



ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย  
จาก 3 แหล่ง ในประเทศไทย

GENETIC DIVERSITY OF BANANA SHRIMP FROM THREE LOCATIONS  
IN THAILAND

ศรียรัตน์ สอดสุข Srirat Sodsuk

พนม กระจำพจน์ สอดสุข Panom K. Sodsuk



## บทคัดย่อ

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguensis* De Man) ในประเทศไทยจำนวน 3 แหล่ง (ชลบุรี สุราษฎร์ธานี และสตูล) โดยวิธีสตาร์ชเจลอิลีคโตรโฟเรซิส (starch gel electrophoresis) พบว่า 26 เอนไซม์โลไซ (enzyme loci) ที่ได้จากการตรวจสอบขาว่ายน้ำ กล้ามเนื้อ และตับของกุ้งนั้น มี 5 โลไซ ที่เป็นโพลีมอร์ฟิก (polymorphic) ( $P_{0.95} = 0.192$ ) ได้แก่ *ALAT\** *GPI\** *IDHP\** *MPI\** และ *PGM-1\** ค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) จากโลไซทั้งหมดมีค่า  $H_e = 0.066 \pm 0.028$  จากผลการตรวจสอบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมต่างๆ ได้แก่ การตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (F-statistics) การตรวจสอบความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกในแต่ละคู่ประชากรและท่ามกลางประชากรทั้งหมด การประเมินการโยกย้ายทางพันธุกรรม และการจัดทำโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ให้ผลไปในแนวเดียวกัน คือ ประชากรกุ้งแชบ๊วยจากทั้ง 3 บริเวณที่ทำการศึกษา มีความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งกันและกัน และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแยกออกจากกันเป็นคนละกลุ่มประชากร อย่างไรก็ตาม ประชากรกุ้งแชบ๊วยจากจังหวัดชลบุรีและสุราษฎร์ธานีซึ่งอยู่ในเขตอ่าวไทยเหมือนกัน จะมีความเหมือนหรือความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรจากจังหวัดสตูลซึ่งอยู่ในเขตทะเลอันดามัน ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า ประชากรกุ้งแชบ๊วยในประเทศไทยมีความแตกต่างระหว่างประชากรของฝั่งทะเล อันดามันกับอ่าวไทย และระหว่างประชากรในเขตอ่าวไทยด้วยกันเอง

คำสำคัญ: กุ้งแชบ๊วย, อิเล็กโตรโฟเรซิส, พันธุศาสตร์ประชากร, อนุพันธุศาสตร์, ความแตกต่างทางพันธุกรรม, ความหลากหลายทางพันธุกรรม



## Abstract

Banana shrimp (*Penaeus merguensis* De Man) from three locations of Thailand (Chonburi, Surat Thani and Satun) were studied using starch gel electrophoresis. A total of 26 enzyme loci were detected from pleopod, muscle and hepatopancreas. Five loci (*ALAT\**, *GPI\**, *IDHP\**, *MPI\** and *PGM-1\**) were found to be polymorphic ( $P_{0.95} = 0.192$ ). Mean expected heterozygosity for the species was  $H_e = 0.066 \pm 0.028$ . A number of genetic differences evaluated, inbreeding coefficients (F-statistics), polymorphic loci differences within each pair of populations and among all populations, genetic distances between populations and dendrograms constructed using genetic distances, showed that all 3 populations studied were different populations each of which had genetic relationship separated from each other. However, the two Gulf of Thailand populations, Chonburi and Surat Thani, were related to each other more closely than to the other Andaman Sea population, Satun. Thus, there are genetic evidences from this study for isolation between banana shrimp populations in the Gulf of Thailand and the Andaman sea, and also between populations in different areas within the Gulf of Thailand.

**Keywords:** *Penaeus merguensis* De Man, electrophoresis, population genetics, molecular genetics, genetic differentiation, genetic diversity.

## คำนิยม

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณสุกิจ รัตนวิจิตรกุล คุณก่อเกียรติ กุลแก้ว และคุณพลพจน์ กิตติสุวรรณ ที่  
ช่วยเก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งต่างๆ และขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มพันธุศาสตร์  
ประชากร สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ ที่ช่วยทำงานทดลองในห้องปฏิบัติการ ตลอดจน  
ช่วยตรวจทานแก้ไขและช่วยจัดทำจนเสร็จสมบูรณ์

คำนำ

วัตถุประสงค์

วิธีดำเนินการ

ผลการวิจัย

กลุ่มวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมโมเลกุลสัตว์น้ำ



# สารบัญ

|                                                | หน้า |
|------------------------------------------------|------|
| สารบัญ                                         | i    |
| สารบัญตาราง                                    | iii  |
| สารบัญภาพ                                      | iv   |
| คำนำ                                           | 1    |
| วัตถุประสงค์                                   | 2    |
| วิธีดำเนินการ                                  | 2    |
| การเก็บรวบรวมตัวอย่าง                          | 2    |
| กระบวนการวิเคราะห์ทางอิเล็กทรอนิกส์            | 4    |
| การแปลผล                                       | 4    |
| การคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล                     | 5    |
| 1. ความถี่ของยีนหรือความถี่อัลลีล              | 5    |
| 2. ความผันแปรทางพันธุกรรม                      | 5    |
| 3. ระยะห่างทางพันธุกรรม                        | 6    |
| 4. การตรวจสอบตัวแทนของประชากร                  | 6    |
| 5. ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร       | 7    |
| 6. โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร | 7    |
| ผลการศึกษา                                     | 7    |
| ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง                         | 7    |
| 1. ลักษณะที่ปรากฏภายนอก                        | 7    |
| 2. รูปแบบอัลโลไซม์                             | 7    |
| ข้อมูลที่คำนวณได้และผลการวิเคราะห์             | 12   |
| 1. ความถี่อัลลีลของไลโซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิค     | 12   |
| 2. ความผันแปรทางพันธุกรรม                      | 13   |
| 3. ระยะห่างทางพันธุกรรม                        | 14   |
| 4. การตรวจสอบตัวแทนของประชากร                  | 14   |
| 5. ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร       | 16   |
| 6. โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร | 17   |

|                                          | หน้า |
|------------------------------------------|------|
| สรุปและวิจารณ์ผล                         | 19   |
| ข้อเสนอแนะ                               | 24   |
| เอกสารอ้างอิง                            | 25   |
| ภาคผนวก                                  | 29   |
| 1. สารละลายบัฟเฟอร์                      | 29   |
| 2. ส่วนประกอบของสารเคมีที่ใช้ย้อมเอนไซม์ | 31   |
| 3. สูตรการคำนวณค่าทางพันธุกรรม           | 37   |
| 4. ลักษณะเด่นของกุ้งแชบ๊วย               | 41   |

กลุ่มวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมโมเลกุลสัตว์น้ำ



# สารบัญตาราง

|                   |                                                                                                                                                                                                                     | หน้า |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 1        | ความถี่อัลลีลของโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคจำนวน 5 โลไซ ในประชากรกุ่มแซบวัย 3 แหล่ง                                                                                                                                     | 12   |
| ตารางที่ 2        | ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่างๆ ที่ตรวจพบที่ 26 โลไซ ในกุ่มแซบวัยจาก 3 แหล่งที่ทำการศึกษา                                                                                                                            | 13   |
| ตารางที่ 3        | ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรกุ่มแซบวัย 3 แหล่ง                                                                                                                                                             | 14   |
| ตารางที่ 4        | ค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีน (F-statistics) ภายในประชากร ( $F_{is}$ ) และระหว่างประชากร ( $F_{st}$ ) ของประชากรกุ่มแซบวัย พร้อมทั้งผลของการตรวจสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ไคสแควร์ ตามวิธีของ Waples (1987) | 15   |
| ตารางที่ 5        | ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคในแต่ละคู่ประชากรและท่ามกลางประชากรทั้งหมด โดยวิธี Contingency Chi-square Analysis ของ Workman and Niswander (1970)                                        | 16   |
| ตารางภาคผนวกที่ 1 | เอนไซม์ subunit บัฟเฟอร์ และเนื้อเยื่อที่ตรวจพบ ในกุ่มแซบวัย                                                                                                                                                        | 42   |
| ตารางภาคผนวกที่ 2 | ผลการตรวจสอบความสมดุลย์ของยีนโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคในประชากรกุ่มแซบวัย ตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก                                                                                                                   | 43   |
| ตารางภาคผนวกที่ 3 | ผลการตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูลระหว่างคู่ของโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิค ในประชากรกุ่มแซบวัย ทั้ง 3 แหล่ง                                                                                                             | 44   |
| ตารางภาคผนวกที่ 4 | คุณภาพน้ำในบริเวณที่เก็บตัวอย่างกุ่มแซบวัย                                                                                                                                                                          | 45   |



## สารบัญภาพ

|                                                                                                                                                                            | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ภาพที่ 1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย จำนวน 3 แหล่ง                                                                                                                 | 3    |
| ภาพที่ 2 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ที่ตรวจพบในปลา <i>Thoburnia rothoeca</i>                                                                                                 | 5    |
| ภาพที่ 3 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ ALAT ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย                                                                                                      | 8    |
| ภาพที่ 4 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ GPI ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย                                                                                                       | 9    |
| ภาพที่ 5 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ IDHP ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย                                                                                                      | 10   |
| ภาพที่ 6 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ MPI ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย                                                                                                       | 10   |
| ภาพที่ 7 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ PGM ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย                                                                                                       | 11   |
| ภาพที่ 8 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย ซึ่งสร้างโดยวิธี UPGMA และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972)                                      | 17   |
| ภาพที่ 9 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย ซึ่งสร้างโดยวิธี UPGMA และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)                                   | 18   |
| ภาพที่ 10 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย ซึ่งสร้างโดยวิธี DISWAG และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)                                 | 18   |
| ภาพที่ 11 แผนที่ในเขต Indo-West Pacific แสดงการขยายเขตมากที่สุดของแผ่นดินในสมัย ก่อนยุคน้ำแข็ง (Pleistocene) โดยมีระดับน้ำทะเลต่ำกว่าปัจจุบัน 135 เมตร (Dall et al., 1990) | 22   |



GENETIC DIVERSITY OF BANANA SHRIMP FROM THREE LOCATIONS  
IN THAILAND

คำนำ

กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguensis* De Man) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญของไทย เนื่องจากมีรสดีเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งตลาดต่างประเทศ อาทิเช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และยุโรป ซึ่งมีความต้องการกุ้งในปริมาณมาก แต่เนื่องจากปัญหาสภาพแวดล้อมในธรรมชาติเสื่อมโทรมลง ทำให้ขาดแคลนลูกกุ้งในธรรมชาติ จึงไม่สามารถผลิตกุ้งให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดได้ ดังนั้น ความพยายามที่จะผลิตลูกกุ้งขึ้นเองจึงได้เกิดขึ้น และก็เป็นที่น่ายินดีที่กรมประมงสามารถผลิตลูกกุ้งแชบ๊วยเป็น mass production ได้พร้อมๆ กับการสำเร็จในการผลิตลูกกุ้งกุลาดำ อีกทั้งมีรายงานว่าลูกกุ้งแชบ๊วยมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ดูแลอนุบาลง่าย และโตเร็วกว่าลูกกุ้งกุลาดำ (เรณู, 2529) แต่ปัญหาก็คือ เมื่อนำมาเลี้ยงในระบบพัฒนามักจะไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร จากการทดลองเลี้ยงพบว่า กุ้งแชบ๊วยจะมีอัตราการเจริญเติบโตช้าและอัตราการรอดตายต่ำกว่า กุ้งกุลาดำ หลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือนขึ้นไป (ธวัช และฐานันตร์, 2538)

สาเหตุหนึ่งที่ทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยยังไม่มีศักยภาพเท่าที่ควร อาจเป็นเพราะว่ายังขาดความรู้พื้นฐานที่สำคัญในด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยธรรมชาติของประชากรกุ้งแชบ๊วยที่มาจากแหล่งต่างๆ กัน เนื่องจากข้อมูลดังกล่าว นอกจากจะสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมดูแลและดำรงรักษาพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ (broodstock) กุ้งแชบ๊วยในฟาร์มเพาะเลี้ยงให้มีความหลากหลายอยู่ในระดับที่ดีตลอดไปแล้ว ยังจะบอกให้ทราบว่า กุ้งแชบ๊วยในธรรมชาติมีพันธุกรรมที่หลากหลายหรือผันแปรแตกต่างกันไปตามพื้นที่แต่ละแหล่งที่มันอาศัยอยู่หรือไม่ เพราะโดยทั่วไปแล้ว สิ่งมีชีวิตที่มีการแบ่งแยกพันธุกรรมแตกต่างกันไปตามพื้นที่แต่ละแหล่งที่มันอาศัยอยู่ จะมีรูปแบบพันธุกรรมที่ถูกปรับให้เข้ากับสภาพในแต่ละพื้นที่นั้นๆ (locally adapted genotypes) ซึ่งหมายถึงลักษณะสำคัญเฉพาะตัวที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงในแต่ละที่แตกต่างกันไป (พนม, 2537ก; Ablan et al., 1992; Benzie, 1992) แต่ถ้ามีการผสมผสานกันระหว่างประชากรที่มีพันธุกรรมแตกต่างกันดังกล่าว ก็เท่ากับเป็นการทำลายลักษณะที่มีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงที่ธรรมชาติได้สร้างไว้ให้ไปอย่างสิ้นเชิง และอาจจะไม่สามารถแก้ไขได้อีกต่อไปถ้าไม่มีการจัดการที่ดีพอ สำหรับในประเทศไทย แหล่งพันธุ์กุ้งทะเลอย่างกว้างๆ น่าจะได้แก่



2 แหล่งใหญ่ๆ คือ ในฝั่งอ่าวไทย และฝั่งทะเลอันดามัน แต่จากการศึกษาในกึ่งกลางดำของ ศรีรัตน์ (2539) พบว่า นอกจากกึ่งกลางดำจะมีพันธุกรรมแตกต่างกันในระหว่างประชากรของทั้ง 2 ฝั่งแล้วยังพบว่า ในระหว่างประชากรที่อยู่ในฝั่งอ่าวไทยด้วยกัน ก็ยังมีพันธุกรรมที่แตกต่างกันอีกด้วย ซึ่งได้แก่ประชากรจังหวัดตราดและสุราษฎร์ธานี ดังนั้น จึงสมควรอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาเพื่อให้ทราบข้อมูลในกึ่งแซบ้วยด้วยเช่นกัน

## วัตถุประสงค์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกึ่งแซบ้วยจากแหล่งต่างๆ ในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิจัยโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งแซบ้วย โดยใช้วิธีการศึกษาในระดับโมเลกุล (molecular technique)

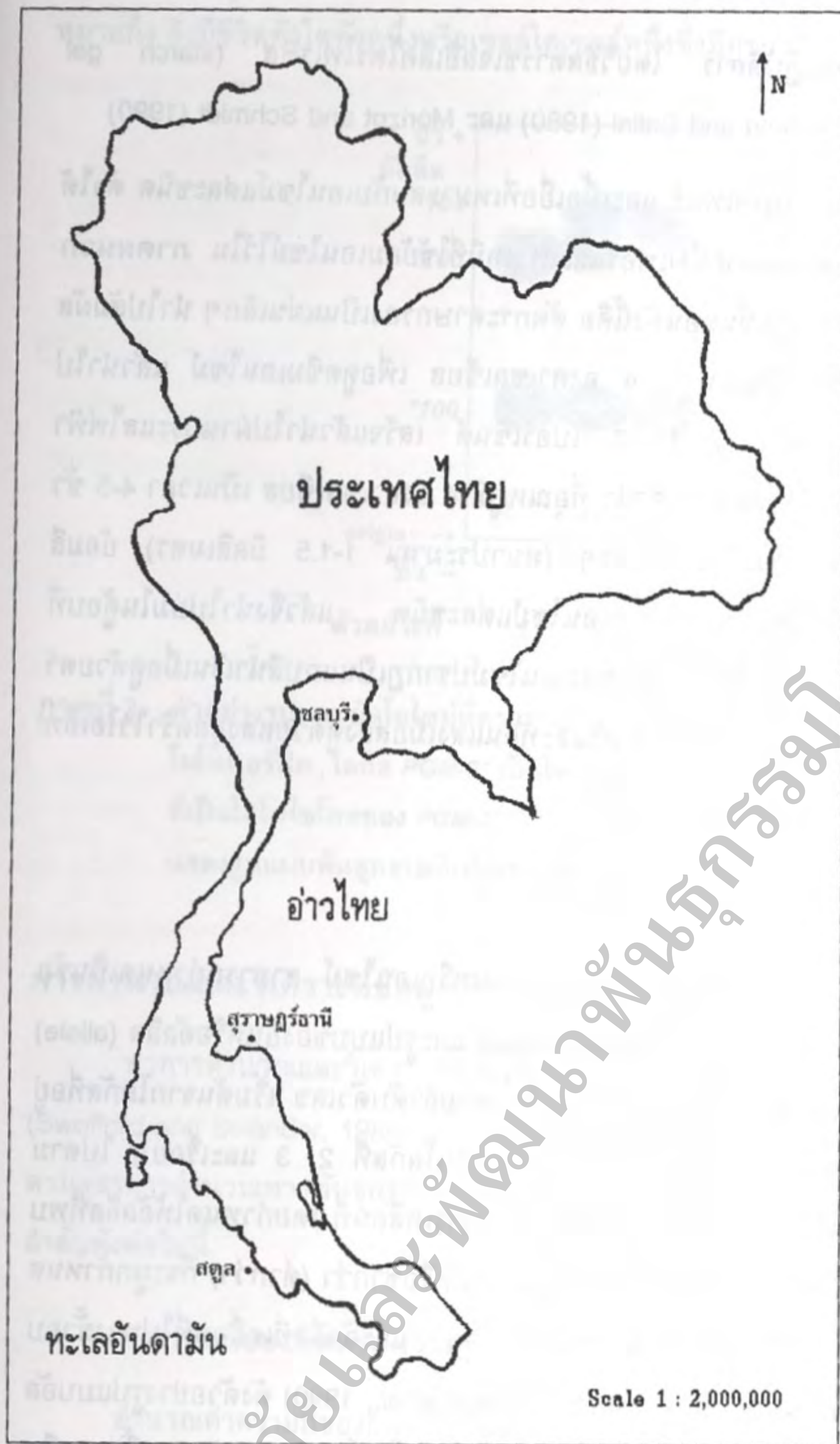
## วิธีดำเนินการ

### การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

เก็บรวบรวมตัวอย่างกึ่งแซบ้วยจากธรรมชาติเพื่อเป็นตัวแทนของประชากร แต่เนื่องจากการศึกษาด้วยวิธีเอนไซม์อิเล็กโตรโฟรีซิสมีความจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างสัตว์น้ำที่มีชีวิตเป็นจำนวนมาก การศึกษาในครั้งนี้ จึงสามารถเก็บรวบรวมพันธุ์กึ่งแซบ้วยจากธรรมชาติ ได้จำนวน 3 แหล่ง ดังแสดงจุดเก็บตัวอย่างใน ภาพที่ 1 ได้แก่

1. จากเขตอ่าวไทยตอนบน บริเวณอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี กึ่งแซบ้วยขนาดความยาวตลอดตัว (TL) เฉลี่ย 17.2 เซนติเมตร น้ำหนักตัว (WT) เฉลี่ย 39.5 กรัม เพศผู้จำนวน 35 ตัว เพศเมียจำนวน 47 ตัว รวมจำนวน 82 ตัว
2. จากเขตอ่าวไทยตอนกลางต่อกับตอนล่าง บริเวณอำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี กึ่งแซบ้วยขนาดความยาวตลอดตัว (TL) เฉลี่ย 11.3 เซนติเมตร น้ำหนักตัว (WT) เฉลี่ย 10.2 กรัม เพศผู้จำนวน 43 ตัว เพศเมียจำนวน 57 ตัว รวมจำนวน 100 ตัว
3. จากเขตทะเลอันดามัน บริเวณอำเภอละงู จังหวัดสตูล กึ่งแซบ้วยขนาดความยาวตลอดตัว (TL) เฉลี่ย 14.4 เซนติเมตร น้ำหนักตัว (WT) เฉลี่ย 19.5 กรัม เพศผู้จำนวน 52 ตัว เพศเมียจำนวน 48 ตัว รวมจำนวน 100 ตัว





ภาพที่ 1 แผนที่แสดงจุด

เก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย  
จำนวน 3 แหล่ง ได้แก่  
บริเวณ

1. จังหวัดชลบุรี  
    แลตติจูด  $13^{\circ} 13' 10''$   
    ลองติจูด  $100^{\circ} 50' 00''$
2. จังหวัดสุราษฎร์ธานี  
    แลตติจูด  $9^{\circ} 31' 25''$   
    ลองติจูด  $99^{\circ} 42' 10''$
3. จังหวัดสตูล  
    แลตติจูด  $6^{\circ} 44' 40''$   
    ลองติจูด  $99^{\circ} 40' 05''$

เก็บตัวอย่างโดยใช้วนลอยกุ้ง ทำการล่ำเลียงตัวอย่างกุ้งขณะมีชีวิต หรือใส่ในน้ำแข็งแห้ง (dry ice) เพื่อรักษาเอนไซม์ไม่ให้เสื่อมสภาพ (Morizot and Schmidt, 1990) ทำการผ่าตัดแยกชิ้นส่วน (ขาว่ายน้ำ, ตับ และเนื้อ) แล้วเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ  $-70$  องศาเซลเซียส



## กระบวนการวิเคราะห์ทางอิเล็กโตรโฟรีซิส

วิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีสตาร์ชเจลอิลีคโตรโฟรีซิส (starch gel electrophoresis) ตามวิธีของ Redfield and Salini (1980) และ Morizot and Schmidt (1990)

ทำการตรวจสอบสารละลายบัฟเฟอร์ และเนื้อเยื่อที่เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละชนิด ดังได้แสดงส่วนประกอบสารเคมีของสารละลายบัฟเฟอร์และสารเคมีที่ใช้ย้อมเอนไซม์ไว้ใน ภาคผนวก ทั้งนี้โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตามขั้นตอนดังนี้คือ ตัดกระดาษกรองเป็นแผ่นเล็กๆ นำไปสัมผัสกับตัวอย่างแซ่แข็งที่ทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อดูดซึมเอนไซม์ แล้วนำไปเรียงในเจลที่เตรียมจากแป้งความเข้มข้น 11-12 เปอร์เซ็นต์ เสร็จแล้วนำไปผ่านกระแสไฟฟ้า 200-250 โวลท์ ซึ่งมีสารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวนำ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำเจลออกมาตัดเป็นแผ่นบางๆ (หนาประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร) ย้อมสี (staining) ด้วยสารเคมีที่มีปฏิกิริยาเฉพาะกับเอนไซม์แต่ละชนิด แล้วจึงนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนเห็นโมเลกุลของเอนไซม์ปรากฏเป็นแถบสีน้ำเงินเมื่อดูด้วยตาเปล่า (positive stain) หรือเป็นแถบสีทึบหรือสะท้อนแสงเมื่อส่องดูด้วยแสงอุลตราไวโอเล็ต (ultraviolet stain)

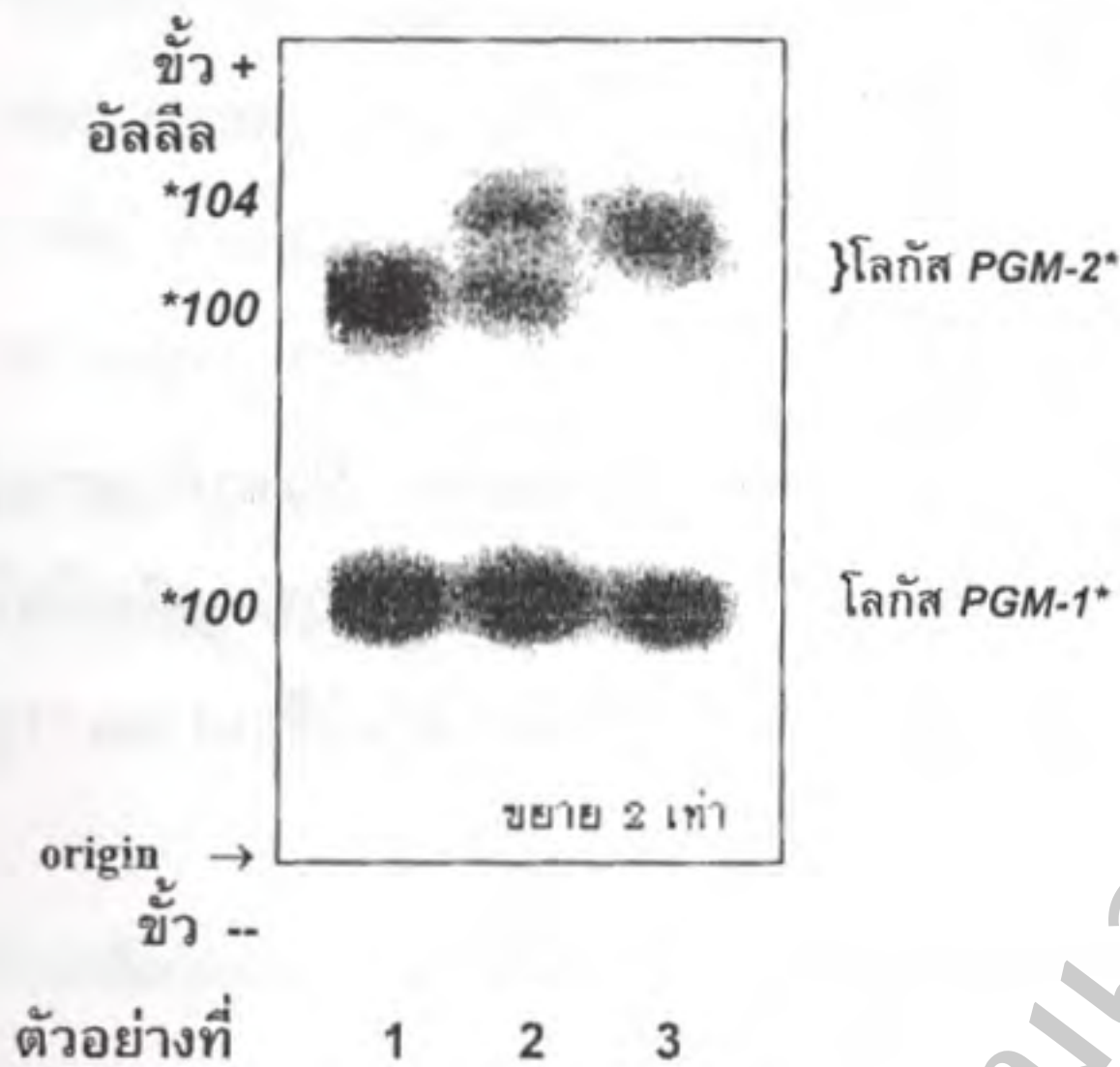
### การแปลผล

จากแถบสีที่ปรากฏ ซึ่งหมายถึงรูปแบบของโปรตีนหรือเอนไซม์ สามารถกำหนดเป็นข้อมูลทางพันธุกรรม ได้แก่ ตำแหน่งของยีนหรือโลกัส (locus) และรูปแบบของยีนหรืออัลลีล (allele) ทั้งนี้ การระบุโลกัส หรือโลไซ (loci, พหูพจน์) โดยเรียงตามลำดับตัวเลข เริ่มต้นจากโลกัสที่อยู่ใกล้จุดเริ่มต้นมากที่สุด กำหนดเป็นโลกัสที่ 1 ต่อจากนั้นเป็นโลกัสที่ 2, 3 และเรื่อยๆ ไปตามลำดับ สำหรับการกำหนดอัลลีล นิยมกำหนดตามระยะทางการเคลื่อนที่ โดยกำหนดให้อัลลีลที่พบบ่อยที่สุด เป็น 100 อัลลีลอื่นๆ ที่เคลื่อนที่เร็วกว่า (สูงกว่า) หรือช้ากว่า (ต่ำกว่า) ก็จะถูกกำหนดให้เป็นตัวเลขคิดเป็นระยะทางร้อยละของอัลลีลที่พบบ่อยที่สุด และอัลลีลที่เคลื่อนที่ไปทางซ้ายลบ จะถูกกำหนดให้เครื่องหมายเป็นลบ (พนม, 2537ข; Shaklee et al., 1990) ดังตัวอย่างรูปแบบอัลโลไซม์ ซึ่งหมายถึง รูปแบบที่เปลี่ยนแปลงไปของโปรตีนหรือเอนไซม์ เพราะถูกกำหนดขึ้นจากยีนบนโลกัสเดียวกันที่ไม่เหมือนกัน หรือคนละอัลลีลกัน ที่แสดงใน ภาพที่ 2

หลังจากที่สามารถระบุยีนโลกัส (โลไซ) พร้อมกับอัลลีลลงในผลที่ได้จากการวิเคราะห์ทางอิเล็กโตรโฟรีซิสในห้องปฏิบัติการแล้ว ก็จะสามารถแปลผลออกมาเป็นรูปแบบของยีนหรือรูปแบบของพันธุกรรม (genotypes) ในแต่ละโลกัสได้ โดยรูปแบบพันธุกรรมดังกล่าวจะมีทั้งรูปแบบของตัวอย่างที่เป็นโฮโมไซโกต (homozygote) ซึ่งหมายถึง สิ่งมีชีวิตตัวใดตัวหนึ่งหรือเซลล์ใด



เซลล์หนึ่งซึ่งมีคู่ของยีน ณ โลกัสใดโลกัสหนึ่งเหมือนกันและเฮเทอโรไซโกต (heterozygote) ซึ่งหมายถึง สิ่งมีชีวิตตัวใดตัวหนึ่งหรือเซลล์ใดเซลล์หนึ่งซึ่งมีคู่ของยีน ณ โลกัสใดโลกัสหนึ่งต่างกัน



**ภาพที่ 2** ตัวอย่างรูปแบบอัลโลไซม์ที่ตรวจพบในปลา *Thoburnia rhothoeca* : โลกัส *PGM-1\** เป็น โมโนมอร์ฟิก , โลกัส *PGM-2\** เป็นโพลีมอร์ฟิก ตัวอย่างที่ 1 และ 3 แสดงรูปแบบพันธุกรรม ที่เป็นโฮโมไซโกตของ *PGM-2\*104/104* และ *PGM-2\*100/100* ตามลำดับ, ตัวอย่างที่ 2 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นเฮเทอโรไซโกตของ *PGM-2\*104/100* (จาก Buth, 1990)

**การคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล**

ทำการคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ BIOSYS-1 release 1.7 (Swofford and Selander, 1989) และ GENEPOP version 1.2 (Raymond and Rousset, 1994) ตามสูตรการคำนวณทางพันธุกรรมต่างๆ ซึ่งได้แสดงไว้ใน ภาคผนวก ตามรายละเอียดเรียง ลำดับดังต่อไปนี้

**1. ความถี่ของยีนหรือความถี่อัลลีล**

คำนวณค่าความถี่ของยีนหรืออัลลีล (gene or allele frequencies) โดยนับจำนวนรูปแบบ พันธุกรรมจากข้อมูลที่แปรผลออกมาได้ ซึ่งได้แก่ จำนวนโฮโมไซโกต และจำนวนเฮเทอโรไซโกต แล้วนำมาคำนวณค่าความถี่ของยีนหรืออัลลีล ตามสูตรการคำนวณใน ภาคผนวก

**2. ความผันแปรทางพันธุกรรม**

คำนวณค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่างๆ (genetic variabilities) ตาม Swofford and Selander (1989) ได้แก่ จำนวนอัลลีลที่หายาก (rare alleles) จำนวนอัลลีลต่อโลกัส (number of



alleles per locus) สัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก (polymorphic loci) (โพลีมอร์ฟิก หมายถึง โลกัสใดโลกัสหนึ่งมีอัลลีลที่ตรวจพบมากกว่า 1 อัลลีล) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) ซึ่งจากข้อมูลเหล่านี้ จะบอกถึงความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรได้ในเบื้องต้น (Hartl, 1988)

### 3. ระยะห่างทางพันธุกรรม

ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) เป็นค่าที่บอกระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรว่ามีความใกล้ชิดกันหรือห่างกันมากน้อยเพียงใดในเบื้องต้น โดยทำการคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ตามวิธีของ Nei (1972) และ Rogers (1972)

### 4. การตรวจสอบตัวแทนของประชากร

เพื่อให้แน่ใจว่าตัวอย่างในแต่ละแหล่งที่เก็บมานั้น เป็นตัวแทนของประชากรเดียวกัน จึงทำการตรวจสอบตัวแทนของประชากร ดังนี้คือ

4.1 ทำการตรวจสอบประชากรแต่ละแหล่งว่ามีการแพร่กระจายของยีน (genotypic distribution) อยู่ในสมดุลยตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) หรือไม่ ซึ่ง Richardson et al. (1986) กล่าวว่า การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรตั้งอยู่บนพื้นฐานของทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กซึ่งกล่าวไว้ว่า "ประชากรใดๆ ซึ่งมีขนาดใหญ่ มีการสืบพันธุ์แบบสุ่ม (randomly mating) ไม่มีการกลายพันธุ์ (mutation) ไม่มีการคัดพันธุ์ (selection) และไม่มีการอพยพย้ายถิ่นฐาน (migration) ของสมาชิกในประชากร จะต้องมีความถี่ของยีนหรือความถี่ของยีนโนไทป์ คงที่ในทุกชั่วอายุ" ทั้งนี้โดยทำการทดสอบสัดส่วนทางพันธุกรรมโดยวิธีไคสแควร์ (Chi-square goodness-of-fit test) ตามวิธีการคำนวณของ Louis & Dempster (1987) และ Vithayasai (1973)

4.2 ทำการทดสอบค่าความเป็นอิสระของข้อมูลของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก (the independence of loci) ตามวิธีของ Weir (1991)

4.3 ทำการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างภายในประชากรเดียวกันว่าจะมีความแตกต่างกันในทางสถิติหรือไม่ โดยทำการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีน หรือ inbreeding coefficient หรือ F-statistics ภายในประชากร ( $F_{is}$ ) ตามวิธีของ Hartl (1988) พร้อมทั้งหาค่าเฉลี่ย ทั้งโดยวิธีปกติและโดยวิธี Jackknifing ตามวิธีการคำนวณของ Weir and Cockerham (1984) แล้วทำการทดสอบโดยใช้ไคสแควร์ (Chi-square) ตามวิธีของ Waples (1987)



## 5. ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

5.1 ทำการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation) ระหว่างประชากร ในทางสถิติ โดยทำการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีนระหว่างประชากร ( $F_{ST}$ ) ตามวิธีของ Hartl (1988) พร้อมทั้งหาค่าเฉลี่ย ทั้งโดยวิธีปกติและโดยวิธี Jackknifing ตามวิธีการคำนวณของ Weir and Cockerham (1984) แล้วทำการทดสอบโดยใช้ไคสแควร์ (Chi-square) ตามวิธีของ Waples (1987)

5.2 ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก ทั้งในแต่ละคู่ประชากรและท่ามกลางประชากรทั้งหมด โดยวิธี contingency Chi-square analysis ของ Workman and Niswander (1970)

## 6. โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร

ความสัมพันธ์ของประชากรสามารถแสดงในรูปแบบแผนผังซึ่งเห็นได้ชัดเจน โดยนำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาจัดทำเป็นโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร (dendrogram) โดยวิธี unweighted pair group arithmetic average (UPGMA) (Sneath and Sokal, 1973) และวิธี distance Wagner procedure (DISWAG) (Farris, 1972)

## ผลการศึกษา

### ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง

#### 1. ลักษณะที่ปรากฏภายนอก (morphologically phenotypic characters)

จากการดูสี และรูปร่างลักษณะภายนอก ตามวิธีการแยกชนิดกุ่มทะเล ของ Chaitiamvong and Supongpan (1992) พบว่า กุ่มแซบว้ย จากทั้ง 3 แหล่ง คือ ชลบุรี สุราษฎร์ธานี และสตูล มีลักษณะไม่แตกต่างกัน ดังแสดงลักษณะของกุ่มแซบว้ยไว้ใน ภาคผนวก

#### 2. รูปแบบอัลโลไซม์

จากการตรวจสอบเอนไซม์ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้แก่ ขาวำยน้ำ ดับ และเนื้อ ของกุ่มแซบว้ย ไม่พบที่มีความแตกต่างของเอนไซม์ในระหว่างตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ทั้งนี้เป็นเพราะกุ่มแซบว้ยที่เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทั้ง 3 แหล่ง เป็นกุ่มที่โตเต็มวัยแล้วทั้งหมด แต่ถ้าเป็นกุ่มที่ยังไม่โตเต็มวัยจะมีเอนไซม์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน ซึ่งไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ (Lester and Cook, 1987)



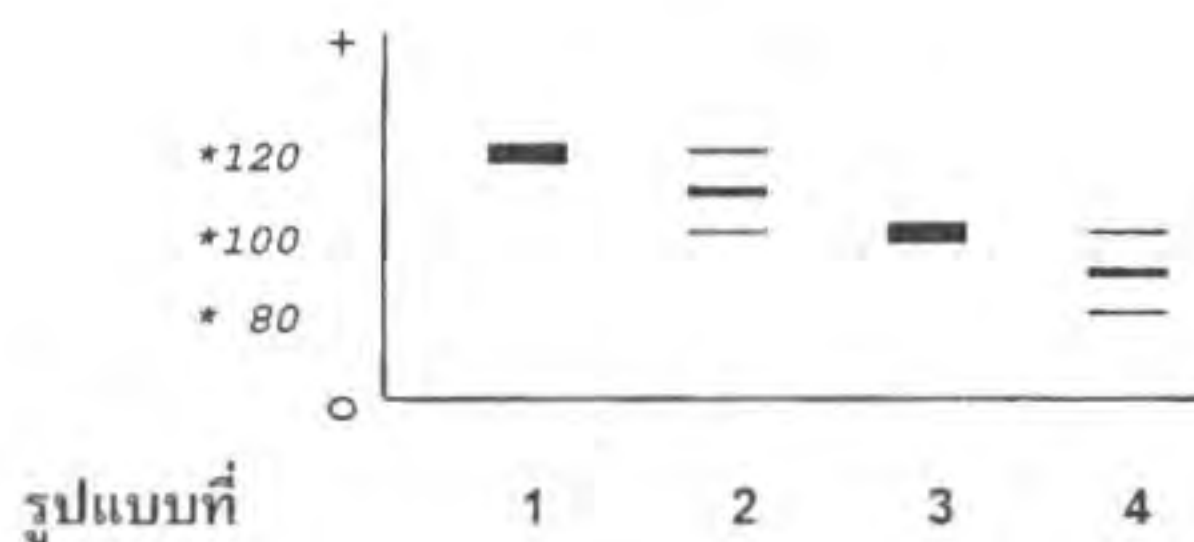
ในการศึกษาครั้งนี้ พบรูปแบบเอนไซม์ซึ่งสามารถตรวจสอบยืนยันได้ จำนวน 19 เอนไซม์ ได้แก่ AAT, ACP, AK, ALAT, ALP, EST, ESD, G3PDH, G6PDH, GPI, HK, IDHP, LDH, MDH, MPI, PGDH, PGM, SOD และ XDH และสามารถอ่านผลเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมที่เรียกว่าอัลโลไซม์ได้ที่จำนวน 26 โลไซ ได้แก่ AAT-1\*, AAT-2\*, ACP\*, AK\*, ALAT\*, ALP-1\*, ALP-2\*, EST\*, ESTD\*, G3PDH\*, G6PDH\*, GPI\*, HK-1\*, HK-2\*, IDHP\*, LDH-1\*, LDH-2, MDH-1\*, MDH-2\*, MPI\*, PGDH\*, PGM-1\*, PGM-2\*, SOD-1\*, SOD-2\* และ XDH\* ดังรายละเอียดของเอนไซม์ทั้งหมดที่ทำการตรวจสอบ สารละลายบัฟเฟอร์ (TBE, TCB, TCE และ CTC) ที่เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละชนิด ชนิดเนื้อเยื่อ และจำนวนโลไซที่สำรวจพบในแต่ละเอนไซม์ ซึ่งได้รวบรวมไว้ใน ตารางภาคผนวกที่ 1

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า กุ้งแชบ๊วยมีโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคจำนวน 5 โลไซ ได้แก่ ALAT\*, GPI\*, IDHP\*, MPI\* และ PGM-1\* และพบว่ารูปแบบของอัลโลไซม์ที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคเป็นไปตามลักษณะโครงสร้างของเอนไซม์แต่ละชนิด รายละเอียดดังนี้ คือ

#### Alanine Aminotransferase (ALAT)

พบ ALAT\* โลกัสเดี่ยวที่ขาว่ายน้ำ ALAT เป็นเอนไซม์แบบไดเมอร์ (dimeric) คือ เฮตเทอโรไซโกตมีลักษณะเป็น 3 แบนด์ การศึกษาในกุ้งแชบ๊วยพบว่า ALAT\* เป็นโพลีเมอร์ฟิค ซึ่งเหมือนกับในกุ้งกุลาดำ (ศรีรัตน์, 2539) แต่การศึกษาในกุ้งทะเลชนิดอื่นๆ พบว่าเป็นโมโนเมอร์ฟิค (Richardson, 1982; Salini and Moore, 1985; Lavery and Staples, 1990)

จากการศึกษาตรวจพบว่า ALAT\* มีรูปแบบพันธุกรรม (genotypes) หลากหลายอยู่ที่ 3 อัลลีล ได้แก่ อัลลีลที่ \*120, \*100 และ \*80 จากตัวอย่างที่ทำการศึกษา 3 แหล่ง เอนไซม์ ALAT มีรูปแบบอัลโลไซม์ของตัวอย่างที่เป็นโฮโมไซโกต และเฮตเทอโรไซโกต ดังแสดงใน ภาพที่ 3 โดยพบรูปแบบอัลโลไซม์ทั้ง 4 แบบ ที่ประชากรจังหวัดชลบุรีและจังหวัดสุราษฎร์ธานี ส่วนประชากรจังหวัดสตูล พบเพียงรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 2, 3 และ 4



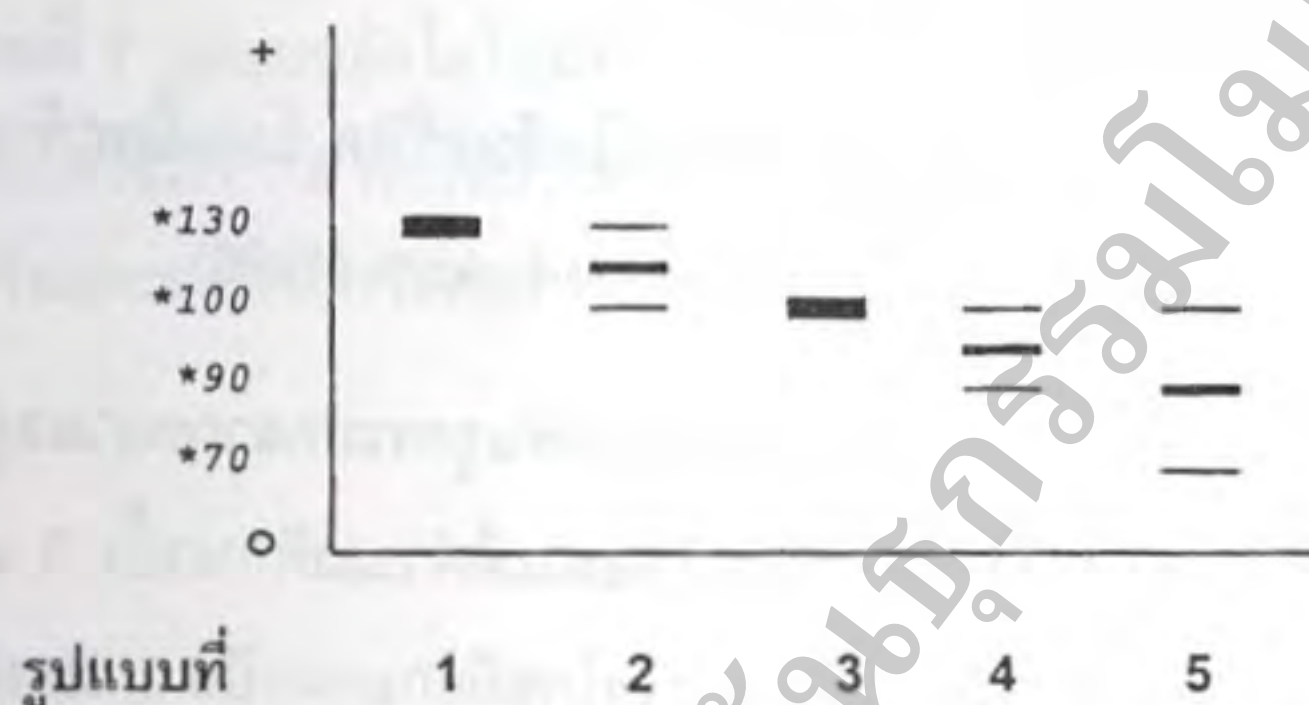
**ภาพที่ 3** รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ ALAT ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย: รูปแบบที่ 1 และ 3 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นโฮโมไซโกตของ ALAT\*120/120, และ ALAT\*100/100 ส่วนรูปแบบที่ 2 และ 4 แสดงเฮตเทอโรไซโกตของ ALAT\*120/100 และ ALAT\*100/80 ตามลำดับ



### Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)

พบ GPI\* เพียงโลกัสเดียว GPI เป็นเอนไซม์ที่เกิดปฏิกิริยาเคมีเร็วมาก สามารถอ่านผลได้ภายใน 2-5 นาที และสามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ขาววายน้ำ ดับ และเนื้อ การศึกษาในครั้งนี้พบว่า GPI\* เป็นโพลีเมอร์ฟิค ซึ่งเหมือนกับการศึกษาในกุ่มแซบวียของ Mulley and Latter (1980), Tam and Chu (1993) และ Hara and Na-Nakorn (1996)

จากตัวอย่างที่ทำการศึกษา 3 แหล่ง พบว่า GPI\* มีรูปแบบพันธุกรรมหลากหลายอยู่ที่ 4 อัลลีล ได้แก่ อัลลีลที่ \*130, \*100, \*90 และ \*70 และพบว่า GPI เป็นเอนไซม์แบบไดเมอร์ริก (dimeric) คือ เฮตเทอโรไซโกตมีลักษณะเป็น 3 แบบต์ ดังตัวอย่างรูปแบบอัลโลไซม์ที่แสดงใน ภาพที่ 4 โดยพบรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 2-5 ที่ประชากรจังหวัดชลบุรีและจังหวัดสตูล และพบรูปแบบ อัลโลไซม์ทั้ง 5 แบบ ที่ประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานี

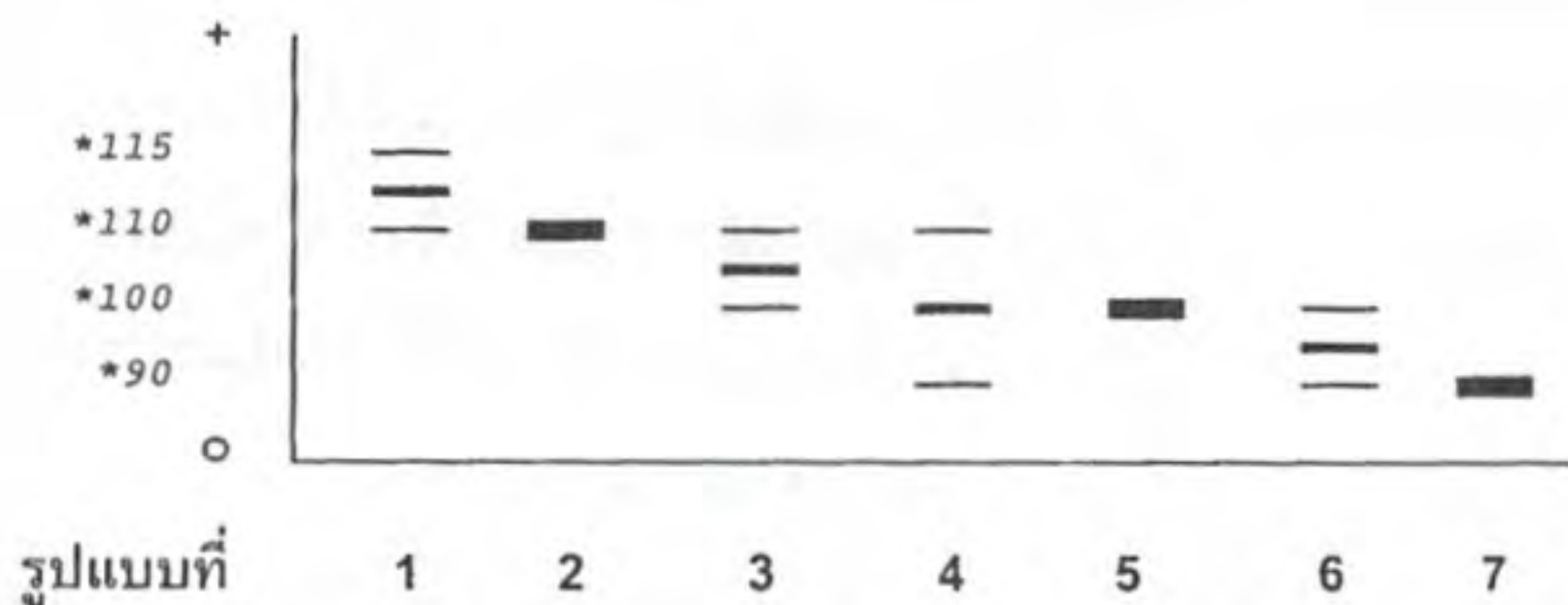


ภาพที่ 4 รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ GPI ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ่มแซบวีย: รูปแบบที่ 1 และ 3 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นโฮโมไซโกตของ GPI\*130/130 และ GPI\*100/100 ส่วนรูปแบบที่ 2, 4 และ 5 แสดงเฮตเทอโรไซโกตของ GPI\*130/100, GPI\*100/90 และ GPI\*100/70 ตามลำดับ

### Isocitrate dehydrogenase (NADP<sup>+</sup>) (IDHP)

พบ IDHP\* เพียงโลกัสเดียวที่ขาววายน้ำ การศึกษาในครั้งนี้พบว่า IDHP\* เป็นโพลีเมอร์ฟิค ซึ่งเหมือนกับการศึกษาในกุ่มทะเลชนิดอื่นๆ (ศรีรัตน์, 2539; Mulley and Latter, 1980; Richardson, 1982; Lester, 1983; Salini and Moore, 1985; Lavery and Staples, 1990; Benzie et al., 1992) IDHP เป็นเอนไซม์แบบไดเมอร์ริก (dimeric) คือ เฮตเทอโรไซโกตมีลักษณะ เป็น 3 แบบต์ เห็นได้ชัด การศึกษาครั้งนี้ตรวจพบว่า IDHP\* มีรูปแบบพันธุกรรมหลากหลายอยู่ที่ 4 อัลลีล ได้แก่ อัลลีลที่ \*115, \*110, \*100 และ \*90 จากตัวอย่างที่ทำการศึกษาใน 3 แหล่ง เอนไซม์ IDHP มีรูปแบบอัลโลไซม์ของตัวอย่างที่เป็นโฮโมไซโกต และเฮตเทอโรไซโกต ดังแสดงใน ภาพที่ 5 โดยพบรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 2, 3, 5 และ 6 ที่ประชากรจังหวัดชลบุรี พบรูปแบบอัลโลไซม์ ที่ 1-5 ที่ประชากรจังหวัดสตูล และพบรูปแบบอัลโลไซม์ทั้ง 7 แบบ ที่ประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานี



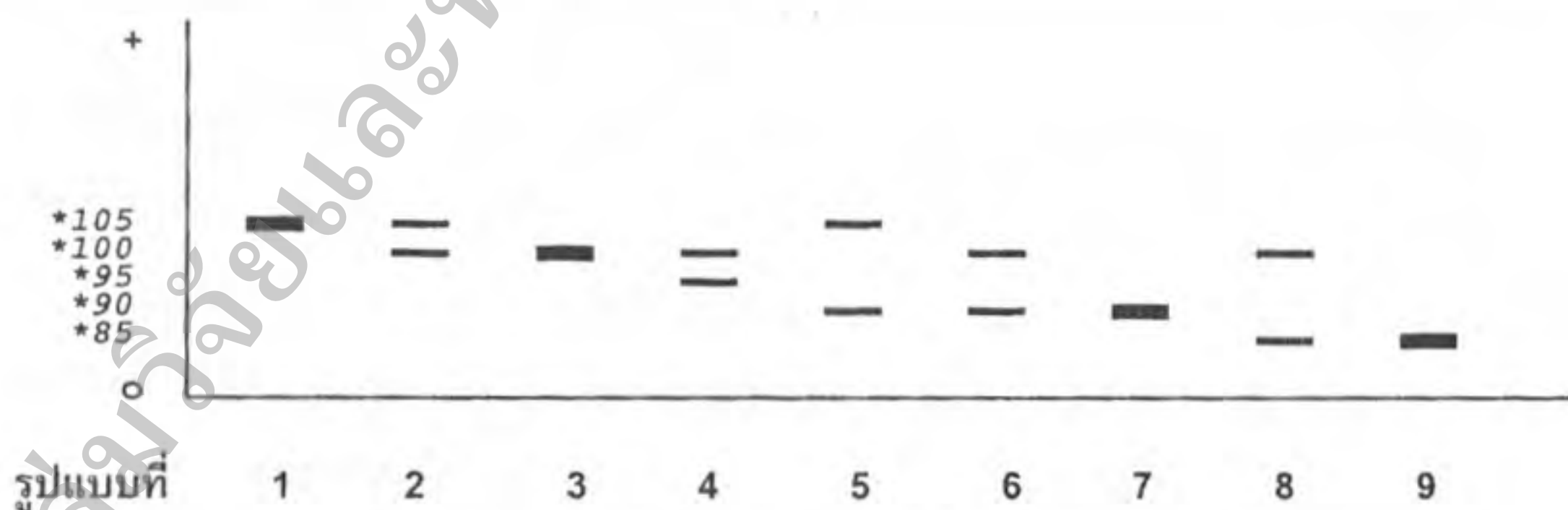


**ภาพที่ 5** รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ IDHP ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย: รูปแบบที่ 2, 5 และ 7 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นโฮโมไซโกตของ IDHP\*110/110, IDHP\*100/100, และ IDHP\*90/90 ส่วนรูปแบบที่ 1, 3, 4 และ 6 แสดงเฮเทอโรไซโกตของ IDHP\*115/110, IDHP\*110/100, IDHP\*110/90 และ IDHP\*100/90 ตามลำดับ

### Mannose-6-phosphate isomerase (MPI)

พบ MPI\* เพียงโลกัสเดียวที่ขาว่ายน้ำ และเป็นโพลีมอร์ฟิก ซึ่งเหมือนกับการศึกษาในกุ้งแชบ๊วยโดย Mulley and Latter (1980) และ Hara and Na-Nakorn (1996)

โลกัส MPI\* ที่ศึกษารังนี้ ตรวจพบว่ามีรูปแบบพันธุกรรมหลากหลายอยู่ที่ 5 อัลลีล ได้แก่ อัลลีลที่ \*105, \*100, \*95, \*90 และ \*85 จากตัวอย่างที่ทำการศึกษาทั้ง 3 แหล่ง MPI เป็นเอนไซม์แบบโมโนเมอร์ (monomeric) คือ เฮเทอโรไซโกตมีลักษณะเป็น 2 แบนด์ ดังตัวอย่างรูปแบบอัลโลไซม์ที่แสดงใน ภาพที่ 6 โดยพบรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 ที่ประชากรจังหวัดชลบุรี พบรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 1, 2, 3, 4, และ 6 ที่ประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานี และพบรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 2-9 ที่ประชากรจังหวัดสตูล



**ภาพที่ 6** รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ MPI ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย: รูปแบบที่ 1, 3, 7 และ 9 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นโฮโมไซโกตของ MPI\*105/105, MPI\*100/100, MPI\*90/90 และ MPI\*85/85 ส่วนรูปแบบที่ 2, 4, 5, 6 และ 8 แสดงเฮเทอโรไซโกตของ MPI\*105/100, MPI\*100/95, MPI\*105/90, MPI\*100/90 และ MPI\*100/85 ตามลำดับ

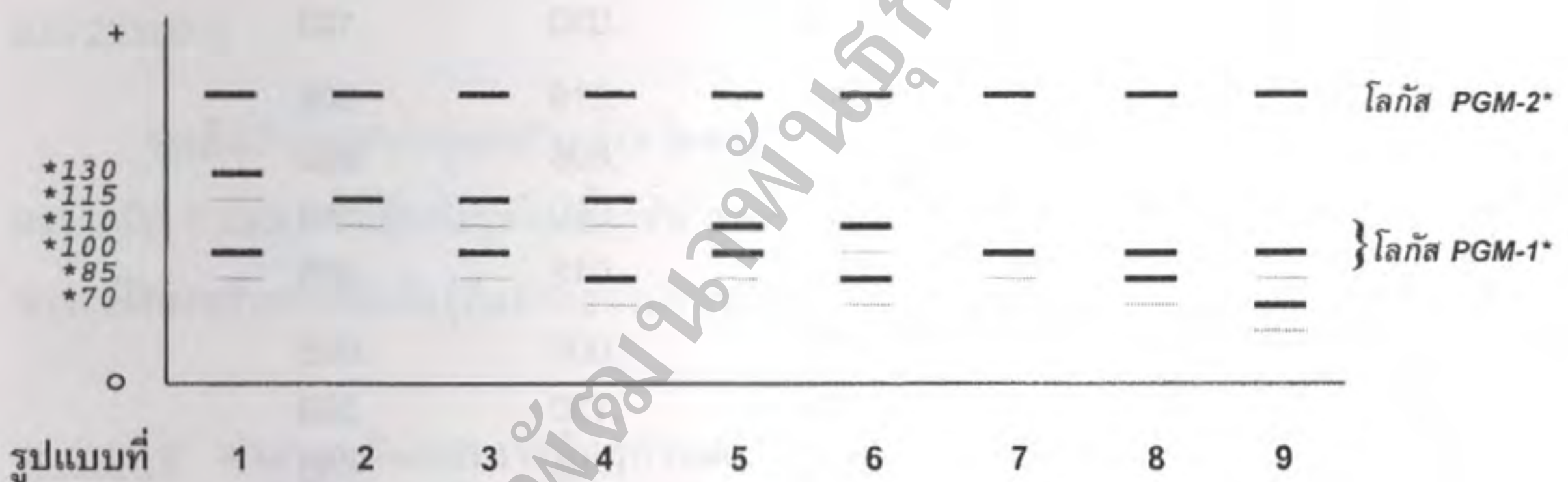


## Phosphoglucumutase (PGM)

พบ 2 โลหะ ได้แก่ *PGM-1\** และ *PGM-2\** PGM เป็นเอนไซม์ที่เกิดปฏิกิริยาเคมีชัดเจน สามารถตรวจพบได้ที่ขาวายน้ำและเนื้อ การศึกษาครั้งนี้ตรวจพบว่า *PGM-2\** เป็นโมโนเมอร์ฟิค คือเห็นเป็นแบนด์เดี่ยวเหมือนกันหมดทุกตัวอย่าง และ *PGM-1\** เป็นโพลีเมอร์ฟิค เหมือนกับการศึกษาในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งอื่นๆ (Mulley and Latter, 1980; Hara and Na-Nakorn, 1996)

*PGM-1\** ที่พบจากการศึกษาครั้งนี้ มีรูปแบบพันธุกรรมหลากหลายอยู่ที่ 6 อัลลีล ได้แก่ อัลลีลที่ \*130, \*115, \*110, \*100, \*85 และ \*70 อย่างไรก็ตาม *PGM-1\** จะมีแบนด์เพิ่มมาทางด้านล่างของแบนด์จริง 1 แบนด์เสมอ (additional band) ดังนั้นโฮโมไซโกตจะเห็นเป็น 2 แบนด์ และ เฮเทอโรไซโกตมีลักษณะเป็น 3 และ 4 แบนด์ ดังแสดงไว้ใน ภาพที่ 7 ซึ่งเหมือนกับการศึกษาในกุ้งทะเลชนิดอื่นๆ (Mulley and Latter, 1980) และในกุ้งสกุล *Penaeus* ได้แก่ *Penaeus stylirostris*, *P. setiferus* (Lester and Cook, 1987) และ *P. monodon* (Sodsuk, 1996)

ใน ภาพที่ 7 รูปแบบอัลโลไซม์ที่ 3, 5, 7 และ 8 เป็นรูปแบบที่พบในประชากรจังหวัดชลบุรี รูปแบบอัลโลไซม์ที่ 1-8 พบในประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานี และรูปแบบอัลโลไซม์ที่ 1, 3, 5, 7, 8 และ 9 พบในประชากรจังหวัดสตูล



**ภาพที่ 7** รูปแบบอัลโลไซม์ของเอนไซม์ PGM ที่ตรวจพบในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย: รูปแบบที่ 2 และ 7 แสดงรูปแบบพันธุกรรมที่เป็นโฮโมไซโกตของ *PGM-1\*115/115* และ *PGM-1\*100/100* ส่วนรูปแบบที่ 1, 3, 4, 5, 6, 8 และ 9 แสดงเฮเทอโรไซโกตของ *PGM-1\*130/100*, *PGM-1\*115/100*, *PGM-1\*115/85*, *PGM-1\*110/100*, *PGM-1\*110/85*, *PGM-1\*100/85* และ *PGM-1\*100/70* ตามลำดับ (จุดประในภาพหมายถึง additional bands)



ข้อมูลที่คำนวณได้และผลการวิเคราะห์

1. ความถี่อัลลีลของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก

ค่าความถี่อัลลีลของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกของประชากรกุ่มแซบวัยทั้ง 3 แหล่ง (ชลบุรี สุราษฎร์ธานี และสตูล) ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 จากการศึกษาพบว่าทุกประชากรมีอัลลีลที่พบบ่อยมากที่สุดหรืออัลลีลที่มีความถี่สูงสุด (common allele) ของแต่ละโลกัสเป็นอัลลีลเดียวกัน (คืออัลลีลที่ \*100) แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณความถี่ของอัลลีล และอัลลีลที่พบหรือไม่พบในแต่ละประชากร

ตารางที่ 1 ความถี่อัลลีลของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก จำนวน 5 โลไซ ในประชากรกุ่มแซบวัย 3 แหล่ง

| โลกัส  | อัลลีล | ประชากร |              |      |
|--------|--------|---------|--------------|------|
|        |        | ชลบุรี  | สุราษฎร์ธานี | สตูล |
| ALAT*  | A 120  | .222    | .172         | .044 |
|        | B 100  | .765    | .799         | .853 |
|        | C 80   | .012    | .030         | .103 |
| GPI*   | A 130  | .012    | .119         | .005 |
|        | B 100  | .915    | .806         | .880 |
|        | C 90   | .067    | .060         | .110 |
|        | D 70   | .006    | .015         | .005 |
| IDHP*  | A 115  | .000    | .005         | .015 |
|        | B 110  | .110    | .130         | .350 |
|        | C 100  | .801    | .795         | .630 |
|        | D 90   | .089    | .070         | .005 |
| MPI*   | A 105  | .056    | .057         | .035 |
|        | B 100  | .833    | .866         | .725 |
|        | C 95   | .056    | .036         | .025 |
|        | D 90   | .049    | .041         | .145 |
|        | E 85   | .007    | .000         | .070 |
| PGM-1* | A 130  | .000    | .005         | .010 |
|        | B 115  | .063    | .165         | .085 |
|        | C 110  | .078    | .015         | .060 |
|        | D 100  | .734    | .715         | .725 |
|        | E 85   | .125    | .100         | .115 |
|        | F 70   | .000    | .000         | .005 |
| (N)    |        | 82      | 100          | 100  |



การศึกษาครั้งนี้ ถึงแม้จะไม่พบอัลลีลที่เฉพาะในแต่ละประชากร (alternately fixed allele) แต่โดยรวมแล้วถือว่าได้ข้อมูลจากโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกจำนวน 5 โลไซ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมาย (markers) สำหรับระบุรูปแบบพันธุกรรม (genotypes) ในพ่อแม่พันธุ์แต่ละตัว ระบุสต็อกของสายพันธุ์บริสุทธิ์ (pure lines) และ/หรือตรวจสอบสายพันธุ์ที่เนื่องมาจากการผสมพันธุ์เลือดชิด (inbred lines) ได้ (พนม และศรีรัตน์, 2541; Purdom, 1993)

2. ความผันแปรทางพันธุกรรม

ค่าความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variability) ที่คำนวณจากยีนโลไซทั้ง 26 โลไซของประชากรทั้ง 3 แหล่ง ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 2 การศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนอัลลีลที่หายาก (rare allele) มีจำนวน 2 อัลลีล ที่ประชากรจังหวัดชลบุรีและจังหวัดสุราษฎร์ธานี และมี 4 อัลลีลที่ประชากรจังหวัดสตูล จำนวนอัลลีลต่อโลกัสมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $1.6 \pm 0.2$  โดยมีค่ามากที่สุดที่ประชากรจังหวัดสตูลเท่ากับ  $1.7 \pm 0.3$  สัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกซึ่งมีค่าอัลลีลที่พบบ่อยมากที่สุดในแต่ละโลกัสไม่เกิน 0.95 มีค่า  $P_{0.95} = 0.192$  ในทุกประชากร และค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคาดคะเน  $H_e = 0.066 \pm 0.028$  โดยมีค่ามากที่สุดที่ประชากรจังหวัดสตูล  $H_e = 0.072 \pm 0.031$

จะเห็นว่าประชากรกุ่มแซบวัยจังหวัดสตูล มีค่าความผันแปรทางพันธุกรรมสูงกว่าประชากรจากอีก 2 แหล่ง ซึ่งเป็นข้อมูลในเบื้องต้น (Hartl, 1988) ที่ชี้ว่า ประชากรกุ่มแซบวัยจังหวัดสตูลน่าจะมีโครงสร้างการสืบพันธุ์ที่แยกออกไปจากประชากรอีก 2 แหล่ง

ตารางที่ 2 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่าง ๆ ที่ตรวจพบ ที่ 26 โลไซ ในกุ่มแซบวัยจาก 3 แหล่ง ที่ทำการศึกษา

| ค่าความผันแปร                 | ประชากร         |                 |                 | ค่าเฉลี่ย       |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                               | ชลบุรี          | สุราษฎร์ธานี    | สตูล            |                 |
| จำนวนอัลลีลที่หายาก (<1%)     | 2               | 2               | 4               | 2.7             |
| จำนวนอัลลีลต่อโลกัส           | $1.5 \pm 0.2$   | $1.6 \pm 0.2$   | $1.7 \pm 0.3$   | $1.6 \pm 0.2$   |
| สัดส่วนโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก | 0.192           | 0.192           | 0.192           | 0.192           |
| ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี     |                 |                 |                 |                 |
| ที่ได้จากข้อมูลจริง ( $H_o$ ) | $.066 \pm .029$ | $.061 \pm .026$ | $.075 \pm .032$ | $.067 \pm .029$ |
| ที่ได้จากการคาดคะเน ( $H_e$ ) | $.062 \pm .027$ | $.066 \pm .028$ | $.072 \pm .031$ | $.066 \pm .028$ |



### 3. ระยะห่างทางพันธุกรรม

ในการประเมินค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ทั้ง 3 แหล่ง ตามวิธีของ Nei (1972) และของ Rogers (1972) ดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 3 พบว่า ระหว่างประชากรจังหวัดชลบุรี กับจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972) และของ Rogers (1972) เท่ากับ 0.001 และ 0.011 ตามลำดับ ส่วนคู่ของประชากรระหว่างจังหวัดชลบุรีกับสตูล และระหว่างจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับสตูล มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณจากของ Nei (1972) เท่ากัน คือ เท่ากับ 0.004 และมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณจากของ Rogers (1972) เท่ากับ 0.021 และ 0.024 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรทั้งแซบวัย 3 แหล่ง  
แนวทแยงมุมด้านล่าง: แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)  
แนวทแยงมุมด้านบน: แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972)

| ประชากร      | ชลบุรี | สุราษฎร์ธานี | สตูล  |
|--------------|--------|--------------|-------|
| ชลบุรี       | *****  | .001         | .004  |
| สุราษฎร์ธานี | .011   | *****        | .004  |
| สตูล         | .021   | .024         | ***** |

### 4. การตรวจสอบตัวแทนของประชากร

4.1 การตรวจสอบอัลลีลตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก จากการตรวจสอบสัดส่วนทางพันธุกรรม พบว่ายีนของประชากรทั้ง 3 แหล่ง ส่วนใหญ่อยู่ในสภาวะสมดุลยตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (ตารางภาคผนวกที่ 2) พบเพียงโลกัส  $GPI^*$  ของประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานีที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยการคำนวณตามวิธีของ Louis and Dempster (1987) อย่างไรก็ตาม ดีเมื่อนำมาคำนวณโดยวิธี Exact probabilities ตามวิธีของ Vithayasai (1973) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) หมายความว่า ชนิดและจำนวนของอัลลีลที่ตรวจพบจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง มีค่าถูกต้อง และประชากรอยู่ในสมดุลยตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

4.2 การตรวจสอบค่าความเป็นอิสระของข้อมูลของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก ผลการตรวจสอบพบว่า มีเพียงคู่ของข้อมูลระหว่างโลไซ  $PGM-1^*$  กับ  $GPI^*$  ของประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานี และประชากรจังหวัดชลบุรีที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.01$ ) (ตารางภาคผนวกที่ 3)



หมายความว่า ยีนของโลไซที่เป็นโพลีเมอร์ฟิคภายในประชากรแต่ละแหล่งนั้น ไม่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน และสามารถนำข้อมูลโลไซของแต่ละประชากรไปทดสอบเปรียบเทียบกันได้ โดยถือว่าเป็นข้อมูลที่เป็นอิสระต่อกัน

4.3 การตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีนภายในประชากร ผลการตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีนภายในประชากร ( $F_{IS}$ ) ทั้งค่า  $F_{IS}$  ของแต่ละโลกัส ค่า  $F_{IS}$  เฉลี่ยทุกโลไซ และค่า  $F_{IS}$  เฉลี่ยทุกโลไซที่คำนวณโดยวิธี Jackknifing ทุกค่าที่ทำการตรวจสอบให้ผลเหมือนกัน คือไม่พบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังรายละเอียดใน ตารางที่ 4 หมายความว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของประชากรไปจากสมดุลตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

จากผลการทดสอบตัวแทนประชากรทั้ง 3 วิธี สรุปได้ว่ายีนของทุกโลไซไม่มีความแตกต่างของยีนภายในประชากรเดียวกัน แสดงว่าตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยที่เก็บจากประชากรแต่ละแหล่งนั้น เป็นประชากรเดียวกัน หรือไม่มีการปะปนกันของประชากรที่ต่างกัน 2 ประชากร และเป็นตัวแทน ที่ถูกต้องของประชากรทั้ง 3 แหล่งนั้น ดังนั้น จึงสามารถนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกันได้ โดยถูกต้อง

ตารางที่ 4 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีน (F-statistics) ภายในประชากร ( $F_{IS}$ ) และระหว่างประชากร ( $F_{ST}$ ) ของประชากรกุ้งแชบ๊วย พร้อมทั้งผลของการตรวจสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ไคสแควร์ ตามวิธีของ Waples (1987)

| โลกัส                 | ประชากรในอ่าวไทย       |                        | ประชากรทั้ง 3 แหล่ง   |                      |
|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|
|                       | $F_{IS}$               | $F_{ST}$               | $F_{IS}$              | $F_{ST}$             |
| ALAT*                 | .0205 <sup>n.s.</sup>  | -.0013 <sup>n.s.</sup> | .023 <sup>n.s.</sup>  | .021***              |
| GPI*                  | .1358 <sup>n.s.</sup>  | .0400***               | .042 <sup>n.s.</sup>  | .025***              |
| IDHP*                 | .0226 <sup>n.s.</sup>  | -.0049 <sup>n.s.</sup> | .118 <sup>n.s.</sup>  | .066***              |
| MPI*                  | -.0186 <sup>n.s.</sup> | -.0031 <sup>n.s.</sup> | .041 <sup>n.s.</sup>  | .028***              |
| PGM-1*                | -.0014 <sup>n.s.</sup> | .0069*                 | -.095 <sup>n.s.</sup> | .003 <sup>n.s.</sup> |
| Mean over loci        | .0259 <sup>n.s.</sup>  | .0061***               | .021 <sup>n.s.</sup>  | .029***              |
| Jackknifing over loci | .0245 <sup>n.s.</sup>  | .0058***               | .020 <sup>n.s.</sup>  | .029***              |

หมายเหตุ n.s. = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
 \* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์  
 \*\*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99 เปอร์เซนต์



## 5. ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

5.1 จากการตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างระหว่างประชากรในประชากรทั้ง 3 แหล่ง ทั้งค่า  $F_{ST}$  ของแต่ละโลกัส ค่า  $F_{ST}$  เฉลี่ยทุกโลไซ และค่า  $F_{ST}$  เฉลี่ยทุกโลไซที่คำนวณโดยวิธี Jackknifing พบว่าค่าที่ตรวจสอบเกือบทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99 เปอร์เซนต์ ยกเว้นที่โลกัส *PGM-1\** (ตารางที่ 4) และการตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างระหว่างประชากรในอ่าวไทย 2 แหล่ง ได้แก่ ประชากรจังหวัดชลบุรีกับจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 2 โลไซ ได้แก่ *GPI\** และ *PGM-1\** และที่ค่าเฉลี่ยของทุกโลไซ ดังได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 4 เช่นกัน

5.2 จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก พบความแตกต่างทั้งในแต่ละคู่ประชากร และท่ามกลางประชากรทั้งหมด ตามที่ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 5 โดยพบว่าในคู่ของประชากรจังหวัดชลบุรีกับจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 2 โลไซ ได้แก่ *GPI\** ( $p<.01$ ) และ *PGM-1\** ( $p<.05$ ) ส่วนคู่ของประชากรจังหวัดชลบุรีกับจังหวัดสตูล มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 3 โลไซ ได้แก่ *ALAT\** ( $p<.001$ ), *IDHP\** ( $p<.001$ ) และ *MPI\** ( $p<.001$ ) และคู่สุดท้ายคือประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับจังหวัดสตูล มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 5 โลไซ

**ตารางที่ 5** ผลการการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก ในแต่ละคู่ประชากร และท่ามกลางประชากรทั้งหมด โดยวิธี Contingency Chi-square Analysis ของ Workman and Niswander (1970)

| ประชากร                  | ค่าความน่าจะเป็น ( $p$ -values) |                       |                       |                       |                       |          |
|--------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
|                          | <i>ALAT*</i>                    | <i>GPI*</i>           | <i>IDHP*</i>          | <i>MPI*</i>           | <i>PGM-1*</i>         | Total    |
| ชลบุรี v.s. สุราษฎร์ธานี | .3408 <sup>n.s.</sup>           | .0013**               | .7018 <sup>n.s.</sup> | .6880 <sup>n.s.</sup> | .0309*                | .0096**  |
| ชลบุรี v.s. สตูล         | .0000***                        | .4685 <sup>n.s.</sup> | .0000***              | .0007***              | .9057 <sup>n.s.</sup> | .0000*** |
| สุราษฎร์ธานี v.s. สตูล   | .0058**                         | .0000***              | .0000***              | .0000***              | .0337*                | .0000*** |
| Total                    | .0004***                        | .0000***              | .0000***              | .0000***              | .0804 <sup>n.s.</sup> | .0000*** |

หมายเหตุ  $p>0.05$ , n.s. = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

$p<0.05$ , \* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

$p<0.01$ , \*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

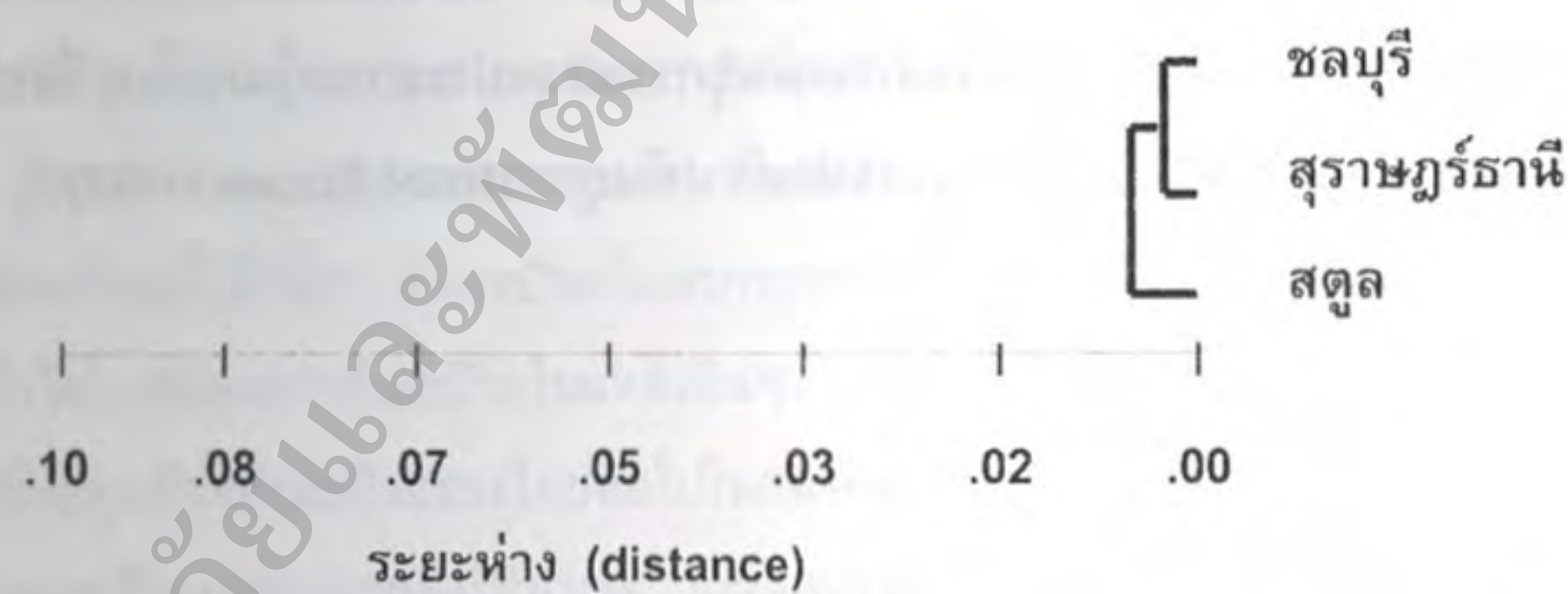
$p<0.001$ , \*\*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99 เปอร์เซนต์



จากข้อมูลการตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างระหว่างประชากร และการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพสิมอร์ฟิก จะเห็นได้ว่า ประชากรทั้ง 3 แหล่ง มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างระหว่างประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยกันเอง (ประชากรจังหวัดชลบุรีและสุราษฎร์ธานี) มีน้อยกว่าความแตกต่างระหว่างประชากรในฝั่งอ่าวไทยกับฝั่งอันดามัน (ประชากรจังหวัดชลบุรีกับจังหวัดสตูล และประชากรจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับจังหวัดสตูล)

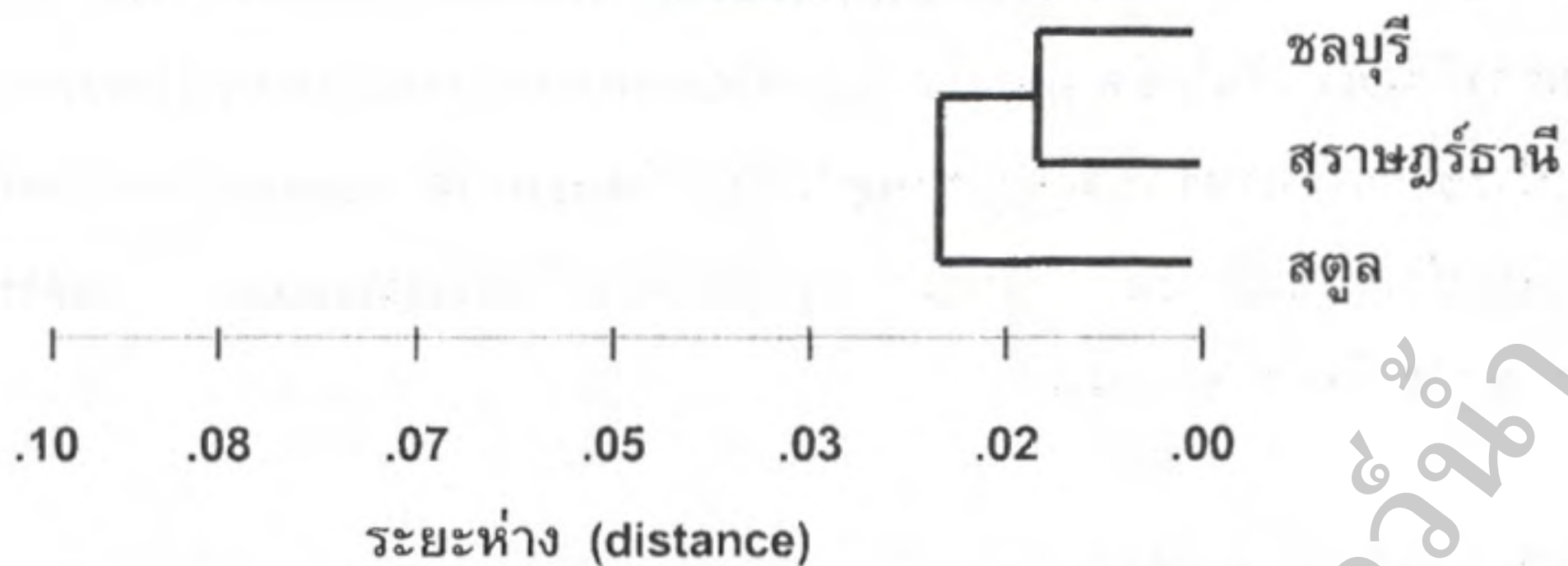
6. โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร

จากการนำค่าระยะห่างระหว่างประชากรไปจัดทำโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร โดยวิธี UPGMA พบว่า โครงสร้างความสัมพันธ์ของประชากรที่ได้จากค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972) และของ Rogers (1972) ออกมาคล้ายกัน กล่าวคือ ประชากรจากจังหวัดชลบุรีมีความใกล้ชิดกับประชากรจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในขณะที่ประชากรจากจังหวัดสตูลจะแยกหรือแตกต่างออกไปจากประชากรจากจังหวัดชลบุรีและสุราษฎร์ธานีอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงไว้ใน ภาพที่ 8 และ ภาพที่ 9 และจากการจัดทำโครงสร้างความสัมพันธ์ของประชากร โดยวิธี DISWAG โดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972) ก็พบว่ามีรูปแบบโครงสร้างเหมือนกับวิธี UPGMA ดังแสดงใน ภาพที่ 10 แต่จะเห็นความแตกต่างระหว่างประชากรจังหวัดชลบุรีกับสุราษฎร์ธานีได้ชัดเจนกว่า

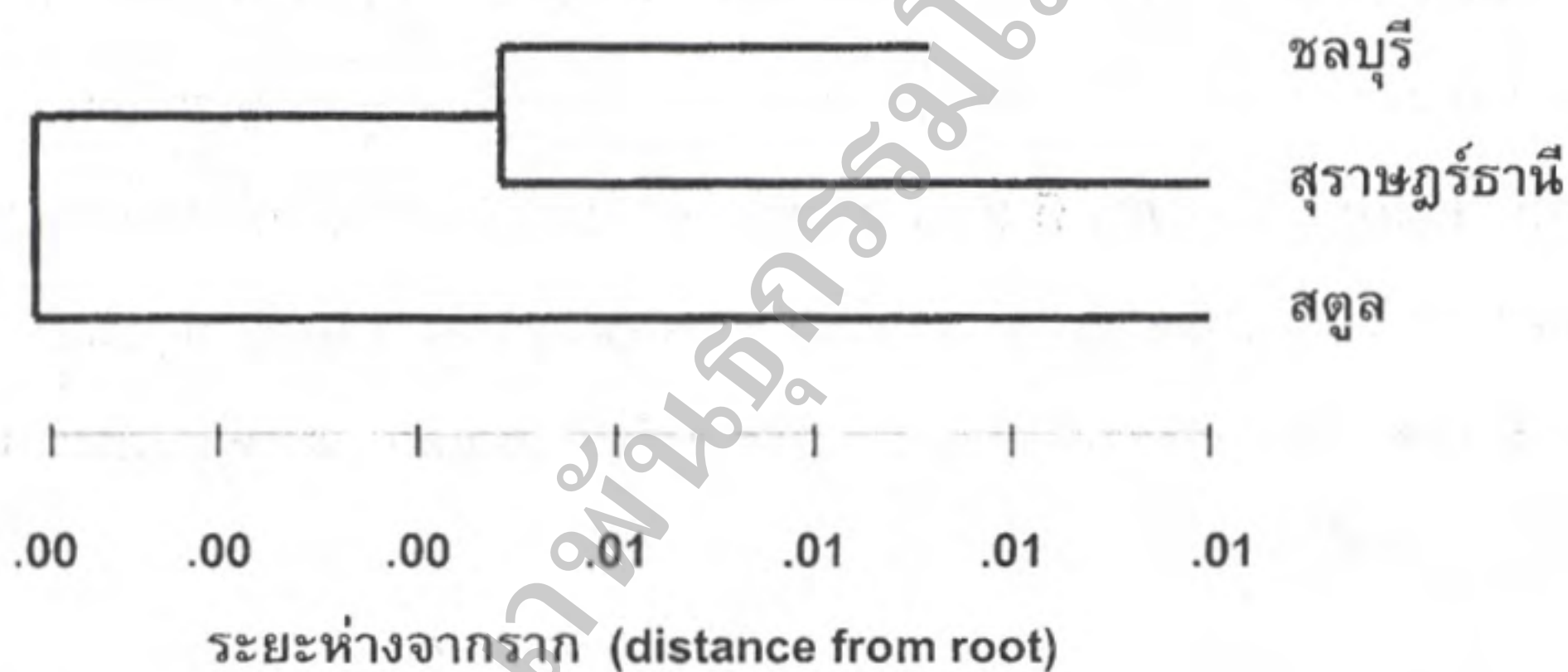


ภาพที่ 8 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบวัย ซึ่งสร้างโดยวิธี UPGMA และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972)





ภาพที่ 9 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบวัย ซึ่งสร้างโดยวิธี UPGMA และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)



ภาพที่ 10 โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบวัย ซึ่งสร้างโดยวิธี DISWAG และใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)



## สรุปและวิจารณ์ผล

จากผลการศึกษาในประชากรกุ้งแชบ๊วยจากทั้ง 3 แหล่ง (ชลบุรี สุราษฎร์ธานี และสตูล) ที่พบว่ารูปแบบของอัลโลไซม์ที่เป็นโพลีมอร์ฟิกเป็นไปตามลักษณะโครงสร้างของเอนไซม์ชนิดนั้นๆ เช่นเดียวกับที่เคยปรากฏมาแล้วทั้งในการศึกษาในสัตว์น้ำทั่วไป (Morizot and Schmidt, 1990; Richardson *et al.*, 1986) และการศึกษาในกุ้งแชบ๊วย (Mulley and Latter, 1980; Tam and Chu, 1993; Hara and Na-Nakorn, 1996) และผลการตรวจสอบตัวแทนของประชากรกุ้งแชบ๊วยก็ไม่พบว่ามี ความแตกต่างทางสถิติ สรุปได้ว่า การเก็บตัวอย่างเพื่อเป็นตัวแทนของประชากร การวิเคราะห์ตัวอย่าง และการแปรผลข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้ ถูกต้องและเป็นไปตามแนวทางการศึกษาด้วยวิธีเอนไซม์อิเล็กโตรโฟเรซิส

ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงค่าความผันแปรทางพันธุกรรมของกุ้งแชบ๊วยที่สำคัญคือ ค่าเฉลี่ยสัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกมีค่า  $P_{0.95} = 0.192$  และค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี  $H_e = 0.066 \pm 0.028$  (26 โลไซ) ซึ่งพบว่ามีค่าสูงกว่าที่ปรากฏในการศึกษาในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งอื่นๆ Mulley and Latter (1980) พบว่า กุ้งแชบ๊วยจากฝั่งตะวันออกของทวีปออสเตรเลียมีสัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก  $P_{0.99} = 0.140$  และค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี  $H_e = 0.008 \pm 0.004$  (40 โลไซ) Tam and Chu (1993) ศึกษากุ้งแชบ๊วยจากเขตทะเลจีนตอนใต้ พบว่ามีสัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก  $P_{0.95} = 0.118$  และค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี  $H_e = 0.045 \pm 0.025$  (17 โลไซ) และ Hedgecock (1986) ได้สรุปผลการศึกษาในกุ้งสกุล *Penaeus* 14 ชนิดว่า กุ้งส่วนมากจะมีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีค่อนข้างต่ำ ( $H_e = 0.038$ ) อย่างไรก็ตาม การศึกษาในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งอื่นๆ และในกุ้งสกุล *Penaeus* ต่างๆ ที่พบว่ามีค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีค่อนข้างต่ำนั้น อาจเป็นไปได้ว่า เป็นเพราะการเก็บตัวอย่างจากแหล่งที่ใกล้เคียงกัน และใช้ตัวอย่างในการศึกษาน้อย จากผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ว่า กุ้งแชบ๊วยที่แพร่กระจายอยู่ในฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย มีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีสูงกว่ากุ้งแชบ๊วยในแหล่งอื่นๆ นับว่าเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์กุ้งแชบ๊วยของไทยต่อไปในอนาคต เนื่องจากระดับของค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีก็คือรูปแบบหนึ่งของการบอกถึงปริมาณความผันแปรทางพันธุกรรม (Purdom, 1993) ซึ่งถือว่าเป็นตัวหลักสำคัญ (basic resource) ของความสำเร็จในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ (Allendorf and Ryman, 1987)

ผลการตรวจสอบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมต่างๆ ของประชากรกุ้งแชบ๊วย ได้แก่ การประเมินค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (ตารางที่ 3) การตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างระหว่างประชากร (ตารางที่ 4) การตรวจสอบความแตกต่างของข้อมูลโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิกในแต่ละคู่ประชากรและท่ามกลางประชากรทั้งหมด (ตารางที่ 5) ตลอด



จนการจัดทำโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร (ภาพที่ 8, 9 และ 10) ผลการศึกษาทั้งหมดนี้ให้ผลไปในแนวเดียวกัน ซึ่งสรุปได้ว่า ประชากรกุ้งแชบ๊วยของประเทศไทยทั้ง 3 แหล่งที่ทำการศึกษา มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรอย่างเห็นได้ชัด และพบว่ามี ความแตกต่างทั้งในระหว่างประชากรของฝั่งทะเลอันดามันกับอ่าวไทย และระหว่างประชากรใน เขตอ่าวไทยด้วยกันเอง (ระหว่างประชากรจังหวัดชลบุรีกับสุราษฎร์ธานี)

ผลการศึกษาที่พบว่าประชากรกุ้งแชบ๊วยซึ่งอยู่ในอ่าวไทยเหมือนกัน แต่มีความแตกต่าง ทางพันธุกรรมแยกจากกัน น่าจะอธิบายได้จากรูปแบบวงจรชีวิตที่สัมพันธ์กับถิ่นที่อยู่อาศัยของมัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับเหตุผล 2 ประการ คือ (1) Dall *et al.* (1990) กล่าวว่า กุ้งแชบ๊วยเมื่อโตเต็มวัยและ ถึงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ จะอพยพไปผสมพันธุ์วางไข่ในทะเล และตัวอ่อนก็จะอพยพกลับมาอาศัยอยู่ ในแหล่งเลี้ยงตัวตามชายฝั่งในทันทีที่ฟักเป็นตัว ดังนั้น ด้วยรูปแบบวงจรชีวิตของกุ้งแชบ๊วยดัง กล่าว แสดงว่ามันน่าจะมีขอบเขตการสืบพันธุ์ของแต่ละประชากรอยู่ในบริเวณที่ไม่กว้างมากนัก (2) วิวัฒน์ชัย และ สมพร (2531) รายงานว่า กุ้งแชบ๊วยในอ่าวไทยมีชุกชุมบริเวณปากแม่น้ำซึ่งอยู่ ในที่ตื้นๆ ไม่ห่างจากฝั่งมากนัก โดยมีแหล่งวางไข่ที่ระดับความลึก 6-20 เมตร ความเค็ม 25 ส่วน ในพันส่วน (ppt) ห่างฝั่งประมาณ 16-20 ไมล์ และกุ้งแชบ๊วยวางไข่มากที่สุดช่วงปลายฤดูฝนถึง กลางฤดูหนาว (กย.-มค.) โดยพบมากใน 3 บริเวณใหญ่ๆ ได้แก่ บริเวณจังหวัดจันทบุรี บริเวณ จังหวัดชลบุรีและประจวบคีรีขันธ์ และบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช ดังนั้น จึง เป็นไปได้ที่กุ้งแชบ๊วยในอ่าวไทยซึ่งมีวงจรชีวิตอยู่ในเขตไม่ลึกมากนัก จะมีโครงสร้าง ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแยกจากกันไปตามการแบ่งเขตการสืบพันธุ์ของแต่ละประชากร (reproductively isolated populations)

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบริเวณที่เก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยในอ่าวไทย 2 แหล่งคือ ชลบุรีและสุราษฎร์ธานี พบว่า มีคุณภาพน้ำใกล้เคียงกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4) ยกเว้นที่ระดับ ความเค็มของน้ำทะเลเท่านั้น โดยพบว่าบริเวณจังหวัดชลบุรีมีความเค็มของน้ำทะเลเฉลี่ย 23.5 ส่วนในพันส่วน ซึ่งต่ำกว่าความเค็มของน้ำทะเลในบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่มีความเค็มเฉลี่ย 31.8 ส่วนในพันส่วน จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าอิทธิพลของสภาพแวดล้อมอันเนื่องมาจากความเค็ม ของน้ำทะเล อาจเป็นปัจจัยสำคัญ (หรือปัจจัยเสริมร่วมกับอิทธิพลอื่นๆ ซึ่งยังไม่ทราบแน่นอน) ที่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน เพื่อปรับให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ (locally adapted genotypes) และทำให้ประชากรกุ้งแชบ๊วยทั้ง 2 แหล่ง มีการแบ่งเขตการสืบพันธุ์แยกจากกัน

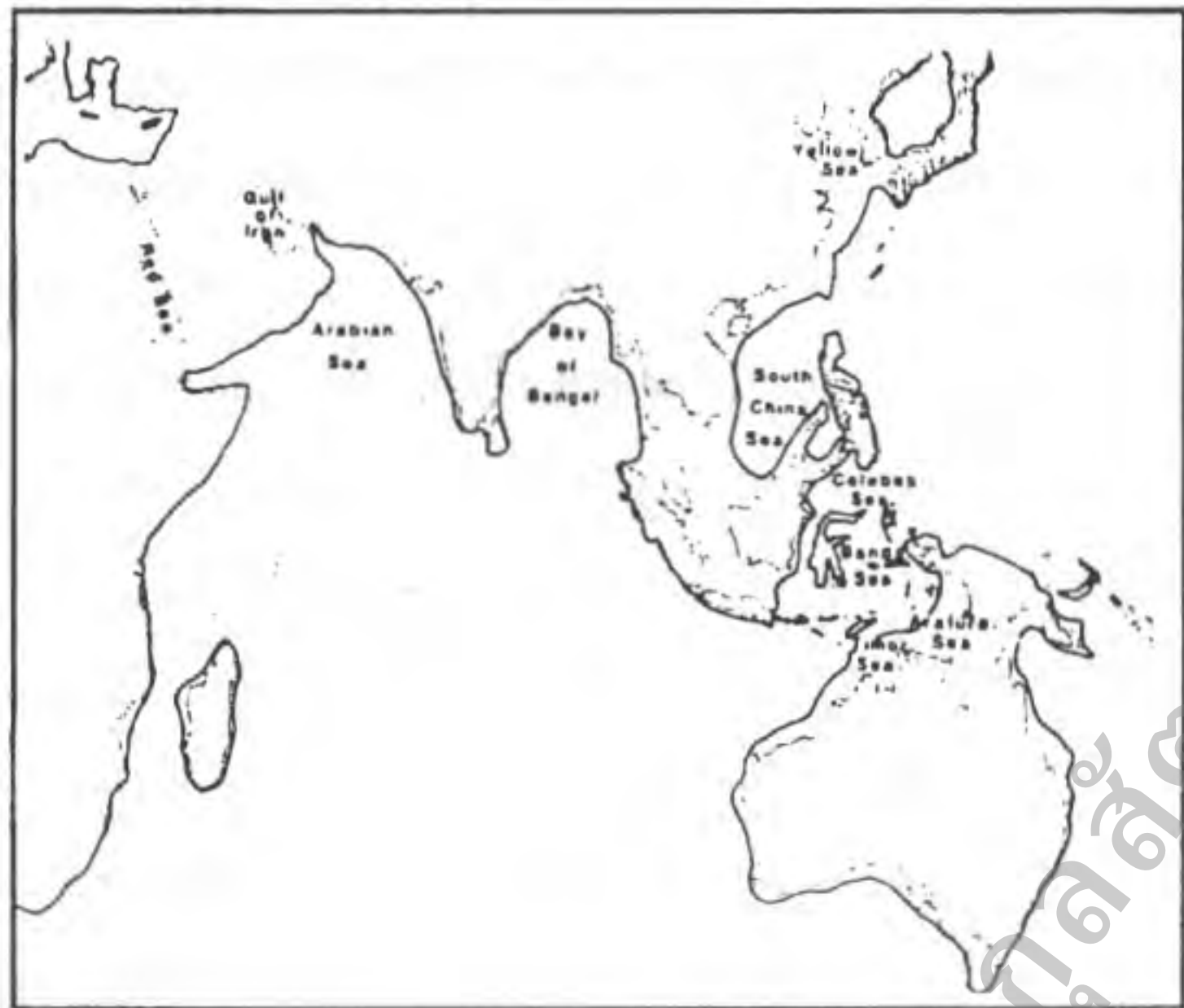
อย่างไรก็ตาม ประชากรกุ้งแชบ๊วยจากจังหวัดชลบุรีและจังหวัดสุราษฎร์ธานีซึ่งอยู่ในเขต อ่าวไทยเหมือนกัน ยังคงมีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรจาก จังหวัดสตูลที่อยู่ในเขตทะเลอันดามัน โดยประชากรจากจังหวัดสตูลจะแยกจากประชากรในเขต



อ่าวไทยทั้ง 2 ประชากรอย่างชัดเจน ซึ่งดูได้จากโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากร กุ้งแชบ๊วยทั้ง 3 แบบ (ภาพที่ 8, 9, 10) อนึ่ง Daud *et al.* (1994) ได้ทำการศึกษาความผันแปร และโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วย ในบริเวณ 3 จุด รอบแหลมมลายูในประเทศ มาเลเซีย คือ บริเวณฝั่งตะวันออก ใต้ และตะวันตก โดยการสำรวจอัลโลไซม์ จำนวน 45 โลไซ จากเนื้อ ขาวว่ายน้ำและตับ พบว่ามีโลไซจำนวน 3 โลไซ คือ AAT-2\*, EST-2\* และ HK-2\* ซึ่งมีความถี่ของยีนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างประชากรในฝั่งตะวันตกและฝั่งตะวันออก ในขณะที่ HK-2\* เพียงโลกส์เดียว ซึ่งความแตกต่างระหว่างประชากรในฝั่งตะวันออกและตอนใต้ และ AAT-2\* โลกส์เดียวเช่นกันที่ซึ่งความแตกต่างระหว่างประชากรตอนใต้กับฝั่งตะวันตก และจากการ ตรวจสอบโดยใช้ข้อมูลไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mtDNA) Daud *et al.* (1994) พบว่า ประชากร กุ้งแชบ๊วยในฝั่งตะวันตก ไม่มีรูปแบบของแถบ mtDNA (haplotype) ที่เหมือนกับประชากรในฝั่ง ตะวันออก แต่ประชากรกุ้งแชบ๊วยในฝั่งตะวันออกมีรูปแบบของแถบ mtDNA จำนวน 3 แบบที่ เหมือนกับประชากรจากฝั่งตอนใต้ จากการตรวจสอบโดยใช้ทั้งข้อมูลอัลโลไซม์และไมโทคอนเดรียล ดีเอ็นเอของ Daud *et al.* (1994) ซึ่งให้เห็นว่า ประชากรกุ้งแชบ๊วยในแต่ละพื้นที่ที่มีความแตกต่าง ทางพันธุกรรมแยกจากกันเนื่องจากการสืบพันธุ์ (reproductively isolated) โดยประชากรฝั่งตะวัน ออกและตอนใต้จะจับกลุ่มอยู่ใกล้ชิดกันและมีฝั่งตะวันตกอยู่ห่างออกไป ทั้งนี้รูปแบบการเกาะกลุ่ม ที่ประเมินได้ดังกล่าวตรงกับรูปแบบกระแสน้ำในพื้นที่ผิวดทะเลในบริเวณนั้น ฉะนั้น ผลการศึกษาดัง กล่าว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ แสดงว่าประชากรกุ้งแชบ๊วยแต่ละประชากรน่าจะมีลักษณะ โครงสร้างทางพันธุกรรมที่แบ่งแยกจากกันชัดเจนมากกว่าที่เคยคาดคิดเอาไว้ โดยเฉพาะประชา กรกุ้งแชบ๊วยในฝั่งตะวันตกและฝั่งตะวันออกของคาบสมุทรมลายู

ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่แยกจากกันเนื่องจากการสืบพันธุ์ของประชากรกุ้งแชบ๊วย ในฝั่งทะเลอันดามันกับของอ่าวไทยนี้ น่าจะมีสาเหตุมาจากตั้งแต่ในสมัยก่อนยุคน้ำแข็ง (Pleistocene) ประมาณ 14,000-17,000 ปีก่อนคริสต์กาล ซึ่งระดับน้ำทะเลมีระดับต่ำมาก (ภาพที่ 11, Dall *et al.*, 1990) โดยมีแผ่นดินขนาดใหญ่ของคาบสมุทรมลายูจนถึงบริเวณประเทศฟิลิปปินส์ ในปัจจุบันเป็นดั่งแบ่งแยกการผสมพันธุ์ระหว่างประชากรทั้งสองฝั่ง และถึงแม้ต่อมาเมื่อระดับน้ำ ทะเลสูงขึ้น แต่ประชากรทั้งสองฝั่งก็ยังไม่สามารถผสมกลมกลืนกันได้ เนื่องจากคงต้องใช้เวลานาน บ้าง ปี ในการเปลี่ยนแปลงยีนในแต่ละรุ่น อีกทั้งยังมีช่องแคบมะละกาเป็นแนวภูมิประเทศที่ป้อง กันไม่ให้มีการผสมของยีนระหว่างประชากรทั้งสองฝั่ง (restriction in gene flow) จึงทำให้ความ แตกต่างระหว่างประชากรทั้งสองฝั่งยังคงแสดงให้เห็นอยู่ในยุคปัจจุบัน เช่นเดียวกับที่เคยศึกษา มาแล้วในประชากรกุ้งกุลาดำ (ศรีรัตน์, 2539; Benzie *et al.*, 1992)





ภาพที่ 11 แผนที่ในเขต Indo-West Pacific แสดงการขยายเขตมากที่สุดของแผ่นดินในสมัย ก่อนยุคน้ำแข็ง (Pleistocene) โดยมีระดับน้ำทะเลต่ำกว่าปัจจุบัน 135 เมตร (Dall et al., 1990)

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบริเวณที่เก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยทั้งในฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน พบว่ามีคุณภาพน้ำใกล้เคียงกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4) ยกเว้นที่ระดับความเค็มของน้ำทะเลในบริเวณจังหวัดชลบุรี ซึ่งมีปริมาณความเค็มของน้ำทะเลน้อยกว่าแหล่งอื่นดังได้กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ จากการสำรวจลักษณะภูมิประเทศตามชายฝั่งของประเทศไทย จรัญ และคณะ (2538) พบว่าในฝั่งอ่าวไทยมีพื้นดินส่วนใหญ่เป็นโคลนเหลว ส่วนในฝั่งอันดามัน สุชาติ และเพ็ญศรี (2533) และ สุวิช และธรรมศักดิ์ (2533) พบว่ามีพื้นดินเป็นโคลนปนทราย จึงอาจเป็นไปได้ว่าคุณสมบัติของพื้นดินที่แตกต่างกัน ใน 2 ฝั่งทะเลนี้อาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ช่วยเสริมให้เกิดการปรับตัวของยีนให้เข้ากับสภาพแวดล้อมมากขึ้นไปอีก เป็นเหตุให้ประชากรกุ้งแชบ๊วยของทั้ง 2 ฝั่งมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมากที่สุด

จากผลการศึกษา แสดงว่าประชากรกุ้งแชบ๊วยในแต่ละท้องถิ่นมีลักษณะพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากเป็นลักษณะที่เกิดจากการปรับตัวตามธรรมชาติให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่นนั้นๆ เรียบร้อยแล้ว ดังนั้น ประชากรกุ้งแชบ๊วยที่มีพันธุกรรมหลากหลายแตกต่างกันในแต่ละแหล่งนี้ จะเป็นแหล่งของสายพันธุ์ที่มีประโยชน์ต่อนักเพาะเลี้ยง ซึ่งจะสามารถเลือกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะกับสภาพในแต่ละพื้นที่ได้ และควรมีการวางแผนการจัดการที่เหมาะสม เพื่ออนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมเหล่านี้ไว้ ดังเช่นตัวอย่างจากการศึกษาในท่ามกลางประชากรหอยมือเสือ (*Tridacna derasa*) จำนวนหนึ่งที่แพร่กระจายในเอเชียและแปซิฟิก เพื่อนำผลไปใช้ในการบริหาร



แหล่งพ่อแม่พันธุ์และปรับปรุงพันธุ์หอย ของ Ablan *et al.* (1992) ซึ่งได้พบว่ามีหลากหลายทางพันธุกรรมในปริมาณสูงท่ามกลางกลุ่มประชากรหอยทั้งหมด แต่จากการนำตัวอย่างพันธุ์หอยมือเสือจากแหล่งต่างๆ มาผสมพันธุ์กันโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการปรับปรุงพันธุ์นั้น เขาก็ได้พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถสูญเสียไปได้ง่ายมากหลังจากการผสมพันธุ์ไปแล้วเพียง 2-3 รุ่นเท่านั้น โดยเป็นผลเนื่องจากการผสมพันธุ์เลือดชิด (inbreeding) เขาจึงได้ชี้ให้เห็นถึงจุดที่สำคัญที่สุดคือ จะต้องพยายามดำรงรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในแต่ละประชากรของพ่อแม่พันธุ์เอาไว้ เช่นการปล่อยพันธุ์หอยกลับลงสู่ธรรมชาติในแหล่งใดๆ ก็ตามควรใช้ลูกหอยที่เพาะพันธุ์จากพ่อแม่ในแหล่งเดียวกันนั้น เพื่อรักษาลักษณะพันธุกรรมตามธรรมชาติในแต่ละแหล่งเอาไว้ และจากรายงานผลการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยชนิดเดียวกันในประเทศออสเตรเลีย ของ Benzie (1992) ซึ่งก็ได้ให้ความสำคัญตรงจุดเดียวกันว่าควรเข้มงวดเป็นอย่างยิ่งต่อการเคลื่อนย้ายประชากรสัตว์น้ำที่อยู่คนละฝั่งของมหาสมุทรแปซิฟิก เพื่อว่าสายพันธุ์ที่มีคุณลักษณะที่ถูกปรับตามธรรมชาติให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละฝั่งและมีประโยชน์อย่างมากต่อการเพาะเลี้ยงในแต่ละท้องถิ่นนั้นๆ จะไม่ถูกทำลายไป

ในปัจจุบัน ถึงแม้ว่าการเพาะเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยยังไม่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากสาเหตุต่างๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น แต่เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในปัจจุบันกำลังประสบปัญหาอย่างมาก การเพาะเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเป็นการเพิ่มผลผลิตสัตว์น้ำเพื่อการส่งออก ดังนั้น ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วยนี้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการวางแผนจัดการหรือดำเนินการใดๆ กับกุ้งแชบ๊วยต่อไป



## ข้อเสนอแนะ

1. ต้องพยายามดำรงรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบว้ยในธรรมชาติมิให้สูญหายไป เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากทรัพยากรสัตว์น้ำชนิดนี้ได้อย่างสูงสุด และยั่งยืนตลอดไป โดย

1.1 ในการปล่อยพันธุ์กุ่มกลับลงสู่ธรรมชาติในแหล่งใดๆ ก็ตาม ควรใช้ลูกพันธุ์ที่เพาะขึ้นจากพ่อแม่พันธุ์ในแหล่งเดียวกันนั้น เพื่อไม่ให้มีผลในการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบว้ยในแหล่งธรรมชาติ

1.2. ควรเข้มงวดต่อการเคลื่อนย้ายประชากรกุ่มแซบว้ย เพื่อรักษาสายพันธุ์ที่มีคุณลักษณะที่ถูกปรับตามธรรมชาติให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่นนั้นๆ ไม่ให้ถูกทำลายไป โดยเฉพาะประชากรกุ่มแซบว้ยที่อยู่คนละฝั่งของมหาสมุทร

2. เข้มงวดในการจับพันธุ์กุ่มชนิดต่างๆ ไม่ให้หมดเกินไป เพราะจะทำให้ผลผลิตกุ่มในธรรมชาติลดลง และอาจจะทำให้ประชากรกุ่มในบางแหล่งสูญหายไป อันเป็นการทำลายแหล่งพันธุกรรมของประชากรกุ่มแซบว้ยในแหล่งธรรมชาติได้

3. ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในด้านการเพาะเลี้ยงกุ่มแซบว้ย โดยเปรียบเทียบกับในระหว่างประชากรจากแหล่งต่างๆ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะกับสภาพพื้นที่ ซึ่งจะทำได้ผลผลิตสูง อีกทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบในการปล่อยพันธุ์กุ่มลงในแหล่งธรรมชาติที่แตกต่างกัน



## เอกสารอ้างอิง

- จรัญ วงษ์วิวัฒนาวุฒิ, พิชิต ศรีมุกดา, ลือชัย ตรุณชูไพรซ์ เจียะรัตน์. 2538. สภาพสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยาบางประการบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและอ่าวชลบุรี, พ.ศ.2538. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 3/2540. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งฉะเชิงเทรา กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 49 หน้า.
- ธวัช ศรีวิระชัย และ ฐานันดร ทัดตานนท์. 2538. การเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยแบบพัฒนาในบ่อดิน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 44/2538. สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดนครราชสีมา กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 20 หน้า.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2537ก. พันธุศาสตร์ประชากรในการบริหารการประมง. วารสารการประมง 47(5): 407-413.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2537ข. ข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับตรวจสอบปลาในกลุ่มปลานิล 4 ชนิดโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส. วารสารการประมง 47(6): 525-539.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2541. ปลานิลเยอรมัน. ข่าวกรมประมง 22(1): 30-33.
- เรณู ยาชีโร. 2529. อัตราการรอดและการเจริญเติบโตของลูกกุ้งกุลาดำและแชบ๊วยที่เลี้ยงด้วยไรสีน้ำตาลต่างสายพันธุ์. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 8/2529 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง. 22 หน้า.
- วิวัฒน์ชัย พรหมสาขา ณ สกลนคร และ สมพร โล่ห์สวัสดิ์กุล. 2531. การแพร่กระจายและความชุกชุมของทรัพยากรกุ้งทะเลในอ่าวไทย. รายงานวิชาการ เล่มที่ 2/2531. กลุ่มสำรวจทรัพยากร กองประมงทะเล กรมประมง. 76 หน้า.
- ศรีรัตน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างและโครงสร้างทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 12. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 19 หน้า.
- สุชาติ สว่างอารีย์รักษ์ และ เพ็ญศรี บุญเรือง. 2533. การศึกษาความชุกชุมและการแพร่กระจายของกุ้งทะเล กลุ่ม PENAID บริเวณอ่าวพังงาและพื้นที่ใกล้เคียง. สัมมนาวิชาการประจำปี 2533. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ บางเขน กรุงเทพฯ ฯ. หน้า 237-252.
- สมนึก ใช้เทียมวงศ์. 2535. ชนิดของกุ้งแชบ๊วยที่พบในประเทศไทย. สัมมนาวิชาการประจำปี 2535. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ บางเขน กรุงเทพฯ ฯ. หน้า 663-670.
- สุวิธ วิเศษหอม และ ธรรมศักดิ์ โปริยานนท์. 2533. สมุทรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการประมงบริเวณทะเลอันดามัน ในเขตเศรษฐกิจจำเพาะของไทย ปี พ.ศ.2531-2532. เอกสารหมายเลข 33 กองสำรวจแหล่งประมง กรมประมง. 23 หน้า



- Ablan, M.C.A., Macaranas, J.M. and Gomez, E.D. 1992. Genetic structure of the giant clam *Tridacna derasa* from five areas in Asia and the Pacific. In: First AADCP International Workshop on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management (Penman, D.J., Roongratri, N. and McAndrew, B.J., eds). Univ. of Stirling, Scotland, pp. 57-62.
- Allendorf, F.W., Ryman, N. and Utter, F. 1987. Genetics and fishery management: past, present, and future. In: Population Genetics & Fisheries Management. (Ryman, N. and Utter, F., eds). Seattle: Univ. Washington Press, pp. 1-20.
- Benzie, J.A.H., 1992. Mariculture and fisheries genetics in tropical Australia. In: First AADCP International Workshop on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management (Penman, D.J., Roongratri, N. and McAndrew, B.J., eds). Univ. of Stirling, Scotland, pp. 69-71.
- Benzie, J.A.H., Frusher, S. and Ballment, E. 1992. Geographical variation in allozyme frequencies of populations of *Penaeus monodon* (Crustacea: Decapoda) in Australia. Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 43: 715-725.
- Buth, D. 1990. Genetic principles and the interpretation of electrophoretic data.. In: Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management. (Whitmore, D.H., ed). Boca Raton: CRC Press, pp. 1-21.
- Chaitiamvong, S. and Supongpan, M. 1992. A guide to penaeoid shrimps found in thai waters. Australian Institute of Marine Science. Townsville, Australia. 77 pp.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C. and Sharples, D.J. 1990 The Biology of the Penaeidae: Advances in Marine Biology, Vol. 27. Sydney: Academic Press.
- Daud, S.K., Klinbunga, S., McAndrew, B.J. and Penman, D.J. 1994. Genetic variability and population structure of banana shrimp (*Penaeus merguensis* de Man, 1888) from Malaysia. In: Second AADCP International Workshop on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management (abstract). Phuket, Thailand.
- Farris, J.S. 1972. Estimating phylogenetic trees from distance matrices. Am. Nat. 106: 645-668.
- Ferguson, A. 1984. Manual of electrophoretic techniques and analysis. Zoology Department, The Queen's Univ. (in press). 10 pp.
- Hara, M. and Na-Nakorn, U. 1996. Development of sustainable aquaculture technology in Southeast Asia: Focus on genetics and physiology. Japan International Research Center for Agriculture Sciences and Faculty of Fisheries in Kasetsart Univ. 79 pp.



- Hartl, D.L. 1988. A primer of population genetics. 2nd ed. Sinauer, Sunderland, MA, 305 pp.
- Hedgecock, D. 1986. Population genetics bases for improving cultured crustaceans. In: Proc. World Symp. on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture (Tiews, K., ed). 27-30 May 1986. Bordeaux, France.
- Hillis, D.M., Larson, A., Davis, S.K. and Zimmer, E.A. (1990) Nucleic acids: Sequencing. In: Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management. (Whitmore, D.H., ed). Boca Raton: CRC Press, pp. 318-370.
- Lavery, S. and Staples, D. 1990. Use of allozyme electrophoresis for identifying two species of penaeid prawn postlarvae. Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 41: 259-266.
- Lester, L.J. 1983. Developing a selective breeding program for penaeid shrimp mariculture. Aquaculture 33: 51-60.
- Lester, L.J. and Cook, J.P. 1987. Ontogenetic changes in isozyme patterns of *Penaeus* species. Comp. Biochem. Physiol. 86B: 253-258.
- Louis, E.J. and Dempster, E.R. 1987. An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. Biometrics. 43: 805-811.
- Morizot, D.C. and Schmidt, M.E. 1990. Starch gel electrophoresis and histochemical visualization of proteins. In: Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management (Whitmore, D.H., ed). CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 24-80.
- Mulley, J.C. and Latter, B.D.H. 1980. Genetic variation and evolutionary relationships within a group of thirteen species of penaeid prawns. Evolution 34(5): 904-16.
- Murphy, R.W., Sites J.W., Buth, D.G. and Haufler, C.H. 1990. Protein I: isozyme electrophoresis. In: Molecular Systematics. (Hillis, D. and Moritz, C., eds). Sunderland, MA: Sinauer, pp. 45-126.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Amer. Nat. 106: 283-92.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89, 583-90.
- Purdom, C.E. 1993. Genetics and Fish Breeding. Chapman & Hall, UK. 277 pp.
- Raymond M. and Rousset, F. 1994. GENEPOP: A population genetics software for exact tests and ecumenicism, Version 1.2. Institute des Sciences del' Evolution, France.
- Redfield, J.A. and Salini, J.P. 1980. Techniques of starch gel electrophoresis of penaeid prawn enzymes (*Penaeus* spp. and *Metapenaeus* spp.). Aust. CSIRO Div. Fish Oceanogr Rep. N0. 116



- Richardson, B.J. 1982. Geographic distribution of electrophoretically detected protein variation in Australian commercial fishes. III. Western King Prawn *Penaeus latisulcatus* Kishinouye. Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 33: 933-937.
- Richardson, B.J., Baverstock, P.R. and Adams, M. 1986. Allozyme Electrophoresis: a Handbook for Animal Systematics and Population Studies. Academic Press, Sydney, 410 pp.
- Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. Studies in Genetics III. Univ. Texas Publi. 7213, pp. 145-153.
- Salini, J.P. and Moore, L.E. 1985. Taxonomy of the greentail prawn *Metapenaeus bennette* and the western school prawn *M. dalli*. In: Second Aust. Nat. Prawn Sem. (Rothlisberg, P.C., Hill, B.J. and Staples D.J., eds). Cleveland, Australia, pp. 95-103.
- Shaklee, J.B., Allendorf, F.W., Morizot, D.C. and Whitt, G.S. 1990. Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish. Trans. Am. Fish. Soc. 119, 2-15.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy. San Francisco: W.H. Freeman. 573 pp.
- Sodsuk, S. 1996. Genetic population structure of *Penaeus monodon* using allozyme and mitochondrial DNA analysis. Ph.D. thesis, Univ. of Stirling, Scotland, 277 pp.
- Swofford, D.L. and Selander, R.B. 1989. BIOSYS-1: a FORTRAN program for comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. J. Hered. 72: 281-283.
- Tam, Y.K. and Chu, K.H. 1993. Electrophoretic study on the phylogenetic relationships of some species of *Penaeus* and *Metapenaeus* (Decapoda: Penaeidae) from the South China Sea. J. Crus. Biol. 13(4): 697-705.
- Vithayasai, C. 1973. Exact critical values of the Hardy-Weinberg test statistic for two alleles. Commun Stat. 1: 229-242.
- Waples, R.S. 1987. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. Evolution 41, 385-400.
- Weir, B.S. 1991. Genetic data analysis. Sinauer Publ. Sunderland, MA.
- Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358-1370.
- 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.



## 1. สารละลายบัฟเฟอร์ (Electrophoresis Buffers)

### CTC: Continuous tris-citrate buffer, pH 8.0

#### Electrode buffer:

|                     |      |     |
|---------------------|------|-----|
| Tris 0.25 M         | 30.3 | g/l |
| Citric acid 0.075 M | 15.8 | g/l |

Mix: Adjust pH with 4N NaOH

**Gel buffer:** Dilute electrode buffer 1 : 25

Mix: 8.8 ml electrode buffer + 211.2 ml dH<sub>2</sub>O up to 220 ml

**Electrophoresis:** 150 V, 30 mA, 4 h

### TBE: Tris-borate-EDTA, pH 8.5 (Ferguson, 1984)

#### Electrode buffer:

|                                     |      |     |
|-------------------------------------|------|-----|
| Tris 0.5 M                          | 60.6 | g/l |
| Boric acid 0.25 M                   | 15.0 | g/l |
| EDTA (Na <sub>2</sub> salt) 0.016 M | 6.0  | g/l |

Mix: adjust pH with HCL

**Gel buffer:** Dilute electrode buffer 1 : 10

Mix: 22 ml electrode buffer + 198 ml dH<sub>2</sub>O up to 220 ml

**Electrophoresis:** 180-200 V, 30-32 mA, 5-5½ h



**TCB:** Tris-citrate-borate, pH 8.6 (Ferguson,1984)  
(Lithium-borate/Tris-citrate)

**Electrode buffer, pH 8.6**

|                  |      |     |
|------------------|------|-----|
| Boric acid 0.3 M | 18.6 | g/l |
| LiOH 0.1 M       | 4.2  | g/l |

Mix: adjust pH with NaOH, HCL

**Gel buffer, pH 8.6**

|                                   |      |      |
|-----------------------------------|------|------|
| Tris 0.076 M                      | 9.2  | g/l  |
| Citric acid 0.005 M               | 1.1  | g/l  |
| Electrode buffer 5.3%             | 53.0 | ml/l |
| (Boric acid 0.015 M, LiOH 0.005M) |      |      |

**Electrophoresis:** 150 V, 45 mA, 4 h

**TCE:** Tris-citrate-EDTA, pH 7.0 (Hillis *et al.*, 1990)

**Electrode buffer:**

|                                      |      |     |
|--------------------------------------|------|-----|
| Tris 0.135 M                         | 16.4 | g/l |
| EDTA (Na <sub>2</sub> salt) 0.0013 M | 0.4  | g/l |
| Citric acid 0.045 M                  | 9.5  | g/l |

**Gel buffer:** Dilute electrode buffer 1 : 14

Mix: 15.7 ml electrode buffer + 204.3 ml dH<sub>2</sub>O up to 220 ml

**Electrophoresis:** 150-170 V, 28-30 mA, 5-5½ h



2. ส่วนประกอบของสารเคมีที่ใช้ย้อมเอ็นไซม์ (Staining Recipes)

Aspartate aminotransferase (AAT)

EC 2.6.1.1

|                                                |    |    |
|------------------------------------------------|----|----|
| Substrate                                      | 20 | ml |
| Pyridoxal-5-phosphate                          | 1  | mg |
| Fast Blue BB salt                              | 50 | mg |
| 2% Agar                                        | 20 | ml |
| Substrate:                                     |    |    |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0                         | 20 | ml |
| L-aspartic acid                                | 80 | mg |
| $\alpha$ -ketoglutaric acid                    | 40 | mg |
| Readjust the pH to 8.0 with NaOH, store at 4°C |    |    |

Acid phosphatase (ACP)

EC 3.1.3.2

|                                                             |     |    |
|-------------------------------------------------------------|-----|----|
| $\alpha$ -Naphthyl acid phosphate                           | 80  | mg |
| Polyvinylpyrrolidone                                        | 400 | mg |
| Fast blue BB salt or fast garnet GBC salt                   | 80  | mg |
| 0.2 Na-acetate buffer or $\text{PO}_4$ -citric acid, pH 5.5 | 40  | ml |
| Distilled water                                             | 40  | ml |

Substrate: Dissolved  $\alpha$ -naphthyl acid phosphate in 1 ml acetone

Comments: Pre-soak gel 1 h in stain buffer before staining

Adenylate kinase (AK)

EC 2.7.4.3

|                        |    |      |
|------------------------|----|------|
| Glucose                | 80 | mg   |
| ADP                    | 20 | mg   |
| NADP                   | 5  | mg   |
| $\text{MgCl}_2$        | 40 | mg   |
| MTT or NBT             | 5  | mg   |
| PMS                    | 1  | mg   |
| G6PDH                  | 15 | unit |
| Hexokinase             | 20 | unit |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0 | 20 | ml   |
| 2% Agar                | 20 | ml   |



**Alanine aminotransferase (ALAT)****EC 2.6.1.2**

L-Alanine or DL-alanine

400 mg

 $\alpha$ -Ketoglutaric acid

40 mg

NADH

10 mg

Lactate dehydrogenase

200 unit

0.2 M Tris-HCL, pH 7.5

20 ml

2% Agar

20 ml

Comments: UV stain, rapid staining

**Alkaline phosphate (ALP)****EC 3.1.3.1** $\beta$ -Naphthyl acid phosphate ( $\text{Na}_2$  salt)

40 mg

Fast blue RR salt

40 mg

 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 

90 mg

Distilled water

80 ml

**Esterase (EST)****EC 3.1.1.-**

Substrate

2 ml

Fast blue RR salt

50 mg

0.1 M  $\text{P}_4\text{O}$ , pH 6.5-7.0 or 0.2 T-HCL, 7.0

40 ml

Distilled water

40 ml

Substrate: Prepare 1%  $\alpha$ -naphthyl acetate or  $\beta$ - in 50% acetone

Comments: 1. Incubate gel slice at room temperature, dark is not required.

2. Other substrates are  $\alpha$ -naphthyl propionate &  $\alpha$ -naphthyl butyrate**Esterase-D (ESD,ESDT)****EC 3.1.-.-**

4-Methylumbelliferyl acetate

2 mg

0.1 M  $\text{P}_4\text{O}$ , pH 7.0 or 0.2 T-HCL, 7.0

20 ml

2% Agar

20 ml

Substrate: Dissolved substrate in 1 ml acetone and 1 ml  $\text{dH}_2\text{O}$ Comments: Incubate at  $37^\circ\text{C}$  and view under longwave (365 nm) UV light.



Glyceral-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH)

EC 1.1.1.8

|                        |     |    |
|------------------------|-----|----|
| DL-α-Glycerophosphate  | 150 | mg |
| NAD                    | 15  | mg |
| MTT or NBT             | 5   | mg |
| PMS                    | 1   | mg |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.5 | 20  | ml |
| 2% Agar                | 20  | ml |

Comments: Incubate for 1 h before adding PMS

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)

EC 1.1.1.49

|                                            |     |    |
|--------------------------------------------|-----|----|
| Glucose-6-phosphate (Na <sub>2</sub> salt) | 100 | mg |
| NADP                                       | 5   | mg |
| MgCL <sub>2</sub>                          | 40  | mg |
| MTT or NBT                                 | 5   | mg |
| PMS                                        | 1   | mg |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0                     | 20  | ml |
| 2% Agar                                    | 20  | ml |

Comments: NADP should be added to the gel ( 10 mg in 200 ml)

Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)

EC 5.3.1.9

|                                             |    |      |
|---------------------------------------------|----|------|
| Fructose-6-phosphate (Na <sub>2</sub> salt) | 20 | mg   |
| NADP                                        | 5  | mg   |
| MgCL <sub>2</sub>                           | 40 | μg   |
| MTT or NBT                                  | 5  | mg   |
| PMS                                         | 1  | mg   |
| G6PDH                                       | 3  | unit |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0                      | 25 | ml   |
| 2% Agar                                     | 20 | ml   |



**Hexokinase (HK)****EC 2.7.1.1**

|                        |     |      |
|------------------------|-----|------|
| Glucose                | 500 | mg   |
| ATP                    | 25  | mg   |
| NADP                   | 5   | mg   |
| MgCL <sub>2</sub>      | 40  | mg   |
| MTT                    | 5   | mg   |
| PMS                    | 1   | mg   |
| G6PDH                  | 15  | unit |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0 | 20  | ml   |
| 2% Agar                | 20  | ml   |

**Isocitrate dehydrogenase(NADP+) (IDHP)****EC 1.1.1.42**

|                                       |     |    |
|---------------------------------------|-----|----|
| Isocitric acid (Na <sub>2</sub> salt) | 100 | mg |
| NADP                                  | 5   | mg |
| MgCL <sub>2</sub>                     | 60  | mg |
| MTT or NBT                            | 5   | mg |
| PMS                                   | 1   | mg |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0                | 20  | ml |
| 2% Agar                               | 20  | ml |

**L-Lactate dehydrogenase (LDH)****EC 1.1.1.27**

|                              |    |    |
|------------------------------|----|----|
| Substrate (lactate solution) | 4  | ml |
| NAD                          | 10 | mg |
| MTT or NBT                   | 5  | mg |
| PMS                          | 1  | mg |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 7.0       | 16 | ml |
| 2% Agar                      | 20 | ml |

Substrate: Dissolve 10.6 ml of 85% DL-lactic acid in 100 ml H<sub>2</sub>O, adjust pH to 7.0 with LiOH



Malate dehydrogenase (MDH)

EC 1.1.1.37

|                                |    |    |
|--------------------------------|----|----|
| Substrate (DL-malate solution) | 4  | ml |
| NAD                            | 10 | mg |
| MTT or NBT                     | 5  | mg |
| PMS                            | 1  | mg |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.5         | 20 | ml |
| 2% Agar                        | 20 | ml |

Substrate: Dissolve 13.4 g of DL-malic acid in 100 ml H<sub>2</sub>O, adjust pH to 7.0 with NaOH

Mannose-6-phosphate isomeras (MPI)

EC 5.3.1.8

|                               |    |      |
|-------------------------------|----|------|
| Mannose-6-phosphate           | 30 | mg   |
| NADP                          | 5  | mg   |
| MgCL <sub>2</sub>             | 20 | μg   |
| MTT or NBT                    | 5  | mg   |
| PMS                           | 1  | mg   |
| G6PDH                         | 10 | unit |
| Glucose-6-phosphate isomerase | 12 | unit |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0        | 20 | ml   |
| 2% Agar                       | 20 | ml   |

Comments: LDH may appear as faint bands, suppressed by adding 50 mg pyruvic acid.

Phosphogluconate dehydrogenase (PGDH)

EC 1.1.1.44

|                                          |    |    |
|------------------------------------------|----|----|
| 6-Phosphogluconic (Na <sub>3</sub> salt) | 40 | mg |
| NADP                                     | 10 | mg |
| MgCL <sub>2</sub>                        | 40 | μg |
| MTT or NBT                               | 5  | g  |
| PMS                                      | 1  | g  |
| 0.2 M Tris-HCL, pH 8.0                   | 20 | ml |
| 2% Agar                                  | 20 | ml |



**Phosphoglucomutase (PGM)**

Glucose-1-phosphate (Na<sub>2</sub> salt)

NADP

MgCL<sub>2</sub>

MTT or NBT

PMS

G6PDH

0.2 M Tris-HCL, pH 8.0

2% Agar

EC 5.4.2.2

40 mg

5 mg

40 µg

5 mg

1 mg

3 unit

20 ml

20 ml

**Superoxide dismutase (SOD)**

MTT or NBT

PMS

0.2 M Tris-HCL, pH 8.0, 8.5

2% Agar

EC 1.15.1.1

5 mg

1 mg

20 ml

20 ml

Comments: Incubate gel slice exposed to light at room temp or 37°C

**Xanthine dehydrogenase (XDH)**

Hypoxanthin

NAD

MTT

PMS

0.2 M Tris-HCL, pH 8.0

2% Agar

EC 1.1.1.204

150 mg

10 mg

5 mg

1 ml

20 ml

20 ml



3. สูตรการคำนวณค่าทางพันธุกรรม

3.1 ความถี่ของอัลลีล (Allele frequency)

$$f(A) = \frac{2H_o + H_e}{2N}$$

โดย  $H_o$  = จำนวนของโฮโมไซโกต ที่มีอัลลีล A  
 $H_e$  = จำนวนของเฮเทอโรไซโกต ที่มีอัลลีล A  
 $N$  = จำนวนตัวอย่าง

3.2 การทดสอบสัดส่วนทางพันธุกรรมโดยวิธีไคสแควร์ (Chi-square goodness-of-fit test)

ตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

$$\chi^2 = \sum \frac{(Obs - Exp)^2}{Exp}$$

โดย 'Obs' = ความถี่ของยีนไทป์ที่ได้จากข้อมูลจริง (observed genotype frequencies)  
'Exp' = ความถี่ของยีนไทป์ที่ได้จากการคำนวณ (expected genotype frequencies)

3.3 สัดส่วนของโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก (polymorphic loci)

$$P = \frac{\text{จำนวนโลไซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก}}{\text{จำนวนโลไซที่ทำการศึกษาทั้งหมด}}$$

3.4 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี

A. ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากข้อมูลจริง (observed heterozygosity =  $H_o$ )

ที่โลกส์ใดๆ ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากข้อมูลจริง มีค่าเท่ากับ

$$H_o = \frac{\text{จำนวนของเฮเทอโรไซโกตแต่ละโลไซ}}{\text{จำนวนตัวอย่างในประชากร}}$$



และค่าเฉลี่ยของเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากข้อมูลจริง ( $H_o$  averaged over all loci =  $\bar{H}_o$ ) มีค่าเท่ากับ

$$\bar{H}_o = \frac{\sum H_o}{\text{จำนวนโลไซที่ทำการศึกษาทั้งหมด}}$$

B. ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคำนวณ (expected heterozygosity =  $H_e$ ) (Nei, 1978)

ที่โลกัสใดๆ ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคำนวณ มีค่าเท่ากับ

$$H_e = 1 - \sum x_i^2$$

โดย  $x_i$  = ความถี่ของ  $i$ th อัลลีล ที่โลกัสใดๆ

ค่าเฉลี่ยของเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคาดคะเน ( $H_e$  averaged over all loci =  $\bar{H}_e$ ) มีค่าเท่ากับ

$$\bar{H}_e = \frac{\sum H_e}{\text{จำนวนโลไซที่ทำการศึกษาทั้งหมด}}$$

3.5 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแตกต่างของยีน (F-statistics) (Hartl, 1988)

ภายในประชากร ( $F_{IS}$ )

$$F_{IS} = \frac{H_s - H_i}{H_s}$$

ระหว่างประชากร ( $F_{ST}$ )

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_s}{H_T}$$

โดย  $F_{IS}$  คือ ค่าที่วัดปริมาณเฮเทอโรไซโกซิตีที่ลดลงของแต่ละตัวอย่าง ภายในประชากรหนึ่ง

$F_{ST}$  คือ ค่าที่วัดปริมาณเฮเทอโรไซโกซิตีที่ลดลงของแต่ละประชากร ภายในประชากรทั้งหมด



4.  $H_I$  คือ ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากข้อมูลจริง ภายในประชากรหนึ่ง
- $H_S$  คือ ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคำนวณ ภายในประชากรหนึ่ง
- $H_T$  คือ ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการคำนวณ ภายในประชากรทั้งหมด

ทำการทดสอบนัยสำคัญ (significant) ของ  $F_S$  and  $F_{ST}$  โดยวิธีไคสแควร์ ของ Waples (1987)

การทดสอบค่า  $F_S$

$$\chi^2 = N(F_S)^2(k-1)$$

$$\text{d.f.} = (k(k-1))/2$$

โดย  $N$  = จำนวนตัวอย่าง

$k$  = จำนวนอัลลีลของแต่ละโลกัส

การทดสอบค่า  $F_{ST}$

$$\chi^2 = 2NF_{ST}(k-1)$$

$$\text{d.f.} = (k-1)(s-1)$$

โดย  $s$  = จำนวนประชากรที่เปรียบเทียบ

### 3.6 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance)

#### A. ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei (1972)

โดยทำการคำนวณค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic identity =  $I$ ) ก่อน

$$I = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{(\sum x_i^2 \sum y_i^2)}}$$

โดย  $x_i$  และ  $y_i$  คือ ความถี่ของอัลลีลที่  $i$ th ของประชากร X และ Y ตามลำดับ.



ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเฉลี่ยทุกโลไซ มีค่าเท่ากับ

$$\bar{I} = \frac{I_{xy}}{\sqrt{I_x I_y}}$$

โดย  $I_{xy}$ ,  $I_x$  และ  $I_y$  คือ ค่าเฉลี่ยทุกโลไซของ  $\sum x_i y_i$ ,  $\sum x_i^2$  and  $\sum y_i^2$  ตามลำดับ

ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance =  $D$ ) มีค่าเท่ากับ

$$D = -\ln \bar{I}$$

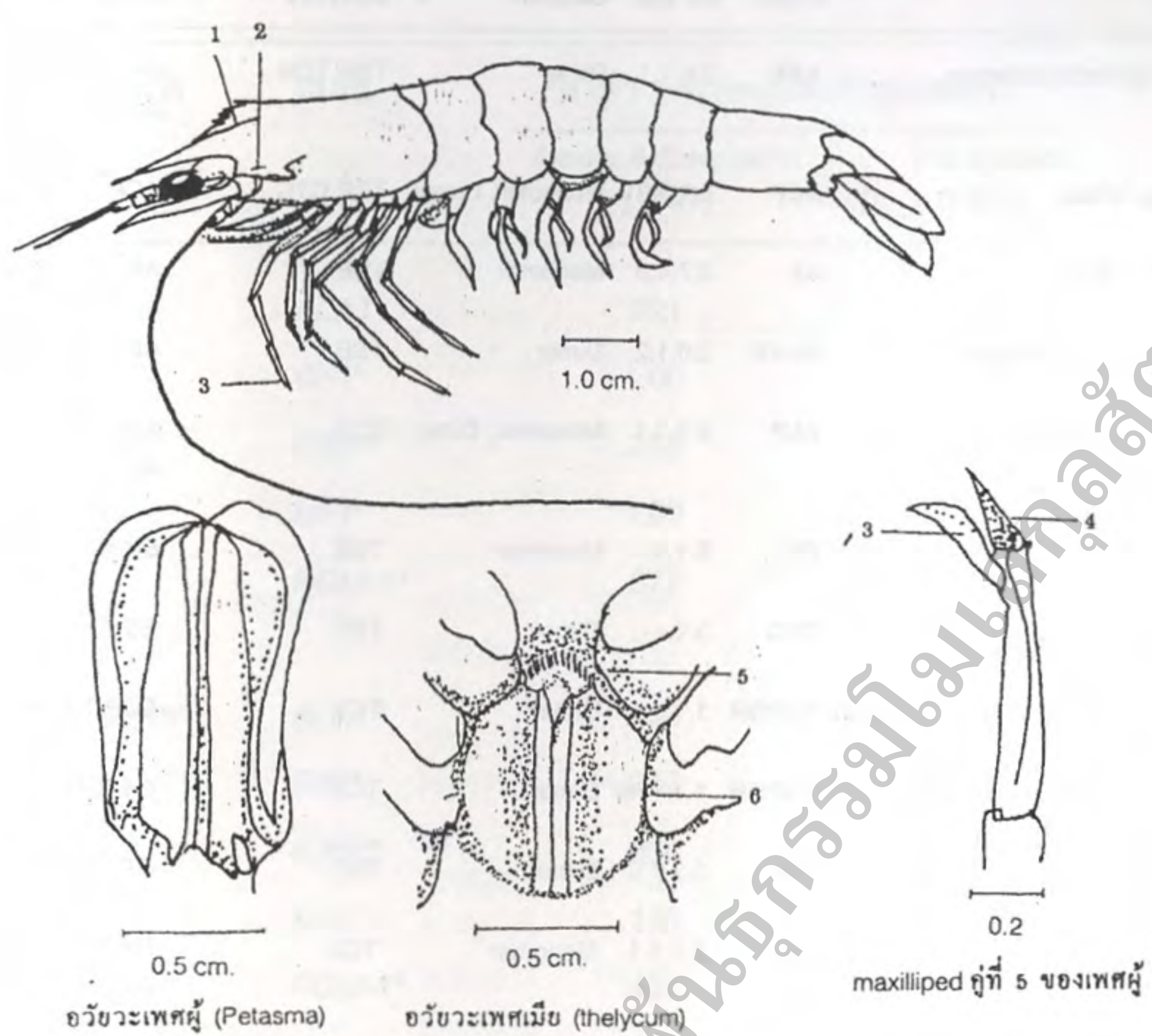
#### B. ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของ Rogers (1972)

$$D_R = (1/L) \sum \sqrt{\sum (x_i - y_i)^2 / 2}$$

โดย  $L$  = จำนวนโลไซที่ทำการศึกษาทั้งหมด



4. ลักษณะเด่นของกุ้งแชบ๊วย *P. merguiensis* (สมนึก, 2535)



1. สันข้างกรี (adrostral carina) ยาวไม่ถึงฟันกรรที่สุดท้าย
2. สันหลังหนามข้างแก้ม (gastro-orbital carina) ยาวประมาณ 1/3 ระหว่างหนามข้างแก้ม (hepatic spine) กับขอบหลังตา (orbital margin)
3. maxilliped คู่ที่ 3 ของเพศผู้ ปล้องสุดท้าย (dactylus) ยาวประมาณครึ่งหนึ่งของปล้องถัดลงมา (propodus)
4. กลุ่มขนตรงปลายปล้อง propodus ยาวเกินครึ่งหนึ่งของ dactylus
5. แผ่นบนของอวัยวะเพศเมีย (anterior plate of thelycum) เป็นรูปครึ่งวงกลม มีตึงเนื้อ (fleshy) เห็นชัดเจน
6. ขอบด้านข้างของแผ่นล่าง (margin of lateral plates or seminal receptacle) โค้ง



ตารางภาคผนวกที่ 1 เอนไซม์ subunit บัฟเฟอร์ และเนื้อเยื่อที่ตรวจพบ ในกุ้งแชบ๊วย

| เอนไซม์                                       | ตัวย่อ | EC No.   | Subunit         | บัฟเฟอร์ | โลกัส            | เนื้อเยื่อ     |
|-----------------------------------------------|--------|----------|-----------------|----------|------------------|----------------|
| Aspartate aminotransferase                    | AAT    | 2.6.1.1  | Dimer           | TBE,TCB  | AAT-1*<br>AAT-2* | PI,M<br>PI,M   |
| Acid phosphatase                              | ACP    | 3.1.3.2  | Monomer, Dimer  | TBE,CTC  | ACP*             | P              |
| Adenylate kinase                              | AK     | 2.7.4.3  | Monomer         | TBE      | AK*              | PI,M           |
| Alanine aminotransferase                      | ALAT   | 2.6.1.2  | Dimer           | TBE      | ALAT*            | PI,M           |
| Alkaline phosphatase                          | ALP    | 3.1.3.1  | Monomer, Dimer  | TCB      | ALP-1*<br>ALP-2* | P<br>P         |
| Esterase                                      | EST    | 3.1.1.-  | Monomer         | TBE      | EST*             | PI             |
| Esterase-D                                    | ESD    | 3.1.-.-  | Dimer           | TBE      | ESTD*            | PI             |
| Glyceral-3-phosphate dehydrogenase            | G3PDH  | 1.1.1.8  | Dimer           | TCE      | G3PDH*           | PI,M           |
| Glucose-6-phosphate dehydrogenase             | G6PDH  | 1.1.1.49 | Dimer           | TCE      | G6PDH*           | PI,M           |
| Glucose-6-phosphate isomerase                 | GPI    | 5.3.1.9  | Dimer           | TBE      | GPI*             | PI,M,P         |
| Hexokinase                                    | HK     | 2.7.1.1  | Monomer         | TCE      | HK-1*<br>HK-2*   | PI,M,P<br>PI   |
| Isocitrate dehydrogenase (NADP <sup>+</sup> ) | IDHP   | 1.1.1.42 | Dimer           | TCE,CTC  | IDHP*            | PI             |
| L-Lactate dehydrogenase                       | LDH    | 1.1.1.27 | Tetramer        | TCE      | LDH-1*<br>LDH-2* | PI<br>PI       |
| Malate dehydrogenase                          | MDH    | 1.1.1.37 | Dimer           | TCE      | MDH-1*<br>MDH-2* | PI,M<br>PI,M   |
| Mannose-6-phosphate isomerase                 | MPI    | 5.3.1.8  | Monomer         | TBE      | MPI*             | PI             |
| Phosphogluconate dehydrogenase                | PGDH   | 1.1.1.44 | Dimer           | TBE      | PGDH*            | PI,M,P         |
| Phosphoglucomutase                            | PGM    | 5.4.2.2  | Monomer         | TCE      | PGM-1*<br>PGM-2* | PI,M<br>PI,M   |
| Superoxide dismutase                          | SOD    | 1.15.1.1 | Dimer, Tetramer | TBE      | SOD-1*<br>SOD-2* | PI, M<br>PI, M |
| Xanthine dehydrogenase                        | XDH    | 1.2.3.2  | Monomer, Dimer  | TBE      | XDH*             | P              |

หมายเหตุ: EC No. = Enzyme Number

TBE = Tris-borate-EDTA, TCB = Tris-citrate-borate

TCE = Tris-citrate-EDTA; CTC = Continuous tris-citrate

M = muscle, P = hepatopancreas, PI = Pleopod



ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการตรวจสอบความสมดุลงของยีนไลโซที่เป็น  
โพลีมอร์ฟิค ในประชากรกุ่มแซบว้ย ตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

| ประชากร      | โลกัส  | ค่าความน่าจะเป็น (Probability) |                      |
|--------------|--------|--------------------------------|----------------------|
|              |        | Louis & Dempster<br>(1987)     | Vithayasai<br>(1973) |
| ชลบุรี       | ALAT*  | .721                           | .758                 |
|              | GPI*   | 1.00                           | 1.00                 |
|              | IDHP*  | .248                           | .721                 |
|              | MPI*   | 1.00                           | .193                 |
|              | PGM-1* | .877                           | .072                 |
| สุราษฎร์ธานี | ALAT*  | 1.00                           | 1.00                 |
|              | GPI*   | .047                           | .246                 |
|              | IDHP*  | .058                           | .552                 |
|              | MPI*   | .185                           | .674                 |
|              | PGM-1* | .432                           | .630                 |
| สตูล         | ALAT*  | 1.00                           | 1.00                 |
|              | GPI*   | .687                           | .350                 |
|              | IDHP*  | .061                           | .196                 |
|              | MPI*   | .433                           | 1.00                 |
|              | PGM-1* | .333                           | 1.00                 |

หมายเหตุ  $P > 0.05$  = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
 $P < 0.05$  = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น  
 95 เปอร์เซนต์



ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูลระหว่างคู่ของโลโซที่เป็นโพลีมอร์ฟิก ในประชากรกุ้งแชบ๊วย ทั้ง 3 แหล่ง

| ประชากร      | โลกัส 1 | & | โลกัส 2 | Probability | S.E.    |
|--------------|---------|---|---------|-------------|---------|
| ชลบุรี       | GPI*    | & | ALAT*   | 0.64452     | 0.01229 |
|              | IDHP*   | & | ALAT*   | 0.07436     | 0.00609 |
|              | IDHP*   | & | GPI*    | 0.56638     | 0.01442 |
|              | MPI*    | & | ALAT*   | 0.05154     | 0.00623 |
|              | MPI*    | & | GPI*    | 0.68300     | 0.01621 |
|              | MPI*    | & | IDHP*   | 0.11904     | 0.01421 |
|              | PGM-1*  | & | ALAT*   | 0.55856     | 0.01385 |
|              | PGM-1*  | & | GPI*    | 0.01018     | 0.00213 |
|              | PGM-1*  | & | IDHP*   | 0.73190     | 0.00650 |
|              | PGM-1*  | & | MPI*    | 0.37160     | 0.01223 |
| สุราษฎร์ธานี | GPI*    | & | ALAT*   | 0.41436     | 0.01282 |
|              | IDHP*   | & | ALAT*   | 0.59944     | 0.02094 |
|              | IDHP*   | & | GPI*    | 0.67140     | 0.02246 |
|              | MPI*    | & | ALAT*   | 0.21512     | 0.01608 |
|              | MPI*    | & | GPI*    | 0.16118     | 0.01667 |
|              | MPI*    | & | IDHP*   | 0.29834     | 0.02789 |
|              | PGM-1*  | & | ALAT*   | 0.64458     | 0.01531 |
|              | PGM-1*  | & | GPI*    | 0.00736     | 0.00526 |
|              | PGM-1*  | & | IDHP*   | 0.51580     | 0.03755 |
|              | PGM-1*  | & | MPI*    | 0.21860     | 0.02779 |
| สตูล         | GPI*    | & | ALAT*   | 0.39036     | 0.00810 |
|              | IDHP*   | & | ALAT*   | 0.77136     | 0.00420 |
|              | IDHP*   | & | GPI*    | 0.98136     | 0.00325 |
|              | MPI*    | & | ALAT*   | 0.71494     | 0.01307 |
|              | MPI*    | & | GPI*    | 0.24804     | 0.02090 |
|              | MPI*    | & | IDHP*   | 0.38336     | 0.02579 |
|              | PGM-1*  | & | ALAT*   | 0.42692     | 0.01167 |
|              | PGM-1*  | & | GPI*    | 0.89958     | 0.00958 |
|              | PGM-1*  | & | IDHP*   | 0.69594     | 0.01841 |
|              | PGM-1*  | & | MPI*    | 0.44318     | 0.02953 |

หมายเหตุ

$P > 0.05$  = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

$P < 0.05$  = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

$P < 0.01$  = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์



ตารางภาคผนวกที่ 4 คุณภาพน้ำในบริเวณที่เก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย

| คุณภาพน้ำ      | ประชากร          |                   |                  |
|----------------|------------------|-------------------|------------------|
|                | ชลบุรี           | สุราษฎร์ธานี      | สตูล             |
| อุณหภูมิ (°ซ)  | 29.7 (26-33)     | 30.4 (28.2-31.4)) | 29.2 (27.6-30.8) |
| ความเค็ม(ppt.) | 23.5 (17.0-29.9) | 31.5 (28.2-34)    | 31.0 (27-35)     |
| pH             | 7.6 (6.7-8.3)    | 8.4 (7.8-8.9)     | 8.2 (7.7-8.7)    |
| DO (มก./ล.)    | 7.5 (2.8-12.6)   | 7.5 (5-9)         | 6.5 (6-7)        |

หมายเหตุ ข้อมูลจากกลุ่มสิ่งแวดล้อมทางการประมง กองประมงทะเล (2541), จรัญ และ คณะ (2538) และ สุวิช และ ธรรมศักดิ์ (2533)