

การระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

Species identification of marine crabs in reforested mangrove at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, using DNA barcodes

วิรังรอง กรินท์ธัญญกิจ^{1*}, ชุตาทา คุณสุข¹ และ เสาวภา สุราวุธ¹

Wirangrong Karinthanyakit^{1*}, Chutapa Kunsook¹ and Saowapha Surawut¹

Received: 28 October 2024 ; Revised: 2 December 2024 ; Accepted: 15 January 2025

บทคัดย่อ

การทำลายพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทย ส่งผลกระทบทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพลดลง รวมถึงสัตว์อย่างปูน้ำเค็มอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี เป็นหนึ่งในพื้นที่ที่มีการจัดทำโครงการปลูกป่าชายเลน และการศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณดังกล่าวสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดถึงความสำเร็จของโครงการได้ โดยการจำแนกชนิดปูน้ำเค็มในปัจจุบันมีการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมร่วมกับลักษณะทางสัณฐาน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น เนื่องจากปูบางชนิดมีลักษณะทางสัณฐานที่คล้ายคลึงกัน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Cytochrome oxidase subunit I (COI) ในดีเอ็นเอของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน COI โดยเทคนิค PCR และได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของปูน้ำเค็มทุกตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมของตัวอย่างปูกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมในฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank พบว่า สามารถระบุชนิดปูได้จำนวน 11 ชนิด โดย 10 ชนิด มีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมสูงถึง 97.26% – 100% ได้แก่ ปูขาว (*Scylla paramamosain*) ปูม่วง (*S. tranquebarica*) ปูดำ (*S. olivacea*) ปูม้า (*Portunus pelagicus*) ปูหินก้ามฟ้า (*Thalamita crenata*) ปูกระตอยแดง (*Charybdis affinis*) ปูก้ามหัก (*Venitus latreillei*) ปูใบก้ามโต (*Myomenippe hardwickii*) ปูแป้น (*Varuna yui*) และปูเสฉวนขาฟ้า (*Clibanarius longitarsus*) ส่วนอีก 1 ชนิด คือปูเป้ใบไม้ (*Neodoriippe callida*) ไม่พบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ในฐานข้อมูล ความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในพื้นที่ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูของอ่าวคุ้งกระเบนที่พบในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ จำนวน 11 ชนิดนั้น มีความใกล้เคียงกับจำนวนชนิดปูที่พบในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติของอ่าวคุ้งกระเบนที่พบจำนวน 13 ชนิด และปูทะเลในสกุล *Scylla* ซึ่งเป็นปูเศรษฐกิจ พบในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จำนวน 3 ชนิด จากที่เคยมีรายงานพบเพียง 1 ชนิด จากผลการวิจัยสรุปได้ว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ดช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการระบุชนิดปูน้ำเค็มได้เป็นอย่างดี ความหลากหลายชนิดของปูในพื้นที่ป่าชายเลนฟื้นฟูที่มีใกล้เคียงกับพื้นที่ธรรมชาติ เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของพื้นที่ป่าชายเลนปลูกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการติดตามความสำเร็จของการฟื้นฟูป่าชายเลนและความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งจะเป็นแนวทางสำคัญในการวางแผนอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรปูให้เกิดความยั่งยืน

คำสำคัญ: ดีเอ็นเอบาร์โค้ด, การระบุชนิด, ปูน้ำเค็ม, ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟู, อ่าวคุ้งกระเบน

Abstract

The problem of mangrove forest destruction has led to a decline of biodiversity in Thailand, including animals such as marine crabs. Kung Krabaen Bay in Chanthaburi Province is one of the areas where a mangrove reforestation project has been implemented. The study of marine crab species diversity in this area can be used as an indicator of

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี 22000

¹ Assistance Professor, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province, 22000

* Corresponding author. Wirangrong Karinthanyakit, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province, 22000 Email: wirangrong.k@rbru.ac.th

the project's success. Currently, the identification of marine crab species uses genetic data in conjunction with morphological characteristics to obtain more accurate information, as some species exhibit similar morphological traits. This study aimed to study the species identification of marine crabs in reforested mangrove at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, using DNA barcodes. Fifty-eight samples of marine crab were species identified by analyzing the nucleotide sequence of the Cytochrome oxidase I (COI) gene on mitochondrial DNA. All 58 marine crabs were successfully PCR amplified and sequenced. The identity of all sequences was determined by comparing them with the GenBank genetic database. The results found that 11 species were identified. Ten species showed a high genetic similarity of 97.26% – 100%, including *Scylla paramamosain*, *S. tranquebarica*, *S. olivacea*, *Portunus pelagicus*, *Thalamita crenata*, *Charybdis affinis*, *Venitus latreillei*, *Myomenippe hardwickii*, *Varuna yui* and *Clibanarius longitarsus*. However, the remaining species, *Neodoriippe callida*, did not have a nucleotide sequence of the COI gene in the GenBank database. The diversity of marine crab species in the reforested mangrove area of Kung Krabaen Bay, which comprised 11 species, was close to the 13 species found in the natural mangrove area of the bay. Three economically important crab species in the genus *Scylla* were identified, as opposed to only one species previously reported. DNA barcoding significantly increases the confidence in identifying marine crab species. The diversity of crab species in the reforested mangrove, which is close to the natural areas, indicates the abundance of the planted mangrove forest area in Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province. The results of this study can be used as basic data to monitor the success of mangrove reforestation and biodiversity, which will lead to planning for conservation and sustainable management of crab resources.

Keywords: DNA barcodes, species identification, marine crabs, reforested mangrove, Kung Krabaen Bay

บทนำ

ป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในทะเลและชายฝั่ง โดยเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งอนุบาลสัตว์น้ำ ทำหน้าที่ในการป้องกันการกัดเซาะชายฝั่ง รวมไปถึงการสะสมคาร์บอนในดิน เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) อย่างไรก็ตาม ในหลายทศวรรษที่ผ่านมา ป่าชายเลนในหลายพื้นที่ของประเทศไทยถูกทำลายลงมากจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ ซึ่งรวมไปถึงป่าชายเลนในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ที่ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นาเกลือ และการสร้างท่าเรือ (Department of Marine and Coastal Resources, 2013) ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อจำนวนสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว โดยเฉพาะปูน้ำเค็ม (marine crabs) ที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมระบบนิเวศและห่วงโซ่อาหารในป่าชายเลน (Gao & Lee, 2022) อีกทั้งมีความสำคัญในแง่เศรษฐกิจสำหรับชุมชนท้องถิ่น โดยปูน้ำเค็มหลายชนิด ได้แก่ ปูม้า และปูทะเลในสกุล *Scylla* เป็นปูเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อการทำประมงในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน

อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี เป็นหนึ่งในพื้นที่ที่มีการดำเนินโครงการฟื้นฟูป่าชายเลนอย่างต่อเนื่อง โดยศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน ร่วมกับสำนักงานประมง

จังหวัด และชุมชนอ่าวคุ้งกระเบน จัดทำโครงการปลูกป่าชายเลนเพื่อฟื้นฟูป่าระบบนิเวศและแหล่งที่อยู่อาศัยให้กับสัตว์น้ำ (Kung Krabaen Bay Royal Development Study, 2020; ชุตาทา คุณสุข และคณะ, 2565) และเพื่อประเมินผลกระทบและความสำเร็จของโครงการ จึงควรมีการศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็ม ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่ดังกล่าว ผลที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และการจัดการทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน อย่างไรก็ตาม การระบุชนิดปูน้ำเค็มโดยใช้ข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากปูน้ำเค็มหลายชนิด มีลักษณะทางสัณฐานที่คล้ายคลึงกัน เช่น ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหักในสกุล *Venitus* และปูแป้นในสกุล *Varuna* เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนในการระบุชนิด เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA Barcodes) จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต โดยใช้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่จำเพาะเจาะจง โดยในสัตว์มักใช้ส่วนของยีนไซโตโครม ออกซิเดส วัน (Cytochrome oxidase I; COI) ซึ่งพบว่ามีศักยภาพในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนนี้มีลักษณะเป็นเอกลักษณ์เฉพาะในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน และแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ อย่างชัดเจน (Hebert *et al.*, 2003)

ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้ เพื่อศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชาย

เลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคังกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยผลที่คาดว่าจะได้รับคือ ข้อมูลความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในพื้นที่ดังกล่าว ซึ่งจะช่วยสนับสนุนการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรทางทะเลอย่างยั่งยืน ทั้งยังมีประโยชน์ต่อการฟื้นฟูระบบนิเวศชายฝั่งในอนาคต และช่วยเสริมสร้างองค์ความรู้ในการนำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศชายฝั่ง

วิธีการศึกษา

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างในพื้นที่ป่าชายเลนปลูกรอบบริเวณอ่าวคังกระเบน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีรายงานการแพร่กระจายของปูน้ำเค็ม (อรอนงค์ บุญมี, 2563; ชุตานา คุณสุข และคณะ, 2565) โดยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 6 จุด ได้แก่ บริเวณคลองในป่าชายเลน 3 สถานี และบริเวณหน้าป่าชายเลนที่ติดกับหญ้าทะเล 3 สถานี ออกเก็บตัวอย่างปูน้ำเค็มในพื้นที่ป่าชายเลน บริเวณอ่าวคังกระเบนทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน (เดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม กรกฎาคม สิงหาคม กันยายน พ.ศ. 2566 และเดือนมกราคม พ.ศ. 2567) โดยใช้ลอบแบบพับได้ที่มีเยื่อเป็นพลาสติก ขนาดตาที่ทอกลบ 2.5 นิ้ว นำไปวางในจุดเก็บตัวอย่างจำนวน 60 ลูก ระยะห่างระหว่างลอบ 5 เมตร จากนั้นรอระยะเวลาเพื่อให้ปูเข้าลอบ นำตัวอย่างปูออกจากลอบ รักษาสภาพด้วยน้ำแข็ง และนำกลับมายังห้องปฏิบัติการจัดจำแนกชนิดปูโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้คู่มือของ ธรณ์ ขำรงนาวาสวัสดิ์ และพันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์ (2550) และสหัส ราชเมืองขวาง (2557)

2. การสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR)

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างปูน้ำเค็มที่รวบรวมได้จำนวน 58 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างปูน้ำเค็มชนิดละ 2-3 ตัวอย่าง ยกเว้นปูน้ำเค็มในสกุล *Scylla* ที่ใช้ตัวอย่างทุกตัว เนื่องจากเป็นกลุ่มปูที่มีลักษณะทางสัณฐานคล้ายคลึงกัน ใช้น้ำเยื่อปู 0.07 กรัม สกัดด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป FavorPrep™ Tissue Genomic DNA extraction Kit (Favorgen, Taiwan) และสกัดดีเอ็นเอตามคำแนะนำของผู้ผลิต จากนั้นตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวิธี 1% อะกาโรสเจล อิเล็กโทรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปเพิ่มปริมาณในส่วนที่ยีน COI ด้วยเทคนิค PCR ปฏิกิริยาดังกล่าวประกอบด้วยสารต่างๆ (PCR mixture) ซึ่งมีปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร (μl) ดังนี้ 1x Taq buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 μM Forward และ Reverse

primers, 0.2 mM dNTPs, 1U Taq DNA Polymerase (Recombinant) (Fermentas, Germany) และดีเอ็นเอที่สกัดได้ ปริมาตร 4 μl ไพรมเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR คือ คู่ไพรมเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) ซึ่งเป็น universal primer สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขึ้นส่วนขนาดประมาณ 700 คู่เบส โดยมีสภาวะการทำงานทั้งหมด 35 รอบ ดังนี้ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (Folmer *et al.*, 1994) จากนั้นทำผลผลิตของ PCR ที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป GenepHlow™ Gel/PCR kit (Geneaid, Taiwan) แล้วส่งไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ (automated sequencer) ดำเนินการโดยบริษัท MacroGen ประเทศเกาหลีใต้ ซึ่งไพรมเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์คือไพรมเมอร์คู่เดียวกับที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

3. การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างโดยตรวจสอบลักษณะของกราฟโครมาโทแกรม (chromatogram) ด้วยโปรแกรม MEGA v.11 (Tamura *et al.*, 2021) ระบุชนิดปูโดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนที่ยีน COI ของแต่ละตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ในฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank โดยใช้โปรแกรม Blastn (Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool) โดยค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่ใช้ในการระบุชนิดต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 97% หากต่ำกว่านี้ สันนิษฐานได้วยังไม่มีผู้ใดศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของชนิดนั้นมาก่อน (ตุจตุติ ปานพรหมมินทร์, 2556; Wong & Hanner, 2008)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างตัวอย่างปูน้ำเค็ม โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนที่ยีน COI ของทุกตัวอย่างมาเปรียบเทียบกัน (multiple sequence alignment) รวมถึงสิ่งมีชีวิตนอกกลุ่ม (outgroup) ที่เพิ่มเข้ามา 2 ชนิด คือ ปูเสฉวนขาสาม (*Clibanarius infraspinus*) และปูเสฉวนยักษ์จุดขาว (*Dardanus megistos*) จากนั้นสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbor-joining (NJ) โดยใช้โปรแกรม MEGA v. 11 ทดสอบความเชื่อมั่นของ Phylogenetic tree ที่ได้ด้วยการทดสอบ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ (Tamura *et al.*, 2021)

วิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิด (Intraspecific genetic distance) และระหว่างชนิด (Interspecific genetic distance) โดยใช้โปรแกรม MEGA v. 11 (Tamura *et al.*, 2021)

ผลการศึกษา

1. การระบุชนิดปูน้ำเค็มจากลักษณะทางสัณฐาน

ในจำนวนตัวอย่างปูทั้งหมด 58 ตัวอย่าง มีปูบางชนิดที่มีความสับสนในการจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหัก และปูแป้น ปูทะเล *Scylla* spp. มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน โดยเฉพาะในส่วนของลักษณะหนามระหว่างตา ลักษณะและสีของกระดอง แต่เมื่อพิจารณาโดยละเอียดแล้ว ลักษณะที่นำมาเป็นจุดในการระบุชนิดได้ คือ สีก้ามและลายร่างแหบนรยางค์ โดยปูม่วง (*S. tranquebarica*) ก้ามด้านหน้าครึ่งบนไม่มีจุดสี ส่วนครึ่งล่างมีสีน้ำตาล น้ำตาลม่วงหรือน้ำตาลเข้ม มีลายร่างแหปรากฏที่ขาเดินทุกขา ปูขาว (*S. paramamosain*) บริเวณครึ่งบนของก้ามด้านหน้ามีสีเขียวมอมน้ำตาล มีจุดสีเขียวมอมเหลืองขนาดเล็กกระจายอยู่ ครึ่งล่างของก้ามมีสีเหลืองอ่อน มีลายร่างแหชัดเจนบริเวณขาที่ 3 และขาว่ายน้ำ ปูดำ (*S. olivacea*) ก้ามมีสีโทนแดงหรือน้ำตาลแดง ไม่ปรากฏลายร่างแหทั้งบนก้ามขาเดิน และขาว่ายน้ำ (ประดิษฐ์ แสงทอง, 2549) ปูก้ามหักมี 2 ชนิดที่มีลักษณะรยางค์ขา และลักษณะรูปร่างของกระดองคล้ายคลึงกัน คือ *Venitus vietnamensis* และ *V. latreillei* แต่มีจุดที่แตกต่างกัน สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ระบุชนิดได้ คือ ลักษณะของหนามข้างกระดอง โดยปูก้ามหัก (*V. vietnamensis*) มีหนามข้างกระดอง 4 ซี่ มีขนาดเล็ก สั้นและมน ทำให้มองเห็นได้ไม่ชัดเจน ส่วนปูก้ามหัก (*V. latreillei*) มีหนามข้างกระดอง 3 ซี่ มีขนาดใหญ่ ยาว และแหลม ทำให้มองเห็นได้อย่างชัดเจน (Naruse *et al.*, 2014) ส่วนปูแป้นมี 2 ชนิดที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันในส่วนของลักษณะก้ามและรยางค์ขา แต่มีจุดที่แตกต่างกัน คือ รูปร่างของกระดองและ

ลายบนกระดอง โดยปูแป้น (*Varuna yui*) มีลักษณะของกระดองเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู มีลายและมีร่องตื้นๆ อยู่ที่ผิวของกระดองเห็นได้ชัดเจน ส่วนปูแป้น (*V. litterata*) มีลักษณะของกระดองเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีลายและมีร่องตื้นๆ อยู่ที่ผิวของกระดองเพียงเล็กน้อย (มนัสวัฒน์ แสงศักดิ์ ภัทรธำรง และคณะ, 2561)

ผลการระบุชนิดทางอนุกรมวิธาน พบปูน้ำเค็ม 6 วงศ์ 11 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นปูแท้จริง (Brachyura) 5 วงศ์ 10 ชนิด คือ วงศ์ Portunidae จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ปูม่วง ปูขาว ปูดำ ปูม้า (*Portunus pelagicus*) ปูหินก้ามฟ้า (*Thalamita crenata*) และปูกะตอยแดง (*Charybdis affinis*) วงศ์ Macrophthalmidae 1 ชนิด คือ ปูก้ามหัก (*V. latreillei*) วงศ์ Menippidae 1 ชนิด คือ ปูใบก้ามโต (*Myomenippe hardwickii*) วงศ์ Varunidae 1 ชนิด คือ ปูแป้น (*V. yui*) และ วงศ์ Dorippidae 1 ชนิด คือ ปูใบไม้ (*Neodorippe callida*) ปูไม้แท้จริง (Anomura) พบ 1 วงศ์ คือ Diogenidae จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ ปูเสฉวนขาฟ้า (*C. longitarsus*)

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

ดีเอ็นเอของปูน้ำเค็ม 58 ตัวอย่างที่สกัดได้นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน COI ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบผลด้วยวิธี 1% อะกาโรสเจล

อิเล็กโทรโฟรีซิส และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder (Biotech rabbit GmbH, Germany) เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 700 คู่เบส (bp) ทุกตัวอย่าง ตัวอย่างผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแสดงใน Figure 1

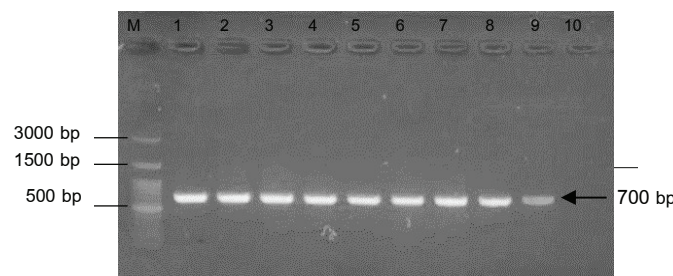


Figure 1 Agarose gel showing PCR fragments (approximately 700 bp) of some crab samples (Lane 1-9).

A 100 bp DNA ladder was used in the first well (M) and negative control was included using water to ensure no contamination had occurred. (Lane 10)

3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อนำผลผลิต PCR ของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ทุกตัวอย่าง โดยมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ในช่วง 617-687 คู่เบส

เมื่อนำผลผลิต PCR ของปูน้ำเค็มจำนวน 58 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ทุกตัวอย่าง โดยมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ในช่วง 617-687 คู่เบส

เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของปูตัวอย่างกับฐานข้อมูลพันธุกรรมสากล GenBank พบว่าสามารถระบุชนิดปูได้ 11 ชนิด ในจำนวนนี้มี 10 ชนิด ที่มีค่าความ

คล้ายคลึงทางพันธุกรรมไม่ต่ำกว่า 97% (97.26% – 100%) และสอดคล้องกับการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ปูม่วง ปูขาว ปูดำ ปูม้า ปูหินก้ามฟ้า ปูกะตอยแดง ปูก้ามหัก ปูใบก้ามโต ปูแป้น และปูเสฉวนขาฟ้า ส่วนอีก 1

ชนิด คือ ปูเป๋ใบไม้ พบว่ามีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมต่ำกว่า 97% (95.14% – 95.29%) โดยมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับปูเป๋ใบไม้ (*N. simplex*) (Table 1)

Table 1 Similarity search results of the studied samples in GenBank database.

Sample ID	Morphological identification		Highest similarity search in GenBank		
	Scientific name	Thai name	Scientific name	Max similarity (%)	Accession Number
KB-C01	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.70	FJ827759
KB-C02	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.52	KT921348
KB-C03	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.56	JX457150
KB-C04	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.53	JX457150
KB-C05	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.41	MG197997
KB-C06	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	100.00	FJ827759
KB-C07	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.56	JX457150
KB-C08	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.56	FJ827759
KB-C09	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.85	MG197997
KB-C10	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.71	JX457150
KB-C11	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.85	MK091844
KB-C12	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.71	JX457150
KB-C13	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	100.00	MK091844
KB-C14	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	100.00	MG197997
KB-C15	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.85	FJ827759
KB-C16	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	100.00	FJ827759
KB-C17	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.55	FJ827759
KB-C18	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	100.00	MG197997
KB-C19	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	100.00	MG197997
KB-C20	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	100.00	FJ827759
KB-C21	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	100.00	KT921348
KB-C22	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.69	JX457150
KB-C23	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	98.50	MN635599
KB-C24	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.70	NC012569
KB-C25	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.25	NC012569
KB-C26	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.85	NC012569
KB-C27	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.25	JX457150
KB-C28	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.70	MK091843
KB-C29	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.55	NC012569
KB-C30	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	100.00	KT921348
KB-C31	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.83	KT921347
KB-C32	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.54	KT921347
KB-C33	<i>S. paramamosain</i>	ปูขาว	<i>S. paramamosain</i>	99.69	KT921347
KB-C34	<i>S. tranquebarica</i>	ปูม่วง	<i>S. tranquebarica</i>	99.25	FJ827759
KB-C35	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	98.94	NC012569
KB-C36	<i>S. olivacea</i>	ปูดำ	<i>S. olivacea</i>	99.55	FJ827760
KB-C37	<i>P. pelagicus</i>	ปูม้า	<i>P. pelagicus</i>	100.00	MN337016
KB-C38	<i>P. pelagicus</i>	ปูม้า	<i>P. pelagicus</i>	99.70	MN337016

Table 1 Similarity search results of the studied samples in GenBank database. (Continue)

Sample ID	Morphological identification		Highest similarity search in GenBank		
	Scientific name	Thai name	Scientific name	Max similarity (%)	Accession Number
KB-C39	<i>P. pelagicus</i>	ปูม้า	<i>P. pelagicus</i>	100.00	MN337016
KB-C40	<i>T. crenata</i>	ปูหินก้ามฟ้า	<i>T. crenata</i>	99.41	MN425338
KB-C41	<i>T. crenata</i>	ปูหินก้ามฟ้า	<i>T. crenata</i>	98.98	MN425338
KB-C42	<i>T. crenata</i>	ปูหินก้ามฟ้า	<i>T. crenata</i>	99.42	MN425338
KB-C43	<i>C. affinis</i>	ปูกระตอยแดง	<i>C. affinis</i>	99.70	MZ393897
KB-C44	<i>C. affinis</i>	ปูกระตอยแดง	<i>C. affinis</i>	99.54	MZ393897
KB-C45	<i>C. affinis</i>	ปูกระตอยแดง	<i>C. affinis</i>	99.39	MZ393897
KB-C46	<i>V. latreillei</i>	ปูก้ามหัก	<i>V. latreillei</i>	100.00	LC097126
KB-C47	<i>V. latreillei</i>	ปูก้ามหัก	<i>V. latreillei</i>	99.68	LC097126
KB-C48	<i>V. latreillei</i>	ปูก้ามหัก	<i>V. latreillei</i>	99.69	LC097126
KB-C49	<i>M. hardwickii</i>	ปูใบก้ามโต	<i>M. hardwickii</i>	100.00	OQ954126
KB-C50	<i>M. hardwickii</i>	ปูใบก้ามโต	<i>M. hardwickii</i>	100.00	OQ954126
KB-C51	<i>M. hardwickii</i>	ปูใบก้ามโต	<i>M. hardwickii</i>	100.00	OQ954126
KB-C52	<i>V. yui</i>	ปูแป้น	<i>V. yui</i>	99.12	NC037155
KB-C53	<i>V. yui</i>	ปูแป้น	<i>V. yui</i>	99.41	NC037155
KB-C54	<i>V. yui</i>	ปูแป้น	<i>V. yui</i>	99.70	NC037155
KB-C55	<i>N. callida</i>	ปูเป้ใบไม้	<i>N. simplex</i>	95.14	EU636975
KB-C56	<i>N. callida</i>	ปูเป้ใบไม้	<i>N. simplex</i>	95.29	EU636975
KB-C57	<i>C. longitarsus</i>	ปูเสฉวนขาฟ้า	<i>C. longitarsus</i>	97.26	MH482001
KB-C58	<i>C. longitarsus</i>	ปูเสฉวนขาฟ้า	<i>C. longitarsus</i>	97.39	OP972582

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างตัวอย่างปูน้ำเค็ม พบว่าปูทั้ง 11 ชนิด แยกสายวิวัฒนาการออกจากกันอย่างชัดเจน โดยสามารถแบ่งกลุ่มปูน้ำเค็มออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มปูแท้จริง และกลุ่มปูไม่แท้จริง โดยกลุ่มปูแท้จริง มี 10 ชนิด ประกอบด้วยปูในวงศ์ Portunidae 6 ชนิด วงศ์ Macrophthalmidae 1 ชนิด วงศ์ Menippidae 1 ชนิด วงศ์ Varunidae 1 ชนิด และวงศ์ Dorippidae 1 ชนิด ส่วนปูไม่แท้จริงได้แก่ วงศ์ Diogenidae มี 1 ชนิด (Figure 2)

ผลการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดพบว่าปูม้าและปูใบก้ามโต มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.000 ปูม่วง ปูหินก้ามฟ้า ปูกระตอยแดง ปูก้ามหักมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากัน คือ 0.003 ปูขาวและปูแป้นมีค่าเท่ากัน คือ 0.004 ปูดำ ปูเป้ใบไม้ และปูเสฉวนขาฟ้ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.008, 0.001 และ 0.007 ตามลำดับ (Table 2) ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิด พบว่าปูขาวและปูม่วงมีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดน้อยที่สุด เท่ากับ 0.092 ในขณะที่ปูม้าและปูเป้ใบไม้มีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.256 (Table 2)

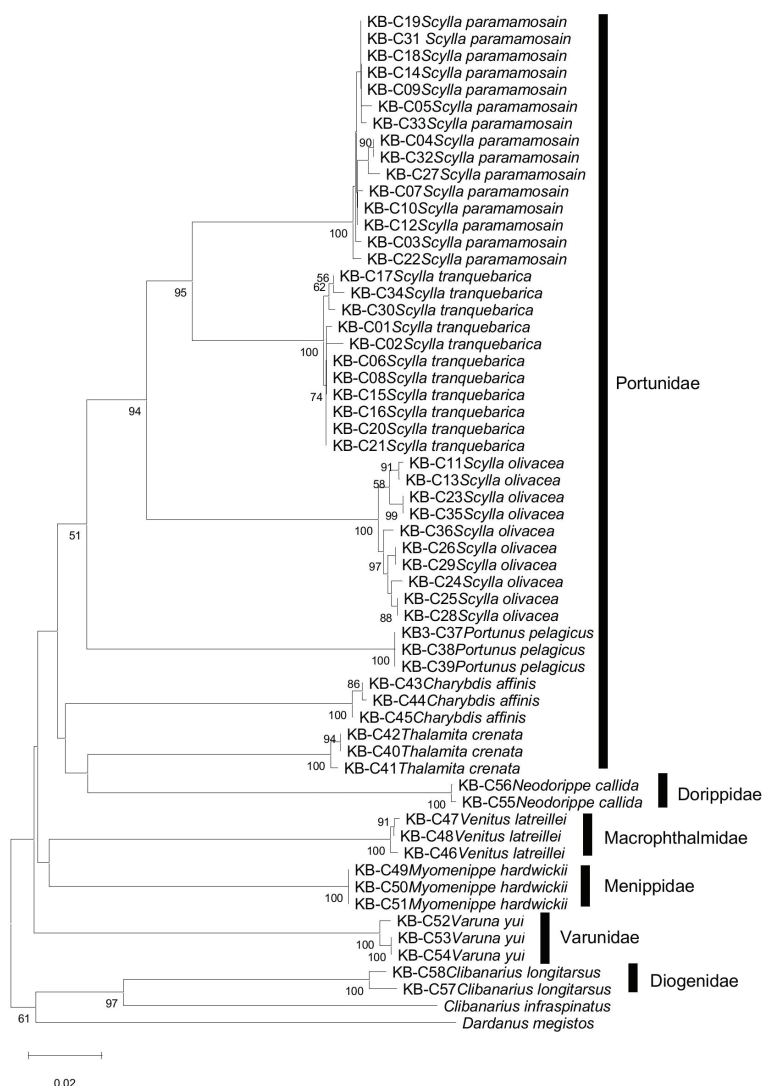


Figure 2 Phylogenetic tree based on COI gene sequences was constructed with Neighbor-joining (NJ) method.

Two species of anomuran crabs, *C. infraspinitus* and *D. megistos*, were used as outgroup.

อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อระบุชนิดปูน้ำเค็ม ในบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูผืนป่าอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ร่วมกับการใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของยีน COI ที่มีความยาวประมาณ 700 คู่เบส โดยยีนดังกล่าวมีรายงานวิจัยพบว่าเป็นบริเวณที่มีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เป็นข้อมูลสำหรับระบุชนิดของสัตว์ รวมถึงปู (Evans, 2018; Suthamrit & Thaewnon-Ngiw, 2021) เนื่องจากมีความหลากหลายภายในชนิดต่ำมาก แต่ถ้าเป็นสัตว์คนละชนิดจะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงสามารถนำมาใช้ระบุชนิดสัตว์ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันได้ (Hebert *et al.*, 2003)

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ของตัวอย่างปูจำนวน 58 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอ

ไทด์ของปูกับฐานข้อมูลพันธุกรรมสากล GenBank เพื่อระบุชนิด พบว่าปูจำนวน 56 ตัวอย่าง ระบุชนิดปูได้จำนวน 10 ชนิด โดยมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 97.26% – 100% ซึ่งค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่มีค่าตั้งแต่ 97% ขึ้นไปเป็นค่าที่ยอมรับได้ในการนำมาใช้ระบุชนิดของสัตว์ (จุฑาดี ปานพรหมมินทร์, 2556; Wong & Hanner, 2008) ส่วนปูอีก 2 ตัวอย่าง คือ ปูเป็ใบไม้ มีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับปูเป็ใบไม้ อยู่ในช่วง 95.14% - 95.29% ในกรณีนี้ที่ต่ำกว่า 97% จึงสรุปว่าในฐานข้อมูล GenBank ยังไม่มีรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ของปูเป็ใบไม้

ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตัวอย่างปูน้ำเค็มแสดงให้เห็นถึงสายวิวัฒนาการที่แยกออกจากกันอย่างชัดเจนของปูน้ำเค็มทั้ง 11 ชนิด ใน 6 วงศ์ โดยในวงศ์ Portunidae ปูทะเลในสกุล *Scylla* แยกสายวิวัฒนาการออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

ปูขาว ปูม่วง และปูดำ โดยปูขาว และปูม่วง มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกันมากกว่าปูดำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma *et al.* (2012) ที่ศึกษาการจำแนกชนิดปูในสกุล *Scylla* โดยใช้ยีน COI ผลการศึกษาพบว่า ปูในสกุล *Scylla* แบ่งออก

เป็น 4 กลุ่ม คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ และปูเขี้ยว (*S. serrata*) โดยพบว่าปูขาวและปูม่วง มีความใกล้ชิดกันเชิงวิวัฒนาการมากที่สุด

Table 2 Genetic distance within and between marine crab species.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. <i>S. tranquebarica</i>	0.003										
2. <i>S. paramamosain</i>	0.092	0.004									
3. <i>S. olivacea</i>	0.132	0.143	0.008								
4. <i>P. pelagicus</i>	0.170	0.182	0.203	0.000							
5. <i>T. crenata</i>	0.158	0.194	0.185	0.202	0.003						
6. <i>C. affinis</i>	0.176	0.195	0.199	0.178	0.168	0.003					
7. <i>V. latreillei</i>	0.217	0.207	0.217	0.232	0.237	0.241	0.003				
8. <i>M. hardwickii</i>	0.194	0.197	0.197	0.212	0.180	0.200	0.203	0.000			
9. <i>V. yui</i>	0.206	0.215	0.248	0.252	0.203	0.207	0.231	0.213	0.004		
10. <i>N. calida</i>	0.222	0.217	0.213	0.256	0.194	0.223	0.251	0.231	0.253	0.001	
11. <i>C. longitarsus</i>	0.230	0.241	0.242	0.249	0.233	0.233	0.243	0.238	0.217	0.242	0.007

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูน้ำเค็มทั้ง 11 ชนิด พบว่าปูม้าและปูใบก้ามโตไม่มีระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิด ส่วนชนิดอื่นๆ มีค่าอยู่ในช่วง 0.001 – 0.008 สอดคล้องกับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูที่มีรายงานในการศึกษาก่อนหน้า เช่น Rosly *et al.* (2017) และ Naim *et al.* (2020) รายงานว่าปูในสกุล *Scylla* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดเท่ากับ 0.003 - 0.011 และ 0.003 - 0.006 ตามลำดับ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดของปูม้า จากงานวิจัยของ Andriyono *et al.*, (2022) มีค่า 0.000 – 0.006 และจากงานวิจัยของ Bravo *et al.* (2021) รายงานว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดปูจากบริเวณป่าชายเลนในฮ่องกงจำนวน 58 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.000 – 0.015 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปูขาวและปูม่วงที่อยู่ในสกุลเดียวกันคือ สกุล *Scylla* มีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดน้อยที่สุดเท่ากับ 0.092 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma *et al.* (2012), Rosly *et al.* (2017) และ Naim *et al.* (2020) ที่รายงานปูในสกุล *Scylla* ปูขาวและปูม่วงมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุด โดยมีระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.092 – 0.100 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดในปูชนิดอื่นๆ ในงานวิจัยนี้ มีค่าอยู่ในช่วง 0.132 – 0.256 ซึ่งใกล้เคียงกับระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปูที่มีรายงานในงานวิจัยก่อนหน้า (Magalhães

et al., 2016; Bravo *et al.*, 2021) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 0.114 – 0.247 จากการวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในงานวิจัยนี้พบว่า ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดมีค่ามากกว่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดมากกว่า 10 เท่า โดยค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดมีค่าที่น้อยมาก แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI มีความแตกต่างภายในชนิดต่ำมาก จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้จำแนกชนิดสิ่งมีชีวิตออกจากกันได้ (Ward *et al.*, 2005; Balasubramanian *et al.*, 2016)

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือพบปูน้ำเค็มบริเวณป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี จำนวน 11 ชนิด สอดคล้องกับการศึกษาของอรอนงค์ บุญมี (2563) ที่ศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี โดยรายงานพบปูน้ำเค็ม บริเวณป่าชายเลนปลูก จำนวน 11 ชนิดเช่นกัน โดยมีชนิดที่ตรงกันกับการศึกษาครั้งนี้ 10 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ ปูม้า ปูหินก้ามฟ้า ปูกะตอยแดง ปูก้ามหัก ปูใบก้ามโต ปูแป้น และปูเสฉวนขาฟ้า โดยในรายงานวิจัยของอรอนงค์ บุญมี (2563) พบปูเสฉวนบก (*Coenobita variabilis*) อีก 1 ชนิด ซึ่งไม่พบในการศึกษาครั้งนี้ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าปูเสฉวนบกในรายงานของอรอนงค์ บุญมี (2563) นั้น พบเพียงแค่ 1 ตัวอย่างเท่านั้น ส่วนปูใบไม้ ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ ในรายงานของอรอนงค์ บุญมี (2563) ไม่พบในบริเวณป่าชายเลน

ที่มีการฟื้นฟู แต่พบในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติ ซึ่งในพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติ อรอนงค์ บุญมี (2563) ได้รายงานพบปูน้ำเค็มจำนวน 13 ชนิด โดยมี 3 ชนิดที่ไม่พบในการศึกษาค้างนี้ คือ ปูแสมก้ามม่วง (*Metopograpsus frontalis*) ปูใบสีน้ำตาล (*Menippe rumphii*) และปูใบ (*Epixanthus dentatus*)

ในส่วนของความหลากหลายชนิดของปูทะเลในสกุล *Scylla* ในการศึกษาค้างนี้พบ 3 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง และปูดำ สอดคล้องกับการศึกษาของ ชุตานา คุณสุข และคณะ (2565) ที่พบปูทะเลทั้ง 3 ชนิดนี้ทั้งบริเวณป่าชายเลนธรรมชาติและป่าชายเลนปลูกของอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายชนิดของปูทะเลซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่นั้นเพิ่มขึ้น จากก่อนหน้านี้นี้ที่มีรายงานพบเพียง 1 ชนิด คือ ปูม่วง (Kunsook & Dumrongrojwattana, 2017) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการศึกษาของ Kunsook and Dumrongrojwattana (2017) ศึกษาความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มทั้งหมด โดยเน้นศึกษาในพื้นที่อ่าว ไม่ได้เจาะจงศึกษาในพื้นที่ป่าชายเลนที่เป็นแหล่งอาศัยหลักของปูทะเล นอกจากนี้ จำนวนชนิดที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำ ในโครงการฟื้นฟูป่าชายเลน ที่มีรายงานว่ามีการปล่อยปูทะเลทั้ง 4 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง ปูดำ และปูเขียว

งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน COI มีศักยภาพในการจำแนกชนิดปูน้ำเค็มได้เป็นอย่างดี โดยสามารถจำแนกความแตกต่างของปูแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน ในปูที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันคือ ปูทะเลในสกุล *Scylla* ปูก้ามหักในสกุล *Venitus* และปูแป้นในสกุล *Varuna* และสามารถใช้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการได้ โดยจัดแบ่งกลุ่มปูได้สอดคล้องตามระบบอนุกรมวิธาน จากการศึกษาที่พบปูน้ำเค็ม 11 ชนิดในพื้นที่ป่าชายเลนที่มีการฟื้นฟูของอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ถือว่ามีความหลากหลายชนิดที่ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับพื้นที่ป่าชายเลนธรรมชาติที่พบปูจำนวน 13 ชนิด (อรอนงค์ บุญมี, 2563) ในจำนวนปูน้ำเค็ม 11 ชนิด พบปูทะเลที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน จำนวน 3 ชนิด คือ ปูขาว ปูม่วง และปูดำ ความหลากหลายชนิดของปูทะเลที่เพิ่มขึ้น รวมถึงปูน้ำเค็มชนิดอื่นๆ เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของป่าชายเลนปลูก และถือเป็นความสำเร็จของโครงการฟื้นฟูป่าชายเลนในพื้นที่อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน กองทุนส่งเสริม

วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ปีงบประมาณ 2566 ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีทุกท่าน สำหรับการอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยและการให้คำแนะนำ ตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีเสมอมา และขอขอบคุณคุณสหส ราชเมืองขวาง และคุณณัฐภัทร โง้วเกิด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบความถูกต้องของการจัดจำแนกชนิดปู

เอกสารอ้างอิง

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2556, 9 กรกฎาคม). ป่าชายเลน – ประโยชน์และความสำคัญ. https://km.dmcr.go.th/c_11/d_684
- ชุตานา คุณสุข, วิจิตรกร กรินทร์บุญญกิจ และอรอนงค์ บุญมี. (2565). การศึกษาโครงสร้างประชากรปูทะเล สกุล *Scylla* sp. เปรียบเทียบระหว่างป่าชายเลนธรรมชาติ และป่าชายเลนปลูกบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 27(3), 1407–1424.
- ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์. (2556). ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในปลาและการประยุกต์ใช้. *วารสารนเรศวรพะเยา*, 6(3), 174–181.
- ธรณ์ ธำรงนาวาสวัสดิ์ และพันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์. (2550). *คู่มืออันทามัน : ปูทะเลไทย*. บริษัท ไชเบอร์พริ้นท์ จำกัด.
- ประดิษฐ์ แสงทอง. (2549). ความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของปูทะเล (*Scylla* spp.) ชนิดต่างๆ. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์]. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มนัสวัฒน์ แสงศักดิ์ ภัทรธำรง, ณัฐนา แก้วไผ่ และเรืองฤทธิ์ พรหมดำ. (2561). ความหลากหลายชนิดและการแพร่กระจายของปูที่จับได้จากโพงพางในทะเลสาบสงขลาตอนนอก. *วารสารแก่นเกษตร*, 46(6), 1159–1166.
- สหส ราชเมืองขวาง. (2557). *สัตว์น้ำในป่าชายเลนคลองกำพวน จังหวัดระนอง*. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ บุญมี. (2563). *ความหลากหลายชนิดของปูน้ำเค็มในบริเวณป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี*. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี]. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.
- Andriyono, S., Hidayah, R. I., Sulmartiwi, L., Hidayani, A. A., & Alam, M. J. (2022). Molecular identification and phylogenetic trees reconstruction of blue swimming crabs (Decapoda: Portunidae) from Pangpang Bay,

- Banyuwangi. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 27(2), 93–100. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.27.2.93-100>
- Balasubramanian, C. P., Cubelio, S. S., Mohanlal, D. L., Ponniah, A. G., Kumar, R., Bineesh, K. K., Ravichandran, P., Gopalakrishnan, A., Mandal, A., & Jena, J. K. (2016). DNA sequence information resolves taxonomic ambiguity of the common mud crab species (Genus *Scylla*) in Indian waters. *Mitochondrial DNA*, 27(1), 270–275.
- Bravo, H., Cheng, C. L. Y., Iannucci, A., Natali, C., Quadros, A., Rhodes, M., Yip, M. M. L., Cannicci, S., & Fratini, S. (2021). A DNA barcode library for mangrove gastropods and crabs of Hong Kong and the Greater Bay Area reveals an unexpected faunal diversity associated with the intertidal forests of Southern China. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1), 1–15.
- Department of Marine and Coastal Resources. (2013, November 22). *Mangrove forest area in the past*. https://km.dmcr.go.th/th/c_11/d_690
- Evans, N. (2018). *Molecular phylogenetics of swimming crabs (Portunoidea Rafinesque, 1815) support a revised family-level classification and suggests a single derived origin of symbiotic taxa*. PeerJ, 6, e4260. <https://doi.org/10.7717/peerj.4260>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Gao, X., & Lee, S. Y. (2022). Feeding strategies of mangrove leaf-eating crabs for meeting their nitrogen needs on a low-nutrient diet. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1–14.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Kung Krabaen Bay Royal Development Study. (2020). *Forest builders foundation in collaboration with Kung Krabaen Bay development study center forest and the Kung Krabaen Bay animal non-hunting area organize mangrove planting activities*. https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_activities/127/86669.
- Kunsook, C., & Dumrongrojwatthana, P. (2017). Species diversity and abundance of marine crab (Portunidae: Decapoda) from a collapsible crab trap fishery at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province, Thailand. *Tropical Life Sciences Research*, 28(1), 45–67.
- Ma, H., Ma, C., & Ma, L. (2012). Molecular identification of genus *Scylla* (Decapoda: Portunidae) based on DNA barcoding and polymerase chain reaction. *Biochemical Systematics and Ecology*, 41, 41–47.
- Magalhães, T., Robles, R., Felder, D. L., & Mantelatto, F. L. (2016). Integrative taxonomic study of the purse crab genus *Persephona* Leach, 1817 (Brachyura: Leucosiidae): Combining morphology and molecular data. *PLoS ONE*, 11(4), 1–34.
- Naim, D. M., Nor, S. A. M., & Mahbool, S. (2020). Reassessment of species distribution and occurrence of mud crab (*Scylla* sp., Portunidae) in Malaysia through morphological and molecular identification. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(3), 643–652.
- Naruse, T., Darren, C. J., & Osawa, M. (2014). Notes on a collection of stomatopod and decapod crustaceans from Cambodia. *Cambodian Journal of Natural History*, 2014(1), 24–36.
- Rosly, H. A. A. M., Nor, S. A. M., & Naim, D. M. (2017). Phylogenetic relationships within the *Scylla* (Portunidae) assessed by the mitochondrial DNA sequence. *Biodiversitas*, 18(4), 1696–1704.
- Suthamrit, W., & Thaewnon-Ngiw, B. (2021). DNA barcoding of mountain crabs (Potamidae) from Phetchabun Mountains of Thailand: The first report of endemic and endangered species. *Biochemistry & Molecular Biology*, 7(26), 1–7.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.

- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857.
- Wong, E. H. K., & Hanner, R. H. (2008). DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 41(8), 828–837.