

สถานภาพปัจจุบันของงานวิจัยพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำ ในประเทศไทย

บทคัดย่อ

จากรายงานการวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำในประเทศไทยที่รวบรวมได้สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเด็นหลัก กล่าวคือ (1) การพัฒนาและการศึกษาสถานะหลากหลายของเครื่องหมายพันธุกรรม ซึ่งมีการพัฒนา DNA probe, microsatellite primer เพื่อศึกษา microsatellite DNA ในกุ้งกุลาดำ และปลาดุกอุย, mtDNA probe ในกุ้งก้ามกราม, specific primer เพื่อการจำแนกชนิดกุ้งแชบ๊วย และหอยตะไกรกรมขาวและ sex-specific fragment ในเต่าตะนุ (2) มีการนำเทคนิคระดับโมเลกุล ได้แก่ เอนไซม์อิลีคโตรโฟเรซิส mtDNA-RFLP, RAPD-PCR และ microsatellite DNA มาใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของ กุ้งกุลาดำอย่างละเอียด กุ้งแชบ๊วย กุ้งก้ามกราม หอยนางรมใหญ่ หอยตะไกรกรมดำ หมึกหอม ปูนา ปูทะเล ปลาช่อน ปลาช่อนนาข้าว ปลาช่อน ปลาดุกอุย ปลาดุกค้ำ ปลาสดกบนา และเต่าตะนุ ซึ่งข้อมูลที่ได้เพียงพอที่จะนำไปใช้เพื่อโครงการอนุรักษ์พันธุ์และการจัดการทางการประมง และ (3) การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ซึ่งเป็นการนำข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรไปใช้ในการจำแนกชนิดหอยขม ปลากระเบนน้ำจืด จำแนกสายพันธุ์ปลานิล และการจัดกลุ่มปลาในวงศ์ปลาสด รายงานการวิจัยนี้ได้วิเคราะห์สมรรถนะของสถาบันการวิจัยต่างๆ และจัดทำข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำในอนาคต

Present Status of Research Activities on Population Genetics of Aquatic Animals in Thailand

Abstracts

All current research articles concerning population genetics of aquatic animals in Thailand could be classified into 3 categories: (1) development and investigation of polymorphism of genetic makers, in which DNA probe, microsatellite primers for study of microsatellite DNA in giant tiger shrimp, and in Thai walking catfish, mtDNA probe in giant freshwater prawn, specific primers for species identification of banana prawn and of oysters, and sex specific fragment in green turtles were developed, (2) by using molecular techniques such as enzyme electrophoresis, mtDNA-RFLP, RAPD-PCR and microsatellite DNA for studying population genetics of giant tiger prawn, banana shrimp, giant freshwater prawn, white and black scar oysters, squid, freshwater crabs, mud crabs, *Oryzias* species, snakehead fish, Thai walking catfish, Asian catfish, snakeskin gourami, *Rana* frog, and green turtles from which are there enough data for conservation and fishery management programs and (3) phylogenetic relationship studies from which population genetic data were used for species identification of *Filopaludina*, of Asian stingrays, of *Tilapia* stocks, and for taxonomic groups of Notopterid fish. This report analysed the capacities of different research institutes and gave recommendation for future research in population genetics of aquatic animals.

บทนำ

สัตว์น้ำในประเทศไทยมีจำนวนมากมาย จำนวนที่แท้จริงมีอยู่เท่าไรไม่มีใครทราบได้ แต่ Suvati (1967) พยายามรวบรวมสัตว์น้ำที่สามารถจัดอันดับ วงศ์ และ สกุลได้ เมื่อนับจำนวนทั้งหมดโดยไม่รวมสัตว์น้ำประเภทสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะมีอยู่จำนวน 2,169 ชนิด ซึ่งจำนวนที่ได้นี้คงต้องน้อยกว่าที่เป็นจริงในปัจจุบันนี้ ทั้งนี้เพราะทุกๆ ปี จะมีการค้นพบสัตว์น้ำชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีใครจำแนกไว้ก่อน และรวมทั้งการจัดระเบียบใหม่ด้านอนุกรมวิธาน ซึ่งอาจส่งผลให้มีการจำแนกกลุ่มที่เคยจำแนกไว้แล้วเป็นกลุ่มย่อย หรือเป็นชนิดใหม่ ตัวอย่างกรณีของปลาในประเทศไทย Suvati (1967) ได้จำแนกไว้เพียง 1,059 ชนิด แต่ถ้าดูรายงานจำนวนชนิดปลาในประเทศไทยขณะนี้ถึง 1,741 ชนิด(species) (Monkolprasit *et al.*, 1997) เป็นต้น และถ้าเราสอบเทียบกับเอกสารใหม่ที่มีอย่างกระจัดกระจายทั้งหมดแล้ว ก็คงจะได้จำนวนเพิ่มเติมอีกมากมาย

ในปัจจุบัน ปลาน้ำจืดที่เคยมีอย่างมากมายได้ลดลงทั้งชนิด ปริมาณ และขนาดเป็นอย่างมาก เนื่องจากสาเหตุหลายประการ เช่น การจับใช้ประโยชน์อย่างมากมาย ทำให้ปลาเจริญเติบโตไม่ทัน วิธีการทำการประมง การพัฒนาทางอุตสาหกรรมและการขยายตัวของแหล่งชุมชน จึงมีการปล่อยของเสียลงสู่แหล่งที่อยู่อาศัยของปลา ส่งผลให้ปลาอยู่อาศัยไม่ได้ การสร้างถนนและเขื่อนต่างๆ กลายเป็นสิ่งขวางกั้นการเดินทางไปหาอาหารและการแพร่ขยายพันธุ์ได้ดังเช่นแต่ก่อน ดังนั้นทำให้กรมประมงต้องริบดำเนินการผลิตพันธุ์ปลาชนิดต่างๆ เพื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำต่างๆ ทั่วประเทศปีละหลายล้านตัว นอกจากนั้นยังส่งเสริมให้ประชาชนดำเนินการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดอีกหลายๆ ชนิด (กองส่งเสริมการประมง, 2533) ส่วนทางด้านประมงทะเลก็ประสบปัญหาปริมาณสัตว์น้ำและพื้นที่ทำการประมงลดลงอันเนื่องจากการขยายเขตเศรษฐกิจจำเพาะ 200 ไมล์ทะเล และรวมทั้งปริมาณเรือจับปลาที่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ทำให้ปริมาณการจับเกินความสามารถการผลิตของท้องทะเล ดังนั้นในการเพิ่มผลผลิตจะต้องเปลี่ยนจากการจับจากท้องทะเลเป็นการเพาะเลี้ยงทั้งในน้ำกร่อยและน้ำเค็ม (กองประมงทะเล, 2542)

สัตว์น้ำที่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศมีจำนวนหลายชนิด ตั้งแต่ กุ้ง หอย ปู ปลา ถึง สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์น้ำที่นำมาเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่จะได้จากการจับจากธรรมชาติหรืออาจนำพันธุ์ (จำนวนน้อย) มาจากต่างประเทศ (พิชญ. 2541 ; ยุพิน. 2541; ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ 2542) เมื่อเลี้ยงไปได้ชั่วระยะเวลาหนึ่งก็มักจะมีปัญหาเรื่องพันธุ์ ทั้งนี้คงเนื่องมาจากพ่อแม่พันธุ์ในแต่ละชั่วมักจะได้จากสัตว์น้ำในรุ่นที่ผ่านมา และการผสมพันธุ์ไม่ได้นำเอาหลักวิชาพันธุศาสตร์มาใช้เลย ถึงแม้ว่าหลักการวิชาพันธุศาสตร์ได้ถูกนำไปใช้ในการผสมพันธุ์ปลาสัตว์ที่ประสบผลสำเร็จมาแล้วอย่างกว้างขวาง (Allendorf *et.al.* 1987)ก็ตาม Allendorf *et. al.* (1987) จึงได้เสนอแนะให้นำหลักวิชาพันธุศาสตร์ประชากร (population genetics) มาใช้ในการจัดการทางประมง (fishery management) เพื่อให้การทำประมงได้รับผลผลิตสูงสุด และในขณะเดียวกันก็สามารถรักษาแหล่งพันธุกรรม (genetic resources) ของสัตว์น้ำให้คงอยู่ตลอดไป

เทคนิคและวิธีการทางพันธุศาสตร์ประชากรสามารถนำไปใช้ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ในประชากรของสัตว์น้ำ (Chakraborty and Leimar, 1987) ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญสำหรับการจัดการแหล่งพันธุกรรมในประชากรของสัตว์น้ำ ทั้งนี้เพื่อการจัดการทางประมงในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและโครงการเพาะพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อปล่อยกลับสู่สภาพธรรมชาติ (Allendorf and Ryman, 1987) นอกจากนี้การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำจะช่วยให้เราเข้าถึงทรัพยากรพันธุกรรม (genetic resources) ของสัตว์ อันจะเป็นประโยชน์โดยตรงในการจะนำมาเพาะเลี้ยงและการอนุรักษ์พันธุ์ในอนาคต

การศึกษาวิจัยนี้มีจุดประสงค์ เพื่อรวบรวมผลงานวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรของสัตว์น้ำในประเทศไทย อดีตถึงปัจจุบัน โดยสืบค้นจากเอกสารวิชาการต่างๆ จำแนกตามประเภทสัตว์น้ำ จัดทำข้อสรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะแนวทางสนับสนุนการวิจัยในอนาคต

เทคนิคระดับโมเลกุลในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำ

ในการศึกษาความผันแปรของยีนที่ผ่านมามีส่วนใหญ่มักจะใช้ลักษณะภายนอก วงจรชีวิตและพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิตกลายพันธุ์ (mutant) แต่ข้อมูลที่ได้ยังมีข้อจำกัดต่าง ๆ มากมาย จึงได้มีการนำเอาเทคนิคระดับโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรและการจำแนกชนิด ซึ่งเทคนิคต่างๆ ที่นำมาใช้ในปัจจุบันนั้น มีทั้งเทคนิคที่ใช้ในระดับโปรตีนและดีเอ็นเอ ซึ่งแต่ละเทคนิคมีทั้งข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกัน เช่น การศึกษา protein polymorphism อาจทำให้เราไม่สามารถตรวจการกลายพันธุ์ชนิด synonymous mutation ได้ ในขณะที่การศึกษาในระดับดีเอ็นเอสามารถตรวจสอบได้และให้ข้อมูลที่ละเอียดกว่า ดังนั้นในขณะนี้จึงมีการวิเคราะห์ DNA polymorphism มาตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์เพิ่มมากขึ้น ยิ่งภายหลังการค้นพบเทคนิคทาง PCR (polymerase chain reaction) แล้วทำให้การวิเคราะห์ประชากรทำได้ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น

Protein electrophoresis

ตั้งแต่มีการนำเอาเทคนิค starch gel electrophoresis มาใช้ช่วงทศวรรษ 1960 จึงได้มีการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variability) การไหลของยีน (gene flow) และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic relationship) ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ อย่างขนานใหญ่ ข้อมูลที่ได้จากการทำ protein electrophoresis มี 2 ประเภท คือ ไอโซไซม์ (isozymes) ซึ่งหมายถึงเอนไซม์ทุกรูปแบบที่ทำหน้าที่เหมือนกัน (เร่งปฏิกิริยาเดียวกัน) อันเป็นผลผลิตของยีนต่างโลกัส หรือต่างอัลลีล แต่โลกัสเดียวกัน และข้อมูลจากอัลโลไซม์ซึ่งหมายถึงกลุ่มของไอโซไซม์ซึ่งเป็นตัวแปรของโพลีเปปไทด์ที่เป็นตัวแทนของอัลลีลที่แตกต่างกันในโลกัสเดียวกัน (Murphy *et al.* 1990) เพราะว่าเอนไซม์ทุกชนิดควบคุมด้วยยีน ดังนั้นจึงเป็นโอกาสให้เราสามารถอนุมานข้อมูลทางพันธุกรรมของแต่ละตัวจากรูปแบบของไอโซไซม์

ที่ปรากฏ ทำให้สามารถบอกได้ว่ายีนไทป์ของแต่ละบุคคลเป็น homozygous หรือ heterozygous และผลสุดท้ายเราสามารถประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรมของแต่ละประชากรได้

ความแปรปรวนของไอโซไซม์จะถูกนำไปประมาณการระดับสภาวะหลากหลายรูปแบบ (level of polymorphism) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) ของประชากร ค่าประมาณการที่สังเกตได้จะต้องนำไปเปรียบเทียบกับประชากรสมมุติตาม Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ (phenotypic variation) ที่ไม่สอดคล้องกับ HWE นั้น อาจเนื่องมาจากปัจจัยอย่างอื่นที่ไม่ใช่ปัจจัยพันธุกรรม หรือข้อสมมติฐานของ HWE ไม่เกิดขึ้นในประชากรที่ศึกษา (Murphy *et al.* 1990) ข้อมูลจากไอโซไซม์ที่ได้จะนำไปประมาณการค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F_{st} = gene differentiation between population) ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic relationship) (Hoelzel and Dover, 1991) เป็นต้น แต่เทคนิคที่กล่าวแล้วอาจไม่เหมาะสมสำหรับสิ่งมีชีวิตบางชนิด การศึกษาทดลองที่ใช้ เทคนิคไอโซไซม์แล้ว ไม่พบความแปรปรวน จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นที่ละเอียดกว่า Murphy *et al.* (1990) ยังได้สรุปว่าเทคนิคไอโซไซม์อาจมีข้อจำกัดในเรื่องจำนวนโลกัสที่ศึกษา จำนวนอัลลีลต่อโลกัส และจำนวนสัตว์ (พืช) ที่ต้องใช้เพื่อการศึกษาประชากรหรือความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

Restriction fragment length polymorphism (RFLP) of mitochondrial DNA (mtDNA)

MtDNA ของสัตว์จะเป็นดีเอ็นเอนอกโครโมโซม (extrachromosomal DNA) มีลักษณะเป็นวงกลมมีขนาดประมาณ 15-20 kb (Boore, 1999) mitochondrial genome จะประกอบด้วยยีนกับรหัสสำหรับโปรตีน 13 ยีน rRNA 2 ยีน และ tRNA 22 ยีน โมเลกุล mtDNA มีประโยชน์และเหมาะสมในการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร (Bermingham, 1990) ด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้คือ (1) โมเลกุล mtDNA วิวัฒนาการได้รวดเร็ว คาดว่าประมาณ 1% ต่อล้านปี และง่ายที่จะตรวจสอบความแตกต่างระหว่าง mtDNA haplotypes ต่างๆ ในชนิดเดียวกัน (2) mtDNA ถ่ายทอดผ่านเฉพาะทางแม่เท่านั้น และไม่มีการจัดระเบียบใหม่ (non-recombination) (3) ในแต่ละตัวจะมีเพียงยีนไทป์เดียว ดังนั้นในสัตว์ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็น homoplasmic และ (4) ในสัตว์ทุกชนิดที่มีไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และไมโทคอนเดรียเหล่านี้จะทำหน้าที่และคุณลักษณะเชิงโมเลกุลเหมือนกันในสัตว์ทุกชนิด ดังนั้น mtDNA จึงเป็นระบบทางพันธุกรรมที่เหมาะสมสำหรับศึกษาประชากรย่อย (population subdivision)

จากการเปรียบเทียบลำดับและการทำแผนที่ด้วย restriction endonuclease Ferris and Berg (1987) ได้สรุปไว้ว่า การกลายพันธุ์ใน mtDNA สูงสุดจะอยู่ในส่วนของ D-loop และต่ำสุดในส่วนของ RNA genes แต่อย่างไรก็ตาม การกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นตลอดทั้งจีโนม การกลายพันธุ์ส่วนใหญ่จะเป็น base substitution ส่วน addition/deletion จะมีอยู่บ้างแต่น้อย (Avisé *et al.* 1987) เมื่อย่อย mtDNA ด้วย restriction endonuclease จะได้ restriction fragment profile และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงในเชิงวิวัฒนาการ จะให้ผล restriction fragment ที่แตกต่างกัน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะอธิบายออกมาในลักษณะของ restriction

fragment length polymorphism (RFLP) ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปรวมเป็น mtDNA haplotype ของแต่ละตัวจาก haplotype เหล่านี้จึงนำไปคำนวณหาค่าประมาณการ ที่แสดงถึงความแปรปรวนของประชากร เช่น haplotypic diversity, nucleotide sequence divergence และ geographic differences

Polymerase chain reaction (PCR)

เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณ specific DNA sequence ในหลอดทดลอง ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร ซึ่งอาจใช้ในการผลิต DNA probe หรือ เพื่อการวิเคราะห์ลำดับความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์ในประชากร เทคนิคโดยสรุปก็คือ original DNA sequence จะถูกเพิ่มปริมาณโดยอาศัย synthetic primer (ซึ่งมีความยาวประมาณ 15-35 นิวคลีโอไทด์ และสามารถจับคู่กับบริเวณส่วนปลายของ original DNA) บัฟเฟอร์ นิวคลีโอไทด์อิสระ (dNTP) และเอนไซม์ *Taq* polymerase (Hoelzel and Green, 1992) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะเป็นวงจร โดย วงจรแรก ดีเอ็นเอ จะได้รับความร้อน แยกออกเป็นสายเดี่ยว แล้วปล่อยให้เย็นลงโดยมี primer จำนวนมากอยู่ด้วย เอนไซม์โพลีเมอเรสจะต่อไพรเมอร์ให้ยาวออกไป จึงได้ดีเอ็นเอสายคู่ขึ้นมาใหม่ วงจรต่อไปก็ดำเนินการเหมือนวงจรแรก แต่ปริมาณดีเอ็นเอจะเพิ่มขึ้น ปกติแล้ว PCR จะดำเนินการไปหลายๆ วงจร

PCR จะช่วยให้เราสามารถเพิ่มปริมาณ specific DNA ให้ได้จำนวนมาก โดยไม่ต้องอาศัยวิธีโคลน(cloning) ผลผลิตดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ (amplified PCR-product) อาจนำไปย่อยด้วย restriction endonuclease เพื่อวิเคราะห์ RFLP ของดีเอ็นเอที่สนใจ ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากร นอกจากนั้นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับ PCR เพื่อการวิเคราะห์พันธุกรรมของประชากรก็มี RAPD (random amplified polymorphic DNA) -PCR การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ microsatellite DNA PCR-RFLP และการนำ PCR product ไปวิเคราะห์หาลำดับ (sequencing)

RAPD-PCR จะใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นๆ (ปกติจะยาวประมาณ 10-12 bp) เพิ่มปริมาณส่วนดีเอ็นเอโดยสุ่ม โดยคาดว่า 10-mer primer จะจับคู่กับลำดับดีเอ็นเอโดยสุ่มทุกๆ 1 ล้านคู่เบส (Hoelzel and Green, 1992) ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จะมีจำนวนน้อย (5-10 ท่อน) และมีขนาดแตกต่างกัน (น้อยกว่า 3-4 kb) ดังนั้นถ้า intervening DNA มีความแปรปรวนในเรื่องจำนวนของ tandem repeat ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ก็จะแปรปรวนในเรื่องความยาว (Hoelzel and Green, 1992) การดำเนินการทดลองด้วย RAPD-PCR มีข้อดีที่ทำได้ง่าย โดยไม่จำเป็นต้องมีข้อมูลเรื่องดีเอ็นเอในจีโนมนั้นมาก่อน

Microsatellite DNA คือ short repetitive segment ของ simple sequence ที่มีความยาวแตกต่างกัน (Hoelzel and Green, 1992) ขนาดของ repeat unit จะมีขนาดตั้งแต่ 1-6 bp ที่มีลำดับแตกต่างกัน คาดว่าใน human genome จะมีอยู่ประมาณ 35,000-100,000 ชุด (Veerapraditsin, 1997) เมื่อวิเคราะห์ลำดับส่วนปลายของ microsatellite DNA แล้วเราก็จะสามารถสังเคราะห์ไพรเมอร์เพื่อการเพิ่มปริมาณ microsatellite loci โดยวิธี PCR และแยกขนาดด้วย polyacrylamide gel เพื่อวิเคราะห์สภาพหลากหลายรูปแบบ(polymorphism)

การวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ (DNA sequencing)

นิวคลีโอไทด์เป็นหน่วยพื้นฐานของข้อมูลพันธุกรรมที่มีอยู่อย่างมากมายในสิ่งมีชีวิต ลำดับของนิวคลีโอไทด์ใน orthologous sequence ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวหรือต่างชนิดนั้น เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกันจะบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงที่มีผลต่อการวิวัฒนาการได้ ทำให้เราสามารถนำมาสร้าง (1) molecular phylogenies ซึ่งแสดงถึงการวิวัฒนาการที่แตกต่างกัน (2) เพื่อติดตามสายสัมพันธ์ระหว่างเครือญาติ ภายในชนิดเดียวกัน และ (3) เพื่อนำมาสร้าง species phylogenies ซึ่งเป็นเพื่อการประเมินถึงรูปแบบและขบวนการวิวัฒนาการ (macroevolutionary patterns และ processes)

การวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอมีขั้นตอนขั้นพื้นฐาน 4 ขั้นตอนที่จะต้องดำเนินการคือ (1) การวิเคราะห์ลำดับเป้าหมาย (target sequence) ซึ่งจะต้องเป็นลำดับที่มีความแตกต่างหรือความแปรปรวนที่มีอยู่มากพอ (2) จำนวนชุด (copy) ของลำดับเป้าหมายจะต้องมีอยู่อย่างเพียงพอ (3) การวิเคราะห์ลำดับจากดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอบริสุทธิ์ และ (4) ต้องทำการเปรียบเทียบ orthologous sequence สำหรับ วิธีการวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอ อาจใช้วิธีการใดก็ได้ดังต่อไปนี้ คือ (1) Maxam and Gilbert sequencing (2) Sanger dideoxy sequencing และ (3) Automated sequencing โดยมีคุณลักษณะสำคัญคือตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ (nucleotide position)

ข้อมูลลำดับดีเอ็นเอที่ได้จากตัวอย่างต่างๆ จะถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกัน เพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ sequence similarity, genetic distance หรือการวิเคราะห์แบบ Maximum parsimony ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะบ่งบอกถึง intraspecific และ interspecific diversity

สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนของลำดับนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอ (DNA sequencing) จะเป็นเทคนิคที่ให้ประโยชน์สูงสุดในการคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) เพื่อการจัดความคลุมเครือของ taxon ต่างๆ (Hoelzel and Green, 1992) สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยอาศัยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จะให้ข้อมูลที่ดีที่สุด แต่ถึงอย่างไรก็ตามขณะนี้การเปรียบเทียบประชากรโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นเรื่องยาก เพราะการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสัตว์จำนวนมากจะต้องใช้เงินและเวลามาก แต่อาจทำได้โดยวิเคราะห์หาลำดับของ PCR Product (Hoelzel and Green, 1992)

แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการใช้เทคนิคที่กล่าวแล้ว คือ RAPD-PCR, microsatellite DNA polymorphism หรือ DNA sequencing เมื่อนำไปอธิบายความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรจะต้องประยุกต์เอา statistical models ที่สอดคล้องกับเทคนิคนั้นๆ มาใช้เพื่อการอธิบาย (กรุณาอ่านเพิ่มเติม Lynch, 1991; Lynch and Milligan, 1994; Takezaki and Nei, 1996 และ Weir, 1996)

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของสัตว์น้ำในประเทศไทย

การศึกษาและการพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic markers)

ในการศึกษาวิจัยพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำ ขั้นตอนสำคัญคือ การศึกษานำร่อง เพื่อการคัดเลือกเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic markers) และเพื่อตรวจสอบว่าเครื่องหมายพันธุกรรมที่คัดเลือกอยู่ในสถานะหลายรูปแบบ (polymorphic) ที่สูงพอในการศึกษาประชากร (Baverstock and Moritz, 1990) จากการศึกษารายงานการวิจัยพบว่า มีการศึกษาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สามารถนำไปใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมได้แล้ว ในกึ่งกุลาคำ กุ้งก้ามกราม กุ้งแชบ๊วย หอยนางรม ปลาตุ๊กตุ้ย และในเต่าตะนุ ซึ่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ศึกษาแล้วมีดังต่อไปนี้

สัตว์น้ำประเภทกุ้ง

กึ่งกุลาคำ: Klinbunga *et.al.* (1996) ได้ใช้ VNTR core sequence (M13) เป็นไพรเมอร์ในการพัฒนา probe จาก RAPD-PCR ในกึ่งกุลาคำ (*Penaeus monodon*) และสามารถพัฒนา DNA probe ได้ 2 ชนิดคือ 150- bp และ 390- bp probe ซึ่ง 390- bp probe จะให้ multilocus fingerprint ในขณะที่ 150 bp probe จะให้เพียง monomorphic pattern ของกุ้งที่จับจากสถานที่ต่างๆ ซึ่ง probe ชนิดนี้น่าจะนำมาใช้เพื่อการจำแนกชนิดของสัตว์ได้

Klinbunga *et.al.* (1998) ได้ศึกษา rDNA polymorphism ในกึ่งกุลาคำ พบว่าสถานะหลายรูปแบบ (polymorphism) ในดีเอ็นเอของกึ่งกุลาคำนั้นสามารถตรวจสอบได้ทั้งภายในกุ้งแต่ละตัวและระหว่างกุ้งต่างตัว ซึ่งสภาพหลายรูปแบบน่าจะอยู่ในส่วนของ intergenic spacer (IGS)

Tassanakajon *et.al.* (1998b) ได้จำแนกและศึกษาคุณลักษณะของ microsatellite DNA ในจีโนมของกึ่งกุลาคำ พบว่า microsatellite sequence ในกึ่งกุลาคำจะเป็นชนิด (GT)_n มากกว่าชนิด (CT)_n ซึ่งทั้ง 2 ชนิดจะจัดอยู่ในประเภท imperfect repeats จากการศึกษานี้จึงได้ออกแบบไพรเมอร์ เพื่อศึกษา microsatellite DNA 2 โลกัส คือ CUPmo 18 และ CUPmo 386 ซึ่งเมื่อตรวจสอบอัลลีลในแต่ละโลกัส พบว่ามีสภาพหลายรูปแบบอย่างสูง (high polymorphic) จึงน่าจะนำไปใช้เพื่อศึกษาโครงสร้างประชากร และความเกี่ยวข้องทางเครือญาติ (parental determination) ในกึ่งกุลาคำ Pongsomboon *et.al.* (2000) ได้ศึกษาคุณลักษณะของ tri- และ tetranucleotide microsatellite ในกึ่งกุลาคำ พบว่าในจีโนมของกึ่งกุลาคำ จะมี (GATA)_n repeat อยู่ในอัตราส่วนที่สูงที่สุด ส่วนลำดับรองลงมาคือ (GAA)_n repeat เมื่อวิเคราะห์ลำดับของ (GAA)_n และ (GATA)_n microsatellites พบว่าเป็นประเภท perfect repeats โดยมีหน่วยซ้ำ (repeat) อยู่ตั้งแต่ 5-45 และ 4-16 หน่วยซ้ำ ตามลำดับ คณะผู้วิจัยกลุ่มนี้ได้ออกแบบไพรเมอร์เพื่อศึกษา microsatellite loci ดังกล่าวแล้วไว้ 6 ชนิด คือ CSCUPmo 1-4, CSCUPmo 6-7 และเมื่อนำไปใช้ศึกษา microsatellite loci พบว่ามีสภาพหลายรูปแบบสูง (highly polymorphic) โดยมีจำนวนอัลลีลตั้งแต่ 21 ถึง 29 อัลลีล และมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีตั้งแต่ 16-89 เปอร์เซ็นต์

สุวิทย์ และคณะ (2543) ได้ศึกษา simple sequence length polymorphism หรือ microsatellite ในกุ้งกุลาดำพบว่าทั้ง 102 ตำแหน่งจะเป็นชนิด di-, tri-, tetranucleotide repeat และ compound repeat จำนวน 27, 17, 4 และ 54 ตำแหน่งตามลำดับ จากนั้นได้พัฒนาไพรเมอร์ DFUP_m 109 มาใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายของชนิดเอ็นเอ ตั้งแต่ 1-17 ซีน และไพรเมอร์ดังกล่าวนี้น่าจะมีประโยชน์ในการติดตามพ่อแม่พันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์กุ้ง

กุ้งก้ามกราม: Yaitavorn *et al.* (1991) ได้พัฒนา mtDNA probe (pMR-1) เพื่อนำไปใช้ทดสอบ RFLP patterns ของกุ้งที่เก็บจากแม่น้ำกระบุรี (ระนอง) แม่น้ำบางปะกง (ฉะเชิงเทรา) และกุ้งเลี้ยงจากฟาร์ม ซึ่งผลปรากฏว่า เมื่อทำ hybridization ระหว่าง mtDNA fragment กับ DNA probe พบว่า กุ้งจากฟาร์มเพาะเลี้ยง จะเหมือนกับกุ้งจากแม่น้ำบางปะกง แต่แตกต่างจากกุ้งจากแม่น้ำกระบุรี แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างทางภูมิศาสตร์ของกุ้งที่มาจากแหล่งต่างๆ แต่การทดลองนี้ไม่ได้ชี้ให้เห็นว่ากุ้งในแต่ละแหล่งมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมมากน้อยแค่ไหน

กุ้งแชบ๊วย: ในประเทศไทย มีกุ้งแชบ๊วย 2 ชนิด คือ *Penaeus merguensis* และ *P. indicus* ซึ่งมีลักษณะภายนอกเหมือนกันอย่างมาก ทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกชนิด Phongdara, *et al.* (1999) ได้ศึกษา RAPD marker ในกุ้งทั้งสองชนิด พบว่ามีเครื่องหมายชนิดที่เป็น species-specific DNA fragment จำนวนมากมาย จึงได้วิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ และออกแบบไพรเมอร์คู่ (primer pair) 06/1 สำหรับเทคนิค PCR เพื่อการจำแนกกุ้ง 2 ชนิดได้ โดยพบว่า ไพรเมอร์คู่ดังกล่าว จะใช้ amplified fragment ขนาด 521 bp ในกุ้ง *P. indicus* และ 650 bp ในกุ้งชนิด *P. merguensis*

สัตว์น้ำประเภทหอย

หอยนางรม ในประเทศไทยมีอยู่ 5 ชนิด แต่ยังมีปัญหาในการจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะภายนอก Klinbunga *et al.* (2000a) จึงได้วิเคราะห์ RAPD marker โดยใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด (OPA 09, OPB 01, UBC 210, และ UBC 220) พบว่าใน *Crassostrea belcheri*, *C. iredalei* และ *Saccostrea cucullata* จะมี species-specific marker ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดได้ Klinbunga, *et al.* (2000b) จึงได้โคลน *C. belcheri* RAPD fragment และ วิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ และสุดท้ายออกแบบไพรเมอร์ (pPACB1) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการจำแนกลูกหอยในโครงการปรับปรุงพันธุ์ได้

สัตว์น้ำประเภทปลา

ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*): เป็นปลาเพาะเลี้ยงที่นิยมมากที่สุดในบรรดาปลาดุกทั้งหลายและมีการนำมาใช้เป็นแม่พันธุ์ในการผลิตปลาดุกผสม “บิ๊กอุย” จึงทำให้มีการเคลื่อนย้ายปลาแม่พันธุ์ไปทั่วประเทศ จึงทำให้เกิดข้อกังวลว่า ถ้าปลาที่ไปจากแหล่งเดียวกันเหล่านี้หลุดรอดไปสู่แหล่งน้ำธรรมชาติแล้ว จะทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมปลาดุกอุยลดลง Na Nakorn, *et.al.* (1999) ดำเนินถึงศึกษาของ microsatellite marker ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงได้ศึกษา microsatellite marker ในจีโนมปลาดุกอุย และได้พัฒนาไพรเมอร์ (primer) ขึ้นมา 4 ชนิด คือ Cma-1, Cma-2, Cma-3 และ Cma-4 ซึ่งสามารถระบุอัลลีลต่างๆ ได้ประมาณ 50 อัลลีล และได้ศึกษาพบว่า microsatellite markers ในปลาดุกอุยมีลักษณะของ polymorphism

ปลานิล: นอกจากความพยายามที่จะจำแนกกลุ่มปลานิลด้วยเทคนิคการวิเคราะห์อัลโลไซม์แล้ว Haiqing (1997) ได้ศึกษาเปรียบเทียบสายพันธุ์ปลานิล 4 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ AIT, CHITRALADA, GIFT และ UDORN ด้วยการศึกษารูปแบบของ mtDNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ restriction endonuclease 2 ชนิด คือ *Apa* I, *Dra* I พบว่า รูปแบบของ mtDNA ที่ได้สามารถระบุได้ว่ามีต้นกำเนิดไปจากสายพันธุ์ CHITRALADA ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้สามารถใช้เป็น genetic marker ในการจัดการทางประมงได้

สัตว์น้ำอื่นๆ

เต่าทะเล (*Chelonia mydas*): ซึ่งพบกระจายอยู่ทั้งฝั่งทะเลด้านอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ปัจจุบันเต่าทะเลรวมทั้งเต่าทะเลมีจำนวนลดลงมากอันเนื่องจากสาเหตุสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงและความต้องการใช้ประโยชน์จากเต่าทะเลของมนุษย์ เมื่อปี พ.ศ. 2493 กองทัพเรือดำเนินการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล ปัจจุบันมีโครงการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลเกิดขึ้นหลายโครงการ โดยโครงการต่างๆ เหล่านี้ได้ดำเนินการเก็บไข่เต่าธรรมชาติมาเพาะฟัก ทำการอนุบาลลูกเต่าทะเลจนมีอายุประมาณ 4-6 เดือน แล้วจึงปล่อยกลับลงสู่ทะเล และเก็บส่วนหนึ่งไว้เพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ แต่ก็มีปัญหาในการแยกเพศเต่าทะเล เพื่อเลี้ยงเป็นพ่อแม่พันธุ์ ทั้งนี้เพราะเพศเต่าทะเลจะระบุได้แน่นอนเมื่อมีอายุอย่างน้อย 6 ปี จึงจะสังเกตเห็นลักษณะเฉพาะเพศได้ รุ่งนภา (2540) จึงได้ศึกษาหาวิธีดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเพศในเต่าทะเล ด้วยการสังเคราะห์ไพรเมอร์ที่มีลำดับ GATA repeat จำนวน 21 เบส เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเต่าทั้งสองเพศ ผลปรากฏว่าสามารถตรวจความแตกต่างระหว่างเพศโดยความเข้มของแถบดีเอ็นเอ ขนาด 2.29 kb โดยในเพศผู้จะจางกว่าในเพศเมีย เมื่อนำวิธีการ PCR มาใช้ในการแยกเพศเต่าและเปรียบเทียบกับการศึกษาเนื้อเยื่อของโกนอด (gonad) ทำให้สามารถแยกเพศเต่าทะเล ได้ร้อยละ 75 แสดงว่าน่าจะใช้ไพรเมอร์ GATA-repeat มาใช้กับเทคนิค PCR ในการตรวจเพศเต่าทะเล

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำ

จากเอกสารผลการวิจัยเท่าที่รวบรวมได้ การศึกษาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์น้ำได้ดำเนินการแล้วกับสัตว์น้ำ ประมาณ 20 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่ก็เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ สำหรับสัตว์น้ำที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจยังได้ดำเนินการน้อยมาก สำหรับเทคนิคที่นำมาใช้นั้น มีตั้งแต่การวิเคราะห์ไอโซไซม์, mtDNA, RAPD-PCR และ microsatellite DNA ข้อมูลที่ได้เพียงพอที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้พอสมควร เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การจัดการทางประมง และการอนุรักษ์พันธุ์

สัตว์น้ำประเภทกุ้ง

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสัตว์น้ำประเภทกุ้งได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งในตารางนี้จะแสดงความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกุ้งเพียง 3 ชนิดเท่านั้น คือ กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกราม และ กุ้งแชบ๊วย งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งไปที่กุ้งกุลาดำ ทั้งนี้คงอาจเพราะเป็นกุ้งที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงมากๆ เมื่อดูจากมูลค่าสัตว์น้ำต่างๆ การใช้เทคนิคอัลโลไซม์มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งกุลาดำเกือบครึ่งโลกมีอยู่เพียง 4 กลุ่ม แต่ที่สำคัญพบว่า กุ้งกุลาดำในประเทศไทย แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มทะเลอันดามัน และ อ่าวไทย แต่ไม่พบความแตกต่างของกุ้งในบริเวณเดียวกัน แต่เมื่อใช้เทคนิคที่ละเอียดกว่า เช่น RAPD-PCR และ microsatellite DNA ทำให้พบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างกุ้งในบริเวณอ่าวไทย (ตราดและชุมพร) ส่วนในกุ้งแชบ๊วยก็พบความแตกต่างทางพันธุกรรมของกุ้งที่รวบรวมจากอ่าวไทยและทะเลอันดามัน เช่นเดียวกัน

กุ้งกุลาดำ (*Panaeus monodon*, Fabricius): เป็นกุ้งที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยประมาณ 4-5 หมื่นล้านบาทต่อปี เมื่อประมาณ 20 ปีที่ผ่านมาแล้ว การเพาะเลี้ยงกุ้งทั้งหมดเป็นการเพาะเลี้ยงกุ้งแชบ๊วย แต่เมื่อยุโรปและอเมริกาต้องการกุ้งจำนวนมาก เกษตรกรจึงหันมาเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเป็นไปอย่างรวดเร็ว แต่ปัญหาต่างๆ ก็เกิดขึ้นตามมา เช่น ปัญหาสิ่งแวดล้อม ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์ ในระยะหลังลูกกุ้งที่ผลิตได้เพื่อการเพาะเลี้ยงมีคุณภาพต่ำ และเจริญเติบโตช้า ดังนั้นจึงเกิดความคิดว่า การทำความเข้าใจเรื่องความแปรปรวนทางพันธุกรรมเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อการปรับปรุงพันธุ์กุ้งในโอกาสต่อไป

เมื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมกุ้งกุลาดำจากแหล่งต่างๆ 11 แหล่ง ตั้งแต่ ประเทศเคนย่า อินโดจีน ไปถึงประเทศฟิลิปปินส์ โดยการวิเคราะห์อัลโลไซม์ 46 โลกัส Sodsuk (1996) พบว่าอัลโลไซม์เพียงแค่ 10 โลกัสเท่านั้นที่มีสภาวะหลากหลายรูปแบบ (polymorphic) และมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย ($\bar{H}$) = 0.027 เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากร พบว่ามีความแตกต่างระหว่างประชากร (F_{st} = 0.384) ซึ่งสามารถแบ่งประชากรกุ้งกุลาดำเป็น 4 กลุ่มหลัก คือ เคนย่า, ทะเลอันดามัน, ทะเลจีนใต้ และกลุ่มประเทศฟิลิปปินส์ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกุ้งที่จับจากแหล่งต่างๆ บริเวณเดียวกัน

ศรียรัตน์ (2539) ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของกิ้งกูดำจาก 4 แหล่งในประเทศไทย (2 แหล่งในอ่าวไทย : ตราดและสุราษฎร์ธานีและอีก 2 แหล่งในทะเลอันดามัน : ภูเก็ตและสตูล) โดยวิเคราะห์จากยีนควบคุมอัลโลไซม์ 46 โลกัส พบว่ายีน 3 โลกัสที่ทำให้กิ้งจากทะเลอันดามันและกิ้งในอ่าวไทยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งหมดมีค่าน้อยมาก ($F_{st} = 0.006$) แต่ที่น่าสนใจคือ ประชากรกิ้งจากทะเลอันดามันมีความสัมพันธ์กับกิ้งจากจังหวัดตราดมากกว่าจะเป็นกิ้งจากสุราษฎร์ธานี

เมื่อใช้การวิเคราะห์ mtDNA-RFL ของกิ้งกูดำจากแหล่งต่างๆ (ยกเว้นกิ้งจากประเทศเคนยา) Sodsuk (1996) ได้พบว่า ประชากรกิ้งจากทะเลอันดามันและกิ้งจากทะเลจีนใต้แตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อประมาณค่า nucleotide divergence (0.1-0.7) กิ้งที่ได้จากแหล่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถแบ่งยีนไทป์ของกิ้งได้เป็น 2 โคลน คือ โคลน เอ นั้นอยู่ในทะเลอันดามัน และ โคลน บี อยู่ในทะเลจีนใต้ แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงการแบ่งแยกประชากรของกิ้งกูดำจาก 2 แหล่ง

Table 1. Genetic variability of different prawn species.

Species	Genetic markers	Number Locations	Number loci	Percentage polymorphism	Heterozygosities	Genetic distance	Reference
<i>Penaeus monodon</i>	Allozyme	4	46	13.00	0.25 - 0.31	0.004 - 0.005	ศิริรัตน์, (2539)
<i>P. monodon</i>	MtDNA	3	52 ⁽¹⁾	86.40 ⁽²⁾	0.0191 - 0.0251 ⁽³⁾	0.0247 ⁽⁴⁾	Klinbunga <i>et al.</i> (1999)
<i>P. monodon</i>	RAPD	5	50 - 85 ⁽⁵⁾	51.5-57.7	0.8626 - 0.8878 ⁽⁶⁾	0.0029 - 0.3340	Tassanakajon <i>et al.</i> (1998)
<i>P. monodon</i>	Microsatellite DNA	5	5	-	0.49 - 0.95	0.0012 - 0.0124 ⁽⁷⁾	Supungul <i>et al.</i> (2000)
<i>P. merguensis</i>	Allozyme	3	26	19.20	0.066 $\pm$ 0.028	0.001 - 0.011	ศิริรัตน์ และ พนม (2541)
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Allozyme	3	24	12.50	0.031 $\pm$ 0.018	0.000 - 0.005	ศิริรัตน์ และ พนม (2541)

1 = restriction profiles, 2 = haplotype diversity, 3 = nucleotide diversity, 4 = nucleotide divergence, 5 = RAPD genotype, 6 = genetic identity and 7 = genetic differentiation

Klinbunga *et al.* (1999) ได้ใช้เทคนิค mtDNA-RFLP วิเคราะห์กึ่งกลาดำที่จับได้จากจังหวัดสตูล (ทะเลอันดามัน), สุราษฎร์ธานี และตรัง (อ่าวไทย) โดยใช้ mtDNA ย่อยด้วย restriction endonuclease 11 ชนิด ผลปรากฏว่าค่า nucleotide diversity ในแต่ละประชากรค่อนข้างสูง (ค่าเฉลี่ย 2.21%) และเมื่อประมาณ nucleotide divergence ระหว่างประชากรพบว่ากึ่งกลาดำจากอ่าวไทยและทะเลอันดามันแยกจากกันอย่างชัดเจน จึงมีการนำกึ่งจากสตูลและตรังมาใช้เป็น founder stock เพื่อโครงการผสมพันธุ์

เมื่อตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกึ่งกลาดำด้วยการวิเคราะห์อัลโลไซม์พบว่าความแปรปรวนค่อนข้างต่ำ ถึงแม้ว่าเราจะสามารถจำแนกประชากรที่ห่างกันทางภูมิศาสตร์ได้ แต่เมื่อวิเคราะห์โดยใช้ mtDNA-RFLP เราตรวจพบว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงขึ้น ซึ่งทั้งสองวิธีที่กล่าวแล้วไม่ได้ทำการวิเคราะห์โดยตรงต่อสารพันธุกรรมในนิวเคลียส ดังนั้น Tassanakajon *et al.* (1998) ได้ใช้เทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) มาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งกลาดำ จาก 5 แหล่ง ที่มีความห่างไกลทางภูมิศาสตร์ ประกอบด้วย สตูล-ตรัง, พังงาและ เมดาน-อินโดนีเซีย (ฝั่งทะเลอันดามัน), ชุมพรและตรัง (อยู่ในบริเวณอ่าวไทย) ผลการวิเคราะห์ RAPD fragment พบว่าระดับสถานะหลากหลายรูปแบบระหว่าง 51.5 - 57.7% และค่าระยะห่างพันธุกรรม (genetic distance) ระหว่างประชากรพบว่า ประชากรกึ่งจากบริเวณเมดานมีโครงสร้างพันธุกรรมแตกต่างจากกึ่งกลาดำจากบริเวณอ่าวไทยอย่างชัดเจน นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบกึ่งกลาดำที่เก็บรวบรวมจากทะเลอันดามัน (สตูล-ตรัง) จะแตกต่างจากกึ่งที่รวบรวมได้จากอ่าวไทย (ชุมพรและตรัง) อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ามีการแบ่งแยกประชากรกึ่งจากแหล่งประมงทั้งสองฝั่ง

เมื่อใช้เทคนิคที่ละเอียดขึ้น Supungul *et al.* (2000) ได้ใช้ microsatellite DNA 2 โลกัทดสอบความแปรปรวนและการจำแนกทางพันธุกรรมของกึ่งในประเทศไทย 5 แหล่งอย่างที่ได้กล่าวแล้วข้างบน พบว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมในแต่ละประชากรมีค่าสูงมาก (average heterozygosity = 0.78) เมื่อวิเคราะห์ geographic heterogeneity โดยวิเคราะห์ 2 โลกั พบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างกึ่งในบริเวณอ่าวไทย (ตรังและชุมพร) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่พบในกึ่งที่ได้จากทะเลอันดามัน แต่ด้วยการวิเคราะห์ครั้งนี้สามารถแบ่งประชากรกึ่งกลาดำได้เป็น 3 ประชากร คือประชากรทะเลอันดามัน ชุมพร และ ตรัง

กึ่งแซบวัย (*Penaeus merguensis* de Man): ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกึ่งแซบวัย ในอ่าวไทยจำนวน 3 แหล่ง (ชลบุรี สุราษฎร์ธานี และสตูล) โดยวิธี starch gel electrophoresis ศรีรัตนและพนม (2541) ได้วิเคราะห์ยีนควบคุมอัลโลไซม์ 26 โลกั พบว่ามีเพียง 5 โลกัเท่านั้นที่อยู่ในสถานะหลากหลายรูปแบบ ($P_{0.95} = 0.192$) และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.066 ± 0.028 ค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F_{st}) ซึ่งว่ากึ่งแซบวัยจากแต่ละแหล่งมีความแตกต่างทางพันธุ

กรรมระหว่างกัน กุ้งจากสุราษฎร์ธานี และชลบุรีจะมีความสัมพันธ์ระหว่างกันมากกว่าความสัมพันธ์กับ กุ้งจากสตูล ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีความแตกต่างของประชากรระหว่างกุ้งฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย

กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man): มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น กุ้งนาง กุ้งหลวง กุ้งก้ามเกลี้ยง พบแพร่หลายในหลายพื้นที่ เมื่อประมาณ 20 ปีที่ผ่านมาแล้ว กุ้งก้ามกรามจะมีการจับจากธรรมชาติทั้งหมด แต่กรมประมงดำเนินการขยายพันธุ์สำเร็จ แล้วมีการเพาะเลี้ยงกันเรื่อยมา ปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมีปัญหาหลายด้าน เช่น ตัวโตไม่เท่ากัน เจริญพันธุ์เร็วมาก กุ้งเป็นโรค ฯลฯ การศึกษาเรื่องความหลากหลายทางพันธุกรรมมีน้อยมาก ศรีรัตน์ และพนม (2541) ได้ศึกษาความหลากหลายของ กุ้งก้ามกรามจากจังหวัดฉะเชิงเทรา สุราษฎร์ธานี และ สงขลา โดยศึกษาจากอัลโลไซม์จำนวน 24 โลกัส พบว่ามีเพียง 3 โลกัสที่มีลักษณะสภาวะหลายรูปแบบ (polymorphic) ($P_{0.95} = 0.125$) โดยมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีค่อนข้างต่ำ คือ $H_c = 0.031$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความแปรปรวนทางพันธุกรรม เมื่อประเมินค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) มีค่าต่ำมาก แสดงว่ากุ้งทั้ง 3 ประชากรมีความใกล้ชิดกันมาก

สัตว์น้ำประเภทหอย

ตารางที่ 2 แสดงถึงความแปรปรวนทางพันธุกรรมของหอยตะไกรกรมดำและขาว หรือ หอยนางรมใหญ่ และหมึกหอม ซึ่งในกรณีของหอยนางรมมีปัญหาในด้านอนุกรมวิธาน จึงได้มีการศึกษาและพัฒนา molecular marker มาใช้ในการจำแนกชนิด เพื่อจำแนกหอยในการเพาะเลี้ยง แต่เมื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม พบว่ามีความแปรปรวนทางพันธุกรรมในแต่ละชนิดอย่างชัดเจน

หอยนางรมใหญ่ (*Crassostrea* spp): หรือบางแห่งอาจเรียกว่า หอยตะไกรม ซึ่งยังแบ่งได้เป็น หอยตะไกรกรมดำ และตะไกรกรมขาว หอยนางรมมีแพร่กระจายอยู่ในเขตร้อน หรือเขตกึ่งร้อน สำหรับในประเทศไทย หอยนางรมหรือหอยตะไกรมมีอยู่ 5 ชนิด การจำแนกหอยนางรมทั้งหลายเหล่านี้จะพิจารณาจากลักษณะภายนอก ลักษณะเปลือกซึ่งแปรปรวนไปตามสภาพแวดล้อมที่หอยอาศัยอยู่ ลักษณะสีเนื้อหอย และ abductor muscle scar

รัตนา (2532) จึงได้พยายามศึกษาไอโซไซม์ในหอยตะไกรกรมดำ (*Crassostrea lugubris*) และตะไกรกรมขาว (*C. belcheri*) เพื่อหาวิธีการจำแนกชนิดโดยใช้เอนไซม์ 2 ชนิด ผลปรากฏว่า เอนไซม์เอสเตอเรส (esterase) จะให้ผลที่แตกต่างกันในหอยนางรมทั้ง 2 ชนิด

Pongthana, et al. (1998) ได้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรหอยนางรมใหญ่ หรือหอยตะไกรกรมขาว (*Crassostrea belcheri*) จาก 5 แหล่ง คือ สุราษฎร์ธานี, กระบี่, ระนอง, จันทบุรี และ ตรัง โดยอาศัยการวิเคราะห์อัลโลไซม์ 11 โลกัส ผลปรากฏว่า ประชากรหอยนางรมเหล่านี้จะมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี ตั้งแต่ 0.424 ถึง 0.584 และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance)

ตั้งแต่ 0.081 ถึง 0.318 และพบว่าหอยนางรมจากกระบี่และระนองมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมสูง แต่แตกต่างทางพันธุกรรมอย่างมากกับหอยนางรมจากสุราษฎร์ธานี

การเพาะเลี้ยงหอยนางรมในประเทศไทย มีมาแล้วยาวนานประมาณ 50 ปี แต่หอยชนิดที่เพาะเลี้ยงกันเป็นการค้ามีเพียง 3 ชนิด คือ *Crassostrea belcheri*, *C. iredalei* และ *S. cucullata* แต่ผลผลิตที่ได้ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากเทคนิควิธีการเลี้ยงและความไม่สม่ำเสมอของลูกหอยที่เก็บได้จากธรรมชาติ การจำแนกหอยเพื่อนำเพาะเลี้ยงก็ยังมีปัญหา เพราะการจำแนกโดยอาศัยลักษณะภายนอกยังไม่ชัดเจน ดังนั้น Klinbunga *et al.* (2000a) จึงได้พัฒนา species-specific marker ของหอยนางรมชนิด *C. belcheri* ซึ่งเป็นชนิดที่เพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายจาก RAPD marker และเปลี่ยนเป็น sequence characterized amplified regions (SCARS) ด้วยการแล้วพัฒนาไพรเมอร์ (primer) เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดหอย เพื่อประโยชน์ในโครงการผสมพันธุ์ นอกจากนี้ Klinbunga *et al.* (2000b) ยังได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยนางรมทั้ง 5 ชนิด โดยการทำ RAPD analysis จึงสามารถจำแนก species-specific marker ของหอย 3 ชนิดคือ *C. belcheri*, *C. iredalei* และ *C. cucullata* และยังพบว่าความหลากหลายรูปแบบ (polymorphism) มีอยู่ค่อนข้างสูง (57.38 - 77.46%) เมื่อประมาณการระยะห่างทางพันธุกรรมพบว่าสามารถจำแนกหอยชนิด *Crassostrea* และ *Saccostrea* ออกจากกันได้โดยชัดเจน

หอยตะไกรมกรมดำ (*Crassostrea madrasensis*) จากบริเวณปากอ่าวและบริเวณป่าชายเลนจากประเทศอินเดีย, ไทย และ มาเลเซีย (รัฐปีนัง) ถูกนำมาศึกษาประชากร โดยการวิเคราะห์อัลโลไซม์ 3 โลกัส พบว่าแบ่งประชากรเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ อินเดียและไทย-มาเลเซีย เนื่องจากหอยตะไกรมกรมดำจาก ปีนังและจากหน้าทับ, นราธิวาส มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ซึ่งทั้ง 2 ประชากรนี้มีระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.1153 ซึ่งความแปรปรวนระหว่างประชากรนี้น่าจะเนื่องจากความห่างของภูมิประเทศ (Murugan, *et al.* 1999)

หมึกหอม (*Sepioteuthis lessoniana*): พบแพร่หลายทั่วไปในน่านน้ำไทยและเป็นชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีการส่งออกไปขายต่างประเทศ เป็นจำนวนมาก จึงทำให้มีการจับกันมาก จึงจำเป็นต้องมีโครงการจัดการทางประมงเพื่อรักษาทรัพยากรธรรมชาติให้คงอยู่ Pratoomchat *et al.* (1998) จึงได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาหมึกที่เก็บรวบรวมจากน่านน้ำไทย และญี่ปุ่น (จังหวัดนากาซากิ) โดยอาศัยการวิเคราะห์อัลโลไซม์ พบว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมในปลาหมึกชนิดนี้ค่อนข้างสูง มีค่าเฮตเอโรไซโกซิตี ตั้งแต่ 23.11-27.84 เปอร์เซ็นต์

Table 2. Genetic variability of oysters and squid

Species	Genetic Markers	Number Locations	Number Loci	Percentage polymorphism	Heterozygosities	Genetic distance	Reference
<i>Crassostrea belcheri</i>	Allozymes	5	11	72.73-100	0.424-0.584	0.081-0.318	Pongthana <i>et al.</i> (1998)
<i>C. madrasensis</i>	Allozymes	5	3	75-100	0.359-0.512	0.00-0.153	Murugan <i>et al.</i> (1999)
Five Oyster species	RAPD, SCARS	-	-	57.39 - 99.30	-	0.1050 - 0.8110	Klinbunga <i>et al.</i> (2000c)
<i>Septoteuthis lessoniana</i>	Isozymes	2	22	45.4 - 50.00	23.11 - 27.84	0.0031	Pratoomchat <i>et al.</i> (1998)

Table 3. Genetic variability of different crab species

Species	Genetic Markers	Number Locations	Number Loci	Percentage polymorphism	Heterozygosities	Genetic distance	Reference
<i>Somanniathelphusa dugasti</i>	Isozymes	5	8	36.4 - 45.5	0.159 - 0.232	0.0084 - 0.2205	พันธุ์สิน และ คณะ (2536)
<i>S. bangkokensis</i>	Isozymes	2	11	31.5	0.181 ⁽¹⁾	0.0023	ศรมน (2536)
<i>S. germaini</i>	Isozymes	2	11	28.9	0.151 ⁽¹⁾	0.0107	ศรมน (2536)
<i>Sayamia bangkokensis</i>	Isozymes	6	17	35.29 - 47.06	0.207 - 0.273	0.0005 - 0.0469	นงลักษณ์ และคณะ (2540)
<i>Scylla</i> sp..	RAPD	-	-	47.9 - 77.5	0.809 - 0.844 ⁽²⁾	0.171 - 0.751	Klinbunga <i>et al.</i> (2000)

1= average heterozygosity, 2 = similarity index

สัตว์น้ำประเภทปู

ปูนาเป็นปูพบกระจายทั่วทุกภาคในประเทศไทย จากเอกสารที่รวมได้มีการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปูนาในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือแล้ว 3 ชนิด (ตารางที่ 3) ซึ่งพบว่าปูนาเหล่านี้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ ส่วนในปูทะเล ซึ่งในประเทศไทยนั้นคาดว่าจะมีอยู่ 3 ชนิด เมื่อใช้ RAPD- analysis วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพบว่าในแต่ละชนิดมีความแปรปรวนอยู่ค่อนข้างสูง

ปูนา (*Somanniathelphusa* sp.): เป็นปูน้ำจืดที่พบกระจายอยู่ทั่วไปในประเทศไทย ปูนาจะเป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำคัญแหล่งหนึ่งของประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปูนา (*S. dugasti*) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ 8 โลกัส พันธุสีน และคณะ (2536) พบว่าปูนาชนิดนี้มีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีค่อนข้างสูง (0.208) มีค่าความเหมือนกันทางพันธุกรรม (genetic identity) ระหว่าง 0.802 - 0.902 ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าระยะห่างทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ แต่เมื่อวิเคราะห์จาก 5 แหล่ง พบว่าปูนาจากจังหวัดนครราชสีมาแบ่งแยกออกไปจากปูกลุ่มอื่นๆ

ศรมน (2536) ได้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของปูนา ชนิด *S. bangkokensis* และ *S. germaini* จากบริเวณภาคกลางของประเทศไทย โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ 11 โลกัส พบว่า ค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมของ *S. bangkokensis* (0.181) สูงกว่าของชนิด *S. germaini* (0.151) และเมื่อคำนวณค่าความเหมือนกันทางพันธุกรรม พบว่าปูนา *S. bangkokensis* จากปทุมธานีมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับปู *S. germaini* จากนครสวรรค์ ซึ่งอาจเป็นเรื่องบังเอิญหรือต้องพิสูจน์

ปูทะเล (*Scylla* sp.): พบแพร่กระจายอยู่บริเวณป่าชายเลนและบริเวณปากแม่น้ำโดยทั่วไป ปูทะเลมีอยู่ทั้งหมด 4 ชนิด แต่การจำแนกชนิดในประเทศไทยยังมีปัญหาอยู่ แต่ชนิดที่นำมาเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่จะเป็นชนิด *S. oceania* ทั้งนี้เพราะอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าและมีความอดทนน้อยกว่าชนิดอื่น แต่ก็มีปัญหาเรื่องลูกปูหรือปูเล็กที่นำมาซึ่งคอกเลี้ยง ทั้งนี้เพราะรวบรวมปูเล็กได้ไม่เพียงพอ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการวางแผนเพาะพันธุ์ปูทะเล Klinbunga *et al.* (2000) จึงได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปูทะเล 3 ชนิด คือ *S. serrata*, *S. oceania* และ *S. transquebarica* โดยการวิเคราะห์ RAPD ซึ่งผลปรากฏว่าระดับสถานะหลายรูปแบบ (polymorphic level) ภายในชนิดมีค่าตั้งแต่ 47.92% ถึง 77.59% และพบว่าความแตกต่างระหว่างชนิดมีอยู่สูง ($\overline{D}_{ij}$ = 0.171 ถึง 0.199) ซึ่งน่าจะจำแนกปูทะเลที่มีลักษณะปรากฏแตกต่างกันนี้เป็น 3 ชนิด

สัตว์น้ำประเภทปลา

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของปลานั้นได้มีการศึกษาแล้ว มีเพียง 6 ชนิดเท่านั้น (ตารางที่ 4) เมื่อเทียบกับจำนวนชนิดของปลาไทย ซึ่งมีถึง 1,741 ชนิด แต่ปลาเหล่านี้เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ชนิดแรกคือ ปลานิล ซึ่งเป็นปลาที่นำเข้าจากต่างประเทศ การศึกษาส่วนใหญ่เน้นที่เรื่องการจัดจำแนกสายพันธุ์ต่างๆ ที่พัฒนาขึ้นแล้วและกรมประมงได้แนะนำให้เกษตรกรเพาะเลี้ยง สำหรับปลาพื้นเมืองนั้นก็ได้เริ่มมีการศึกษาประชากรธรรมชาติของปลาช่อน ปลาคูขุย ปลาคูด่าน ปลาสลิด และปลาชิวในนาข้าว พบว่าในประชากรปลาช่อน คูขุย และ คูด่าน มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง และจำแนกประชากรได้ตามแหล่งที่เก็บรวบรวมปลานั้นๆ สำหรับปลาช่อนและปลาชิวในนาข้าว การแบ่งกลุ่มประชากรนั้นจะสัมพันธ์กับลุ่มน้ำในบริเวณที่ปลาอาศัยอยู่ ส่วนในปลาสลิดนั้นพบว่าปลาจากสถานที่ต่างๆ จะมีความคล้ายคลึงกัน

ปลาชิวในนาข้าว: ปลาชิวสกุล *Oryzias* จะมีจำนวน 10 ชนิด ส่วนชนิด *Oryzias minutillus* พบแพร่กระจายในประเทศไทย ปลาชนิดนี้จะมี karyotype polymorphism กล่าวคือ มีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 28-42 โครโมโซม ดังนั้น Takata, *et al.* (1993) จึงได้ศึกษาโครงสร้างประชากรจากแหล่งต่างๆ 11 แหล่ง โดยการศึกษาจากความแปรปรวนของอัลโลไซม์ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าประชากรของปลาชิวสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประชากรย่อย (subpopulation) คือ ประชากรคาบสมุทร (peninsular), แม่น้ำเจ้าพระยา และแม่น้ำโขง ซึ่งการแบ่งเป็นประชากรย่อยนี้สืบเนื่องจากสภาพการแบ่งแยกทางภูมิศาสตร์ (geographic isolation) สำหรับ karyotype polymorphism จะพบเฉพาะภายในประชากรย่อยแม่น้ำเจ้าพระยาเท่านั้น

ปลาช่อน (*Channa striatus*): เป็นปลาน้ำจืดที่พบโดยทั่วไป เป็นปลาที่นิยมบริโภคในประเทศไทย ปลาช่อนที่ขายทั่วไปได้จากการจับจากธรรมชาติและบ่อเลี้ยง แต่ลูกปลาที่นำมาเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่จะได้จากธรรมชาติทั้งนี้เพราะการผสมพันธุ์เทียมทำได้ลำบาก ถึงอย่างไรก็ตาม เมื่อบ้านเมืองมีการพัฒนามากขึ้น ทำให้มีการขนย้ายลูกปลากันอย่างกว้างขวางซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพันธุกรรมและสูญเสียความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรธรรมชาติ Hara *et al.* (1998) ได้ศึกษาประชากรธรรมชาติปลาช่อนจาก 13 แหล่งในประเทศไทย โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ จำนวน 12 ชนิด ซึ่งควบคุมด้วยยีน 17 โลกัส และพบว่า 6 โลกัสอยู่ในสถานะหลายรูปแบบ เมื่อคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรต่างๆ พบว่าสามารถจัดแบ่งประชากรปลาช่อนได้เพียง 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มเหนือ-กลาง และกลุ่มตะวันออกเฉียงเหนือ การจัดแบ่งประชากรที่ได้มีความสัมพันธ์อยู่กับลุ่มน้ำ 2 ลุ่มน้ำในประเทศไทย

Table 4. Genetic diversity of different fish species

Species	Genetic markers	Number Locations	Number loci	Percentage polymorphism	Heterozygosities	Genetic distance	Reference
22 Tilapiine cichlid species	Allozymes	-	43	2.3 - 27.9	0.002 - 0.058	0.051 - 0.798 ⁽¹⁾	พนม และ เปรณรัตน์ (2538)
<i>Oryzias minutillus</i>	Allozymes	11	24	-	0.885-0.997 ⁽²⁾	0.002-0.123	Takata <i>et al.</i> (1993)
<i>Channa striatus</i>	Allozymes	13	12	-	0.023 - 0.059	0.004 - 0.0090	Hara <i>et al.</i> (1998)
<i>Clarias macrocephalus</i>	Isozymes	4	19	10.5 - 26.3	0.038 - 0.080	0.000 - 0.019	Na Nakorn <i>et al.</i> (1998)
<i>C. macrocephalus</i>	Microsatellite DNA	4	4	6.0 - 10.0 ⁽³⁾	0.718 - 0.810	0.230 - 0.535	Na Nakorn <i>et al.</i> (1999)
<i>C. batrachus</i>	RAPD	6	-	31.85 - 48.39	0.40 ⁽⁴⁾ - 0.60 ⁽⁵⁾	0.42 - 0.72	อำนาจ และคณะ (2543)
<i>Trichogaster pectoralis</i>	Allozymes	5	14	-	0.176 - 0.235	0.015 - 0.080	นวลมณี และคณะ (2542)

1 = F_{st} , 2 = genetic identity, 3 = mean number of allele per locus, 4 = AMOVA-within population and 5 = AMOVA-between population

ปลาอุกอุย (*Clarias macrocephalus*): เป็นปลาน้ำจืดอีกชนิดหนึ่งที่พบตามแหล่งน้ำไปตลอดทั้งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นปลาที่นิยมรับประทานกันตลอดทั่วบริเวณนี้ ปลาอุกอุยก็ประสบปัญหาเหมือนปลาน้ำจืดอื่นๆ กล่าวคือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมถูกกระทบกระเทือนด้วยปัญหานานาประการ เช่น สิ่งแวดล้อมเลวร้าย แหล่งอยู่อาศัยถูกทำลาย การเคลื่อนย้ายพ่อ-แม่พันธุ์ และรวมทั้งการนำปลานอกถิ่นฐานเข้ามา เมื่อประมาณปี 2530 มีการนำเข้าปลาอุกเทศ (*Clarias gariepinus*) เข้ามาในราชอาณาจักร และเป็นปลาที่สามารถผสมข้ามกับปลาอุกอุยได้ ส่งผลให้เกิดการเพาะเลี้ยงปลาอุกผสมเพื่อส่งตลาดกันอย่างขนานใหญ่ ในขณะเดียวกันความต้องการแม่พันธุ์ปลาอุกอุยก็เพิ่มตามมาด้วย ผลก็คือมีการเคลื่อนย้ายปลาอุกอุยแม่พันธุ์กันทั่วประเทศ ซึ่งมักจะเป็นแม่ปลาที่ไปจากแหล่งเดียวกัน ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาอุกอุยลดลงได้ ด้วยปัญหาดังกล่าวนี้ Na Nakorn *et al.* (1998) ได้วิเคราะห์ประชากรปลาอุกอุยจาก 4 แหล่งที่อยู่ห่างกันมากทางภูมิศาสตร์ คือปลาจากจังหวัดเชียงราย ปราจีนบุรี ปัตตานี และยะลา โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนของไอโซไซม์ พบว่า ระดับสถานะหลากหลายรูปแบบ (polymorphism) จะมีค่าระหว่าง 10.5 - 26.3 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อประมาณการระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) สามารถแบ่งปลาอุกอุยเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มเชียงราย-ปราจีนบุรี และกลุ่มปัตตานี-ยะลา แต่เมื่อ Na Nakorn (1999) วิเคราะห์ประชากรปลาอุกอุยโดยอาศัย microsatellite markers ผลปรากฏว่า ค่า genetic heterozygosities สูงขึ้น ก็มียาค่าตั้งแต่ 0.718 - 0.810 แต่ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ได้นำปลาอุกอุยจากจังหวัดพัทลุงมาแทนปลาจากยะลา เมื่อประเมินค่าระยะห่างทางพันธุกรรมได้ผลที่แตกต่างไปจากการวิเคราะห์เอนไซม์ กล่าวคือ พบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปลาพัทลุงและปราจีนบุรี แต่มีระยะห่างจากปลาจากเชียงรายอย่างชัดเจน ซึ่งผลที่ได้ไม่ได้สะท้อนหรือเชื่อมโยงกับระยะห่างทางภูมิศาสตร์เลย

ปลาอุกด้าน (*Clarias batrachus*): เป็นปลาน้ำจืดที่พบทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ เมื่อประมาณ 20 ปีที่แล้ว แต่ขณะนี้กลายเป็นปลาที่อยู่ในภาวะถูกกีดกัน (threatened species) ทั้งเพราะปัญหาแหล่งน้ำถูกทำลาย ทำให้แหล่งที่อยู่อาศัยของปลาถูกทำลายไปด้วย จึงทำให้เราพบปลาอุกด้านในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ยากมาก ปลาอุกด้านเป็นปลาอาหารถูกปากคนไทย ก่อนปี 2530 มีการเพาะเลี้ยงปลาอุกด้านกันอย่างมากมายมหาศาลในจังหวัดสุพรรณบุรี จะเชิงเทรา และนครปฐม แต่เมื่อมีการนำเข้าปลาอุกเทศเข้ามาในปี 2530 เกษตรกรหันไปนิยมเพาะเลี้ยงปลาอุกผสม "บักอุย" ซึ่งเป็นปลาโตเร็ว เนื้อคล้ายคลึงปลาอุกอุยและเลิกการเลี้ยงปลาอุกด้าน ส่งผลให้ปลาอุกด้านกำลังจะสูญพันธุ์ไปจากแหล่งน้ำ เช่น คุ คลอง หนอง บึง ทั่วไป จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาอุกด้านอย่างเร่งด่วน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการอนุรักษ์พันธุ์ อำนวยและคณะ (2543) ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากรปลาอุกด้านโดยเทคนิค RAPD-PCR พบว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากรปลาอุกด้านประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากร

ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งช่วยให้เห็นถึงการจำแนกทางพันธุกรรมระหว่างประชากรอย่างชัดเจนและสามารถแบ่งปลาคุกด้านได้ 3 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มกรุงเทพฯ สามร้อยยอด และ สมุทรปราการ

ปลาสด (Trichogaster pectoralis Regan): เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกประเภทหนึ่ง ราคาดี รสชาติดี คนไทยนิยมบริโภคทั้งสดและแห้ง การเลี้ยงปลาสดจะมีมากที่จังหวัดสมุทรปราการ ปลาสดที่ถูกเพาะเลี้ยง หรือปลาในธรรมชาติ จากแหล่งต่างๆ จะมีลักษณะภายนอกแตกต่างกัน นอกจากนั้นปลาจากแต่ละแหล่งจะมีการเจริญเติบโตและให้รสชาติที่แตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้ นวลมณี และคณะ (2542) จึงได้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาสดจากแหล่งน้ำต่างๆ 5 แหล่ง โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ พบว่า ปลาสดจากพิษณุโลก และสมุทรปราการ มีความคล้ายคลึงกัน แต่แตกต่างจากปลาสดจากจังหวัดสุพรรณบุรี อุบลราชธานี และ ปัตตานี แต่เมื่อวิเคราะห์ลักษณะภายนอก พบว่าปลาสดจากพิษณุโลกแตกต่างจากปลาสดจากแหล่งอื่นๆ มากที่สุด

สัตว์น้ำอื่นๆ

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสัตว์น้ำอื่นๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 ซึ่งได้แสดงไว้เฉพาะของกบนาและเต่าทะเล ในกบนาความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างประชากรต่างๆ มีต่ำมาก ซึ่งผิดกับกรณี เต่าทะเล ซึ่งมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีค่อนข้างสูง และสามารถจำแนกประชากรได้จากอ่าวไทยและทะเลอันดามันออกจากกันได้

กบนา (Rana rugulosa): เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เป็นสินค้าประมงที่ตลาดต่างประเทศต้องการ ผู้ส่งออกจึงได้รวบรวมกบจากธรรมชาติและกบจากการเพาะเลี้ยง เพื่อให้เพียงพอับความต้องการของตลาด การเพาะเลี้ยงกบของเกษตรกรนั้น ลูกกบที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้นได้จากการรวบรวมลูกกบจากธรรมชาติ ลูกกบที่เพาะฟักขึ้นเองจากพ่อแม่พันธุ์ที่เก็บไว้แต่ละปี หรือซื้อลูกกบจากแหล่งเพาะเลี้ยงลูกกบเพื่อจำหน่าย จากจังหวัดชลบุรี หรือระยอง แต่ถึงอย่างไรก็ตาม เกษตรกรก็ยังเชื่อว่า กบนาจากธรรมชาติน่าจะมีความบริสุทธิ์ดีกว่า โดยเฉพาะกบที่มาจากคนละท้องถิ่นที่เฉลิมชัยและคณะ (2540) จึงได้ทำการศึกษาโครงสร้างและความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกบนาจากธรรมชาติในท้องถิ่น ทั้งที่มีการเลี้ยงและไม่มีการเพาะเลี้ยงกบนา 7 จังหวัด โดยอาศัยการวิเคราะห์อัลโลไซม์ 16 โลคัส ผลปรากฏว่าประชากรกบนามีค่าระดับสถานะหลายรูปแบบเท่ากับ 0.66 และค่า เฮตเทอโรไซโกซิตี เฉลี่ยเท่ากับ 0.216 แต่ค่าความแตกต่างของยีนระหว่างประชากรต่ำมาก และเมื่อนำไปประมาณการค่าระยะห่างทางพันธุกรรม ผลปรากฏว่า กบนาจากจังหวัดตราดจะอยู่ห่างจากกบนาจากจังหวัดอื่นๆ 6 จังหวัด (ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และ ลพบุรี) แสดงให้เห็นว่าประชากรกบนาส่วนใหญ่จะมีความใกล้ชิดกันมาก

เต่าตะนุ (*Chelonia mydas*) เต่าตะนุเป็นเต่าทะเลชนิดหนึ่งในประเทศไทยซึ่งมีอยู่ 4 ชนิด เต่าตะนุ เต่ากระ เต่าหญ้า และ เต่ามะเฟือง เต่ากระและเต่าตะนุจะมีการแพร่กระจายทั่วฝั่งทะเลด้านอ่าวไทยและอันดามัน ส่วนเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองจะพบเฉพาะฝั่งทะเลอันดามันเท่านั้น เต่าทะเลในประเทศไทยเป็นสัตว์อนุรักษ์ (รุ่งนภา, 2540) แต่จำนวนเต่าทะเลลดลงเรื่อยๆ ทั้งนี้เพราะสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลง และการใช้ประโยชน์จากเต่าทะเลโดยมนุษย์เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยจึงได้ดำเนินการโครงการอนุรักษ์เต่าทะเล แต่การดำเนินการโครงการอนุรักษ์ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ทั้งนี้เพราะยังขาดแคลนข้อมูลพื้นฐานบางประการ เช่น การเปลี่ยนแปลงจำนวนในธรรมชาติ การจำแนกเพศลูกเต่าทะเล พันธุศาสตร์ประชากรเต่าทะเล ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการจัดการอย่างยั่งยืน ดังนั้น Veerapraditisin (1997) จึงได้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเต่าตะนุ จากบริเวณทะเลอันดามันและอ่าวไทยด้วยไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) 3 โลกัส พบว่า ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยในแต่ละโลกัสค่อนข้างสูง (0.87, 0.85 และ 0.74) เมื่อวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรเต่าตะนุจากทะเลอันดามันและอ่าวไทย พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แสดงว่าประชากรทั้งสองแบ่งแยกกัน นอกจากนั้น เมื่อใช้วิธี combined exclusion ability ของไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 3 โลกัส พบว่าตัวเมียจะมีการผสมพันธุ์กับตัวผู้มากกว่า 1 ครั้งในการวางไข่ 1 ครั้ง ข้อมูลทั้งหลายเหล่านี้มีประโยชน์อย่างมากในการวางแผนอนุรักษ์เต่าตะนุในประเทศไทย

Table 5. Genetic diversity of other aquatic animals

Species	Genetic Markers	Number locations	Number Loci	Percentage polymorphism	Heterozygosities	Genetic distance	Reference
Frog (<i>Rana rugulosa</i>)	Isozymes	7	16	62.5 - 68.7	0.153 - 0.227	0.000 - 0.0941	เฉลิมชัย และคณะ (2540)
Green turtle (<i>Chelonia mydas</i>)	Microsatellite DNA	2	3	19 - 31 ⁽¹⁾	0.74 - 0.87	0.2693	Veerapraditsin (1997)

1 = Number of alleles per locus

การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในสัตว์น้ำ

ข้อมูลพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำที่ได้จากการใช้เทคนิคระดับโมเลกุล นอกจากจะใช้เพื่ออธิบายโครงสร้างประชากรของสัตว์น้ำแล้วยังสามารถนำไปใช้เพื่อจำแนกชนิดและความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ จากรายงานการวิจัยที่รวบรวมได้ มีการนำเอาเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic markers) ไปใช้ในการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ปลาในกลุ่มปลาชนิดที่มีการเพาะเลี้ยง และรวมทั้งการนำเอาข้อมูลพันธุศาสตร์ประชากรในการกำหนดชนิดของหอยขมและปลากระเบนน้ำจืดในประเทศไทย

หอยขม (*Filopaludina* sp.): พบแพร่กระจายอยู่ตามแหล่งน้ำจืดทั่วไป ประชาชนนิยมบริโภคเป็นอาหาร บางชนิดเป็นโฮสต์กึ่งตัวกลางของพยาธิใบไม้ในลำไส้ Tarbsripiar (1998) ได้ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะความแตกต่างของเปลือก โครงสร้างภายในของหอยขมที่รวบรวมได้จากแหล่งต่างๆ 30 แหล่งในประเทศไทย ผลการศึกษาพบว่าสามารถแบ่งหอยขมออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (2 subgenus: *Filopaludina* และ *Siamopaludinal*) และ 10 กลุ่มเล็ก (ประกอบด้วย 4 species และ 6 subspecies) แต่เมื่อศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ยีนควบคุมเอนไซม์ 11 ชนิด รวม 20 โลกัส แล้วคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง 2 สกุลย่อย (subgenus) *Filopaludina* และ *Siamofilopaludina* พบว่ามีค่าระหว่าง 0.182-0.374 จึงจัดให้ทั้ง 2 สกุลย่อยเป็นสกุล (genus) เดียวกัน คือ *Filopaludina* และ จำแนก 10 กลุ่มเล็กเป็นชนิด *Filopaludina* spp. ทั้งหมด

ปลานิล (*Tilapia* spp.): เป็นปลาที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกา มีการนำเข้ามาเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ปัจจุบันกลายเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และเป็นแหล่งอาหารโปรตีนราคาถูกเมื่อเทียบกับปลาอื่นๆ ปัจจุบันนี้ปลานิลเป็นปลาที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เพราะเลี้ยงง่าย โตเร็ว สืบพันธุ์ง่าย และทนทานต่อสิ่งแวดล้อม ปลากลุ่มปลานิลที่มีการนำเข้ามาเพาะเลี้ยงในประเทศไทย มี 4 ชนิด คือ (1) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (2) ปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) (3) ปลาหมอเทศข้างลาย (*Sarotherodon melanotheron*) และปลานิลอิสราเอล (*O. aureus*) ซึ่งปลานิลเหล่านี้มีการผสมข้ามพันธุ์กันได้ง่าย จึงเกิดลูกผสมมากมาย ลูกผสมเหล่านี้จะแสดงรูปร่างลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกลูกผสมและพ่อ-แม่พันธุ์ออกจากกัน ด้วยปัญหาดังกล่าวนี้น พนม(2537) จึงได้สำรวจความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปลานิลทั้ง 4 ชนิดที่เคยถูกนำเข้ามาในประเทศไทยด้วยวิธีเอนไซม์อเล็กโตรโฟเรซิส ซึ่งผลปรากฏว่าจากจำนวนยีน 43 โลกัส มี 26 โลกัส ที่มีความแตกต่างของอัลลีลระหว่างปลาทั้ง 4 ชนิด แต่มีเอนไซม์เพียง 8 โลกัส ที่เหมาะสมสำหรับมาใช้วิเคราะห์ชนิดของปลานิล ซึ่งได้แก่ *AAT-2**, *ADA**, *ADH**, *ALAT**, *CU**, *IDHP-1**, *MDH-3** และ *SOD** ด้วยเทคนิคที่กล่าวแล้วนี้ พนมและศรีรัตน์ (2541) จึงได้ใช้ตรวจสอบปลานิลสายพันธุ์เยอรมันนี ผลการตรวจสอบพบว่าปลานิลสายพันธุ์เยอรมันนีได้สูญเสียความแปรปรวนทางพันธุกรรมไปมากแล้วอันเนื่องมาจาก

genetic drift และพร้อมทั้งได้เสนอแนะให้นำเทคนิคเอนไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิสมาใช้ในการตรวจสอบพันธุกรรมของปลาที่นำเข้ามาให้เสร็จสิ้นก่อนนำไปส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะเลี้ยง

จรัสธาดา และคณะ (2542) ได้ใช้เทคนิคเอนไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิสจำแนกพันธุ์ปลานิลที่พบในน้ำทะเลความเค็มสูงที่บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งในจังหวัดเพชรบุรี โดยเปรียบเทียบกับปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา (*Oreochromis niloticus*) ซึ่งผลปรากฏว่า ปลานิลน้ำเค็ม หรือปลานิลสายพันธุ์เพชรบุรีเป็นปลาลูกผสมเพราะพบองค์ประกอบทางพันธุกรรมของปลานิล 3 ชนิด คือ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) และปลาหมอเทศข้างลาย (*Sarotherodon melanotheron*)

ปลาในวงศ์ปลาสาคร: ปลาในวงศ์ปลาสาครในประเทศไทยที่พบมีอยู่ 4 ชนิด คือ ปลาสาคร (*Notopterus notopterus*) ปลาทราย (*Chitala ornata*) ปลาตองลาย (*C. blanci*) และปลาสะตือ (*C. lopis*) ซึ่งปลาในกลุ่มนี้ไม่อาจแยกออกจากกันชัดเจนโดยอาศัยลักษณะรูปร่างโดยการวัดและนับ นอกจากนั้นปลาในกลุ่มนี้ ขณะที่ยังไม่โตเต็มที่จะมีจุดหรือลวดลายบนลำตัวเหมือนกันทุกชนิด ทำให้การจำแนกทางอนุกรมวิธานกระทำได้ยาก จรัสธาดาและพนม (2542) จึงรวบรวมปลาในกลุ่มนี้จากแหล่งน้ำต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และทำการวิเคราะห์เอนไซม์จำนวน 24 ชนิด ซึ่งควบคุมด้วยยีนทั้งหมด 36 โกลัส นำเอาข้อมูลเอนไซม์ทั้งหมดมาสร้างแผนความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ผลปรากฏว่า ปลาสาครมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมที่แยกออกจากปลาชนิดอื่นๆ อีก 3 ชนิด ได้แก่ ปลาทราย ปลาตองลาย และปลาสะตือ

ปลากระเบนน้ำจืด: ปลากระเบนที่จัดอยู่ในวงศ์(ครอบครัว) Dasyatidae ประกอบด้วยปลากระเบนที่อยู่ได้ทั้งในน้ำเค็ม น้ำกร่อย และน้ำจืด และพบแพร่กระจายทั้งบริเวณคาบสมุทร Atlantic, Indian และ Pacific การจำแนกชนิดปลาในครอบครัวจะใช้หลักฐานจาก fossil และลักษณะภายนอก แต่ Sezaki, et al. (1990) ได้วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณยีน Cytochrome b เพื่อศึกษา molecular phylogenetic relationship ระหว่างปลากระเบนน้ำจืด และน้ำเค็มในสกุล Dasyatis, Himantura และ Pastinachus ผลการศึกษาพบว่าสามารถแบ่งปลากระเบน 12 ชนิด ออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือปลาสกุล Himantura, สกุล Dasyatis แต่กลุ่มที่ 3 คือ สกุล Pastinachus ไม่สามารถจำแนกออกจาก 2 กลุ่มที่กล่าวแล้วได้ ในการศึกษาครั้งนี้ยังสามารถแบ่งปลากระเบนน้ำจืด (*Himantura chaophraya*) ที่พบในประเทศไทยออกจากปลาที่รวบรวมจากประเทศอินเดีย ซึ่งคาดว่าเพราะการแบ่งแยกทางภูมิศาสตร์

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ได้มีการนำเอาเทคนิค protein electrophoresis, RFLP-mtDNA, RAPD และ microsatellite DNA มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้ง หอย ปู ปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ ในประเทศไทยแล้ว ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้ คือ

1. กุ้ง: การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกุ้ง 3 ชนิด คือ กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และ กุ้งก้ามกราม ซึ่งเป็นกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ การวิเคราะห์ไอโซไซม์ในกุ้งกุลาดำ พบความแตกต่างระหว่างประชากรกุ้งกุลาดำในทะเลอันดามันและในอ่าวไทย แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างในบริเวณอ่าวไทย แต่เมื่อใช้เทคนิคที่ละเอียดขึ้น คือ mtDNA, RAPD และ microsatellite DNA จึงสามารถจำแนกประชากรกุ้งในอ่าวไทย (ตราด และ ชุมพร) ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้ จึงได้นำไปใช้เพื่อคัดเลือก stock พ่อ-แม่พันธุ์กุ้งในโครงการปรับปรุงพันธุ์เป็นที่น่าสนใจว่า มีการนำเทคนิคระดับโมเลกุลทั้งหมดที่ใช้กันในปัจจุบันมาใช้ในการวิเคราะห์

2. หอย: ได้มีการนำเทคนิคการวิเคราะห์ไอโซไซม์มาใช้ในการจำแนกชนิดของหอยขม และแบ่งแยกประชากรของหมีกหอม และมีการวิเคราะห์ RAPD-markers เพื่อจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยนางรม หรือหอยตะไกรกรมขาว

3. ปู: การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปูนา 3 ชนิด ด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์พบว่ามียูค่อนข้างต่ำ ซึ่งแสดงว่าปูนามีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมาก ส่วนปูทะเล เมื่อใช้ RAPD-markers วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในปูทะเล 3 ชนิด พบว่าในแต่ละชนิดมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

4. ปลา: ปลาสำคัญทางเศรษฐกิจคือ ปลานิล ปลาช่อน ปลาดุกอูย ปลาดุกค่าน และปลาสิด ได้มีการนำเอาการวิเคราะห์ไอโซไซม์มาใช้จำแนกสายพันธุ์ปลานิล วิเคราะห์ประชากรปลาช่อน ปลาสิด ปลาชีวนาข้าว และปลาดุกอูย ในปลาช่อนการแบ่งแยกประชากรมีความสัมพันธ์กับลุ่มน้ำ ส่วนปลาดุกแบ่งประชากรได้ตามแหล่งอาศัยทางภูมิศาสตร์ นอกจากเทคนิคเอนไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิสแล้ว ยังมีการนำเอาเทคนิค microsatellite DNA มาใช้กับปลาดุกอูย และ RAPD กับปลาดุกค่าน

5. สัตว์น้ำอื่นๆ: ได้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกบนาและเต่าตะนุ การวิเคราะห์อัลโลไซม์พบว่าประชากรกบนาส่วนใหญ่มีความใกล้ชิดกันมาก และเมื่อใช้ microsatellite DNA ในเต่าตะนุทำให้สามารถแบ่งแยกประชากรเต่าตะนุในทะเลอันดามันและในอ่าวไทยได้

6. เมื่อพิจารณาจากจำนวนรายงานการวิจัยสาขาพันธุศาสตร์ประชากรสัตว์น้ำที่สถาบันหรือองค์กรต่างๆ ได้นำเสนอรายงานการวิจัยแล้ว เรียงลำดับตามจำนวนมากน้อยของรายงานการวิจัย มีดังต่อไปนี้คือ กรมประมง (16), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (9), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (6), สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (6), มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (3) มหาวิทยาลัยมหิดล (2) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (1) และ สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (1)

7. เมื่อพิจารณาถึงเทคนิคที่นักวิจัยจากสถาบันต่างๆ ได้นำมาใช้ในการศึกษาวิจัย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเชี่ยวชาญของนักวิจัยและรวมถึงศักยภาพของเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่มีอยู่เพื่อการวิจัย มีดังต่อไปนี้คือ

— กรมประมง	}	มีความเชี่ยวชาญทาง	เอนไซม์อิเล็กโตรโฟเรซิส
— มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ			
— จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย			
— สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ	}	— “ —	mtDNA, RAPD-PCR, microsatellite DNA
— มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์		— “ —	เอนไซม์อิเล็กโตรโฟเรซิส, RAPD-PCR, microsatellite DNA
— มหาวิทยาลัยมหิดล	}	— “ —	RAPD-PCR
— มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		— “ —	mtDNA-pattern
— สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย			

จากผลการศึกษครั้งนี้ใคร่ขอให้ข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. ตารางที่ 6 และ ที่ 7 แสดงถึงบัญชีรายชื่อของสัตว์น้ำจืดและน้ำเค็มที่มีการจับและบันทึกมูลค่าทางเศรษฐกิจไว้เมื่อปี 2541 ตามลำดับ จะพบว่าสัตว์น้ำที่มีการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรแล้วมีน้อยมากเมื่อเทียบกับจำนวนสัตว์น้ำทั้งหมด ดังนั้น จึงควรสนับสนุนให้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในชนิดสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ ซึ่งมีจำนวนอีกมากมาย เช่น กรณีของสัตว์ทะเล ทั้งที่มีการเพาะเลี้ยงแล้ว หรือที่จับมาจากธรรมชาติ เพื่อประโยชน์ในการจัดการทางการประมงให้เหมาะสมในโอกาสต่อไป

2. ในกรณีชนิดของสัตว์น้ำที่กำลังอยู่ในสถานภาพมีแนวโน้มสูญพันธุ์ (vulnerable) ซึ่งมีจำนวน 155 ชนิด (สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, 2540) ควรจะสนับสนุนให้มีการศึกษาอย่างเร่งด่วนและให้สมบูรณ์เป็นระบบ เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการอนุรักษ์อย่างทันทั่วถึง

3. ควรสนับสนุนให้มีการใช้เทคนิคที่ให้ข้อมูลที่ละเอียดกว่า มาใช้วิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น การวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ ฯลฯ เป็นต้น

4. จากการสอบถามนักวิจัยผู้ปฏิบัติงานทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรจะประสบปัญหาแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดสัตว์ทดลองที่ศึกษา เช่น ปัญหาการขาดแคลนตัวอย่างการทดลองที่จำเพาะต่อแหล่งที่ต้องการศึกษา ปัญหาความไม่เข้าใจถึงวิธีการวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์ประชากรที่มีความซับซ้อนทางคณิตศาสตร์ ดังนั้นจึงควรจัดให้มีการอบรมเชิงปฏิบัติการทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรที่ได้มีระบบโดยการอบรมให้รู้จักเทคนิคในการเข้าถึงข้อมูล รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อใช้อธิบายโครงสร้างประชากร

ตารางที่ 6 บัญชีรายชื่อสัตว์น้ำจืดที่ได้มีการบันทึกปริมาณและมูลค่าที่จำหน่ายในปี 2541

ปลา	
1. ปลากด	25. ปลาไน
2. ปลากดทะเล	26. ปลาบู่
3. ปลากะทิง	27. ปลาชี่สก
4. ปลากะบอก	28. ปลาชี่สกเทศ
5. ปลากะมัง	29. ปลาแรด
6. ปลากะสง	30. ปลาสร้อยขาว
7. ปลากะตูป	31. ปลาสร้อยนกเขา(ปลาพรม)
8. ปลาทราย	32. ปลาสลิด ☆
9. ปลาเก๋า(ปลากา)	33. ปลานิล #
10. ปลาแขยง	34. ปลาสาวย
11. ปลาเค้า	35. ปลาสังกะวาด
12. ปลาจีน	36. ปลาหมอ
13. ปลาฉลาม	37. ปลาหมอช้างเหยียบ
14. ปลาช่อน ☆	38. ปลาหลด
15. ปลาชะโด	39. ปลาไหล
16. ปลาชะโอน	40. ปลาอื่นๆ (ปลาชีวโนนาข้าว) ☆
17. ปลาดุก (อุย, ค้าน) ☆	กึ่ง
18. ปลาแดง	1. กึ่งก้ามกราม # ☆
19. ปลาตะโกก	2. กึ่งกะต้อม (กึ่งหัวแข็ง)
20. ปลาตะเพียน	3. กึ่งหัวมัน
21. ปลาเทโพ	4. กึ่งอื่นๆ
22. ปลานวลจันทร์	
23. ปลานาง	
24. ปลาเนื้ออ่อน	

ที่มา: กองเศรษฐกิจการประมง, กรมประมง

= ศึกษาเครื่องหมายพันธุ์กรรมแล้ว

☆ = ศึกษาพันธุ์ศาสตร์ประชากรแล้ว

ตารางที่ 7 บัญชีรายชื่อสัตว์น้ำเค็มที่ได้มีการบันทึกปริมาณและมูลค่าที่จำหน่ายในปี 2541

ปลา	
1. ปลาทุ	28. ปลาตุกทะเล
2. ปลาลัง	29. ปลากดทะเล
3. ปลาอินทรี	30. ปลากะเบน
4. ปลาดาบขาว	31. ปลาฉลาม
5. ปลาโอดำ	32. ปลาลิ้นหมา
6. ปลาโอขาว	33. ปลาจักรฟาน
7. ปลาทุแขก	34. ปลาขอดจาก
8. ปลาแซ่ไก่	35. ปลาเก๋า
9. ปลาสีขุน	กึ่ง
10. ปลาสีขุนตาโต	1. กึ่งแซบ้วย # ☆
11. ปลาลำดี	2. กึ่งกุลาดำ # ☆
12. ปลาทุเร	3. กึ่งกุลาลาย
13. ปลาหลังเขียว	4. กึ่งเหลือง
14. ปลากะตัก	5. กึ่งโอดัก
15. ปลากระบอก	6. กึ่งอื่นๆ
16. ปลาจะละเม็ดดำ	7. เคย
17. ปลาจะละเม็ดขาว	8. กึ่งกระดาน
18. ปลาน้ำดอกไม้	9. กึ่งไข่
19. ปลาจวด	หอย
20. ปลาทรายแดง	1. หอยแครง
21. ปลาทรายขาว	2. หอยแมลงภู่
22. ปลาปากคม	3. หอยนางรม # ☆
23. ปลาดาบเงิน	4. หอยกะพง
24. ปลากะพงแดง	5. หอยลาย
25. ปลากะพงขาว	6. หอยเชลล์
26. ปลาตาโตตาหวาน	7. หอยอื่นๆ
27. ปลาเห็ดโคน	

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ปู	สัตว์น้ำเค็มอื่นๆ
1. ปูม้า 2. ปูทะเล ☆ 3. ปูอื่นๆ	1. แมงกะพรุน 2. เต่าทะเล # 3. ปลิงทะเล
หมึก	
1. หมึกกล้วย 2. หมึกหอม ☆ 3. หมึกสาย	

ที่มา: กองเศรษฐกิจการประมง, กรมประมง

= ศึกษาเครื่องหมายพันธุ์กรรมแล้ว

☆ = ศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรแล้ว

เอกสารอ้างอิง

- กองประมงทะเล. 2542. ทิศทางการประมงทะเลของไทย. วารสารการประมง 52:170-193.
- กองเศรษฐกิจการประมง. 2542. สถิติปริมาณและมูลค่าสัตว์น้ำจืด ณ ทำขึ้นปลาต่างๆ ประจำปี 2541. เอกสารฉบับที่ 4/2542. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 35น.
- กองเศรษฐกิจการประมง. 2542. สถิติการประมงแห่งประเทศไทยปี พ.ศ. 2539. เอกสารฉบับที่ 5/2542. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 60น.
- กองส่งเสริมการประมง. 2533. การเพาะพันธุ์ปลาไทย. เอกสารการฝึกอบรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 80น.
- จรัสธำดา กรรณสูต และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2542. ลักษณะและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปลาในวงศ์ปลาสาครที่พบในประเทศไทย. วารสารการประมง 52:565-578.
- จรัสธำดา กรรณสูต วงศ์ปฐม กมลรัตน์ และ ชวัชชัย งามศิริ. 2542. การจำแนกพันธุ์ปลานิลที่พบในน้ำทะเลความเค็มสูงเขตการเลี้ยงอาร์ทีเมียสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรีโดยการวิเคราะห์ห่อเล็กโครโมโซม. วารสารการประมง 52(6): 533-542.
- เฉลิมชัย สุวรรณรักษ์ บุญรัตน์ ประทุมชาติ และ พนม สอดสุข. 2540. การศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมและการวัดความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรกบนา (*Rana rugulosa*) ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14 กรมประมง, กรุงเทพฯ. 21 น.
- นงลักษณ์ สกุลญานนทวิทยา อนันต์ พุทธิยาสาธพร พันธุ์สิน เกตุทัต สุมนหา พรหมบุญ และ ไพบูลย์ นัยเนตร. 2540. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปูน้ำจืดในภาคกลางของประเทศไทย. รายงานการวิจัยเสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 23น.
- นวลมณี พงศ์ธนา แสงทอง ประเสริฐวิริยะกุล และ พุทธิรัตน์ เป้าประเสริฐกุล. 2542. โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาสลิดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 23/2542. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 59น.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2537. ข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับตรวจสอบปลาในกลุ่มปลานิล 4 ชนิดโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส. วารสารการประมง 47(6): 525-539.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างทางพันธุกรรมในปลากลุ่มปลานิล 4 ชนิดที่เขื่อนจำปาสัก. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11 กรมประมง, กรุงเทพฯ. 23น.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข และ เบรนดัน เจ แม็คแอนดรูว์. 2538. อัลโลไซม์และความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาในกลุ่มปลานิล. วารสารการประมง 48 :331-344.

- พนม กระจำพจน์ สอดสุข และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2541. การระบุพันธุ์กรรมของสต็อกปลานิลจากเยอรมันน์โดยวิธีอัลโลไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิส. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2541. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 6น.
- พันธุ์สิน เกตุทัต นงลักษณ์ สุกุลยานนท์วิทยา วรากร กิจวิริยะ อนันต์ พุทธิพิทยาสถาพร และ สุมณฑา พรหมบุญ. 2536. การวัดความผันแปรทางพันธุกรรมของปูนา, *Somanniathelphusa dugasti* ใน 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว 9(1): 20-32.
- พิษณุ นอนันต์. 2541. การเพาะเลี้ยงปลากระบอกดำ (*Liza subviridis*) ในบ่อดินเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์. วารสารการประมง 51:325-330.
- ยุพิน วิวัฒน์ชัยเศรษฐ. 2541. การเพาะเลี้ยงปลาที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา. วารสารการประมง 51:363-367.
- รัตนา ผลธัญญา. 2532. การศึกษา isozymes ในหอยตะไกรมกรามขาวและดำ. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27, น. 473-479. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- รุ่งนภา ฝาสุข. 2540. การหาชนิดเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อเพศในเต่าตะนุ, *Chelonia mydas*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 93น.
- สรมน โพร้ทอง. 2536. การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของปูนา 2 ชนิด *Somanniathelphusa germaini* (Rathbun, 1902) กับ *Somanniathelphusa bangkokensis* (Naiyanetr, 1982) ในภาคกลางของประเทศไทยโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, กรุงเทพฯ. 116น.
- ศรีรัตน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างและโครงสร้างทางพันธุกรรมของกึ่งกุลาดำในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 19น.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2541. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งก้ามกรามจาก 3 แหล่งในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 18/2541. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 40น.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2542. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งเข็ญ. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37, น. 51-58, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์. 2542. การเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮือเชิงพาณิชย์. วารสารการประมง 52:395-401.
- สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวิ ประจวบ หล้าอุบล อภิชาติ วรณวิจิตร และ สมวงษ์ ตรีภูมร่ง. 2543. การพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กึ่งกุลาดำ. เอกสารเผยแพร่. 6น.

- สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม.2540.รายงานการประชุมสถานภาพทรัพยากรชีวภาพของประเทศ
ไทย.กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม,กรุงเทพฯ.52น.
- อำนาจ จรด้าง ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และ เจริญ ทิวโคกสูง. 2543. การวิเคราะห์ความหลากหลายทาง
พันธุกรรมของปลาดุกด้านด้วยวิธีพีซีอาร์. รายงานการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการ
วิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 22น.
- Allendorf, F. and N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stocks. *In* N. Ryman and F.
Utter (ed). *Population Genetics & Fishery Management*, pp.1441-1459, University of
Washington Press, Seattle.
- Allendorf, F., N. Ryman and F. Utter. 1987. Genetics and fishery management : Past, present and
future. *In* N. Ryman and F. Utter (ed). *Population Genetics & Fishery Management*,
pp.1-20, University of Washington Press, Seattle.
- Awise, J.C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. Allendorf E. Neigel, C.A. Reeb and
N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between
population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- Baverstock,P.R. and C.Moritz.1990.Sampling design.*In* D.M.Hillis and C. Moritz(ed).*Molecular
systematics*,pp. 13-24,Sinauer Associates,Inc.,Massachusetts.
- Bermingham, E. 1990. Mitochondrial DNA and the analysis of fish population structure. *In*. D.H.
Whitmore (ed). *Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management*.
pp. 197-239, CRC Press, Inc., Boston.
- Boore, J.L. 1999. Survey and summary: Animal mitochondrial genome. *Nucleic Acids Res.* 27: 1767-
1780.
- Chakraborty, R. and O. Leimar. 1987. Genetic variation within a subdivided population.
In N. Ryman and F. Utter (ed).*Population genetics and fishery management*.pp.59-120.
University of Washington Press, Seattle.
- Ferris, S.D. and W.J. Berg. 1987. The utility of mitochondrial DNA in fish genetics and fishery
management. pp. 277-300.*Ibid*.
- Haiqing, S. 1997. Comparison of the genetic structure of four Tilapia strains using mtDNA analyses.
M.S. Thesis. Asian Institute of Technology. 53pp.
- Hara, M., M. Sekino and U. Na-Nakorn. 1998. Genetic differentiation of natural population of the
snake-head fish, *Channa striatus*, in Thailand. *Fisheries Science* 64: 882-885.

- Hoelzel, A.R. and A. Green. 1992. Analysis of population level variation by sequencing PCR-amplified DNA. *In* A.R. Hoelzel (ed). Molecular genetic analysis of populations: A practical approach, pp. 159-188, IRL Press, Oxford.
- Hoelzel, A.R. and G.A. Dover. 1991. Molecular genetic ecology. IRL Press, Oxford. 75pp.
- Klinbunga, S., B. Pratoomchat, D.J. Penman, B.J. McAndrew and P. Menasveta. 1996. Development of a DNA probe based on PCR primed with M13 core sequences and its application for multilocus DNA fingerprinting in the giant tiger shrimp. *Thai J. Aquat. Sci.* 3:21-35.
- Klinbunga, S., D.J. Penman and B.J. McAndrew. 1998. A preliminary study of ribosomal DNA polymorphism in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *J. Mar. Biotechnol.* 6:186-188.
- Klinbunga, S., D.J. Penman, B.J. McAndrew and A. Tassanakajon. 1999. Mitochondrial DNA diversity in three populations of the giant tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Mar. Biotechnol.* 1: 113-121.
- Klinbunga, S., A. Boonyapakdee and B. Pratoomchat. 2000a. Genetic diversity and species-diagnostic markers of mud crabs (Genus *Scylla*) in eastern Thailand determined by RAPD analysis. *Mar. Biotechnol.* 2: 180-187.
- Klinbunga, S., P. Ampayup, A. Tassanakajon, P. Jarayabhand and W. Yoosukh. 2000b. Development of species-specific markers of the tropical oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand. *Mar. Biotechnol.* (in press)
- Klinbunga, S., P. Ampayup, A. Tassanakajon, P. Jarayabhand and W. Yoosukh. 2000c. Genetic diversity and molecular markers of commercial oysters (Genera *Crassostrea* and *Saccostrea*) in Thailand determined by RAPD analysis. *J. Mollus. Studies* (in press)
- Lynch, M. 1991. Analysis of population genetic structure by DNA fingerprinting. *In* T. Burke, G. Dolf, A. Jeffreys and R. Wolf (eds). DNA fingerprinting: Approaches and Applications, pp 113-126. Birkhauser Verlag, Basel.
- Lynch, M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers, *Mol. Ecol* 3: 91-99.
- Monkolprasit, S., S. Sontirat, S. Vimollohakarn and T. Songsirikul. 1997. Checklist of fishes in Thailand. Office of Environmental Policy and Planning, Bangkok. 352 pp.
- Murphy, R.W., J.W. Sites, Jr., D.G. Buth and C.H. Haufler. 1990. Proteins I: Isozyme electrophoresis. *In* D.M. Hillis and C. Moritz. Molecular systematics, pp 45-126, Sinauer Associates, Inc. Publisher, Massachusetts.

- Murugan, A., M. Niklasson, S. Bussarawit, C. Aungtonya and F. Boneka. 1999. Allozyme comparison of black-scar oyster population of India, Thailand and Malaysia. Phuket Marine Biological Center Special Publication no. 19(1):139-144.
- Na-Nakorn, U., M. Hara, N. Taniguchi and S. Seki. 1998. Isozymes variation of *Clarias macrocephalus* from four locations in Thailand. Fisheries Science 64:526-530.
- Na-Nakorn, U., N. Taniguchi, E. Nugroho, S. Seki and W. Kamonrat. 1999. Isolation and characterization of microsatellite loci of *Clarias macrocephalus* and their application to genetic diversity study. Fisheries Science 65: 520-526.
- Phongdara, A., W. Chotigeat, A. Chandumpai, C. Tanthana and P. Duangtong. 1999. Identification of *Penaeus merguensis* and *Penaeus indicus* by RAPD-PCR derived DNA markers. ScienceAsia 25:143-151.
- Pongsomboon, S., V. Whan, S.S. Moore and A. Tassanakajon. 2000. Characterization of tri-and tetranucleotide microsatellites in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. ScienceAsia 26:1-8.
- Pongthana, N., K. Amponsak and P. Baoprasertkul. 1998. Genetic characteristics and performances among populations of oyster (*Crassostrea belcheri*, Sowerby) along the coasts of Thailand. The 5th Asian Fisheries Forum, November 11-14, 1998, Chiang-Mai, Thailand. 19 pp.
- Pratooomchat, B., Y. Natsukari, I. Miki and C. Chalermwat, 1998. Comparative genetic diversity of Japanese and Thai populations of squid. The Fifth International Congress on Medical and Applied Malacology, pp. 1-13, Chaingmai.
- Sezaki, K., R.A. Begum, P. Wongrat, M.P. Srivastava, S. SriKantha, K. Kikuchi, H. Hishihara, S. Tanaka, S. Taniuchi, and S. Watabe. 1999. Molecular phylogeny of Asian freshwater and marine stingrays based on the DNA nucleotide and deduced amino acid sequences of the cytochrome *b* gene. Fisheries Science 65:563-570.
- Shaklee, J.B., S.R. Phelps and J. Salini. 1990. Analysis of fish stock structure and mixed-stock fisheries by the electrophoretic characterization of allelic isozymes. In D.H. Whitmore (ed). Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management, pp. 173-196, CRC Press, Boston.
- Sodsuk, S. 1996. Genetic population structure of *Penaeus monodon* using allozyme and mitochondrial DNA analysis. Ph.D. Thesis. University of Stirling, Stirling. 276 pp.

- Supungul, P., P. Sootanan, S. Klinbunga, W. Kamonrat, P. Jarayabhand, and A. Tassanakajon. 2000. Microsatellite polymorphism and the population structure of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. *Mar. Biotechnol.* 2:339-347.
- Suvati, C. 1967. Fauna of Thailand. Applied scientific Research Co-operation of Thailand, Bangkok. 1100pp.
- Takata, K., M. Hoshino, W. Magtoon, N. Nadee and H. Uwa. 1993. Genetic differentiation of *Orzyias minutillus* in Thailand. *Japan. J. Ichthyol.* 39(4):319-327.
- Takezaki, N. and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389-399.
- Tarbsripair, P. 1998. The genus *Filopaludina* (Prosobranchia:Gastropoda) of Thailand: Morphology, anatomy, allozymes and systematic relationships. Ph.D. Thesis, Mahidol University, Bangkok. 120pp.
- Tassanakajon, A., S. Pongsomboon, P. Jarayabhand, S. Klinbunga and V. Boonsaeng. 1998a. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J. Mar. Biotechnol.* 6: 249-254.
- Tassanakajon, A., A. Tipawonnukul, P. Supungul, V. Rimpanitchayakit, D. Cook, P. Jarayaphand, S. Klinbunga, and V. Boonsaeng. 1998b. Isolation and characterization of microsatellite markers in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 7:55-61.
- Templeton, A.R. 1995. Biodiversity at the molecular genetic level: Experience from disparate macroorganism. *In* D.L. Hawksworth (ed). Biodiversity: Measurement and estimation, pp. 59-64. Chapman&Hall, London.
- Veerapraditsin, T. 1997. Microsatellite DNA variation in green turtles *Chelonia mydas* of Thailand, M.S. Thesis. Chulalongkorn University. Bangkok. 100pp.
- Weir, B.S. 1996. Genetic data analysis II. Sinauer Associates. Inc., Messashusettes. 445pp.
- Yaitavorn, P., S. Panyim, S. Panichajakul and P. Menasveta. 1991. Mitochondrial DNA probe for detecting genetic variation in giant freshwater prawn (*Macrobrachium resonbergii* de Man). Proceeding of the 3rd Technical Conference on Living Aquatic Resources, pp. 256-265, Chulalongkorn University, Bangkok.