

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑๐/๒๕๕๒



Technical Paper No. 10/2009

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรในปูม้าจาก
แหล่งธรรมชาติของไทย โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์และการเปรียบเทียบ
ลักษณะการเจริญเติบโต

Genetic Diversity and Inter-Populations Difference in the Blue Swimming Crab,
Portunus pelagicus (LINNAEUS, 1758), from Natural Sources of Thailand,
Using Microsatellite Technique and Growth Performance Comparison

พนม กระจำพจน์ สอดสุข

Panom K. Sodsuk

ศรียรัตน์ สอดสุข

Srirat Sodsuk

ธัญญ์ สังกรธนกิจ

Thanan Sangkonthanakit

พลชาติ ผิวเณร

Ponlachart Pewnane

ภูวนัย ชัยศรี

Phuwanai Chaisri

สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ

Aquatic Animal Genetics Research and

Development Institute

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperatives

	หน้า
บทคัดย่อ.....	1
Abstract.....	2
คำนำ.....	3
วัตถุประสงค์.....	4
วิธีดำเนินการ.....	4
1. การศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์.....	4
1.1 แหล่ง การเก็บรวบรวม และการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษา.....	4
1.2 การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอ.....	5
1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์.....	6
1.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	6
1.4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม.....	6
1.4.2 การวิเคราะห์ความแตกต่างและความสัมพันธ์ระหว่างประชากร.....	6
(ก) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity และการวิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม.....	6
(ข) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยการวิเคราะห์ AMOVA (Analysis of MOlecular VAriance).....	7
2. การศึกษาโดยการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต.....	7
2.1 แหล่ง และการรวบรวมปูม้าที่ใช้ในการศึกษา.....	7
2.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บข้อมูล.....	8
2.3 ข้อมูลการเจริญเติบโต และข้อมูลอื่น ๆ ที่สมควรได้รับการวิเคราะห์ความแตกต่าง...	8
2.4 การวิเคราะห์ความแตกต่าง.....	9
ผลการศึกษาและวิจารณ์.....	9
1. ผลการศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์.....	9
1.1 ความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม.....	9
1.2 ความแตกต่างระหว่างประชากร.....	10
1.3 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร.....	12
2. ผลการศึกษาโดยการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต.....	13
สรุปผลการศึกษาและประโยชน์ที่ได้รับ.....	15
กิตติกรรมประกาศ.....	16
เอกสารอ้างอิง.....	17

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรในปมำจากแหล่ง ธรรมชาติของไทย โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์และการเปรียบเทียบ ลักษณะการเจริญเติบโต

พนม กระจำพจน์ สอดสุข* ศรีรัตน์ สอดสุข ธัญญ์ สักรณกิจ พลชาติ ผิวเณร และ ภูวนัย ชัยศรี
สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรในปมำจากแหล่งธรรมชาติของไทย ได้ถูกดำเนินการโดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์ และการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต โดยมีเป้าหมายเพื่อให้ได้ผลวิจัยที่มีความสมบูรณ์ด้วยข้อมูลที่ระบุคุณภาพและศักยภาพของสายพันธุ์ และข้อมูลเพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ปมำในแต่ละพื้นที่

ผลการศึกษาจากการใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์ ได้แก่ (1) ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมในรูปของค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่าง ๆ ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ปมำ เพราะสามารถใช้ระบุคุณภาพ/ศักยภาพทางพันธุกรรมของประชากรปมำที่จะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ (2) ความแตกต่างระหว่างประชากร ซึ่งระบุว่า ประชากรปมำของไทยที่อยู่ต่างฝั่งทะเลกันมีความแตกต่างทางพันธุกรรมแยกจากกันเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มฝั่งอ่าวไทย และกลุ่มฝั่งอันดามัน โดยประชากรที่อยู่ในกลุ่มฝั่งเดียวกันมีพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันหรือไม่แตกต่างกัน แต่จะมีพันธุกรรมแตกต่างจากประชากรนอกกลุ่มที่อยู่ห่างออกไป ส่วนผลการศึกษาจากการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต (ซึ่งดำเนินการในเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี) ระบุว่า ประชากรปมำจากอ่าวไทย 3 แหล่ง (ตราด เพชรบุรี และ นครศรีธรรมราช ซึ่งมีพันธุกรรมไม่แตกต่างกัน) มีการเจริญเติบโตโดยค่า G และ SGR (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ทั้ง 3 แหล่งมีค่า G และ SGR สูงกว่าประชากรจากกระบีซึ่งอยู่ในฝั่งอันดามันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลที่ได้นี้ นอกจากจะสนับสนุนและยืนยันผลการศึกษาความแตกต่างระหว่างประชากร โดยข้อมูลพันธุกรรมที่ผ่านมาแล้ว ยังแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ในพื้นที่ (พื้นที่ดำเนินการ/ฝั่งอ่าวไทย) มีการเจริญเติบโตดีกว่าสายพันธุ์ที่มาจากต่างพื้นที่หรือต่างถิ่น (กระบี/ฝั่งอันดามัน) ซึ่งสอดคล้องและเป็นไปตามทฤษฎีเรื่องอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกซึ่งลักษณะของสายพันธุ์ หรือคุณลักษณะของสายพันธุ์ที่ถูกปรับตามธรรมชาติให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของท้องถิ่นนั้น ผลการศึกษาที่ได้นี้ มีประโยชน์และสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้สายพันธุ์ปมำที่ถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ 2 ฝั่งทะเลของไทย

คำสำคัญ: ปมำ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความแตกต่างระหว่างประชากร ไมโครแซทเทลไลต์
ลักษณะการเจริญเติบโต

* สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ ๓๘ หมู่ ๑ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐. โทร ๐๒ ๕๓๗ ๖๕๔๔

Genetic Diversity and Inter-Populations Difference in the Blue Swimming Crab, *Portunus pelagicus* (LINNAEUS, 1758), from Natural Sources of Thailand, Using Microsatellite Technique and Growth Performance Comparison

Panom K. Sodsuk* Srirat Sodsuk Thanan Sangkonthanakit Ponlachart Pewnane and Puwanai Chaisri

Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute, Department of Fisheries

Abstract

Genetic diversity and inter-populations difference in the blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (LINNAEUS, 1758), from natural sources of Thailand were studied using microsatellite technique and growth performance comparison. The study goal was to receive complete results of informative data identifying the population genetic quality and potentiality, and the data for selecting the blue swimming crab populations/stocks to be used in aquaculture rightly or most suitably in each area.

The results from using microsatellite technique are : (1) the data of genetic diversity or variation as a number of genetic variabilities being useful to the aquaculture and genetic improvement, being identifiable of genetic quality and potentiality of the crab broodstock, and (2) the inter-populations difference inferring genetic divergence between the Gulf of Thailand and the Andaman Sea populations as two big groups, populations in the same side showing no differences or having close relationships to each other, while big differences being shown between populations in the two different sides. The results from growth performance comparison (having been carried out in Phetchaburi area) suggested, by G and SGR values, that there were no significant differences ($p > 0.05$) among three Gulf of Thailand populations (Trad, Phetchaburi and Nakhon Si Thammarat), but these three populations had higher values of G and SGR significantly ($p < 0.05$) than those of the Krabi population in the Andaman side. These growth performance results not only supported and confirmed the inter-populations difference previously resulting by microsatellite genetic data, but also showed that the local Phetchaburi (or Gulf of Thailand populations/stocks) performed better growth than that performed by the alien Krabi (or the Andaman populations/stocks), following theoretically the knowledge of 'locally adapted stocks/genotypes'. The obtained results are advantageous and important to the blue swimming crab aquaculture and further genetic improvement, particularly for selecting the right or most suitable populations/stocks to be used in the two sea-side areas of Thailand.

Key words: *Portunus pelagicus*, genetic diversity, inter-populations difference, microsatellite, growth performance

* Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute, 39 Moo 1, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani 12120.
Tel. 02 577 6544, email: panomks@yahoo.com

คำนำ

ปูม้า หรือ blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (LINNAEUS, 1758) (สุเมธ, 2527; พนม และศรีรัตน์, 2550; Suvatti, 1950) เป็นสัตว์น้ำชายฝั่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของไทย นอกจากเป็นที่นิยมบริโภคของคนในประเทศแล้ว ยังเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศอีกด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรูปเนื้อปูต้มแกะแล้ว ทั้งแช่แข็ง และบรรจุเป็นอาหารกระป๋องเพื่อส่งออก ส่งผลให้ปริมาณปูม้าในท้องทะเลไทยในปัจจุบันลดลงเป็นอย่างมาก การเพาะเลี้ยงปูม้าจึงจำเป็นต้องเข้ามามีบทบาทในการเพิ่มผลผลิต เพื่อทดแทนผลผลิตจากทะเลที่ถูกจับขึ้นมาทุกวัน ปัจจุบันสถานภาพด้านราคาของปูม้าเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นอย่างชัดเจน การเพาะเลี้ยงปูม้าในเชิงพาณิชย์จึงได้รับความสนใจอย่างมากจากทั้งภาครัฐและเอกชน (วารินทร์ และคณะ, 2548)

ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไปสู่ระดับอุตสาหกรรมนั้น การบริหารจัดการด้านพันธุกรรมของประชากรหรือสายพันธุ์ที่จะใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ (brood-stock management) เป็นกิจกรรมที่ต้องให้ความสนใจและสมควรดำเนินการ ซึ่งตามหลักวิชาการควรเริ่มต้นด้วยการคัดเลือกประชากรหรือสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติทางพันธุกรรมที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงในแต่ละพื้นที่โดยเฉพาะ โดยคุณสมบัติดังกล่าวควรจะต้องมีความสมบูรณ์ด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม 2 ด้านควบคู่กันไปเสมอ ได้แก่ ข้อมูลด้านความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic diversity or variation) และข้อมูลด้านการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นลักษณะเชิงเพาะเลี้ยง (aquacultural trait) ที่สำคัญ และอาจมีการแสดงออก (performance) ในสภาพแวดล้อมของแต่ละพื้นที่แตกต่างกันในแต่ละประชากร ข้อมูลทั้ง 2 ด้านดังกล่าว สามารถนำไปสู่การวิเคราะห์และยืนยันความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาที่ยั่งยืน

การตรวจวัดปริมาณความหลากหลายทางพันธุกรรม ตลอดจนการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร สามารถดำเนินการได้โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพระดับโมเลกุล (molecular biotechnology) ในเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) ซึ่งมีหลากหลายรูปแบบ เครื่องหมายพันธุกรรมโมเลกุล (molecular marker) รูปแบบหนึ่งภายใต้การดำเนินงานโดยเทคโนโลยีระดับดีเอ็นเอ (DNA technology) ในชื่อที่เรียกว่า ‘ไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite)’ เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมโมเลกุลที่ได้รับการยอมรับมานานแล้วว่า มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการศึกษาด้านพันธุศาสตร์สัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจวิเคราะห์ความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรม (พนม และคณะ, 2548; Zhu *et al.*, 2006) ด้วยเพราะเทคนิคนี้สามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้ที่หลายโลไซที่มีความหลากหลายของยีนอัลลีลสูง (Queller *et al.*, 1993) ประกอบกับ พนม และคณะ (2552) ได้ทำการพัฒนาและรายงานไพรเมอร์ (primer) เพื่อใช้สำหรับการศึกษาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ในปูม้าไว้แล้ว จำนวน 11 คู่ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการศึกษาวิเคราะห์เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าในครั้งนี้ได้เป็นอย่างดี

ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จึงสมควรทำการศึกษาวิจัยเพื่อประเมินคุณสมบัติทางพันธุกรรมของพันธุ์ปูม้าจากแหล่งธรรมชาติพร้อมกับวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร ด้วยข้อมูลที่ระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมควบคู่ไปกับข้อมูลด้านลักษณะการเจริญเติบโตที่แสดงออกต่อการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น ภายใต้หัวข้อวิจัยเรื่อง “ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรในปูม้าจากแหล่งธรรมชาติของไทย โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์และการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต” เพื่อให้ได้ผลวิจัยที่มีความสมบูรณ์ของข้อมูลที่ระบุคุณภาพและศักยภาพของสายพันธุ์ ซึ่งจะถูกนำไปใช้เพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ปูม้าในพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้ง 2 ฝั่งของไทย ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้าจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ 2 ฝั่งทะเลของไทย ภายใต้การศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์
2. เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรปูม้าจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ 2 ฝั่งทะเลของไทย ภายใต้การศึกษาโดยการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตที่แสดงออกต่อการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น

วิธีดำเนินการ

1. การศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์

1.1 แหล่ง การเก็บรวบรวม และการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษา

แหล่งหรือจุดเก็บตัวอย่างกำหนดจากแหล่งแพร่กระจายของปูม้า โดยได้เก็บรวบรวมตัวอย่าง (จากเรือประมงพื้นบ้านขนาดเล็ก) ในแหล่ง (sources) หรือจุดเก็บตัวอย่างใน 4 ขอบเขตพื้นที่หลัก (regions) ของพื้นที่ชายฝั่งทะเลทั้งหมดทั่วประเทศ ได้แก่ (1) อ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก (เพชรบุรี/สมุทรสงคราม/สมุทรสาคร ชลบุรี/เกาะสีชัง ระยอง และตราด) (2) อ่าวไทยตอนกลาง (ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี/อ.สีชลของ จ.นครศรีธรรมราช) (3) อ่าวไทยตอนล่าง (อ.ระโนดของ จ.สงขลา ซึ่งติดกับ จ.นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) และ (4) ฝั่งทะเลอันดามัน (ระนอง กระบี่/ภูเก็ต และสตูล) (ภาพที่ 1) (จำนวนตัวอย่างในแต่ละแหล่งแสดงใน ตารางที่ 1)

นำตัวอย่างปูที่เก็บรวบรวมได้มาตัดขาแล้วแกะเอาส่วนเนื้อมาแช่ใน extraction buffer ที่ไม่มี SDS เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการสกัดดีเอ็นเอต่อไป



ภาพที่ 1 แสดงแหล่งหรือจุดเก็บตัวอย่างปูม้าในการศึกษาครั้งนี้

1.2 การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอ

ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอด้วยการบดเนื้อเยื่อที่แช่ใน extraction buffer ให้ละเอียด เติม SDS แล้ว สกัดดีเอ็นเอตามขั้นตอนด้วยวิธี phenol extraction เมื่อสกัดดีเอ็นเอได้แล้ว จะต้องตรวจสอบคุณภาพโดย การทำ electrophoresis บน agarose gel เข้มข้น 0.8 % ซึ่งถ้าได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดีจะเห็นแถบที่คมชัด ภายใตแสง UV และมีขนาดโมเลกุลใหญ่ เคลื่อนที่ได้ไม่ไกลนัก ต่อจากนั้นทำการวัดปริมาณดีเอ็นเอโดยวัด ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีเอ็นเอที่เจือจางแล้ว โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ดีเอ็นเอจะดูดกลืน แสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 260 nm ส่วนโปรตีนจะดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 280 nm ในการวัดการ ดูดกลืนแสงจะวัดที่ความยาวคลื่นทั้ง 2 ค่านี้แล้วนำมาเปรียบเทียบกัน โดยสารละลายดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์จะมี อัตราส่วนระหว่าง OD_{260}/OD_{280} ประมาณ 1.7 - 1.8 ถ้าค่ามากกว่านี้แสดงว่าอาจมีอาร์เอ็นเอ (RNA) เจือปนอยู่ แต่ถ้าต่ำกว่านี้ก็แสดงว่าอาจมีโปรตีนเจือปนอยู่ ส่วนค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอสามารถหาได้จาก “สารละลาย ดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ จะดูดกลืนแสงที่ 260 nm ได้ค่าเท่ากับ 1” เนื่องจากดีเอ็นเอที่ความเข้มข้น 1 mg/ml มีค่า OD_{260} เป็น 20 (สุรินทร์, 2543)

1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์

นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เตรียมไว้แล้วมาเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์ไพรเมอร์ (microsatellite primers) จำนวน 4 คู่ (DOFBSC3, DOFBSC19/DOFBSC27, DOFBSC23 และ DOFMC8) จากทั้งหมด 11 คู่ ซึ่ง พนม และคณะ (2552) ได้พัฒนาขึ้นมาเพื่อไว้ใช้สำหรับการศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมในปูม้าโดยเฉพาะ หลังจากผ่านขั้นตอนพีซีอาร์แล้วจึงนำผลผลิต (PCR product) ที่ได้ มาแยกขนาดดีเอ็นเอที่สนใจด้วยวิธี denaturing polyacrylamide sequencing gel electrophoresis โดยทำการ run ประมาณ 2½ - 3 ชั่วโมง ภายใต้กำลังไฟฟ้าคงที่ 40 วัตต์ แล้วจึงนำเจลมาย้อมด้วยวิธี silver stain และวิเคราะห์ผล

1.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

1.4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลความผันแปรและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ได้แก่ ค่า Na (averaged number of alleles), Ne (effective number of alleles) และ Ho & He (observed & expected heterozygosities) โดยใช้โปรแกรม POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) และค่า R (allelic richness) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 1.2 (Goudet, 1995) ทั้งนี้ รูปแบบพันธุกรรม heterozygous และ homozygous genotypes ของแต่ละโลกัสที่ตรวจพบในแต่ละประชากร จะถูกทดสอบตามทฤษฎีสถิตฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium hypothesis) เพื่อแสดงว่าตัวอย่างที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวแทนในแต่ละประชากรนั้นมาจากประชากรเดียวกันที่มีขนาดใหญ่และมีการผสมพันธุ์โดยสุ่ม (single and large random mating or panmictic populations) และสามารถใช้อย่างเหล่านั้นเป็นตัวแทนของแต่ละประชากรได้อย่างถูกต้อง (Richardson *et al.*, 1986) การทดสอบทฤษฎีสถิตฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กดำเนินการโดยใช้ chi-square goodness-of-fit test ที่มีการแก้ไข (Yates correction) สำหรับข้อมูลที่มาจากการตัวอย่างจำนวนน้อย (small sample size) ตามวิธีของ Siegel (1956)

1.4.2 การวิเคราะห์ความแตกต่างและความสัมพันธ์ระหว่างประชากร

(ก) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity และการวิเคราะห์โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยวิธี contingency chi-square analyses of the heterogeneity (Workman and Niswander, 1970) ดำเนินการเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกทำการวิเคราะห์ความแตกต่างให้ทราบก่อนว่ามีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างภายในขอบเขตพื้นที่ใดหรือไม่ ถ้ามี ($p < 0.05$) ก็ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างทุกคู่ในขอบเขตพื้นที่นั้นเพื่อให้ทราบว่าแหล่งใดบ้างที่แตกต่าง หลังจากนั้นจึงรวมแหล่งตัวอย่างที่ไม่ต่างกันเข้าด้วยกันภายในแต่ละขอบเขตพื้นที่นั้น ๆ แล้วใช้เป็นตัวแทนรวมของแต่ละขอบเขตพื้นที่สำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างในขั้นตอนต่อไป คือ ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ในภาพรวม (พนม และศรีรัตน์, 2550)

การวิเคราะห์ลักษณะรูปแบบโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หรือ dendrogram ดำเนินการด้วยวิธีภายใต้เทคนิค Cluster analysis ของ Sneath and Sokal (1973) วิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมากที่สุด ได้แก่ WPGMA (Weighted Pair-Group Method with Arithmetic averaging) (Swofford and Selander, 1989) โดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน (standard genetic distance, D) ที่ได้จากการคำนวณตามวิธีของ Nei (1978) เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะรูปแบบโครงสร้างด้วยวิธีดังกล่าว

การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในส่วนนี้ (ส่วน ก) ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่มีชื่อว่า BIOSYS-1 release 1.7 (Swofford and Selander, 1989)

(ข) การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยการวิเคราะห์ AMOVA (Analysis of MOlecular VAriance)

ดำเนินการโดยวิเคราะห์ค่า Variance components และ Fixation indices หรือ F-statistics แล้วทำการทดสอบค่าดังกล่าว (วิเคราะห์ค่า p) เพื่อตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ (among groups/regions) และความแตกต่างระหว่างแหล่ง/ประชากรในแต่ละขอบเขตพื้นที่ (among populations/sources within groups/regions) ซึ่งถ้าการวิเคราะห์ดังกล่าวแสดงผลว่ามีนัยสำคัญ (significant) ในความแตกต่าง ก็จะทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกคู่ประชากร ทั้งนี้ ค่า p ที่ใช้สำหรับการทดสอบค่า F-statistics ทุกการทดสอบ จะพิจารณาว่าแสดงนัยสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% ก็ต่อเมื่อค่า p ต่ำกว่า 0.02 ไม่ใช่ต่ำกว่า 0.05 (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006)

การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในส่วนนี้ (ส่วน ข) ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่มีชื่อว่า Arlequin ver 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006)

2. การศึกษาโดยการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต

2.1 แหล่ง และการรวบรวมปูม้าที่ใช้ในการศึกษา

เนื่องจากลักษณะของการศึกษาใน ข้อ 2 นี้ เป็นการเพาะเลี้ยงปูม้าจากแหล่งธรรมชาติต่าง ๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตมาเปรียบเทียบกัน จึงเป็นไปได้ที่จะดำเนินการกับปูม้าให้ได้หลากหลายแหล่งเหมือนกับการศึกษาใน ข้อ 1 ดังนั้น จึงได้กำหนดแหล่งหรือจุดรวบรวมปูม้าสำหรับการศึกษาในส่วนนี้จาก 4 จังหวัด ใน 4 ขอบเขตพื้นที่ ได้แก่ ตราด (อ่าวไทยฝั่งตะวันออก) เพชรบุรี (อ่าวไทยตอนบน) นครศรีธรรมราช (ระหว่างอ่าวไทยตอนกลางกับอ่าวไทยตอนล่าง) และกระบี่ (อันดามัน)

รวบรวมปูม้าเพศเมียที่มีไข่แก่นอกกระดอง จากบริเวณพื้นที่ใน 4 จุด/แหล่ง ดังกล่าวข้างต้นจำนวนแหล่งละ 30-40 ตัว แล้วนำมายังศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรีเพื่อทำการเพาะเลี้ยงและเก็บข้อมูล ต่อไป

2.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บข้อมูล

ทำการเพาะพันธุ์ปูม้าไข่แก่ที่เก็บรวบรวมได้ โดยนำแม่ปูมาใส่ตะกร้าขนาด 20 x 28 x 17 ลบ.ซม. ตะกร้าละ 1 ตัว ตะกร้าผูกติดกันเป็นแพอยู่ในบ่อดิน ใช้บ่อดิน 1 บ่อ ต่อแม่ปูจาก 1 แหล่ง/ประชากร บ่อดินที่ใช้ได้ปล่อยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยไว้ด้วย เพื่อจะได้ลูกอาร์ทีเมีย (Instar 1) สำหรับเป็นอาหารของลูกปูวัยอ่อนที่กำลังจะเกิดขึ้น ขั้นตอนการเพาะพันธุ์และอนุบาลลูกปูม้าในช่วงแรกซึ่งดำเนินการในบ่อดิน ปฏิบัติตามวิธีการของ ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรี (2546) ที่ได้รายงานไว้ หลังจากนั้นประมาณ 15 วัน จึงรวบรวมลูกปูจากบ่อดินมาอนุบาลต่อในถังไฟเบอร์สีเหลี่ยมขนาด 70 x 150 x 80 ลบ.ซม. โดยใส่ท่อพีวีซีตัดเป็นท่อน ๆ และเศษอวน เพื่อเป็นที่หลบซ่อนให้กับลูกปู อนุบาลลูกปูในช่วงนี้โดยให้กินปลาเป็ดบดละเอียดเป็นเวลาประมาณ 45 วัน (ขนาดกระดองกว้างประมาณ 4 ซม. น้ำหนักประมาณ 9-10 กรัม) จึงเริ่มทำการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบ โดยนำลูกปูที่ได้ (แหล่งละ 20-30 ตัว) ไปเลี้ยงในตะกร้าขนาด 20 x 28 x 17 ลบ.ซม. ตะกร้าละ 1 ตัว ผูกติดกันเป็นแพ 4 ชุด (แหล่ง/ประชากร) อยู่ในบ่อเดียวกัน ให้อาหารปลาเป็ดสับเข้า เช่น ระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในช่วงประมาณ 5 เดือน เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนัก (กรัม) ปูแต่ละตัว ทุกครั้งที่มีการลอกคราบ (เนื่องจากโดยธรรมชาติของปูจะมีการลอกคราบเพื่อเจริญเติบโต ดังนั้นการเก็บข้อมูลน้ำหนักของปูในแต่ละครั้งจะกระทำเมื่อปูลอกคราบไปแล้ว)

2.3 ข้อมูลการเจริญเติบโต และข้อมูลอื่น ๆ ที่สมควรได้รับการวิเคราะห์ความแตกต่าง

ด้วยเหตุที่การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของปูต้องขึ้นกับการลอกคราบแต่ละครั้ง แต่ปรากฏว่าการลอกคราบของปูแต่ละตัวในแต่ละครั้งไม่พร้อมกัน และอาจแตกต่างกันมากในแต่ละตัว ทำให้จำนวนการลอกคราบของปูแต่ละตัวในช่วงระยะเวลาที่กำหนดอาจไม่เท่ากัน และมีผลให้ช่วงระยะเวลาในการเก็บข้อมูลของปูแต่ละตัวไม่เท่ากันตามไปด้วย ดังนั้น นอกจากข้อมูลการเจริญเติบโตโดยรวมถึงน้ำหนักเริ่มต้นด้วยแล้ว ข้อมูลอื่น ๆ ที่สมควรได้รับการวิเคราะห์ความแตกต่างพร้อมกันไปด้วย ได้แก่ ระยะเวลาการเลี้ยง หรือจำนวนวันทั้งหมดที่ใช้ในการเก็บข้อมูล จำนวนครั้งของการลอกคราบ และระยะเวลาหรือจำนวนวันที่ใช้ในการลอกคราบแต่ละครั้ง ทั้งนี้เพื่อให้ทราบว่าข้อมูลเหล่านี้โดยรวมแล้วจะมีความแตกต่างระหว่างประชากรแต่ละแหล่งหรือไม่ ซึ่งจะช่วยให้สามารถพิจารณาได้ว่าข้อมูลเหล่านี้จะมีผลต่อการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบครั้งนี้หรือไม่เพียงใด

ในการทดลองครั้งนี้ นอกจากจะมีปัญหาในเรื่องของระยะเวลาการเลี้ยงหรือระยะเวลาในการเก็บข้อมูลดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของขนาดเริ่มต้นของปูที่ใช้เลี้ยงเปรียบเทียบที่อาจมีขนาดไม่เท่ากัน เพราะในทางปฏิบัติไม่สามารถรวบรวมแม่ปูไข่นอกกระดอง ตลอดจนกำหนดช่วงเวลาการเพาะพันธุ์และอนุบาลลูกปูให้พร้อมกันได้ในทุกประชากร มีผลให้ขนาดเริ่มต้นของปูที่ใช้ทดลองอาจไม่เป็นไปตามที่กำหนดไว้และไม่เท่ากันทุกตัว และด้วยข้อจำกัดเหล่านี้ รวมทั้งการทดลองที่เป็นการเลี้ยงสัตว์น้ำในขณะที่ยังมีขนาดเล็กในช่วงระยะเวลาที่ไม่ยาวนานมากนัก จึงสมควรใช้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ หรือ **Instantaneous** หรือ **Specific Growth Rate** หรือ ค่า **G** สำหรับแสดงข้อมูลหรือวัดการเจริญเติบโต (Chugunova, 1963; Ricker, 1979; Hopkins, 1992) ($G = [\ln(w_t) - \ln(w_i)]/t$, $\ln(w_t)$ คือ natural logarithm

ของน้ำหนัก w_t ที่เวลา t และ $\ln(w_t)$ คือ natural logarithm ของน้ำหนักเริ่มต้น w_i ; Hopkins, 1992) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสัตว์น้ำก็ได้รับการยอมรับและนิยามวัดในรูปของ %/วัน หรือที่เรียกว่า SGR ($SGR = G \times 100$) ด้วยเช่นกัน ถึงแม้จะมีข้อโต้แย้งว่าไม่ถูกต้องนักและแนะนำให้ใช้ค่า G แทนก็ตาม (Hopkins, 1992) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองครั้งนี้จะได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างของการเจริญเติบโตระหว่างประชากรปูม้า ทั้งโดยค่า G และ SGR

2.4 การวิเคราะห์ความแตกต่าง

ดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างทางสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับข้อมูลจำแนกทางเดียว (One-way Analysis of Variance) และถ้าผลการวิเคราะห์แสดงนัยสำคัญว่ามีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างประชากร ($p < 0.05$) จึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังกล่าวเป็นคู่ ๆ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (จรัญ, 2540) การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในส่วนนี้ ดำเนินการ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่มีชื่อว่า SPSS (SPSS Inc., 1999)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์

1.1 ความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม

จากการศึกษาด้วยเทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลต์ในประชากรปูม้าจากแหล่งต่าง ๆ ของไทย ทำให้ได้ข้อมูลความหลากหลายหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรมในรูปของค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่าง ๆ (Na, Ne, R, Ho และ He) ตามที่แสดงใน ตารางที่ 1 ค่าที่ได้เหล่านี้ เมื่อเทียบเคียงกับค่าที่ปรากฏในปูทะเล 4 ชนิด ซึ่งอยู่ในครอบครัว Portunidae เหมือนกับปูม้า และได้ทำการศึกษาในช่วงเวลาขอบเขตพื้นที่ และวิธีการเดียวกัน (พนม และคณะ, 2552) ปรากฏว่า ค่าในปูม้าอยู่ในระดับที่สูงกว่าในปูทะเล (ค่า Na, Ne, R, Ho และ He ในปูทะเลมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 2.50 – 5.17, 1.60 – 3.60, 2.10 – 4.43, 0.27 – 0.69 และ 0.26 – 0.68 ตามลำดับ; พนม และคณะ, 2552) ซึ่งก็เป็นผลเนื่องมาจากจำนวนชนิดของปูทะเลที่มีถึง 4 ชนิด จำนวนยีน/อัลลีลที่หลากหลาย (variable alleles) จึงกระจายตัวกันออกไปอยู่ในปูแต่ละชนิดแทนที่จะกระจุกตัวอยู่ในชนิดเดียวเหมือนในปูม้า อย่างไรก็ตาม ถ้าจะกล่าวในเชิงของความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) สามารถกล่าวได้ว่า ปูม้ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) สูงกว่าปูทะเล ในขณะที่ปูทะเลมีความหลากหลายของชนิด (species diversity) มากกว่าปูม้า

เป็นที่ทราบดีว่าความแปรปรวนหรือความหลากหลายทางพันธุกรรม เป็นแหล่งทรัพยากรพื้นฐานทางพันธุกรรม (basic genetic resource) ที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อกิจการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำ ซึ่งจะประสบผลสำเร็จหรือไม่เพียงใดขึ้นกับแหล่งทรัพยากรนี้เป็นสำคัญ และด้วยเหตุที่การคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์สามารถทำให้องค์ประกอบพันธุกรรมของประชากรพื้นฐาน (base population) เปลี่ยนไป โดยจะมีปริมาณลดลงทุกครั้งที่มีการเพาะพันธุ์แต่ละรุ่น (Allendorf and Ryman, 1987) การดำเนินงานจึงจำเป็นต้องเริ่มต้น

จากประชากรพื้นฐาน หรือประชากรพ่อแม่พันธุ์ (broodstock) เริ่มต้น ที่มีปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงพอควร ซึ่งอย่างน้อยที่สุดไม่ควรจะต่ำกว่า หรืออยู่ในระดับเดียวกับค่าที่ปรากฏในประชากรธรรมชาติ (พนม และคณะ, 2548) ดังนั้นค่าที่ปรากฏใน ตารางที่ 1 ซึ่งได้จากการศึกษาวิเคราะห์ในประชากรธรรมชาติทั้งสิ้น จึงมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อกิจการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ปูม้าในอนาคต เพราะสามารถใช้เป็นบรรทัดฐานเพื่อระบุว่าประชากรปูม้าจะมีคุณภาพหรือศักยภาพทางพันธุกรรมเหมาะสมหรือไม่ ถ้าจะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าความผันแปรทางพันธุกรรมต่าง ๆ ของปูม้าจากแหล่งตัวอย่างทั้งหมดที่ศึกษา

แหล่งตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	Na	Ne	R	Ho	He
ตราด	30	15.2500	10.7528	10.7848	0.8482	0.8649
ระยอง	35	13.2500	9.2698	10.3180	0.8280	0.8579
ชลบุรี	15	11.2500	8.2743	11.2500	0.8636	0.8766
เพชรบุรี/สมุทรสาคร/สงคราม	38	13.0000	9.0907	10.4090	0.8303	0.8579
ประจวบคีรีขันธ์	30	12.7500	7.3138	9.6122	0.7967	0.8376
ชุมพร	30	13.5000	8.3640	10.3270	0.8325	0.8619
สุราษฎร์ธานี	31	12.5000	7.4577	9.4545	0.7105	0.7389
อ.ระโนด (นครศรีฯ/สงขลา)	23	12.2500	8.3854	9.8328	0.8139	0.8538
เมืองสงขลา	22	11.0000	7.4650	9.4955	0.8288	0.8442
ปัตตานี	33	14.7500	9.4032	10.1188	0.9026	0.8736
นราธิวาส	31	14.2500	9.2934	10.1260	0.8478	0.8709
ระนอง	28	11.7500	7.9207	11.1950	0.7830	0.7775
กระบี่/ภูเก็ต	30	10.7500	6.4766	10.7500	0.7933	0.7780
สตูล	25	9.2500	5.9504	8.7978	0.7857	0.7890

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

1.2 ความแตกต่างระหว่างประชากร

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่ของปูม้า (ตารางที่ 2) โดยค่า p_{χ^2} (การวิเคราะห์ contingency chi-square analyses of the heterogeneity) และ p_{AMOVA} (การวิเคราะห์ AMOVA) เกือบทั้งหมดระบุว่าไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นพื้นที่อ่าวไทยตอนกลางของปูม้าเท่านั้นที่แสดงค่า p_{χ^2} ว่าอาจมีความแตกต่างระหว่างแหล่งตัวอย่างในพื้นที่นี้ ($p_{\chi^2} < 0.05$) ขณะที่ p_{AMOVA} โดยรวมระบุว่าไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม จากการวิเคราะห์ค่า p_{χ^2} ในทุกคู่ประชากรของปูม้าทั้ง 3 แหล่งในพื้นที่นี้ (ประจวบฯ ชุมพร และสุราษฎร์ฯ) (ตารางที่ 2) ระบุว่า ปูม้าประจวบฯ ค่อนข้างจะมีความแตกต่าง

จากปฐมาขุมพรและสุราษฎร์ฯ ขณะที่ปฐมาขุมพรและสุราษฎร์ฯ ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้น ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่โดยค่า p_{χ^2} ในลำดับถัดมา จึงดำเนินการโดยให้ปฐมาประจวบฯ แยกออกมาเป็น 1 ประชากร ไม่รวมกับขุมพรและสุราษฎร์ฯ ที่ไม่แตกต่างกันและถูกใช้เป็นตัวแทนรวมของพื้นที่อ่าวไทยตอนกลาง [ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้จำนวนขอบเขตพื้นที่ของประชากรปฐมาในการวิเคราะห์ถัดมา มีปฐมาประจวบฯ เพิ่มมาอีก 1 ประชากร ดังเช่นที่ปรากฏใน ตารางที่ 2 ที่แสดงจำนวนขอบเขตพื้นที่เป็น 4 (+1) ซึ่ง ‘(+1)’ ก็คือ ‘ปฐมาประจวบฯ’ ที่เพิ่มขึ้นมาเฉพาะสำหรับการวิเคราะห์โดยค่า p_{χ^2} และใน ภาพที่ 2 ซึ่งแสดงลักษณะโครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในภาพรวมของประชากรปฐมาที่มี ‘ปฐมาประจวบฯ’ รวมอยู่ด้วย]

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากร/แหล่งตัวอย่างในแต่ละขอบเขตพื้นที่ และความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ ซึ่งแสดงโดยค่า p ทั้งของการวิเคราะห์ contingency chi-square of the heterogeneity (p_{χ^2}) และของการวิเคราะห์ AMOVA (p_{AMOVA}) พร้อมทั้งแสดงจำนวนแหล่งตัวอย่าง/ขอบเขตพื้นที่ ไพรมอร์/โลไซที่ใช้วิเคราะห์ และจำนวนอัลลีลที่แตกต่างกัน ณ โลไซทั้งหมดที่วิเคราะห์

ความแตกต่างภายใน ขอบเขตพื้นที่ และ ระหว่างขอบเขตพื้นที่	จำนวนแหล่ง/ ขอบเขตพื้นที่	ไพรมอร์/โลไซ	จำนวนอัลลีลที่ แตกต่างกัน ณ โลไซ ทั้งหมด	ค่า p_{χ^2}	ค่า p_{AMOVA}
ความแตกต่างระหว่าง ประชากร/แหล่งตัวอย่าง ในแต่ละขอบเขตพื้นที่					0.7449
1. อ่าวไทยตอนบน และ ตะวันออก	4	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	70	0.2237	
2. อ่าวไทยตอนกลาง	3	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	54	0.0025	
2.1 ประจวบฯ & ขุมพร	2	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	53	0.0273	
2.2 ขุมพร & สุราษฎร์ฯ	2	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	50	0.5462	
2.3 สุราษฎร์ฯ & ประจวบฯ	2	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	51	0.0007	
3. อ่าวไทยตอนล่าง	4	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	70	0.5475	
4. ฟังทะเลอันดามัน	3	DOFBSC3, DOFBSC19, DOFBSC23, DOFMC8	60	0.3615	
ความแตกต่างระหว่าง ขอบเขตพื้นที่	4 (+1)	DOFBSC3, DOFBSC23, DOFBSC27, DOFMC8	61	<0.0001	<0.0001

หมายเหตุ ‘(+1)’ ในตาราง หมายถึง ประชากร ‘ปฐมาประจวบฯ’ ที่เพิ่มขึ้นมาเฉพาะสำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ ที่แสดงโดยค่า p_{χ^2}

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขอบเขตพื้นที่ (ตารางที่ 2) ระบุว่า ปุ่ม้ามีความแตกต่างระหว่างประชากรที่อยู่ในขอบเขตพื้นที่ต่างกัน ทั้งโดยค่า p_{χ^2} และ p_{AMOVA} (<0.0001) ดังนั้น จึงทำการวิเคราะห์ค่า p ของ F_{ST} เพื่อดูความแตกต่างในทุกคู่ประชากรของปุ่ม้า ได้ผลออกมาตามที่ปรากฏใน ตารางที่ 3 ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะค่า p ที่ต่ำกว่า 0.02 จึงจะถือว่ามีความสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006) ก็ปรากฏว่า คู่ประชากรของปุ่ม้าที่ต่างกันได้แก่คู่ที่อยู่คนละฝั่งทะเลกัน (ฝั่งทะเลอันดามัน และฝั่งอ่าวไทย) เกือบทั้งสิ้น จะมีก็เพียงปุ่ม้าชลบุรีประชากรเดียวที่ไม่แสดงความแตกต่างจากประชากรฝั่งอันดามัน อีกทั้งยังแสดงความแตกต่างกับบางประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยตัวเอง โดยเฉพาะกับระยองซึ่งอยู่ในกลุ่มหรือขอบเขตพื้นที่เดียวกัน (อ่าวไทยฝั่งตะวันออก) และผ่านการวิเคราะห์มาแล้วว่าไม่แตกต่างกัน ทั้งโดยค่า p_{χ^2} และ p_{AMOVA} (ตารางที่ 2) ซึ่งสาเหตุน่าจะอยู่ที่จำนวนตัวอย่างของประชากรปุ่ม้าชลบุรีนั่นเอง จาก ตารางที่ 1 แสดงว่า ได้ใช้ปุ่ม้าจากชลบุรีในการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ขณะที่ประชากรอื่นอยู่ระหว่าง 22 – 38 ตัวอย่าง จำนวนปุ่ม้าจากชลบุรีจึงอาจไม่เพียงพอเมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างของประชากรอื่น (พนม และศรีรัตน์, 2550)

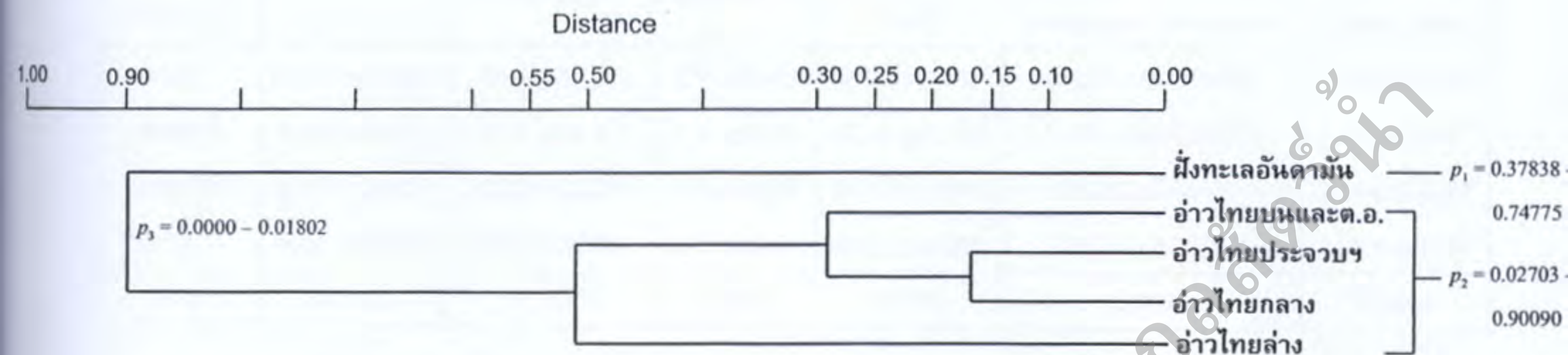
ตารางที่ 3 ค่า p ของ F_{ST} ในทุกคู่ประชากรที่เป็นแหล่งตัวอย่างของปุ่ม้า

	เพชรบุรี	ตราด	ชลบุรี	ระยอง	ประจวบ	ชุมพร	สุราษฎร์	ระโนด	สงขลา	ปัตตานี	นราธิวาส	ระนอง	กระบี่
ตราด	0.51351	-											
ชลบุรี	0.28829	0.04505	-										
ระยอง	0.23423	0.70270	0.01802	-									
ประจวบ	0.06306	0.20721	0.00901	0.02703	-								
ชุมพร	0.60360	0.14414	0.03604	0.02703	0.89189	-							
สุราษฎร์	0.82883	0.64865	0.05405	0.51351	0.93694	0.96396	-						
ระโนด	0.28829	0.07207	0.48649	0.06306	0.05405	0.09009	0.29730	-					
สงขลา	0.66667	0.69369	0.10811	0.56757	0.17117	0.91892	0.96396	0.66667	-				
ปัตตานี	0.49550	0.59459	0.04505	0.68468	0.18018	0.50450	0.97297	0.40541	0.58559	-			
นราธิวาส	0.07207	0.23423	0.08108	0.26126	0.45045	0.43243	0.61261	0.29730	0.90090	0.57658	-		
ระนอง	0.00000	0.00000	0.11712	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-	
กระบี่	0.01802	0.00000	0.24324	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.01604	0.00000	0.00000	0.00000	0.74775	-
สูญ	0.00000	0.00000	0.02703	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.43243	0.37838

1.3 โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

จากลักษณะ โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปุ่ม้าใน ภาพที่ 2 ได้แสดงว่ากลุ่มประชากรปุ่ม้าที่อยู่ในฝั่งอ่าวไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันภายในกลุ่มของตนเองมากกว่าความสัมพันธ์กับประชากรต่างกลุ่มที่อยู่ในฝั่งอันดามัน หรืออีกนัยหนึ่ง ประชากร 2 ฝั่งมีความแตกต่างกันมากจึงแบ่งแยกจากกันเป็น 2 กลุ่มใหญ่ชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความแตกต่างใน ตารางที่ 3 ที่กล่าวมาแล้ว

นอกจากนี้ ถ้าพิจารณาระหว่างกลุ่มประชากรในฝั่งอ่าวไทยด้วยกันเอง ภาพที่ 2 ยังแสดงให้เห็นว่าประชากรปูม้าจากฝั่งอ่าวไทยตอนล่างมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างออกมาจากประชากรอ่าวไทยอื่น ๆ ขณะที่ประชากรเหล่านั้นแสดงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดระหว่างกันให้เห็นโดยรวมกลุ่มอยู่ด้วยกัน อย่างไรก็ตาม ผลจากการวิเคราะห์ใน ตารางที่ 3 ไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างประชากรในฝั่งอ่าวไทยเหล่านี้



ภาพที่ 2 ลักษณะ โครงสร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปูม้าจากฝั่งอันดามัน อ่าวไทยตอนบนและฝั่งตะวันออก ประจวบคีรีขันธ์ อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนล่าง จากการสร้างโดยใช้วิธี WPGMA (Sneath and Sokal, 1973) และใช้ข้อมูลค่า D ของ Nei (1978) p_1 , p_2 และ p_3 คือ ค่า p ของ F_{ST} ระหว่างประชากรทุกคู่ในฝั่งอันดามัน ฝั่งอ่าวไทย และระหว่างอันดามันกับอ่าวไทย ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ค่า p ของ F_{ST} ต่ำกว่า 0.02 แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างที่ระดับ 5% (Fu, 1997; Excoffier *et al.*, 2006)

ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรสัตว์น้ำใน 2 ฝั่งทะเลของไทยนี้ ได้เคยมีการรายงานมาแล้วในกุ้งทะเล ทั้งกุ้งกุลาดำ (ศรีรัตน์, 2539) และกุ้งแชบ๊วย (ศรีรัตน์ และพนม, 2541) ซึ่งถึงแม้จะเป็นการศึกษาในสัตว์น้ำต่างชนิด และใช้เทคนิคเครื่องหมายพันธุกรรมอัลโลไซม์ที่ต่างออกไป แต่ก็มีผลการศึกษาที่สอดคล้องไปในทางเดียวกัน

2. ผลการศึกษาโดยการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต

ข้อมูล โดยเฉลี่ยที่ได้จากการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบประชากรปูม้า 4 แหล่ง ทั้งข้อมูลด้านการเจริญเติบโต (ค่า G และ SGR) และข้อมูลอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อการทดลอง ได้แก่ น้ำหนักเริ่มต้น ระยะเวลาหรือจำนวนวันที่เลี้ยง/เก็บข้อมูล จำนวนครั้งที่ลอกคราบ และระยะเวลาหรือจำนวนวันต่อการลอกคราบ 1 ครั้ง พร้อมทั้งผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างประชากร ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (ค่า p) ระบุว่า น้ำหนักเริ่มต้นของปูม้าที่ใช้ทดลอง ระยะเวลาหรือจำนวนวันที่เลี้ยง/เก็บข้อมูล จำนวนครั้งที่ลอกคราบ และระยะเวลาหรือจำนวนวันต่อการลอกคราบ 1 ครั้งของปูม้าที่ทดลองเลี้ยง ไม่แสดงนัยสำคัญในความแตกต่างระหว่างประชากรที่ต่างกัน ($p > 0.05$) ดังนั้น จึงทำให้มั่นใจได้ว่าการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบปูม้า 4 ประชากรในครั้งนี้ ถึงแม้จะมีปัญหาหรือข้อจำกัดที่ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ในการดำเนินงาน เช่น ขนาดเริ่มต้นของปูที่ใช้ทดลอง และพฤติกรรมการลอกคราบของปู แต่ผลที่เกิดจากปัญหาหรือข้อจำกัดเหล่านี้โดยรวมแล้วก็มีความเท่าเทียมเสมอกัน หรือไม่แตกต่างกันในทั้ง 4 ประชากร

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลโดยเฉลี่ยของน้ำหนักเริ่มต้น จำนวนวันที่เลี้ยง/เก็บข้อมูล จำนวนครั้งที่ลอกคราบ จำนวนวันต่อการลอกคราบ 1 ครั้ง และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะทั้งโดยค่า G และ SGR ในการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบปูม้า 4 แหล่ง/ประชากร พร้อมทั้งผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติซึ่งแสดงโดยค่า p

แหล่ง/ ประชากร และค่า p	น้ำหนักเริ่มต้น	จำนวนวันที่เลี้ยง/ เก็บข้อมูล	จำนวนครั้งที่ลอกคราบ	จำนวนวันต่อการลอกคราบ 1 ครั้ง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ	
					G (Instantaneous Growth Rate)	SGR (Gx100, %/วัน)
ตราด	10.93 (±1.100)	87.7 (±37.21)	2.8 (±0.94)	31.38 (±11.039)	0.0310 (±0.01078) ^A	3.10 (±1.078) ^a
เพชรบุรี	8.68 (±4.871)	97.5 (±26.61)	2.6 (±0.57)	37.34 (±8.178)	0.0315 (±0.01671) ^A	3.15 (±1.671) ^a
นครศรีฯ	9.91 (±2.580)	101.9 (±22.21)	3.0 (±0.69)	34.72 (±7.297)	0.0319 (±0.01457) ^A	3.19 (±1.457) ^a
กระบี่	9.64 (±2.682)	104.9 (±25.90)	2.7 (±0.46)	38.98 (±10.344)	0.0205 (±0.00393) ^B	2.05 (±0.393) ^b
ค่า p	0.2180	0.2886	0.2886	0.0756	0.0098	0.0102

หมายเหตุ 1. ค่า $\pm$ ในวงเล็บ คือ Standard Deviation ($\pm$ SD)
2. ค่า $p > 0.05$ ไม่มีนัยสำคัญในความแตกต่างทางสถิติ
3. ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่กำกับโดยตัวอักษรอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันต่างกัน แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

สำหรับผลการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโต ซึ่งถูกตรวจสอบด้วยค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ทั้งโดยค่า G และ SGR ตามที่แสดงใน ตารางที่ 4 ระบุว่า ประชากรปูม้าจากอ่าวไทยทั้ง 3 แหล่ง (ตราด เพชรบุรี และนครศรีธรรมราช) มีการเจริญเติบโต (โดยค่า G และ SGR) ที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ประชากรจากอ่าวไทยทั้ง 3 แหล่งมีการเจริญเติบโต (โดยค่า G และ SGR) ดีกว่าประชากรจากกระบี่ซึ่งอยู่ในฝั่งอันดามันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลที่ปรากฏดังกล่าวนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาด้านพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลต์ในข้อ 1.2 (ตารางที่ 2 และ 3) และ 1.3 (ภาพที่ 2) ที่ผ่านมา ดังนั้น ผลการศึกษาด้านพันธุกรรมซึ่งระบุว่า ประชากรปูม้าของไทยที่อยู่ต่างฝั่งทะเลกันมีความแตกต่างแยกจากกันเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มฝั่งอ่าวไทย และกลุ่มฝั่งอันดามัน โดยประชากรที่อยู่ในกลุ่มฝั่งเดียวกันมีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันหรือไม่ต่างกัน แต่จะมีพันธุกรรมแตกต่างจากประชากรนอกกลุ่มที่อยู่ต่างฝั่งออกไป จึงได้รับการสนับสนุนและยืนยันความน่าเชื่อถือด้วยข้อมูลของการแสดงออกซึ่งลักษณะการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงที่ปรากฏนี้

นอกเหนือจากข้อมูล 2 ด้านที่ตรงกันในเรื่องของความแตกต่างระหว่างประชากรปูม้าใน 2 ฝั่งทะเลนี้แล้ว ยังพบว่าลักษณะลวดลายภายนอกของปูม้าใน 2 ฝั่งทะเลมีความแตกต่างกันอีกด้วย ซึ่งเมื่อพิจารณาให้ละเอียดจะเห็นว่า ปูม้าจากฝั่งอันดามันมีลวดลายคล้ายช่องดาข่ายที่ใหญ่และเห็นชัดกว่าปูม้าในฝั่งอ่าวไทย (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบลักษณะลวดลายภายนอก ระหว่างปูม้าจากกระบี่หรือฝัังอันดามัน (ซ้าย) และปูม้าจากเพชรบุรีหรือฝัังอ่าวไทย (ขวา) ซึ่งเป็นปูเพศเดียวกัน (เพศเมีย)

ด้วยเหตุที่การทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบครั้งนี้ดำเนินการในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรีซึ่งเป็นเขตชายทะเล ฝัังอ่าวไทย และได้ผลการทดลองออกมาว่าปูม้าจากฝัังอ่าวไทยทั้ง 3 แหล่ง (ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน) มีการแสดงออกซึ่งการเจริญเติบโตดีกว่าปูม้าจากกระบี่ในฝัังอันดามัน จึงสอดคล้องกับทฤษฎีเรื่องอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกซึ่งลักษณะของสายพันธุ์ในแต่ละท้องถิ่น หรือสายพันธุ์ที่มีคุณลักษณะที่ถูกปรับตามธรรมชาติให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของแต่ละท้องถิ่นนั้น (locally adapted stocks) (Benzie, 1992; Sodsuk *et al.*, 1994) ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวจะมีการแสดงออกของลักษณะต่าง ๆ โดยเฉพาะลักษณะการเจริญเติบโตดีกว่าสายพันธุ์ที่มาจากต่างพื้นที่หรือต่างถิ่น เช่นเดียวกันกับผลที่ปรากฏจากการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบครั้งนี้ สำหรับในประเทศไทยได้มีการทดสอบสายพันธุ์และรายงานผลในทำนองเดียวกันนี้มาแล้วในปลาน้ำจืดหลายชนิด (สมนึก และคณะ, 2547; เมตตา และคณะ, 2548; สง่า และสุชาติ, 2550; นพพร และคณะ, 2551) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบครั้งนี้ จึงมีประโยชน์และสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้สายพันธุ์ปูม้าที่ถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ 2 ฝัังทะเลของไทย

สรุปผลการศึกษาและประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้ข้อมูลความหลากหลาย/แปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรปูม้าจากแหล่งธรรมชาติของไทย (ตารางที่ 1) ซึ่งสามารถใช้เป็นบรรทัดฐานสำหรับระบุคุณภาพ/ศักยภาพทางพันธุกรรมของประชากรที่จะใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

2. ได้ข้อมูลทั้งด้านพันธุกรรมและข้อมูลด้านลักษณะการเจริญเติบโต ซึ่งระบุผลตรงกัน คือ ประชากรปทุมมาในแหล่งธรรมชาติของไทยมีความแตกต่างในระหว่างประชากรของฝั่งทะเลอันดามัน และฝั่งอ่าวไทย โดยประชากรในฝั่งเดียวกันมีความใกล้ชิดกันหรือเหมือนกันมากกว่าประชากรที่อยู่ต่างฝั่ง ข้อมูลที่ได้นี้ นับเป็นองค์ความรู้ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการใช้ประโยชน์ทรัพยากรปทุมมาในแหล่งธรรมชาติของไทย เพราะจะทำให้สามารถดำเนินการได้อย่างถูกต้องและยั่งยืน นำมาซึ่งประโยชน์สูงสุดที่พึงจะได้รับ

3. นอกจากข้อมูล 2 ด้าน (พันธุกรรม และการเจริญเติบโต) ซึ่งแสดงความแตกต่างระหว่างประชากรปทุมมาใน 2 ฝั่งทะเลที่ตรงกันแล้ว ยังพบว่าลักษณะลวดลายภายนอกของปทุมมามีความแตกต่างกันในระหว่างประชากรของ 2 ฝั่งทะเลด้วยเช่นกัน ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่าความแตกต่างระหว่างประชากรปทุมมาที่อยู่ต่างฝั่งทะเลของไทย ได้รับการยืนยันทั้งด้วยข้อมูลเชิงพันธุกรรมโดยตรง และข้อมูลลักษณะที่แสดงออกภายนอก ซึ่งก็มีทั้งลักษณะเชิงปริมาณ หรือ quantitative trait (ลักษณะการเจริญเติบโต) และลักษณะเชิงคุณภาพ หรือ qualitative trait (ลักษณะลวดลายที่ปรากฏ)

4. ได้ผลการศึกษาที่แสดงว่า สายพันธุ์ในพื้นที่ (พื้นที่ดำเนินการ) มีลักษณะการเจริญเติบโตที่แสดงออกต่อการเพาะเลี้ยง คือว่าสายพันธุ์ที่มาจากต่างพื้นที่หรือต่างถิ่น (ตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องและเป็นไปตามทฤษฎีเรื่องอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อคุณลักษณะของสายพันธุ์ที่ได้ถูกปรับให้เข้ากับสภาพของท้องถิ่นนั้นแล้วตามธรรมชาติ ผลการศึกษาที่ได้นี้ มีประโยชน์และสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้สายพันธุ์ปทุมมาที่ถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ 2 ฝั่งทะเลของไทย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการ “การเปรียบเทียบลักษณะที่แสดงออกของพันธุ์ปทุมมาจากแหล่งธรรมชาติต่าง ๆ ของไทย” ภายใต้งบประมาณแผนงานวิจัยการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ ของกรมประมง รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 47-0600-47136 และโครงการ “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปทุมมาและปทุมทะเลของไทย” ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบคุณข้าราชการและเจ้าหน้าที่ของสำนักงานประมงจังหวัด ศูนย์ และสถานีประมง ซึ่งช่วยเหลือด้านข้อมูลต่าง ๆ และอำนวยความสะดวกในการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างในพื้นที่ต่างจังหวัด รวมถึงเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรี และกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพสัตว์น้ำจืด สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ และถูกจ้างในโครงการฯ ทุกคน ที่ได้ร่วมแรงปฏิบัติงานทั้งในภาคสนาม งานวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ และงานเอกสาร อย่างเต็มความสามารถ และเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

- จรัญ จันทลักขณา. 2540. สถิติ วิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. บริษัทสำนักพิมพ์ ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพมหานคร. 468 หน้า.
- นพพร สิทธิเกษมกิจ, กฤษณพันธ์ โกเมนไปรินทร์ และ เมตตา ทิพย์บรรพต. 2551. เปรียบเทียบลักษณะสำคัญเชิงเพาะเลี้ยงระหว่างปลานิลสีแดงเพศผู้ 4 แหล่งเพาะเลี้ยง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2551. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 21 หน้า.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2550. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย”. ชุดโครงการ “พันธุศาสตร์พืชและสัตว์น้ำ” สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). 145 หน้า.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข, ศรีรัตน์ สอดสุข และ พลชาติ ผิวนธร. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรปูม้าและปูทะเลของไทย: สรุปผลการศึกษา คุณประโยชน์ที่ได้รับ และแนวทางการใช้ประโยชน์. Thai Journal of Genetics 2009, 2(1): 44-65.
- พนม กระจำพจน์ สอดสุข, สุภัทรา อุไรวรรณ และ ศรีรัตน์ สอดสุข. 2548. วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้ไมโทคอนเดรียเครื่องหมายในกระบวนการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์กุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2548. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 14 หน้า.
- เมตตา ทิพย์บรรพต, กฤษณพันธ์ โกเมนไปรินทร์, สืบพงษ์ ฉัตรมาลัย, สุภัทรา อุไรวรรณ และ ประจักษ์ บัวเนียม. 2548. การเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตและการรอดตายของปลาสด 3 ประชากร. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2548. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 20 หน้า.
- วารินทร์ ธนาสมหวัง, สุพิศ ทองรอด และ ลีลา เรืองแป้น. 2548. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ “การผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เชิงพาณิชย์”. ชุดโครงการ “ปู” สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.). 423 หน้า.
- ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรี. 2546. การเพาะเลี้ยงปูม้าในบ่อดินศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรี. รายงานประจำปี 2546 ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำเพชรบุรี. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. หน้า 41-46.
- ศรีรัตน์ สอดสุข. 2539. ความแตกต่างและโครงสร้างทางพันธุกรรมของกุ้งกุลาดำในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 19 หน้า.
- ศรีรัตน์ สอดสุข และ พนม กระจำพจน์ สอดสุข. 2541. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกุ้งแชบ๊วยจาก 3 แหล่งในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 17/2541 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 45 หน้า.
- สง่า ลีสง่า และ สุชาติ จุลอดุง. 2550. ทดสอบการเจริญเติบโต ผลผลิต และอัตราการรอดตายของปลาหมอ 6 กลุ่มประชากรในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2550. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 24 หน้า.

- สมนึก คงรัตน์, พลชาติ ผิวเณร และ ถาวร จินหมัก. 2547. การเจริญเติบโตและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปลาแรด 5 ประชากร. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2547. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. 33 หน้า.
- สุเมธ ตันติกุล. 2527. ชีววิทยาการประมงของปูม้าในอ่าวไทย. เอกสารเผยแพร่วิชาการฉบับที่ 1/2527. ฝ่ายสัตว์น้ำอื่นๆ กองประมงทะเล, กรมประมง. 62 หน้า.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2543. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 282 หน้า.
- Allendorf, F.W. and N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stocks. **In:** Ryman, N. and F. Utter (eds.). Population Genetics and Fisheries Management. University of Washington Press, Seattle. p. 141-159.
- Benzie, J.A.H. 1992. Mariculture and fisheries genetics in tropical Australia. **In:** International Workshop on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management. 31st August – 4th September 1992. University of Stirling, Scotland. p. 69-71.
- Chugunova, N.I. 1963. Age and Growth Studies in Fish. Israel Program for Scientific Translations Ltd. S. Monson, Jerusalem. 131 pp.
- Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2006. Arlequin ver 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Institute of Zoology, Univ. of Berne, Bern, Switzerland.
- Fu, Y.X. 1997. New statistical test of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 43: 550-557.
- Goudet, J. 1995. Fstat version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. *Journal of Heredity* 86(6): 485-486.
- Hopkins, K.D. 1992. Reporting fish growth: a review of the basics. *Journal of the World Aquaculture Society* 23(3): 173-179.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Queller, D.C., J.E. Strassmann and C.R. Hughes. 1993. Microsatellites and kinship. *Tree* 8: 285-288.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstock and M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis: a Handbook for Animal Systematics and Populations Studies. Academic Press Inc., California. 410 pp.
- Ricker, W.E. 1979. Growth rates and models. **In:** Hoar, W.S., D.J. Randall and J.R. Brett (eds.). Fish Physiology Volume VIII Bioenergetics and Growth. Academic Press Inc., Orlando, Florida. p. 677-743.
- Siegel, S. 1956. Nonparametric Statistics for the Behavioural Sciences. McGraw-Hill Kogakusha, Tokyo. 312 pp.

- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. W.H. Freeman, San Francisco.
- Sodsuk, S., B.J. McAndrew and D.J. Penman. 1994. Population structure and fisheries management of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in SE Asia. **In:** Second International Workshop on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management in ASEAN. 7th – 11th November 1994. Phuket Merlin Hotel, Thailand.
- SPSS Inc. 1999. SPSS Base 10.0 for Windows User's Guide. SPSS Inc., Chicago IL.
- Suvatti, C. 1950. Fauna of Thailand. Department of Fisheries. The Tieng Saeng Press, Bangkok, Thailand. 1100 pp.
- Swofford, D.L. and R.B. Selander. 1989. BIOSYS-1: A Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetics and Biochemical Systematics. D.L. Swofford, Illinois Natural History Survey. 43 pp.
- Workman, P.L. and J.D. Niswander. 1970. Population studies on Southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am. J. Hum. Gen.* 22: 24-49.
- Yeh, F.C., R. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. (Website: <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>)
- Zhu, Z.Y., G. Lin, L.C. Lo, Y.X. Xu, F. Feng, R. Chou and G.H. Yue. 2006. Genetic analyses of Asian seabass stocks using novel polymorphic microsatellites. *Aquaculture* 256: 167-173.