

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
การตรวจเอกสาร	3
ชีวประวัติของปูทะเล	3
อนุกรมวิธานปูทะเล	4
การจำแนกชนิดปูทะเลในประเทศไทย	6
การประเมินสถานะความเป็นชนิดของสิ่งมีชีวิต	8
การศึกษาความแตกต่างของลักษณะ morphometric เพื่อการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิต	13
การศึกษาความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเพื่อ	
การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิต	15
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	18
อุปกรณ์	18
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	18
สารเคมีเพื่อการสกัดดีเอ็นเอและกำจัดสิ่งแปลกปลอมใน PCR product	19
เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับการคำนวณ	20
โปรแกรมสำหรับวิเคราะห์ข้อมูล	20
วิธีการ	22
การเก็บรวบรวมปูตัวอย่าง	22
การศึกษาความแตกต่างของลักษณะภายนอกของปูตัวอย่าง	23
การศึกษาความแตกต่างของลักษณะ morphometric ของปูทะเล	23
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์	26
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
ผลการจำแนกชนิดปูทะเลโดยใช้ลักษณะภายนอก	36
ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของลักษณะ morphometric	45

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์	56
การประเมินสถานะความเป็นชนิดของปูทะเลแต่ละกลุ่มที่พบในประเทศไทย ..	95
การกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ของปูทะเลที่พบในประเทศไทย	102
สรุป	107
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	109
ภาคผนวก	118

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนปูตัวอย่างกลุ่มต่างๆ จากแหล่งเก็บตัวอย่างแต่ละแหล่ง	18
2	หลักเกณฑ์เบื้องต้นในการจำแนกปูทะเลตามรูปร่างและบุรณ (2522) และ บรรจงและบุณรัตน์ (2545)	22
3	ลักษณะ morphometric จำนวน 51 ลักษณะที่วัดจากปูแต่ละตัว พร้อมทั้งอธิบาย อักษรย่อของแต่ละลักษณะ	25
4	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ต่างๆ ของปูทะเล	27
5	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของปูม้า	28
6	แสดงสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการเปรียบเทียบการจัดเรียงตัวของยีนและองค์ประกอบ นิวคลีโอไทด์ในบริเวณขึ้นต้นเอ็นเอเป้าหมายกับปูทะเลและปูม้า	31
7	แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสูงสุด-ต่ำสุดของลักษณะ morphometric 51 ลักษณะ	46
8	แสดงสัมประสิทธิ์ของตัวแปร canonical เพื่อการจำแนกกลุ่มปูทะเลจำนวน 4 กลุ่ม (ปูดำ ปูเขียว ปูม่วง และปูขาว) ที่แบ่งตามลักษณะภายนอกโดยไม่คำนึงถึงแหล่ง เก็บตัวอย่างซึ่งมีทั้งหมด 3 สมการ	51
9	แสดงสัมประสิทธิ์ของตัวแปร canonical เพื่อการจำแนกกลุ่มปูทะเล 10 กลุ่มที่แบ่ง ตามลักษณะภายนอกและแหล่งเก็บตัวอย่างซึ่งมีทั้งหมด 9 สมการ	52
10	แสดงองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์แต่ละชนิดของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ในบริเวณ $tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}$	59
11	ผลการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน $tRNA^{Ser(UCN)}$ โดยอ้างอิงตำแหน่งของ โครงสร้างทุติยภูมิจาก haplotype AS01	61
12	ผลการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน $tRNA^{Leu(CUN)}$ โดยอ้างอิงตำแหน่งของ โครงสร้างทุติยภูมิจาก haplotype AL01	66
13	แสดงตำแหน่งที่นิวคลีโอไทด์แตกต่างกันของขึ้นต้นเอ็นเอ $tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-$ $tRNA^{Leu(CUN)}$	70

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	แสดงค่า nucleotide divergence ภายในและระหว่างกลุ่มปูดำ ปูเขียว ปูม่วง ปูขาว และปูม้า	89
15	แสดงค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ภายในและระหว่างปูดำ ปูเขียว ปูม่วง ปูขาว และปูม้า	89
16	แสดงผลการเปรียบเทียบสัดส่วน FMSH/FW และ FW/ICW จากของปูดำ ขาว ม่วง และเขียว กับสัดส่วน FMSH/FW และ FW/ICW ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของ Keenan <i>et al.</i> (1998)	104
17	ชื่อพื้นเมือง (บรรจง และ บุญรัตน์, 2545) และชื่อวิทยาศาสตร์ตามข้อเสนอแนะของ Estampador (1949) และ Keenan, <i>et al.</i> (1998)	105

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงแผนภาพจำลองความสัมพันธ์แบบ ก.) monophyly ข.) paraphyly และ ค.) polyphyly ของสิ่งมีชีวิต	12
2	แสดงตำแหน่งของแหล่งเก็บตัวอย่างจังหวัดจันทบุรี-จังหวัดตราด (ก) จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ข) และจังหวัดระนอง (ค)	19
3	แสดงลักษณะ morphometric ที่วัดจากอวัยวะต่างๆ ของปู	24
4	แสดงตำแหน่งไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขึ้นดีเอ็นเอเป้าหมาย <i>tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}</i> (ไพรเมอร์ SS30 และ SS31)	27
5	ปูดำ	37
6	ปูขาว	38
7	ปูเขียว	39
8	ปูม่วง	40
9	แสดงรูปแบบของลายร่างแหบนขาว่ายน้ำและขาเดินของ (ก) ปูดำ ไม่ปรากฏลายร่างแห (ข) ปูขาว ปรากฏลายร่างแหที่มีช่องตาข่ายขนาดเล็กบนขาว่ายน้ำและขาเดินคู่ที่ 3 (ค) ปูม่วง ปรากฏลายร่างแหที่มีช่องตาข่ายขนาดใหญ่บนขาว่ายน้ำและขาเดินทุกขา และ (ง) ปูเขียว ปรากฏลายร่างแหที่มีช่องตาข่ายขนาดใหญ่บนขาว่ายน้ำและขาเดินคู่ที่ 3	42
10	แสดงหนามระหว่างช่องตาของ (ก) ปูดำ หนามสั้นโค้งมน (ข) ปูขาว หนามยาวแหลมมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยม (ค) ปูเขียว หนามยาวเรียว หนามคู่กลางยาวกว่าคู่ด้านนอก (ง) ปูม่วง หนามยาวโค้งมน ความสูงใกล้เคียงกัน	43
11	แสดงก้ามของ (ก) ปูดำ มีสีโทนแดง ไม่ปรากฏลายร่างแห (ข) ปูขาว มีสีพื้นเป็นสีเหลือง ปรากฏจุดสีน้ำตาลหรือสีเขียวเข้มกระจัดกระจายไม่เป็นระเบียบ (ค) ปูเขียว สีพื้นเป็นสีเขียวปรากฏลายร่างแหที่มีช่องตาข่ายขนาดใหญ่ และ (ง) ปูม่วง มีสีพื้นเป็นสีม่วงและไม่ปรากฏลายร่างแห	44
12	ผลจากการวิเคราะห์ CVA จากข้อมูลลักษณะ morphometric (ก.) ผลการวิเคราะห์ระหว่างกลุ่มปูที่แบ่งตามลักษณะภายนอก โดยไม่คำนึงถึงแหล่งเก็บตัวอย่าง และ (ข.) ระหว่างกลุ่มปูที่แบ่งตามลักษณะภายนอกและแหล่งเก็บตัวอย่าง	55
13	แสดงการจัดเรียงตัวของยีนในบริเวณเป้าหมาย <i>tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}</i>	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	แสดงโครงสร้างทุติยภูมิของ <i>tRNA^{Ser(UCN)}</i> จำนวน 11 haplotypes	64
15	แสดงโครงสร้างทุติยภูมิของ <i>tRNA^{Leu(CUN)}</i> จำนวน 7 haplotypes	69
16	แสดงความสัมพันธ์ของจำนวนการแทนที่เบสแบบ ก.) Transition (TS), ข.) Tranversion (TV) และ ค.) การแทนที่เบสทั้งหมด (TS+TV) ที่พบ (แกน Y) กับ ระยะห่างทางพันธุกรรม (แกน X) โดยแต่ละจุดเป็นผลที่ได้จากการเปรียบเทียบ ลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างปูแต่ละคู่ของปูตัวอย่าง.....	87
17	แสดง phylogenetic tree ของปูดำ ปูเขียว ปูม่วง และปูขาว โดยใช้ปูม้าเป็น outgroup จากข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยแบบจำลองการแทนที่เบส GTR+G ของซินดีเอ็นเอ <i>tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}</i> ด้วยวิธี Neighbour-joining ทดสอบ bootstrap 1,000 รอบ สร้าง consensus tree ด้วย 50% majority-rule	92
18	แสดง phylogenetic tree ของปูดำ ปูเขียว ปูม่วง และปูขาว โดยใช้ปูม้าเป็น outgroup จากข้อมูลการกลายพันธุ์แบบแทนที่เบสของซินดีเอ็นเอ <i>tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}</i> ด้วยวิธี Maximum Parsimony ซึ่งมี parsimony informative site ทั้งหมด 314 ตำแหน่ง ทดสอบ bootstrap 1,000 รอบ สร้าง consensus tree ด้วย 50% majority-rule	93
19	แสดง phylogenetic tree ของปูดำ ปูเขียว ปูม่วง และปูขาว โดยใช้ปูม้าเป็น outgroup จากข้อมูลการกลายพันธุ์แบบแทนที่เบสของซินดีเอ็นเอ <i>tRNA^{Ser(UCN)}-ND1-tRNA^{Leu(CUN)}</i> ด้วยวิธี Maximum likelihood ใช้แบบจำลองการแทนที่เบส GTR+G ค่า $-\ln \text{likelihood} = 3465.2758$	94