

### บทคัดย่อ

ปูทะเลตัวอย่างเก็บรวบรวมจาก 3 แหล่งคือ จังหวัดจันทบุรี-ตราด จังหวัดระนอง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 195 ตัว พบว่า ปูที่รวบรวมได้สามารถจำแนกตามลักษณะสีภายนอกได้เป็น 4 กลุ่มคือ ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และ ปูม่วง โดยปูดำและ ปูขาว เป็นปูที่สามารถพบได้จากทุกแหล่งเก็บตัวอย่าง ปูม่วงสามารถรวบรวมได้จาก 2 แหล่งเก็บตัวอย่าง คือ จันทบุรี-ตราด และระนอง ส่วนปูเขียวนั้นสามารถพบได้จากแหล่งเก็บตัวอย่างเดียว คือ จังหวัดระนอง เป็นปูที่หายากที่สุดในบรรดาปูตัวอย่างทั้ง 4 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบลักษณะภายนอกของปูทะเล 4 กลุ่ม พบว่า ไม่มีลักษณะเด่นใดของปูทะเลที่สามารถจำแนกปูทะเลทั้ง 4 กลุ่มออกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่จำเป็นต้องใช้ลักษณะมากกว่า 1 ลักษณะในการจำแนก โดยเฉพาะลักษณะลายร่างแห (polygonal pattern) บนขาว่ายน้ำและขาเดิน รูปร่างของหนามระหว่างตา และ สัณฐานด้านนอกของก้าม ซึ่งลักษณะเหล่านี้ สามารถใช้จำแนกกลุ่มปูได้อย่างแม่นยำ

การวิเคราะห์ความแตกต่างของลักษณะ morphometric โดยวิธี Canonical Variant Analysis (CVA) และ Mahalanobis' Distance ผลของ CVA แสดงให้เห็นว่าลักษณะ morphometric สามารถแบ่งปูออกเป็น 4 กลุ่มหลัก โดยแต่ละกลุ่มมีขอบเขตและแยกตัวออกจากปูกลุ่มอื่นๆอย่างชัดเจน ในขณะที่ Mahalanobis' Distance แสดงให้เห็นความแตกต่างของลักษณะ morphometric ภายในกลุ่ม (5.703 ถึง 15.447) ซึ่งต่ำกว่าความแตกต่างระหว่างกลุ่ม (25.722 ถึง 110.711) อย่างชัดเจน ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าปูแต่ละกลุ่มควรถูกจัดให้มีสถานะภาพเป็นชนิด (species)

ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วงที่รวบรวมจากแหล่งปู 3 จังหวัดจำนวน 74 ตัว และปูม้า จำนวน 10 ตัวเพื่อใช้เป็น outgroup ถูกนำมาสะกัด total DNA เพื่อใช้สำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วนยีน *Cytb* และยีน *16S rRNA* ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอโดยอาศัยวิธี PCR (polymerase chain reaction) ผลคือได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,700 bp ภายหลังการทำบริสุทธิ์แล้ว PCR product ถูกส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่หน่วยให้บริการ เมื่อกำหนดตำแหน่งแล้ว พบว่ายีน *Cytb* มีขนาด 1,135 นิวคลีโอไทด์และ ยีน *16S rRNA* มีขนาด 1,446 นิวคลีโอไทด์ ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ nucleotide divergence และ phylogenetic relationship (ML, MP และ NJ Tree) ซึ่ง nucleotide divergence จากการใช้ยีน *Cytb* ภายในชนิดมีค่า ตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.008 และระหว่างชนิดมีค่า ตั้งแต่ 0.125 ถึง 0.187 แต่จากการใช้ยีน *16S rRNA* nucleotide divergence ภายในชนิดมีค่าตั้งแต่ 0.002 ถึง 0.089 และระหว่างชนิดมีค่าตั้งแต่ 0.068 ถึง 0.251 ผลทั้งส่วนของ nucleotide divergence และ phylogenetic relationship ยืนยันตรงกันว่า ปูดำ ปูขาว ปูเขียว และปูม่วง มีสถานะที่เป็นชนิด หรือ reproductively isolated species สำหรับชื่อวิทยาศาสตร์ของปูทั้ง 4 ชนิด ได้วิเคราะห์วิจารณ์ไว้แล้วและได้เสนอให้เรียกชื่อปูดำ (*Scylla serrat*), ปูขาว (*S. paramamosain*), ปูเขียว (*S. oceanica*) และ ปูม่วง (*S. tranquebarica*)

## Abstract

A total of 195 mud or mangrove crabs were collected from 3 Chantaburi and Trat, Ranong and Surat Thani Provinces. According to their color body, they were classified into 4 different morphs, black, white, green and violet. The black and white morphs found in all locations, but the violet found only in Chantaburi-Trat and Ranong Provinces. The green ones could be found only in Ranong Province and was very rare morph compared to the others. Comparative studies of all morphological characters revealed that they have no unique character for their specific morph identification. One has to combine different characters; polygonal pattern on walking legs and paddle, shape of frontal spines and colour spot on outer cheliped, for classifying each morph.

Morphometric studies were performed by using Canonical Variant Analysis (CVA) and Mahalanobis' Distance. The CVA results revealed 4 groups of mud crabs. Each crab morph was combined into its center and separated clearly from the others. The Mahalanobis' Distance showed less values (5.703 to 15.447) within each morph than those (25.722 to 110.711) between morphs. All results revealed that each morph should be classified as a distinct species.

Muscle tissues in walking legs of 74 crabs were used to isolate total DNA for using as template in PCR reaction. The *Cytb* and *16S rRNA* fragments in mitochondrial DNA were amplified by polymerase chain reaction. PCR products obtained from both reactions were about 1,700 bp in length. The PCR products were purified and sent to servicing unit (MACROGEN Inc., Korea) for DNA sequencing. After determination of start and end points of the genes (*Cytb* and *16S rRNA*), it was found that *Cytb* and *16S rRNA* genes are 1,135 and 1,446 bp in length, respectively. Nucleotide sequences of both genes of mud crabs and swimming (*Portunus pelagicus*) as outgroup were performed nucleotide divergence and phylogenetic relationship (ML, MP and NJTrees) analyses. From *Cytb* gene, nucleotide divergence within morphs ranged 0.001 to 0.008 and between morphs ranged from 0.125 to 0.187. The divergence obtained from *16S rRNA* ranging from 0.002 to 0.089 for within morphs and 0.068 to 0.251 for between morphs. Both nucleotide divergence and phylogenetic relationship confirmed consistently that each crab morph should be a reproductively isolated species. The scientific name of each crab morph has been also discussed. This research project would like to name the black morph as *Scylla serrata*, the green as *S. oceanica*, the violet as *S. tranquebarica* and the white ones as *S. paramamosain*.