

ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย: สรุปผลการศึกษา คุณประโยชน์ที่ได้รับ และแนวทางการใช้ประโยชน์

Genetic diversity in the blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) and mud crab (*Scylla* spp.) populations of Thailand: conclusion of the study results, benefits and utilizations

พนม กระจำพจน์ สอดสุข* ศรีรัตน์ สอดสุข และ พลชาติ ผิวฉน

Panom K. Sodsuk*, Srirat Sodsuk and Ponlachart Pewnane

สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ ปทุมธานี 12120

Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute, Pathum Thani 12120, Thailand.

*Corresponding author: panoms@fisheries.go.th

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลต์ และเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ผลการศึกษาที่ได้มีดังนี้ (1) พัฒนา และ/หรือ ทดสอบไมโครแซทเทลไลต์ไพรมอร์ในปูม้า 11 คู่ไพรมอร์ และในปูทะเล 9 คู่ไพรมอร์ (2) ศึกษาลักษณะ ความแตกต่างระหว่างชนิดปู ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ พบว่า สามารถจำแนกชนิดปูทะเล (*Scylla* spp.) ในน่านน้ำไทยออกได้เป็น 4 ชนิด (ปูดำ *S. olivacea*, ปูขาว *S. paramamosain*, ปูเขียว *S. serrata*, และปู ม่วง *S. tranquebarica*) (3) ได้โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดปูทั้งหมด (ปูม้า ปูดำ ปูขาว ปู เขียว และปูม่วง) จากการวิเคราะห์ด้วยข้อมูลจากเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ และ (4) ได้ค่าความ ผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย และทราบลักษณะ โครงสร้างความสัมพันธ์ และความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ภายในชนิดของปูม้าและปูทะเล จากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์

ABSTRACT

Genetic diversity in blue swimming crab and mud crab populations of Thailand was studied based on the molecular genetic marker techniques, microsatellite and allozyme. Results of the study are as follows: (1) eleven pairs of microsatellite primers were developed and/or tested in the blue swimming crab, and nine pairs in the mud crabs; (2) interspecifically and allozymically, the mud crabs (*Scylla* spp.) were classified into four species (the “black”, *S. olivacea*; “white”, *S. paramamosain*; “green”, *S. serrata*; and “purple”, *S. tranquebarica*); (3) with the allozyme-based analysis, the interspecific genetic structure and relationships of all the blue swimming and mud crabs species were clearly shown; (4) with the microsatellite-based analysis, informative knowledge of the genetic variability and variation in the blue swimming and mud crab populations of Thailand, and the interpopulation differentiation and structure within the crab species were attained.

คำสำคัญ: ปูม้า ปูทะเล ความหลากหลายทางพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลต์ อัลโลไซม์

Keywords: *Portunus pelagicus*, *Scylla* spp., genetic diversity, microsatellite, allozyme

บทนำ

เพื่อให้ได้ข้อมูล/องค์ความรู้ทางวิชาการ ซึ่งจะ เป็นพื้นฐานสำคัญต่อการบริหารการใช้ประโยชน์ ทรัพยากรปูม้าและปูทะเล ทั้งในด้านการอนุรักษ์และ คุ้มครองพันธุ์ในธรรมชาติ ตลอดจนการเพาะเลี้ยง และพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต โครงการ “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ใน ประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย” จึงได้รับอนุมัติให้ ดำเนินการ ภายใต้งบประมาณสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โดยมี วัตถุประสงค์ คือ (1) พัฒนา และ/หรือ ทดสอบ เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite DNA marker) ในปูม้าและปูทะเล (2) ศึกษาการจำแนก/ระบุชนิดปูทะเล (*Scylla* spp.) ใน น้ำน่าน้ำไทย โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (allozyme marker) (3) ศึกษาข้อมูลความหลากหลาย ทางพันธุกรรมซึ่งประกอบด้วย ข้อมูลความผันแปร และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความ แตกต่างทางพันธุกรรม และลักษณะโครงสร้างความ สัมพันธ์ทางพันธุกรรม ในประชากรปูม้าและปูทะเล

โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์และ (4) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่าง ประชากรปูม้า (*Scylla* sp.) ของไทยและของพม่า

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างปูม้าและปูทะเล

ตัวอย่างปูม้าและปูทะเล (*Scylla* spp.) ที่ใช้ในการ ศึกษาครั้งนี้ ได้จากการเก็บรวบรวมจากแหล่งต่างๆ ทั้งในฝั่งอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน 4 ขอบเขตพื้นที่ ได้แก่ (1) อ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก (เพชรบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ชลบุรี เกาะสีชัง ระยอง และตราด) (2) อ่าวไทยตอนกลาง (ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี อ. สีชล จ. นครศรีธรรมราช) (3) อ่าวไทยตอนล่าง (อ. ระโนด จ. สงขลา ซึ่งติดกับ นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) และ (4) ฝั่งทะเลอันดามัน (ระนอง กระบี่ ภูเก็ต สตูล และปูจากฝั่งพม่าที่นำเข้ามาทาง จ. ระนอง) (ภาพที่ 1)

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อจากส่วนขาของ ปูม้า และปูทะเลโดยแยกตามชนิด หลังจากที่ได้ ศึกษาลักษณะภายนอก ของตัวอย่างปูทะเลในบริเวณ

PHYLP (Felsenstein, 1990)

การวิเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์

นำตัวอย่างดีเอ็นเอจากประชากรปูม้าและปูทะเลที่เตรียมไว้แล้ว มาเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์ไพรเมอร์ ที่ได้พัฒนาและทดสอบไว้แล้ว จำนวน 4 คู่ (DOFBSC3, DOFBSC19/DOFBSC27, DOFBSC23 และ DOFMC8) ในปูม้า และ 3-6 คู่ (DOFMC4, DOFMC9 และ DOFMC13 และ/หรือ DOFMC1, DOFMC3 และ DOFMC8) ในปูทะเล แล้วแยกขนาดด้วยวิธี denaturing polyacrylamide sequencing gel electrophoresis ใช้เวลา 2.5-3 ชั่วโมง ภายใต้แรงเคลื่อนไฟฟ้าคงที่ 40 โวลต์ แล้วจึงนำเจลมาย้อมด้วย silver stain และวิเคราะห์ผล

การวิเคราะห์ข้อมูลจากการศึกษาด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์

(1) การวิเคราะห์ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

วิเคราะห์ค่า N_a (averaged number of alleles), N_e (effective number of alleles) และ H_o & H_e (observed & expected heterozygosities) โดยใช้โปรแกรม POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) และค่า R (allelic richness) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 1.2 (Goudet, 1995) ทั้งนี้รูปแบบพันธุกรรม heterozygous และ homozygous genotypes ของแต่ละโลกัสที่ตรวจพบในแต่ละประชากร จะถูกทดสอบตามทฤษฎีสถิตสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium hypothesis) โดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ที่มีการแก้ไข (Yates correction) สำหรับข้อมูลที่มาจากตัวอย่างจำนวนน้อยใช้ตามวิธีของ Siegel (1956)

(2) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity และการวิเคราะห์โครงสร้าง

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในชนิด

การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ได้ดำเนินการเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างแต่ละแหล่งในแต่ละขอบเขตพื้นที่นั้นๆ หลังจากนั้นจึงรวมตัวอย่างที่ไม่แสดงความแตกต่างเข้าด้วยกัน แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของแต่ละขอบเขตพื้นที่ เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลในภาพรวม (พนม และศรีรัตน์, 2550)

รูปแบบโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมหรือ dendrogram วิเคราะห์ด้วยวิธี Cluster analysis ของ Sneath and Sokal (1973) ด้วยวิธี WPGMA (Weighted Pair-Group Method with Arithmetic averaging) (Swofford and Selander, 1989) โดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (standard genetic distance, D) ที่ได้จากการคำนวณตามวิธีของ Nei (1978) และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BIOSYS-1 version 1.7 (Swofford and Selander, 1989)

(3) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยการวิเคราะห์ AMOVA (Analysis of MOlecular VAriance)

วิเคราะห์ค่า Variance components และ Fixation indices หรือ F-statistics แล้วทดสอบค่าดังกล่าว (วิเคราะห์ค่า p) เพื่อตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ (among groups/regions) และความแตกต่างระหว่างแหล่ง/ประชากรในแต่ละขอบเขตพื้นที่ (among populations/sources within groups/regions) โดยวิเคราะห์แต่ละชนิดแยกจากกันทั้งในปูม้า และปูทะเล เมื่อการวิเคราะห์แสดงผลว่ามีนัยสำคัญในความแตกต่าง ก็จะวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกคู่ประชากร ทั้งนี้ ค่า p ที่ใช้สำหรับทดสอบค่า F-statistics ทุกการทดสอบ กำหนดนัยสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% ก็คือเมื่อค่า p ต่ำกว่า 0.02 (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) การวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนนี้ใช้โปรแกรม Arlequin version 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006)

ผลการทดลองและวิจารณ์

เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ในปูม้าและปูทะเล

การศึกษาค้นคว้าได้ไมโครแซทเทลไลต์ไพรเมอร์ที่ผ่านการทดสอบและปรับสภาพพีซีอาร์เรียบร้อยแล้วเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์และตรวจสอบข้อมูลทางพันธุกรรม ในปูม้า 11 คู่ไพรเมอร์ คือ DOFBSC3, DOFBSC4, DOFBSC19, DOFBSC23, DOFBSC25, DOFBSC26, DOFBSC27, DOFBSC28, DOFBSC29, DOFBSC30 และ DOFMC8 (ตารางที่ 1) และในปูทะเล 9 คู่ไพรเมอร์ คือ DOFMC1, DOFMC2, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC10, DOFMC12 และ DOFMC13 (ตารางที่ 2)

ความแตกต่างและลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปูทะเลและปูม้า

(1) ปูทะเล

จากการศึกษาลักษณะความแตกต่างระหว่างชนิดปูทะเล ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ (ตารางที่ 3) พร้อมไปกับลักษณะเด่นภายนอก (distinct morphological characters) (ภาพที่ 2-4) ที่ใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการแยกชนิดและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของปูทะเล (กาญจนา และณัฐกร, 2548; Keenan et al., 1998) ปรากฏว่า สามารถจำแนกชนิดปูทะเลในน่านน้ำไทยออกได้เป็น 4 ชนิด ได้แก่ ปูดำ *Scylla olivacea* (Herbst, 1796), ปูขาว *Scylla paramamosain* (Estampador, 1949), ปูเขียว *Scylla serrata* (Forsk., 1775), และปูม่วง *Scylla tranquebarica* (Fabricius, 1798) (ภาพที่ 5) จากข้อมูลใน ตารางที่ 4 แสดงแหล่งและจำนวนของปูทะเลแต่ละชนิด ที่สามารถเก็บตัวอย่างได้และนำมาใช้ในการศึกษา ทำให้สามารถคิดเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมของปูทะเลแต่ละชนิดในประเทศไทยได้ (พนม และศรีรัตน์, 2550) กล่าวคือ ปูดำ ปูขาว ปูม่วง และปูเขียว จะมีความชุกชุมประมาณ 45, 38, 14 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากจำนวนแหล่งที่พบ (ไม่รวมพม่า) และ 50,

40, 9 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากจำนวนตัวอย่างที่เก็บได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ปูเขียวเป็นปูทะเลชนิดที่พบยากที่สุด (rare species) ของไทย รองลงมาคือปูม่วง ส่วนปูดำและปูขาวถึงแม้จะสามารถพบได้ ในพื้นที่ทั้งในฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน แต่ก็ปรากฏว่าปูดำเป็นชนิดที่ชุกชุมที่สุด (dominant species) ของฝั่งอันดามัน (ตารางที่ 4)

(2) ปูม้า

จากการศึกษาและการสำรวจเก็บตัวอย่างในครั้งนี้ ยังคงพบว่าปูม้าที่มีชื่อเรียกทั่วไปว่า 'blue swimming crab' ที่พบในน่านน้ำไทย มีเพียงชนิดเดียวเท่านั้นคือชนิดที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) (ภาพที่ 5, ตารางที่ 5) เช่นเดียวกับที่มีการรายงานไว้เมื่อหลายสิบปีมาแล้ว (สุเมธ, 2527; Suvatti, 1950) อย่างไรก็ตาม อาจเพราะด้วยลักษณะลวดลายภายนอกตามลำตัว และบนกระดองของปูม้าที่เป็นจุดเด่นสำคัญ จึงทำให้มีเอกสารหลายฉบับรวมทั้ง FAO ใช้ชื่อเรียกทั่วไปของปูม้านี้ว่า 'flower crab' (Ng, 1998) ซึ่งน่าจะหมายถึงปูที่มีลวดลายเหมือน 'ดอกไม้' นั่นเอง ตามรายงานของ Ng et al. (2008) ได้ระบุถึงกลุ่มปู '*Portunus pelagicus*' 4 ชนิดที่มีความสับสนกัน (complex) แต่ด้วยข้อมูลจากการศึกษาทั้งจากลักษณะภายนอกและการศึกษาในระดับโมเลกุล จึงเป็นที่เข้าใจและยอมรับปู 4 ชนิดในชื่อวิทยาศาสตร์ที่แตกต่างกัน ซึ่งนอกจากจะได้แก่ปูม้า หรือ *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) แล้ว อีก 3 ชนิดก็คือ *P. segnis* (Forsk., 1775), *P. reticulatus* (Herbst, 1799) และ *P. armatus* (Milne-Edwards, 1861)

(3) การสร้างคีย์แยกชนิดปูม้าและปูทะเลด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์

จากข้อมูลความแตกต่างระหว่างชนิด ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ในตารางที่ 3 สามารถนำมาสร้างเป็นคีย์สำหรับแยกชนิด (identification key) ระหว่างปูม้ากับปูทะเล และระหว่างชนิดปูทะเลด้วยกันได้ ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 1 รายละเอียดของไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบเป็นจำนวน 11 คู่

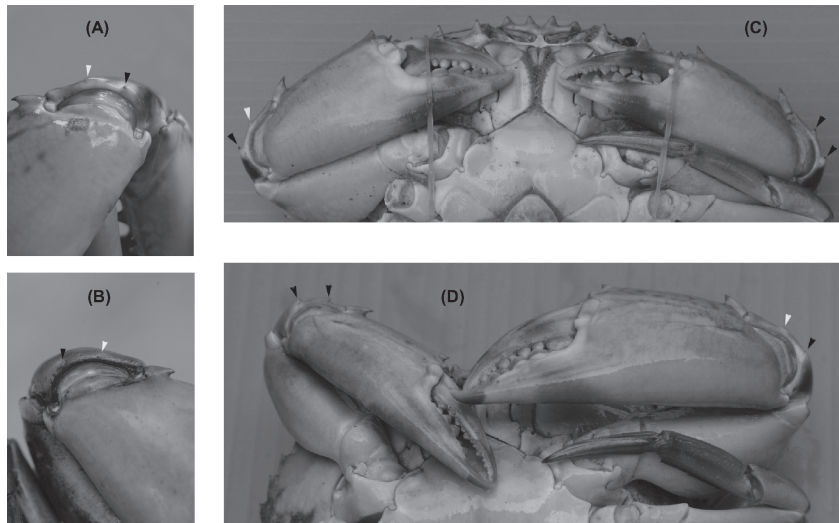
Primer	Primer sequence (5' - 3')	Annealing temp. (°C)	Repeats	Expected size (bp)	Observed range (bp)	Observed Ho	Number of alleles
DOFBSC3	TAGGAACTAATTGGCAACTGTG CTCCACAACAATACCTCCACTTC	65	(AG) ₂₅	191	180-238	0.775	11
DOFBSC4	TTCACCTGCCACAATAATCTCAAC AAAGTATGAGAAAGTTACTGTTGC	59	(CT) ₆ CC(CT) ₂₅	320	374-384	0.842	2
DOFBSC19	CGGCATGCACCTCTTCAGG TCTAAGGGTACGACGAACTCAC	65	(AG) ₈ AA(AG) ₃₈	384	315-429	0.476	17
DOFBSC23	ATGTCAGCTGCTTTGAGTGG ACCGGCATCGTAACACAGTT	52	(AC) ₂₇	295	366-396	0.834	7
DOFBSC25	CACCTGAGCTGTGCAATTGAC TCTATGCTGACGACCAACGAC	57	(AC) ₃₂	256	232-292	0.561	11
DOFBSC26	CTTTTCTCCCTGCCTCTTC CTTCTGGGTTCTGGGTGATG	55	(AG) ₇ AA(AG) ₁₄	349	335-399	0.500	10
DOFBSC27	TCGTTTTAGTTGCCCCCTCAG GGCAAAACTCTCTCCCCCTTG	55	(AC) ₂₀	274	239-297	0.500	12
DOFBSC28	AGTCCATTGGCTCACCAGAG CGAAAAAGCCCCACTTAGATG	54	(TG) ₂ TC(TG) ₂₄	259	226-290	0.800	10
DOFBSC29	TGCTTGGGATGAGTTAGATGC GCTTCCCCATACAGCAGTTC	61	(TG) ₃₈ TC(TG) ₆	281	208-290	0.714	9
DOFBSC30	GCCTCCAAAGTACCAGTCCAG TTATCAACCCCTTGCCCACTC	50	(AG) ₅ AC(AG) ₉ AC (AG) ₁₃ GG(AG) ₁₁	285	249-315	0.750	10
DOFMC8	TGAGCGTAAATGTCAACAACCA ACACACATACACGGGACAC	58	(ACTC) ₈	180	163-191	0.810	7

ตารางที่ 2 รายละเอียดของไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบในหนูตะเภาจำนวน 9 คู่

Primer	Primer sequence (5' - 3')	Annealing temp. (°C)	Repeats	Expected size (bp)	Observed range (bp)	Observed Ho	Number of alleles
DOFMC1	CGTCAACCAGCCTACTTCTGC AGATGGAACAAGAACTCTGA	60	(CATA) ₆	190	184-204	0.364	6
DOFMC2	GCAGCAGTAACAATTTCAGAGC GGGTGATCACATCACGCTC	57	(AG) ₁₆	120	111-173	0.907	20
DOFMC3	TTGAAGAACCTGGTCTAAATGG ATCTGGACCCAAACACAGAAAC	60	(TG) ₄ TA(TG) ₄	200	208-214	0.409	2
DOFMC4	GGAACAACACAAATTGCTCATGG TGAAAACACATCCTGCCAGCTC	57	(AC) ₂₀ C(AC) ₂	150	151-169	1.000	9
DOFMC8	TGAGCGTAAATGTCAACAACCA ACACACACATACACGGGACAC	66	(ACTC) ₈	180	169-193	0.372	6
DOFMC9	CACACACCTGAGCACCTTAGACC TGTGGCCTTTGAAAATAGTCGTG	61	(AC) ₅ GC(AC) ₇	190	192-216	0.581	12
DOFMC10	CCTGCTAAATGCTAAGGGATGG AGCACAGAGCCCTTCAACACTC	68	(TG) ₁₉	160	162-218	0.524	9
DOFMC12	ATTGTTCTTCTGGACATCATCG GGGCTGCTACAAAGTTAGGGACAG	53	(TG) ₁₈	200	191-203	0.100	3
DOFMC13	GTCAGCTCGGAATCCCTAACC ACTCTGAGGGTAAAGACCGATG	62	(TG) ₃₃	250	212-276	0.535	19

ตารางที่ 3 ข้อมูลเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ที่แสดงในรูปแบบของระบบเลข 2 ตัว โดยกำหนดให้เป็น '1' หรือ '0' ณ โลคัสใดๆ ที่ 'พบ' หรือ 'ไม่พบ' แอลลีล ในตัวอย่างแต่ละชนิด (แถวตั้ง) และในระหว่างชนิดที่ต่างกัน (แถวนอน)

Allozyme loci	Allelic bands	ปุม้า	ปูดำ	ปูกาว	ปูกีเขย	ปุม่วง
<i>AAT-1*</i>	*130	0	1	0	0	0
	*100	1	1	1	1	1
<i>ADH-1*</i>	*125	1	0	0	1	0
	*100	0	1	1	1	1
<i>ADH-2*</i>	*-70	0	0	1	1	0
	*-100	1	1	1	1	1
<i>EST-1*</i>	*125	0	0	1	0	0
	*100	1	1	1	1	1
<i>EST-2*</i>	*100	0	0	1	1	1
	*70	1	0	0	0	0
	*50	0	1	0	0	0
<i>ESTD-2*</i>	*125	0	1	0	0	0
	*100	0	0	1	1	1
	*75	1	0	0	0	0
<i>G3PDH*</i>	*100	1	0	0	1	1
	*75	0	1	1	1	1
	*65	0	1	1	1	0
<i>GPI*</i>	*135	0	1	1	0	0
	*100	1	1	1	1	1
	*60	0	0	0	0	1
<i>HK*</i>	*130	0	0	0	1	1
	*100	0	1	1	1	1
	*80	0	1	1	0	0
	*75	1	0	0	0	0
<i>MEP-1*</i>	*110	1	1	1	1	1
	*100	1	1	1	1	1
<i>MEP-2*</i>	*145	0	0	0	1	0
	*100	1	1	1	0	1
<i>MPI*</i>	*105	1	1	0	0	1
	*100	1	1	1	1	0
	*95	0	0	1	1	0
<i>PGDH*</i>	*100	0	1	1	1	1
	*95	1	0	0	0	0
<i>PGM*</i>	*115	0	1	1	1	1
	*100	0	1	1	1	1
	*85	1	0	0	0	0
<i>SOD*</i>	*130	1	0	0	0	0
	*100	0	1	1	1	1



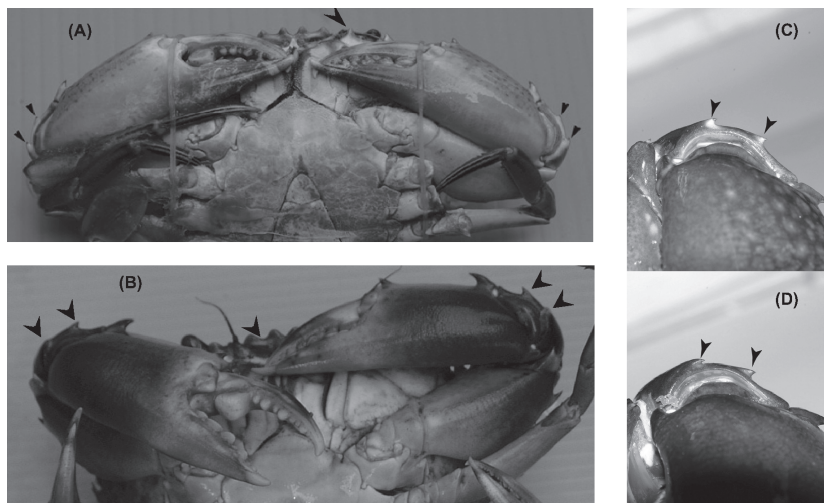
ภาพที่ 2 ลักษณะหนาม (inner & outer spine) ที่ปล้องกลาง (ข้อศอก) ด้านนอก ของก้ามปูขาวและปูดำ

(A) ปูขาว outer spine เค้นชัด (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วน inner spine ลดรูปเหลือเป็นเพียงปุ่มนูนเล็กๆ (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีขาว)

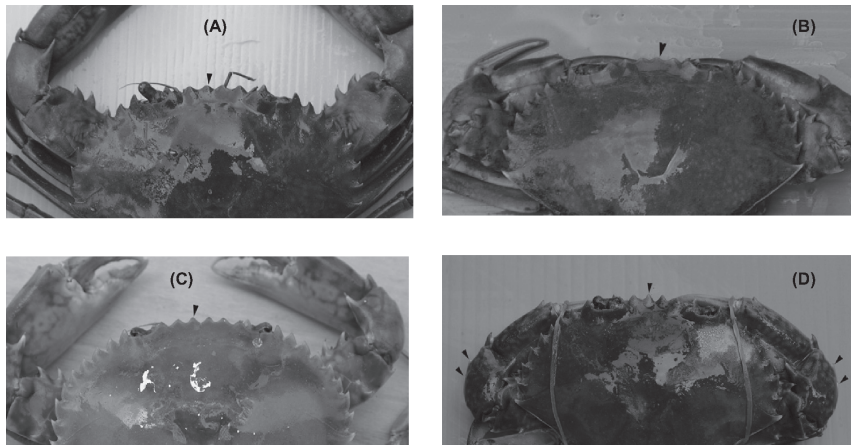
(B) ปูดำ outer spine เค้นชัด (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วน inner spine ลดรูปเหลือเป็นเพียงรอยแผลเป็น (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีขาว)

(C) ปูขาว outer spine เค้นชัดอันเดียวที่ข้อศอกข้างขวา (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วนข้อศอกข้างซ้ายปรากฏ inner & outer spines เค้นชัดทั้งสองอัน

(D) ปูขาว outer spine เค้นชัดอันเดียวที่ข้อศอกข้างซ้าย (ชี้ด้วยหัวลูกศรสีดำ) ส่วนข้อศอกข้างขวาปรากฏ inner & outer spines เค้นชัดทั้งสองอัน



ภาพที่ 3 ลักษณะหนามที่ปล้องกลาง (ข้อศอก) ด้านนอก (inner & outer spines) ของก้าม (A) ปูเขียว และ (B) ปูม่วง ซึ่งปรากฏให้เห็นเด่นชัดทั้งสองอันที่ข้อศอกทั้งข้างซ้ายและขวา และลักษณะหนามด้านหน้าสุดของกระดองปูเขียวซึ่งมีส่วนปลายหนามเรียวยาวเล็กมากกว่าของปูม่วงที่มีส่วนปลายหนามทู่กว่าของปูเขียว (C) Inner & outer spines ของปูเขียว และ (D) ของปูม่วง



ภาพที่ 4 ลักษณะหนามระหว่างตาด้านหลังหน้าสุดของกระดองในปูทะเลต่างๆ

- (A) ปูดำ แสดงลักษณะหนามบริเวณด้านหลังหน้าสุดของกระดอง (ปลายหนามป้านทุ) และลักษณะสีโดยรวมของปูดำที่พบทั่วไป
- (B) ปูดำ (บางตัวอย่าง) แสดงลักษณะหนามบริเวณด้านหลังหน้าสุดของกระดอง (ปลายหนามป้านทุ) และลักษณะสีโดยรวมที่ต่างจากปูดำทั่วไป โดยจะมีสีคล้ำไปทางปูเขียว (D)
- (C) ปูขาว แสดงลักษณะหนามบริเวณด้านหลังหน้าสุดของกระดอง (ปลายหนามแหลมกว่าปูดำ)
- (D) ปูเขียว แสดงลักษณะหนามบริเวณด้านหลังหน้าสุดของกระดอง (หนามค่อนข้างสูงปลายเรียว)

(1) แยกระหว่างปูม้ากับปูทะเล

1.1 ปรากฏแถบ *EST-2*70*, *ESTD-2*75*, *HK*75*, *PGDH*95*, *PGM*85* และ *SOD*130* ปูม้า

1.2 ปรากฏแถบ *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 ปรากฏแถบ *EST-2*50* และ *ESTD-2*125*ปูดำ

2.2 ปรากฏแถบ *EST-2*100* และ *ESTD-2*100*ปูเขียว, ม่วง, ขาว (3)

(3) แยกระหว่างปูเขียว ปูม่วง ปูขาว

3.1 ปรากฏแถบ *MEP-2*145* และ *MPI *100* และ/หรือ **95* ปูเขียว

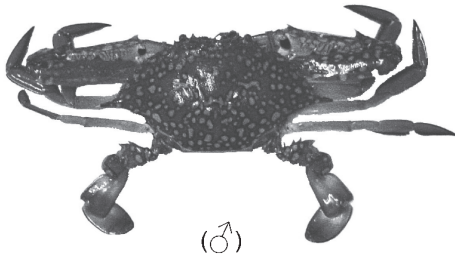
3.2 ปรากฏแถบ *MEP-2*100* และ *MPI*105* ปูม่วง

3.3 ปรากฏแถบ *MEP-2*100* และ *MPI *100* และ/หรือ **95* ปูขาว

(4) โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิด

โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดปูม้าและปูทะเล และระหว่างชนิดปูทะเลด้วยกัน ซึ่งได้จากการสร้างโดยใช้ข้อมูลอัลโลไซม์ (ตารางที่ 3) แสดงโดยภาพที่ 6 ในภาพสามารถยืนยันความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกัน ระหว่างคู่ปูเขียวกับปูม่วง ได้เกินกว่า 50% เพียงเล็กน้อยนั้น น่าจะเป็นเพราะข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่างปูเขียว ที่มีน้อยกว่าชนิดอื่นมาก (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากชนิดของปูทะเลมี 4 ชนิด และการที่คู่ปูดำและปูขาวเกาะกลุ่ม ยืนยันความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันถึง 86-88% ย่อมเป็นการส่งเสริมและสนับสนุนความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิด ของคู่ชนิดที่เหลือคือปูเขียวและปูม่วงอีกทางหนึ่งด้วยเช่นกัน

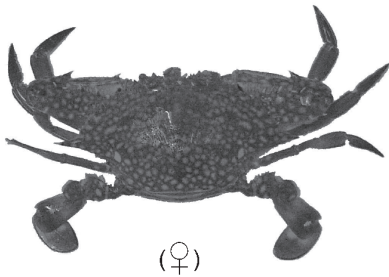
รูปแบบโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยข้อมูลอัลโลไซม์ที่ได้นี้ แสดงผลที่สอดคล้องกัน กับข้อมูล โดยรูปลักษณะภายนอกของปูม้าปูทะเลที่แตกต่างกัน หรือเหมือนกัน ดังต่อไปนี้



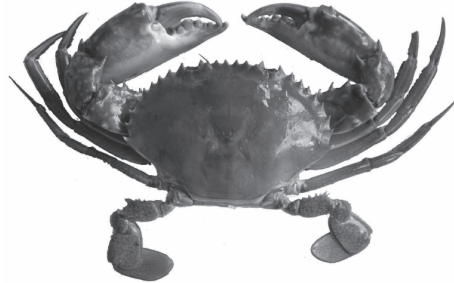
♂
ปูม้า (Blue swimming crab)
Portunus pelagicus (Linnaeus, 1758)



ปูดำ *Scylla olivacea* (Herbst, 1796)



♀
ปูม้า (Blue swimming crab)
Portunus pelagicus (Linnaeus, 1758)



ปูขาว *Scylla paramamosain* (Estampador, 1949)



ปูเขียว *Scylla serrata* (Forskål, 1775)



ปูม่วง *Scylla tranquebarrica* (Fabricius, 1798)

ภาพที่ 5 ปูม้า 1 ชนิด และปูทะเล 4 ชนิด ที่พบในน่านน้ำไทย

- ปูม้าเพศผู้มีลำตัวสีฟ้า น้ำทะเลเค็มจัดกว่าเพศเมียซึ่งมีสีออกปาทางเขียวอมฟ้า
- ระบุชื่อวิทยาศาสตร์ปูทะเลตามที่ Keenan et al. (1998) ได้ศึกษาพบทวนไว้

(ก) ปูม้ามีรูปลักษณ์ภายนอกที่แตกต่างจากกลุ่มปูทะเลอย่างเด่นชัด (ภาพที่ 5) สอดคล้องกับผลที่ปรากฏในโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยข้อมูลอัลโลไซม์ (ภาพที่ 6) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ปูม้าถูกแยกออกจากกลุ่มปูทะเลโดยสิ้นเชิง แม้ว่าโครงสร้างนั้นจะมาจากการเขียนโดยไม่กำหนด outgroup ก็ตาม

(ข) ปูดำกับปูขาวแสดงลักษณะความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน โดยข้อมูลอัลโลไซม์ (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับลักษณะภายนอกที่คล้ายกันคือทั้งปูดำและปูขาวแสดงลักษณะของหนามที่ข้อศอกลดรูปเหมือนกัน (ภาพที่ 2A และ 2B)

(ค) ปูเขียวกับปูม่วงแสดงลักษณะความสัมพันธ์

ตารางที่ 4 ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปูทะเลทุกชนิด จากแหล่งตัวอย่างทั้งหมดที่ศึกษา

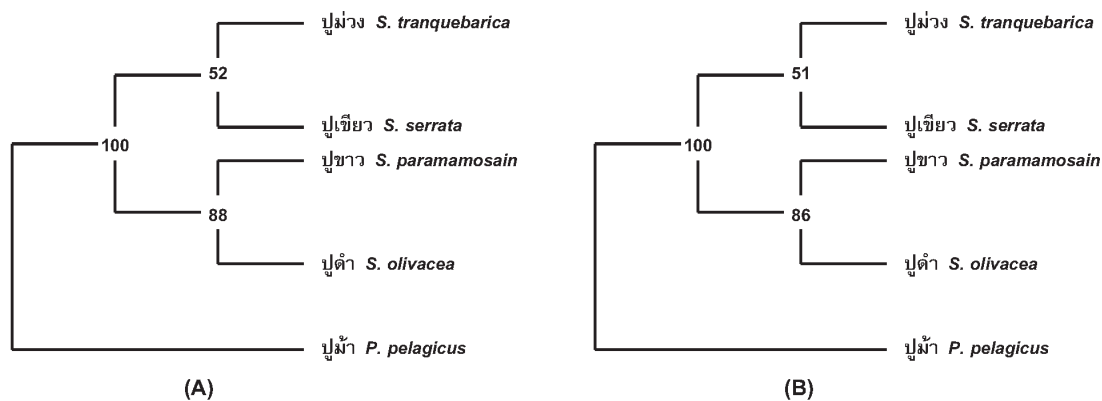
ชนิด	แหล่งตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	Na	Ne	R	Ho	He
ปูดำ	ตราด	20	4.0000	2.5119	2.6920	0.5833	0.5403
	ระยอง	18	3.5000	2.3009	2.4287	0.4946	0.4740
	เพชรบุรี/สาคร/สงคราม	22	4.6667	2.5852	2.7498	0.5421	0.5150
	ประจวบคีรีขันธ์	18	2.1667	2.0219	2.0953	0.3333	0.3333
	ชุมพร	10	3.1667	2.1405	2.2448	0.4556	0.4398
	สุราษฎร์ธานี	11	3.3333	2.1768	2.3928	0.4167	0.4233
	อ.ระโนด (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
	สตูล	18	3.6667	2.3303	3.4223	0.4572	0.4440
	พม่า	20	4.0000	2.6980	3.6567	0.4923	0.4773
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/สาคร/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

หมายเหตุ: Na = number of averaged alleles, Ne = number of effective alleles, R = allelic richness, Ho = observed heterozygosity, He = expected heterozygosity (Ho ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างจาก He ภายใต้การทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โดยใช้ chi-square goodness of fit test, $p > 0.05$)

ตารางที่ 5 ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปูม้าจากแหล่งตัวอย่างทั้งหมดที่ศึกษา

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/สงคราม	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 (นครฯ/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

หมายเหตุ: Na = number of averaged alleles, Ne = number of effective alleles, R = allelic richness, Ho = observed heterozygosity, He = expected heterozygosity (Ho ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างจาก He ภายใต้การทดสอบสมมติฐานดี-ไวน์เบิร์ก โดยใช้ chi-square goodness of fit test, $p > 0.05$)



ภาพที่ 6 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการระหว่างปูม้าและปูทะเลทั้ง 5 ชนิด ซึ่งสร้างขึ้นจากข้อมูลอัลโลไซม์ในระบบเลข 2 ตัว (0 หรือ 1) (ตารางที่ 3) โดยใช้โปรแกรม PHYLIP ภายใต้วิธีการสุ่มป้อนข้อมูลแบบ bootstrap จำนวน 100 ครั้ง ร่วมกับการเขียนโครงสร้างแบบ Wagner parsimony (Felsenstein, 1985, 1990)

(A) รูปแบบที่ได้จากการสร้างโดยกำหนดให้ ‘ปูม้า’ เป็น ‘outgroup’

(B) รูปแบบที่ได้จากการสร้างโดยไม่กำหนด ‘outgroup’

ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน โดยข้อมูลอัลโลไซม์ (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับลักษณะภายนอกที่เหมือนกันคือ ทั้งปูเขียวและปูม่วงแสดงลักษณะของหนาม 2 อันที่ข้อศอกเห็นเด่นชัดเหมือนกัน ทั้งข้อศอกข้างซ้ายและข้างขวา (ภาพที่ 3)

ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเล

จากการศึกษาด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ ทำให้ได้ข้อมูลของค่าความผันแปร และปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ในประชากรปูทะเลและปูม้าจากแหล่งต่างๆ ของไทย ตามที่แสดงใน ตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

ความแตกต่างและลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรภายในชนิดของปูม้าและปูทะเล

(1) ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่ของปูแต่ละชนิด (ตารางที่ 6) โดยค่า p_{χ^2} (การวิเคราะห์ contingency chi-

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร/แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละขอบเขตพื้นที่ของปูแต่ละชนิด ซึ่งแสดงโดยค่า p ทั้งของการวิเคราะห์ contingency chi-square of the heterogeneity (p_{χ^2}) และของการวิเคราะห์ AMOVA (p_{AMOVA}) พร้อมทั้งแสดงจำนวนแหล่งตัวอย่าง และไพรเมอร์/ไลโซที่ใช้วิเคราะห์ในแต่ละขอบเขตพื้นที่นั้น

		อ่าวไทยบน และ ฝั่งตะวันออก	อ่าวไทยกลาง	อ่าวไทยล่าง	อันดามัน	ค่า p_{AMOVA}
ปูม้า	จำนวนแหล่ง	4	3	4	3	0.7449
	ไพรเมอร์/ไลโซ	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	DOFBSC3, DOFBSC19, DOFBSC23, DOFMC8	
	ค่า p_{χ^2}	0.2237	0.0025	0.5475	0.3615	
ปูดำ	จำนวนแหล่ง	3	3	4	4	0.6745
	ไพรเมอร์/ไลโซ	DOFMC1, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC8	
	ค่า p_{χ^2}	0.8160	0.2593	0.0557	0.8499	
ปูขาว	จำนวนแหล่ง	3	3	4	1	0.1105
	ไพรเมอร์/ไลโซ	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC8	
	ค่า p_{χ^2}	0.1640	0.2653	0.3725	x	
ปูม่วง	จำนวนแหล่ง	2	-	1	1	0.5611
	ไพรเมอร์/ไลโซ	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	-	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC8	
	ค่า p_{χ^2}	0.4400	-	x	x	
ปูเขียว	จำนวนแหล่ง	-	-	-	1	x
	ไพรเมอร์/ไลโซ	-	-	-	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC8	
	ค่า p_{χ^2}	-	-	-	x	

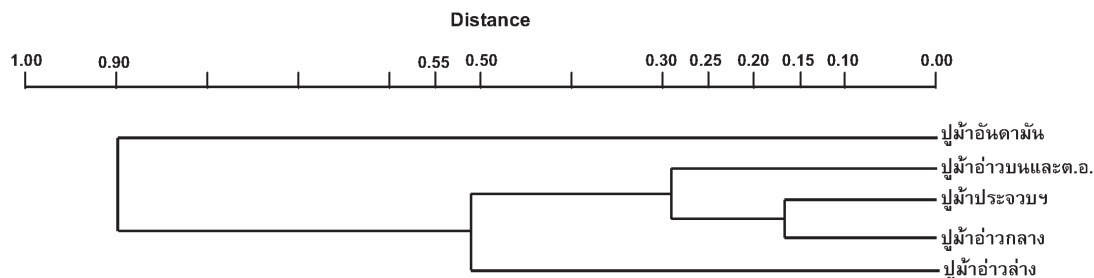
‘-’ หมายถึง ไม่มีการวิเคราะห์เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ในพื้นที่นั้น

‘x’ หมายถึง ไม่มีการวิเคราะห์เนื่องจากตัวอย่างมีเพียง 1 แหล่งในพื้นที่นั้น

square analyses of the heterogeneity) และ P_{AMOVA} (การวิเคราะห์ AMOVA) เกือบทั้งหมดระบุว่าไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นพื้นที่อ่าวไทยตอนกลางของปูม้าเท่านั้นที่แสดงค่า p_{χ^2} ว่าอาจมีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างในพื้นที่นี้ ($p_{\chi^2} < 0.05$) ขณะที่ P_{AMOVA} ระบุว่าไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ค่า p_{χ^2} ในทุกคู่ประชากรของปูม้าทั้ง 3 แหล่งในพื้นที่นี้ (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) ระบุว่า ปูม้าประจวบฯ ก่อนข้างจะมีความแตกต่างจากปูม้าชุมพรและสุราษฎร์ฯ ขณะที่ปูม้าชุมพรและสุราษฎร์ฯ ไม่มีความแตกต่างกัน (พนมและศรีรัตน์, 2550) ดังนั้น ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ในปูม้า โดยค่า p_{χ^2} ในลำดับถัดมา จึงดำเนินการโดยให้ปูม้าประจวบฯ แยกออกมาเป็น 1 ประชากร ไม่รวมกับปูม้าชุมพรและสุราษฎร์ฯ ที่ไม่แตกต่างกันและถูกใช้เป็นตัวแทนรวมของพื้นที่อ่าวไทยตอนกลาง ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้จำนวนขอบเขตพื้นที่ของประชากรปูม้าในการวิเคราะห์ถัดมามีปูม้าประจวบฯ เพิ่มมาอีก 1 ประชากร ดังเช่นที่ปรากฏใน ภาพที่ 7 ซึ่งแสดงลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ในภาพรวมของประชากรปูม้าที่มี ‘ปูม้าประจวบฯ’ รวมอยู่ด้วย และในตารางที่ 7 ที่แสดงจำนวนขอบเขตพื้นที่เป็น 4 (+1) ซึ่ง ‘(+1)’ ก็คือ ‘ปูม้าประจวบฯ’ ที่เพิ่มขึ้นมาเฉพาะสำหรับการวิเคราะห์โดยค่า p_{χ^2} เท่านั้น

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ในปูแต่ละชนิด (ตารางที่ 7) ระบุว่า ปูม้ามีความแตกต่างระหว่างประชากรที่อยู่ในขอบเขตพื้นที่ต่างกัน ทั้งโดยค่า p_{χ^2} และ P_{AMOVA} ดังนั้น จึงวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกคู่ประชากรของปูม้า ได้ผลออกมาตามที่ปรากฏในตารางที่ 8 ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะค่า p ที่ต่ำกว่า 0.02 จึงจะถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) ก็ปรากฏว่า คู่ประชากรของปูม้าที่ต่างกันได้แก่ คู่ที่อยู่คนละฝั่งทะเลกัน (ฝั่งทะเลอันดามัน และฝั่งอ่าวไทย) จะมีก็เพียงปูม้าชลบุรีประชากรเดียว ที่ไม่แสดงความแตกต่างจากประชากรฝั่งอันดามัน อีกทั้งยังแสดงความแตกต่างกับบางประชากร ในฝั่งอ่าวไทยด้วยตนเอง โดยเฉพาะกับระยอง ซึ่งอยู่ในกลุ่มหรือขอบเขตพื้นที่เดียวกัน และผ่านการวิเคราะห์มาแล้วว่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6) ซึ่งสาเหตุน่าจะอยู่ที่ประชากรปูม้าจากชลบุรีนั่นเอง จากตารางที่ 5 แสดงว่าได้ใช้ปูม้าจากชลบุรีในการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ขณะที่ประชากรอื่นอยู่ระหว่าง 22–38 ตัวอย่าง จำนวนปูม้าจากชลบุรีจึงอาจไม่เพียงพอ เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างของประชากรอื่น (พนมและศรีรัตน์, 2550)

สำหรับผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง ระหว่างขอบเขตพื้นที่ในปูทะเลปรากฏว่าปูม้าแสดงความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่โดยค่า P_{AMOVA} แต่ไม่แสดง



ภาพที่ 7 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้าจากฝั่งอันดามันอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและตอนบน ประจวบคีรีขันธ์ อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ความแตกต่างโดยค่า p_{χ^2} (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตาม ได้วิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกกลุ่มประชากรของปูดำ ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะค่า p ที่ต่ำกว่า 0.02 จึงจะถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier et al., 2006) ปรากฏว่าประชากรเกือบทั้งหมด ไม่แสดงความแตกต่างกัน ยกเว้นประชากรบางกลุ่มเท่านั้น ที่แสดงผลแตกต่างออกไป ด้วยเพราะข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่าง (ตารางที่ 4) เช่นเดียวกับที่ปรากฏในปูม้า และด้วยเหตุผลเดียวกันนี้ที่น่าจะเป็นเหตุให้การวิเคราะห์โดยค่า p_{AMOVA} แสดงผลว่ามีความแตกต่าง ระหว่างขอบเขตพื้นที่ในปูดำ ขณะที่ไม่ปรากฏผลความแตกต่างดังกล่าวที่แสดงโดยค่า p_{χ^2} (ไม่ได้แสดงข้อมูลค่า p ของ F_{ST} ในทุกกลุ่มประชากรของปูดำในรายงานครั้งนี้ แต่แสดงไว้ในรายงานของ พนม และศรีรัตน์, 2550) ส่วนผลการวิเคราะห์ในปูทะเลชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 7) ไม่แสดงว่ามีความแตกต่างทั้งโดยค่า p_{χ^2} และ p_{AMOVA}

(2) ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

กรรม

จากลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปูม้าใน ภาพที่ 7 ได้แสดงว่ากลุ่มประชากรปูม้าที่อยู่ในฝั่งอ่าวไทย มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันภายในกลุ่มของตนเอง มากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มที่อยู่ในฝั่งอันดามัน หรืออีกนัยหนึ่ง ประชากร 2 ฝั่งมีความแตกต่างกันมาก จึงแบ่งแยกจากกันเป็น 2 กลุ่มใหญ่ชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความแตกต่างในตารางที่ 8 ที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ ถ้าพิจารณาระหว่างกลุ่มประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยกันเอง ภาพที่ 7 ยังแสดงให้เห็นว่าประชากรปูม้าจากฝั่งอ่าวไทยตอนล่างมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างออกมาจากประชากรอ่าวไทยอื่นๆ ขณะที่ประชากรเหล่านั้นแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดระหว่างกันให้เห็นโดยรวมกลุ่มอยู่ด้วยกัน อย่างไรก็ตาม ผลจากการวิเคราะห์ใน

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ในปูแต่ละชนิดซึ่งแสดงโดยค่า p ทั้งของการวิเคราะห์ contingency chi-square of the heterogeneity (p_{χ^2}) และของการวิเคราะห์ AMOVA (p_{AMOVA}) พร้อมทั้งแสดงจำนวนขอบเขตพื้นที่ และไพรเมอร์/ไลโซที่ใช้วิเคราะห์ในปูแต่ละชนิด

	จำนวนขอบเขตพื้นที่	ไพรเมอร์/ไลโซ	ค่า p_{χ^2}	ค่า p_{AMOVA}
ปูม้า	4 (+1)	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	0.0000	0.0000
ปูดำ	4	DOFMC1, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	0.3390	0.0000
ปูขาว	4	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC9, DOFMC13	0.1250	0.0420
ปูม่วง	3	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	0.3560	0.1681
ปูเขียว	1	DOFMC1, DOFMC3, DOFMC4, DOFMC8, DOFMC9, DOFMC13	X	X

'X' หมายถึง ไม่มีการวิเคราะห์เนื่องจากตัวอย่างมีเพียง 1 ขอบเขตพื้นที่

'(+1)' หมายถึง ประชากร 'ปูม้าประจวบฯ' ที่เพิ่มขึ้นมาเฉพาะสำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างที่แสดงโดยค่า p_{χ^2}

$p_{AMOVA} > 0.02$ แสดงว่าไม่มีความสำคัญในความแตกต่าง (Fu, 1997; Excoffier et al., 2006)

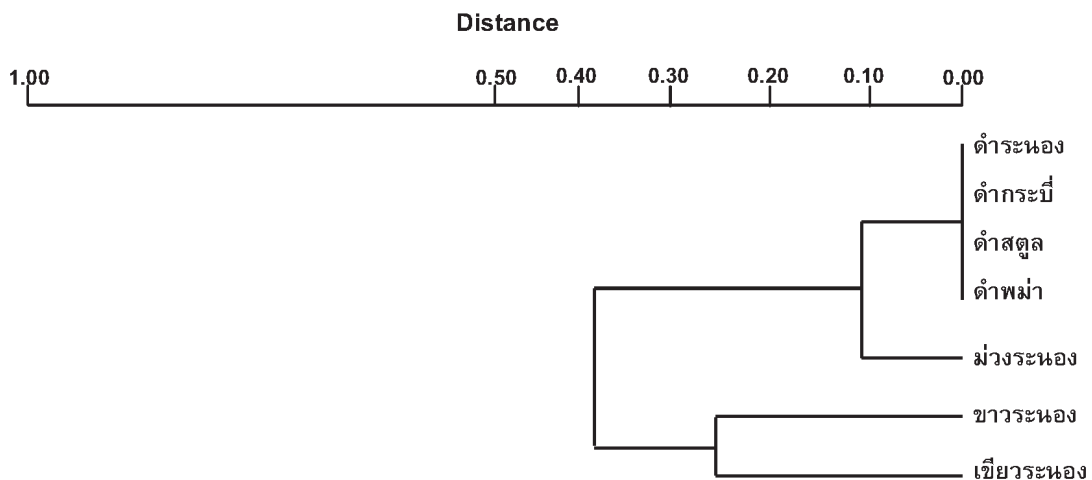
ตารางที่ 8 ไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างประชากรในฝั่งอ่าวไทยเหล่านี้

ลักษณะความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในภาพที่ 8 แสดงให้เห็นว่า ปูดำในฝั่งอันดามัน ทั้งของไทย (ระนอง กระบี่ สตูล) และจากฝั่งพม่า มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมาก จนน่าจะกล่าวได้ว่าเป็นประชากรเดียวกัน สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความแตกต่างในตารางที่ 6 ที่แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่าง

ประชากรปูดำในฝั่งอันดามัน ทั้งโดยค่า p_{χ^2} และ P_{AMOVA} ส่วนภาพที่ 9 แสดงให้เห็นว่ามีการแบ่งแยกประชากรปูดำ ขาว เขียว และม่วง ออกจากกันเป็น 4 กลุ่มชนิด อย่างชัดเจน โดยประชากรภายในกลุ่มชนิดเดียวกันแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดเกาะกลุ่มกัน ไม่แตกกลุ่มไปรวมกับชนิดอื่น ซึ่งเป็นการยืนยันผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ ในแง่ของการแบ่งแยกชนิดอีกด้วย นอกจากนี้ เมื่อ

ตารางที่ 8 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปูม้า

	เพชรบุรี	ตราด	ชลบุรี	ระยอง	ประจวบ	ชุมพร	สุราษฎร์	ระโนด	สงขลา	ปัตตานี	นราธิวาส	ระนอง	กระบี่
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



ภาพที่ 8 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูทะเล 4 ชนิดจากแหล่งต่างๆ ในฝั่งอันดามัน จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

พิจารณาเฉพาะความสัมพันธ์ภายในแต่ละชนิด พบว่าปูทะเลบางชนิด เช่น ปูม่วง ซึ่งแสดงลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มประชากร ที่ถึงแม้จะดูค่อนข้างห่างกัน (ภาพที่ 9) แต่ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร ไม่แสดงว่ามีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 6 และ 7) คล้ายกับที่พบในปูม้าฝั่งอ่าวไทย

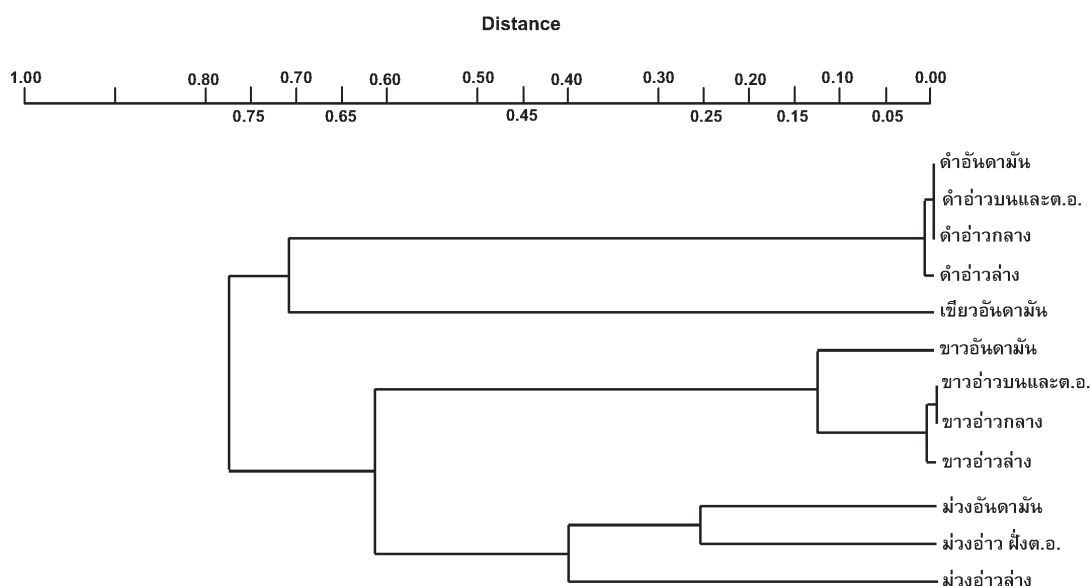
(3) สรุปผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างและลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

(3.1) ประชากรปูม้าของไทยที่อยู่ต่างฝั่งทะเลกัน มีนัยสำคัญในความแตกต่างกันทางพันธุกรรม โดยแสดงความสัมพันธ์ที่แบ่งแยกจากกันเป็น 2 กลุ่มประชากรใหญ่ คือ กลุ่มประชากรในฝั่งอ่าวไทย และกลุ่มฝั่งอันดามัน ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรสัตว์น้ำใน 2 ฝั่งทะเลของไทยนี้ ได้เคยมีการรายงานมาแล้วในกุ้งทะเล ทั้งกุ้งกุลาดำ (ศรีรัตน์, 2539) และกุ้งแชบ๊วย (ศรีรัตน์ และพนม, 2541) ซึ่งถึงแม้จะเป็นการศึกษาในสัตว์น้ำต่างชนิดและ

ใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ที่ต่างออกไป แต่ก็มีผลการศึกษาที่สอดคล้องไปในทางเดียวกัน

(3.2) ประชากรปูดำจากพม่า และในขอบเขตพื้นที่ชายฝั่งของไทยทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน

(3.3) ถึงแม้จะไม่สามารถยืนยันผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม/ขอบเขตพื้นที่ โดยค่า P_{AMOVA} ในปูดำได้ ด้วยเพราะมีข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่าง ในบางจุดที่อาจไม่เพียงพอ แต่การวิเคราะห์ความแตกต่างโดยค่า p_{χ^2} แสดงผลชัดเจนว่า ไม่มีความแตกต่างภายในชนิดของปูดำ ทั้งในระหว่างแหล่ง/ประชากรในแต่ละพื้นที่ และในระหว่างขอบเขตพื้นที่ อีกทั้งการวิเคราะห์ในปูทะเลชนิดอื่นๆ ก็ไม่แสดงผลว่ามีความแตกต่างเช่นกัน รวมทั้งผลที่แสดงใน ภาพที่ 9 จึงสรุปว่า ประชากรปูทะเลมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ทั้งใกล้ชิดเกาะกลุ่มกัน และแบ่งแยกจากกัน เป็น 4 กลุ่มชนิด (ดำ ขาว ม่วง และเขียว) ขณะที่ภายในแต่ละชนิด ยังไม่แสดงหลักฐานอย่างชัดเจน



ภาพที่ 9 ลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ระหว่างประชากรปูดำและปูขาวจากอันดามัน อ่าวไทยตอนบนและตะวันออก อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง ปูม่วงจากอันดามัน อ่าวไทยฝั่งตะวันออก และอ่าวไทยตอนล่าง และปูเขียวจากอันดามัน จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978)

ว่า มีความแตกต่างระหว่างประชากร ทั้งในระหว่างประชากรฝั่งเดียวกัน และระหว่างประชากรที่อยู่ต่างฝั่งกัน (อันดามัน และอ่าวไทย)

(3.4) ในกรณีของการวิเคราะห์ AMOVA (P_{AMOVA}) ปรากฏว่า มีปัญหาในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ ซึ่งน่าเชื่อว่าอาจเกี่ยวข้องกับจำนวนตัวอย่าง ในบางแหล่งซึ่งมีไม่เพียงพอ ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ในระดับแหล่งตัวอย่างที่อยู่ในขอบเขตพื้นที่เดียวกันได้ระบุแล้วว่า ไม่มีความแตกต่าง การรวมตัวอย่างจากทุกแหล่งในขอบเขตพื้นที่นั้นเข้าด้วยกันแล้วใช้เป็นตัวแทนรวมสำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างในระดับสูงขึ้น น่าจะช่วยให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ชัดเจน และน่าเชื่อถือยิ่งขึ้นด้วย เพราะจำนวนตัวอย่างที่มีมากขึ้น ดังเช่นผลที่ปรากฏในการวิเคราะห์ contingency chi-square analysis of the heterogeneity (p_{χ^2}) ของการศึกษา

ประโยชน์ของผลการศึกษา และการใช้ประโยชน์

(1) ไมโครแซทเทลไลต์ไฟโพรเมอร์ที่ได้จากการศึกษาในโครงการนี้ได้ผ่านการทดสอบและปรับสภาวะทางพีซีอาร์จนได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างปูม้าและปูทะเล ที่มาจากประชากรต่างกัน ในหลากหลายพื้นที่ได้พร้อมกัน โดยเฉพาะในปูทะเลซึ่งแม้จะมีความแตกต่างถึงระดับชนิด ก็สามารถใช้วิเคราะห์พร้อมกันได้เช่นกัน ดังนั้นไฟโพรเมอร์ดังกล่าวจึงมีประโยชน์อย่างยิ่ง ต่อการศึกษาวิจัยในปูม้าและปูทะเลของไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลหรือองค์ความรู้ทางพันธุกรรมระดับดีเอ็นเอ ที่จะนำมาใช้เพื่อการจัดการกับคุณภาพของสายพันธุ์ การบริหารจัดการพ่อแม่พันธุ์ (broodstock management) และการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ (selective breeding program) และรวมถึงการบริหารจัดการ เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ในประชากรธรรมชาติ

(2) เครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์สำหรับแยกชนิดปูม้าและปูทะเล ตลอดจนข้อมูลความรู้ที่ได้จากการสำรวจ วิเคราะห์ และศึกษา ซึ่งยืนยันชนิดปู

ทะเลในประเทศไทยว่ามีถึง 4 ชนิด โดยทราบว่าชนิดใดที่ยังหาได้ง่าย ชนิดใดหาได้ไม่มากนักหรือชนิดใดเป็นชนิดที่หายากนั้น จัดว่าเป็นองค์ความรู้ที่มีประโยชน์อย่างยิ่ง ต่อการบริหารการใช้ทรัพยากรปูม้าและปูทะเลให้เกิดประโยชน์สูงสุด อย่างต่อเนื่อง ถูกต้อง และยาวนานที่สุด ทั้งการใช้ประโยชน์ในประชากรธรรมชาติ และเพื่อการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์

(3) ผลการศึกษาโดยข้อมูลพันธุกรรมอัลโลไซม์ในปูม้าและปูทะเล ซึ่งแสดงลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิด (interspecific relationship) ที่สอดคล้องกับลักษณะเด่นภายนอกที่ต่างกัน หรือเหมือนกันระหว่างปูแต่ละชนิด (morphological characteristics) นั้น มีจุดที่น่าสนใจก็คือ ลักษณะความสัมพันธ์ดังกล่าว มีความสอดคล้องกับลักษณะความแตกต่างระหว่างปูทะเล 4 ชนิดที่ Keenan et al. (1998) ได้ศึกษาพบทวนไว้ ซึ่งเป็นการแสดงว่า ผลการศึกษารังนี้ส่งเสริมและสนับสนุน การแยกและระบุชนิดของปูทะเลโดย Keenan et al. (1998)

(4) ค่าความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมในตารางที่ 4 และ 5 สามารถใช้เป็นบรรทัดฐานเพื่อระบุว่า ประชากรปูม้าและปูทะเลจะมีคุณภาพหรือศักยภาพทางพันธุกรรมเหมาะสมหรือไม่ ถ้าจะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไป เป็นที่ทราบคือว่า ความแปรปรวนหรือความหลากหลายทางพันธุกรรม เป็นแหล่งทรัพยากรพื้นฐานทางพันธุกรรมที่จำเป็นอย่างยิ่ง ต่อกิจการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ ซึ่งจะประสบผลสำเร็จหรือไม่เพียงใด ขึ้นกับแหล่งทรัพยากรนี้เป็นสำคัญ และด้วยเหตุที่การคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ สามารถทำให้องค์ประกอบพันธุกรรมของประชากรพื้นฐานเปลี่ยนไป โดยจะมีปริมาณลดลงทุกครั้ง ที่มีการเพาะพันธุ์แต่ละรุ่น (Allendorf and Ryman, 1987) ดังนั้นการดำเนินงานจึงจำเป็นต้องเริ่มต้นจากประชากรพื้นฐาน (base population) ที่มีปริมาณความแปรปรวนทางพันธุ

กรรมสูงพอควร ซึ่งอย่างน้อยที่สุดไม่ควรจะต่ำกว่า หรืออยู่ในระดับเดียวกับค่าที่ปรากฏในประชากรธรรมชาติ (พนม และคณะ, 2548) ดังนั้นค่าที่ปรากฏในตารางที่ 4 และ 5 ซึ่งได้จากการศึกษาวิเคราะห์ในประชากรธรรมชาติทั้งสิ้น จึงมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อกิจการเพาะเลี้ยง และปรับปรุงพันธุ์ปูม้าและปูทะเลในอนาคต

(5) ผลการศึกษาซึ่งระบุว่า ประชากรปูม้าของไทยที่อยู่ต่างฝั่งทะเลกัน มีนัยสำคัญในความแตกต่างกันทางพันธุกรรม หรืออีกนัยหนึ่ง ประชากรปูม้าในฝั่งอ่าวไทยและในฝั่งอันดามัน มีพันธุกรรมที่แตกต่างกันนั้น ทำให้ทราบแนวทางที่เหมาะสม สำหรับนำไปใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรปูม้าในธรรมชาติของไทยเพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืนตลอดไป แนวทางที่เหมาะสมดังกล่าวก็คือ การอนุรักษ์และคุ้มครองประชากรปูม้า 2 ฝั่งทะเลที่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน ให้คงมีอยู่ตลอดไป โดยการดำเนินงานต่างๆ เช่น การฟื้นฟูประชากรหรือเพิ่มผลผลิต ด้วยการปล่อยพันธุ์ปูม้าลงสู่ธรรมชาติ หรือการสร้างประชากรเพื่อการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ หรือด้วยกรณีอื่นใดก็ตาม จะต้องระวังมิให้เกิดผลกระทบที่จะนำไปสู่การผสมปนเปกัน (mixed population) ระหว่างประชากรปูม้าที่อยู่ต่างฝั่งทะเล เพราะประชากรที่แตกต่างกันโดยพันธุกรรมเหล่านี้คือ แหล่งของความหลากหลาย ที่เป็นทรัพยากรทางพันธุกรรมที่สำคัญของสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ ซึ่งจะเป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่ง ถ้าหากประชากรที่แตกต่างกันเหล่านี้เกิดการผสมปนเปกัน จนต้องสูญเสียผลประโยชน์ที่พึงจะได้รับ หรือความยั่งยืนในการใช้ประโยชน์ จากแหล่งทรัพยากรทางพันธุกรรม ที่มีความแตกต่างหลากหลายนี้ไปในที่สุด

(6) ผลการศึกษาที่ระบุว่า ประชากรปูดำจากพม่าและประชากรปูดำของไทยทั้งหมด มีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกัน รวมทั้งประชากรปูทะเลของไทยมีพันธุกรรมที่ไม่แตกต่างกัน ระหว่างประชากรในแต่ละชนิด แม้ว่าประชากรเหล่านี้จะอยู่ต่างฝั่งกันก็ตาม

นั้น เป็นผลการศึกษาที่มีประโยชน์อย่างยิ่ง ต่อกิจการเพาะเลี้ยง และปรับปรุงพันธุ์ปูทะเลแต่ละชนิดในอนาคต เพราะสามารถสร้างพันธุ์ หรือประชากรพ่อแม่พันธุ์ ให้มีศักยภาพหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สูงเพียงพอได้ ด้วยการนำพันธุ์จากหลากหลายแหล่งซึ่งไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่าง มาใช้ในการสร้างประชากร โดยไม่ต้องกังวลถึงผลกระทบที่จะเกิดจากการผสมปนเประหว่างประชากรธรรมชาติที่แตกต่างกัน

(7) ถ้าหากจะนำผลการศึกษาเหล่านี้ ไปใช้ประโยชน์ในแง่ของการเพาะเลี้ยง และปรับปรุงพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น ควรจะต้องมีการทดสอบพันธุ์จากแหล่งต่างๆ ที่ต้องการควบคุมกันไปด้วย โดยการนำมาเลี้ยงเปรียบเทียบ ภายใต้สภาพแวดล้อมของพื้นที่เดียวกัน เพื่อให้ทราบความสามารถของแต่ละสายพันธุ์ ในการแสดงออกซึ่งลักษณะสำคัญต่างๆ ต่อการเพาะเลี้ยง (aquacultural-traits performance) ภายใต้สภาพแวดล้อมของพื้นที่เดียวกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่กรมประมงทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมสนับสนุนการดำเนินงานในโครงการวิจัย โดยเฉพาะข้าราชการ และเจ้าหน้าที่ของสำนักงานประมงจังหวัด ศูนย์และสถานีประมง ซึ่งช่วยเหลือด้านข้อมูลต่างๆ และอำนวยความสะดวกในการออกไปเก็บตัวอย่าง รวมถึงเจ้าหน้าที่ของกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพสัตว์น้ำ จัดสถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ และลูกจ้างในโครงการฯ ทุกคน และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ซึ่งให้การสนับสนุนด้านงบประมาณรายจ่ายทั้งหมดในโครงการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา จิรพันธ์พัฒน์ และ ณฐกร ประดิษฐ์สรรพ.

2548. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ “การจำแนกชนิดและการประเมินสถานะทรัพยากรปูทะเลในบริเวณคลองหวาง จังหวัดระนอง”. ชุดโครงการ “ปู” สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- จรัลธาดา กรรณสูต และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2542. ลักษณะและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปลาในวงศ์ปลาสาครที่พบในประเทศไทย. *วารสารการประมง* 52: 565-578.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2550. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย”. ชุดโครงการ “พันธุศาสตร์พืชและสัตว์น้ำ” สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข ศรีรัตน์ สอดสุข และ พลชาติ ผิวฉะ. 2550. ลักษณะความแตกต่างและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิด โดยเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ในปูทะเลและปูม้าของไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2550 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข สุภัทรา อุไรวรรณ และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2548. วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย ในกระบวนการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์กุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2548 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- ศรีรัตน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างและโครงสร้างทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2541. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วยจาก 3 แหล่งในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 17/2541 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2548. การพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ในปูทะเล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2548. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง
- สุเมธ ตันติกุล. 2527. ชีวิตวิทยาการประมงของปูม้าในอ่าวไทย. เอกสารเผยแพร่วิชาการฉบับที่ 1/2527 ฝ่ายสัตว์น้ำอื่นๆ กองประมงทะเล กรมประมง.
- Allendorf, F.W. and Ryman, N. 1987. Genetic management of hatchery stocks. In: N. Ryman and F. Utter (eds.) *Population Genetics and Fisheries Management*. University of Washington Press. Seattle. pp. 141-159.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2006. *Arlequin ver 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis*. Institute of Zoology, University of Bern, Switzerland.
- Farris, J.S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Syst Zool* 34: 21-33.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Felsenstein, J. 1990. *PHYLP (Phylogeny Inference Package) Version 3.3*. University of Washington, Seattle.
- Fu, Y.X. 1997. New statistical test of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 43: 550-557.
- Goudet, J. 1995. Fstat version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. *J Heredity* 86: 485-486.
- Keenan, C.P., Davie, P.J.F. and Mann, D.L. 1998. A revision of the genus *Scylla* De Haan, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae).

- Raffles Bull Zool* 46: 217-245.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Ng, P.K.L. 1998. Crabs (Portunidae). In: K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds.) *FAO Species Identification Guide for Fisheries Purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. Vol. 2. Cephalopods, Crustaceans, Holothurians and Sharks*. pp. 1115-1131.
- Ng, P.K.L., Guinot, D. and Davie, P.J.F. 2008. Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *Raffles Bull Zool* 17: 1-286.
- Shaklee, J.B., Allendorf, F.W., Morizot, D.C. and Whitt, G.S. 1990. Gene nomenclature of protein coding loci in fish. *Trans Am Fish Soc* 119: 2-15.
- Siegel, S. 1956. *Nonparametric Statistics for the Behavioural Sciences*. McGraw-Hill Kogakusha, Tokyo.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R.. 1973. *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Sodsuk, P. and McAndrew, B.J. 1991. Molecular systematics of three tilapiine 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 tilapiine cichlids using allozymes and morphological characters. PhD thesis, Univ. of Stirling, Scotland, UK.
- Suvatti, C. 1950. *Fauna of Thailand*. Department of Fisheries. The Tieng Saeng Press, Bangkok, Thailand.
- Swofford, D.L. and Olsen, G.J. 1990. Phylogeny reconstruction. In: D.M. Hillis and C. Moritz (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Massachusetts. pp. 411-501.
- Swofford, D.L. and Selander, R.B. 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.
- Workman, P.L. and Niswander, J.D. 1970. Population studies on Southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am J Hum Gen* 22: 24-49.
- Yeh, F.C., Yang, R. and Boyle, T. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. (Website: <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>)