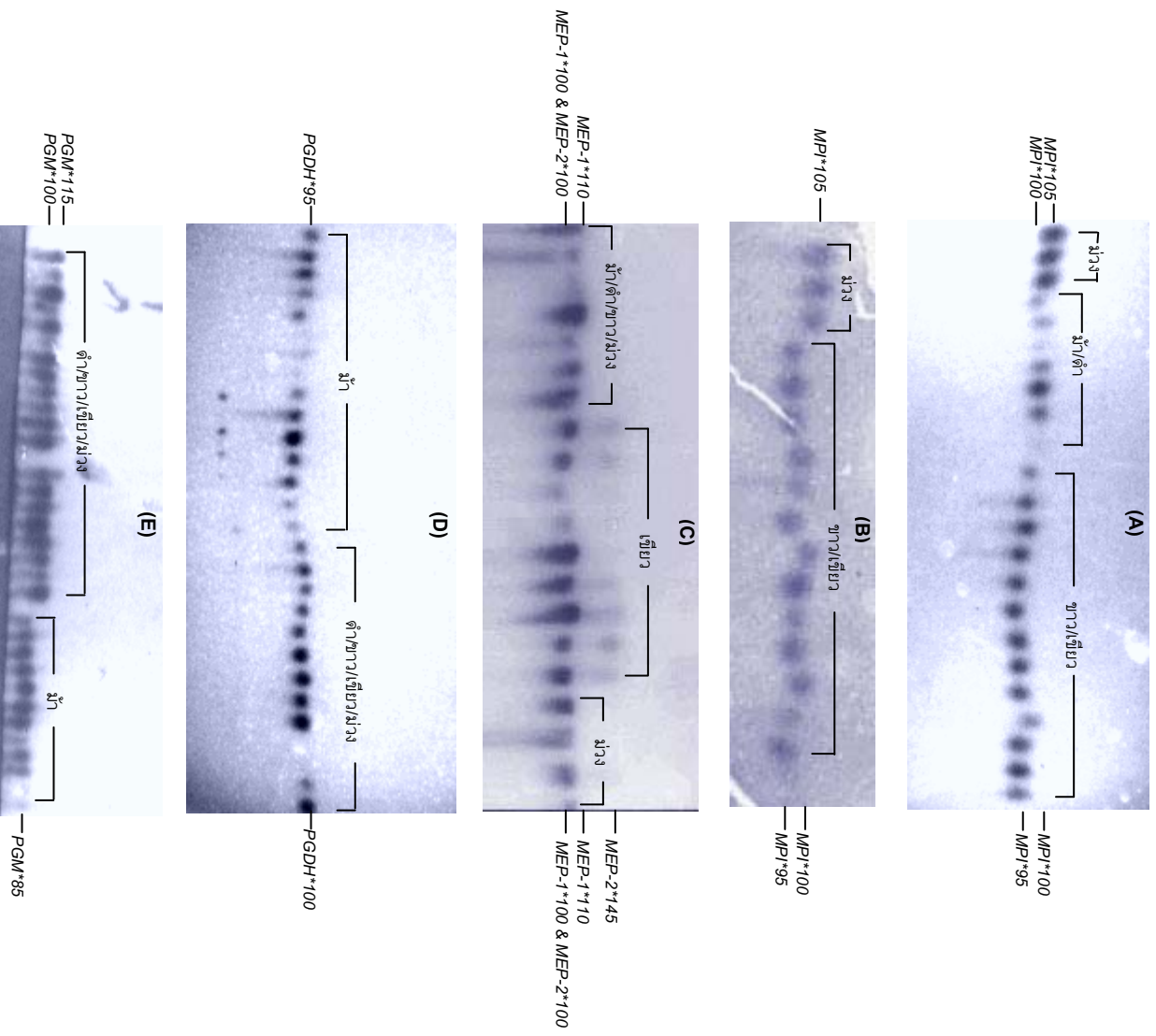
ຂອງປຸ້ງ/ບາງ ແລະ G3PDH*100 ຂອງປຸ້ງ

ในการทดสอบ polymorphism ที่โลก $G3PDH^*$ ในป่าแต่ละหา ซึ่งมีความหลากหลายระหว่าง 2 อัลลีล ($G3PDH^*65$ และ $*75$)

(B) GPI marker แสดง polymorphism ที่โลกัส *GPI** ซึ่งมีความหลากหลายระหว่างอัลลิลที่ *100 และ *135 ในหมู่ตัวอย่าง และระหว่างอัลลิลที่ *60 และ *100 ในหมู่อ้างอิง

(c) HK marker แยกปู่นำออกจากลุ่มปูทะเลใต้ด้วยแบนด์เทื่อของหมาย HK*75 ของปูแม่น้ำ ซึ่งเป็นแบนด์ที่ต่ำกว่าที่พบในลุ่มปูดำชนิดอื่นๆ

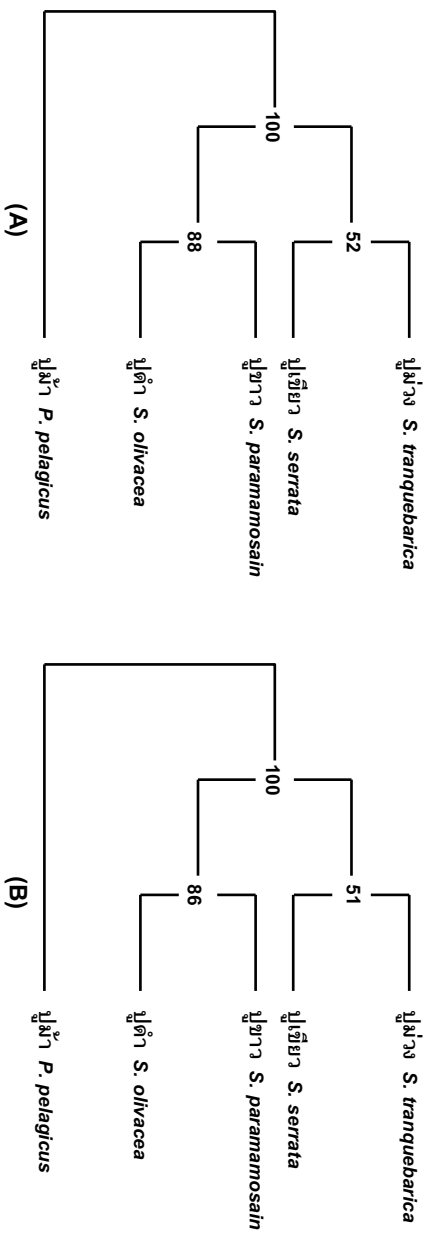
(D) แสดง polymorphism ที่เกิด HK^* ในรูปทะเล ในภาพแสดงความหลากหลายระหว่างอัลลีล HK^*80 และ $*100$ ในตู้และชะวาว



ภาพที่ 4-6

- (A) MPI marker แยกปฏิกิริยาออกจากกลุ่มปฏิกิริยาและเขียว ด้วยแบนด์เครื่องหมาย *MPI*105* ของปฏิกิริยา และ *MPI*100* และ *95 ของกลุ่มปฏิกิริยาและเขียว
- ในภาพแสดง polymorphism ที่โลเกส *MPI** ในปฏิกิริยาและปฏิกิริยา ซึ่งมีความหลากหลายระหว่างอัลลิล *100 และ *105 และในปฏิกิริยาและเขียว ระหว่างอัลลิล *95 และ *100
- (B) MPI marker แสดงแบนด์เครื่องหมาย *MPI*105* ของปฏิกิริยา และ *MPI*100* กับ *95 ของกลุ่มปฏิกิริยาและเขียว ชัดเจนยิ่งขึ้น
- (C) MEP marker แยกปฏิกิริยาออกจากปฏิกิริยาอื่น (น้ำ ดำ ม่วง) ด้วยแบนด์เครื่องหมาย *MEP-2*145* ในภาพแสดง polymorphism ที่โลเกส *MEP-1** ในปฏิกิริยาอื่น (น้ำ ดำ ขาว เขียว ม่วง) ซึ่งมีความหลากหลายระหว่างอัลลิล *100 และ *110
- (D) PGDH marker แยกกลุ่มปฏิกิริยาและเขียวออกจากกันด้วยแบนด์เครื่องหมาย *PGDH*95* ของปฏิกิริยา และ *PGDH*100* ของกลุ่มปฏิกิริยา
- (E) PGM marker แยกปฏิกิริยาออกจากกลุ่มปฏิกิริยาและเขียวด้วยแบนด์เครื่องหมาย *PGM*85* ของปฏิกิริยา และ *PGM*100* กับ *115 ของปฏิกิริยา
- ในภาพแสดง polymorphism ที่โลเกส *PGM** ในปฏิกิริยาและเขียว ซึ่งมีความหลากหลายระหว่างอัลลิล *100 และ *115

4.4.2 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการ



ภาพที่ 4-7 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการระหว่างปูม้าและปูทะเลทั้ง 5 ชนิด ซึ่งเขียนขึ้นจากข้อมูลอัลโลไซม์ในระบบเลข 2 ตัว (ตารางที่ 4-4) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ชื่อ PHYLIP ภายใต้วิธีการสุ่มป้อนข้อมูลแบบ bootstrap ร่วมกับวิธีการเขียนโครงสร้างแบบ Wagner parsimony (Felsenstein, 1985, 1990)

จำนวนตัวเลขที่แสดงไว้ หมายถึงจำนวนครั้งที่แต่ละกลุ่มสามารถยืนยันชนิดที่ปรากฏอยู่ภายใน หรือยืนยันกลุ่มของชนิดที่ใกล้เคียงกัน ได้จากจำนวน 100 ครั้งของการสุ่มป้อนข้อมูล

- (A) รูปแบบโครงสร้างที่ได้จากการเขียนโดยกำหนดให้ ‘ปูม้า’ เป็น ‘outgroup’
 (B) รูปแบบโครงสร้างที่ได้จากการเขียนโดยไม่กำหนด ‘outgroup’

จากข้อมูลอัลโลไซม์ที่ได้ (ตารางที่ 4-4) นำมาใช้เขียนโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดปูม้าและปูทะเลได้ตามที่แสดงใน **ภาพที่ 4-7 A** (กำหนดให้ ‘ปูม้า’ เป็น ‘outgroup’) และ **4-7 B** (ไม่กำหนด ‘outgroup’) ซึ่งไม่แตกต่างกัน โดยสามารถยืนยันการรวมกลุ่มของชนิดที่ใกล้เคียงกันที่ความเชื่อมั่นสูงกว่า 50% ได้ทุกกลุ่ม ดังนั้นสามารถยืนยันการรวมกลุ่มของปูทะเล 4 ชนิด (ตัว ขาว เขียว ม่วง) ได้ถึง 100% (100 ครั้ง จากการ resampling 100 ครั้ง) ยืนยันความสัมพันธ์ที่เกิดชัดเจนระหว่างคู่ปูดำกับปูขาวสูงถึง 86% และ 88% (86 และ 88 ครั้ง จากการ resampling 100 ครั้ง) และระหว่างคู่ปูเขียวกับปูม่วง 51% และ 52% (51 และ 52 ครั้ง จากการ resampling 100 ครั้ง) การที่คู่ปูเขียวกับปูม่วงยืนยันความสัมพันธ์ที่เกิดชัดเจนได้เพียง 51-52% นั้น น่าเชื่อได้ว่าเนื่องมาจากข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่างปูเขียวที่มีน้อยกว่าชนิดอื่นมาก อย่างไรก็ตาม เนื่องจากชนิดของปูทะเลมี 4 ชนิด และการที่คู่ปูดำและปูขาวเกาะกลุ่มยืนยันความสัมพันธ์ที่เกิดชัดเจนถึง 86-88% ย่อมเป็นการส่งเสริมและสนับสนุนความสัมพันธ์ที่เกิดชัดเจนคู่ชนิดที่เหลือ คือปูเขียวและปูม่วง โดยทางอ้อมนั่นเอง

รูปแบบโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยข้อมูลอัลโลไซม์ที่ได้นี้ แสดงผลที่สอดคล้องกันกับข้อมูลโดยรูปลักษณะภายนอกของปูม้าปูทะเลที่แตกต่างกัน หรือเหมือนกัน ดังต่อไปนี้

- (ก) ปูม้ามีรูปลักษณะภายนอกที่แตกต่างจากกลุ่มปูทะเลอย่างเด่นชัด สอดคล้องกับผลที่ปรากฏในโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยข้อมูลอัลโลไซม์ ซึ่งได้แสดงให้เห็นว่าปูม้าถูกแยกออกจากกลุ่มปูทะเลโดยสิ้นเชิง แม้ว่าโครงสร้างนี้จะมาจากการเขียนโดยไม่กำหนด outgroup ก็ตาม
- (ข) ปูดำกับปูขาวแสดงลักษณะความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่เกิดชัดเจนโดยข้อมูลอัลโลไซม์ สอดคล้องกับลักษณะภายนอกที่คล้ายกันคือ ทั้งปูดำและปูขาวแสดงลักษณะของหนามที่ข้อศอกกลรูปเหมือนกัน (รายละเอียดตามที่ได้รายงานไว้ในหัวข้อ 4.4.1)

- (ค) ปูเขียวกับปูม่วงแสดงลักษณะความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่เกิดชัดเจนโดยข้อมูลอัลโลไซม์ สอดคล้องกับลักษณะภายนอกที่เหมือนกันคือ ทั้งปูเขียวและปูม่วงแสดงลักษณะของหนาม 2 อันที่ข้อศอกเห็นเด่นชัดเหมือนกัน ทั้งข้อศอกข้างซ้ายและข้างขวา (รายละเอียดตามที่ได้รายงานไว้ในหัวข้อ 4.4.1)

การให้ชื่อวิทยาศาสตร์ (scientific name) กับปูทะเลทั้ง 4 ชนิดในการศึกษาค้นคว้านี้ ใช้ตามรายงานการศึกษาของ คุณกาญจนา (รายงานเสนอ สกว. ฉบับสมบูรณ์) และ Keenan *et al.* (1998) เพราะจากการจำแนกชนิดปูทะเลโดยลักษณะ ภายนอกตามหลักเกณฑ์ที่ท่านเหล่านั้นได้ทำการศึกษาก่อนแล้ว (หัวข้อ 4.4.1) และจากผลของการวิเคราะห์รูปแบบโครงสร้าง ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดบนพื้นฐานของการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมอัลโลไซม์ (ภาพที่ 4-7) ได้แสดงผลที่สอดคล้องและสนับสนุน ซึ่งกันและกัน แต่ก่อนหน้านี้ มีรายงานการศึกษาหลายฉบับได้ใช้หลักเกณฑ์การจำแนกชนิดตาม Estampador (1949) รายงาน ชนิดปูทะเลไว้ในชื่อวิทยาศาสตร์ที่แตกต่างกัน (อนวัช, 2542; บรรจง และบุญรัตน์, 2545; Fuseya and Watanabe, 1996; Klinbunga *et al.*, 2000) เป็นเหตุให้ไม่สามารถนำผลการศึกษาในปูแต่ละชนิดที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้กับการศึกษาค้นคว้า วิจัยเปรียบเทียบกันได้ ถึงแม้จะเป็นการศึกษาที่ใช้เทคโนโลยีเดียวกันในปูที่ถูกระบุชื่อไว้เหมือนกันก็ตาม เนื่องจากเกิดความสับสนจากการที่การศึกษาดังกล่าวได้ระบุชื่อวิทยาศาสตร์ให้แก่ปูเป็นคนละชนิดกันไว้ภายใต้ชื่อเดียวกัน หรือระบุชื่อ ต่างกันให้แก่ปูชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตาม จากรายงานการศึกษาต่าง ๆ ที่รวบรวมได้ และจากการศึกษาค้นคว้านี้ ทำให้สามารถ สรุปชนิดปูทะเลที่พบในน่านน้ำของประเทศไทย ตามชื่อวิทยาศาสตร์และชื่อไทยที่ช้เรียก ดังแสดงใน ตารางที่ 4-5 ซึ่งทุก รายงานการศึกษามีผลที่สอดคล้องตรงกันคือ ปูทะเลในประเทศไทยมีไม่ต่ำกว่า 3 ชนิดอย่างแน่นอน จากอดีตที่เคยเข้าใจและ ยอมรับเพียงชนิดเดียวได้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Scylla serrata* เท่านั้น (ชูชาติ, 2531)

ตารางที่ 4-5 ชนิดปูทะเลที่มีการรายงานในประเทศไทยภายใต้การให้ชื่อวิทยาศาสตร์ตามหลักเกณฑ์ของ Estampador (1949) และ Keenan *et al.* (1998)

การศึกษา/รายงาน	ชนิดปูทะเล			
Estampador (1949)	<i>S. serrata</i>	<i>S. tranquebarica</i>	<i>S. oceanica</i>	<i>S. serrata</i> var. <i>paramamosain</i>
อนวัช (2542), บรรจง และ บุญรัตน์ (2545), Fuseya and Watanabe (1996) และ Klinbunga <i>et al.</i> (2000)	ดำ/แดง	เขียว	ขาว	-
Keenan <i>et al.</i> (1998)	<i>S. olivacea</i>	<i>S. tranquebarica</i>	<i>S. serrata</i>	<i>S. paramamosain</i>
Sangthong and Jondeung (2006)	"black"	"violet"	-	"white"
กาญจนา และณัฐกร (2548) และ การศึกษาค้นคว้า	ดำ/แดง	ม่วง	เขียว	ขาว

หมายเหตุ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่แสดงอยู่ในคอลัมน์เดียวกันคือชื่อพ้อง (synonym) ของปูทะเลชนิดเดียวกัน ซึ่ง Keenan *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาก่อนหน้า จากที่ Estampador (1949) ได้เคยศึกษาและรายงานไว้

4.5 สรุปผล

4.5.1 สามารถจำแนกชนิดปูออกได้เป็น ปูม้า (*Portunus pelagicus*) 1 ชนิดที่มีชื่อเรียกทั่วไปว่า blue swimming crab และปูทะเล หรือ mud crabs 4 ชนิด คือ ปูดำ (*Scylla olivacea*), ปูขาว (*S. paramamosain*), ปูเขียว (*S. serrata*) และปูม่วง (*S. tranquebarica*) โดยสามารถใช้ได้ทั้งลักษณะเด่นภายนอก (morphology) และเครื่องหมาย พันธุกรรมอัลโลไซม์ (allozyme markers) ในการระบุจำแนกชนิด

4.5.2 ได้โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดปูทั้งหมด (ปูม้า ปูดำ ปูขาว ปูเขียว ปูม่วง) โดยใช้ข้อมูล จากเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สามารถแสดงความเกี่ยวข้องใกล้ชิดกันระหว่างชนิด ปูได้สอดคล้องกับลักษณะเด่นภายนอกที่ใช้ในการจำแนกชนิด

บทที่ 5

ศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลความผันแปรและ

ปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และ

ลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปูทะเล

โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไม่โครแซทเทลไลต์

5.1 เหตุผลความสำคัญ

5.1.1 ความเป็นมา และความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคมของประเทศ

ปัจจุบันการทำการประมงปูม้าและปูทะเลของไทย นอกจากจะเป็นการจับจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียวแล้ว ส่วนใหญ่ยังต้องเกี่ยวข้อกับการจับปูขนาดใหญ่จากธรรมชาติขึ้นมากในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อประชากรปูในธรรมชาติ ประกอบกับพื้นที่หากินหรือแหล่งที่อยู่อาศัยหรือเลี้ยงตัวอ่อนตามธรรมชาติของทั้งปูม้าและปูทะเล เช่น ป่าชายเลน มีสภาพที่เสื่อมโทรมและลดน้อยลงอย่างมาก ระบบนิเวศวิทยาตามธรรมชาติของป่าชายเลนที่เหลืออยู่ถูกทำลาย เป็นเหตุให้เกิดการทำลายประมงปูม้าและปูทะเลในปริมาณที่เกินกำลังผลิตจากธรรมชาติขึ้นอย่างต่อเนื่องมาเป็นเวลานาน ปริมาณของประชากรปูในธรรมชาติจึงลดลงอย่างมากจนน่าเป็นห่วงในปัจจุบัน และทำให้ประเทศไทยถึงกับต้องนำเข้าปูจากต่างประเทศ เพื่อการบริโภคและส่งออกไปยังประเทศใกล้เคียง ผลกระทบที่เกิดขึ้นเหล่านี้ เป็นเพราะไม่มีการควบคุมดูแลการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรปูม้าและปูทะเลในธรรมชาติอย่างจริงจัง และที่สำคัญก็ยังไม่มียุทธศาสตร์ทางวิชาการเพียงพอที่จะบริหารจัดการทรัพยากรปูม้าและปูทะเลเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

ด้วยเหตุที่ปริมาณประชากรปูในธรรมชาติลดลง ความพยายามที่จะทำการเพาะพันธุ์ปูในสภาพของโรงเพาะพัก และเลี้ยงในสภาพกักขังภายในบ่อหรือกระชังจึงเกิดขึ้น ซึ่งในปัจจุบันได้มีหลายหน่วยงาน (รวมทั้งกรมประมง) ที่ให้ความสนใจในงานวิจัยในด้านเทคนิคการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ปูเศรษฐกิจเหล่านี้อยู่ อีกทั้งเกษตรกรรมและฟาร์มเอกชนต่าง ๆ กำลังให้ความสนใจในการเพาะเลี้ยงปูม้าและปูทะเลด้วยเช่นกัน แต่สิ่งสำคัญที่ควรจะต้องทราบในเบื้องต้นของโรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตัวก็คือ ขยะมูลฝอยและความหลากหลายทางพันธุกรรมในธรรมชาติของสัตว์น้ำที่จะทำการเพาะเลี้ยง เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อศักยภาพของการพัฒนาการเพาะเลี้ยง ตลอดจนถึงการทำปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต ซึ่งจะประสบผลสำเร็จหรือไม่เพียงใด ขึ้นกับพื้นฐานความรู้ในข้อมูลทางพันธุกรรมนี้เป็นสำคัญ นอกจากนี้ในการบริหารจัดการทรัพยากรปูม้าและปูทะเลเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนนี้ ยังจำเป็นต้องใช้ข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการในด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้เป็นบรรทัดฐานอีกด้วย ดังนั้นจึงสมควรอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงข้อมูลดังกล่าวโดยตรงด่วน เพื่อประโยชน์ต่อการอนุรักษ์และคุ้มครองพันธุ์ปูในธรรมชาติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการสร้างประชากรพื้นฐาน (base population) ซึ่งเป็นรากฐานสำคัญในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงและการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ปูแต่ละชนิด ซึ่งต้องเกิดขึ้นอย่างแน่นอนในอนาคตอันใกล้

จากการรายงานงานชนิดปูทะเลที่พบในประเทศไทยโดย บรรจง และบุญรัตน์ (2545) ระบุว่า ในจำนวนปู 3 ชนิด คือ ปูดำ (หรือปูแดง) ปูขาว และปูเขียว นั้น ปูขาวจะมีรสชาติที่สุกจึงมีรสชาติดีและเป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนปูเขียวมีขนาดโตกว่าปูดำและปูขาว แต่รสชาติสู้ปูขาวไม่ได้จึงมีราคาถูกกว่าปูขาว แต่ก็แพงกว่าปูดำ ขณะที่ปริมาณและการแพร่กระจายของปูดำมีมากกว่าปูอีกสองชนิดโดยพบว่าจะแพร่กระจายอยู่ทั้งทางฝั่งอันดามันและอ่าวไทย แต่อีกสองชนิดพบเฉพาะฝั่งอ่าวไทย เท่านั้น และอาจเป็นสาเหตุที่ในธรรมชาติมีปูดำแพร่กระจายอยู่มากกว่านั่นเอง จึงทำให้ปูดำขนาดเล็กถูกจับจากธรรมชาติมาใช้ในกิจการเลี้ยงปูนี้มาอย่างต่อเนื่อง และที่สำคัญกิจการเลี้ยงปูนี้กำลังขยายตัวอย่างมากเนื่องจากปูนี้ไม่มีราคาดีและเป็นที่

ต้องการของตลาดต่างประเทศ ความต้องการรูปำขนาดเล็กลงเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อย ๆ ในปัจจุบันถึงกับมีการเข้าไปจับคู่ตำจากฝั่งพม่าเพื่อมาใช้ในกิจการเลี้ยงปูนี้มนี่ โดยเฉพาะในบริเวณแถบจังหวัดระนองและใกล้เคียงซึ่งอยู่ไม่ไกลจากฝั่งพม่ามากนัก ต้องยอมรับว่ากิจการเลี้ยงปูนี้มส่งผลกระทบต่อประชากรปูทะเลในธรรมชาติของไทยเป็นอย่างมาก ทั้งในด้านปริมาณประชากรที่ลดลงอย่างรวดเร็ว และผลกระทบจากการปนเปื้อนระหว่างต่างประชากร/สายพันธุ์ ถ้าพบว่าประชากรปูจากพม่ามีพันธุกรรมที่แตกต่างกันประชากรปูของไทย

เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นได้แสดงว่า ปูแต่ละชนิดมีปริมาณและการแพร่กระจายในธรรมชาติไม่เหมือนกัน เราและความต้องการปูแต่ละชนิดของตลาดก็ต่างกัน อีกทั้งอาจมีการปนเปื้อนของปูจากต่างประชากร/สายพันธุ์ (ปูพม่า) ดังนั้น เพื่อให้การจัดการทรัพยากรปู ทั้งการอนุรักษ์และการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยง สามารถดำเนินการได้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และเกิดประโยชน์สูงสุด จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย เพื่อให้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมในหลาย ๆ ด้านที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลที่สามารถระบุระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร/สายพันธุ์ของปูม้าและปูทะเลในธรรมชาติของไทย

5.1.2 การศึกษาด้านความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็น 1 ใน 3 องค์ประกอบของความหมายของคำว่า ความหลากหลายทางชีวภาพ (biological diversity หรือ biodiversity) ซึ่งประกอบด้วย (1) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) (2) ความหลากหลายของชนิด (species diversity) และ (3) ความหลากหลายทางนิเวศวิทยา (ecological diversity) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ควรให้ข้อมูลที่มุลความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงแปรพันทางพันธุกรรมแตกต่างกันนอกไป (genetic differentiation) โดยจะมีทั้งการเปลี่ยนแปลงภายในชนิดเดียวกัน (intraspecific) ที่แตกต่างกันในแต่ละประชากร และการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันในระหว่างชนิดที่ต่างกัน (interspecific) ของกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในระดับอนุกรมวิธาน (taxon) เดียวกัน หรือใกล้เคียงกัน โดยข้อมูลความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงแตกต่างกันออกไปดังกล่าว สามารถนำไปสู่การเขียนเป็นแผนภาพแสดงลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม (genetic structure) เพื่อความเข้าใจในความแตกต่าง/แตกแยกในเชิงวิวัฒนาการ ไม่ว่าจะเป็นภายในชนิดเดียวกัน หรือระหว่างชนิดที่ต่างกัน ของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

การศึกษาคความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงควรประกอบด้วยข้อมูล 3 ด้านคือ (1) ความแปรปรวนทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ในรูปของค่าเฮเตอโรไซกอสติส (heterozygosity, Ho & He) (2) ความแตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ในรูปของค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (Nei's genetic distance, D) และค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (Wright's inbreeding coefficient, F-statistics) และ (3) ลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถเขียนออกมาเป็นแผนภาพได้โดยใช้ข้อมูลของค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (พมม และคณะ, 2543 และ 2544) ข้อมูลทางพันธุกรรมทั้ง 3 ด้านดังกล่าว เปรียบเสมือนแหล่งทรัพยากรพื้นฐานที่มีค่ามหาศาลในสัตว์แต่ละชนิด/ประชากร เนื่องจากเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นสำหรับการวางแผนทางพันธุกรรมโดยค่าเฮเตอโรไซกอสติสที่ตรวจวัดได้ในประชากร (ซึ่งจะเป็นตัวแทนของภาวะบุถึงปริมาณความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรนั่นเอง) จัดว่าเป็นทรัพยากรทางพันธุกรรม (genetic resource) ที่เป็นพื้นฐานสำคัญของการเพาะพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์สัตว์นั้น ๆ ซึ่งจะประสบผลสำเร็จหรือไม่เพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่มีในประชากรพื้นฐาน (base population) หรือประชากรเริ่มต้น เป็นสำคัญ (Allendorf and Ryman, 1987)

5.1.3 เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ (Microsatellite DNA markers)

ในจำนวนเทคนิคระดับ DNA ด้วยกันแล้ว เทคนิค microsatellite น่าจะมีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาข้อมูลความหลากหลาย/ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในสัตว์น้ำ ซึ่งได้แก่คุณสมบัติดังต่อไปนี้ (1) สามารถพบได้ทั่วทุกที่มี

ความหลากหลายของยีนอัลลีลสูง (high polymorphism of allelic gene loci) ได้หลายโลไซ (2) แสดง codominant alleles ที่สามารถระบุถึงสภาพที่เป็น homo/heterozygous genotypes ของแต่ละตัวอย่างได้อย่างชัดเจน (3) คำวนค่า allele frequency และ heterozygosity ที่ระบุถึงปริมาณความหลากหลาย/แปรปรวนทางพันธุกรรมได้ และ (4) ตัวคุณสมบัติทั้ง 3 ข้อดังกล่าว จึงง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (Queller *et al.*, 1993)

ถึงแม้ microsatellite จะเป็นเทคนิคระดับ DNA ที่ประกอบไปด้วยคุณสมบัติที่เหมาะสมหลายอย่างดังกล่าวกว่าข้างต้น แต่ก็ยังไม่ปรากฏว่ามีการศึกษาทางพันธุกรรมใด ๆ ที่ใช้ไม้ม้าและปูทะเลที่ใช้เทคนิคนี้ทำการศึกษา เท่าที่ปรากฏก็แค่การศึกษาที่ใช้เทคนิคระดับ DNA อื่น ๆ เช่น การศึกษาในประชากรปูทะเลของ Keenan *et al.* (1998), Gopurenko *et al.* (1999) และ Kilbunga *et al.* (2000) โดยที่ Keenan *et al.* (1998) และ Gopurenko *et al.* (1999) ใช้ใช้เทคนิค mtDNA ส่วน Kilbunga *et al.* (2000) ใช้เทคนิค RAPD สำหรับผลการศึกษาที่ยังไม่สามารถให้ข้อมูลด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปูทะเลในน่านน้ำไทยได้อย่างสมบูรณ์

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้แก่ ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ ภายใต้การศึกษาที่ครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้งหมดของประเทศ ซึ่งประกอบด้วย 4 การศึกษาใน 5 ขอบเขตพื้นที่หลักที่ถูกกำหนดแบ่งตามลักษณะภูมิประเทศ (ตารางที่ 4-1) และอีก 1 การศึกษาในภาพรวมของพื้นที่ทั้งหมด ดังต่อไปนี้

5.2.1 ศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลอันดามัน

5.2.2 ศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง

5.2.3 ศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง

5.2.4 ศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก

5.2.5 ศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในภาพรวมของทุกขอบเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้งหมดของประเทศ

5.3 วิธีดำเนินการ

5.3.1 การดำเนินการเกี่ยวกับตัวอย่างที่ใช้

เก็บรวบรวมตัวอย่างปูม้าและปูทะเลจากแหล่งต่าง ๆ ใน 5 ขอบเขตพื้นที่หลัก (พื้นที่ชายฝั่งทะเลอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออก ตอนบน ตอนกลาง และตอนล่าง) ตามที่กล่าวไว้ใน **หัวข้อ 2.3 (ภาพที่ 2-1)** ของ **บทที่ 2** และที่แสดงใน **ตารางที่ 4-1** ของ **บทที่ 4** ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดของชายฝั่งทะเลไทย

- **ตัวอย่างปูทะเล** **ตารางที่ 4-1** แสดงให้เห็นว่า ปูเขียวเป็นปูทะเลที่พบได้ยากมาก (rare species) ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลของไทย ตัวอย่างปูเขียวที่ใช้ในโครงการนี้ได้จากจังหวัดระนองเพียงแห่งเดียวเท่านั้น ซึ่งเป็นตัวอย่างจากโครงการของศูนย์กาญนา ชนิดปูทะเลที่พบได้ยากรองลงมาคือปูม่วง ซึ่งรวบรวมตัวอย่างได้จากทั้ง 5 ขอบเขตพื้นที่ที่กำหนด โดยพบว่าปูดำเป็นปูทะเลชนิดที่มีชุกชุม (dominant species) ของชายฝั่งทะเลอันดามัน (ทั้งของไทยและพม่า) และมีการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งด้านนี้มากกว่าปูทะเลชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นไปได้ที่เ็นบางครั้งนอกจากปูดำแล้วแทบจะไม่มีปูทะเลชนิดอื่นเลยในชายฝั่งแถบนี้

- **ตัวอย่างปูม้า** สามารถเก็บตัวอย่างปูม้าจากชายฝั่งทะเลทั้ง 5 ขอบเขตพื้นที่ที่กำหนด

- ตัวอย่างตามที่ยานงานไว้ใน ตารางที่ 4-1 ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ในห้อยปฏิบัติการตามขั้นตอนของการสกัด DNA ทำ PCR และ run denaturing polyacrylamide sequencing gel (ตามขั้นตอนและวิธีการที่ได้กล่าวไว้ใน หัวข้อ 2.2.2 ของ บทที่ 2) ทั้งนี้ได้ใช้ microsatellite primers ที่พัฒนาขึ้นมา และ/หรือรับสภาพความเหมาะสมได้แล้ว (ตามที่ตัวอย่างงาน ไว้ใน บทที่ 3) จำนวน 4 คู่ (DOFBC3, DOFBC19 หรือ DOFBC27, DOFBC23 และ DOFMC8 ในปูม้า และ 3-6 คู่ (DOFMC4, DOFMC9 และ DOFMC13 และ/หรือ DOFMC1, DOFMC3 และ DOFMC8) ในปูทะเล

5.3.2 ระบบแบบแผนในการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ ต้องดำเนินการในปูหลายชนิด ในหลากหลายจุดเก็บตัวอย่างของ 5 ของเขตพื้นที่ ครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้งหมดของประเทศ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลให้ทราบก่อนว่ามีความแตกต่างระหว่างชนิด (interspecies differences) และระหว่างตัวอย่างแต่ละแหล่งในแต่ละขอบเขตพื้นที่ของชนิดนั้น ๆ หรือไม่ หลังจากนั้นจึงทำการศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลในภาพรวม โดยตัวอย่างที่จะใช้เป็นตัวแทนปูแต่ละชนิดในแต่ละขอบเขตพื้นที่ที่ส่งมาจากแหล่งที่ไม่แสดงความแตกต่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่รวมเข้าด้วยกัน แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของขอบเขตพื้นที่นั้น ๆ ของปูแต่ละชนิด

5.3.3 การคำนวณและการวิเคราะห์ข้อมูล

การคำนวณและการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้ ดำเนินการโดยใช้ซอฟต์แวร์ที่มีชื่อว่า BIOSYS-1 release 1.7 ของ Swofford and Selander (1989) ซึ่งเป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้สำหรับการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ประชากร โดยเฉพาะ

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ข้อมูลที่ได้อาจการวิเคราะห์ตัวอย่างในห้อยปฏิบัติการโดยใช้ microsatellite marker ได้ถูกคำนวณให้เป็นข้อมูล ที่แสดงปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่างๆ ได้แก่ ความถี่อัลลีล (allele frequency) จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลคัส (averaged number of alleles per locus, NoA) และค่าเฮตเตอโรไซกอสติเฉลี่ยต่อโลคัส (averaged heterozygosity per locus) ทั้งในรูปของค่าสังเกต (observable, Ho) และค่าคาดคะเน (expected, He)

รูปแบบพันธุกรรมในสภาพที่เป็นเฮตเตอโรไซกอสและโฮโมไซกอส (heterozygous and homozygous genotypes) ของแต่ละโลคัสที่ตรวจพบในแต่ละประชากร ถูกทดสอบตามทฤษฎีสถิตัสดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium hypothesis) เพื่อระบุว่าตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของแต่ละประชากรที่กำหนดนั้น มาจากประชากรเดียวกันที่มีขนาดใหญ่มากๆ หรือไม่ เพื่อความมั่นใจในตัวอย่างที่ใช้ศึกษาในแต่ละประชากรว่าจะสามารถเป็นตัวแทนของประชากรนั้นๆ ได้โดยถูกต้อง การทดสอบทฤษฎีสถิตัสดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กดำเนินการโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ที่มีการแก้ไข (Yates correction) สำหรับข้อมูลที่มาจากตัวอย่างจำนวนน้อย (small sample size) ตามวิธีของ Siegel (1956)

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตรวจสอบและประเมินระดับของความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของตัวอย่างจากแหล่งต่างกัน โดยการคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (standard genetic distance) (Nei, 1978) และค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (inbreeding coefficients or fixation index) ในรูปของค่า F-statistics (F_{ST}) (Wright, 1978) พร้อมทั้งดำเนินการวิเคราะห์ contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

ลักษณะรูปแบบโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หรือ dendrogram ของปูม้าและปูทะเลจากแหล่งต่างๆ ถูกศึกษาวิเคราะห์ด้วยวิธีการที่เรียกว่า Cluster analysis โดยใช้วิธี WPGMA (weighted pair-group method with arithmetic averaging) หรือ UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic averaging) ซึ่งเป็นสองในสี่วิธีของ Sneath and Sokal (1973) ที่นิยมใช้กันมากที่สุด (Swofford and Selander, 1989) และใช้ข้อมูลของค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐานที่ได้จากการคำนวณตามวิธีของ Nei (1978) เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีการดังกล่าว

5.4 ผลการศึกษาและวิจารณ์

5.4.1 ผลการศึกษาประชากรปูม้าและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลอันดามัน

5.4.1.1 ปูม้า (ตัวอย่างจาก 3 แหล่ง : ระนอง กระบี่/ภูเก็ต และสตูล)

- ข้อมูลความสัมพันธ์และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-1 แสดงค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลคัส (NoA) และค่าเฮเทอโอโรโซติซิตีเฉลี่ยต่อโลคัส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci (DOFBSC3, DOFBSC19, DOFBSC23 และ DOFMC8) ในประชากรปูม้าทั้ง 3 แหล่งของชายฝั่งอันดามัน

ตารางที่ 5-1 ค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้า 3 แหล่ง (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, $\pm$ SE)

Population source (แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูม้าระนอง	11.8 ($\pm$ 2.4)	0.786 ($\pm$ 0.170)	0.807 ($\pm$ 0.125)
ปูม้าสตูล	10.8 ($\pm$ 2.4)	0.808 ($\pm$ 0.168)	0.810 ($\pm$ 0.114)
ปูม้ากระบี่/ภูเก็ต	9.3 ($\pm$ 1.1)	0.786 ($\pm$ 0.137)	0.789 ($\pm$ 0.102)

ส่วน ตารางที่ 5-2 แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 4 microsatellite loci ของปูม้าจากชายฝั่งทะเลอันดามัน 3 แหล่งพร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ว่าจะแต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าประชากรจากทุกแหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p > 0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่ว่าจะเป็นที่โลคัสใดๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น ดังนั้นข้อมูลที่ปรากฏจึงถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-2 ค่าความถี่อัลลีลที่ 4 microsatellite loci ในประชากรรูปม้วน 3 แหล่งของชาฝ่งอันตามัน พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของรูปม้วน 3 แหล่งตัวอย่าง		
		ระนอง	สตูล	กระบี่
DOFBSC3	196	0.000	0.038	0.036
	198	0.036	0.077	0.000
	200	0.071	0.038	0.036
	202	0.036	0.154	0.036
	210	0.071	0.115	0.071
	214	0.107	0.192	0.107
	216	0.107	0.154	0.250
	218	0.143	0.077	0.143
	220	0.071	0.038	0.250
	224	0.107	0.077	0.000
	230	0.107	0.038	0.036
	236	0.036	0.000	0.000
χ^2 -test	238	0.071	0.000	0.000
	244	0.036	0.000	0.000
	254	0.000	0.000	0.036
	χ^2	12.403	8.841	9.375
	df	78	55	45
DOFBSC19	p	1.000	1.000	1.000
	325	0.038	0.000	0.000
	329	0.077	0.000	0.000
	335	0.038	0.038	0.000
	337	0.115	0.038	0.000
	345	0.038	0.038	0.071
	349	0.231	0.038	0.107
	351	0.038	0.038	0.107
	353	0.038	0.231	0.107
	359	0.192	0.077	0.143
	367	0.038	0.077	0.107
	375	0.000	0.038	0.000
χ^2 -test	377	0.077	0.077	0.143
	385	0.038	0.077	0.107
	391	0.038	0.038	0.036
	401	0.000	0.000	0.036
	419	0.000	0.038	0.000
χ^2 -test	425	0.000	0.000	0.036
	χ^2	18.573	19.534	41.221
p	df	78	78	55
	p	1.000	1.000	0.916

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูมาจาก 3 แหล่งตัวอย่าง		
		ระนอง	สตูล	กระบี่
DOFBSC23	364	0.036	0.000	0.000
	366	0.036	0.000	0.000
	368	0.036	0.038	0.000
	370	0.000	0.038	0.036
	372	0.071	0.038	0.071
	374	0.036	0.000	0.000
	376	0.036	0.038	0.000
	378	0.036	0.077	0.000
	380	0.036	0.077	0.036
	382	0.000	0.038	0.071
	384	0.036	0.038	0.036
	386	0.000	0.038	0.000
	388	0.071	0.038	0.036
	390	0.036	0.038	0.179
	392	0.179	0.269	0.214
	394	0.071	0.038	0.000
	396	0.071	0.000	0.000
	398	0.143	0.154	0.214
	400	0.071	0.038	0.107
χ^2 -test	χ^2	63.421	29.263	14.425
	df <i>p</i>	120 1.000	105 1.000	45 1.000
DOFMC8	159	0.000	0.000	0.036
	163	0.750	0.731	0.714
	167	0.036	0.038	0.036
	175	0.071	0.000	0.036
	179	0.000	0.115	0.000
	183	0.000	0.038	0.107
	187	0.000	0.000	0.071
	195	0.107	0.000	0.000
χ^2 -test	199	0.036	0.000	0.000
	χ^2 df <i>p</i>	3.651 10 0.962	0.881 6 0.990	0.913 15 1.000

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-3, 5-4 และ 5-5 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (ค่า D ของ Nei, 1978) ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรผู้นำจาก 3 แหล่งโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงในทั้ง 3 ตาราง ระบุชัดเจนว่า ประชากรผู้นำจาก 3 แหล่งไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน

ตารางที่ 5-3 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (ค่า D ของ Nei, 1978) ระหว่างประชากรผู้นำจาก 3 แหล่งในฝั่งอันดามันจากการศึกษาที่จำนวน 4 microsatellite loci

ผู้นำ 3 แหล่งในฝั่งอันดามัน	ระนอง	สตูล	กระบี่
ระนอง	-		
สตูล	0.000	-	
กระบี่	0.002	0.000	-

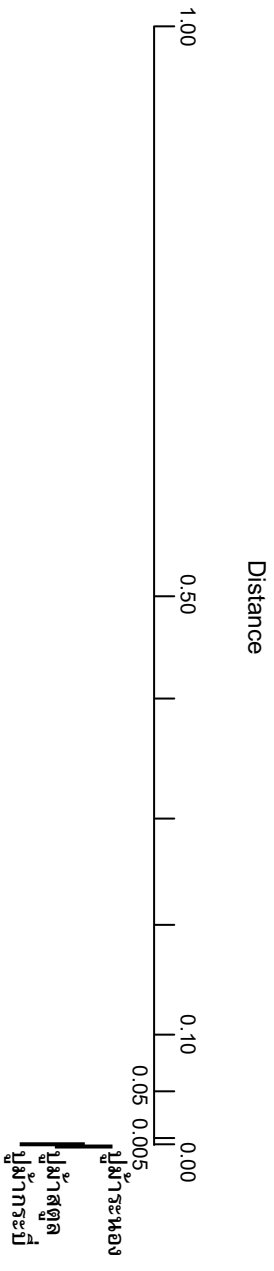
ตารางที่ 5-4 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรผู้นำจาก 3 แหล่งในฝั่งอันดามัน จากการศึกษที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST}	
	Wright (1978)	การศึกษครั้งนี้
น้อย หรือ ไม่มี (little or none)	0 – 0.05	0.024
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15	-
สูง (great)	0.15 – 0.25	-
สูงมาก (very great)	> 0.25	-

ตารางที่ 5-5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรผู้นำจาก 3 แหล่งในฝั่งอันดามัน ที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)
($p > 0.05$ หมายถึงว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
DOFBSC3	15	30.552	28	0.3373
DOFBSC19	17	32.312	32	0.4514
DOFBSC23	19	28.592	36	0.8054
DOFMC8	9	25.248	16	0.0656
Totals		116.704	112	0.3615

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-1 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูม้า 3 แหล่งของฝั่งอันดามันจากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

จากลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้า 3 แหล่งของฝั่งอันดามันใน **ภาพที่ 5-1** นั้นแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากระหว่างประชากรทั้ง 3 แหล่ง ซึ่งน่าจะเป็นการยืนยันอีกครั้งที่ว่าประชากรทั้ง 3 แหล่งนี้มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน หรือประชากรทั้ง 3 แหล่งก็ถือเป็นประชากรเดียวกัน

5.4.1.2 ปูทะเล (ตัวอย่างจาก 4 แหล่ง : ระนอง กระบี่ภูเก็ต สตูล และพม่า)

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-6 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลคัส (NoA) และค่าเฮเทอโอไซโกสตีเฉลี่ยต่อโลคัส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ที่จำนวน 3 microsatellite loci (DOFMC1, DOFMC3 และ DOFMC8) ในประชากรปูดำ 4 แหล่ง (ระนอง กระบี่ สตูล และพม่า) และประชากรปูม่วง ขาว และเขียวจากระนอง

ส่วน **ตารางที่ 5-7** แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 3 microsatellite loci ของประชากรปูดำ 4 แหล่ง (ระนอง กระบี่ สตูล และพม่า) และประชากรปูม่วง ขาว และเขียวจากระนอง พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ที่แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าทุกประชากรไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p>0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันตติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่ว่าจะที่โลคัสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ดังนั้นข้อมูลที่ใช้จึงถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-6 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 3 microsatellite loci ในประชากรปูดำ 4 แหล่ง (ระนอง กระบี่ สตูล และพม่า) และประชากรปูม่วง ขาว และเขียวจากระนอง (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, $\pm$ SE)

Population / Source (ประชากร / แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูดำระนอง	7.0 (± 2.9)	0.579 (± 0.044)	0.658 (± 0.140)
ปูดำกระบี่	5.7 (± 2.0)	0.669 (± 0.026)	0.704 (± 0.089)
ปูดำสตูล	5.7 (± 2.3)	0.506 (± 0.042)	0.656 (± 0.130)
ปูดำพม่า	6.3 (± 2.6)	0.576 (± 0.049)	0.668 (± 0.147)
ปูม่วงระนอง	3.3 (± 1.9)	0.509 (± 0.289)	0.462 (± 0.244)
ปูขาวระนอง	6.0 (± 1.7)	0.619 (± 0.198)	0.775 (± 0.078)
ปูเขียวระนอง	4.3 (± 1.3)	0.528 (± 0.042)	0.525 (± 0.044)

ตารางที่ 5-7 ค่าความถี่อัลลีลที่ 3 microsatellite loci ในประชากรรูปต่ำ 4 แหล่ง (ระนอง กระบี่ สตูล และพะมา) และประชากร
ปูม่วง ชาว และเขียวจากกระนอง พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square
goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite loci	Base pair	ค่าความถี่อัลลีลของประชากรรูปต่ำ 4 ชนิดจากแหล่งต่างๆ						
		ตำระนอง	ตำกระบี่	ตำสตูล	ตำพม่า	ม่วงระนอง	ขาวระนอง	เขียวระนอง
DOFMC1	168	0.030	0.033	0.000	0.020	0.000	0.000	0.038
	172	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000
	176	0.015	0.000	0.000	0.040	0.053	0.071	0.000
	180	0.015	0.000	0.096	0.060	0.000	0.000	0.000
	184	0.242	0.400	0.288	0.240	0.132	0.333	0.115
	188	0.091	0.033	0.135	0.060	0.053	0.048	0.000
	192	0.106	0.067	0.077	0.080	0.105	0.190	0.038
χ^2 -test	196	0.182	0.200	0.154	0.100	0.316	0.167	0.154
	200	0.121	0.133	0.077	0.180	0.184	0.024	0.038
	204	0.061	0.032	0.115	0.080	0.158	0.095	0.346
	208	0.061	0.033	0.019	0.080	0.000	0.048	0.269
	212	0.045	0.067	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000
	216	0.030	0.000	0.019	0.000	0.000	0.024	0.000
	χ^2	65.201	15.648	29.294	39.568	12.629	14.896	11.614
	df	66	36	45	55	21	36	21
	p	0.505	0.999	0.966	0.942	0.921	0.999	0.949
DOFMC3	208	0.738	0.563	0.722	0.750	0.500	0.500	0.500
	214	0.262	0.438	0.278	0.250	0.500	0.417	0.333
	220	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.167
χ^2 -test	χ^2	1.390	0.081	1.371	0.653	2.500	2.548	0.333
	df	1	1	1	1	1	3	3
	p	0.238	0.775	0.242	0.419	0.114	0.467	0.954
DOFMC8	169	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000
	173	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.250	0.000
	177	0.083	0.071	0.115	0.083	0.000	0.000	0.400
	181	0.139	0.214	0.231	0.250	0.000	0.167	0.000
	185	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	189	0.500	0.429	0.500	0.458	1.000	0.000	0.100
	193	0.194	0.143	0.077	0.125	0.000	0.083	0.500
	197	0.028	0.071	0.077	0.042	0.000	0.083	0.000
	205	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000
	χ^2 -test	χ^2	1.941	1.302	4.487	3.436	-	2.000
	df	21	15	10	15	-	15	3
	p	1.000	1.000	0.923	0.999	-	1.000	0.618

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-8, 5-9 และ 5-10 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (ค่า D ของ Nei, 1978) ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรคู่จาก 4 แหล่ง (ระนอง สตูล กระบี่ และพม่า) และระหว่างชนิตูป่า ชาว เขียว และม่วงจากระนอง โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 3 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงในทั้ง 3 ตาราง ระบุชัดเจนว่า ประชากรรูปตำจาก 4 แหล่ง คือ ระนอง สตูล กระบี่ และพม่า ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน แต่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระหว่างชนิตูป่า ชาว เขียว และม่วงจากจังหวัดระนอง

ตารางที่ 5-8 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (ค่า D ของ Nei, 1978) ระหว่างประชากรหมู่ละ 4 ชนิตูจากแหล่งต่างๆ ในฝั่งอันดามัน จากการศึกษากี่จำนวน 3 microsatellite loci

ประชากร	ตำระนอง	ตำกระบี่	ตำสตูล	ตำพม่า	ม่วงระนอง	ขาวระนอง	เขียวระนอง
ตำระนอง	-						
ตำกระบี่	0.000	-					
ตำสตูล	0.000	0.000	-				
ตำพม่า	0.000	0.000	0.000	-			
ม่วงระนอง	0.123	0.101	0.130	0.160	-		
ขาวระนอง	0.212	0.068	0.198	0.189	0.553	-	
เขียวระนอง	0.217	0.236	0.282	0.254	0.580	0.283	-

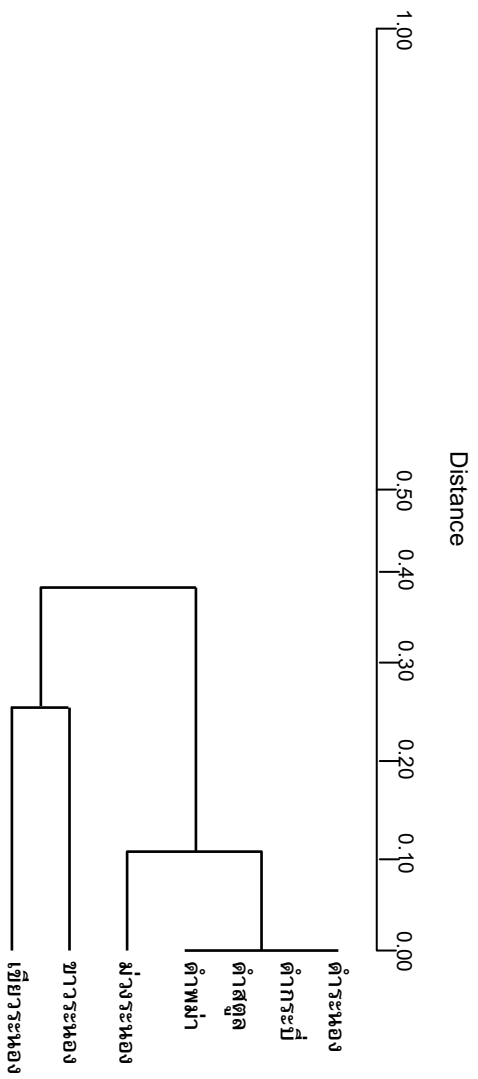
ตารางที่ 5-9 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรหมู่ละ 4 ชนิตูจากแหล่งต่างๆ ในฝั่งอันดามัน จากการศึกษากี่จำนวน 3 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} จากการศึกษากี่ครั้งนี้	
		ระหว่างประชากรภายในชนิตู (ป่ตำ)	ระหว่างชนิตูในประชากรทั้งหมด
น้อย หรือไม่มี (little or none)	0 – 0.05	0.002	-
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15	-	0.105
สูง (great)	0.15 – 0.25	-	-
สูงมาก (very great)	> 0.25	-	-

ตารางที่ 5-10 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปตำจาก 4 แหล่ง (ระนอง สตูล กระบี่ และพม่า) และระหว่างชนิตูป่า ชาว เขียว และม่วงจากระนอง โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity จากการศึกษากี่ 3 microsatellite loci ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ, $p < 0.001$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

Microsatellite locus	No. of alleles	ระหว่างประชากรของป่ตำ			ระหว่างประชากรของชนิตูทั้งหมด		
		χ^2	df	p	χ^2	df	p
DOFMC1	13	32.514	36	0.6352	118.309	72	0.0005
DOFMC3	2	2.134	3	0.5451	22.694	12	0.0304
DOFMC8	9	16.831	24	0.8558	91.892	48	0.0001
Totals		51.480	63	0.8499	232.894	132	0.0000

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-2 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรหมู่ทะเล 4 ชนิดจากแหล่งต่างๆ ในฝั่งอันดามัน จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรหมู่ทะเล 4 ชนิด จากแหล่งต่างๆ ในฝั่งอันดามัน ใน **ภาพที่ 5-2** นั้น แสดงให้เห็นว่าประชากรบูตำจาก 4 แหล่ง คือ ระนอง สตูล กระบี่ และพม่า มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่แตกต่างกัน หรือเป็นประชากรเดียวกัน ในขณะเดียวกันได้แสดงความสัมพันธ์ที่ห่างกันหรือแยกกันชัดเจนในระหว่างประชากรบูตำ ม่วง ขาว และเขียวจากจังหวัดระนอง ซึ่งก็คือการแสดงความสัมพันธ์ในกลุ่มของชนิดที่ต่างกัน (inter-species relationship) หรือเป็นคนละชนิดกัน

5.4.2 ผลการศึกษาประชากรบูตำและปูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง

5.4.2.1 ปูม้า (ตัวอย่างจาก 5 แหล่ง : อ.ระโนด อ.เมืองสงขลา/ทะเลนอก ทะเลสาบสงขลา/ทะเลใน

ปัตตานี/อ.ยะหริ่ง และนราธิวาส/อ.ตากใบ)

- ข้อมูลความสัมพันธ์และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-11 แสดงค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลกัส (NoA) และค่าเฮตเตอร์-ไซเทอซิตีเฉลี่ยต่อโลกัส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรบูม้าทั้ง 5 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง (อ.ระโนด อ.เมืองสงขลา/ทะเลนอก ทะเลสาบสงขลา/ทะเลใน ปัตตานี/อ.ยะหริ่ง และนราธิวาส/อ.ตากใบ) จากการวิเคราะห์จำนวน 4 microsatellite loci ด้วย primers DOFBSC3, DOFMC8, DOFBSC23 และ DOFBSC27

ส่วน **ตารางที่ 5-12** แสดงค่าเฉลี่ยอัลลีลที่จำนวน 4 microsatellite loci ของปูม้าจากชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง 5 จุดนั้น พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันดูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ที่แสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ที่แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าประชากรจากทุกแหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p > 0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันดูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่ว่าที่โลกัสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า Ho ที่ปรากฏ และค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสันดูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กไม่มีความสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษานั้นจึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลที่ปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-11 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยดอนล่าง (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, ±SE)

Population source (แหล่ง/จุดเก็บตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูม้าอ.ระโนด	12.3 (±1.9)	0.814 (±0.088)	0.859 (±0.039)
ปูม้าทะเลสาบสงขลา (ทะเลใน)	8.8 (±1.4)	0.864 (±0.062)	0.824 (±0.030)
ปูม้าอ.เมืองสงขลา (ทะเลนอก)	8.0 (±1.2)	0.786 (±0.041)	0.832 (±0.031)
ปูม้าปัตตานี (อ.ยะหริ่ง)	15.5 (±3.3)	0.903 (±0.038)	0.877 (±0.031)
ปูม้าหน้าราชีवास (อ.ตากใบ)	14.3 (±2.7)	0.854 (±0.042)	0.885 (±0.023)

ตารางที่ 5-12 ค่าความถี่ยัลลิลที่ 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยดอนล่าง พร้อมด้วยการทดสอบหาค่า χ^2 ในโปรแกรม GenAlEx 6.5 โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่าง				
		ระโนด	ทะเลสาบสงขลา (ใน)	เมืองสงขลา (นอก)	ปัตตานี	นราธิวาส
DOFBSC3	174	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000
	180	0.000	0.000	0.071	0.000	0.017
	182	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000
	186	0.050	0.000	0.000	0.019	0.000
	188	0.100	0.071	0.071	0.038	0.034
	192	0.000	0.000	0.071	0.019	0.017
	194	0.025	0.143	0.071	0.019	0.086
	196	0.075	0.000	0.000	0.135	0.052
	200	0.050	0.000	0.000	0.038	0.052
	202	0.100	0.071	0.000	0.019	0.034
	204	0.100	0.000	0.071	0.115	0.086
	206	0.025	0.000	0.000	0.000	0.052
	208	0.025	0.143	0.286	0.077	0.069
	210	0.150	0.286	0.071	0.115	0.155
	214	0.125	0.071	0.143	0.077	0.069
	216	0.050	0.143	0.000	0.115	0.034
	220	0.000	0.000	0.071	0.019	0.103
	224	0.050	0.000	0.000	0.058	0.000
	226	0.000	0.000	0.000	0.058	0.069
	232	0.050	0.000	0.000	0.019	0.000
	238	0.000	0.071	0.000	0.000	0.052
	242	0.025	0.000	0.071	0.000	0.017
	246	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000
	χ^2 -test	χ^2	20.868	6.045	11.018	33.192
df		105	28	45	171	136
p		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่าง				
		ระโนด	ทะเลสาบสงขลา (ใน)	เมืองสงขลา (นอก)	ปัตตานี	นราธิวาส
DOFMC8	159	0.444	0.350	0.214	0.310	0.250
	163	0.000	0.000	0.000	0.017	0.017
	167	0.139	0.050	0.143	0.069	0.033
	171	0.083	0.100	0.000	0.086	0.167
	175	0.083	0.300	0.143	0.259	0.217
	179	0.139	0.100	0.214	0.138	0.167
	183	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000
	187	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000
	191	0.056	0.050	0.071	0.069	0.083
	195	0.028	0.000	0.143	0.034	0.067
χ^2 -test	199	0.000	0.050	0.000	0.017	0.000
	χ^2	4.241	5.069	2.802	10.324	16.000
DOFBSC23	df	28	21	21	36	28
	p	1.000	1.000	1.000	1.000	0.966
	350	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019
	358	0.000	0.000	0.000	0.036	0.038
	362	0.025	0.000	0.000	0.018	0.019
	364	0.025	0.050	0.000	0.107	0.077
	368	0.150	0.000	0.000	0.089	0.135
	372	0.075	0.250	0.143	0.161	0.115
	376	0.125	0.100	0.357	0.232	0.154
	380	0.175	0.150	0.000	0.036	0.038
χ^2 -test	382	0.075	0.050	0.000	0.018	0.058
	384	0.175	0.300	0.143	0.071	0.173
	388	0.075	0.100	0.286	0.179	0.135
	392	0.100	0.000	0.071	0.054	0.038
	χ^2	10.251	2.644	0.970	13.830	7.644
	df	45	21	10	55	66
	p	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่าง				
		ระโนด	ทะเลสาบสงขลา (ใน)	เมืองสงขลา (นอก)	ปัตตานี	นราธิวาส
DOFBSC27	237	0.000	0.050	0.000	0.017	0.017
	239	0.025	0.100	0.000	0.034	0.000
	243	0.100	0.150	0.143	0.069	0.138
	245	0.000	0.000	0.071	0.034	0.121
	249	0.050	0.000	0.000	0.017	0.017
	253	0.100	0.150	0.143	0.052	0.103
	255	0.175	0.050	0.071	0.052	0.121
	259	0.050	0.050	0.000	0.086	0.103
	261	0.000	0.000	0.000	0.017	0.017
	265	0.075	0.050	0.071	0.034	0.017
	267	0.075	0.150	0.000	0.103	0.052
	271	0.025	0.050	0.071	0.034	0.034
	273	0.000	0.050	0.000	0.017	0.034
	275	0.000	0.000	0.000	0.017	0.017
	277	0.025	0.000	0.071	0.069	0.069
	279	0.025	0.050	0.071	0.034	0.017
	285	0.075	0.050	0.143	0.103	0.052
	287	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000
	289	0.125	0.000	0.000	0.121	0.017
	297	0.025	0.000	0.143	0.017	0.017
	301	0.025	0.050	0.000	0.017	0.017
	305	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000
	309	0.000	0.000	0.000	0.017	0.017
	317	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	21.742	10.689	7.196	70.018	50.800
	df	120	78	45	253	190
	p	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-13 และ 5-14 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปมาจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยดอนล่างโดยวิธี contingency analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci

ตารางที่ 5-13 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปมาจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอำเภอไทยดอนล่าง จากการศึกษาก่อนที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST}	
	Wright (1978)	การศึกษาก่อนหน้านี้
น้อย หรือ ไม่มี (little or none) ปานกลาง (moderate) สูง (great) สูงมาก (very great)	0 – 0.05	0.032
	0.05 – 0.15	-
	0.15 – 0.25	-
	> 0.25	-

ตารางที่ 5-14 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปมาจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอำเภอไทยดอนล่าง ที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)

Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
DOFBSC3	23	93.726	88	0.31824
DOFMC8	11	44.200	40	0.29872
DOFBSC23	12	47.712	44	0.32427
DOFBSC27	24	74.968	92	0.90194
(Totals)		260.607	264	0.54746

($p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

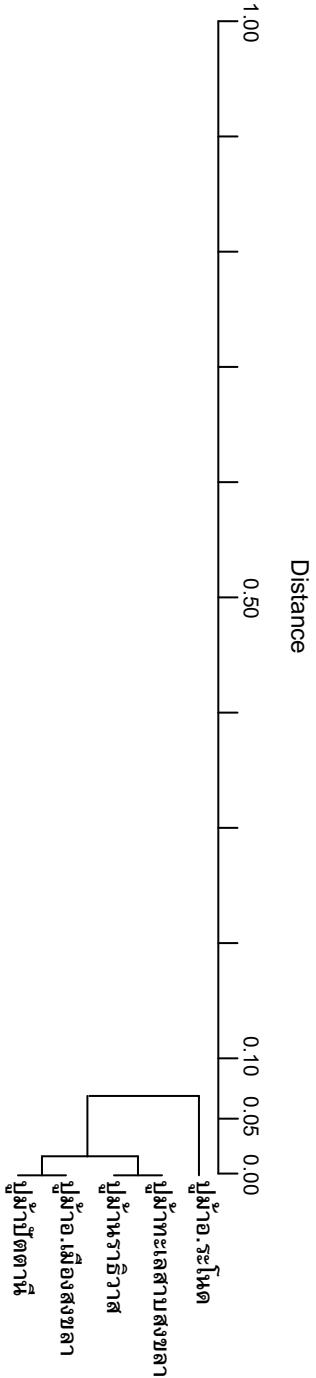
ผลการศึกษาที่แสดงใน ตารางที่ 5-13 ระบุว่า ประชากรรูปมาจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอำเภอไทยดอนล่างมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับที่น้อยมาก หรือ ไม่มีเลย (little or none) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่าง (ค่า F_{ST}) ที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งก็ตรงกับค่า p ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน ตารางที่ 5-14 ซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5-15 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง ต่อไป

ตารางที่ 5-15 ค่า D ของ Nei (1978) ในระหว่างทุกคู่ประชากรของปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง

ปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง	อ.ระโนด	ทะเลสาบสงขลา (ทะเลใน)	อ.เมืองสงขลา (ทะเลนอก)	ปัตตานี (อ.ยะหริ่ง)
อ.ระโนด	-			
ทะเลสาบสงขลา (ทะเลใน)	0.019	-		
อ.เมืองสงขลา (ทะเลนอก)	0.122	0.038	-	
ปัตตานี (อ.ยะหริ่ง)	0.046	0.016	0.000	-
นราธิวาส (อ.ตากใบ)	0.053	0.000	0.000	0.000

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-3 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง จากการศึกษาโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

จากลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้าจาก 5 จุดเก็บตัวอย่างในฝั่งอ่าวไทยตอนล่างใน ภาพที่ 5-3 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกันระหว่างประชากรปูม้าในบริเวณนี้ ซึ่งเป็นการยืนยันผลการศึกษาใน ตารางที่ 5-13 (ค่า F_{ST}) ตารางที่ 5-14 (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ ตารางที่ 5-15 (ค่า D)

5.4.2.2 ปุทะเล (ตัวอย่าง 3 ชนิด จาก 4 แหล่ง : อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส)

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-16 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลกัส (NoA) และค่าเฮเตอโรไซโกซิตีเฉลี่ยต่อโลกัส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรปูดำ และปูขาวจาก 4 แหล่ง (อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) และปูม่วงจาก 1 แหล่ง (นราธิวาส) ในเขตอ่าวไทยตอนล่าง จากการวิเคราะห์ที่จำนวน 6 microsatellite loci ด้วย primers DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9 และ DOFMC13

ตารางที่ 5-16 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 6 microsatellite loci ในประชากรปูดำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, ±SE)

Population / Source (ประชากร / แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูดำระโนด	3.5 (±0.6)	0.399 (±0.119)	0.463 (±0.106)
ปูดำทะเลสาบสงขลา	3.2 (±0.8)	0.400 (±0.134)	0.443 (±0.145)
ปูดำปัตตานี	3.2 (±0.5)	0.583 (±0.160)	0.512 (±0.105)
ปูตานนราธิวาส	4.3 (±0.8)	0.470 (±0.102)	0.512 (±0.111)
ปูขาวระโนด	6.2 (±1.7)	0.587 (±0.087)	0.652 (±0.101)
ปูขาวทะเลสาบสงขลา	5.3 (±1.3)	0.612 (±0.105)	0.614 (±0.101)
ปูขาวปัตตานี	6.3 (±1.9)	0.571 (±0.127)	0.615 (±0.123)
ปูขาวนราธิวาส	4.7 (±1.0)	0.535 (±0.135)	0.608 (±0.110)
ปูม่วงนราธิวาส	3.3 (±0.8)	0.500 (±0.113)	0.527 (±0.078)

ส่วน ตารางที่ 5-17 แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 6 microsatellite loci ของประชากรปูดำ และปูขาว จาก 4 แหล่ง

(อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) และปูม่วงจาก 1 แหล่ง (นราธิวาส) พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันดุสฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ที่แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าทุกประชากรไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างหรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันดุสฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($p > 0.05$) ไม่ว่าจะเป็นลำดับใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า Ho ที่ปรากฏ และค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสันดุสฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดี่ยวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-17 ค่าความถี่อัลลีลที่ 6 microsatellite loci ในประชากรปูดำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสถิตฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite loci	Base pair	ปูดำ ระโนด	ปูดำ ทะเลสาบสงขลา	ปูดำ ปัตตานี	ปูดำ นราธิวาส	ปูขาว ระโนด	ปูขาว ทะเลสาบสงขลา	ปูขาว ปัตตานี	ปูขาว นราธิวาส	ปูม่วง นราธิวาส
DOFMC1	188	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.063	0.000	0.000
	192	0.500	0.188	0.333	0.458	0.250	0.000	0.229	0.063	0.500
	196	0.250	0.625	0.500	0.208	0.393	0.591	0.396	0.500	0.300
	200	0.250	0.188	0.167	0.292	0.250	0.273	0.208	0.188	0.200
χ^2 -test	204	0.000	0.000	0.000	0.042	0.107	0.091	0.104	0.250	0.000
	χ^2	250	0.549	0.333	3.061	4.294	0.120	4.372	0.628	0.722
	df	3	3	3	6	6	6	10	6	3
	p	0.969	0.908	0.954	0.801	0.637	1.000	0.929	0.996	0.868
DOFMC3	208	1.000	1.000	1.000	1.000	0.318	0.650	0.300	0.444	0.200
	214	-	-	-	-	0.682	0.350	0.700	0.556	0.800
χ^2 -test	χ^2	-	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.322	0.000
	df	-	-	-	-	1	1	1	1	1
	p	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	0.570	1.000
DOFMC4	151	0.071	0.000	0.000	0.000	0.050	0.050	0.000	0.063	0.000
	153	0.143	0.111	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000
	155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.000	0.125	0.000
	157	0.071	0.111	0.000	0.042	0.100	0.300	0.237	0.000	0.200
	159	0.429	0.278	0.167	0.375	0.300	0.300	0.316	0.313	0.800
	161	0.286	0.333	0.500	0.167	0.300	0.250	0.184	0.250	0.000
	163	0.000	0.111	0.167	0.375	0.200	0.050	0.237	0.125	0.000
	165	0.000	0.056	0.167	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000
	χ^2	1.116	2.873	0.083	1.991	2.142	2.361	4.306	6.674	0.000
	df	10	15	6	10	15	15	10	15	1
	p	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	1.000	0.933	0.966	1.000
DOFMC8	169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.846	0.875	0.952	0.938	0.500
	173	0.100	0.071	0.333	0.136	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000
	177	0.100	0.214	0.083	0.136	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
	181	0.800	0.571	0.500	0.636	0.115	0.083	0.048	0.063	0.000
	185	0.000	0.143	0.000	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	189	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	1.853	1.664	0.208	1.528	1.428	2.290	3.740	0.000	0.500
	df	3	6	6	6	3	3	1	1	1
	p	0.603	0.948	1.000	0.958	0.699	0.514	0.051	1.000	0.480

Microsatellite loci	Base pair	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles	putative number of alleles
DOFMC9	188	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.125	0.000	0.000
	190	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.083	0.020	0.000
	192	0.000	0.000	0.000	0.038	0.031	0.000	0.060	0.111
	194	0.000	0.278	0.000	0.115	0.094	0.167	0.120	0.056
	196	0.063	0.222	0.167	0.077	0.156	0.083	0.140	0.167
	198	0.438	0.222	0.167	0.308	0.188	0.125	0.320	0.333
	200	0.438	0.278	0.500	0.385	0.063	0.167	0.080	0.167
	202	0.000	0.000	0.000	0.038	0.125	0.083	0.040	0.000
	204	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.042	0.080	0.000
	206	0.063	0.000	0.000	0.038	0.031	0.042	0.060	0.111
	208	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000
	210	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.042	0.020	0.000
χ^2 -test	212	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.040	0.000
	214	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
	218	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	220	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	222	0.688	1.000	0.667	0.731	0.115	0.250	0.140	0.167
	224	0.000	0.000	0.167	0.000	0.231	0.208	0.120	0.167
	226	0.063	0.000	0.000	0.077	0.192	0.250	0.280	0.333
	228	0.000	0.000	0.167	0.000	0.115	0.000	0.060	0.056
	230	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.083	0.020	0.056
	234	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000
	236	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.020	0.000
	242	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.300
DOFMC13	244	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000
	246	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	248	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	250	0.125	0.000	0.000	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000
	252	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	256	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	258	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	268	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100
	276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200
χ^2 -test	χ^2	4.983	-	0.000	6.588	6.447	3.776	14.335	2.500
	df	10	-	3	10	36	15	66	21
	p	0.892	-	1.000	0.764	1.000	0.998	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-18 และ 5-19 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และ นราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงใน **ตารางที่ 5-18** ระบุว่า ประชากรรูปต่ำ ขาว และม่วงจาก 4 แหล่งในฝั่งอำเภอไทยดอนล่าง มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของชนิดเดียวกันในระดับที่น้อยมาก หรือแทบไม่มีเลย (little or none) แต่มีความแตกต่างระหว่างประชากรของชนิดที่ต่างกัน (ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด) ในระดับสูง (great) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่างที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งก็ตรงกับระดับของค่า p ที่ได้จากวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน **ตารางที่ 5-19** (ค่า p ระหว่างประชากรภายในชนิดทั้งรูปต่ำและปูขาวมีค่า > 0.05 ซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ส่วนค่า p ระหว่างประชากรต่างชนิดมีค่า < 0.001 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-18 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส จากการศึกษากันจำนวน 6 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบ กับค่าที่กำหนดระดับความแตกต่าง (F_{ST}) โดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนด	ค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} จากการศึกษาครั้งนี้		
		ระหว่างประชากรภายในชนิด	ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด	
น้อย หรือไม่มี (little or none)	0 – 0.05	0.019	-	-
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15	-	-	-
สูง (great)	0.15 – 0.25	-	-	0.159
สูงมาก (very great)	> 0.25	-	-	-

ตารางที่ 5-19 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity จากการศึกษากันที่ 6 microsatellite loci

Microsatellite locus	ระหว่างประชากรของรูปต่ำ				ระหว่างประชากรของปูขาว				ระหว่างประชากรของปู 3 ชนิด			
	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p
DOFMC1	4	10.297	9	0.3270	5	14.153	12	0.2910	5	44.599	32	0.0686
DOFMC3	-	-	-	-	2	8.080	3	0.0444	2	78.504	8	0.0000
DOFMC4	7	22.290	18	0.2194	9	33.077	24	0.1025	9	86.037	64	0.0345
DOFMC8	5	11.765	12	0.4647	4	7.951	9	0.5391	6	191.309	40	0.0000
DOFMC9	8	25.794	21	0.2144	16	48.004	45	0.3520	16	145.368	120	0.0574
DOFMC13	8	32.076	21	0.0575	12	19.288	33	0.9724	20	325.875	152	0.0000
(Totals)		102.222	81	0.0557		130.553	126	0.3725		871.693	416	0.0000

($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ, $p < 0.001$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-20 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปูทะเลต่อไป ส่วน **ตารางที่ 5-21** แสดงค่า D เฉลี่ยของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน

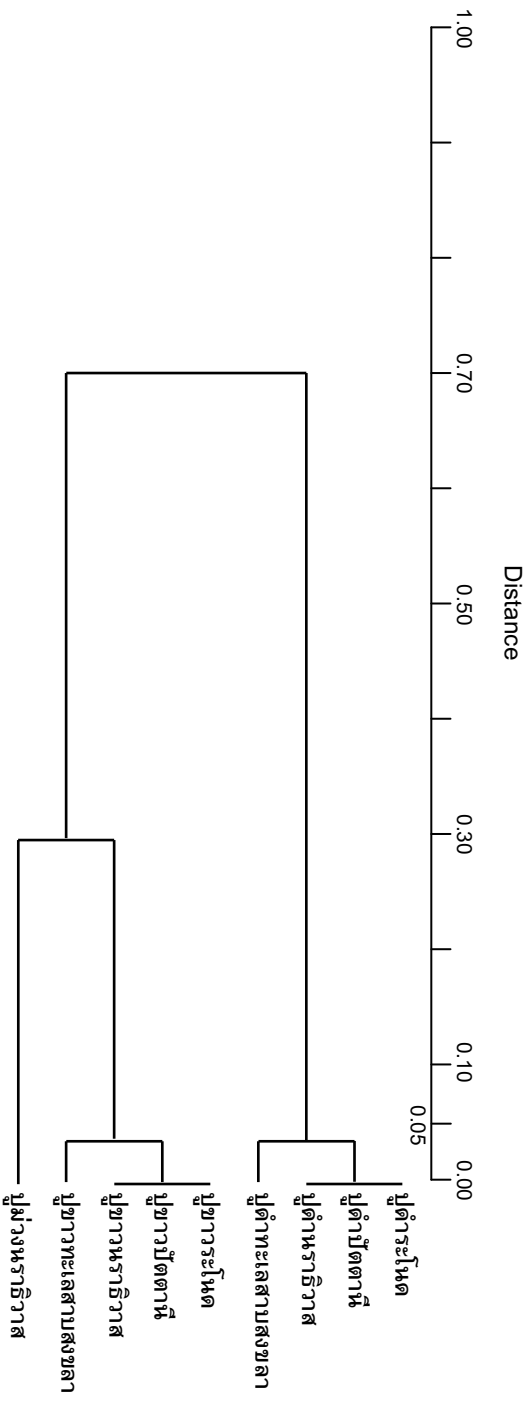
ตารางที่ 5-20 ค่า genetic distance (D) (Nei, 1978) ระหว่างประชากรปูดำ และปูขาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา
ปัตตานี และนราธิวาส และปูม่วงจากนราธิวาส จากการศึกษาที่จำนวน 6 microsatellite loci

ประชากร (แหล่ง)	ปูดำ ระโนด	ปูดำทะเลสาบ สงขลา	ปูดำ ปัตตานี	ปูดำ นราธิวาส	ปูขาว ระโนด	ปูขาวทะเลสาบ สงขลา	ปูขาว ปัตตานี	ปูขาว นราธิวาส
ปูดำระโนด	-							
ปูดำทะเลสาบสงขลา	0.050	-						
ปูดำปัตตานี	0.000	0.000	-					
ปูดำนราธิวาส	0.000	0.042	0.000	-				
ปูขาวระโนด	0.751	0.738	0.601	0.720	-			
ปูขาวทะเลสาบสงขลา	0.540	0.420	0.380	0.534	0.038	-		
ปูขาวปัตตานี	0.847	0.833	0.780	0.800	0.000	0.062	-	
ปูขาวนราธิวาส	0.669	0.634	0.557	0.675	0.000	0.000	0.000	-
ปูม่วงนราธิวาส	0.759	0.986	1.043	0.847	0.233	0.445	0.216	0.290

ตารางที่ 5-21 ค่าเฉลี่ย genetic distance (D) (Nei, 1978) ของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน (ค่าในวงเล็บ คือ ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด)

	จำนวนประชากร	ประชากรปูดำ	ประชากรปูขาว	ประชากรปูม่วง
ประชากรปูดำ	4	0.015 (0.000 – 0.050)		
ประชากรปูขาว	4	0.655 (0.380 – 0.847)	0.017 (0.000 – 0.062)	
ประชากรปูม่วง	1	0.909 (0.759 – 1.043)	0.297 (0.216 – 0.445)	xxxxx (xxxx – xxxxx)

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-4 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรบูตา และบูชาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา บัตตานี และนราธิวาส และบูม่วงจากนราธิวาส จากการสร้างโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรบูทะเล ซึ่งได้แก่ บูตา และบูชาว จาก อ.ระโนด ทะเลสาบสงขลา บัตตานี และนราธิวาส และบูม่วงจากนราธิวาส ใน **ภาพที่ 5-4** แสดงให้เห็นว่ามีการแบ่งแยกประชากรบูตา ชาว และบูม่วง ออกจากกันเป็น 3 กลุ่มชนิด อย่างชัดเจน โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกันจะแสดงความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน หรือเป็นประชากรเดียวกัน ซึ่งเป็นการยืนยัน ผลการศึกษาใน ตารางที่ 5-18 (ค่า F_{ST}) ตารางที่ 5-19 (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ ตารางที่ 5-20 และ 5-21 (ค่า D)

5.4.3 ผลการศึกษาประชากรบูมาและบูทะเลในเขตพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง

5.4.3.1 บูมา (ตัวอย่างจาก 3 แหล่ง : ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี/นครศรีธรรมราช) - ข้อมูลความสัมพันธ์และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-22 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลกัส (NoA) และค่าเฮเตอโร-ไซโกสซีตีเฉลี่ยต่อโลกัส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (H_o) และค่าคาดหวัง (H_e) ที่จำนวน 4 microsatellite loci (DOFBC3, DOFMC8, DOFBC23 และ DOFBC27) ในประชากรบูมาทั้ง 3 แหล่งของชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ)

ส่วน ตารางที่ 5-23 แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 4 microsatellite loci ของบูมาจากชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง 3 แหล่งนั้น พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ใต้แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าประชากรจากทุกแหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p > 0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่ว่าจะที่โลกัสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า H_o ที่ปรากฏ และค่า H_e ที่ ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละ แหล่งที่ใช้ในการศึกษาค้นจึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และ ข้อมูลที่ปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-22 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้า 3 แหล่งของชายฝั่งอำเภอไทยดอนกลาง (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, ±SE)

Population source (แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูม้าประจำบฯ	10.8 (±2.1)	0.736 (±0.021)	0.848 (±0.021)
ปูม้าชุมพร	11.5 (±1.3)	0.807 (±0.041)	0.868 (±0.012)
ปูม้าสุราษฎร์	10.8 (±2.2)	0.692 (±0.040)	0.829 (±0.044)

ตารางที่ 5-23 ค่าความถี่ยัลลิลที่ 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้า 3 แหล่งของชายฝั่งอำเภอไทยดอนกลาง พร้อมด้วยผลการทดสอบทฤษฎีสันตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่ยัลลิลของปูม้าจาก 3 แหล่งตัวอย่าง		
		ประจำบฯ	ชุมพร	สุราษฎร์ฯ
DOFBSC3	170	0.026	0.000	0.000
	174	0.026	0.000	0.000
	178	0.026	0.025	0.025
	180	0.000	0.050	0.000
	182	0.053	0.000	0.050
	186	0.053	0.025	0.050
	188	0.079	0.200	0.100
	192	0.026	0.025	0.025
	194	0.053	0.050	0.050
	196	0.053	0.025	0.050
	200	0.026	0.050	0.025
	204	0.053	0.050	0.150
	208	0.000	0.075	0.075
	210	0.000	0.100	0.100
	214	0.079	0.025	0.075
	216	0.026	0.175	0.125
χ^2 -test	220	0.211	0.000	0.000
	226	0.105	0.125	0.075
	232	0.053	0.000	0.000
	238	0.053	0.000	0.025
χ^2 -test	χ^2	27.280	37.530	21.560
	df	136	91	105
DOFMC8	p	1.000	1.000	1.000
	159	0.150	0.175	0.095
	163	0.175	0.100	0.214
	167	0.075	0.125	0.167
	171	0.100	0.025	0.024
	175	0.150	0.250	0.262
	179	0.275	0.150	0.190

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูมาจาก 3 แหล่งตัวอย่าง		
		ประจวบฯ	ชุมพร	สุราษฎร์ฯ
χ^2 -test	183	0.000	0.050	0.000
	187	0.000	0.050	0.048
	191	0.025	0.025	0.000
	195	0.025	0.025	0.000
	199	0.025	0.025	0.000
χ^2 -test	χ^2	15.924	18.827	10.967
	df <i>p</i>	36 0.998	55 1.000	21 0.963
DOFBSC23	364	0.029	0.053	0.029
	368	0.147	0.211	0.471
	372	0.088	0.158	0.176
	376	0.294	0.184	0.029
	380	0.118	0.053	0.118
	382	0.088	0.105	0.059
	384	0.118	0.184	0.118
	386	0.118	0.053	0.000
χ^2 -test	χ^2	3.465	27.088	5.470
	df <i>p</i>	28 1.000	28 0.513	21 1.000
DOFBSC27	239	0.000	0.056	0.100
	243	0.250	0.028	0.025
	245	0.050	0.056	0.050
	249	0.000	0.056	0.000
	253	0.100	0.139	0.250
	255	0.275	0.111	0.075
	261	0.050	0.111	0.075
	265	0.000	0.028	0.050
	271	0.000	0.028	0.025
	273	0.025	0.000	0.075
	275	0.000	0.000	0.075
	279	0.150	0.111	0.025
χ^2 -test	285	0.075	0.194	0.125
	289	0.025	0.056	0.025
	305	0.000	0.028	0.025
	χ^2	13.896	21.343	24.169
χ^2 -test	df	36	78	91
	<i>p</i>	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-24 และ 5-25 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปน้ำจาก 3 แหล่งของชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลางโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci

ตารางที่ 5-24 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปน้ำจาก 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง จากการศึกษาที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบกับค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST}	
	Wright (1978)	การศึกษาครั้งนี้
น้อย หรือ ไม่มี (little or none) ปานกลาง (moderate) สูง (great) สูงมาก (very great)	0 – 0.05	0.032
	0.05 – 0.15	-
	0.15 – 0.25	-
	> 0.25	-

ตารางที่ 5-25 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปน้ำจาก 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง (ระหว่างประชากรทั้งหมด และระหว่างทุกคู่ประชากร) ที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)

ประชากร	Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
ประชากรทั้งหมด	DOFBSC3	20	52.707	38	0.05676
	DOFMC8	11	19.364	20	0.49828
	DOFBSC23	8	22.339	14	0.07191
	DOFBSC27 (Totals)	15	49.914	28	0.00661
ประจวบ VS ชุมพร	DOFBSC3	20	33.855	19	0.01912
	DOFMC8	11	9.666	10	0.47030
	DOFBSC23	8	4.642	7	0.70361
	DOFBSC27 (Totals)	14	21.591	13	0.06204
ชุมพร VS สุราษฎร์	DOFBSC3	16	11.167	15	0.74069
	DOFMC8	11	8.364	10	0.59332
	DOFBSC23	8	11.465	7	0.11960
	DOFBSC27 (Totals)	15	13.245	14	0.50731
สุราษฎร์ VS ประจวบ	DOFBSC3	19	24.250	18	0.14699
	DOFMC8	10	10.952	9	0.27901
	DOFBSC23	8	18.326	7	0.01058
	DOFBSC27 (Totals)	14	30.778	13	0.00363
			84.306	47	0.00068

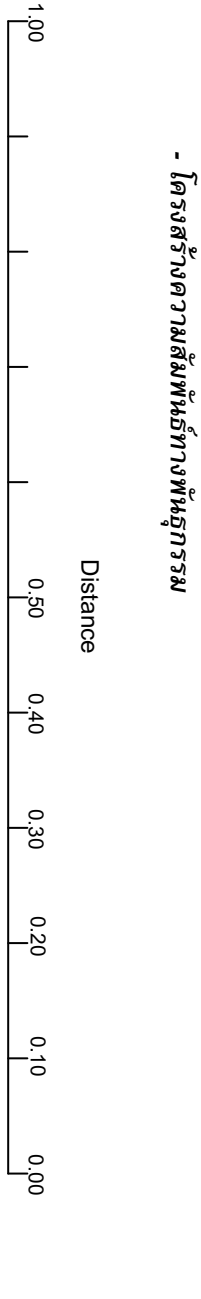
($p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

ผลการศึกษาที่แสดงใน ตารางที่ 5-24 ระบุว่า ประชากรปูม้าจาก 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับที่น้อยมาก หรือแทบไม่มีเลย (little or none) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่างที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งก็ตรงกับระดับของค่า p ที่ได้จากวิเคราะห์ค่าความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน ตารางที่ 5-25 โดยเฉพาะระหว่างคู่ประชากร ชุมพรกับสุราษฎร์ธานีไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5-26 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปูม้า 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง ต่อไป

ตารางที่ 5-26 ค่า D ของ Nei (1978) ในระหว่างทุกคู่ประชากรของปูม้าจาก 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง

ปูม้า 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง	ประจวบฯ	ชุมพร	สุราษฎร์
ประจวบฯ	-		
ชุมพร	0.127	-	
สุราษฎร์	0.312	0.021	-



ภาพที่ 5-5 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูม้า 3 แหล่งของฝั่งอ่าวไทยตอนกลางใน ตอนกลาง จากการสร้างโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

จากลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้า 3 แหล่งของฝั่งอ่าวไทยตอนกลางใน ภาพที่ 5-5 นั้น แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากระหว่างประชากรชุมพรและสุราษฎร์ธานี หรือประชากร 2 แหล่งนี้ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน ขณะที่ทาง 2 ประชากรมีความสัมพันธ์ที่ห่างออกไปอย่างมาก จากประชากรจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งเป็นการยืนยันผลการศึกษาใน ตารางที่ 5-24 (ค่า F_{ST}) ตารางที่ 5-25 (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ ตารางที่ 5-26 (ค่า D)

5.4.3.2 ปุเทเซล (ปู้ตำ และปุขาว จาก 3 แหล่ง : ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี)

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-27 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม χ^2 จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลเกส (NoA) และค่าเฮตเดอโรไซกอสิตีเฉลี่ยต่อโลเกส χ^2 ในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดคะเน (He) ที่จำนวน 6 microsatellite loci (DOFMC1, DOFMC 3, DOFMC 4, DOFMC 8 และ DOFMC 9) ในประชากรปู้ตำ และปุขาว 3 แหล่งในเขตอำเภอไทยดอนกลาง (ประชากรปู้ขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี)

ส่วน ตารางที่ 5-28 แสดงค่าเฉลี่ยอัลลีลที่จำนวน 6 microsatellite loci ของประชากรปู้ตำ และปุขาว 3 แหล่ง (ประชากรปู้ขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี) พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติ-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ใต้แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าทุกประชากรไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างหรือเบี่ยงเบน ($p > 0.05$) ไปจากทฤษฎีสันดุของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่ว่าจะที่โลเกสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า Ho ที่ปรากฏ และค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสันดุของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลที่ปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันต่อไป

ตารางที่ 5-27 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 6 microsatellite loci ในประชากรปู้ตำ และปุขาว 3 แหล่ง (ประชากรปู้ขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี) (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, $\pm$ SE)

Population / Source (ประชากร / แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus		
		Ho	He	
ปู้ตำประชากรปู้ขันธ์ ปู้ตำชุมพร ปู้ตำสุราษฎร์ธานี ปุขาวประชากรปู้ขันธ์ ปุขาวชุมพร ปุขาวสุราษฎร์ธานี	2.5 (± 0.6)	0.375 (± 0.141)	0.417 (± 0.137)	
	3.7 (± 0.8)	0.456 (± 0.163)	0.439 (± 0.123)	
	3.8 (± 0.9)	0.417 (± 0.133)	0.452 (± 0.123)	
	5.5 (± 1.6)	0.500 (± 0.140)	0.592 (± 0.130)	
	6.0 (± 1.9)	0.483 (± 0.116)	0.617 (± 0.136)	
	4.5 (± 1.2)	0.531 (± 0.142)	0.559 (± 0.127)	

ตารางที่ 5-28 ค่าความถี่อัลลีลที่ 6 microsatellite loci ในประชากรปู้ตำ และปุขาว 3 แหล่ง (ประชากร ชุมพร และสุราษฎร์ธานี) พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติ-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite loci	Base pair	ค่าความถี่อัลลีลของประชากรปุเทเซล 2 ชนิดจาก 3 แหล่งตัวอย่าง				
		ปู้ตำประชากร	ปู้ตำชุมพร	ปู้ตำสุราษฎร์	ปุขาวประชากร	ปุขาวชุมพร
DOFMC1	188	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000
	192	1.000	0.933	0.900	0.136	0.462
	196	0.000	0.067	0.100	0.455	0.231
	200	0.000	0.000	0.000	0.273	0.231
	204	0.000	0.000	0.000	0.091	0.077
χ^2 -test	χ^2	-	0.000	0.000	10.774	0.814
	df	-	1	1	10	6
	p	-	1.000	1.000	0.375	0.992

Microsatellite loci	Base pair	ค่าความถี่อัลลีลของประชากรแต่ละ 2 ชนิดจาก 3 แหล่งตัวอย่าง					
		ปัดำปราบ	ปัดำชุมพร	ปัดำสุราษฎร์	ปัดำปราบ	ปัดำชุมพร	ปัดำสุราษฎร์
DOFMC3	208 214	1.000 0.000	1.000 0.000	1.000 0.000	0.455 0.545	0.500 0.500	0.550 0.450
χ^2 -test	χ^2	-	-	-	0.000	0.833	0.611
	df	-	-	-	1	1	1
	p	-	-	-	0.984	0.361	0.435
DOFMC4	153 155 157 159 151 153 165	0.000 0.000 0.000 0.250 0.250 0.500 0.000	0.067 0.000 0.033 0.267 0.333 0.267 0.033	0.050 0.000 0.000 0.200 0.350 0.350 0.050	0.000 0.000 0.045 0.318 0.455 0.091 0.091	0.154 0.038 0.115 0.231 0.308 0.115 0.038	0.000 0.000 0.056 0.389 0.278 0.278 0.000
χ^2 -test	χ^2	0.000	2.133	1.484	10.142	3.893	4.705
	df	3	15	10	10	21	6
	p	1.000	1.000	0.999	0.428	1.000	0.582
DOFMC8	169 173 177 181 185 189	0.000 0.000 0.000 0.375 0.250 0.375	0.000 0.100 0.033 0.633 0.167 0.067	0.000 0.200 0.000 0.650 0.150 0.000	1.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	1.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	1.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000
χ^2 -test	χ^2	0.347	0.738	0.000	-	-	-
	df	3	10	3	-	-	-
	p	0.951	1.000	1.000	-	-	-
DOFMC9	188 190 192 194 196 198 200 202 204 206 208 212 216	0.000 0.125 0.125 0.000 0.250 0.125 0.375 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	0.000 0.000 0.200 0.033 0.000 0.467 0.300 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	0.000 0.100 0.150 0.050 0.100 0.200 0.400 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	0.000 0.000 0.091 0.273 0.273 0.182 0.045 0.045 0.000 0.045 0.000 0.045 0.000	0.033 0.067 0.100 0.200 0.033 0.167 0.133 0.033 0.067 0.033 0.033 0.067 0.033	0.100 0.000 0.150 0.150 0.000 0.200 0.100 0.050 0.100 0.050 0.000 0.000 0.000
χ^2 -test	χ^2	0.625	7.164	7.565	10.463	15.121	14.561
	df	10	6	15	28	78	36
	p	1.000	0.306	0.940	0.999	1.000	0.999

Microsatellite loci	Base pair	ค่าความถี่ถ้อยคำของประชากรในแต่ละ 2 ชนิดจาก 3 แหล่งตัวอย่าง					
		ปต่ำประจำบ	ปต่ำชุมพร	ปต่ำสุราษฎร์	ปขาวประจำบ	ปขาวชุมพร	ปขาวสุราษฎร์
DOFMC13	212	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000
	214	0.000	0.000	0.000	0.045	0.133	0.000
	216	0.000	0.000	0.000	0.136	0.067	0.150
	218	0.000	0.000	0.100	0.136	0.067	0.000
	220	0.000	0.067	0.050	0.091	0.033	0.000
	222	0.375	0.567	0.650	0.091	0.133	0.050
	224	0.625	0.333	0.100	0.091	0.167	0.150
	226	0.000	0.033	0.050	0.182	0.267	0.350
	228	0.000	0.000	0.050	0.045	0.100	0.200
	230	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.050
χ^2 -test	232	0.000	0.000	0.000	0.045	0.033	0.050
	242	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2 df	0.075 1	8.313 6	8.689 15	10.629 66	13.510 36	1.638 21
	p	0.784	0.216	0.893	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-29 และ 5-30 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรปต่ำ และปขาว 3 แหล่ง ในเขตอำเภอไทยตอนกลาง (ประจำบฯ ชุมพร และ สุราษฎร์ฯ) โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงใน ตารางที่ 5-29 ระบุว่า ประชากรปต่ำ และปขาวจาก 3 แหล่งในฝั่งอำเภอไทยตอนกลาง มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของชนิดเดียวกันในระดับที่น้อยมาก หรือแทบไม่มีเลย (little or none) แต่มีความแตกต่างระหว่างประชากรของชนิดที่ต่างกัน (ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด) ในระดับสูง (great) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่างที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งตรงกับระดับของค่า p ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน ตารางที่ 5-30 (ค่า p ระหว่างประชากรภายในชนิดที่ของปต่ำและปขาวมีค่า > 0.05 ซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ส่วนค่า p ระหว่างประชากรต่างชนิดมีค่า < 0.001 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-29 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรปต่ำ และปขาว 3 แหล่ง (ประจำบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) จากการการศึกษาจำนวน 6 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบกับค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนด	ค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} จากการศึกษาลำดับนี้	
		ระหว่างประชากรภายในชนิด	ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด
น้อย หรือไม่มี (little or none)	0 – 0.05	0.035	-
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15	-	-
สูง (great)	0.15 – 0.25	-	0.156
สูงมาก (very great)	> 0.25	-	-

ตารางที่ 5-30 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรปู่ตาและปู่ขาวจาก 3 แหล่ง (ประชากรฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ; $p < 0.001$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

Microsatellite locus	ระหว่างประชากรของปู่ตา				ระหว่างประชากรของปู่ขาว				ระหว่างประชากรของทั้ง 2 ชนิด			
	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p
DOFMC1	2	0.718	2	0.6984	5	14.615	8	0.0671	5	54.993	20	0.0000
DOFMC3	-	-	-	-	2	0.382	2	0.8262	2	40.583	5	0.0000
DOFMC4	6	3.395	10	0.9705	7	15.087	12	0.2367	7	27.685	30	0.5872
DOFMC8	5	13.796	8	0.0873	-	-	-	-	6	160.921	25	0.0000
DOFMC9	6	14.285	10	0.1604	13	24.619	24	0.4267	13	85.786	60	0.0161
DOFMC13	6	13.138	10	0.2161	12	20.166	22	0.5726	12	101.886	55	0.0001
(Totals)		45.332	40	0.2593		74.870	68	0.2653		471.854	195	0.0000

ตารางที่ 5-31 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปู่ทะเลต่อไป ส่วน **ตารางที่ 5-32** แสดงค่า D เฉลี่ยภายในกลุ่มชนิดเดียวกัน และเฉลี่ยระหว่างกลุ่มชนิดต่างกัน

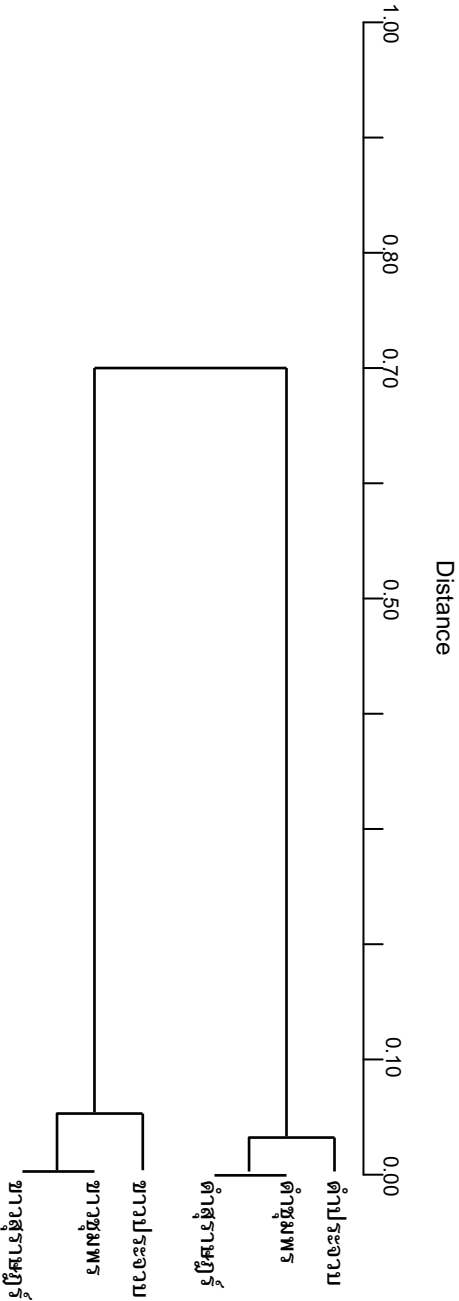
ตารางที่ 5-31 ค่า genetic distance (D) (Nei, 1978) ระหว่างประชากรปู่ทะเล 2 ชนิดจาก 3 แหล่งในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง (ประชากรฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) จากการศึกษาที่จำนวน 6 microsatellite loci

ประชากร	ต่ำประชากรฯ	ต่ำชุมพร	ต่ำสุราษฎร์ฯ	ขาวประชากรฯ	ขาวชุมพร	ขาวสุราษฎร์ฯ
ต่ำประชากรฯ	-					
ต่ำชุมพร	0.022	-				
ต่ำสุราษฎร์ฯ	0.037	0.000	-			
ขาวประชากรฯ	0.945	0.912	0.900	-		
ขาวชุมพร	0.616	0.612	0.627	0.011	-	
ขาวสุราษฎร์ฯ	0.494	0.518	0.544	0.069	0.000	-

ตารางที่ 5-32 ค่า genetic distance (D) (Nei, 1978) เฉลี่ยภายในกลุ่มชนิดเดียวกัน และเฉลี่ยระหว่างกลุ่มชนิดที่ต่างกัน

กลุ่มชนิด	จำนวนประชากร	กลุ่มประชากรปู่ตา	กลุ่มประชากรปู่ขาว
กลุ่มประชากรปู่ตา	3	0.020 (0.000-0.037)	0.685 (0.494-0.945)
กลุ่มประชากรปู่ขาว	3	0.685 (0.494-0.945)	0.027 (0.000-0.069)

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-6 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรภูไทละจาก 3 แหล่งในฝั่งอำเภอไทยตอนกลาง (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) จากการสร้างโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรภูไทละ ซึ่งได้แก่ ภูต๋า และภูขาว จาก 3 แหล่งในฝั่งอำเภอไทยตอนกลาง (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) ใน **ภาพที่ 5-6** แสดงให้เห็นว่ามีการแบ่งแยกประชากรภูต๋าและภูขาวออกจากกันเป็น 2 กลุ่มชนิดอย่างชัดเจน โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกันจะแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน หรือเป็นประชากรเดียวกัน ซึ่งเป็นการยืนยันผลการศึกษาใน **ตารางที่ 5-29** (ค่า F_{ST}) **ตารางที่ 5-30** (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ **ตารางที่ 5-31** และ **5-32** (ค่า D)

5.4.4 ผลการศึกษาประชากรภูต๋าและภูไทละในเขตพื้นที่ชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก

5.4.4.1 ภูต๋า (ตัวอย่างจาก 4 แหล่ง : เพชรบุรี ชลบุรีเกาะสีชัง ระยอง และตราด)

- ข้อมูลความสัมพันธ์และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-33 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลแกส (NoA) และค่าเฮเตอโรไซโกสตีเฉลี่ยต่อโลแกส ทั้งในรูปแบบของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรภูต๋าทั้ง 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก (เพชรบุรี ชลบุรีเกาะสีชัง ระยอง และตราด) จากการวิเคราะห์จำนวน 4 microsatellite loci ด้วย primers DOFBSC3, DOFMC8, DOFBSC23 และ DOFBSC27

ส่วน **ตารางที่ 5-34** แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 4 microsatellite loci ของภูต๋าจากชายฝั่งอำเภอไทยตอนตอนบนและฝั่งตะวันออก 4 จุดนั้น พบว่าด้วยผลการทดสอบทางสถิติของโลแกส-ไวนเบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ในแต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าประชากรจากทุกแหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p > 0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสันดุสของฮาร์ดี-ไวนเบิร์ก หมายความว่าโลแกสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า Ho ที่ปรากฏและค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสันดุสฮาร์ดี-ไวนเบิร์ก ไม่มีความสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษานี้จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-33 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอ หายตอมบนและฝั่งตะวันออก (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, ±SE)

Population source (แหล่งจับตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
ปูม้าเพชรบุรี	12.5 (±2.7)	0.838 (±0.061)	0.855 (±0.053)
ปูม้าตราด	15.3 (±3.2)	0.848 (±0.083)	0.865 (±0.059)
ปูม้าชลบุรี	11.3 (±1.8)	0.864 (±0.079)	0.837 (±0.063)
ปูม้าระยอง	13.3 (±2.6)	0.828 (±0.042)	0.858 (±0.051)

ตารางที่ 5-34 ค่าความถี่อัลลีลที่ 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอ หายตอมบนและฝั่งตะวันออก พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติสมมติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่าง			
		ปูม้าเพชรบุรี	ปูม้าตราด	ปูม้าชลบุรี	ปูม้าระยอง
DOFBSC3	164	0.025	0.033	0.000	0.024
	174	0.050	0.017	0.000	0.000
	176	0.000	0.017	0.000	0.000
	180	0.000	0.017	0.045	0.024
	184	0.050	0.050	0.045	0.024
	188	0.100	0.017	0.000	0.024
	190	0.000	0.017	0.045	0.024
	192	0.025	0.033	0.091	0.024
	196	0.025	0.083	0.000	0.143
	198	0.000	0.033	0.045	0.024
	202	0.000	0.067	0.091	0.071
	204	0.100	0.117	0.136	0.190
	208	0.175	0.083	0.091	0.143
	210	0.075	0.100	0.045	0.143
χ^2 -test	216	0.175	0.067	0.182	0.071
	220	0.050	0.150	0.045	0.024
	224	0.050	0.033	0.091	0.048
	228	0.000	0.017	0.000	0.000
	232	0.050	0.050	0.045	0.000
	238	0.050	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	14.038	34.424	14.642	19.947
	df	91	171	78	105
	p	1.000	1.000	1.000	1.000

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของปลู่ม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่าง			
		ปลู่ม้าเพชรบุรี	ปลู่ม้าตราด	ปลู่ม้าชลบุรี	ปลู่ม้าระยอง
DOFMC8	163	0.405	0.300	0.545	0.225
	167	0.143	0.117	0.045	0.150
	175	0.048	0.050	0.091	0.125
	183	0.333	0.450	0.182	0.450
	187	0.000	0.000	0.000	0.025
χ^2 -test	191	0.071	0.033	0.091	0.000
	195	0.000	0.050	0.045	0.025
	χ^2	11.719	7.662	4.814	1.844
	df	10	15	15	15
	p	0.304	0.937	0.994	1.000
DOFBC23	352	0.000	0.000	0.045	0.000
	370	0.088	0.000	0.045	0.000
	372	0.118	0.089	0.045	0.075
	374	0.118	0.125	0.136	0.150
	376	0.118	0.054	0.045	0.100
	378	0.029	0.107	0.091	0.100
	380	0.029	0.089	0.091	0.075
	382	0.147	0.018	0.045	0.050
	384	0.059	0.107	0.045	0.100
	386	0.000	0.089	0.091	0.000
	388	0.059	0.036	0.136	0.025
	390	0.029	0.071	0.000	0.050
	392	0.088	0.036	0.045	0.075
	394	0.059	0.054	0.000	0.050
	396	0.059	0.071	0.045	0.050
χ^2 -test	398	0.000	0.018	0.091	0.075
	400	0.000	0.018	0.000	0.000
	402	0.000	0.018	0.000	0.025
	χ^2	8.006	14.210	17.509	13.753
	df	78	120	91	91
	p	1.000	1.000	1.000	1.000

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ค่าความถี่อัลลีลของโปรไฟล์จาก 4 จุดเก็บตัวอย่าง			
		โปรไฟล์พรูรี	โปรไฟล์ราด	โปรไฟล์บลูรี	โปรไฟล์ระยอง
DOFBSC27	237	0.000	0.000	0.091	0.000
	239	0.024	0.034	0.000	0.050
	241	0.071	0.086	0.136	0.125
	243	0.048	0.052	0.000	0.025
	245	0.071	0.017	0.000	0.000
	247	0.000	0.017	0.000	0.000
	249	0.048	0.034	0.045	0.025
	253	0.048	0.121	0.045	0.075
	255	0.048	0.069	0.227	0.025
	257	0.095	0.086	0.000	0.050
	259	0.024	0.052	0.000	0.075
	261	0.000	0.034	0.045	0.025
	263	0.167	0.052	0.045	0.075
	267	0.000	0.034	0.091	0.025
	271	0.000	0.034	0.091	0.125
	273	0.048	0.069	0.000	0.000
	275	0.024	0.034	0.000	0.000
	279	0.000	0.017	0.045	0.025
	281	0.095	0.086	0.000	0.050
	283	0.048	0.034	0.000	0.050
	285	0.071	0.000	0.091	0.100
	287	0.024	0.000	0.045	0.000
	289	0.024	0.034	0.000	0.000
	293	0.000	0.000	0.000	0.050
	295	0.024	0.000	0.000	0.025
χ^2 -test	χ^2	38.006	41.870	8.136	31.947
	df	153	190	66	153
	p	1.000	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-35 และ 5-36 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออกโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci

ตารางที่ 5-35 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก จากการศึกษที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบกับค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST}	
	Wright (1978)	การศึกษครั้งนี้
น้อย หรือ ไม่มี (little or none) ปานกลาง (moderate) สูง (great) สูงมาก (very great)	0 – 0.05	0.026
	0.05 – 0.15	-
	0.15 – 0.25	-
	> 0.25	-

ตารางที่ 5-36 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก ที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)

Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
DOFBSC3	20	54.896	57	0.55444
DOFMC8	7	21.850	18	0.23874
DOFBSC23	18	49.486	51	0.53393
DOFBSC27	25	86.577	72	0.11585
(Totals)		212.808	198	0.22372

($p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

ผลการศึกษาที่แสดงใน ตารางที่ 5-35 ระบุว่า ประชากรรูปม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอำเภอไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับที่น้อยมาก หรือ ไม่มีเลย (little or none) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่าง (ค่า F_{ST}) ที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งก็ตรงกับค่า p ที่ได้จากวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน ตารางที่ 5-36 ซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5-37 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก ต่อไป

ตารางที่ 5-37 ค่า D ของ Nei (1978) ในระหว่างทุกคู่ประชากรของปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก

ปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก	ปูม้าเพชรบุรี	ปูม้าตราด	ปูม้าชลบุรี	ปูม้าระยอง
ปูม้าเพชรบุรี	-			
ปูม้าตราด	0.022	-		
ปูม้าชลบุรี	0.030	0.101	-	
ปูม้าระยอง	0.031	0.000	0.141	-

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-7 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก จากการสร้างโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

จากลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้าจาก 4 จุดเก็บตัวอย่างของชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก ใน **ภาพที่ 5-7** แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกันระหว่างประชากรปูม้าในบริเวณนี้ ซึ่งเป็นการยืนยันผลการศึกษาใน **ตารางที่ 5-35** (ค่า F_{ST})

ตารางที่ 5-36 (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ **ตารางที่ 5-37** (ค่า D)

5.4.4.2 ปูทะเล (ตัวอย่างปูดำและขาว จาก เพชรบุรี ระยอง ตราด และปูม่วง จาก ระยอง ตราด)

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-38 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลคัส (NoA) และค่าเฮเตอโรไซโกสต่อโลคัส (Hs) ในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรปูดำ และปูขาวจาก 3 แหล่ง (เพชรบุรี ระยอง ตราด) และปูม่วงจาก 2 แหล่ง (ระยอง ตราด) ในเขตอ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก จากการวิเคราะห์ที่จำนวน 6 microsatellite loci ด้วย primers DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9 และ DOFMC13

ตารางที่ 5-38 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 6 microsatellite loci ในประชากรปูดำ และปูขาว จาก เพชรบุรี ระยอง และตราด และปูม่วงจาก ระยอง และตราด (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, $\pm$ SE)

Population / Source (ประชากร / แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus			
		Ho		He	
ปูดำเพชรบุรี	5.2 ($\pm$ 1.0)	0.600 ($\pm$ 0.155)		0.557 ($\pm$ 0.123)	
ปูดำระยอง	4.2 ($\pm$ 0.7)	0.611 ($\pm$ 0.165)		0.518 ($\pm$ 0.118)	
ปูดำตราด	4.5 ($\pm$ 0.9)	0.583 ($\pm$ 0.157)		0.557 ($\pm$ 0.130)	
ปูขาวเพชรบุรี	5.0 ($\pm$ 1.3)	0.473 ($\pm$ 0.150)		0.593 ($\pm$ 0.138)	
ปูขาวระยอง	5.8 ($\pm$ 1.7)	0.543 ($\pm$ 0.171)		0.612 ($\pm$ 0.140)	
ปูขาวตราด	4.7 ($\pm$ 1.0)	0.679 ($\pm$ 0.146)		0.583 ($\pm$ 0.108)	
ปูม่วงระยอง	4.0 ($\pm$ 0.5)	0.728 ($\pm$ 0.104)		0.693 ($\pm$ 0.050)	
ปูม่วงตราด	3.5 ($\pm$ 0.6)	0.639 ($\pm$ 0.151)		0.658 ($\pm$ 0.115)	

ส่วน **ตารางที่ 5-39** แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 6 microsatellite loci ของประชากรปูดำ และปูขาว จาก 3 แหล่ง (เพชรบุรี ระยอง ตราด) และปูม่วงจาก 2 แหล่ง (ระยอง ตราด) พร้อมด้วยผลการทดสอบหา Hardy-Weinberg โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ทั่วประเทศ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าทุกประชากรไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างหรือเบี่ยงเบนไปจาก Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) ไม่ว่าจะใกล้ใกล้ ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า H_o ที่ปรากฏ และค่า H_e ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ Hardy-Weinberg ไม่มีความสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลที่ปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-39 ค่าความถี่อัลลีลที่ 6 microsatellite loci ในประชากรปูดำ และปูขาว จาก เพชรบุรี ระยอง และตราด และปูม่วง จาก ระยอง และตราด พร้อมด้วยผลการทดสอบ Hardy-Weinberg โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite loci	Base pair	ปูดำ ตราด	ปูดำ ระยอง	ปูดำ เพชรบุรี	ปูขาว ตราด	ปูขาว ระยอง	ปูขาว เพชรบุรี	ปูม่วง ตราด	ปูม่วง ระยอง
DOFMC1	176	0.063	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	180	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000
	188	0.063	0.083	0.100	0.063	0.095	0.222	0.000	0.167
	192	0.813	0.708	0.750	0.688	0.429	0.444	0.700	0.667
	196	0.063	0.167	0.050	0.125	0.143	0.222	0.300	0.167
	200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.238	0.056	0.000	0.000
	204	0.000	0.000	0.100	0.063	0.095	0.056	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	3.312	1.482	1.683	1.682	4.735	12.245	0.178	1.208
	df	6	6	6	10	10	10	1	3
	p	0.769	0.961	0.946	0.998	0.908	0.269	0.673	0.751

Microsatellite loci	Base pair	ปฐำ ดราด	ปฐำ ระยอง	ปฐำ พชรปฐี	ปฐาว ดราด	ปฐาว ระยอง	ปฐาว พชรปฐี	ปฐาวง ดราด	ปฐาวง ระยอง
DOFMC3	208	1.000	1.000	1.000	0.357	0.286	0.250	0.000	0.250
	214	0.000	0.000	0.000	0.643	0.714	0.750	0.900	0.625
	220	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.125
	χ^2 -test	χ^2	-	-	0.740	3.052	0.178	0.000	0.050
DOFMC4	153	0.063	0.042	0.150	0.143	0.000	0.125	0.250	0.300
	155	0.000	0.000	0.050	0.000	0.107	0.250	0.000	0.000
	157	0.188	0.208	0.050	0.071	0.214	0.063	0.250	0.000
	161	0.313	0.375	0.300	0.286	0.321	0.063	0.250	0.200
χ^2 -test	163	0.375	0.333	0.300	0.500	0.250	0.500	0.250	0.500
	165	0.063	0.042	0.150	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000
	169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000
	χ^2	3.710	2.441	5.178	2.071	4.079	1.125	0.500	0.000
DOFMC8	165	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000
	169	0.000	0.000	0.000	0.938	1.000	1.000	0.400	0.429
	173	0.063	0.125	0.100	0.000	0.000	0.000	0.300	0.143
	177	0.125	0.167	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071
χ^2 -test	181	0.313	0.125	0.300	0.000	0.000	0.000	0.300	0.357
	185	0.375	0.333	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	189	0.125	0.250	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	χ^2	2.121	1.604	1.683	0.000	-	-	0.489	1.257
DOFMC9	188	0.063	0.000	0.050	0.000	0.050	0.050	0.000	0.000
	190	0.000	0.042	0.100	0.188	0.200	0.050	0.000	0.000
	192	0.125	0.125	0.050	0.000	0.100	0.000	0.167	0.125
	196	0.438	0.500	0.400	0.438	0.300	0.200	0.500	0.438
χ^2 -test	198	0.375	0.333	0.300	0.063	0.050	0.200	0.167	0.188
	200	0.000	0.000	0.050	0.063	0.150	0.100	0.167	0.125
	202	0.000	0.000	0.000	0.125	0.025	0.200	0.000	0.000
	204	0.000	0.000	0.050	0.063	0.025	0.100	0.000	0.000
χ^2 -test	206	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.125
	208	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000
	212	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.050	0.000	0.000
	216	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.050	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	2.952	6.583	2.384	1.715	11.335	8.025	1.417	2.465
	df	6	6	21	21	55	36	6	10
	p	0.815	0.361	1.000	1.000	1.000	1.000	0.965	0.991

Microsatellite loci	Base pair	ปฏำ ตราด	ปฏำ ระยอง	ปฏำ เพชรบุรี	ปฏำว ตราด	ปฏำว ระยอง	ปฏำว เพชรบุรี	ปฏำว ตราด	ปฏำว ระยอง
DOFMC13	212	0.063	0.000	0.000	0.063	0.275	0.400	0.000	0.000
	214	0.000	0.042	0.050	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000
	216	0.000	0.000	0.000	0.063	0.075	0.100	0.000	0.000
	218	0.063	0.042	0.050	0.063	0.050	0.050	0.000	0.000
	220	0.500	0.750	0.600	0.125	0.075	0.100	0.000	0.000
	224	0.063	0.042	0.050	0.063	0.100	0.100	0.000	0.000
	226	0.000	0.000	0.050	0.313	0.125	0.050	0.000	0.000
	228	0.063	0.000	0.000	0.250	0.175	0.150	0.000	0.000
	236	0.063	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.167	0.000
	240	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125
χ^2 -test	242	0.000	0.000	0.050	0.000	0.025	0.050	0.417	0.125
	248	0.000	0.042	0.100	0.000	0.050	0.000	0.083	0.250
	252	0.125	0.083	0.050	0.000	0.000	0.000	0.083	0.250
	260	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.125
	266	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.125
	χ^2	4.188	0.009	5.700	11.401	6.094	7.597	0.917	2.500
	df	28	15	28	28	45	28	15	15
	p	1.000	1.000	1.000	0.998	1.000	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ $p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-40 และ 5-41 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก ตราด ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วงจาก ตราด และระยอง โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งชี้แจงได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงใน ตารางที่ 5-40 ระบุว่า ประชากรรูปต่ำ ขาว และม่วงจาก 3 แหล่งในอ่าวไทยฝั่งตะวันออก และอ่าวไทยตอนบน มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของชนิดเดียวกันในระดับที่น้อยมาก หรือแทบไม่มีเลย (little or none) แต่มีความแตกต่างระหว่างประชากรของชนิดที่ต่างกัน (ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด) ในระดับสูง (great) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่างที่กำหนดโดย Wright (1978) ซึ่งก็ตรงกับระดับของค่า p ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดังแสดงใน ตารางที่ 5-41 (ค่า p ระหว่างประชากรภายในชนิดทั้งของปูต่ำ ปูขาว และปูม่วงมีค่า > 0.05 ซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ส่วนค่า p ระหว่างประชากรต่างชนิดมีค่า < 0.001 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-40 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก ทรายต ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วงจาก ทรายต ระยอง จากการศึกษากำหนดจำนวน 6 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบค่าที่กำหนดระดับความแตกต่าง (F_{ST}) โดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} จากการศึกษาครั้งนี้	
		ระหว่างประชากรภายในชนิด	ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด
น้อย หรือ ไม่มี (little or none)	0 – 0.05	0.013	-
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15		-
สูง (great)	0.15 – 0.25		0.154
สูงมาก (very great)	> 0.25	-	-

ตารางที่ 5-41 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก ทรายต ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วง ทรายต ระยอง โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

Microsatellite locus	ระหว่างประชากรของปูต่ำ				ระหว่างประชากรของปูขาว				ระหว่างประชากรของปูม่วง				ระหว่างประชากรของปู 3 ชนิด			
	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p
DOFMC1	5	7.206	8	0.515	6	14.480	10	0.152	3	2.102	2	0.350	7	59.618	42	0.038
DOFMC3	-	-	-	-	2	0.466	2	0.792	3	3.170	2	0.205	3	101.188	14	0.000
DOFMC4	6	7.690	10	0.659	7	18.588	12	0.099	4	2.975	3	0.396	7	52.599	42	0.127
DOFMC8	5	7.470	8	0.487	2	3.675	2	0.159	4	1.474	3	0.688	7	186.700	42	0.000
DOFMC9	7	8.358	12	0.757	12	24.297	22	0.332	5	1.741	4	0.783	12	97.846	77	0.055
DOFMC13	12	19.350	22	0.624	11	17.807	20	0.600	7	8.828	6	0.184	15	250.972	98	0.000
(Totals)		50.074	60	0.816		79.313	68	0.164		20.290	20	0.440		748.924	315	0.000

($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ, $p < 0.001$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-42 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปูทะเลต่อไป ส่วน **ตารางที่ 5-43** แสดงค่า D เฉลี่ยของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน

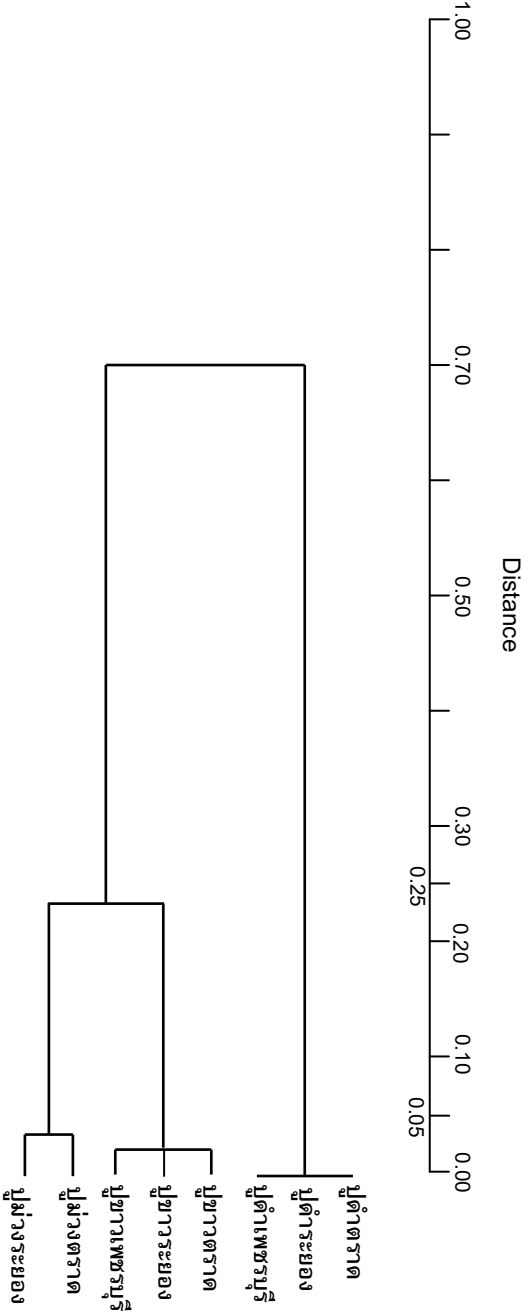
ตารางที่ 5-42 ค่า genetic distance (D) (Nei, 1978) ระหว่างประชากรรูปต่ำ และปูขาว จาก ทรายต ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วงจาก ทรายต ระยอง จากการศึกษากำหนดจำนวน 6 microsatellite loci

ประชากร (แหล่ง)	ปูต่ำ ทรายต	ปูต่ำ ระยอง	ปูต่ำ เพชรบุรี	ปูขาว ทรายต	ปูขาว ระยอง	ปูขาว เพชรบุรี	ปูม่วง ทรายต	ปูม่วง ระยอง
ปูต่ำทรายต	-							
ปูต่ำระยอง	0.000	-						
ปูต่ำเพชรบุรี	0.000	0.000	-					
ปูขาวทรายต	0.519	0.578	0.564	-				
ปูขาวระยอง	0.792	0.835	0.848	0.020	-			
ปูขาวเพชรบุรี	0.818	0.902	0.881	0.028	0.022	-		
ปูม่วงทรายต	0.725	0.820	0.809	0.249	0.305	0.322	-	
ปูม่วงระยอง	0.371	0.486	0.428	0.100	0.226	0.179	0.042	-

ตารางที่ 5-43 ค่าเฉลี่ย genetic distance (D) (Nei, 1978) ของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน (ค่าในวงเล็บ คือ ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด)

	จำนวนประชากร	ประชากรปูด้า	ประชากรปูขาว	ประชากรปูม่วง
ประชากรปูด้า	3	0.000 (0.000 – 0.000)		
ประชากรปูขาว	3	0.749 (0.519 – 0.902)	0.023 (0.020 – 0.028)	
ประชากรปูม่วง	2	0.607 (0.371 – 0.820)	0.230 (0.100 – 0.322)	0.042 (0.042 – 0.042)

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-8 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูด้า และปูขาว จาก ตลาด ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วงจากตลาด และระยอง จากการสร้างโดยใช้วิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูทะเล ซึ่งได้แก่ ปูด้า และปูขาว จาก ตลาด ระยอง และเพชรบุรี และปูม่วงจากตลาด และระยอง ใน **ภาพที่ 5-8** แสดงให้เห็นว่าการแบ่งแยกประชากรปูด้า ขาว และม่วง ออกจากกันเป็น 3 กลุ่มชนิด อย่างชัดเจน โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกันจะแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก หรือไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน หรือเป็นประชากรเดียวกัน ซึ่งเป็นการยืนยันผลการศึกษาใน **ตารางที่ 5-40** (ค่า F_{ST}) **ตารางที่ 5-41** (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ **ตารางที่ 5-42** และ **5-43** (ค่า D)

5.4.5 ผลการศึกษาประชากรปทุมมาและปะทะเลในภาพรวมของทุกขอบเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้งหมดของประเทศไทย

5.4.5.1 ปทุมมา

ผลการศึกษาใน หัวข้อ 5.4.1.1, 5.4.2.1 และ 5.4.4.1 ที่ผ่านมา แสดงให้เห็นว่าประชากรปทุมมาจากขอบเขตพื้นที่ฝั่งอันดามัน อ่าวไทยตอนบนและตะวันออก และอ่าวไทยตอนล่าง ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างของแต่ละขอบเขตพื้นที่ แต่ผลการศึกษาจากขอบเขตพื้นที่อ่าวไทยตอนกลางใน หัวข้อ 5.4.3.1 แสดงให้เห็นว่าประชากรปทุมมาจากแหล่งปราบศิริชัยมีความแตกต่างจากอีก 2 แหล่ง คือ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ในขณะที่ประชากรจาก 2 แหล่งเหล่านี้ไม่แสดงความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้น ในการศึกษาประชากรปทุมมาในภาพรวมของทุกขอบเขตพื้นที่ จึงได้ดำเนินการโดยให้ผลการศึกษาโดยค่า F_{st} (ตารางที่ 5-24) จะระบุว่าระดับของความแตกต่างมีเพียงเล็กน้อยหรือไม่หรือเท่ากับไม่มีเลยก็ตาม ส่วนประชากรชุมพรและสุราษฎร์ ซึ่งยังคงเป็นตัวแทนของพื้นที่อ่าวไทยตอนกลาง และประชากรของขอบเขตพื้นที่อื่นๆ ดำเนินการโดยสุ่มตัวอย่างจากทุกแหล่งในแต่ละขอบเขตพื้นที่รวมเข้าด้วยกัน แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของแต่ละขอบเขตพื้นที่นั้น

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-44 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อโลคัส (NoA) และค่าเฮเตอโรไซโกสดีเอ็นเอต่อโลคัส ทั้งในรูปแบบของค่าสังเกต (H_o) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรปทุมมาจาก 1) ฝั่งอันดามัน 2) อ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน 3) ปะจวบศิริชัย 4) อ่าวไทยตอนกลาง และ 5) อ่าวไทยตอนล่าง จากการศึกษาวิเคราะห์จำนวน 4 microsatellite loci ด้วย primers DOFBS3, DOFMC8, DOFBS23 และ DOFBS27

ส่วน ตารางที่ 5-45 แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 4 microsatellite loci ของปทุมมาจาก 5 บริเวณนั้น พร้อมด้วยการทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ที่แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าประชากรจากทุกแหล่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง ($p > 0.05$) หรือเบี่ยงเบนไปจาก Hardy-Weinberg equilibrium ไม่ว่าที่โลคัสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า H_o ที่ปรากฏ และค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ Hardy-Weinberg equilibrium ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้ จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-44 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (NoA และ H_o , He) ที่จำนวน 4 microsatellite loci ในประชากรปทุมมาจากฝั่งอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ปะจวบศิริชัย อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, $\pm$ SE)

Population source (แหล่งตัวอย่าง)	NoA	Heterozygosity per locus	
		H_o	He
ปทุมฝั่งอันดามัน	7.5 (± 0.9)	0.605 (± 0.108)	0.628 (± 0.108)
ปทุมอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน	7.3 (± 1.0)	0.707 (± 0.046)	0.784 (± 0.041)
ปทุมปะจวบศิริชัย	8.0 (± 1.8)	0.792 (± 0.125)	0.814 (± 0.035)
ปทุมอ่าวไทยตอนกลาง	9.3 (± 2.2)	0.857 (± 0.065)	0.827 (± 0.039)
ปทุมอ่าวไทยตอนล่าง	8.5 (± 1.9)	0.946 (± 0.018)	0.853 (± 0.038)

ตารางที่ 5-45 ค่าความถี่อัลลีลที่ 4 microsatellite loci ในประชากรปูม้าจากฝั่งอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน
ประจวบคีรีขันธ์ อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติไบนารีรัก
โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ หมายถึง ไม่มีความแตกต่าง
อย่างมีนัยสำคัญ)

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ฝั่งอันดามัน	อำเภอไทยฝั่ง ตะวันออกและ ตอนบน	ประจวบคีรีขันธ์	อำเภอไทย ตอนกลาง	อำเภอไทย ตอนล่าง
DOFBSC3	170	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000
	174	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000
	178	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000
	180	0.000	0.050	0.000	0.036	0.036
	184	0.000	0.200	0.000	0.036	0.000
	186	0.000	0.000	0.056	0.000	0.071
	188	0.000	0.000	0.111	0.036	0.000
	192	0.024	0.050	0.056	0.107	0.036
	194	0.048	0.100	0.056	0.214	0.143
	196	0.000	0.000	0.111	0.000	0.036
	200	0.024	0.200	0.000	0.071	0.000
	202	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143
	204	0.119	0.100	0.056	0.036	0.143
χ^2 -test	206	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036
	208	0.143	0.150	0.000	0.179	0.071
	210	0.000	0.000	0.000	0.000	0.107
	214	0.000	0.000	0.111	0.000	0.000
	216	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036
	218	0.333	0.100	0.000	0.107	0.000
	220	0.167	0.000	0.111	0.036	0.071
	226	0.119	0.000	0.056	0.107	0.000
	232	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036
	238	0.024	0.050	0.111	0.036	0.036
	χ^2	10.685	4.404	12.417	12.072	9.003
	df	36	36	78	66	91
	p	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
DOFMC8	159	0.786	0.214	0.000	0.286	0.286
	163	0.000	0.000	0.273	0.107	0.000
	167	0.000	0.214	0.045	0.143	0.214
	171	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000
	175	0.048	0.071	0.136	0.143	0.179
	179	0.048	0.464	0.318	0.321	0.000
	183	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250
	187	0.024	0.000	0.045	0.000	0.036
	191	0.048	0.036	0.000	0.000	0.000
	195	0.000	0.000	0.045	0.000	0.036
	199	0.000	0.000	0.091	0.000	0.000
	203	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000
	χ^2 -test	χ^2	1.727	3.707	8.668	4.438
	df	15	10	28	10	15
	p	1.000	0.960	1.000	0.925	1.000

Microsatellite locus	Allele (Base pair)	ผู้สนใจตามัน	อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน	ประจวบคีรีขันธ์	อำเภอไทยตอนกลาง	อำเภอไทยตอนล่าง
DOFBSC23	364	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036
	366	0.071	0.077	0.000	0.000	0.000
	368	0.000	0.000	0.222	0.143	0.036
	372	0.000	0.231	0.167	0.357	0.179
	376	0.143	0.385	0.222	0.036	0.393
	380	0.000	0.000	0.222	0.214	0.179
	382	0.048	0.000	0.167	0.214	0.000
	386	0.667	0.192	0.000	0.000	0.000
	388	0.000	0.000	0.000	0.036	0.179
	390	0.048	0.077	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	396	0.024	0.038	0.000	0.000	0.000
	χ^2	8.711	0.625	1.601	0.797	1.102
	df	15	15	10	15	15
	p	0.892	1.000	0.999	1.000	1.000
DOFBSC27	239	0.025	0.038	0.000	0.143	0.000
	243	0.025	0.154	0.350	0.107	0.000
	245	0.000	0.000	0.100	0.036	0.000
	249	0.050	0.000	0.000	0.036	0.000
	253	0.000	0.000	0.100	0.071	0.107
	255	0.000	0.154	0.300	0.143	0.071
	263	0.150	0.038	0.000	0.071	0.000
	267	0.325	0.000	0.000	0.071	0.179
	271	0.175	0.000	0.000	0.036	0.179
	273	0.175	0.115	0.000	0.071	0.071
	277	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143
	279	0.050	0.115	0.050	0.071	0.000
	285	0.000	0.269	0.100	0.071	0.107
	289	0.025	0.077	0.000	0.036	0.143
	297	0.000	0.038	0.000	0.036	0.000
χ^2 -test	χ^2	3.731	6.743	4.881	21.173	9.780
	df	36	36	15	91	28
	p	1.000	1.000	0.993	1.000	0.999

หมายเหตุ $p > 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-46 และ 5-47 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรปูมจากฝั่งอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน รับผิดชอบยีนที่ อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci

ตารางที่ 5-46 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรทั้งหมด และเปรียบเทียบเป็นคู่ ของประชากรปูมจากฝั่งอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน รับผิดชอบยีนที่ อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง จากการศึกษากิจาที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบกับค่าที่กำหนดระดับความแตกต่างโดย Wright (1978)

ประชากร	ระดับความแตกต่างที่กำหนดโดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)			
	น้อย หรือไม่มี (little or none)	ปานกลาง (moderate)	สูง (great)	สูงมาก (very great)
ทั้งหมด / ทุกประชากร อันดามัน VS อำเภอและต.อ. อันดามัน VS กระจวบฯ อันดามัน VS อำเภอกลาง อันดามัน VS อำเภอล่าง อำเภอบนและต.อ. VS กระจวบฯ อำเภอบนและต.อ. VS อำเภอกลาง อำเภอบนและต.อ. VS อำเภอล่าง กระจวบฯ VS อำเภอกลาง กระจวบฯ VS อำเภอล่าง อำเภอกลาง VS อำเภอล่าง	0 – 0.05	0.05 – 0.15	0.15 – 0.25	> 0.25
	-	0.114	-	-
	-	0.106	-	-
	-	0.149	-	-
	-	0.103	-	-
	-	0.102	-	-
	-	0.053	-	-
	0.038	-	-	-
	-	0.055	-	-
	0.035	-	-	-
	-	0.064	-	-
	0.047	-	-	-

ตารางที่ 5-47 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งหมด และเปรียบเทียบเป็นคู่ ของประชากรปูมจากฝั่งอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน รับผิดชอบยีนที่ อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง ที่จำนวน 4 microsatellite loci โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970)

ประชากร	Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
ประชากรทั้งหมด / ทุกประชากร	DOFBSC3	23	172.305	88	0.00000
	DOFMC8	12	152.605	44	0.00000
	DOFBSC23	11	151.866	40	0.00000
	DOFBSC27	15	137.625	56	0.00000
	(Totals)		614.402	228	0.00000
อันดามัน VS อำเภอไทยตอนบน และฝั่งตะวันออก	DOFBSC3	11	25.489	10	0.00449
	DOFMC8	7	34.679	6	0.00000
	DOFBSC23	7	22.727	6	0.00089
	DOFBSC27	12	40.351	11	0.00003
	(Totals)		123.242	33	0.00000

ประชากร	Microsatellite locus	No. of alleles	χ^2	d.f.	p
อินเดีย VS ประชาชนอินเดีย	DOFBSC3	16	35.926	15	0.00181
	DOFMC8	11	49.568	10	0.00000
	DOFBSC23	9	42.857	8	0.00000
	DOFBSC27 (Totals)	13	53.063 181.414	12 45	0.00000 0.00000
อินเดีย VS ชาวไทยตอนกลาง	DOFBSC3	12	19.176	11	0.05801
	DOFMC8	8	30.797	7	0.00007
	DOFBSC23	10	60.179	9	0.00000
	DOFBSC27 (Totals)	14	29.272 139.423	13 40	0.00599 0.00000
อินเดีย VS ชาวไทยตอนล่าง	DOFBSC3	17	38.287	16	0.00138
	DOFMC8	9	35.135	8	0.00003
	DOFBSC23	11	53.824	10	0.00000
	DOFBSC27 (Totals)	13	31.325 158.570	12 46	0.00176 0.00000
ชาวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก VS ประชาชนอินเดีย	DOFBSC3	18	27.972	17	0.04526
	DOFMC8	10	23.185	9	0.00579
	DOFBSC23	9	23.907	8	0.00238
	DOFBSC27 (Totals)	11	16.494 91.559	10 44	0.08634 0.00003
ชาวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก VS ชาวไทยตอนกลาง	DOFBSC3	12	10.457	11	0.48980
	DOFMC8	6	6.080	5	0.29855
	DOFBSC23	10	35.338	9	0.00005
	DOFBSC27 (Totals)	14	12.731 64.606	13 38	0.46882 0.00452
ชาวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก VS ชาวไทยตอนล่าง	DOFBSC3	17	25.920	16	0.05516
	DOFMC8	8	24.571	7	0.00090
	DOFBSC23	10	22.095	9	0.00858
	DOFBSC27 (Totals)	13	30.101 102.687	12 44	0.00270 0.00000
ประชาชนอินเดีย VS ชาวไทยตอนกลาง	DOFBSC3	18	25.608	17	0.08191
	DOFMC8	9	15.699	8	0.04690
	DOFBSC23	6	6.083	5	0.29825
	DOFBSC27 (Totals)	14	15.771 63.161	13 43	0.26169 0.02418
ประชาชนอินเดีย VS ชาวไทยตอนล่าง	DOFBSC3	20	24.588	19	0.17455
	DOFMC8	10	34.853	9	0.00006
	DOFBSC23	7	13.124	6	0.04111
	DOFBSC27 (Totals)	11	31.954 104.520	10 44	0.00041 0.00000
ชาวไทยตอนกลาง VS ชาวไทยตอนล่าง	DOFBSC3	19	27.819	18	0.06486
	DOFMC8	8	21.511	7	0.00308
	DOFBSC23	7	21.558	6	0.00146
	DOFBSC27 (Totals)	15	24.819 95.707	14 45	0.03640 0.00002

($p \geq 0.05$ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

ผลการวิเคราะห์ค่า F_{ST} ของประชากรปุม้าจากฝั่งอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ประจวบคีรีขันธ์ อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง ที่แสดงใน ตารางที่ 5-46 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.102 – 0.149 เมื่อการวิเคราะห์มีประชากรจากฝั่งอันดามันเข้าไปเกี่ยวข้องด้วย ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์ระหว่างประชากรทั้งหมด หรือเมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ๆ และมีค่าอยู่ระหว่าง 0.035 – 0.064 เมื่อเป็นการเปรียบเทียบเป็นคู่ระหว่างประชากรที่อยู่ในฝั่งอ่าวไทยด้วยกัน ซึ่งค่าดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับระดับของค่า F_{ST} ที่กำหนดโดย Wright (1978) ระบุว่า มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วงระดับปานกลาง (0.05 – 0.15) ระหว่างประชากรปุม้าในฝั่งอันดามันกับฝั่งอ่าวไทย และอยู่ในช่วงระดับที่ค่อนข้างน้อยมากหรือไม่เลย (0 – 0.05) ระหว่างประชากรปุม้าในฝั่งอ่าวไทยด้วยกันเอง

ค่า p ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ใน ตารางที่ 5-47 ถึงแม้จะแสดงผลโดยรวม (Totals) ในทุกการวิเคราะห์ว่ามีความแตกต่างระหว่างประชากรปุม้า ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์ระหว่างประชากรทั้งหมด หรือเมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเป็นรายโลкус (microsatellite locus) ในแต่ละการวิเคราะห์/เปรียบเทียบ พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับค่า F_{ST} กล่าวคือ มีความแตกต่างกันทุกโลкусในทุกการวิเคราะห์ที่มีประชากรฝั่งอันดามัน แต่จะไม่แสดงความแตกต่าง ($p \geq 0.05$) ที่บางโลกัส หรือหลายโลไซ เมื่อเป็นการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยกัน โดยเฉพาะคู่ระหว่างประจวบฯ กับอ่าวไทยตอนกลาง ซึ่งถือได้ว่าไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ทุกโลกัส (ถึงแม้ค่า p จะลดลงบ้างเมื่อวิเคราะห์รวมโลไซทั้งหมดก็ตาม : Totals, $p = 0.02418$) อีกทั้งระดับความแตกต่างที่แสดงโดยค่า F_{ST} ของประชากรคู่นี้ ($F_{ST} = 0.035$) อยู่ในระดับที่น้อยมากหรือไม่เลย (ตารางที่ 5-46)

ผลที่ปรากฏดังกล่าว จึงแสดงว่าประชากรปุม้าจากประจวบคีรีขันธ์มีพันธุกรรมที่ยังไม่ถือว่าแตกต่างออกไปจากประชากรอ่าวไทยตอนกลาง เช่นเดียวกับผลที่ปรากฏในประชากรของฝั่งอ่าวไทยอื่น ๆ โดยรวม ซึ่งถึงแม้จะแสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของฝั่งเดียวกันบ้าง แต่ก็ยังไม่ชัดเจน ในขณะที่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างประชากรฝั่งอ่าวไทยกับฝั่งอันดามันแสดงให้เห็นโดยค่า p และ F_{ST}

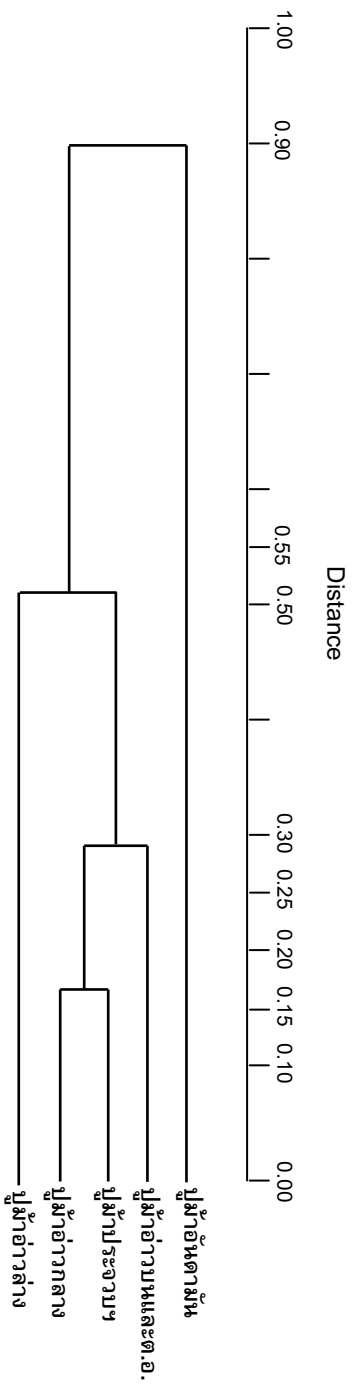
ตารางที่ 5-48 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 4 microsatellite loci ซึ่งปรากฏออกมาสรุปได้เป็น 2 ช่วงระดับ คือ ช่วงระดับตั้งแต่ 0.7 ขึ้นไป เป็นค่า D ระหว่างประชากรปุม้าในฝั่งอันดามันกับฝั่งอ่าวไทย (ค่า D ปรากฏอยู่ในช่วง 0.701 – 2.084) และช่วงระดับตั้งแต่ 0.7 ลงมา หรือประมาณไม่เกิน 0.7 เป็นค่า D ระหว่างประชากรปุม้าในฝั่งอ่าวไทยด้วยกันเอง (ค่า D ปรากฏอยู่ในช่วง 0.172 – 0.717) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประชากรปุม้าที่อยู่ในกลุ่มฝั่งอ่าวไทยเหมือนกันมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มที่อยู่ในฝั่งอันดามัน

ค่า D ในตารางดังกล่าว จะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของปุม้าจากฝั่งอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ประจวบคีรีขันธ์ อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง ต่อไป

ตารางที่ 5-48 ค่า D ของ Nei (1978) ในระหว่างทุกคู่ประชากรของปุม้าจากฝั่งอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ประจวบคีรีขันธ์ อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง

Populations	ปุม้าอันดามัน	ปุม้าอ่าวไทย ฝั่งตะวันออก และตอนบน	ปุม้า ประจวบคีรีขันธ์	ปุม้าอ่าวไทย ตอนกลาง	ปุม้าอ่าวไทย ตอนล่าง
ปุม้าฝั่งอันดามัน	-				
ปุม้าอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน	0.701	-			
ปุม้าประจวบคีรีขันธ์	2.084	0.372	-		
ปุม้าอ่าวไทยตอนกลาง	0.750	0.202	0.172	-	
ปุม้าอ่าวไทยตอนล่าง	0.728	0.454	0.717	0.430	-

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-9 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรปูม้าจากฝั่งอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ประจวบคีรีขันธ์ อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ภาพที่ 5-9 แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้า (โดยค่า D) ให้เห็นในรูปแบบของโครงสร้างที่ชัดเจนยิ่งขึ้น นั่นคือ ประชากรปูม้าที่อยู่ในกลุ่มฝั่งอำเภอไทยเหนือกันมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มที่อยู่ฝั่งอันดามัน โดยในภาพประชากรฝั่งอันดามันถูกแยกออกไปจากกลุ่มประชากรอำเภอไทยอย่างเด่นชัด นอกจากนี้ ถ้าพิจารณาจะหาช่วงประชากรในกลุ่มฝั่งอำเภอไทยด้วยกันเอง จากโครงสร้างในภาพ แสดงให้เห็นว่าประชากรจากฝั่งอำเภอไทยตอนล่างมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างออกมาจากประชากรอำเภอไทยอื่น ๆ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดระหว่างกันให้เห็นโดยรวมอยู่ในกลุ่มประชากรเดียวกัน

5.4.5.2 ปูทะเล

ผลการศึกษาใน หัวข้อ 5.4.1.2, 5.4.2.2, 5.4.3.2 และ 5.4.4.2 ที่ผ่านมา แสดงให้เห็นว่าปูทะเลแต่ละชนิดมีความแตกต่างระหว่างชนิดแยกจากกันชัดเจนในทุกขอบเขตพื้นที่ (อันดามัน อำเภอไทยตอนล่าง อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนบนและตะวันออก) ในพื้นที่แต่ละชนิดไม่แสดงความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างของแต่ละขอบเขตพื้นที่ ดังนั้นในการศึกษาประชากรปูทะเลในภาพรวมของทุกขอบเขตพื้นที่ จึงสามารถทำการศึกษาวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างแต่ละชนิดจากการสุ่มจากทุกแหล่งในแต่ละขอบเขตพื้นที่รวมเข้าด้วยกัน แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของแต่ละขอบเขตพื้นที่ในแต่ละชนิด

- ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-49 แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อโลเกส (NoA) และค่าเฮเตอโรไซโกสเฉลี่ยต่อโลเกส ทั้งในรูปของค่าสังเกต (Ho) และค่าคาดหวัง (He) ในประชากรปูดำและปูขาวจากอันดามัน อำเภอไทยตอนบนและตะวันออก อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง ปุ่มงจากอันดามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยตอนล่าง และปูเขียวจากอันดามัน จากการวิเคราะห์ที่จำนวน 6 microsatellite loci ด้วย primers DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9 และ DOFMC13

ตารางที่ 5-49 ค่าความถี่แปรทางพันธุกรรม (NoA และ Ho, He) ที่จำนวน 6 microsatellite loci ในประชากรปู่ตำและปู่ขาวจากอินทามัน อำเภอไทยดอนบนและตะวันออก อำเภอไทยดอนกลาง และอำเภอไทยดอนล่าง ปู่ม่วงจากอินทามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยดอนล่าง และปู่เขียวจากอินทามัน (ค่าในวงเล็บคือ standard errors, ±SE)

Population / Source (ประชากร / ขอบเขตพื้นที่)	NoA	Heterozygosity per locus	
		Ho	He
1. ปู่ตำอินทามัน	3.2 (±0.5)	0.625 (±0.168)	0.583 (±0.119)
2. ปู่ตำอำเภอไทยดอนบนและตะวันออก	2.7 (±0.5)	0.433 (±0.167)	0.433 (±0.115)
3. ปู่ตำอำเภอไทยดอนกลาง	2.8 (±0.4)	0.381 (±0.141)	0.455 (±0.102)
4. ปู่ตำอำเภอไทยดอนล่าง	2.5 (±0.4)	0.450 (±0.153)	0.402 (±0.119)
5. ปู่ขาวอินทามัน	2.2 (±0.5)	0.444 (±0.159)	0.444 (±0.152)
6. ปู่ขาวอำเภอไทยดอนบนและตะวันออก	3.3 (±0.7)	0.456 (±0.135)	0.544 (±0.118)
7. ปู่ขาวอำเภอไทยดอนกลาง	3.7 (±0.9)	0.542 (±0.166)	0.553 (±0.122)
8. ปู่ขาวอำเภอไทยดอนล่าง	3.2 (±0.6)	0.442 (±0.136)	0.523 (±0.110)
9. ปู่ม่วงอินทามัน	2.5 (±0.3)	0.667 (±0.167)	0.750 (±0.094)
10. ปู่ม่วงอำเภอไทยฝั่งตะวันออก	3.5 (±0.8)	0.719 (±0.083)	0.756 (±0.077)
11. ปู่ม่วงอำเภอไทยดอนล่าง	2.0 (±0.4)	0.500 (±0.183)	0.488 (±0.183)
12. ปู่เขียวอินทามัน	2.0 (±0.0)	0.458 (±0.146)	0.507 (±0.058)

ส่วน **ตารางที่ 5-50** แสดงความถี่อัลลีลที่จำนวน 6 microsatellite loci ของประชากรปู่ตำและปู่ขาวจากอินทามัน อำเภอไทยดอนบนและตะวันออก อำเภอไทยดอนกลาง และอำเภอไทยดอนล่าง ปู่ม่วงจากอินทามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยดอนล่าง และปู่เขียวจากอินทามัน พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติสมมติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ไว้ที่แต่ละ microsatellite locus ซึ่งปรากฏว่าทุกการประชากรไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างหรือเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎีสมมติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($p > 0.05$) ไม่ว่าจะที่โลคัสใด ๆ ก็ตาม จึงแสดงว่าค่า Ho ที่ปรากฏและค่า He ที่ได้จากการคาดคะเนภายใต้ทฤษฎีสมมติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กไม่มีความสำคัญในความแตกต่างซึ่งกันและกัน ดังนั้นตัวอย่างจากแต่ละแหล่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นตัวแทนจากประชากรเดียวกัน (single panmictic populations) ของแต่ละแหล่งนั้น และข้อมูลที่ปรากฏถือว่ามีความถูกต้องเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันได้ในลำดับต่อไป

ตารางที่ 5-50 ค่าความถี่อัลลีลที่ 6 microsatellite loci ในประชากรปู่ตำและปู่ขาวจากอินทามัน อำเภอไทยดอนบนและตะวันออก อำเภอไทยดอนกลาง และอำเภอไทยดอนล่าง ปู่ม่วงจากอินทามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยดอนล่าง และปู่เขียวจากอินทามัน พร้อมด้วยผลการทดสอบทางสถิติสมมติฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ซึ่งแสดงโดยค่า χ^2 , df และ p ($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ, ตัวเลขในบรรทัดแรกของหัวของตาราง ระบุประชากร ซึ่งเรียงลำดับเหมือนกับที่แสดงในคอลัมน์แรกของ **ตารางที่ 5-49**)

Locus	Bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOFMC1	184	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	188	0.250	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
	192	0.375	0.400	0.625	0.250	0.000	0.300	0.500	0.375	0.500	0.375	1.000	0.000
	196	0.375	0.600	0.250	0.625	0.250	0.200	0.375	0.500	0.500	0.250	0.000	0.000
	200	0.000	0.000	0.125	0.000	0.250	0.400	0.125	0.000	0.000	0.375	0.000	0.500
	204	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
χ^2 -test	χ^2	0.417	2.389	0.700	0.053	0.250	0.610	0.958	0.958	0.250	0.139	-	0.000
	df	3	1	3	3	3	6	3	3	1	3	-	1
	p	0.937	0.122	0.873	0.997	0.969	0.996	0.811	0.811	0.617	0.987	-	1.000

Locus	Bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOFMC3	208	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	0.333	0.400	0.400	0.750	0.500	0.250	0.625
	214	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.667	0.600	0.600	0.250	0.500	0.750	0.375
χ^2 -test	χ^2	-	-	-	-	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	1.625	0.000	0.218
	df	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1
	p	-	-	-		1.000	0.919	1.000	1.000	1.000	0.202	1.000	0.641
DOFMC4	151	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000
	153	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00	0.000	0.250	0.000	0.000
	155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
	159	0.250	0.100	0.250	0.250	0.500	0.200	0.250	0.333	0.500	0.000	0.000	0.500
	161	0.500	0.300	0.375	0.500	0.500	0.300	0.500	0.333	0.500	0.000	0.500	0.500
	163	0.125	0.400	0.250	0.250	0.000	0.500	0.000	0.167	0.000	0.000	0.500	0.000
	165	0.125	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
χ^2 -test	169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
	χ^2	0.500	0.637	0.049	0.750	0.833	1.383	0.500	0.167	0.000	0.500	0.000	0.250
	df	6	6	6	3	1	3	6	6	1	6	1	1
	p	0.998	0.996	1.000	0.861	0.361	0.709	0.998	1.000	1.000	0.998	1.000	0.617
DOFMC8	169	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.250	0.500	0.750	0.000
	177	0.125	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	181	0.125	0.100	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.750	0.500	0.250	0.000
	185	0.625	0.400	0.750	0.625	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
	189	0.125	0.400	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
	193	0.000	0.100	0.125	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	0.000	0.163	0.000	1.175	-	-	-	-	0.000	1.625	0.000	1.625
	df	6	6	3	6	-	-	-	-	1	1	1	1
	p	1.000	1.000	1.000	0.978	-	-	-	-	1.000	0.202	1.000	0.202
DOFMC9	193	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.200	0.125	0.000	0.000	0.000	0.167
	196	0.500	0.400	0.167	0.000	0.000	0.400	0.200	0.125	0.250	0.500	1.000	0.833
	198	0.000	0.100	0.333	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	200	0.250	0.500	0.500	0.875	0.000	0.200	0.200	0.000	0.250	0.375	0.000	0.000
	202	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.200	0.100	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000
	204	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.125	0.250	0.000	0.000	0.000
	208	0.125	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	0.000	0.000
χ^2 -test	210	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
	212	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
χ^2 -test	χ^2	0.500	0.263	0.333	0.000	-	1.762	3.400	2.500	0.500	0.000	-	0.000
	df	6	3	3	1	-	10	21	10	6	3	-	1
	p	0.998	0.967	0.954	1.000	-	0.998	1.000	0.991	0.998	1.000	-	1.000

Locus	Bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOFMC13	212	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.300	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
	214	0.000	0.000	0.200	0.000	0.167	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.833
	216	0.125	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167
	220	0.625	0.900	0.700	0.900	0.500	0.200	0.375	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000
	222	0.250	0.100	0.100	0.100	0.000	0.100	0.250	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000
	226	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.300	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	228	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
	230	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.833
	232	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.125	0.000	0.167
	242	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500	0.250	0.250	0.000
	246	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.250	0.000
	250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
	254	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
	256	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
	258	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
	266	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
	268	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000
	274	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000
	276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000
χ^2 -test	χ^2	0.053	0.000	1.030	0.000	0.667	0.939	0.340	1.000	0.000	2.750	0.500	0.000
	df	3	1	3	1	6	10	10	6	3	21	6	1
	p	0.997	1.000	0.794	1.000	0.995	1.000	1.000	0.986	1.000	1.000	0.998	1.000

- ความแตกต่างทางพันธุกรรม

ตารางที่ 5-51 และ 5-52 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร (ค่า F_{ST} ของ Wright, 1978) และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรปูด้าและปูขาวจากอินทามัน อำเภอไทยตอนบนและตะวันออก อำเภอไทยตอนล่าง และอำเภอไทยตอนล่าง และปูเขียวจากอินทามัน โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

ผลการศึกษาที่แสดงใน **ตารางที่ 5-51** ระบุว่า ประชากรปูทะเลมีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของชนิดเดียวกันในระดับปานกลาง (moderate) แต่มีความแตกต่างระหว่างประชากรของชนิดที่ต่างกัน (ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด) ในระดับสูง (great) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความแตกต่างที่กำหนดโดย Wright (1978) ส่วนระดับของค่า p ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) แสดงใน **ตารางที่ 5-52** ระบุว่า ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างประชากรภายในชนิด ทั้งของปูดำ ปูขาว และปูม่วง ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่งระหว่างประชากรของชนิดที่ต่างกัน ($p < 0.001$)

ตารางที่ 5-51 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของยีน (F_{ST}) ระหว่างประชากรรูปต่ำและประชากรจากอินตามัน อำเภอไทยตอนบนและตะวันออกเฉียง อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง ปุ่มวงจากอินตามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยตอนล่าง และปุ่มเขียวจากอินตามัน จากการศึกษาที่จำนวน 6 microsatellite loci โดยเปรียบเทียบค่าที่กำหนดระดับความแตกต่าง (F_{ST}) โดย Wright (1978)

ระดับความแตกต่างที่กำหนด	ค่า F_{ST} (Wright, 1978)	ค่า F_{ST} จากการศึกษาครั้งนี้	
		ระหว่างประชากรภายในชนิด	ระหว่างชนิดในประชากรทั้งหมด
โดยค่า F_{ST} (Wright, 1978)	(Wright, 1978)		
น้อย หรือไม่มี (little or none)	0 – 0.05	-	-
ปานกลาง (moderate)	0.05 – 0.15	0.080	-
สูง (great)	0.15 – 0.25	-	0.159
สูงมาก (very great)	> 0.25	-	-

ตารางที่ 5-52 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรรูปต่ำและประชากรจากอินตามัน อำเภอไทยตอนบนและตะวันออกเฉียง อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง ปุ่มวงจากอินตามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และปุ่มเขียวจากอินตามัน โดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci

Microsatellite locus	ระหว่างประชากรของรูปต่ำ				ระหว่างประชากรของรูปขาว				ระหว่างประชากรของรูปม่วง				ระหว่างประชากรของรูป 4 ชนิด			
	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p	No. of alleles	χ^2	df	p
DOFMC1	4	10.499	9	0.312	6	25.025	15	0.050	3	6.889	4	0.142	6	95.041	55	0.001
DOFMC3	-	-	-	-	2	3.771	3	0.287	2	2.828	2	0.243	2	35.917	11	0.000
DOFMC4	5	8.898	12	0.712	6	18.722	15	0.227	7	12.000	12	0.446	9	101.334	88	0.157
DOFMC8	5	9.662	12	0.646	-	-	-	-	2	2.000	2	0.368	6	142.019	55	0.000
DOFMC9	5	17.570	12	0.129	8	17.920	21	0.654	4	7.611	6	0.268	10	134.463	99	0.010
DOFMC13	4	11.115	9	0.268	9	27.107	24	0.300	11	17.600	20	0.614	19	317.387	198	0.000
(Totals)		57.744	54	0.339		92.545	78	0.125		48.928	46	0.356		826.161	506	0.000

($p > 0.05$ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ, $p < 0.001$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง)

ตารางที่ 5-53 แสดงค่า D (Nei, 1978) ที่ประมาณได้จากการศึกษาที่ 6 microsatellite loci ซึ่งจะนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (dendrogram) ของแต่ละเขตต่อไป ส่วน **ตารางที่ 5-54** แสดงค่า D เฉลี่ยของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน

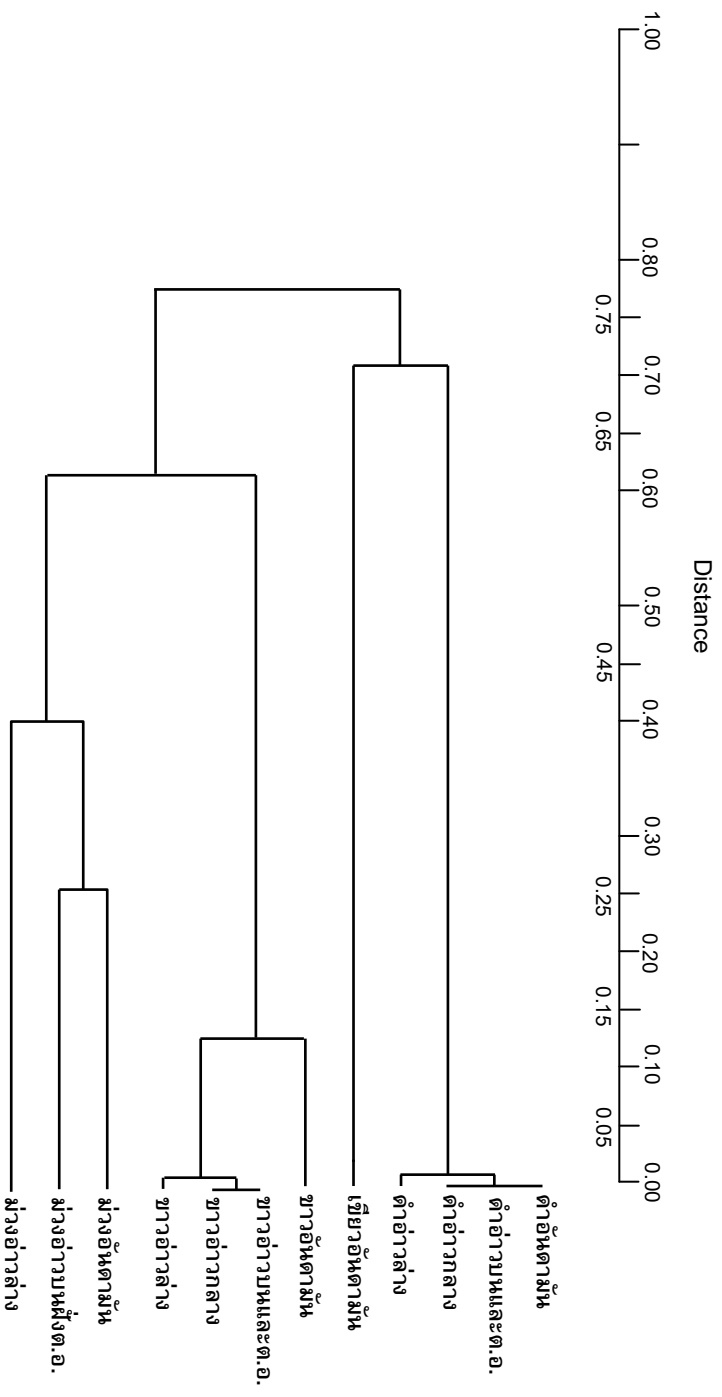
ตารางที่ 5-53 ค่า genetic distance (D) (Nei, 1978) ระหว่างทุกคู่ประชากร ของปู่ตำและปู่ขาวจากอินทามัน อำเภอไทยตอนบน และตะวันออก อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง ปู่ม่วงจากอินทามัน อำเภอไทยฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยตอนล่าง และปู่เขียวจากอินทามัน จากการศึกษาที่จำนวน 6 microsatellite loci (ตัวเลขในบรรทัดแรก/ หัวของตารางระบุประชากร ซึ่งเรียงลำดับเหมือนกับที่แสดงในคอลัมน์แรกของตาราง)

ประชากร	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ปู่ตำอินทามัน												
2. ปู่ตำอำเภอไทยตอนบนและตะวันออก	-											
3. ปู่ตำอำเภอไทยตอนกลาง	0.000	-										
4. ปู่ตำอำเภอไทยตอนล่าง	0.000	0.000	-									
5. ปู่ขาวอินทามัน	0.016	0.017	0.005	-								
6. ปู่ขาวอำเภอไทยตอนบนและตะวันออก	0.621	0.732	0.697	0.692	-							
7. ปู่ขาวอำเภอไทยตอนกลาง	0.724	0.714	0.757	0.871	0.279	-						
8. ปู่ขาวอำเภอไทยตอนล่าง												
9. ปู่ม่วงอินทามัน	0.447	0.523	0.514	0.568	0.193	0.000	-					
10. ปู่ม่วงอำเภอไทยฝั่งตะวันออก	0.499	0.548	0.620	0.610	0.060	0.027	0.000	-				
11. ปู่ม่วงอำเภอไทยตอนล่าง	0.304	0.466	0.473	0.451	0.655	0.617	0.370	0.465	-			
12. ปู่เขียวอินทามัน	0.651	0.692	0.727	0.831	0.795	0.309	0.304	0.489	0.272	-		
	0.776	0.915	0.925	1.439	0.986	0.247	0.296	0.419	0.499	0.378	-	
	0.406	0.666	0.513	0.909	0.673	0.747	0.751	1.046	0.761	0.781	0.825	-

ตารางที่ 5-54 ค่าเฉลี่ย genetic distance (D) (Nei, 1978) ของทุกคู่ประชากรในชนิดเดียวกัน และทุกคู่ประชากรระหว่างชนิดที่ต่างกัน (ค่าในวงเล็บ คือ ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด)

ประชากรปู่ตำ	จำนวนประชากร	ประชากรปู่ตำ	ประชากรปู่ขาว	ประชากรปู่ม่วง	ประชากรปู่เขียว
ประชากรปู่ตำ	4	0.006 (0.000 – 0.017)			
ประชากรปู่ขาว	4	0.634 (0.447 – 0.871)	0.093 (0.000 – 0.279)		
ประชากรปู่ม่วง	3	0.721 (0.304 – 1.437)	0.496 (0.247 – 0.986)	0.383 (0.272 – 0.499)	
ประชากรปู่เขียว	1	0.624 (0.406 – 0.909)	0.804 (0.673 – 1.046)	0.789 (0.761 – 0.825)	xxxxx xxxxx - xxxxx

- โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 5-10 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรตำบลและหมู่จากอินตามัน อำเภอไทยตอนบนและตะวันออก อำเภอไทยตอนกลาง และอำเภอไทยตอนล่าง หมู่จากอินตามัน อำเภอฝั่งตะวันออก และอำเภอไทยตอนล่าง และหมู่เขียวจากอินตามัน จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรหมู่ทะเลใน **ภาพที่ 5-10** แสดงให้เห็นว่าการแบ่งแยกประชากรหมู่ดำ ชาว เขียว และม่วง ออกจากกันเป็น 4 กลุ่มชนิด อย่างชัดเจน โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกัน แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มชนิด สอดคล้องกับผลการศึกษาใน **ตารางที่ 5-51** (ค่า F_{ST}) **ตารางที่ 5-52** (contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ **ตารางที่ 5-53** และ **5-54** (ค่า D)

5.5 วิจาร์ณสรุปในภาพรวม

5.5.1 ความชุกชุม หรือหายาก ของชนิดปูทะเล

ปูเขียวเป็นปูทะเลที่พบได้ยากมาก (rare species) ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลของไทย (**ตารางที่ 4-1**) ตัวอย่างปูเขียวที่ใช้ในโครงการนี้ได้จากจังหวัดระนองเพียงแห่งเดียว ชนิดปูทะเลที่พบได้ยากรองลงมาคือปูม่วง ซึ่งรวบรวมตัวอย่างได้จาก ระนอง นราธิวาส ระยอง และตราด ส่วนปูดำและปูขาวสามารถรวบรวมตัวอย่างได้จากแหล่งต่าง ๆ ครอบคลุมทุกขอบเขตพื้นที่ของไทย โดยพบว่าปูดำเป็นปูทะเลชนิดที่มีชุกชุม (dominant species) ของชายฝั่งทะเลอินตามัน (ของประเทศไทยและพม่า) และมีการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งด้านนี้มากกว่าปูทะเลชนิดอื่น ๆ

5.5.2 ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยค่าเฉลี่ยต่อโลก็ซของ จำนวนอัลลิล (NoA) และค่าเอเตเตอร์ไฮเทกอสติติ (Ho & He) ในประชากรปูม้งมีค่า NoA = 7.3 (± 1.0) – 15.5 (± 3.3), Ho = 0.605 (± 0.108) – 0.946 (± 0.018) และ He = 0.628 (± 0.108) – 0.885 (± 0.023) (ตารางที่ 5-1, 5-11, 5-22, 5-33 และ 5-44) และในประชากรปูทะเล NoA = 2.0 (± 0.0) – 7.0 (± 2.9), Ho = 0.370 (± 0.102) – 0.917 (± 0.083) และ He = 0.402 (± 0.119) – 0.759 (± 0.077) (ตารางที่ 5-6, 5-16, 5-27, 5-38 และ 5-49) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการศึกษาวิเคราะห์ความหลากหลาย/แปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไม่โครแซทเทลไลท์ จะได้ค่าที่แสดงความหลากหลาย/แปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรกุ่มกุลตาของ พนม และคณะ (2548) ที่ใช้เทคนิคเดียวกันในการศึกษาและรายงานผลที่ได้ในปริมาณสูงเช่นเดียวกัน (NoA = 4.4 – 9.3, Ho = 0.549 – 0.750)

5.5.3 ความแตกต่างและโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

(1) ผลการศึกษาในประชากรปูม้งระบุชัดเจนว่า ปูม้งในฝั่งอันดามันไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน (ตารางที่ 5-4, 5-5 และ ภาพที่ 5-1) แต่มีพันธุกรรมที่มีนัยสำคัญในความแตกต่างจากประชากรในฝั่งอ่าวไทยเป็นอย่างมาก (ตารางที่ 5-47) โดยปูม้งในฝั่งอันดามันแสดงความสัมพันธ์ที่แตกแยกออกไปจากกลุ่มประชากรในฝั่งอ่าวไทย ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันภายในกลุ่มมากกว่า (ภาพที่ 5-9) ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของสัตว์น้ำใน 2 ฝั่งทะเลของปูทะเลนี้ ได้เคยมีการรายงานมาแล้วในกุ่มทะเล หังกุ่มกุลตา (ศรีรัตน์, 2539) และกุ่มแซบวัย (ศรีรัตน์ และพนม, 2541) ซึ่งถึงแม้จะเป็นการศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ แต่ก็มีผลการศึกษาที่สอดคล้องและสนับสนุนผลการศึกษาในครั้งนี้

(2) ผลการศึกษาในประชากรปูทะเล ได้แสดงให้เห็นว่าปูทะเล 4 ชนิด (ตำ ขาว ม่วง และเขียว) มีนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดเป็นอย่างสูง (ตารางที่ 5-51 และ 5-52) โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกัน แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์ทางประชากรต่างกลุ่มชนิด (ภาพที่ 5-10) แต่ในแต่ละชนิดยังไม่แสดงความแตกต่างระหว่างประชากร (ตารางที่ 5-52) ทั้งในระหว่างประชากรต่างฝั่ง (อันดามัน และอ่าวไทย) และในระหว่างประชากรฝั่งเดียวกัน (อ่าวไทย)

ผลการวิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ของปูทะเลที่แสดงใน ภาพที่ 5-10 เป็นการแสดงให้เห็นว่า ชนิดของปูทะเลมีการแบ่งแยกโดยพันธุกรรมออกเป็น 4 กลุ่ม/ชนิด คือ ปูดำ ปูเขียว ปูขาว และปูม่วง แยกจากกันอย่างชัดเจน เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างภายในชนิดเดียวกันแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดเกาะกลุ่มกัน ไม่แตกกลุ่มไปรวมกับชนิดอื่น จึงเป็นการยืนยันผลการวิเคราะห์ในบทที่ 4 ในแง่ของการแบ่งแยกชนิด มีนัยสำคัญในการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดอย่างเช่นที่ปรากฏผลใน ภาพที่ 4-7 ของบทที่ 4 นั่นคือ ปูดำกับปูขาวมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดซึ่งกันและกันมากกว่าความสัมพันธ์กับอีก 2 ชนิด คือปูม่วงกับปูเขียว ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดซึ่งกันและกัน แต่หากจะพิจารณาในแง่ของความสัมพันธ์ระหว่างชนิด (หรือคู่ชนิด) ควรจะต้องวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ตัวอย่างจากหลากหลายแหล่งรวมเป็นกลุ่มเดียว เพื่อเป็นตัวแทนในแต่ละชนิด ตามที่วิเคราะห์ไปแล้วในบทที่ 4 ซึ่งผลที่ปรากฏโดย ภาพที่ 4-7 ดังกล่าว ก็สอดคล้องกับลักษณะเด่นภายนอกที่ Keenan *et al.* (1998) กาญจนา และณัฐกร (2548) และการศึกษาครั้งนี้ ใช้เป็นหลักในการจำแนกชนิด

ถึงแม้ว่าการศึกษาค้นคว้านี้จะเห็นพ้องกับการศึกษาของ คุณกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ (รายงานเสนอ สกว. ฉบับสมบูรณ์, ติดต่อบุคคล) ในการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ให้กับปู 4 ชนิด ตาม Keenan *et al.* (1998) ซึ่งอาจไม่ตรงกับชื่อที่เคยมีการศึกษาและรายงานไว้ในประเทศไทย (อนันต์, 2542; บรรจง และบุญรัตน์, 2545; Fuseya and Watanabe, 1996; Klinbunga *et al.*, 2000) โดยใช้หลักเกณฑ์การจำแนกชนิดตาม Estampador (1949) อย่างไรก็ตาม สิ่งหนึ่งที่สำคัญมากและทุกการศึกษาได้เห็นพ้องต้องกัน คือ ปูทะเลในประเทศไทยมีมากกว่า 1 ชนิด และไม่ต่ำกว่า 3 ชนิด อย่างแน่นอน ซึ่งแต่เดิมเข้าใจกันว่ามีเพียงชนิดที่ชื่อ *Scylla serrata* เท่านั้น

(3) ผลการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยค่า F_{ST} ของ (Wright, 1978) หักในปูม้า และปูทะเล ทำให้ทราบว่า ค่าดังกล่าวสามารถระบุชั้น (class) ของความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้พบว่า ค่า F_{ST} ในระดับปานกลางของ Wright (1978) ($0.05 - 0.15$) เป็นระดับที่ระบุความแตกต่างระหว่างประชากร (inter-populations) ในปูม้า ($F_{ST} = 0.102 - 0.149$, ตารางที่ 5-46) ส่วนค่า F_{ST} ในระดับสูงของ Wright (1978) ($0.15 - 0.25$, หรือมากกว่า 0.25) ก็พบว่าสามารถระบุความแตกต่างในชั้นสูงขึ้นไป คือ ความแตกต่างระหว่างชนิด (inter-species) ซึ่งในผลการศึกษาครั้งนี้ ได้แสดงให้เห็นในระหว่างชนิดของปูทะเล ($F_{ST} = 0.154 - 0.159$, ตารางที่ 5-18, 5-29, 5-40 และ 5-50)

(4) ผลการศึกษาโดย ค่า F_{ST} (ตารางที่ 5-9) ค่า p จากการวิเคราะห์ contingency chi-square (ตารางที่ 5-10) และโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (ภาพที่ 5-2) ระบุว่า ปูจากพม่าและปูดำในฝั่งอันดามันไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน และเนื่องจากระบบการปรับตัวของไทยทั้งหมดที่ศึกษาในครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน (ตารางที่ 5-52 และ ภาพที่ 5-10) ดังนั้น จึงแสดงว่าประชากรปรับตัวจากพม่าและในขอบเขตพื้นที่ชายฝั่งของไทยทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน

บทที่ 6

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี AMOVA และอื่น ๆ เพิ่มเติมจากการวิเคราะห์ในบทที่ 5

6.1 เหตุผลความสำคัญ

เนื่องด้วยมีข้อเสนอแนะจากการพิจารณาประเมินร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ครั้งที่ 1 ให้มีการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี AMOVA (Analysis of Molecular Variance) รวมทั้งการวิเคราะห์ข้อมูลบางค่าเพิ่มเติมจากการวิเคราะห์ในบทที่ 5 ซึ่งในการวิเคราะห์ต้องใช้โปรแกรมที่ไม่ใช่โปรแกรมที่ใช้ในบทที่ 5 ดังนั้น เพื่อให้ไม่เกิดความสับสนกับข้อมูลที่ได้รับจากการวิเคราะห์ในบทที่ 5 และเพื่อให้รายงานวิจัยฉบับนี้มีความครบถ้วนสมบูรณ์ตามข้อเสนอแนะของการพิจารณาประเมินฯ ผู้วิจัยจึงได้เพิ่มการวิเคราะห์ข้อมูลในบทนี้แยกออกมาต่างหากอีกบทหนึ่ง แต่เนื่องด้วยมีข้อจำกัดบางอย่างในขั้นตอนการสร้างไฟล์ข้อมูลให้เหมาะสมตามกับโปรแกรมที่จะใช้วิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องทำการอ่านและรวบรวมข้อมูลดิบที่มีอยู่เดิมจากการวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการใหม่ทั้งหมด ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำข้อมูลบางข้อมูล เช่น ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่าง ๆ (observed and expected heterozygosities, number of alleles, etc.) จะแสดงค่าที่คลาดเคลื่อนไปบ้างจากที่ได้แสดงผลไว้ ในบทที่ 5 เนื่องจากเป็นการอ่านข้อมูลคนละครั้ง แต่ก็จัดว่าใกล้เคียงกันที่สุด อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยคงไม่แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำกับที่วิเคราะห์ไปแล้วในบทที่ 5 ในใหม่ทั้งหมด (โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิเคราะห์ที่ไม่แสดงผลอะไรที่ต่างไปจากเดิม เช่น การวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับสมตูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก) แต่จะดำเนินการเฉพาะในประเด็นสำคัญตามที่ได้รับข้อเสนอแนะมาเท่านั้น

6.2 วัตถุประสงค์

6.2.1 วิเคราะห์ AMOVA กับข้อมูลไมโทคอนดริอัล DNA ในปูม้าและปูทะเล เพื่อตรวจสอบความแตกต่างใน 3 ระดับ (levels) ของแต่ละชนิดแยกจากกัน ได้แก่ (1) ความแตกต่างในระหว่างขอบเขตพื้นที่ (regions) ที่ต่างกัน (2) ความแตกต่างระหว่างประชากรย่อย (แหล่งตัวอย่าง) ภายในแต่ละขอบเขตพื้นที่ และ (3) ความแตกต่างระหว่างประชากรย่อยภายในประชากรใหญ่ (ชนิด)

6.2.2 วิเคราะห์ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ observed and expected heterozygosities (Ho and He), averaged number of alleles (Na), effective number of alleles (Ne) และ allelic richness (R)

6.3 วิธีดำเนินการ

6.3.1 การวิเคราะห์ AMOVA

ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Arlequin ver 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006) วิเคราะห์ค่า Variance components (Va, Vb, Vc) และ Fixation indices (F_{ST} , F_{SC} , F_{CT}) แล้วทำการทดสอบใน 3 ระดับ คือ (1) Among groups ซึ่งเป็นการทดสอบค่า Va และ F_{CT} เพื่อตรวจสอบความแตกต่างในระหว่างขอบเขตพื้นที่ (regions) ที่ต่างกัน (2) Among populations within groups หรือการทดสอบค่า Vb และ F_{SC} เพื่อตรวจสอบความแตกต่างระหว่างประชากรย่อยในแต่ละขอบเขตพื้นที่ และ (3) Within populations ทดสอบค่า Vc และ F_{ST} เพื่อการตรวจสอบความแตกต่างระหว่างประชากรย่อยภายในชนิด ทั้งนี้ ได้ทำการวิเคราะห์ในแต่ละชนิดแยกจากกัน ทั้งในปูม้า และปูทะเล

ในการนี้ที่การวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้นแสดงผลว่ามีนัยสำคัญ (significant) ในความแตกต่าง จึงทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกกลุ่มประชากร โดยค่า p ที่ใช้สำหรับการทดสอบค่า F -statistics ทุกการทดสอบจะพิจารณาว่าแสดงนัยสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% ก็ต่อเมื่อค่า p ต่ำกว่า 0.02 ไม่ใช่ต่ำกว่า 0.05 (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006)

6.3.2 การวิเคราะห์ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม

ทำการวิเคราะห์ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ observed and expected heterozygosities (H_o and H_e), averaged number of alleles (N_a) และ effective number of alleles (N_e) โดยใช้โปรแกรม POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) และค่า allelic richness (R) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 1.2 (Goudet, 1995)

6.4 ผลการศึกษาและวิจารณ์

6.4.1 ปูผ้า

6.4.1.1 ผลการวิเคราะห์ AMOVA

ตารางที่ 6-1 ผลการวิเคราะห์ AMOVA 3 ระดับ ในปูผ้า

ระดับการวิเคราะห์	Variance components	F-statistics	ค่า p
Among groups (ระหว่างขอบเขตพื้นที่ / regions ที่ต่างกัน)	Va 0.03181	F_{CT} 0.04049	0.00000
Among populations within groups (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละขอบเขตพื้นที่)	Vb -0.00102	F_{SC} -0.00136	0.74487
Within populations (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ภายในชนิดหรือประชากรใหญ่)	Vc 0.75479	F_{ST} 0.03919	0.00000

จากผลการวิเคราะห์ AMOVA ที่แสดงใน ตารางที่ 6-1 ระบุว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างปูผ้าในแต่ละขอบเขตพื้นที่ แต่มีความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ และระหว่างแหล่งตัวอย่างภายในชนิด จึงทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} ในทุกกลุ่มประชากร ซึ่งแสดงไว้ใน ตารางที่ 6-2

ค่า p ของ F_{ST} ในทุกกลุ่มประชากรที่แสดงใน ตารางที่ 6-2 ถ้าไม่นับประชากรจากชลบุรี และพิจารณาเฉพาะค่าที่ต่ำกว่า 0.02 จึงจะถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) ก็จะพบว่า กลุ่มประชากรที่ต่างกัน ได้แก่ ที่อยู่ต่างฝั่งกัน (อันดามัน และอำเภอไทย) ทั้งสิ้น ซึ่งก็สนับสนุนผลการวิเคราะห์ในบทที่ 5 ที่ระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูผ้าในฝั่งอันดามันและอำเภอไทย สำหรับประชากรชลบุรี ซึ่งเป็นประชากรเดียวที่แสดงผลต่างออกไป โดยไม่แสดงความแตกต่างจากประชากรฝั่งอันดามัน แต่กลับมีความแตกต่างกับบางประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยตนเอง โดยเฉพาะกับระยะของซึ่งอยู่ในกลุ่มหรือขอบเขตพื้นที่เดียวกัน ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ใน ตารางที่ 6-1 ได้ระบุว่าไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่ การที่ปรากฏผลเช่นนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างของประชากรชลบุรีที่ใช้วิเคราะห์ไม่เพียงพอ เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างในประชากรอื่น ๆ (ตารางที่ 6-3 แสดงจำนวนตัวอย่างจากชลบุรี 15 ตัวอย่าง ขณะที่ประชากรอื่นอยู่ระหว่าง 22 – 38 ตัวอย่าง)

ตารางที่ 6-2 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปูม้า

	เพชรบุรี	ตราด	ชลบุรี	ระยอง	ประจวบ	ชุมพร	สุราษฎร์	ระโนด	สงขลา	ปัตตานี	นราธิวาส	ระนอง	กระบี่	สตูล
เพชรบุรี	-													
ตราด	0.51351	-												
ชลบุรี	0.28829	0.04505	-											
ระยอง	0.23423	0.70270	0.01802	-										
ประจวบ	0.06306	0.20721	0.00901	0.02703	-									
ชุมพร	0.60360	0.14414	0.03604	0.02703	0.89189	-								
สุราษฎร์	0.82883	0.64865	0.05405	0.51351	0.93694	0.96396	-							
ระโนด	0.28829	0.07207	0.48649	0.06306	0.05405	0.09009	0.29730	-						
สงขลา	0.66667	0.69369	0.10811	0.56757	0.17117	0.91892	0.96396	0.66667	-					
ปัตตานี	0.49550	0.59459	0.04505	0.68468	0.18018	0.50450	0.97297	0.40541	0.58559	-				
นราธิวาส	0.07207	0.23423	0.08108	0.26126	0.45045	0.43243	0.61261	0.29730	0.90090	0.57658	-			
ระนอง	0.00000	0.0000	0.11712	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-		
กระบี่	0.01802	0.0000	0.24324	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.03604	0.00000	0.00000	0.00000	0.74775	-	
สตูล	0.00000	0.0000	0.02703	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.43243	0.37838	-

6.4.1.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม

ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมในปูม้าจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อโลเกส (Na) ค่าเฉลี่ยจำนวน effective alleles ต่อโลเกส (Ne) ค่าเฉลี่ย allelic richness (R) และค่าเฉลี่ย heterozygosity (Ho และ He) พร้อมทั้งจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ แสดงไว้ใน ตารางที่ 6-3

ตารางที่ 6-3 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (Na, Ne, R, Ho, He) และจำนวนตัวอย่าง ของปูม้าจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งหมด

แหล่งตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	Na	Ne	R	Ho	He
ตราด	30	15.2500	10.7528	10.7848	0.8482	0.8649
ระยอง	35	13.2500	9.2698	10.3180	0.8280	0.8579
ชลบุรี	15	11.2500	8.2743	11.2500	0.8636	0.8766
เพชรบุรี/สาคร/สงขลา	38	13.0000	9.0907	10.4090	0.8303	0.8579
ประจวบคีรีขันธ์	30	12.7500	7.3138	9.6122	0.7967	0.8376
ชุมพร	30	13.5000	8.3640	10.3270	0.8325	0.8619
สุราษฎร์ธานี	31	12.5000	7.4577	9.4545	0.7105	0.7389
อ.ระโนด (นคร/สงขลา)	23	12.2500	8.3854	9.8328	0.8139	0.8538
เมืองสงขลา	22	11.0000	7.4650	9.4955	0.8288	0.8442
ปัตตานี	33	14.7500	9.4032	10.1188	0.9026	0.8736
นราธิวาส	31	14.2500	9.2934	10.1260	0.8478	0.8709
ระนอง	28	11.7500	7.9207	11.1950	0.7830	0.7775
กระบี่/ภูเก็ต	30	10.7500	6.4766	10.7500	0.7933	0.7780
สตูล	25	9.2500	5.9504	8.7978	0.7857	0.7890

6.4.2 ปูทะเล

6.4.2.1 ผลการวิเคราะห์ AMOVA

ผลการวิเคราะห์ AMOVA 3 ระดับ ในปูทะเล 3 ชนิด คือ ปูดำ ปูขาว และปูม่วง แสดงโดย ตารางที่ 6-4, 6-5 และ 6-6 ตามลำดับ ส่วนในปูเขียว ไม่มีการวิเคราะห์ เนื่องจากมีเพียงประชากรเดียว

ตารางที่ 6-4 ผลการวิเคราะห์ AMOVA 3 ระดับ ในปูดำ

ระดับการวิเคราะห์	Variance components	F-statistics	ค่า p
Among groups (ระหว่างเขตพื้นที่ / regions ที่ต่างกัน)	Va 0.04010	F _{CT} 0.12707	0.00000
Among populations within groups (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละเขตพื้นที่)	Vb -0.00102	F _{SC} -0.00369	0.67449
Within populations (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ภายในชนิดหรือประชากรใหญ่)	Vc 0.27650	F _{ST} 0.12385	0.00000

ตารางที่ 6-5 ผลการวิเคราะห์ AMOVA 3 ระดับ ในปูขาว

ระดับการวิเคราะห์	Variance components	F-statistics	ค่า p
Among groups (ระหว่างเขตพื้นที่ / regions ที่ต่างกัน)	Va 0.02138	F _{CT} 0.06162	0.04203
Among populations within groups (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละขอบเขตพื้นที่)	Vb -0.00947	F _{SC} 0.02908	0.11046
Within populations (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ภายในชนิดหรือประชากรใหญ่)	Vc 0.31612	F _{ST} 0.08891	0.00000

ตารางที่ 6-6 ผลการวิเคราะห์ AMOVA 3 ระดับ ในปูม่วง

ระดับการวิเคราะห์	Variance components	F-statistics	ค่า p
Among groups (ระหว่างเขตพื้นที่ / regions ที่ต่างกัน)	Va 0.05656	F _{CT} 0.06848	0.16814
Among populations within groups (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละขอบเขตพื้นที่)	Vb -0.01955	F _{SC} -0.02541	0.56109
Within populations (ระหว่างประชากรย่อย / แหล่งตัวอย่าง ภายในชนิดหรือประชากรใหญ่)	Vc 0.78893	F _{ST} 0.04481	0.04497

ตารางที่ 6-4 ระบุว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างปูดำในแต่ละขอบเขตพื้นที่ แต่มีความแตกต่างระหว่างเขตพื้นที่ และระหว่างแหล่งตัวอย่างภายในชนิด จึงทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรของปูดำ ซึ่งแสดงไว้ใน ตารางที่ 6-7

ตารางที่ 6-5 ระบุว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างปูขาวในแต่ละขอบเขตพื้นที่ รวมทั้งไม่มีความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ด้วย ถ้าพิจารณาค่า p ที่ต่ำกว่า 0.02 จึงถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) แต่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างภายในชนิด จึงทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรของปูขาว ซึ่งแสดงไว้ใน ตารางที่ 6-8

ตารางที่ 6-6 ระบุว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างปูม่วงในแต่ละขอบเขตพื้นที่ ไม่มีความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ที่ต่างกัน รวมทั้งไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างภายในชนิดด้วย ถ้าพิจารณาค่า p ที่ต่ำกว่า 0.02 จึงถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม ได้วิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรของปูม่วง ซึ่งแสดงไว้ใน ตารางที่ 6-9

ตารางที่ 6-7 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปูดำ

	ตราด	ระยอง	เพชรบุรี	ประจวบ	ชุมพร	สุราษฎร์	ระโนด	สงขลา	ปัตตานี	นราธิวาส	ระนอง	กระบี่	สตูล	พม่า
ตราด	-													
ระยอง	0.73874	-												
เพชรบุรี	0.81081	0.69369	-											
ประจวบ	0.70270	0.24324	0.47748	-										
ชุมพร	0.32432	0.15315	0.07207	0.99099	-									
สุราษฎร์	0.72973	0.33333	0.23423	0.51351	0.99099	-								
ระโนด	0.09910	0.15315	0.02703	0.05405	0.00000	0.02703	-							
สงขลา	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.03604	-						
ปัตตานี	0.04505	0.26126	0.06306	0.12613	0.01802	0.04505	0.61261	0.91892	-					
นราธิวาส	0.03604	0.02703	0.02802	0.02703	0.00000	0.00901	0.86486	0.02703	0.58559	-				
ระนอง	0.02703	0.10811	0.09009	0.06306	0.00000	0.00901	0.36036	0.05405	0.68468	0.36036	-			
กระบี่	0.11712	0.20721	0.15315	0.18919	0.00901	0.07207	0.76577	0.04505	0.52252	0.84685	0.70270	-		
สตูล	0.12613	0.27928	0.09009	0.10811	0.00000	0.04505	0.78378	0.02703	0.48649	0.64865	0.52252	0.82883	-	
พม่า	0.02802	0.04505	0.03604	0.07207	0.00000	0.00000	0.38739	0.10811	0.80180	0.45946	0.85586	0.58559	0.53153	-

ตารางที่ 6-8 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปูขาว

	ตราด	ระยอง	เพชรบุรี	ประจวบ	ชุมพร	สุราษฎร์	ระโนด	สงขลา	ปัตตานี	นราธิวาส	ระนอง
ตราด	-										
ระยอง	0.15315	-									
เพชรบุรี	0.38739	0.57658	-								
ประจวบ	0.00000	0.02703	0.12613	-							
ชุมพร	0.11712	0.99099	0.40541	0.09009	-						
สุราษฎร์	0.64865	0.11712	0.34234	0.02802	0.26126	-					
ระโนด	0.00901	0.11712	0.08108	0.87387	0.30631	0.03604	-				
สงขลา	0.00000	0.00000	0.00000	0.79279	0.00000	0.00000	0.24324	-			
ปัตตานี	0.00901	0.03604	0.08108	0.87387	0.15315	0.02802	0.89189	0.23423	-		
นราธิวาส	0.00000	0.00000	0.11712	0.76577	0.07207	0.00901	0.45946	0.50450	0.49550	-	
ระนอง	0.81081	0.31532	0.76577	0.00000	0.55856	0.86486	0.03604	0.00000	0.02703	0.00901	-

ตารางที่ 6-9 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปูม่วง

	ตราด	ระยอง	นราธิวาส	ระนอง
ตราด	-			
ระยอง	0.51351	-		
นราธิวาส	0.05405	0.03604	-	
ระนอง	0.45045	0.34234	0.26126	-

ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่แสดงใน ตารางที่ 6-7, 6-8 และ 6-9 เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าที่ต่ำกว่า 0.02 จึงจะถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (F_U , 1997; Excoffier *et al.*, 2006) พบว่า ประชากรส่วนใหญ่หรือทั้งหมดของแต่ละชนิดไม่แสดงความแตกต่างกัน ยกเว้นบางคู่ของประชากรปูดำที่มีสงขลา ชุมพร และสุราษฎร์ธานี และบางคู่ของประชากรปูขาวที่มีตราด สงขลา นราธิวาส และระนอง เข้าไปเกี่ยวข้อง ซึ่งก็อาจจะเนื่องมาจากเหตุผลเดียวกันที่ปูม่วงปูม้า นั่นคือ จำนวนตัวอย่างของประชากรดังกล่าวที่ใช้วิเคราะห์ไม่เพียงพอ เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างของประชากรอื่นในชนิดเดียวกัน (ตารางที่ 6-10 แสดงจำนวนตัวอย่างปูดำจากสงขลา ชุมพร และสุราษฎร์ธานี 8-11 ตัวอย่าง ขณะที่ประชากรอื่นอยู่ระหว่าง 18-40 ตัวอย่าง และตัวอย่างปูขาวจากตราด สงขลา ระนอง และนราธิวาส 9-11 ตัวอย่าง ขณะที่ประชากรอื่นอยู่ระหว่าง 20-28 ตัวอย่าง)

6.4.2.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม

ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมในปูทะเลจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลิลต่อโลเกส (Ne) ค่าเฉลี่ยจำนวน effective alleles ต่อโลเกส (Ne) ค่าเฉลี่ย allelic richness (R) และค่าเฉลี่ย heterozygosity (Ho และ He) พร้อมทั้งจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ แสดงไว้ใน ตารางที่ 6-10

ตารางที่ 6-10 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (Na, Ne, R, Ho, He) และจำนวนตัวอย่าง ของปูทะเลแต่ละชนิดจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งหมด

ชนิด	แหล่งตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	Na	Ne	R	Ho	He
ปูดำ	ตราด	20	4.0000	2.5119	2.6920	0.5833	0.5403
	ระยอง	18	3.5000	2.3009	2.4287	0.4946	0.4740
	เพชรบุรี/ตราด/สงขลา	22	4.6667	2.5852	2.7498	0.5421	0.5150
	ประจวบคีรีขันธ์	18	2.1667	2.0219	2.0953	0.3333	0.3333
	ชุมพร	10	3.1667	2.1405	2.2448	0.4556	0.4398
	สุราษฎร์ธานี	11	3.3333	2.1768	2.3928	0.4167	0.4233
	อ.จะโนด (นครฯ/สงขลา)	18	2.8333	1.9484	2.2290	0.4510	0.4196
	เมืองสงขลา	8	2.6667	2.0183	2.1493	0.3393	0.3929
	ปัตตานี	16	2.6667	2.0879	2.6667	0.5556	0.5333
	นราธิวาส	18	3.3333	2.2589	2.4123	0.5048	0.4843
	ระนอง	40	4.0000	2.3939	3.4753	0.4603	0.4505
	กระบี่/ภูเก็ต	20	3.6667	2.5135	3.6667	0.4878	0.4618
ปูม่วง	สตูล	18	3.6667	2.3303	3.4223	0.4572	0.4440
	พม่า	20	4.0000	2.6980	3.6567	0.4923	0.4773

ชนิด	แหล่งตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	Na	Ne	R	Ho	He
ปูขาว	ตราด	11	4.3333	2.7114	4.3333	0.5589	0.5222
	ระยอง	20	5.1667	3.5019	4.2745	0.5988	0.5827
	เพชรบุรี/สาคู/สงคราม	28	4.5000	3.2468	4.3205	0.5894	0.5578
	ประจวบคีรีขันธ์	24	5.0000	3.4647	4.4325	0.6082	0.5806
	ชุมพร	22	4.8333	3.6018	4.2145	0.6163	0.5945
	สุราษฎร์ธานี	29	3.8333	2.9611	3.6267	0.4981	0.5405
	อ.ระโนด (นครฯ/สงขลา)	20	4.6667	3.0269	4.0480	0.4992	0.5618
	เมืองสงขลา	9	4.3333	2.8033	3.8233	0.5447	0.5197
	ปัตตานี	20	5.0000	3.2380	4.0305	0.5605	0.5746
	นราธิวาส	10	4.1667	3.0802	4.0458	0.5532	0.5708
	ระนอง	9	2.6667	1.5992	2.6667	0.2666	0.2569
ปูม่วง	ตราด	10	3.5000	2.7566	3.2172	0.5475	0.6019
	ระยอง	15	3.1667	2.7434	2.8488	0.6884	0.6838
	นราธิวาส	10	3.0000	2.2927	2.9167	0.5500	0.4870
	ระนอง	9	2.5000	2.3111	2.5000	0.5667	0.5208
ปูเขียว	ระนอง	7	3.3333	2.5653	3.3333	0.5844	0.5344

6.5 วิเคราะห์สรุปในภาพรวมของบทนี้

6.5.1 การวิเคราะห์ความแตกต่าง

(1) ผลการวิเคราะห์ AMOVA จากการวิเคราะห์ สนับสนุนผลในบทที่ 5 คือ ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในขอบเขตพื้นที่เดียวกัน ซึ่งเป็นการยืนยันความถูกต้องของการรวมตัวอย่างจากแหล่งในกลุ่มเดียวกันแล้ววิเคราะห์ใหม่

(2) การตรวจสอบค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรของแต่ละชนิดในกรณีที่เราพบผลจากการวิเคราะห์ AMOVA ว่ามีความแตกต่างในบางระดับ (levels) ของการวิเคราะห์ ปรากฏว่าทั้งหมดเกี่ยวข้องกับจำนวนตัวอย่างจากบางแหล่งที่ไม่เพียงพอ และเนื่องจากการวิเคราะห์ในระดับกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในขอบเขตพื้นที่เดียวกันแต่ระบุแล้วว่าไม่มีความแตกต่าง ดังนั้นการรวมตัวอย่างในกลุ่มเดียวกันเข้าด้วยกันแล้ววิเคราะห์ใหม่ดังกล่าวข้างต้น จะสามารถทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ในภาพกว้างออกไปชัดเจนและน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น ดังผลการวิเคราะห์ในหัวข้อ 5.4.5 ของบทที่ 5

6.5.2 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม

นอกจากค่า Ne และ R ที่วิเคราะห์เพิ่มขึ้นในบทนี้ ค่า Ho และ He ของปูม้าที่แสดงไว้ใน ตารางที่ 6-3 และของปูทะเลที่แสดงใน ตารางที่ 6-10 จัดว่าใกล้เคียงกับที่วิเคราะห์ไปแล้วในบทที่ 5 อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ในบทนี้ไม่ได้แสดงผลการทดสอบสมมติฐานระดับ-ไวน์เบิร์ก ด้วยเหตุผลคือเป็นตัวอย่างชุดเดียวกันที่วิเคราะห์ไปแล้วในบทที่ 5 และให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกัน

6.5.3 ความชุกชุม หรือหายาก ของปุ๋ยทะเลแต่ละชนิด

จากตารางที่ 6-10 ซึ่งแสดงแหล่งที่สามารถเก็บตัวอย่างได้ของปุ๋ยทะเลแต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จึงสามารถสรุปความชุกชุมของแต่ละชนิดจากแหล่งที่พบ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวนแหล่งทั้งหมดภายในประเทศ 29 แหล่ง (ไม่รวมพม่า) ที่ใช้ในการศึกษา ดังนี้

ปุ๋ยดำเก็บตัวอย่างได้ 13 แหล่ง จากทั้งหมด 29 แหล่ง จึงมีความชุกชุมคิดเป็นประมาณ 45% ($13/29 \times 100$) ของชนิดปุ๋ยทะเลทั้งหมด

ปุ๋ยขาวเก็บตัวอย่างได้ 11 แหล่ง จากทั้งหมด 29 แหล่ง จึงมีความชุกชุมคิดเป็นประมาณ 38% ($11/29 \times 100$) ของชนิดปุ๋ยทะเลทั้งหมด

ปุ๋ยม่วงเก็บตัวอย่างได้ 4 แหล่ง จากทั้งหมด 29 แหล่ง จึงมีความชุกชุมคิดเป็นประมาณ 14% ($4/29 \times 100$) ของชนิดปุ๋ยทะเลทั้งหมด

ปุ๋ยเขียวเก็บตัวอย่างได้ 1 แหล่ง จากทั้งหมด 29 แหล่ง จึงมีความชุกชุมคิดเป็นประมาณ 3% ($1/29 \times 100$) ของชนิดปุ๋ยทะเลทั้งหมด

ดังนั้น จึงสรุปว่าปุ๋ยเขียวเป็นปุ๋ยทะเลที่หายากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งพบในการศึกษาครั้งนี้เพียงแหล่งเดียว คือที่ จ.ระนอง รองลงมาคือปุ๋ยม่วง ซึ่งพบ 4 แหล่ง ได้แก่ ระนอง ระยอง ตรัง และนครศรีธรรมราช ส่วนปุ๋ยดำเป็นชนิดที่มีความชุกชุมที่สุด โดยเฉพาะในฝั่งอันดามัน สำหรับปุ๋ยขาวถึงแม้จะมีความชุกชุมรองลงมาจากปุ๋ยดำ แต่การศึกษาครั้งนี้ก็สามารถรวบรวมตัวอย่างในฝั่งอันดามันได้จาก จ.ระนอง เพียงแหล่งเดียวเท่านั้น

6.5.4 ความแตกต่างระหว่างประชากรภายในชนิด

(1) ปุ๋ยดำ

จากผลที่ได้ในบทนี้ สนับสนุนผลที่ได้ในบทที่ 5 คือ ปุ๋ยดำมีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร โดยแยกออกเป็น 2 ผัง คือ ประชากรฝั่งอ่าวไทย และประชากรฝั่งอันดามัน โดยที่ยังไม่ปรากฏ (ชัดเจน) ว่ามีความแตกต่างระหว่างประชากรภายในฝั่งเดียวกัน

(2) ปุ๋ยทะเล

จากผลการศึกษาทั้งในบทนี้ และบทที่ 5 สามารถสรุป (โดยไม่นับปุ๋ยเขียวซึ่งพบเพียงแหล่งเดียว) ได้ว่า ยังไม่ปรากฏผลอย่างชัดเจนที่จะสามารถระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรภายในชนิดของปุ๋ยทะเล ไม่ว่าจะเป็นปุ๋ยม่วง ปุ๋ยขาว หรือปุ๋ยดำก็ตาม หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ การศึกษาครั้งนี้ไม่ระบุว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในปุ๋ยทะเลชนิดเดียวกัน

บทที่ 7

สรุปผลโดยรวม

7.1 การพัฒนา เตรียม และ/หรือ ทดสอบเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ในปูม้าและปูทะเล

7.1.1 ปูม้า

- (1) การพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ในปูม้า พบโคโลนีที่มีชีนดีเอ็นเอแรกในหลอดยัดจำนวน 96 โคโลนี ทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลำดับไมโครแซทเทลไลท์โดยวิธี colony hybridization ใต้ 48 โคโลนี คิดเป็น 50% ลำดับไมโครแซทเทลไลท์ส่วนใหญ่ของจีโนมปูม้ามีจำนวน repeats ของ AG และ TG จำนวน 26 – 34 repeats
- (2) การวิเคราะห์ลำดับเบสปูม้า พบว่าลำดับไมโครแซทเทลไลท์ที่ได้เป็นแบบ dinucleotide ตามโปรแกรมที่ใช้ โดยลำดับไมโครแซทเทลไลท์ที่สอดคล้องกับโปรแกรม (AG)_n จำนวน 32 ลำดับ (66.7%) และโปรแกรม (TG)_n จำนวน 16 ลำดับ (33.3%) สรุปคือ จีโนมปูม้าในการศึกษานี้มีลำดับไมโครแซทเทลไลท์ชนิด (AG)_n มากกว่า (TG)_n 2 เท่า
- (3) เป็นลำดับไมโครแซทเทลไลท์ที่สอดคล้องกับโปรแกรม (AG)_n จำนวน 32 ลำดับ (66.7%) และโปรแกรม (TG)_n จำนวน 16 ลำดับ (33.3%) สรุปคือ จีโนมปูม้าในการศึกษานี้มีลำดับไมโครแซทเทลไลท์ชนิด (AG)_n มากกว่า (TG)_n 2 เท่า โดยโปรแกรมปูม้ามีขนาด 19 – 26 base
- (5) การทดสอบเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปูม้า พบว่าโปรแกรมที่สามารถหาสภาวะเหมาะสมและตรวจสอบยืนยันได้ในการทำพีซีอาร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างปูม้า ได้แก่ โปรแกรมปูม้าจำนวน 10 โปรแกรม คือ DOFBS3, 4, 19, 23, 25, 26, 27, 28, 29 และ 30 และโปรแกรมปูทะเล 1 โปรแกรม คือ DOFMC8 รวมเป็น 11 โปรแกรม
- (6) การทดสอบในปูม้า ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากธรรมชาติทั้งในฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน จากประชากรต่างๆ จำนวน 6 แห่ง ได้แก่ จ.ตราด จ.เพชรบุรี จ.นครศรีธรรมราช จ.ระนอง จ.กระบี่ และ จ.สตูล พบว่า ไมโครแซทเทลไลท์ดังกล่าวกระจายอยู่ในช่วง 160-430 คู่เบส

7.1.2 ปูทะเล

- (1) การทดสอบเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปูทะเล พบว่าโปรแกรมที่สามารถหาสภาวะเหมาะสมและตรวจสอบยืนยันได้ในการทำพีซีอาร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างปูทะเลได้ทั้งหมด 9 โปรแกรม คือ DOFMC1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12 และ 13
- (2) การทดสอบในปูทะเลชนิดต่างๆ ได้แก่ ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง ซึ่งเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติทั้งในฝั่งอ่าวไทย (ตะวันออก, ตอนบน, ตอนกลาง และตอนล่าง) และฝั่งอันดามัน รวมทั้งปูดำจากพม่า พบว่า ไมโครแซทเทลไลท์ดังกล่าวกระจายอยู่ในช่วง 110-280 คู่เบส

7.2 การแยก/ระบุชนิด ปูม้า ปูทะเล โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์

- (1) สามารถจำแนกชนิดปูออกได้เป็น ปูม้า (*Portunus pelagicus*) 1 ชนิดที่มีชื่อเรียกทั่วไปว่า blue swimming crab และปูทะเล หรือ mud crabs 4 ชนิด คือ ปูดำ (*Scylla olivacea*), ปูขาว (*S. paramamosain*), ปูเขียว (*S. serrata*) และปูม่วง (*S. tranquebarica*) โดยสามารถใช้ได้ทั้งลักษณะเด่นภายนอก (morphology) และเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (allozyme markers) ในการระบุ/จำแนกชนิด

(2) ได้โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดปูทั้งหมด (ปูม้า ปูดำ ปูขาว ปูเขียว ปูม่วง) โดยใช้ข้อมูลจากเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สามารถแสดงความเกี่ยวข้องใกล้เคียงกันในระดับที่ได้สอดคล้องกับลักษณะเด่นภายนอกที่ใช้ในการจำแนกชนิด

7.3 ศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปูทะเลโดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์

7.3.1 ความชุกชุม หรือหายาก ของชนิดปูทะเล

ปูเขียวเป็นปูทะเลที่พบได้ยากมาก (rare species) ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลของไทย ตัวอย่างปูเขียวที่ใช้ในโครงการนี้ได้มาจากจังหวัดระนองเพียงแห่งเดียว ชนิดปูทะเลที่พบได้บ่อยลงมากคือปูม่วง ซึ่งรวบรวมตัวอย่างได้จากระนอง นครราชสีมา และตราด ส่วนปูดำและปูขาวสามารถรวบรวมตัวอย่างได้จากแหล่งต่าง ๆ ครอบคลุมทุกขอบเขตพื้นที่ของไทย โดยพบว่าปูดำเป็นปูทะเลชนิดที่มีชุกชุม (dominant species) ของชายฝั่งทะเลอันดามัน (ทั้งของไทยและพม่า) และมีการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งด้านนี้มากกว่าปูทะเลชนิดอื่น ๆ

7.3.2 ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่วิเคราะห์ได้ทั้งในบทที่ 5 และบทที่ 6 แสดงให้เห็นว่าการศึกษาวิเคราะห์ความหลากหลายแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์จะได้ค่าที่แสดงค่าความหลากหลายผันแปรในปริมาณสูง ตรงกับการศึกษาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรกึ่งกุลด้าของ พนม และคณะ (2548) ที่ใช้เทคนิคเดียวกันในการศึกษา และรายงานผลที่ได้ในปริมาณสูงเช่นเดียวกัน (NoA = 4.4 – 9.3, Ho = 0.549 – 0.750)

7.3.3 ความแตกต่างและโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

(1) ผลการศึกษาในประชากรปูม้า (บทที่ 5) ระบุชัดเจนว่า ปูม้าในฝั่งอันดามันมีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน แต่มีพันธุกรรมที่คล้ายกันในความแตกต่างจากประชากรในฝั่งอ่าวไทยเป็นอย่างมาก โดยปูม้าในฝั่งอันดามันแสดงความสัมพันธ์ที่แตกแยกออกไปจากกลุ่มประชากรในฝั่งอ่าวไทย ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันภายในกลุ่มมากกว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของลัทธิน้ำใน 2 ฝั่งทะเลของไทยนี้ ได้เคยมีการรายงานมาแล้วในกึ่งทะเลทั้งกึ่งกุลด้า (ศรีรัตน์, 2539) และกึ่งแซบวัย (ศรีรัตน์ และพนม, 2541) ซึ่งถึงแม้จะเป็นการศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ แต่ก็มีผลการศึกษาที่สอดคล้องและสนับสนุนผลการศึกษาในครั้งนี้

(2) ผลการศึกษาในประชากรปูทะเล (บทที่ 5) ได้แสดงให้เห็นว่าปูทะเล 4 ชนิด (ดำ ขาว ม่วง และเขียว) มีนัยสำคัญในความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดเป็นอย่างมาก โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกันแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มชนิด แต่ในแต่ละชนิดยังไม่แสดงความแตกต่างระหว่างประชากร ทั้งในระหว่างประชากรต่างฝั่ง (อันดามัน และอ่าวไทย) และในระหว่างประชากรฝั่งเดียวกัน (อ่าวไทย)

ถึงแม้ว่าการศึกษาดังนี้จะเห็นพ้องกับการศึกษาของ คุณกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ (รายงานเสนอ สภา. ฉบับสมบูรณ์, ติดต่อด่วนตัว) ในการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ให้กับปู 4 ชนิด ตาม Keenan *et al.* (1998) ซึ่งอาจไม่ตรงกับชื่อที่เคยมีการศึกษาและรายงานไว้ในประเทศไทย (อนันต์, 2542: บรรจง และบุญรัตน์, 2545; Fuseya and Watanabe, 1996; Klinbunga *et al.*, 2000) โดยใช้หลักเกณฑ์การจำแนกชนิดตาม Estampador (1949) อย่างไรก็ตาม สิ่งหนึ่งที่สำคัญมากและทุกการศึกษาได้เห็นพ้องต้องกัน คือ ปูทะเลในประเทศไทยมีมากกว่า 1 ชนิด และไม่ต่ำกว่า 3 ชนิด อย่างแน่นอน ซึ่งแต่เดิมเข้าใจกันว่ามีเพียงชนิดที่ชื่อ *Scylla serrata* เท่านั้น

(3) ผลการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยค่า F_{ST} ของ (Wright, 1978) หงในปูม้า และปูทะเล (บทที่ 5) ทำให้ทราบว่า ค่าดังกล่าวสามารถระบุชั้น (class) ของความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้พบว่า ค่า F_{ST} ในระดับปานกลาง ($0.05 - 0.15$) (Wright, 1978) เป็นระดับที่ระบุความแตกต่างระหว่างประชากร (inter-populations) ในปูม้า ($F_{ST} = 0.102 - 0.149$) ส่วนค่า F_{ST} ในระดับสูง ($0.15 - 0.25$) (Wright, 1978) ก็พบว่าสามารถระบุความแตกต่างในชั้นสูงขึ้นไป คือ ความแตกต่างระหว่างชนิด (inter-species) ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นในความแตกต่างระหว่างชนิดของปูทะเล ($F_{ST} = 0.154 - 0.159$)

(4) ผลการศึกษาโดยค่า F_{ST} ค่า p จากการวิเคราะห์ contingency chi-square และโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (บทที่ 5) ระบุว่าปูดำจากพม่าและปูดำในฝั่งอินโดจีนนั้นไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน และเนื่องจากประชากรปูดำของไทยทั้งหมดที่ศึกษาในครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน ดังนั้น จึงแสดงว่าประชากรปูดำจากพม่าและในขอบเขตพื้นที่ชายฝั่งของไทยทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน

7.4 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี AMOVA และอื่น ๆ ในบทที่ 6

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี AMOVA และอื่น ๆ เพิ่มเติมจากการวิเคราะห์ในบทที่ 5 ปรากฏผลโดยรวมที่สนับสนุนและส่งเสริมผลการวิเคราะห์ของบทที่ 5

เอกสารอ้างอิง

- กรุณา สัตยมาศ และ สุชาติ ยังพริพย์. 2532. การเลี้ยงปูม้าโดยใช้พื้นที่และที่กำบังชนิดต่างๆ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1 กลุ่มพัฒนาแหล่งประมง ศูนย์พัฒนาประมงทะเลฝั่งอันดามัน กองประมงทะเล กรมประมง. 18 หน้า.
- กองเศรษฐกิจการประมง. 2541. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2540. ฝ่ายสถิติและสารสนเทศ กองเศรษฐกิจการประมง กรมประมง.
- กาญจนา จิพันธ์พัฒนา และ อนุกร ประดิษฐ์สรพ์. 2548. การจำแนกชนิดและการประเมินสภาพทรัพยากรปูทะเลในบริเวณคลองหวาง จังหวัดระนอง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ชุดโครงการปู สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) 108 หน้า.
- จรัสชาติา การณสุด และ พนม กระจำงพจน์ สอดสุข. 2542. ลักษณะและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปลาในวงศ์ปลาสดาทูปบในประเทศไทย. วารสารการประมง 52(6): 565-578.
- จรวย สุขแสงจันทร์. 2543. การจำแนกชนิดของหอยนางรมบริเวณสถานีวิจัยทรัพยากรชายฝั่งระนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 103 หน้า.
- ชูชาติ ชัยรัตน์. 2531. การศึกษาเกี่ยวกับทะเล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2531 ฝ่ายแผนงานและติดตามผล กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง. 44 หน้า.
- บรรจง เทียนสังข์ศิริ และ บุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2545. ปูทะเล ชีววิทยา การอนุรักษทรัพยากร และการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์แบบยั่งยืน. เอกสารเผยแพร่เครือข่ายวิจัยและพัฒนา “อุตสาหกรรมพืชและสัตว์น้ำ” สกว. ชุดที่ 3, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 264 หน้า.
- พนม กระจำงพจน์ สอดสุข. 2537. ข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับตรวจสอบปลาในกลุ่มปลานิล 4 ชนิดโดยใช้วิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส. วารสารการประมง 47(6): 525-539.
- พนม กระจำงพจน์ สอดสุข, ศรีรัตน์ สอดสุข และ เฉลิมชัย สุวรรณรักษ์. 2543. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาในกลุ่มสลาด-กรายของไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 26/2543. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 23 หน้า.
- พนม กระจำงพจน์ สอดสุข, ศรีรัตน์ สอดสุข, สว่าง ลีสง่า และ กฤษณพันธ์ โกเมนปารินทร์. 2546. ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างปลากตเหลือง 2 ชนิดโดยใช้ข้อมูลอัลโลไซม์. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการกรมประมงประจำปี 2546 ระหว่างวันที่ 7-9 กรกฎาคม 2546.
- พนม กระจำงพจน์ สอดสุข, สว่าง ลีสง่า, ศรีรัตน์ สอดสุข, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และ กฤษณพันธ์ โกเมนปารินทร์. 2544. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากตเหลืองในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 4/2544 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง และในรายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2544 กรมประมง วันที่ 19-21 กันยายน 2544.
- พนม กระจำงพจน์ สอดสุข, สุภาวรา อุไรวรรณ และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2548. วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย ในกระบวนการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์กุลดำ. การสัมมนาวิชาการกรมประมง 12-13 กรกฎาคม 2548.
- วัฒนาลัย ปานบ้านกรัด. 2536. การวัดปริมาณและคุณภาพของกรดนิวคลีอิก ใน: วัฒนาลัย ปานบ้านกรัด และสรวง อุตมวรวัฒน์ (บรรณาธิการ). เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม. สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 9.1-9.5.
- วุฒิ คุปตะวาทีน. 2543. การเพาะและอนุบาลลูกปูม้าเพื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อเป็นการเพิ่มทรัพยากรสัตว์น้ำ. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 1/2543 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งระนอง กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 36 หน้า.
- วิสุทธิ ใบไม้. 2540. พันธุศาสตร์กับควาหลากหลายทางชีวภาพ, หน้า 13-18. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ครั้งที่ 10 เรื่อง พันธุศาสตร์กับการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมไทย วันที่ 19-21 มีนาคม 2540. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ร่วมกับ สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย.

- ศรีรัตน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างและโครงสร้างทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 19 หน้า.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระ้างพจน์ สอดสุข. 2541. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วยจาก 3 แหล่งในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 17/2541 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 45 หน้า.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระ้างพจน์ สอดสุข. 2542. ความหลากหลายและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งก้ามกรามจาก 3 แหล่งของประเทศไทย โดยวิธีอัลโลไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิส. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 2(1): 26-39.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระ้างพจน์ สอดสุข. 2548. การพัฒนาเครื่องมือหมายพันธุกรรมไม่โครแซทเทลไลต์ในปูทะเล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2548. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง
- สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง. Molecular Marker Technology. หน่วยปฏิบัติการ DNA TEC, ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, กำแพงแสน, นครปฐม. 22 หน้า. (ฉบับโรงเนียย)
- สุนทร ต้นติกุล. 2527. ชีววิทยาการประมงของปูม้าในอ่าวไทย. เอกสารเผยแพร่วิชาการฉบับที่ 1/2527 ฝ่ายสัตว์น้ำอื่นๆ กองประมงทะเล กรมประมง. 62 หน้า.
- อนวัช บุญภักดี. 2542. ลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมของปูทะเลสกุล *Scylla* ในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทอันดับที่ 2 สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 199 หน้า.
- อมรัตน์ ทิพย์ถาวรกุล. 2539. การตรวจสอบลักษณะไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอในจีโนมของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมี, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 123 หน้า.
- Allendorf, F.W. and N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stocks, pp. 141-159. In N. Ryman and F. Utter (eds.). Population Genetics and Fisheries Management. University of Washington Press. Seattle.
- Beckmann, J.S. and Solter, M. 1990. Toward a unified approach to genetic mapping of eukaryotes based on sequence tagged microsatellite sites. Bio/Technology 8, 930-932.
- Estampador, D.P. 1949. Studies on *Scylla* (Crustacea: Portunidae). I: revision of the genus. Philip. J. Sci. 78: 95-108.
- Estoup, A., M. Solignac and J.M. Cornuet. 1993. Characterization of (GT)_n and (CT)_n microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. Nucleic Acid Res. 21(6): 1427-1431.
- Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2006. Arlequin ver 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Institute of Zoology, Univ. of Berne, Bern, Switzerland.
- Farris, J.S. 1970. Methods for computing Wagner trees. Syst. Zool. 34: 21-33.
- Farris, J.S. 1972. Estimating phylogenetic trees from distance matrices. Am. Natur. 106: 645-668.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Felsenstein, J. 1990. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.3. Seattle: University of Washington.
- Fu, Y.X. 1997. New statistical test of neutrality for DNA samples from a population. Genetics. 43: 550-557.
- Fuseya, R. and S. Watanabe. 1996. Genetic variability in the mud crab genus *Scylla* (Brachyura: Portunidae). Fisheries Science 62(5): 705-709.
- Gopurenko, D., J.M. Hughes and C.P. Keenan. 1999. Mitochondrial DNA evidence for rapid colonisation of the Indo-West Pacific by the mudcrab *Scylla serrata*. Marine Biology - Abstract 134(2): 227-233.
- Goudet, J. 1995. Fstat version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. Journal of Heredity. 86(6): 485-486.
- Hamilton, M.B., E.L. Pincus, A. DiFiore and R.C. Fleischer. 1999. Universal linker and ligation procedures for construction of genomic DNA libraries enriched for microsatellites. BioTechniques 27: 500-507.
- Harris, H. and D.A. Hopkinson. 1976. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics. Amsterdam: North-Holland.

- Kamonrat, W. 1996. Spatial genetic structure of Thai silver barb *Puntius gonionotus* (Bleeker) populations in Thailand: Doctor of Philosophy Thesis. Dalhousie Univ., Canada. 193p.
- Keenan, C.P., P.J.F. Davie and D.L. Mann. 1998. A revision of the genus *Scylla* De Haan, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae). *The Raffles Bulletin of Zoology* 46(1): 217-245.
- Klimbunga, S., A. Boonyapakdee and B. Pratoomchat. 2000. Genetic diversity and species-diagnostic markers of mud crabs (genus *Scylla*) in Eastern Thailand Determined by RAPD analysis. *Mar. Biotechnol.* 2: 180-187.
- Levinson, G. and G.A. Gutman. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4: 203-221.
- Litt, M. and J.A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388-396.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Overton, J.L., D.J. Macintosh and R.S. Thorpe. 1997. Multivariate analysis of the mud crab *Scylla serrata* (Brachyura: Portunidae) from four locations in Southeast Asia. *Marine Biology - Abstract* 128(1): 55-62.
- Park, L.K. and P. Moran. 1995. Developments in molecular genetic techniques in fisheries, pp. 1-28. In G.R. Carvalho and T.J. Pitcher (eds.), *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, London.
- Queller, D.C., J.E. Strassmann and C.R. Hughes. 1993. Microsatellites and kinship. *Tree* 8: 285-288.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstock and M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis: a Handbook for Animal Systematics and Populations studies. Academic Press Inc., California. 410 p.
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: a laboratory manual* 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA.
- Sangthong, P. and A. Jondeung. 2006. Classification of three crab morphs in the genus *Scylla* using morphometric analysis. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 40: 958-970.
- Shaklee, J.B., F.W. Allendorf, D.C. Moritz and G.S. Whit. 1990. Gene nomenclature of protein coding loci in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119: 2-15.
- Shaw, C.R. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes-compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4: 297-320.
- Siegel, S. 1956. *Nonparametric Statistics for the Behavioural Sciences*. McGraw-Hill Kogakusha, Tokyo. 312 p.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Sodsuk, P. and B.J. McAndrew. 1991. Molecular systematics of three tilapia genera *Tilapia*, *Sarotherodon* and *Oreochromis* using allozyme data. *J. Fish Biol.* 39 (Suppl A): 301-308.
- Sodsuk, P.K. 1993. Molecular genetics and systematics of tilapia cichlids using allozymes and morphological characters. PhD thesis, Univ. of Stirling, Scotland, UK. 269 p.
- Sodsuk, P.K. and B.J. McAndrew. 1995. Allozymes and genetic differentiation of tilapia cichlids. *Thai Fisheries Gazette* 48(3): 331-344.
- Sodsuk, P.K., B.J. McAndrew and G.F. Turner. 1995. Evolutionary relationships of the Lake Malawi *Oreochromis* species: evidence from allozymes. *J. Fish Biol.* 47: 321-333.
- Sodsuk, P.K. and S. Sodsuk. 2000. Genetic diversity of featherback fish in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 34: 227-239.

- Swofford, D.L. and G.J. Olsen. 1990. Phylogeny reconstruction, pp. 411-501. In D.M. Hillis and C. Moritz (eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Swofford, D.L. and R.B. Selander. 1989. BIOSYS-1: A Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetics and Biochemical Systematics. D.L. Swofford, Illinois Natural History Survey. 43 p.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Res.* 17: 6463–6471.
- Utter, F.M. 1991. Biochemical genetics and fisheries management: a historical perspective. *J. Fish. Biol.* 39 (Suppl. A): 1-20.
- Ward, R.D. and P.M. Grewe. 1995. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries, pp. 29-54. In G.R. Carvalho and T.J. Pitcher (eds.), *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, London.
- Weber, J.L. 1990. Informativeness of human (dC–dA)_n/(dG–dT)_n polymorphisms. *Genomic* 7: 524–530.
- Workman, P.L. and J.D. Niswander. 1970. Population studies on Southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am. J. Hum. Gen.* 22: 24-49.
- Wright, J.M. and Bentzen, P. 1994. Microsatellites: genetic markers for the future. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4, 384-388.
- Wright, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4, Variability within and among Natural Populations. Univ. Chicago Press, Chicago. 580 p.
- Wuthisuthimehthavee, S., P. Lumubol, A. Vanavichit and S. Tragoomrung. 2003. Development of microsatellite markers in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Aquaculture* 224: 39–50.
- Yeh, F.C., R. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. (Website: <http://www.ualberta.ca/~fyeht/>)

ภาคผนวก

1. การเผยแพร่ผลงานวิชาการภายใต้โครงการฯ

ฝ่ายประชาสัมพันธ์ การประมง: 2547. ข้อมูลพันธูกรรมปูม้าและปูทะเลในธรรมชาติของไ้ไทย เพื่อประสิทธิภาพและความมั่นคง ยั่งยืนในการบริหารการใช้ประโยชน์ และการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต. ข่าวการประมง เตือนพศกิกายน 2547. 2 หน้า.

พนม การจำงพจน สอดศุข (หัวหน้าโครงการ). 2547. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเล ของไ้ไทย (รายงานความก้าวหน้า). *ใน* งานประชุมวิชาการ : สำนักงานประมงสานงานเครือข่ายวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรม เกษตร พืชและสัตว์น้ำ สกว. วันที่ 16-17 ตุลาคม 2547 โรงแรมไดมอนด์ พลาซ่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี.

พนม การจำงพจน สอดศุข (หัวหน้าโครงการ). 2548. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเล ของไ้ไทย (รายงานความก้าวหน้า). จดหมายข่าวานาสัตว์น้ำ ปีที่ 8 ฉบับที่ 4 (เล่มที่ 28): หน้า 24-26.

พนม การจำงพจน สอดศุข (หัวหน้าโครงการ). 2549. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเล ของไ้ไทย (รายงานความก้าวหน้า). *ใน* งานประชุมวิชาการ : “อุตสาหกรรม พืชและสัตว์น้ำไ้ไทย” ประจำปี 2548 วันที่ 18-20 มกราคม 2549 โรงแรม ธรรมรินทร์ ธนา จังหวัดตรัง.

พนม การจำงพจน สอดศุข (หัวหน้าโครงการ). 2550. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเล ของไ้ไทย (สรุปรายงานฉบับสมบูรณ์). จดหมายข่าวานาสัตว์น้ำ ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 (เล่มที่ 37): หน้า 16-19.

พนม การจำงพจน สอดศุข, ศรีรัตน์ สอดศุข และ พลชาติ ผิวเณร. 2550. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมใน ประชากรปูม้าและปูทะเลของไ้ไทย. *ใน* การแสดงนิทรรศการภาคโปสเตอร์เนื่องในโอกาสและอาจารย์และนักศึกษวิทยาลัย ป๋องกันราชอาณจักรเจ้าเยยมขมอุยยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ วันที่ 21 มิถุนายน 2550.

พนม การจำงพจน สอดศุข, ศรีรัตน์ สอดศุข และ พลชาติ ผิวเณร. 2550. ลักษณะความแตกต่างและความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมระหว่างชนิดโดยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในปูทะเลและปูม้าของไ้ไทย. การประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2550 วันที่ 3-5 กรกฎาคม 2550 กรมประมง กรุงเทพฯ.

พนม การจำงพจน สอดศุข, ศรีรัตน์ สอดศุข และ พลชาติ ผิวเณร. 2550. ลักษณะความแตกต่างและความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมระหว่างชนิดโดยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในปูทะเลและปูม้าของไ้ไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2550 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 23 หน้า.

2. ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ดำเนินการมา และผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. พัฒนา/เตรียม/ทดสอบ MS DNA markers ในปู	1. พัฒนา/เตรียม/ทดสอบ MS markers	1.1 ปูม้า ได้ดำเนินการ 3 ขั้นตอนหลัก ดังนี้ - เก็บตัวอย่างและสกัดดีเอ็นเอ - พัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ - ทดสอบเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ และปรับสภาพพีซีอาร์ที่เหมาะสม 1.2. ปูทะเล ดำเนินการใน 2 ขั้นตอนหลัก คือ - นำไปพรเมอรัทที่มีอยู่แล้ว (ได้พัฒนาไว้ภายใต้โครงการอื่น) มาทดสอบในปูทะเลชนิดต่างๆ - ปรับสภาพพีซีอาร์ที่เหมาะสม	1. ได้ MS DNA markers และ primers สำหรับใช้วิเคราะห์ตัวอย่างปูม้า 11 คู่ primers (DOFBSC3, DOFBSC4, DOFBSC19, DOFBSC23, DOFBSC25, DOFBSC26, DOFBSC27, DOFBSC28, DOFBSC29, DOFBSC30, DOFMC8) และปูทะเล 9 คู่ primers (DOFMC1, DOFMC2, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC10, DOFMC12 และ DOFMC13) ซึ่งได้ดำเนินการต่อเนื่องมาจนกระทั่งระยะสุดท้ายของช่วงขยายเวลา จึงได้ผลงานดังกล่าว
2. ศึกษาการแยก/ระบุชนิดปูทะเล (Scylla spp.) ในน้ำน้ําไทยโดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรม allozyme และ/หรือ MS DNA markers	2. แยกชนิดปูทะเล	2.1 แยกชนิดปู ระหว่างปูม้า และปูทะเล และระหว่างชนิดปูทะเลด้วยกัน โดยมียุ้ขั้นตอนดำเนินงาน คือ - เก็บรวบรวมตัวอย่างปูม้า และปูทะเลจากหลากหลายแหล่งครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทั่วประเทศ - ศึกษาลักษณะภายนอกในบริเวณลำตั้ที่ที่สามารถแสดงความแตกต่างให้เห็นได้เมื่อปูทะเลแต่ละชนิดตามที Keenan <i>et al.</i> (1998) ได้ศึกษาไว้ - นำปูทะเลแต่ละชนิดจากหลากหลายแหล่งมาเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อจากส่วนขา นำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง (-70 °C)	2.1 สามารถแยกชนิดปู - ระหว่างปูม้าและปูทะเล และระหว่างชนิดปูทะเลด้วยกัน โดยใช้ได้ทั้งลักษณะเด่นภายนอก และ allozymes ในการแยกชนิด - ทราบชนิดปูทะเล 4 ชนิด (ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง) พร้อมชื่อวิทยาศาสตร์ที่ใช้ตาม Keenan <i>et al.</i> (1998) - ได้ดีเอ็นเอปูทะเลสำหรับแยกชนิดปูม้าปูทะเล (เมื่อแยกชนิดปูทะเลได้โดย allozymes จึงไม่จำเป็นต้องศึกษาการแยกโดย microsat เพิ่มอีก เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ยังยากกว่าและด้วยข้อจำกัดของระยะเวลาโครงการ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
		- วิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการโดยเทคนิคอัลโลไซม์ เพื่อหาความแตกต่างของแบนด์หรืออัลลีล (alleles) จากข้อมูลอัลโลไซม์ที่ปรากฏ 2.2 วิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปู่แต่ละชนิด โดยใช้ข้อมูลอัลโลไซม์	2.2 ได้โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนปุม้าและปู่ทะเลทั้งหมดจากข้อมูลอัลโลไซม์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สามารถแสดงความเกี่ยวข้องใกล้ชิดกันในระหว่างชนิดที่ได้สอดคล้องกับลักษณะเด่นภายนอกที่ Keenan <i>et al.</i> (1998) และการศึกษาครั้งนี้ใช้ในการจำแนกชนิด
3. ศึกษาข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งประกอบด้วย ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และลักษณะโครงสร้างทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปู่ทะเลโดยใช้ microsatellite DNA markers	3.1 ศึกษาปูม้าและปู่ทะเลในฝูงอันดามัน (ระนอง ภูเก็ต และสตูล) และปูดำจากพม่า โดยใช้ microsatellites	3.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน - เก็บรวบรวมตัวอย่างปูม้าและปู่ทะเลจากพื้นที่ จ. ระนอง ภูเก็ต/กระบี่ สตูล และปูดำจากพม่า - วิเคราะห์ตัวอย่างปูม้าและปู่ทะเลในห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนของการสกัด DNA ทำ PCR และ run denaturing polyacrylamide sequencing gel โดยใช้ MS primers จำนวน 4 คู่ (DOFBSC3, DOFBSC19 DOFBSC23 และ DOFMC8) ในปูม้า และ 3 คู่ (DOFMC1, DOFMC3 และ DOFMC8) ในปู่ทะเล - วิเคราะห์ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความผันแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรมและโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	3.1 ผลการศึกษาที่ได้ - ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปูม้าและปู่ทะเลในฝูงอันดามัน - ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่าปูม้า และปู่ทะเลทุกชนิดในฝูงอันดามัน (ระนอง กระบี่/ภูเก็ต และสตูล) มีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกันระหว่างประชากรภายในชนิด

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
3.2 ศึกษาปูม้าและปูทะเลในฝั่งอ่าวไทยตอนบนและตะวันออก (สมุทรสาคร/สมุทรสงคราม/เพชรบุรี ระยอง และตราด) โดยใช้ microsatellites	3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน - เก็บรวบรวมตัวอย่างปูม้าและปูทะเลจากพื้นที่ จ.สมุทรสาคร/สมุทรสงคราม/เพชรบุรี ชลบุรี ระยอง และตราด - วิเคราะห์ตัวอย่างปูม้าและปูทะเลในห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนของการสกัด DNA ทำ PCR และ run denaturing polyacrylamide sequencing gel โดยใช้ MS primers จำนวน 4 คู่ (DOFBS3, DOFBS23 DOFBS27, DOFMC8) ในปูม้า และ 6 คู่ (DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13) ในปูทะเล - วิเคราะห์ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	3.2 ผลการศึกษาที่ได้ - ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปูม้าและปูทะเลในฝั่งอ่าวไทยตอนบนและตะวันออก - ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่าปูม้า และปูทะเลทุกชนิดในฝั่งอ่าวไทยตอนบนและตะวันออก (สมุทรสาคร/สมุทรสงคราม/เพชรบุรี ชลบุรี ระยอง และตราด) มีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกันระหว่างประชากรภายในชนิด	
		3.3 ผลการศึกษาที่ได้ - ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปูม้าและปูทะเลในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง - ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่าปูม้า และปูทะเลในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ/อ.สิชล) มีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกันระหว่างประชากรภายในชนิด	
3.3 ศึกษาปูม้าและปูทะเลในฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง (ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี) โดยใช้ microsatellites	3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน - เก็บรวบรวมตัวอย่างปูม้าและปูทะเลจากพื้นที่ จ.ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี/อ.สิชล จ.นครศรีธรรมราช - วิเคราะห์ตัวอย่างปูม้าและปูทะเลในห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนของการสกัด DNA ทำ PCR และ run denaturing polyacrylamide sequencing gel โดยใช้ MS primers จำนวน 4 คู่ (DOFBS3, DOFBS23		

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
	3.4 ศึกษาปูน้ำและปูทะเลใน ฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง (นครศรีธรรมราช พัทลุง ปัตตานี และนราธิวาส) โดย ใช้ microsatellites	DOFBSC27, DOFMC8) ในปูน้ำ และ 6 คู่ (DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13) ในปูทะเล - วิเคราะห์ข้อมูลความผัน แปรและปริมาณความ แปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และโครงสร้างความสัมพันธ์ ทางพันธุกรรม 3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน - เก็บรวบรวมตัวอย่างปูน้ำ และปูทะเลจากพื้นที่ อะโนด จสงขลา ปัตตานี และ นราธิวาส - วิเคราะห์ตัวอย่างปูน้ำและ ปูทะเลในห้องปฏิบัติการ ตามขั้นตอนของการสกัด DNA ทำ PCR และ run denaturing polyacrylamide sequencing gel โดยใช้ MS primers จำนวน 4 คู่ (DOFBSC3, DOFBSC23 DOFBSC27, DOFMC8) ในปูน้ำ และ 6 คู่ (DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13) ในปูทะเล - วิเคราะห์ข้อมูลความผัน แปรและปริมาณความ แปรปรวนทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และโครงสร้างความสัมพันธ์ ทางพันธุกรรม	3.4 ผลการศึกษาที่ได้ - ข้อมูลความผันแปรและ ปริมาณความแปรปรวน ทางพันธุกรรมของ ประชากรปูน้ำและปูทะเลใน ฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง - ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่า ปูน้ำ และปูทะเลทุกชนิดใน ฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง (ระโนด สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) มีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกัน ระหว่างประชากรภายในชนิด
	3.5 ศึกษาบทบาทในประชากร ที่มีปัญหา หรือยังไม่แน่ ในผลการศึกษาที่ได้	3.5 ทำการศึกษาบทบาทใน ประชากรปูน้ำและปูทะเล ในฝั่งอ่าวไทยตอนบนและ ตะวันออก โดยดำเนินการ	3.5 ได้ผลการศึกษาวิเคราะห์ ปูน้ำและปูทะเลในฝั่งอ่าว ไทยตอนบนและตะวันออก ที่มีความชัดเจน และเพิ่ม

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
	3.6 วิเคราะห์ตัวอย่าง/เปรียบเทียบข้อมูลระหว่างแหล่งทั้งหมดของอำเภอไทย และฝั่งอำเภอไทยและอินทามัน	ในข้อ 3.2 ในมหัศจรรย์ (ตั้งแต่เก็บรวบรวมตัวอย่าง วิเคราะห์ตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล) 3.6 ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง/วิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลในภาพรวมโดย (1) ขั้นตอนประกอบด้วย - ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ สุ่มจากแหล่งที่ไม่แสดงความแตกต่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่รวมเข้าด้วยกัน แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของขอบเขตพื้นที่นั้นๆ ของบูแต่ละชนิด - วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ software เดิม และวิเคราะห์รวมทุกชนิดในบูทะเล (2) ขั้นตอนประกอบด้วย - อ่าน/รวบรวมข้อมูลดิบที่มีอยู่แล้วจากการวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการแล้วนำมาวิเคราะห์ข้อมูลใหม่ - วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี AMOVA รวมทั้งค่าทางพันธุกรรมอื่น ๆ ที่สำคัญโดยเปรียบเทียบ softwares ที่ใช้วิเคราะห์ และวิเคราะห์แยกชนิด	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ ความสนใจในผลที่ได้รับมากยิ่งขึ้น 3.6 ผลการศึกษาที่ได้ - ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมของบูม้า และบูทะเลแต่ละชนิดในแต่ละแหล่งเพิ่มจากเดิม - ได้ผลการศึกษา/วิเคราะห์ที่แสดงว่า บูม้ามีพันธุกรรมที่ต่างกันแยกเป็น 2 ฝั่งประชากร คืออำเภอไทย และอินทามัน - ส่วนบูทะเลไม่สามารถระบุความแตกต่างภายในชนิดทั้งในระหว่างประชากรฝั่งเดียวกัน หรือระหว่างประชากรต่างฝั่งกัน - ผลการวิเคราะห์ข้อมูลยังไม่สามารถระบุความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างประชากรภายในชนิดบูทะเล ถึงแม้จะทำการวิเคราะห์โดยใช้หลายวิธีการแล้วก็ตาม) 4. ผลการศึกษาที่ได้ - ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรบูม้าจากพม่า - ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่าบูม้าจากฝั่งพม่ามีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างจากบูม้าในฝั่งอินทามันของไทย
4. ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรบูดำ (Scylla sp.) ของไทยและของพม่า	4. วางแผนร่วมอยู่ในกิจกรรมข้อ 3.1	4. ดำเนินการร่วมอยู่ในกิจกรรมข้อ 3.1	

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
5. วัตถุประสงค์รวมทั้งหมด (ข้อ 1, 2, 3, และ 4)	5. วิเคราะห์สรุปผลรวม และ เขียนรายงานฉบับเต็ม	5.1 วิเคราะห์สรุปผลรวม และเขียนรายงานฉบับเต็ม 5.2 มีการเผยแพร่ผลงานใน รูปแบบผลงานวิชาการ ลักษณะต่างๆ ทั้งในช่วงที่ ยังอยู่ในระยะเวลาดำเนินการ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา ดำเนินการแล้ว ได้แก่ - การตีพิมพ์ผลงานในข่าว กรรมประมง และจดหมาย ข่าวนานาชาติ - การตีพิมพ์ผลงานเป็น เอกสารวิชาการ - การนำเสนอผลงานในการ ประชุมสัมมนาวิชาการ - การแสดงผลงานภาค โปสเตอร์	5.1 ได้ผลการวิจัยทั้งหมดใน รูปเล่มของรายงานวิจัย ฉบับเต็ม 5.2 มีผลงานวิจัยในโครงการ ถูกเผยแพร่ออกไป ได้แก่ - ผลงานลงตีพิมพ์ในข่าว กรรมประมง 1 ครั้ง - ผลงานลงตีพิมพ์ใน จดหมายข่าวนานาชาติ 2 ครั้ง - ผลงานได้รับการตีพิมพ์ เป็นเอกสารวิชาการ กรรมประมง 1 เรื่อง - ผลงานนำเสนอในการ ประชุมสัมมนาวิชาการ 3 ครั้ง (สกว. 2 ครั้ง และกรม ประมง 1 ครั้ง) - ผลงานนำเสนอในการ แสดงผลงานภาคโปสเตอร์ ณ อุทยานวิทยาศาสตร์ 1 ครั้ง

3. ข้อเสนอแนะจากผู้ประเมินโครงการที่มีอาจดำเนินการได้

ตามที่ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องเสนอแนะจากผู้ประเมินโครงการ ว่าควรจะมีการจัดเก็บดีเอ็นเอของปูม้าและปูทะเลที่ทำการศึกษาทั้งหมด รวมทั้งข้อมูลประวัติที่มี เพื่อเป็น DNA bank สำหรับการใช้ในงานในอนาคตนั้น

ในการนี้ ผู้วิจัยต้องขอเรียนว่า ณ เวลานั้น โครงการได้สิ้นสุดการดำเนินงานมาเป็นเวลาเกือบ 1 ปีแล้ว คงเป็นไปได้ที่จะจัดเก็บดีเอ็นเอของปูทั้งหมดที่ทำการศึกษา เนื่องจากดีเอ็นเอที่สกัดได้ในการศึกษาได้ใช้หมดไปนานแล้ว (เพราะดีเอ็นเอจากปู 1 ตัวอย่างมิได้ใช้วิเคราะห์เพียงครั้งเดียว) ส่วนตัวอย่าง (specimens) ปูทะเลในตู้แช่แข็งที่ยังพอมีเหลืออยู่บ้าง (เพราะถูกจัดเก็บไว้สำหรับการเก็บแช่กลับในกรณีเกิดความล้มเหลวในขั้นตอนวิเคราะห์ตัวอย่างเนื่องจากมีหลายชนิด) ก็ถูกเก็บแช่มาเป็นเวลานานมากแล้ว (บาง specimens จะมีอายุครบ 5 ปีในอีกไม่นานนี้) ซึ่งคุณภาพของตัวอย่างก็ต้องสูญเสียไปตามเวลา และคงจำเป็นต้องรีบกำจัดออกโดยเร็ว เนื่องจากปัจจุบันมีจำนวนตัวอย่างในตู้แช่แข็งมากเกินไป และต้องเก็บพื้นที่ในตู้แช่สำหรับงานอื่น ส่วนปูม้าไม่ได้เก็บ specimens ไว้ เพราะมีเพียงชนิดเดียวไม่สืบพันธุ์ และด้วยเหตุผลเดียวกันคือต้องการใช้พื้นที่ในตู้แช่