รายงานการวิจัย เรื่อง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสัณฐานวิทยาของหอยเสียบ (*Donax* spp.)

Genetic and Shell Morphological Variation of *Donax* spp.

ชื่อผู้วิจัย

ดร.สุภาวดี มานะไตรนนท์

อรอุมา ทองหล่อ

ผศ.อนวัช บุญญภักดี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2555

รายงานการวิจัย เรื่อง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสัณฐานวิทยาของหอยเสียบ (*Donax* spp.)

Genetic and Shell Morphological Variation of *Donax* spp.

ชื่อผู้วิจัย

ดร.สุภาวดี มานะไตรนนท์

อรอุมา ทองหล่อ

ผศ.อนวัช บุญญภักดี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2555

คำนำ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตประชากรต่าง ๆ กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วไป เนื่องจากสิ่งมีชีวิตในประชากรใดยิ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากนั่นย่อมหมายถึงโอกาสที่สิ่งมีชีวิตนั้นจะสูญพันธุ์ต่ำเมื่อสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง ประกอบกับสิ่งแวดล้อมในปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาก็ย่อมส่งผลกระทบทางลบกับประชากรโดยเฉพาะอย่างยิ่งประชากรที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ดังนั้นการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมให้มีอยู่สูงในประชากรจึงเข้ามามีบทบาทอย่างมากต่อความอยู่รอดของประชากรนั้น ๆ ซึ่งในงานวิจัยชิ้นนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบโดยใช้วิธีทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและวิธีทางพันธุศาสตร์โมเลกุล เพื่อให้สามารถประเมินได้ว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรหอยเสียบในปัจจุบันอยู่ในระดับใด เพื่อที่จะได้ความรู้พื้นฐานความหลากหลายทั้งทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุกรรมของหอยเสียบในประเทศไทย ซึ่งจะสามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นแนวทางในการวางแผนการอนุรักษ์พันธุกรรมของประชากรหอยเสียบต่อไปได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยศิลปากรที่ให้การสนับสนุนการทำงานวิจัย

บทคัดย่อ

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสัณฐานวิทยาของหอยเสียบ (*Donax* spp.)

ชื่อผู้วิจัย ดร.สุภาวดี มานะไตรนนท์ อรอุมา ทองหล่อ ผศ.อนวัช บุญญภักดี

หน่วยงานที่สังกัด คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2555

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและทางพันธุกรรมของหอยเสียบ (*Donax* spp.) จากชายหาด 3 แห่ง ได้แก่ หาดบางแสน หาดชะอำ และ หาดสวนสน ทำการเก็บตัวอย่างหอยเสียบจำนวนหาดละ 100 ตัว และใช้หอยตลับ (*Meristrise* spp.) จำนวน 100 ตัวเป็น outgroup ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งหมด 5 ลักษณะ ได้แก่ ความสูง ความกว้าง ความหนา สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง และสัดส่วนความหนาต่อความกว้าง ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมวัดโดยใช้วิธี ISSR-PCR markers จำนวน 4 loci โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 30 ตัว/หาด จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุกรรมโดยวิธี discriminant function analysis พบว่าประชากรหอยเสียบจากหาดต่าง ๆ นั้นสามารถแยกตัวออกจากกันเป็น 3 ประชากรอย่างชัดเจน โดยหอยเสียบจากหาดชะอำมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับหอยเสียบจากหาดบางแสนมากที่สุด นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมยังบอกได้ว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีค่าใกล้เคียงกัน โดยหอยเสียบจากหาดบางแสนมีค่า mean number of alleles (N_a) = 1.90±0.30 อัลลีล ค่า effective number of alleles (N_e) = 1.26±0.28 อัลลีล และมีจำนวน polymorphic loci = 62 อัลลีล ส่วนหอยเสียบจากหาดชะอำมีค่า N_a = 1.84±0.37 อัลลีล ค่า N_e = 1.29±0.30 อัลลีล และมีจำนวน polymorphic loci = 58 อัลลีล ส่วนหอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุด โดยมี ค่า N_a = 1.65±0.48 อัลลีล ค่า N_e = 1.25±0.31 อัลลีล และมีจำนวน polymorphic loci = 45 อัลลีล ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการอนุรักษ์ประชากรหอยเสียบในอนาคต

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย หอยเสียบ ISSR-PCR markers

ภาษาอังกฤษ

ส่วนที่ 1

Research Title Genetic and shell morphological variation of *Donax* spp.

Researcher Dr.Supawadee Manatrinon, On-uma Thonglor, Assist.Prof. Anawat Boonyapakdee

Office Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University

Research Grants Research and Development Institute, Silpakorn University

Year 2012

ส่วนที่ 2 Abstract

The aims of this research were to evaluate the morphological and genetic variation of *Donax* spp. from three beaches including Bangsean, Cha-Am and Suanson beaches. *Meretrix* spp. was used as an outgroup. One hundred individuals from each population were collected. Five shell morphological variables were measured, there were shell length (L), maximum shell height (H), width of two valves, ratio of H/L and ratio of W/H, and analyzed to reveal morphological variation. Thirty individuals from each beach were used to evaluate for genetic variation based on four loci of ISSR-PCR markers. The results from discriminant function analysis based on both methods (morphological and genetic data) showed that three populations of *Donax* spp. clearly separated into 3 groups. The population of *Donax* spp. from Cha-Am beach showed the highest relationship to the population of *Donax* spp. from Bangsean beach. The results from genetic data also showed that the level of genetic diversity between the population of *Donax* spp. from Cha-Am and Bangsean beach were similar. *Donax* spp. from Bangsean beach had mean number of alleles (N_a) = 1.90±0.30, effective number of alleles (N_e) = 1.26±0.28 and number of polymorphic loci = 62. While *Donax* spp. from Cha-Am beach had N_a = 1.84±0.37, N_e = 1.29±0.30 and number of polymorphic loci = 58. Whereas *Donax* spp. from Suanson beach showed the lowest genetic diversity with N_a = 1.65±0.48, N_e = 1.25±0.31 and number of polymorphic loci = 45. The results from this study can be used to as basic information for conserve the populations of *Donax* spp. in the future.

Key words : Genetic variation, Shell morphological variation, Donax, ISSR-PCR marker

สารบัญเรื่อง

หน้า

1. บทนำ....1
2. คำสำคัญ....9
3. คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย....10
4. วิธีดำเนินการวิจัย....11
5. ผลการวิจัยและวิจารณ์....15
6. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....27
7. บรรณานุกรม....28
8. ภาคผนวก....31
9. ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่....47
10. ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของนักวิจัย....48

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ลำดับเบสของ ISSR-PCR primer.....13

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของเปลือกหอยแบบต่าง ๆ.....15

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหอย.....16

ตารางที่ 4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของสมการในการจำแนกกลุ่ม.....17

ตารางที่ 5 ความถูกต้องในการจำแนกกลุ่ม (%).....18

ตารางที่ 6 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละประชากร.....19

ตารางที่ 7 ค่า genetic identity[1] (เหนือเส้นทแยงมุม) และ ค่า genetic distance[1] (ใต้เส้นทแยงมุม).....20

ตารางที่ 8 ค่า genetic distance[1].....20

ตารางที่ 9 การจัดกลุ่มหอยเมื่อ K=4.....24

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม.....25

ตารางภาคผนวก

ตารางที่ 11 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดบางแสน.....32

ตารางที่ 12 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดชะอำ.....35

ตารางที่ 13 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดสวนสน.....38

ตารางที่ 14 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยตลับ.....41

ตารางที่ 15 Primer ที่ใช้ในการในงานวิจัยของ Hou *et al.* (2006).....44

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกของหอยเสียบ...3

ภาพที่ 2 ลักษณะภายในของหอยเสียบ...3

ภาพที่ 3 *Donax cuneatus* Linnaeus, 1758...4

ภาพที่ 4 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax cuneatus* Linnaeus, 1758...4

ภาพที่ 5 *Donax faba* Gmelin, 1791...5

ภาพที่ 6 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax faba* Gmelin, 1791...5

ภาพที่ 7 *Donax deltoides* Lamarck, 1818...6

ภาพที่ 8 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax deltoides* Lamarck, 1818...6

ภาพที่ 9 *Donax scortum* (Linnaeus, 1758)...7

ภาพที่ 10 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax scortum* (Linnaeus, 1758)...7

ภาพที่ 11 การวัดขนาดความสูง (H) กว้าง (L) และหนา (W) ของหอยเสียบและหอยตลับ...11

ภาพที่ 12 ภาพแสดงสีและลวดลายของเปลือกหอยเสียบ...15

ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่าง Function 1 และ Function 2 ของการวิเคราะห์ โดยใช้ Discriminant function analysis ของหอยเสียบและหอยตลับ (B=บางแสน C=ชะอำ S=สวนสน และ T=หอยตลับ)...18

ภาพที่ 14 Neighbor joining tree based on chord distance from allele frequency ของหอยทั้ง 4 แหล่ง...21

ภาพที่ 15 Principle coordinate analysis โดยโปรแกรม FAMD...21

ภาพที่ 16 individual tree แบบ radial tree (วาด tree โดยใช้ Phylodraw) ของหอยทั้ง 120 ตัว โดยใช้ค่า Jaccard's similarity coefficient คำนวณได้จากโปรแกรม FAMD...22

ภาพที่ 17 ภาพจากโปรแกรม Structure เมื่อกำหนดให้มีจำนวนกลุ่มของประชากร เป็น 1, 2, 3, 4 และ 5...23

ภาพที่ 18 ค่า Estimated Ln Prob ที่ K = 1, 2, 3, 4 และ 5 จำนวน 10 ซ้ำ โดยใช้จำนวน Burnin Period และ MCMC reps after burnin = 100,000 รอบ...24

ภาพที่ 19 ISSR-PCR ของ ISSR-8 ของหอยเสียบจากหาดสวนสน (ส=หาดสวนสน; Marker = 1kb)...45

ภาพที่ 20 ISSR-PCR ของ ISSR-9 ของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดสวนสน (A=หาดบางแสน, ส=หาดสวนสน; Marker = 1kb)...45

ภาพที่ 21 ISSR-PCR ของ ISSR-10 ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (A=หาดบางแสน; Marker = 1kb)...46

ภาพที่ 22 ISSR-PCR ของ ISSR-11 ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (A=หาดบางแสน; Marker = 1kb)...46

1. บทนำ

หอยเสียบเป็นสัตว์น้ำที่มีการแพร่กระจายตามชายหาดโดยทั่วไปในประเทศไทย จากการที่หอยเสียบเป็นที่นิยมนำมาบริโภคเป็นอาหารประกอบกับสภาวะแวดล้อมแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยเสียบเปลี่ยนแปลงไปอันเนื่องมาจากการพัฒนาชายหาดต่างๆ เป็นแหล่งท่องเที่ยว ย่อมส่งผลกระทบทำให้จำนวนประชากรของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในทะเลรวมทั้งหอยเสียบลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีผลกระทบต่อแหล่งอาหารของคนไทยซึ่งนิยมนำหอยเสียบมาบริโภคเป็นอาหาร นอกจากนี้หอยเสียบมีคุณลักษณะที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือหอยเสียบมักจะอาศัยตามแนวชายหาดอย่างชุกชุม มีการเคลื่อนที่อยู่ในพื้นที่จำกัดตลอดช่วงชีวิต (sedentary) และมีการกินอาหารโดยการกรองอาหาร (filter feeder) จากน้ำที่ผ่านเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นหอยเสียบจึงถูกนำมาใช้เป็นดัชนีชี้วัดที่มีชีวิต (biomonitoring) ในการวัดปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ (Goldberg *et al*., 1978; Haynes *et al*., 1995; Fishelson *et al*., 1999; Sidoumou *et al*., 2006; Papazoglou, 2007; Yawetz *et al*., 2010)

Connell and Miller, 1984 รายงานว่าการปนเปื้อนของโลหะหนักจำพวก ปรอท ทองแดง เหล็ก และแคดเมียมในน้ำทะเลในปริมาณที่สูงจะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ส่วนในประเทศไทยมีการศึกษาการตกค้างของโลหะหนักในหอยดังนี้ ส่งศรี และชัยชาญ (2526) พบว่ามีการสะสมของโลหะหนักพวกแคดเมียม ทองแดง แมงกานีส เหล็กสังกะสีในหอยเสียบ หอยแมลงภู่ และหอยนางรมปากจีบที่บริเวณอ่าวศรีราชา ในช่วงฤดูฝน (กรกฎาคม – ตุลาคม) โดยเฉพาะหอยเสียบมีโลหะเหล็กสะสมอยู่สูงโดยปริมาณค่าเฉลี่ย 438.9 ± 132.86 ไมโครกรัม/ กรัม และหอยนางรมปากจีบมีโลหะสังกะสีสะสมอยู่สูงโดยค่าเฉลี่ยที่ 599.4 ± 194.46 ไมโครกรัม/ กรัม ในขณะที่ สมชาย และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาโลหะหนักที่ตกค้างในสัตว์น้ำบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง และพบว่าปริมาณโลหะหนักจะพบปนเปื้อนในเนื้อเยื่อของหอยสองฝามากกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่นโดยพบว่ามีปริมาณปนเปื้อน แคดเมียมในหอยแมลงภู่ ที่ระดับ 0.96- 1.72 ไมโครกรัม/ กรัม สารตะกั่วที่ปนเปื้อนในหอยและกุ้งอยู่ในช่วง 0.170-0.690 ไมโครกรัม/กรัม

จากข้อมูลทั้งหมดกล่าวได้ว่าหอยเสียบมีคุณค่ามากกว่าเป็นเพียงแหล่งอาหารของมนุษย์ และควรค่าแก่การอนุรักษ์ไว้ไม่ให้ลดจำนวนลง ซึ่งหากหอยเสียบลดจำนวนลงก็อาจหมายความได้ว่าสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่อาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกันอาจได้รับผลกระทบให้ลดจำนวนลงไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งที่มีการปล่อยน้ำเสียออกมา จึงมีความจำเป็นต้องมีการดูแลให้สภาพแวดล้อมทางธรรมชาติคงอยู่อย่างยั่งยืนควบคู่ไปกับการอนุรักษ์หอยเสียบให้คงอยู่คู่ชายหาดอย่างยืนยาวควบคู่กันไป อย่างไรก็ตามในแนวทางที่หนึ่งนั้นเป็นการรักษาและอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมอันทรงคุณค่าของหอยเสียบให้คงอยู่โดยการรักษาสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ให้เหมือนเดิม แต่ดูเหมือนวิธีนี้จะเป็นไปได้ยากเต็มทีในสังคมมนุษย์ของโลกยุคโลกาภิวัตน์ที่มีแต่การทำลายสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ ดังนั้นอีกแนวทางหนึ่งที่เป็นไปได้คือ การวางแผนการอนุรักษ์พันธุกรรมของหอยเสียบเสียแต่เนิ่น ๆ ก่อนที่จำนวนของหอยเสียบจะลดลงไปมากกว่านี้ ซึ่งความ

หลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบ ณ ขณะนี้ย่อมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากอย่างเพียงพอให้เราสามารถเลือกเก็บรักษาพันธุกรรมได้อย่างครบถ้วน อย่างไรก็ตามก่อนที่แผนการอนุรักษ์พันธุกรรมจะเริ่มได้ จะต้องมีการศึกษาเสียก่อนว่าหอยเสียบที่อยู่บริเวณชายหาดต่าง ๆ ในประเทศไทยนั้นเป็นหอยเสียบที่มีพันธุกรรมเหมือนหรือแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการบ่งบอกว่าควรจะเลือกเก็บรักษาหอยเสียบจากแหล่งพันธุกรรมใดหรือชายหาดใดบ้างเพื่อให้ได้พันธุกรรมแบบต่าง ๆ ครบถ้วนสมบูรณ์ การศึกษาความแตกต่างหรือความหลากหลายของหอยเสียบนั้นทำได้ 2 วิธี คือ การประเมินจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ การประเมินโดยตรงจากข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะทำทั้งสองวิธีควบคู่กันไปเพื่อเปรียบเทียบกัน เนื่องจากในบางครั้ง หอยที่ถูกประเมินด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้คำตอบว่าเป็นหอยต่างชนิดกัน แต่เมื่อประเมินด้วยลักษณะข้อมูลทางพันธุกรรมกลับสามารถสรุปได้ว่าเป็นหอยชนิดเดียวกันเนื่องจากมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนกันนั่นเอง (Laudien *et al.*, 2003; Carstensen *et al.*, 2009) และในบางครั้งหอยที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกันแต่เมื่อประเมินด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมกลับสรุปได้ว่าเป็นหอยคนละชนิดกัน (Vadopalas *et al.*, 2004) ดังนั้นในบางครั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอต่อการค้นหาคำตอบดังกล่าว

การทำวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบจาก 3 แหล่ง ได้แก่ หาดชะอำ หาดหัวหิน และหาดในภาคตะวันออก โดยใช้วิธีทางสัณฐานวิทยา และทางพันธุกรรมโดยใช้ ISSR-PCR markers จำนวน 4 loci เพื่อเปรียบเทียบกัน โดยใช้หอยตลับเป็นตัวควบคุมเนื่องจากมีความแตกต่างกับหอยเสียบทั้ง 3 แหล่งอย่างชัดเจน โดยแนวทางในการทำวิจัยเพื่อตอบคำถามใน 4 ประเด็น คือ

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร เพื่อประเมินว่าแหล่งพันธุกรรมใดที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด และแหล่งพันธุกรรมใดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยที่สุด
2. หาความสัมพันธ์ของหอยระหว่างประชากรโดยการสร้าง phylogenetic tree เพื่อจะได้ทราบว่าประชากรหอยเสียบแต่ละแหล่งนั้นมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด
3. เปรียบเทียบเครื่องมือที่ใช้ระหว่างวิธีการวัดทางสัณฐานวิทยาของเปลือก กับการวัดโดยข้อมูลทางพันธุกรรม ว่าจะให้ผลการวิเคราะห์ที่เหมือนกันหรือไม่
4. เปรียบเทียบความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากรหอยเสียบที่อาศัยอยู่ใกล้บริเวณที่มีการปล่อยน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างจากแหล่งที่ไม่มีการปล่อยน้ำเสียหรือไม่

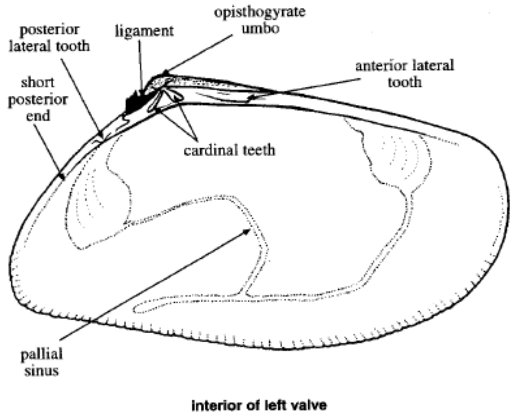
หอยเสียบ

Kingdom: Metazoa
Phylum: Mollusca
Class: Bivalvia
Subclass: Heterodonta
Order: Veneroida
Superfamily: Tellinoidea
Family: Donacidae
Genus: *Donax*

1. ลักษณะทั่วไปของหอยเสียบ

เปลือกหนาขนาดเล็กเป็นรูปสามเหลี่ยม (trigonal-ovate) เปลือกแต่ละด้านจะมีขอบด้านบนทางด้านหน้ายาวกว่าทางด้านหลัง ขอบด้านล่างของเปลือกเป็นวงกลม ส่วนยอดของเปลือกชี้ไปด้านหลังของลำตัว ผิวเปลือกด้านนอกมีลวดลายเส้นในแนวนอน ค่อนข้างเรียบ สีเปลือกด้านในและด้านนอกมีหลายสีเช่น สีขาว ครีม น้ำตาล ดำหรือสีม่วง (ภาพที่ 1) ด้านในของเปลือกมีฟันหลัก (cardinal) สองอัน และฟันขนาบข้างของฟันหลัก (lateral teeth) อีกหนึ่งอัน มีแพลเลียลไซนัส (pallial sinus) เป็นแอ่งวงกลมลึกเป็นครึ่งหนึ่งของเปลือก ขนาดของ ท่อน้ำ (siphon) ค่อนข้างยาว หอยเสียบจากธรรมชาติมีขนาดของเปลือกโดยเฉลี่ย 1.5–4 เซนติเมตร (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกของหอยเสียบ
ที่มา: สุขใจและพวงผกา, 2551



ภาพที่ 2 ลักษณะภายในของหอยเสียบ
ที่มา: Carpenter and Niem, 1999

1.1 ชนิดของหอยเสียบที่มีความสำคัญในเชิงการค้าในแต่ละพื้นที่

1. Donax cuneatus (Linnaeus, 1758)

ภาพที่ 3 *Donax cuneatus* (Linnaeus, 1758)
ที่มา: Available for download under http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm (June, 2010)

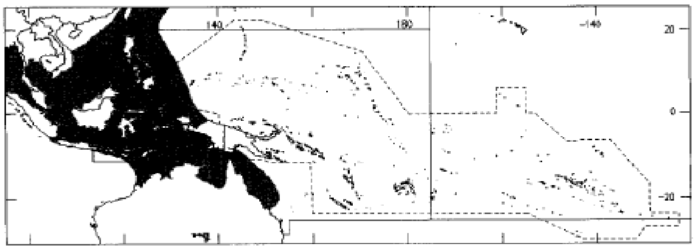
ลักษณะทั่วไป

เปลือกหนาขนาดเล็กเป็นรูปสามเหลี่ยม ส่วนยอดของเปลือกมีขนาดเล็กชี้ไปทางด้านหลังของลำตัว เปลือกแต่ละด้านจะมีขอบด้านบนทางด้านหลังสั้นกว่าทางด้านหน้า ส่วนท้ายจะลาดเอียงไปทางด้านข้าง ส่วนด้านท้องเปลือกจะไม่เป็นเหลี่ยม ผิวเปลือกด้านนอกค่อนข้างเรียบ และมีลวดลายเส้นในแนวนอนซ้อนทับกันเป็นจำนวนมาก และฟันขนาบข้างของฟันหลัก (lateral teeth) อีกหนึ่งอัน มีแพลเลียลไซนัส (pallial sinus) เป็นแอ่งวงกลมลึกเป็นครึ่งหนึ่งของเปลือก สีเปลือกด้านนอกมีหลายสี สีขาว, ครีม, น้ำตาล, เทา หรือสีม่วง สีของเส้นลวดลายจะมีสีเข้มกว่า ส่วนสีด้านในเปลือก สีส้ม หรือแถบสีม่วงบางครั้งก็เป็นสีม่วงเข้ม

ขนาด ขนาดใหญ่ที่สุด 4 เซนติเมตร ขนาดเฉลี่ยโดยไปที่พบ 2.5 เซนติเมตร

ลักษณะนิสัย จะอาศัยอยู่ตามแนวชายฝั่งบริเวณน้ำขึ้นน้ำลง ฤดูกาลและกระแสน้ำขึ้นน้ำลงมีผลต่อการอพยพย้ายถิ่นฐาน

แหล่งที่พบ แถบมหาสมุทรอินเดียพบที่ประเทศอินเดีย ศรีลังกา และทางตอนเหนือของญี่ปุ่นและทั้งทางตอนเหนือและตอนใต้ของทวีปออสเตรเลีย



ภาพที่ 4 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax cuneatus* (Linnaeus, 1758)
ที่มา: Carpenter and Niem, 1999

2. Donax faba (Gmelin, 1791)

ภาพที่ 5 *Donax faba* (Gmelin, 1791)
ที่มา: Available for download under http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm (June, 2010)

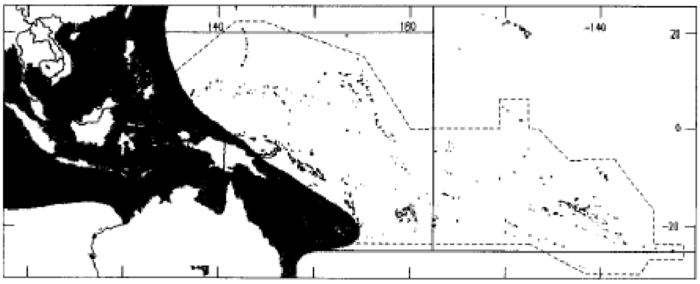
ลักษณะทั่วไป

เปลือกหนาขนาดเล็กเป็นรูปสามเหลี่ยม ส่วนยอดของเปลือกมีขนาดเล็กชี้ไปทางด้านหลังของลำตัวเล็กน้อย ส่วนท้องมีขนาดใหญ่เป็นภาพครึ่งวงกลม ผิวเปลือกด้านนอกมีเส้นลวดลายซ้อนทับกันเป็นจำนวนมากในแนวนอน เรียงตัวสลับกันไม่เป็นระเบียบ ผิวเปลือกด้านนอกค่อนข้างเรียบ สีเปลือกด้านนอกมีหลายสี สีขาว ครีม น้ำตาลหรือม่วง เส้นลวดลายจะมีสีเข้มกว่าเรียงตัวกันเป็นแฉกๆ สีเปลือกด้านใน มีลักษณะเป็นตุ่มๆสีขาว บางครั้งเป็นสีส้ม หรือแถบสีม่วงสลับกัน

ขนาด หอยเสียบ *Donax faba* (Gmelin, 1791) ที่ขนาดใหญ่ที่สุดยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร โดยทั่วไปที่พบจะมีขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร

ลักษณะนิสัย พบตามแนวชายหาดที่มีคลื่นซัด มีการอพยพไปตามฤดูกาลและกระแสน้ำ *Donax faba* เป็นเหยื่อสำหรับปูและนกในระหว่างการอพยพย้ายถิ่นฐาน และมีความสำคัญในทางการค้าพบในตลาดหลายแห่ง เช่น ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์

แหล่งที่พบ พบทั้งในทางตอนเหนือและทางตอนใต้ของประเทศญี่ปุ่น และทางตอนใต้ของ New South Wales



ภาพที่ 6 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax faba* (Gmelin, 1791)
ที่มา: Carpenter and Niem, 1999

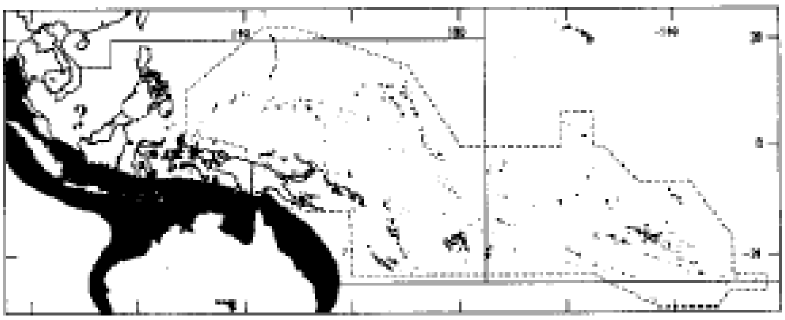
3. Donax deltoides (Lamarck, 1818)

ภาพที่ 7 *Donax deltoides* (Lamarck, 1818)
ที่มา: Murray-Jones and Johnson, 2003

ลักษณะทั่วไป

Donax deltoides ขนาดใหญ่ที่สุดยาวประมาณ 7 เซนติเมตร โดยปกติหอยจะมีขนาดประมาณ 4.5 เซนติเมตร พบได้ตามบริเวณชายหาดแนวน้ำขึ้นน้ำลงและบริเวณน้ำตื้น

แหล่งที่พบ ทางตะวันออกของมหาสมุทรอินเดีย และทางตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิก แถบ ทะเลอันดามัน และ ไอซ์แลนด์ อินโดนีเซีย และออสเตรเลีย



ภาพที่ 8 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax deltoides* Lamarck, 1818
ที่มา: Carpenter and Niem, 1999

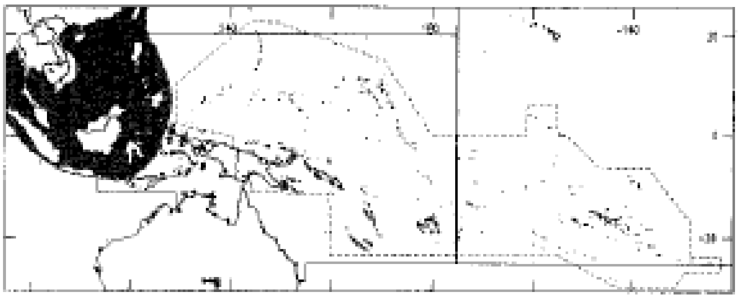
4. *Donax scortum* (Linnaeus, 1758)

ภาพที่ 9 *Donax scortum* (Linnaeus, 1758)
ที่มา: Available for download under http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm (June, 2010)

ลักษณะทั่วไป

Donax scortum ขนาดใหญ่ที่สุดยาวประมาณ 9 เซนติเมตร โดยขนาดปกติจะมีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร พบได้ตามทรายปนโคลน แนวน้ำขึ้นน้ำลงและบริเวณแนวน้ำตื้น

แหล่งที่พบ ทางตอนเหนือของประเทศจีน และทางตอนใต้ของอินโดนีเซีย ในประเทศไทยพบที่ทางตะวันตกของเกาะภูเก็ต



ภาพที่ 10 แหล่งที่พบหอยเสียบชนิด *Donax scortum* (Linnaeus, 1758)
ที่มา: Carpenter and Niem, 1999

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบโดยใช้สัณฐานวิทยาและเทคนิค ISSR-PCR marker

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอยจำแนกได้เป็น 2 วิธีใหญ่ๆ คือ การศึกษาโดยสัณฐานวิทยาภายนอก และการศึกษาโดยพันธุศาสตร์โมเลกุล (Gwo *et al.*, 2002; Hou *et al.*, 2006; Kong et al., 2007; Carstensen *et al.*, 2009) การศึกษาโดยสัณฐานวิทยาเป็นวิธีที่ประหยัดรวดเร็วแต่ในบางครั้งไม่สามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากแหล่งต่างๆ นั้นที่มีลักษณะภายนอกเหมือนกันจะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันหรือไม่ เนื่องจากลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันนั้นอาจเป็นอิทธิพลมาจากสิ่งแวดล้อมของถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยเสียบแตกต่างกัน โดยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ดังนั้นในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับพันธุศาสตร์โมเลกุลควบคู่กันไปด้วย

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับพันธุศาสตร์โมเลกุลสามารถทำได้หลายวิธี โดยวิธี microsatellite markers เป็นวิธีการหนึ่งที่เป็นที่นิยมใช้ศึกษาในปัจจุบัน (Chambers and MacAvoy, 2000) และเป็นที่นิยมใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอย (Cruz *et al.*, 2005; Hou *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006; Saavedra and Bachere, 2006; Dubois *et al.*, 2008; Nicot *et al.*, 2008) เนื่องจาก microsatellite loci กระจายตัวอยู่ทั่วทั้งจีโนมของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่ง microsatellite ชนิดที่เป็น dinucleotide (Cruz *et al.*, 2005) ซึ่งสามารถใช้ในการแยกความแตกต่างระหว่าง 2 ประชากรที่มีเหมือนกันหรือมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากได้ (Saavedra and Bachere, 2006) ในงานวิจัยชิ้นนี้ใช้วิธี ISSR-PCR marker (Inter-Simple Sequence Repeats-PCR marker) ซึ่งเป็นการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA บริเวณที่เป็น microsatellite หลายๆ loci พร้อมกัน ในการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ได้ประสบความสำเร็จในการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตหลายๆ ชนิด เช่น หอย กุ้ง และ silkworm เป็นต้น เทคนิค ISSR-PCR marker นี้ยังสามารถตรวจสอบยีนได้หลายตำแหน่งมากกว่าใช้เทคนิค isozyme ขณะเดียวกันก็มีความ stable มากกว่าเทคนิค RAPD ด้วย ซึ่งจากงานวิจัยของ Hou *et al.* (2006) ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในหอยสองฝา (*Mactra veneriformis*) และได้ประสบความสำเร็จในการใช้หาความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งภายในประชากรที่อยู่ในแหล่งเดียวกันและระหว่างประชากรที่อาศัยอยู่คนละแหล่งกันของหอยสองฝาชนิดนี้ได้ ส่วนในประเทศไทยมีการใช้เทคนิคนี้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอยลายและปลาทูเช่นเดียวกัน (ธีระรักษ์ และศานิต, 2552; ปฏิพล และคณะ, 2552) ซึ่งหลักการเลือกใช้ primer ที่ใช้ในงานวิจัยนี้โดยการเลือกสุ่มจาก primer ที่เป็นชนิด di-repeat และให้จำนวน polymorphic loci สูงกว่า 9 ขึ้นไป (ตารางที่ 14)

2. คำสำคัญ

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย หอยเสียบ ไมโครแซทเทิลไลท์มาร์กเกอร์ โลหะหนัก

Keywords : Genetic variation, Shell morphological variation, Donax, Microsatellite marker, Heavy metal

3. คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

1. ISSR-markers ย่อมาจาก inter-simple sequence repeat markers ในงานวิจัยนี้เป็นการใช้ primer ที่เป็น DNA สายสั้น ๆ เพียงเส้นเดียวในการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละโลคัสในหอยเสียบและหอยตลับแต่ละตัว

4. วิธีดำเนินการวิจัย

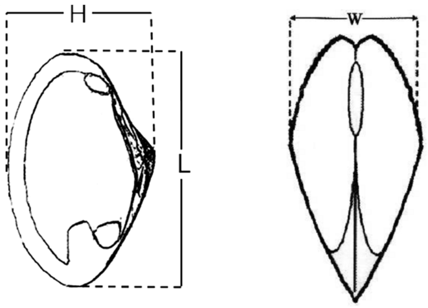
4.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างหอยเสียบจากชายหาดบางแสน จ.ชลบุรี บริเวณที่มีการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำน้ำปลา ชายหาดชะอำ จ.เพชรบุรี ชายหาดสวนสน จ.ประจวบคีรีขันธ์ หาดละ 100 ตัวอย่าง และทำการเก็บตัวอย่างหอยตลับ 100 ตัวอย่างจากชายหาดชะอำ เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลากทางสัณฐานวิทยา หลังจากนั้นเลือกมาแหล่งละ 30 ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

4.2 การวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือก

4.2.1 บันทึกลักษณะสีและลวดลายของหอยเสียบแต่ละแหล่ง

4.2.2 วัดขนาดความสูง (H) กว้าง (L) และหนา (W) ของหอยเสียบและหอยตลับทุกตัว (ภาพที่ 11) ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์



ภาพที่ 11 การวัดขนาดความสูง (H) กว้าง (L) และหนา (W) ของหอยเสียบและหอยตลับ

4.2.3 คำนวณหาสัดส่วนความสูงต่อความกว้าง (H/L) และ สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง (W/L)

4.2.4 นำค่าขนาดความสูง ความกว้าง ความหนา สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง และ สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง ไปวิเคราะห์สถิติที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มโดยวิธี Discriminant function analysis เพื่อหาว่าหอยเสียบจากทั้ง 3 หาด มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาหรือไม่

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรม

4.3.1 นำตัวอย่างหอยเสียบจากทั้ง 3 หาด หาดละ 30 ตัว พร้อมด้วยหอยตลับอีก 30 ตัว แช่ในน้ำแข็งจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการ

4.3.2 การสกัด DNA จากตัวอย่างเนื้อหอยโดยใช้ชุดสกัด DNA Trap II จากห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยมีวิธีการสกัด DNA ดังต่อไปนี้

4.3.2.1 นำเนื้อหอยมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 cm^2 จำนวน 2 ชิ้น ใส่ลงใน tube ขนาด 1.5 ml

4.3.2.2 เติม extraction buffer II ปริมาตร 300 ul ลงในหลอดที่มีตัวอย่างอยู่ บดตัวอย่างให้ละเอียด เติม extraction buffer II ปริมาตร 200 ul ลงในตัวอย่างที่บดแล้ว นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 1-2 ชั่วโมง

4.3.2.3 นำออกจากตู้ incubator แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm นาน 10 นาที จากนั้นจึงดึงส่วนใสด้านบนออกมาใส่ในหลอด 1.5 ml หลอดใหม่

4.3.2.4 เติม trapping buffer 500 ul ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง

4.3.2.5 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง ระวังอย่าให้ตะกอนหลุด

4.3.2.6 เติม washing buffer I 500 ul ลงในหลอดที่มีตะกอนอยู่ vortex ให้ตะกอนแตกตัว

4.3.2.7 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง ระวังอย่าให้ตะกอนหลุด

4.3.2.8 ทำซ้ำข้อที่ 6-7

4.3.2.9 เติม washing buffer II 500 ul ลงในหลอดที่มีตะกอนอยู่ vortex ให้ตะกอนแตกตัว

4.3.2.10 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10, 000 rpm นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง ระวังอย่าให้ตะกอนหลุด

4.3.2.11 ทำให้ตะกอนแห้งโดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 65 °C เมื่อตะกอนแห้ง เติม elution buffer 100 ul แล้วนำไป vortex ให้ตะกอนแตกตัว

4.3.2.12 นำไปใส่ในตู้ incubator 65 °C นาน 30 นาที

4.3.2.13 นำออกจากตู้ incubator แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm นาน 5 นาที

4.3.2.14 ดึงเฉพาะส่วนใสมาใส่หลอดใหม่

4.3.2.15 เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ –20 °C

4.3.3 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างหอย โดยการเปรียบเทียบกับ DNA มาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ 1% agarose Gel Electrophoresis และย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide ตรวจดูแถบดีเอ็นเอบนแผ่น agarose gel โดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพ

4.3.4 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA บริเวณที่ต้องการ (ISSR-PCR markers)

จำนวน primer ที่ใช้ในการทำ PCR มีทั้งหมด 5 primer ได้แก่ ISSR-7, ISSR-8, ISSR-9, ISSR-10 และ ISSR11 ซึ่งมีลำดับเบสและคุณสมบัติต่างๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลำดับเบสของ ISSR-PCR primer

Primers	Sequence (5'→3')	GC (%)	T_m (^{O}C)
ISSR-7	$(CT)_8T$	47.1	49
ISSR-8	$(AC)_8T$	47.1	45
ISSR-9	$(AC)_8G$	47.1	45
ISSR-10	$(TG)_8GT$	50	48
ISSR-11	$(AG)_8TG$	50	54

ในปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการนั้นจะประกอบไปด้วย DNA 20 ng, primer 0.5 pmol, 1X Taq buffer, 1.6 mM $MgCl_2$, 200 uM dNTPs, และเอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.4 unit ในปริมาตรทั้งหมด 10 ul เมื่อผสมองค์ประกอบต่าง ๆ เข้าด้วยกันแล้ว จึงนำไปใส่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (GeneAmp^R PCR System 9700 (Applied Biosystem)) ซึ่งมีอุณหภูมิต่างๆดังนี้คือ

94 ^{o}C 5 นาที

94 ^{o}C 1 นาที ⎫

__ ^{o}C * 1 นาที ⎬ __ cycles *

72 ^{o}C 2 นาที ⎭

72 ^{o}C 7 นาที

* primer ISSR-8, ISSR-9 ใช้อุณหภูมิ 46 ^{o}C 35 cycles

primer ISSR-7, ISSR-10 ใช้อุณหภูมิ 50 ^{o}C 35 cycles

primer ISSR-11 ใช้อุณหภูมิ 52 ^{o}C 40 cycles

หลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา หยุดปฏิกิริยาด้วย 5 ul Loading buffer (10 mM EDTA, pH 8.0), 98% (formamide, bromophenol blue and xylenecyanol)

4.3.5 การตรวจสอบผลของปฏิกิริยา PCR และการวิเคราะห์ผล

นำ PCR product ที่ได้จากการทำ PCR มาตรวจสอบผลโดยใช้ 2% agarose gel electrophoresis ใน 0.5X TBE buffer และย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide 1ug/ml เพื่อดูแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพ

4.3.6 ทำการแปลผลแถบ DNA ที่เกิดขึ้น โดยบันทึกผลเป็น 0 = ไม่มีแบน และ 1 = มีแบน

4.3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุศาสตร์โดยการวิเคราะห์หาค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรและระหว่างประชากร โดย

- ค่า mean number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), gene diversity (Nei, 1973), Shannon's information index (SI), จำนวน polymorphic loci, genetic identity และ genetic distance วิเคราะห์โดยโปรแกรม PogGene version 1.32 (Yeh and Yang, 1999)

- ดูความเหมือนและความแตกต่างพันธุกรรมและคำนวณหาจำนวนกลุ่มของประชากรที่ควรจะเป็น โดยใช้โปรแกรม Structure ที่ K=1 ถึง K=5

- ค่า genetic distance ระหว่างประชากรคำนวณจากค่า chord distance from allele frequency estimates based on the Bayesian (non-uniform prior from among-population information) method คำนวณโดยโปรแกรม FAMD และสร้าง neighbor joining tree โดยใช้โปรแกรม phylodraw

- ใช้โปรแกรม FAMD ในการคำนวณค่า Jaccard's similarity coefficient ของหอยทั้ง 120 ตัว และสร้าง individual tree แบบ radial tree โดยใช้โปรแกรม Phylodraw

5. ผลการวิจัยและวิจารณ์

5.1 ลักษณะของสีและลวดลายของเปลือกหอยเสียบ

จากการเก็บข้อมูลพบว่าสามารถจำแนกสีและลวดลายของเปลือกหอยเสียบได้เป็น 5 แบบ ได้แก่ สีดำ สีน้ำตาล สีขาว สีขาวสลับดำ (พื้นสีขาวมีเส้นลายขวางสีดำ) และ สีขาวสลับน้ำตาล (พื้นสีขาวมีเส้นลายขวางสีน้ำตาล) (ภาพที่ 12)

ก. สีดำ ข. สีน้ำตาล ค. สีขาว ง. สีขาวสลับดำ จ.สีขาวสลับน้ำตาล

ภาพที่ 12 ภาพแสดงสีและลวดลายของเปลือกหอยเสียบ

จากการเก็บตัวอย่างหอยเสียบหาดละ 100 ตัวอย่าง พบว่ามีเปลือกหอยสีดำและเปลือกหอยสีน้ำตาลพบมากที่สุดในหาดบางแสน และหาดชะอำ โดยหาดบางแสนและหาดชะอำพบเปลือกหอยสีดำเท่ากับ 34% และ 39% ตามลำดับ และพบเปลือกหอยสีน้ำตาล 31% และ 34% ตามลำดับ ส่วนเปลือกหอยสีขาวพบมากในหอยเสียบจากหาดสวนสน (65%) มากที่สุด ส่วนในหอยตลับก็พบเปลือกหอยสีขาวมากที่สุดเช่นกันโดยมีค่าเท่ากับ 64% (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าไม่พบเปลือกหอยสีขาวสลับน้ำตาลในประชากรหอยเสียบจากหาดสวนสนเลย ส่วนในหอยตลับก็ไม่พบเปลือกหอยสีขาวสลับดำเช่นกัน

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของเปลือกหอยแบบต่าง ๆ

	จำนวน	สีดำ	สีน้ำตาล	สีขาว	สีขาวสลับดำ	สีขาวสลับน้ำตาล
บางแสน	100	34	31	7	18	10
ชะอำ	100	39	34	11	3	13
สวนสน	100	25	2	65	8	0
หอยตลับ	100	18	17	64	0	1

5.2 ผลการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา

5.2.1 ผลการวัดขนาดของเปลือกหอย

จากการวัดขนาดความสูง ความกว้าง ความหนา และ คำนวณหาสัดส่วนความสูงต่อความกว้าง และ สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง (ตารางที่ 3) พบว่าหากพิจารณา 3 ตัวแปรแรก ได้แก่ ความสูง ความกว้าง และความหนา จะพบว่า หอยตลับมีขนาดเปลือกหอยใหญ่ที่สุดโดยใหญ่กว่าหอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่ง โดยหอยตลับมีความสูง 4.22±0.43 ซม. ความกว้าง 3.37±0.40 ซม. และความหนา 2.25±0.32 ซม.

ถ้าพิจารณาเฉพาะกลุ่มของหอยเสียบจะพบว่าหอยเสียบจากหาดชะอำมีขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีความสูง=2.18±0.25 ซม. ความกว้าง=1.42±0.19 ซม. และความหนา=0.71±0.10 ซม. หอยเสียบจากหาดบางแสนมีขนาดใหญ่เป็นอันดับสองและมีขนาดใกล้เคียงกันกับหอยเสียบจากหาดชะอำ (ความสูง=1.81±0.19 ซม. ความกว้าง=1.17±0.10 ซม. และความหนา=0.66±0.08 ซม.) และหอยเสียบที่มีขนาดเล็กที่สุดเป็นหอยเสียบจากหาดสวนสนโดยมีความสูง 1.32±0.26 ซม. ความกว้าง 1.10±0.19 ซม. และ ความหนา 0.59±0.10 ซม.

อย่างไรก็ตามหากพิจารณาตัวแปรสัดส่วนความสูงต่อความกว้างจะพบว่าสัดส่วนความสูงต่อความกว้างของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 0.65±0.12 ซม. และ 0.65±0.03 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่สัดส่วนความสูงต่อความกว้างของหอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าใกล้กันกับสัดส่วนความสูงต่อความกว้างของหอยตลับ โดยมีค่าเท่ากับ 0.86±0.30 ซม. และ 0.80±0.03 ซม. ตามลำดับ ส่วนค่าสัดส่วนความหนาต่อความกว้างของหอยตลับมีค่าสูงกว่าหอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่ง โดยหอยตลับมีค่าสัดส่วนความหนาต่อความกว้างเท่ากับ 0.67±0.03 ซม. ส่วนในกลุ่มของหอยเสียบนั้นพบว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนมีค่าสัดส่วนความหนาต่อความกว้างสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 0.57±0.06 ซม. รองลงมาคือหอยเสียบจากหาดสวนสน (0.53±0.06 ซม.) และหาดชะอำ (0.50±0.02 ซม.) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหอย

ชายหาด	**ความสูง (ซม.)**	**ความกว้าง (ซม.)**	**ความหนา (ซม.)**	**ความสูง/ความกว้าง**	**ความหนา/ความกว้าง**
บางแสน					
ค่าเฉลี่ย±SD	1.81±0.19	1.17±0.10	0.66±0.08	0.65±0.12	0.57±0.06
min-max	0.54-2.29	0.96-1.50	0.50-1.14	0.59-1.83	0.46-1.03
ชะอำ					
ค่าเฉลี่ย±SD	2.18±0.25	1.42±0.19	0.71±0.10	0.65±0.03	0.50±0.02
min-max	1.65-2.76	1.04-1.89	0.54-0.96	0.57-0.72	0.43-0.56
สวนสน					
ค่าเฉลี่ย±SD	1.32±0.26	1.10±0.19	0.59±0.10	0.86±0.30	0.53±0.06
min-max	0.24-2.12	0.72-1.48	0.38-0.83	0.61-3.79	0.43-1.08
หอยตลับ					
ค่าเฉลี่ย±SD	4.22±0.43	3.37±0.40	2.25±0.32	0.80±0.03	0.67±0.03
min-max	3.57-5.77	2.81-4.92	1.82-3.34	0.63-0.85	0.61-0.77
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

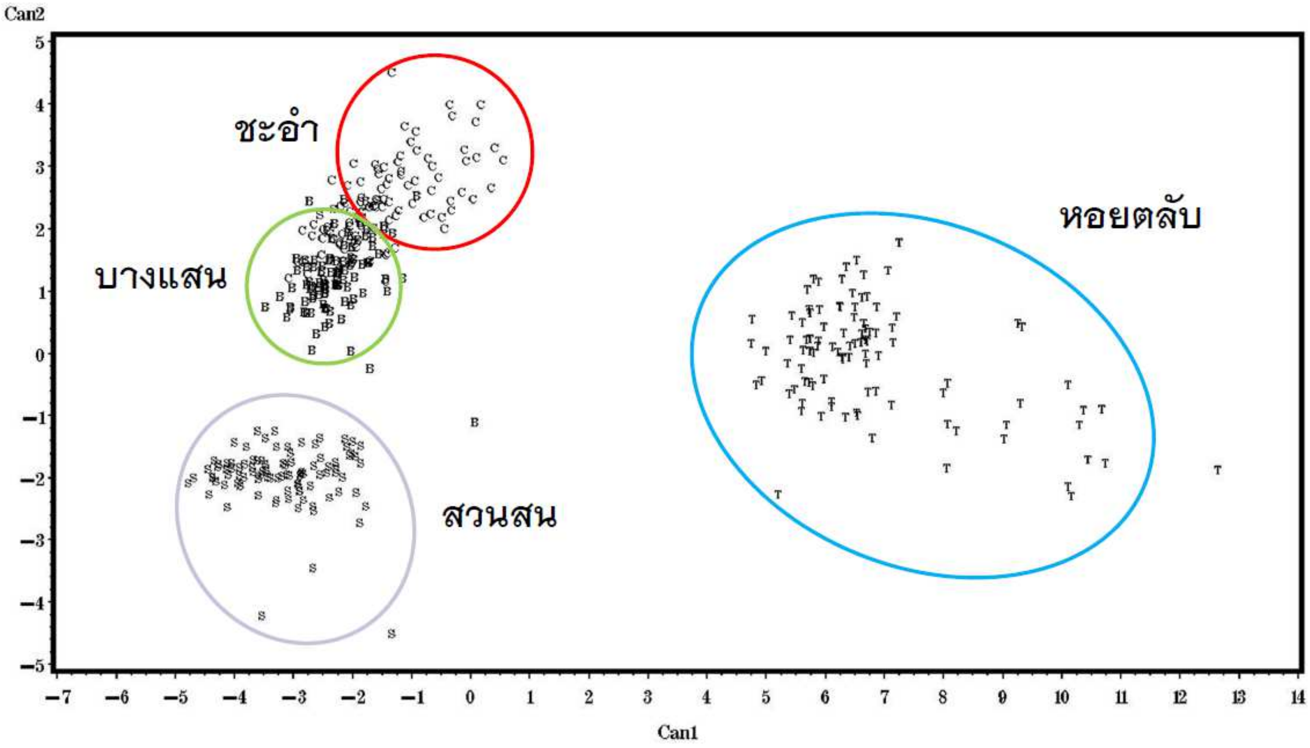
5.2.2 ผลการวิเคราะห์ Discriminant function analysis

จากการนำค่าขนาดความสูง ความกว้าง ความหนา สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง และสัดส่วนความหนาต่อความกว้างของหอยทั้งหมด 400 ตัว ไปสร้างสมการการจำแนกกลุ่มโดยใช้สถิติแบบ Discriminant function analysis with equal priors พบว่าทั้งสมการ Function I และ Function II สามารถใช้ในการอธิบาย variance ของประชากรได้ 85.1% และ 13.0% ตามลำดับ และจากผลการทดสอบยังพบอีกว่าสมการทั้งสองมีความสามารถในการจำแนกกลุ่มได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ด้วยค่า P<0.01 โดยพบว่าในสมการของ Function I ตัวแปรที่มีความสามารถในการจำแนกกลุ่มสูงสุดจากมากไปน้อย คือ ความกว้าง (0.727) ความสูง (0.430) สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง (0.317) ความหนา (-0.189) และ สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง (0.135) ตามลำดับ ด้วยค่า Wilks' Lambda=0.012, Chi-square=1,733.43, df.=15, P-value=0.000 และ Canonical correlation=0.970 ส่วนสมการของ Function II ตัวแปรที่มีความสามารถในการจำแนกกลุ่มสูงสุดจากมากไปน้อย คือ ความสูง (2.573) ความกว้าง (-1.849) ความหนา (-0.613) สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง (0.335) และ สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง (-0.120) ตามลำดับ ด้วยค่า Wilks' Lambda=0.211, Chi-square=613.318, df.=8, P-value=0.000 และ Canonical correlation=0.843 (ตารางที่ 4)

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสมการ Function I (แกน X) กับ สมการ Function II (แกน Y) โดยแทนค่าลงในสมการของ Function I กับ Function II พบว่าค่าที่ได้จากสมการจำแนกกลุ่มทั้งสองนั้นสามารถจำแนกหอยเสียบออกเป็นอย่างน้อย 3 กลุ่มอย่างชัดเจนคือ หอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำรวมกัน หอยเสียบจากหาดสวนสน และหอยตลับ (ภาพที่ 13) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าสมการที่ได้จากการคำนวณจะสามารถใช้ในการทำนายเพื่อจำแนกกลุ่มได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติก็ตาม แต่เมื่อนำมาตรวจสอบความผิดพลาดของการใช้สมการในการจำแนกกลุ่มดังกล่าวก็พบว่ายังมีความผิดพลาดเกิดขึ้นในกลุ่มของหอยเสียบ ส่วนหอยตลับนั้นสามารถใช้สมการในการจำแนกกลุ่มถูกต้อง 100 % (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของสมการในการจำแนกกลุ่ม

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	Discriminant analysis with equal priors	
	Function I	Function II
Intercept	-11.904	-3.793
ความสูง (ซม.)	1.439	8.610
ความกว้าง (ซม.)	2.960	-7.523
ความหนา (ซม.)	-1.040	-3.364
ความสูง/ความกว้าง	0.819	2.039
ความหนา/ความกว้าง	6.589	-2.491



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่าง Function 1 และ Function 2 ของการวิเคราะห์โดยใช้ Discriminant function analysis ของหอยเสียบและหอยตลับ (B=บางแสน C=ชะอำ S=สวนสน และ T=หอยตลับ)

ตารางที่ 5 ความถูกต้องในการจำแนกกลุ่ม (%)

	บางแสน	ชะอำ	สวนสน	หอยตลับ
บางแสน	94	5	1	0
ชะอำ	14	86	-	-
สวนสน	1	2	97	0
หอยตลับ	-	-	-	100

ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าถ้านำหอยเสียบจากหาดบางแสนมาจำนวน 100 ตัว แล้วลองใช้สมการที่ได้จากการวิเคราะห์ Discriminant function analysis ในการทำนาย จะสามารถทำนายถูกต้องเพียง 94% นั่นคือทำนายว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดบางแสนทั้งหมด 94 ตัว ส่วนอีก 5 ตัวที่เหลือถูกจัดอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดชะอำ 5 ตัว และหอยเสียบจากหาดสวนสน 1 ตัว ส่วนในการใช้สมการทำนายในการจำแนกกลุ่มของหอยเสียบจากหาดชะอำ พบว่าหอยเสียบทั้งหมด 100 ตัวจากหาดชะอำสามารถถูกจัดอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดชะอำทั้งหมด 84 ตัว ส่วนอีก 16 ตัวที่เหลือจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดบางแสน และสุดท้ายหอยเสียบจากหาดสวนสนมีความถูกต้องของการใช้สมการจำแนกกลุ่มนี้ 97% โดยอีก 3% ที่เหลือนั้นทำนายผิดพลาดโดยทำนายให้ไปอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดบางแสน (1%) และหาดชะอำ (2%) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดในการใช้สมการ Discriminant function analysis ในการจัดกลุ่มนี้ก็ยังอยู่ในระดับที่สูงเนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องในการจัดกลุ่มมีค่ามากกว่า 86% ขึ้นไป

5.2.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรม

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง DNA โดยใช้วิธี ISSR-PCR markers จำนวนทั้งสิ้น 5 primer พบว่า มี 1 primer ที่ให้ผลเป็น monomorphic คือ ISSR-7 ส่วนอีก 4 primer ให้ผลเป็น polymorphic ดังนั้นในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล DNA จะให้เพียง 4 primer ที่เป็น polymorphic นี้เท่านั้น

ตารางที่ 6 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละประชากร

	จำนวนตัวอย่าง	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]	**จำนวน polymorphic loci (%)**
บางแสน	30	1.90±0.30	1.26±0.28	0.18±0.15	0.29±0.21	62 (89.86)
ชะอำ	30	1.84±0.37	1.29±0.30	0.19±0.16	0.31±0.22	58 (84.06)
สวนสน	30	1.65±0.48	1.25±0.31	0.16±0.17	0.26±0.25	45 (65.22)
หอยตลับ	30	1.74±0.44	1.18±0.27	0.12±0.15	0.21±0.21	51 (73.91)
	120	2.00±0.00	1.29±0.24	0.20±0.13	0.34±0.18	69 (100.00)

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964), [3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

เมื่อพิจารณาค่า Mean number of alleles (N_a), และ จำนวน polymorphic loci (ตารางที่ 6) สามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุดโดยมีค่า N_a=1.90±0.30 อัลลีล และ จำนวน polymorphic loci=62 loci รองลงมาคือหอยเสียบจากหาดชะอำ (N_a=1.84±0.37 อัลลีล และ จำนวน polymorphic loci=58 loci) และหอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุดโดยมีค่า N_a=1.65±0.48 อัลลีล และ จำนวน polymorphic loci=45 loci และยังต่ำกว่าหอยตลับซึ่งมีค่า N_a=1.74±0.44 อัลลีล และ จำนวน polymorphic loci=51 loci อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบจากทั้งหาดบางแสน (N_a=1.90 อัลลีล) และหาดชะอำ (N_a=1.84 อัลลีล) มีค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่หอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างจากแหล่งอื่นอย่างชัดเจน (N_a=1.65 อัลลีล)

หากพิจารณาที่ค่า Effective number of alleles (N_e), Nei's (1973) gene diversity (H), และค่า Shannon's information index (SI) นั้นจะพบว่าหอยเสียบจากหาดชะอำมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด (N_e=1.29±0.30 อัลลีล, H=0.19±0.16 และ SI=0.31±0.22) รองลงมาคือหอยเสียบจากหาดบางแสน (N_e=1.26±0.28 อัลลีล, H=0.18±0.15 และ SI=0.29±0.21) และหาดสวนสน (N_e=1.25±0.31 อัลลีล, H=0.16±0.17 และ SI=0.26±0.25) ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ที่ได้สามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากหาดชะอำและหาดบางแสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน ในขณะ

ที่หอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างจากแหล่งอื่นอย่างชัดเจน และต่ำกว่าหอยตลับด้วย (N_e=1.18±0.27 อัลลีล, H=0.12±0.15 และ SI=0.21±0.21)

เมื่อพิจารณาทั้งค่า genetic identity และ ค่า genetic distance คำนวณโดยวิธีของ Nei, 1972 (ตารางที่ 7) จะพบว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมมากที่สุดโดยมีค่า genetic identity=0.9763 ในขณะที่หอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุด (genetic distance=0.0240) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าหอยเสียบจากหาดชะอำและหาดบางแสนมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุด

ตารางที่ 7 ค่า genetic identity[1] (เหนือเส้นทแยงมุม) และ ค่า genetic distance[1] (ใต้เส้นทแยงมุม)

	บางแสน	**ชะอำ**	**สวนสน**	**หอยตลับ**
บางแสน	-	0.9763	0.9078	0.9542
ชะอำ	0.0240	-	0.9133	0.9606
สวนสน	0.0967	0.0907	-	0.9194
หอยตลับ	0.0469	0.0402	0.0840	-

[1] = Nei, 1972 (Am. Nat. 106:283-292)

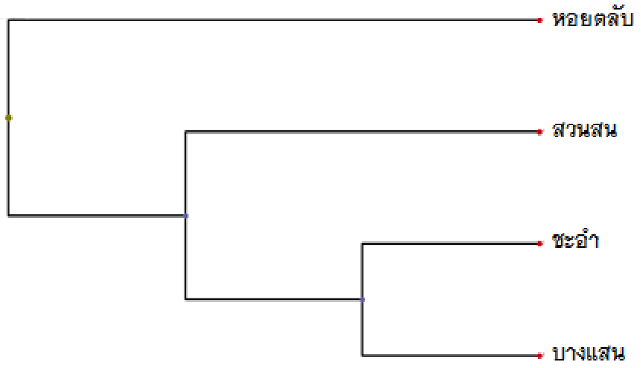
[*] หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยการทดสอบ Bonferroni correction

ค่า genetic distance ที่ได้จากการคำนวณได้โดยอีกวิธีหนึ่ง (Chord distance from allele frequency estimates based on the Bayesian method) ดังในตารางที่ 8 ซึ่งก็ให้ผลไปในทำนองเดียวกันกับการใช้ค่า genetic distance ที่คำนวณโดยวิธีของ Nei, 1972 คือระยะทางทางพันธุกรรมระหว่างหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความแตกต่างกันน้อยที่สุดโดยมีค่า genetic distance=0.0871 อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการง่ายในการแปลผลข้อมูลผู้วิจัยจึงนำค่า genetic distance จากตารางที่ 7 มาสร้าง Neighbor joining tree (NJ) ดังภาพที่ 14 ซึ่งจาก tree ที่สร้างได้สามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุด รองลงมาคือหอยเสียบจากหาดสวนสน โดยมีหอยตลับเป็น outgroup

ตารางที่ 8 ค่า genetic distance[1]

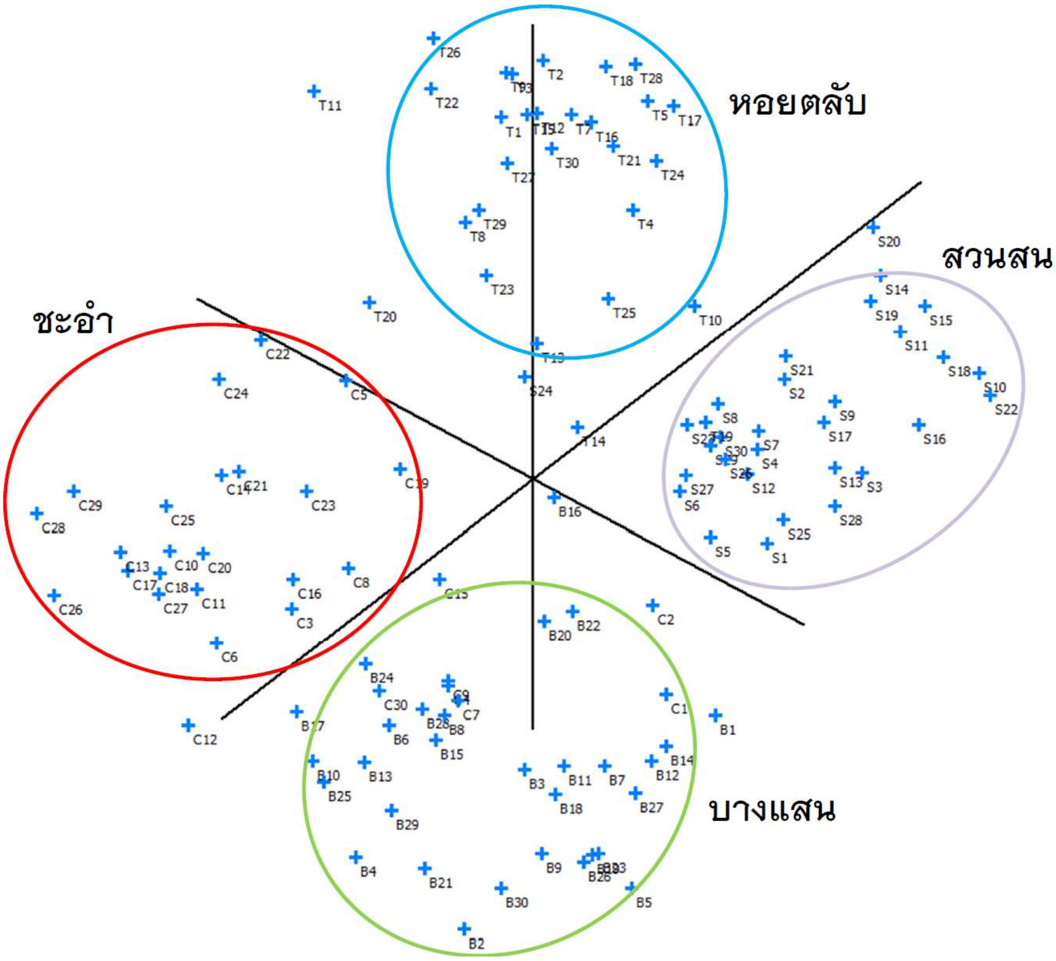
	บางแสน	**ชะอำ**	**สวนสน**	**หอยตลับ**
บางแสน	-			
ชะอำ	0.0871	-		
สวนสน	0.1444	0.1364	-	
หอยตลับ	0.1127	0.1121	0.1259	-

[1] genetic distance ระหว่างประชากรคำนวณจากค่า chord distance from allele frequency estimates based on the Bayesian (non-uniform prior from among-population information) method คำนวณโดยโปรแกรม FAMD



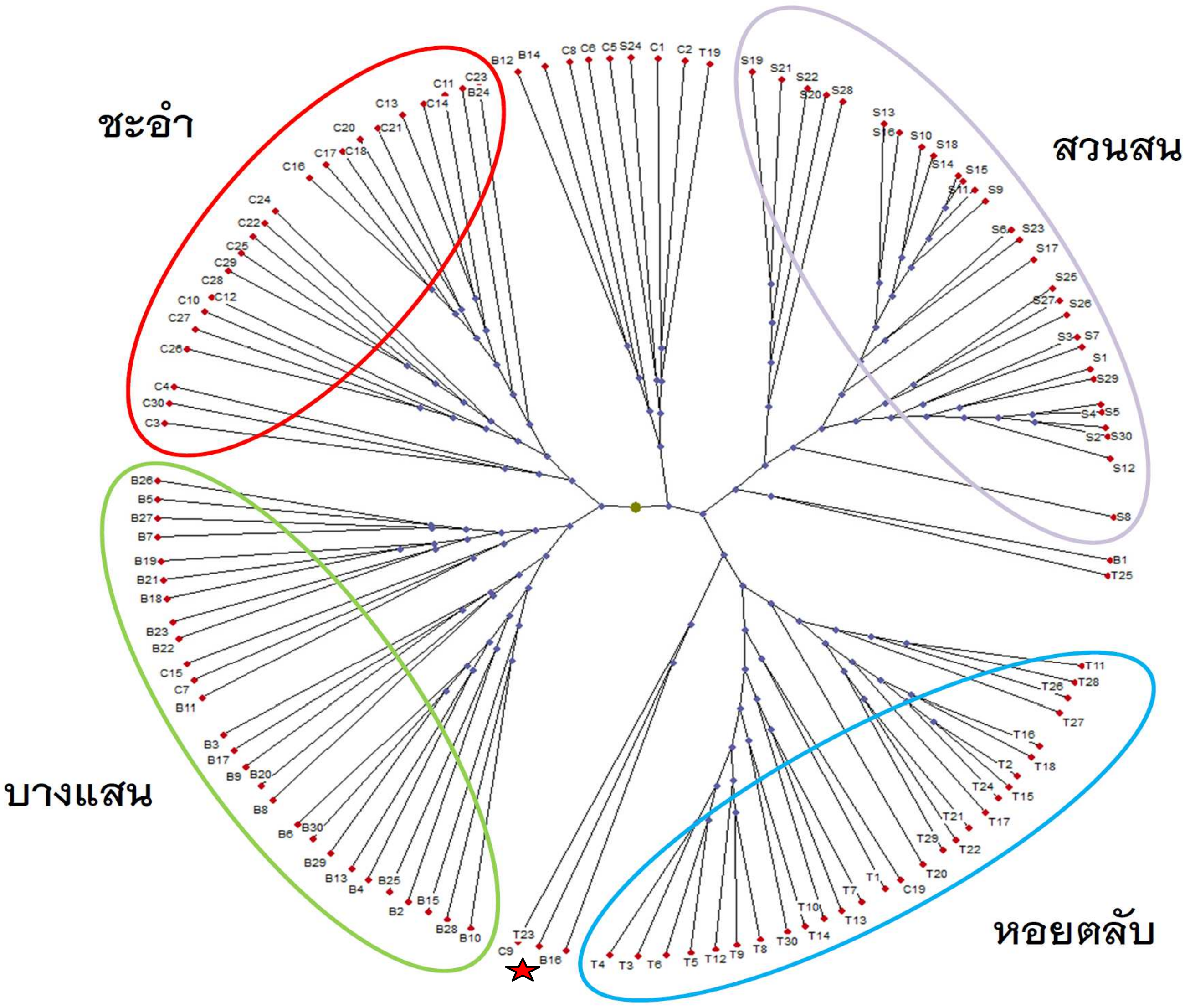
ภาพที่ 14 Neighbor joining tree based on chord distance from allele frequency ของหอยทั้ง 4 แหล่ง (สร้างโดยใช้ค่าจากตารางที่ 7)

Principle coordinate analysis ของหอยทั้ง 120 ตัวถูกสร้างขึ้นโดยใช้โปรแกรม FAMD (ภาพที่ 15) พบว่าการกระจายตัวของหอยทั้ง 120 ตัวมีการกระจายตัวเป็นกลุ่มอย่างชัดเจน



ภาพที่ 15 Principle coordinate analysis โดยโปรแกรม FAMD

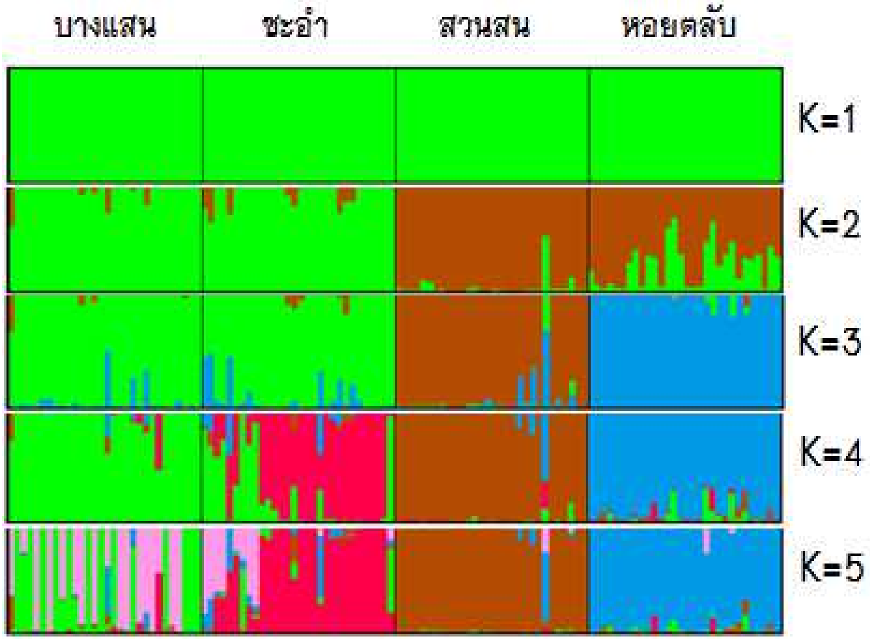
เมื่อนำค่า Jaccard's similarity coefficient ของหอยทั้ง 120 ตัวมาสร้าง radial tree (ภาพที่ 16) พบว่าหอยทั้ง 120 ตัวจาก 4 แหล่งสามารถจัดกลุ่มกันอย่างชัดเจนเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม มีหอยบางตัวที่ถูกจัดกลุ่มผิด เช่น หอยเสียบจากหาดบางแสน (B16) และหาดชะอำ (C9) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับหอยตลับ (บริเวณภาพดาว) เป็นต้น



ภาพที่ 16 individual tree แบบ radial tree (วาด tree โดยใช้ Phylodraw) ของหอยทั้ง 120 ตัว โดยใช้ค่า Jaccard's similarity coefficient คำนวณได้จากโปรแกรม FAMD

โปรแกรม Structure ถูกนำมาใช้ในการกำหนดกลุ่มของประชากรแล้วดูการกระจายตัวของหอยเสียบทั้ง 120 ตัวว่าจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มใด (ภาพที่ 17) โดยกำหนดกลุ่มประชากร (K) ที่ K=1

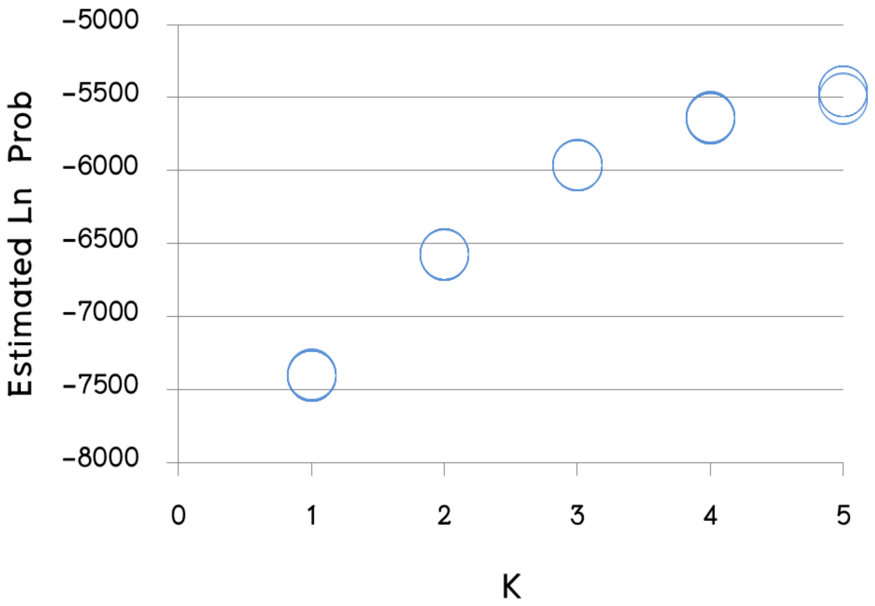
ถึง K=5 พบว่าที่ K=1 หอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่งและหอยตลับสามารถจัดกลุ่มอยู่รวมกันเป็นหนึ่งเดียวได้ เมื่อลองกำหนดที่ K=2 พบว่าหอยเสียบจากหาดสวนสนและหอยตลับแยกตัวออกจากหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำ ออกไปเป็นอีก 1 กลุ่ม ในขณะที่ K=3 หอยตลับแยกตัวออกจากหอยเสียบจากหาดสวนสน อย่างไรก็ตามพบว่าที่ K=4 หอยจากทั้ง 4 ประชากรสามารถแยกตัวออกเป็น 4 กลุ่มอย่างชัดเจน และที่ K=5 พบว่า หอยเสียบจากหาดบางแสนแยกตัวออกจากกันเป็น 2 กลุ่ม



ภาพที่ 17 ภาพจากโปรแกรม Structure เมื่อกำหนดให้มีจำนวนกลุ่มของประชากรเป็น 1, 2, 3, 4 และ 5

อย่างไรก็ตามข้อดีของโปรแกรม Structure นอกจากจะสามารถสะท้อนความเหมือนหรือความแตกต่างกันทางพันธุกรรมโดยแสดงออกมาเป็นภาพภาพดังที่อธิบายไปแล้วในภาพที่ 17 โปรแกรมนี้ยังสามารถคำนวณหาจำนวนกลุ่มที่เหมาะสมได้อีกด้วย ซึ่งจะให้คำตอบว่าหอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่งและหอยตลับ 1 แหล่ง นั้นควรถูกจัดเป็นประชากรเดียวกันหรือไม่ (K=1) หรือควรจัดกลุ่มออกจากกันเป็น 2 ประชากร (หอยเสียบจากหาดบางแสนอยู่กลุ่มเดียวกับหอยเสียบจากหาดชะอำ และหอยเสียบจากหาดสวนสนอยู่กลุ่มเดียวกับหอยตลับ) หรือควรจัดกลุ่มเป็น 3 ประชากร (หอยเสียบจากหาดบางแสนอยู่กลุ่มเดียวกับหอยเสียบจากหาดชะอำ กลุ่มที่สองเป็นหอยเสียบจากหาดสวนสน และกลุ่มสุดท้ายคือหอยตลับ) หรือควรจัดกลุ่มเป็น 4 ประชากร นั่นคือ หอยเสียบทั้ง 3 แหล่งควรถูกจัดกลุ่มแยกตัวออกจากกัน และหอยตลับแยกตัวออกมาเป็นอีกหนึ่งกลุ่ม และสุดท้ายควรจัดกลุ่มเป็น 5 ประชากรหรือไม่ โดยที่หอยเสียบจากหาดบางแสนจะแยกตัวออกมาเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งในการหาจำนวนกลุ่มหรือประชากรที่เหมาะสมโดยอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลทางพันธุกรรมจะเป็นตัวช่วยในการตัดสินใจของนักอนุรักษ์ว่าพันธุกรรมของหอยเสียบจากแหล่งที่อยู่อาศัยที่แตกต่าง ๆ กันนั้นมีความเหมือนกันหรือแตกต่างกันทางพันธุกรรมหรือไม่ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการวางแผนการอนุรักษ์พันธุกรรม อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์แสดงออกมาดังภาพที่ 18

โปรแกรม Structure ยังสามารถคำนวณหาค่า K ที่เหมาะสม โดยทำการสร้างกราฟระหว่างค่า K (แกน X) กับค่า Estimated Ln Prob (แกน Y) จะพบว่า K ที่เหมาะสมที่สุด คือ K=4 (ภาพที่ 18) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าประชากรหอยทั้ง 4 ประชากรนี้มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน



ภาพที่ 18 ค่า Estimated Ln Prob ที่ K = 1, 2, 3, 4 และ 5 จำนวน 10 ซ้ำ โดยใช้จำนวน Burnin Period และ MCMC reps after burnin = 100,000 รอบ

นอกจากนี้โปรแกรม Structure ยังสามารถวิเคราะห์ได้อีกว่าที่ K=4 นั้นมีเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดในการจัดกลุ่มของหอยทั้ง 120 ตัวให้ไปอยู่ในกลุ่มต่าง ๆ ทั้ง 4 กลุ่ม ได้ถูกต้องมากน้อยเพียงใด ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงอยู่ในตารางที่ 9 ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนถูกจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มหอยเสียบจากหาดบางแสนถูกต้อง 89.4% และอีก 11.6% นั้นหอยเสียบจากหาดบางแสนถูกจัดกลุ่มผิด โดยถูกจัดกลุ่มไปอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดชะอำ (4.2%) หอยตลับ (3.3%) และหอยเสียบจากหาดสวนสน (3.1) ตามลำดับ ในขณะที่หอยเสียบจากหาดชะอำถูกจัดกลุ่มไปอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดชะอำถูกต้องเพียง 63.8% ซึ่งการจัดกลุ่มผิดส่วนใหญ่จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มของหอยเสียบจากหาดบางแสน (23.9%) หอยตลับ (8.9%) และหอยเสียบจากหาดสวนสน (3.4%) ตามลำดับ ส่วนหอยเสียบจากหาดสวนสนและหอยตลับมีเปอร์เซ็นต์การจัดกลุ่มถูกต้องมากกว่า 90% ขึ้นไป (เท่ากับ 92.1% ทั้ง 2 แหล่ง)

ตารางที่ 9 การจัดกลุ่มหอยเมื่อ K=4

	Inferred Clusters				จำนวน
	บางแสน	**ชะอำ**	**สวนสน**	**หอยตลับ**	**ตัวอย่าง**
บางแสน	0.894	0.042	0.031	0.033	30
ชะอำ	0.239	0.638	0.034	0.089	30
สวนสน	0.015	0.012	0.921	0.052	30
หอยตลับ	0.043	0.019	0.017	0.921	30

ผลการวิเคราะห์โดยภาพรวมทั้งทางด้านสัณฐานและพันธุกรรมของหอยเสียบทั้ง 3 แหล่ง พบว่าผลการวิเคราะห์ทางด้านสัณฐานวิทยาให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับผลการวิเคราะห์ทางด้านพันธุกรรมดังนี้ คือพบว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก ในขณะที่หอยเสียบจากหาดสวนสนแยกตัวออกมา โดยมีหอยตลับเป็น outgroup ซึ่งการที่หอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่งนั้นมีความแตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมถิ่นที่อยู่อาศัยของหาดแต่ละแหล่งนั้นมีความแตกต่างกันทั้งทางด้านอุณหภูมิ ความสมบูรณ์ของแหล่งอาหารในถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยเสียบในแต่ละหาด (Carstensen *et al.*, 2009) เป็นต้น ทำให้หอยเสียบมีการปรับตัวทั้งทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมให้สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ตามแหล่งที่อยู่อาศัย นอกจากนี้จากการสังเกตลักษณะของหาดทรายขณะเก็บตัวอย่างหอยเสียบพบว่า ขนาดเม็ดทรายของหาดบางแสนและหาดชะอำมีขนาดเม็ดและความหยาบที่ใกล้เคียงกัน ส่วนเม็ดทรายของหาดสวนสนมีเม็ดทรายที่มีความละเอียดมากกว่าและมีความหยาบน้อยกว่า ขนาดของเม็ดทรายที่แตกต่างกันในแต่ละหาดนี้ก็อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้หอยเสียบจากแหล่งต่างๆ มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยา (Lastra and McLachlan, 1996)

ผลการวิเคราะห์ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมพบว่าหอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมอยู่ในระดับต่ำที่สุด ในขณะที่ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีค่าใกล้เคียงกัน ถึงแม้ผลการวิเคราะห์จะระบุว่าหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำจะมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับที่ใกล้เคียงกัน และ tree ที่สร้างได้ก็แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอยเสียบจากทั้งสองแหล่งนี้ว่ามีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันที่สุด แต่แนวทางในการอนุรักษ์หอยเสียบนั้นจำเป็นต้องทำการอนุรักษ์หอยเสียบจากทั้งสองแหล่งนี้แยกออกจากกันเนื่องจากพันธุกรรมของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำไม่เหมือนกันโดยสิ้นเชิง (ผลจากโปรแกรม Structure)

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบและหอยตลับจากงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Hoe *et al.* (2006) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอยสองฝา *Mactra veneriformis* โดยศึกษาบริเวณชายฝั่งประเทศจีน พบว่า ค่าความหลากหลายทางพันธุธรรมที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยนี้ให้ผลใกล้เคียงกันกับงานวิจัยของ Hoe *et al.* (2006) ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม

	จำนวนตัวอย่าง	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]	**จำนวน polymorphic loci (%)**
งานวิจัยนี้	4	1.65-1.90	1.18-1.29	0.12-0.19	0.21-0.31	65.22-89.86
Hoe *et al.* (2006)	7	1.73-1.97	1.36-1.57	0.21-0.34	0.33-0.51	72.50-97.92

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964), [3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางพันธุกรรมสามารถจำแนกหอยเสียบจากหาดบางแสนซึ่งเป็นบริเวณที่มีการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำน้ำปลาแยกออกจากหอยเสียบจากแหล่งอื่นได้ แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวยังไม่เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าความแตกต่างดังกล่าวนั้นเกิดขึ้นเนื่องมาจากน้ำทิ้งที่ถูกปล่อยออกจากโรงงานอุตสาหกรรมทำน้ำปลา เนื่องจากสาเหตุที่ทำให้หอยเสียบมีความแตกต่างกันทางด้านสัณฐานวิทยาและทางพันธุกรรมนั้นมีได้หลายปัจจัย ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของหอยเสียบต่อไป

6. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบอยู่ในระดับที่ต่ำ โดยหอยเสียบจากหาดสวนสนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุด ในขณะที่หอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับที่ใกล้เคียงกันและมีค่าสูงกว่าค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเสียบจากหาดสวนสน

6.2 หอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดชะอำมีความสัมพันธ์ทั้งทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันที่สุด ในขณะที่หอยเสียบจากหาดสวนสนมีความสัมพันธ์ห่างออกไป

6.3 ตัวแปรทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ความสูง ความกว้าง ความหนา สัดส่วนความสูงต่อความกว้าง และ สัดส่วนความหนาต่อความกว้าง สามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยเสียบออกจากกันได้

6.4 ISSR-markers สามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยเสียบจากแหล่งต่าง ๆ ออกจากกันได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็แล้วแต่ควรจะมีการสำรวจเพิ่มว่าหอยเสียบที่อยู่ในประเทศไทยมีทั้งหมดกี่แหล่ง และแต่ละแหล่งมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดหรือแตกต่างกันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด เพื่อสามารถวางแผนการอนุรักษ์หอยเสียบต่อไปในอนาคตได้ เนื่องจากเราสามารถใช้หอยเสียบเป็นทั้งแหล่งอาหารและเป็นดัชนีชี้วัดปริมาณโลหะในน้ำได้

6.5 ควรจะมีการเพิ่มจำนวน ISSR-markers ให้มากขึ้นเพื่อผลการวิจัยที่ได้จะมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

6.6 ผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าหอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ บางแสน ชะอำ และ สวนสน มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน ดังนั้นในการวางแผนการอนุรักษ์ก็ควรจะทำการอนุรักษ์หอยเสียบจากทั้ง 3 แหล่งแยกออกจากกัน

6.7 ตัวอย่างหอยเสียบจากหาดบางแสนมีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุกรรมกับหอยเสียบจากแหล่งอื่น ซึ่งข้อมูลดังกล่าวยังไม่เพียงพอที่จะสามารถสรุปได้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำน้ำปลา

7. บรรณานุกรม

ธีระรักษ์ ศรีนวลกราย และ ศานิต ปิยพัฒนากร, 2552. ความหลายหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลาทู *Rastrelliger brachysoma* ในอ่าวไทยและทะเลอันดามันโดยการวิเคราะห์ด้วย ISSR. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47, 17-20 มีนาคม 2552, กรุงเทพฯ หน้า 254-260

ปฏิพล ดลรุ้ง, สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ, สุภาวดี พุ่มพวง และ เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์, 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลาย (*Paphia undulate*) บริเวณแหล่งประมงในอ่าวไทยตอนบนและตอนล่าง. การประชุมเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 14 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 10-11 กันยายน 2552, กรุงเทพฯ

สมชาย วิบุญพันธ์ ณรงค์ศักดิ์ คงชัย วิวิธนนท์ บุญยัง และ ทรงฤทธิ์ โชติธรรมโม, 2549. การปนเปื้อนของสารโลหะหนักในสัตว์ทะเลบางชนิดบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2549

สุขใจ รัตนยุวกร และ พวงผกา บำรุงราษฎร์, 2551. พัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ของหอยเสียบ *Donax faba* (Gmelin, 1791) บริเวณหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี. การประชุมวิชาการประมงประจำปี 2551. กรมประมง

ส่งศรี มหาสวัสดิ์ และ ชัยชาญ มหาสวัสดิ์, 2526. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 22 . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง. กรุงเทพฯ หน้า 142-150

Carpenter, K.E. and Niem, V.H., 1999. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific, Volume 2. FAO, Rome. pp.688-1396.

Carstensen, D., Laudien, J., Leese, F., Arntz, W. and Held, C., 2009. Genetic variability, shell and sperm morphology suggest that the surf clams *Donax marincovichi* and *D. obesulus* are one species. *Journal of Molluscan Studies 75*: 381-390.

Chambers, G.K. and MacAvoy, E.S., 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B 126*: 455-476.

Connell, D.W. and Miller, G.J., 1984. Chemistry and Ecotoxicology of Pollution. New York: Wiley-Interscience Publ., p.444.

Cruz, F., Perez, M. and Presa, P., 2005. Distribution and abundance of microsatellites in the genome of bivalves. *Gene 346*: 241-247.

Dubois, M-P., Nicot, A., Jarne, N. and David, P., 2008. Characterization of 15 polymorphic microsatellite markers in the freshwater snail *Aplexa marmorata* (Mollusca, Gastropoda). *Molecular Ecology Resources 8*: 1062-1064.

Fishelson, L., Bresler, V., Manelis, R., Zuk-Rimon, Z., Dotan, A., Hornung, H. and Yawetz, A., 1999. Toxicological aspects associated with the ecology of *Donax trunculus*

(Bivalvia, Mollusca) in a polluted environment. *The Science of the Total Environment 226*: 121-131.

Gwo, J.C., Yang, W.T., Sheu, Y.T. and Cheng, H.Y., 2002. Spermatozoan morphology of four species of bivalve (Heterodonta, Vneridae) from Taiwan. Tissue & Cell 34(1): 39-43.

Haynes, D., Leeder, J. and Rayment, P., 1995. Temporal and spatial variation in heavy metal concentrations in the Bivalve *Donax deltoids* from the Ninety mile beach, Victoria, Australia. *Marine Pollution Bulletin 30*(6): 419-424.

Hou, L., Lu, H., Zou, X., Bi, X., Yan, D. and He, C., 2006. Genetic characterizations of *Mactra veneriformis* (Bivalve) along the Chinese coast using ISSR-PCR markers. *Aquaculture 261*: 865-871.

Kimura, M. and Crow, J.F., 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics 49*: 725-738.

Kong, L., Li, Q. and Qiu, Z., 2007. Genetic and morphological differentiation in the clam *Coelomactra antiquate* (Bivalvia: Veneroida) along the coast of China. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 343*: 110-117.

Lastra, M. and McLachlan, A., 1996. Spatial and temporal variations in recruitment of *Donax serra* Roding (Bivalvia: Donacidae) on an exposed sandy beach of South Africa. *Revista Chilena de Historia Natural 69*: 631-639.

Laudien, J., Flint, N.S., van der Bank, F.H. and Brey, T., 2003. Genetic and morphological variation in four populations of the surf clam *Donax serra* (Roding) from southern African sandy beaches. *Biochemical Systematics and Ecology 31*: 751-772.

Lewontin, R.C., 1972. Testing the theory of natural selection. Nature 236: 181-182.

Li, Q., Yu, H. and Yu, R., 2006. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China. *Aquaculture 259*: 95-102.

Murray-Jones, S. and Johnson, J., 2003. Goolwa Cockle (*Donax deltoides*). Adelaide, SARDI Aquatic Sciences: 1-54.

Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat 106*: 283-292.

Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci, USA, 70*: 3321-3323.

Nei, M., Tajima, F. and Tateno, Y., 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol. 19*: 153-170.

Nicot, A., Dubois, M-P., Debain, C. David, P. and Jarne, P., 2008. Characterization of 15 microsatellite loci in the pulmonate snail *Pseudosuccinea columella* (Mollusca, Gastropoda). *Molecular Ecology Resources 8*: 1281-1284.

Papazoglou E.G., 2007. *Arundo donax* L. stress tolerance under irrigation with heavy metal aqueous solutions. *Desalination 211*: 304-313.

Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V. and Romeo, M., 2006. Heavy metal concentrations in mollusks from the Senegal coast. *Environment International 32*: 384-387.

Saavedra, C. and Bachere, E., 2006. Bivalve genomics. *Aquaculture 256*: 1-14.

Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodohl, P.A. and Ferguson, A., 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from Salmonid fishs. *Journal of Fish Biology 40*: 963-963.

Vadopalas, B., LeClair, L. L. and Bentzen, P., 2004. Microsatellite and allozyme analyses reveal few genetic differences among spatially distinct aggregations of geoduck clams (Panopea abrupta, Conrad 1849). *J. Shellfish Res 23*:693–706.

Wright, S., 1969. The theory of gene frequencies: evolution and the genetics of populations, Vol. 2. Chicago University press, Chicago, USA.

Yawetz, A., Fishelson, L., Bresler, V. and Manelis R., 2010. Comparison of the effects of pollution on the marine bivalve *Donax Trunculus* in the vicinity of polluted sites with specimens from a clean reference site (Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin 60*: 225-229.

Yeh, F.C. and Yang, R.C., 1999. POPGENE VERSION 1.32 Microsoft Window-based freeware for Population Genetic Analysis, Quick User Guide. University of Alberta And Tim Boyle, Centre for International Forestry Research. http://www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh/.

__________________. *Donax cuneatus* (Linnaeus, 1758). Available Source: http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm, 10 June, 2010.

__________________. *Donax faba* (Gmelin, 1791). Available Source: http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm, 10 June, 2010.

__________________. *Donax scortum* (Linnaeus, 1758). Available Source: http://www.worldwideconchology.com/Donacidae.htm, 10 June, 2010.

ภาคผนวก

ตารางที่ 11 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดบางแสน

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
1	ISSR8-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
2	ISSR8-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
3	ISSR8-3	2	1.1421	0.1244	0.2449
4	ISSR8-4	2	1.0689	0.0644	0.1461
5	ISSR8-5	2	1.0689	0.0644	0.1461
6	ISSR8-6	2	1.4706	0.3200	0.5004
7	ISSR8-7	2	1.9231	0.4800	0.6730
8	ISSR8-8	2	1.7241	0.4200	0.6109
9	ISSR8-9	2	1.9912	0.4978	0.6909
10	ISSR8-10	2	1.3006	0.2311	0.3927
11	ISSR8-11	2	1.2195	0.1800	0.3251
12	ISSR8-12	2	1.0689	0.0644	0.1461
13	ISSR8-13	2	1.6423	0.3911	0.5799
14	ISSR8-14	2	1.3846	0.2778	0.4506
15	ISSR8-15	2	1.0689	0.0644	0.1461
16	ISSR8-16	2	1.0689	0.0644	0.1461
17	ISSR8-17	2	1.2195	0.1800	0.3251
18	ISSR8-18	2	1.5571	0.3578	0.5433
19	ISSR8-19	2	1.2195	0.1800	0.3251
20	ISSR8-20	2	1.4706	0.3200	0.5004
21	ISSR8-21	2	1.1421	0.1244	0.2449
22	ISSR8-22	2	1.3846	0.2778	0.4506
23	ISSR8-23	2	1.4706	0.3200	0.5004
24	ISSR8-24	2	1.3006	0.2311	0.3927
25	ISSR9-1	2	1.1421	0.1244	0.2449
26	ISSR9-2	2	1.4706	0.3200	0.5004
27	ISSR9-3	2	1.2195	0.1800	0.3251
28	ISSR9-4	2	1.5571	0.3578	0.5433
29	ISSR9-5	2	1.9651	0.4911	0.6842
30	ISSR9-6	2	1.4706	0.3200	0.5004

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 11 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (ต่อ 1)

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
31	ISSR9-7	2	1.6423	0.3911	0.5799
32	ISSR9-8	2	1.9651	0.4911	0.6842
33	ISSR9-9	2	1.9651	0.4911	0.6842
34	ISSR9-10	2	1.0689	0.0644	0.1461
35	ISSR9-11	2	1.5571	0.3578	0.5433
36	ISSR9-12	2	1.2195	0.1800	0.3251
37	ISSR9-13	2	1.1421	0.1244	0.2449
38	ISSR9-14	2	1.0689	0.0644	0.1461
39	ISSR9-15	2	1.2195	0.1800	0.3251
40	ISSR9-16	2	1.1421	0.1244	0.2449
41	ISSR9-17	2	1.0689	0.0644	0.1461
42	ISSR10-1	2	1.5571	0.3578	0.5433
43	ISSR10-2	2	1.2195	0.1800	0.3251
44	ISSR10-3	2	1.9651	0.4911	0.6842
45	ISSR10-4	2	1.5571	0.3578	0.5433
46	ISSR10-5	2	1.1421	0.1244	0.2449
47	ISSR10-6	2	1.8672	0.4644	0.6572
48	ISSR10-7	2	1.9231	0.4800	0.6730
49	ISSR10-8	2	1.1421	0.1244	0.2449
50	ISSR10-9	2	1.1421	0.1244	0.2449
51	ISSR10-10	2	1.3006	0.2311	0.3927
52	ISSR10-11	2	1.5571	0.3578	0.5433
53	ISSR11-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
54	ISSR11-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
55	ISSR11-3	1	1.0000	0.0000	0.0000
56	ISSR11-4	2	1.5571	0.3578	0.5433
57	ISSR11-5	2	1.6423	0.3911	0.5799
58	ISSR11-6	2	1.5571	0.3578	0.5433
59	ISSR11-7	2	1.0689	0.0644	0.1461
60	ISSR11-8	1	1.0000	0.0000	0.0000

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),

[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 11 แสดงค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (ต่อ 2)

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
61	ISSR11-9	2	1.4706	0.3200	0.5004
62	ISSR11-10	2	1.4706	0.3200	0.5004
63	ISSR11-11	2	1.5571	0.3578	0.5433
64	ISSR11-12	2	1.1421	0.1244	0.2449
65	ISSR11-13	2	2.0000	0.5000	0.6931
66	ISSR11-14	2	1.8000	0.4444	0.6365
67	ISSR11-15	2	1.0689	0.0644	0.1461
68	ISSR11-16	2	1.2195	0.1800	0.3251
69	ISSR11-17	1	1.0000	0.0000	0.0000
Mean±SD			**1.3727±0.3093**	**0.2368±0.1594**	**0.3746±0.2152**

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),

[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 12 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดชะอำ

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
1	ISSR8-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
2	ISSR8-2	2	1.4706	0.3200	0.5004
3	ISSR8-3	2	1.8000	0.4444	0.6365
4	ISSR8-4	2	1.3006	0.2311	0.3927
5	ISSR8-5	2	1.8672	0.4644	0.6572
6	ISSR8-6	2	1.9231	0.4800	0.6730
7	ISSR8-7	2	1.8000	0.4444	0.6365
8	ISSR8-8	2	2.0000	0.5000	0.6931
9	ISSR8-9	2	1.3846	0.2778	0.4506
10	ISSR8-10	2	2.0000	0.5000	0.6931
11	ISSR8-11	2	1.8672	0.4644	0.6572
12	ISSR8-12	2	1.6423	0.3911	0.5799
13	ISSR8-13	2	1.4706	0.3200	0.5004
14	ISSR8-14	2	1.3006	0.2311	0.3927
15	ISSR8-15	2	1.0689	0.0644	0.1461
16	ISSR8-16	2	1.3006	0.2311	0.3927
17	ISSR8-17	2	1.1421	0.1244	0.2449
18	ISSR8-18	2	2.0000	0.5000	0.6931
19	ISSR8-19	2	1.9231	0.4800	0.6730
20	ISSR8-20	2	1.2195	0.1800	0.3251
21	ISSR8-21	2	1.1421	0.1244	0.2449
22	ISSR8-22	2	1.7241	0.4200	0.6109
23	ISSR8-23	2	1.2195	0.1800	0.3251
24	ISSR8-24	2	1.4706	0.3200	0.5004
25	ISSR9-1	2	1.1421	0.1244	0.2449
26	ISSR9-2	2	1.3006	0.2311	0.3927
27	ISSR9-3	2	1.5571	0.3578	0.5433
28	ISSR9-4	2	1.2195	0.1800	0.3251
29	ISSR9-5	2	1.7241	0.4200	0.6109
30	ISSR9-6	2	1.7241	0.4200	0.6109

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),

[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 12 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดชะอำ (ต่อ 1)

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
31	ISSR9-7	2	1.2195	0.1800	0.3251
32	ISSR9-8	2	1.4706	0.3200	0.5004
33	ISSR9-9	2	1.3846	0.2778	0.4506
34	ISSR9-10	2	1.3006	0.2311	0.3927
35	ISSR9-11	2	1.0689	0.0644	0.1461
36	ISSR9-12	1	1.0000	0.0000	0.0000
37	ISSR9-13	1	1.0000	0.0000	0.0000
38	ISSR9-14	1	1.0000	0.0000	0.0000
39	ISSR9-15	1	1.0000	0.0000	0.0000
40	ISSR9-16	1	1.0000	0.0000	0.0000
41	ISSR9-17	1	1.0000	0.0000	0.0000
42	ISSR10-1	2	1.1421	0.1244	0.2449
43	ISSR10-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
44	ISSR10-3	2	1.9912	0.4978	0.6909
45	ISSR10-4	2	1.2195	0.1800	0.3251
46	ISSR10-5	2	1.2195	0.1800	0.3251
47	ISSR10-6	2	1.3006	0.2311	0.3927
48	ISSR10-7	2	1.8000	0.4444	0.6365
49	ISSR10-8	2	1.4706	0.3200	0.5004
50	ISSR10-9	2	1.1421	0.1244	0.2449
51	ISSR10-10	2	1.9651	0.4911	0.6842
52	ISSR10-11	1	1.0000	0.0000	0.0000
53	ISSR11-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
54	ISSR11-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
55	ISSR11-3	2	1.8672	0.4644	0.6572
56	ISSR11-4	2	1.9912	0.4978	0.6909
57	ISSR11-5	2	1.0689	0.0644	0.1461
58	ISSR11-6	2	1.5571	0.3578	0.5433
59	ISSR11-7	2	1.8000	0.4444	0.6365
60	ISSR11-8	2	1.3846	0.2778	0.4506

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 12 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดชะอำ (ต่อ 2)

No.	**Locus**	**N_a[1]**	**N_e[2]**	**H[3]**	**SI[4]**
61	ISSR11-9	2	1.8000	0.4444	0.6365
62	ISSR11-10	2	1.1421	0.1244	0.2449
63	ISSR11-11	2	1.3846	0.2778	0.4506
64	ISSR11-12	2	1.1421	0.1244	0.2449
65	ISSR11-13	2	1.9912	0.4978	0.6909
66	ISSR11-14	2	1.6423	0.3911	0.5799
67	ISSR11-15	2	1.7241	0.4200	0.6109
68	ISSR11-16	2	1.0689	0.0644	0.1461
69	ISSR11-17	2	1.0689	0.0644	0.1461
Mean±SD			**1.4208±0.3443**	**0.2552±0.1744**	**0.3925±0.2378**

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),

[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 13 ค่า N_a, N_e, H และ SI ของหอยเสียบจากหาดสวนสน

No.	Locus	N_a [1]	N_e [2]	H [3]	SI [4]
1	ISSR8-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
2	ISSR8-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
3	ISSR8-3	2	1.5571	0.3578	0.5433
4	ISSR8-4	2	1.8000	0.4444	0.6365
5	ISSR8-5	2	1.6423	0.3911	0.5799
6	ISSR8-6	2	1.1421	0.1244	0.2449
7	ISSR8-7	2	1.9231	0.4800	0.6730
8	ISSR8-8	2	1.7241	0.4200	0.6109
9	ISSR8-9	2	1.2195	0.1800	0.3251
10	ISSR8-10	2	1.8672	0.4644	0.6572
11	ISSR8-11	2	1.9231	0.4800	0.6730
12	ISSR8-12	2	1.8000	0.4444	0.6365
13	ISSR8-13	2	1.3846	0.2778	0.4506
14	ISSR8-14	2	1.4706	0.3200	0.5004
15	ISSR8-15	2	1.8672	0.4644	0.6572
16	ISSR8-16	2	1.9651	0.4911	0.6842
17	ISSR8-17	2	1.9231	0.4800	0.6730
18	ISSR8-18	2	1.8672	0.4644	0.6572
19	ISSR8-19	2	1.8000	0.4444	0.6365
20	ISSR8-20	2	1.8672	0.4644	0.6572
21	ISSR8-21	1	1.0000	0.0000	0.0000
22	ISSR8-22	1	1.0000	0.0000	0.0000
23	ISSR8-23	1	1.0000	0.0000	0.0000
24	ISSR8-24	1	1.0000	0.0000	0.0000
25	ISSR9-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
26	ISSR9-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
27	ISSR9-3	1	1.0000	0.0000	0.0000
28	ISSR9-4	2	1.1421	0.1244	0.2449
29	ISSR9-5	2	1.9231	0.4800	0.6730
30	ISSR9-6	2	1.0689	0.0644	0.1461

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 13 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดสวนสน (ต่อ 1)

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
31	ISSR9-7	2	1.3846	0.2778	0.4506
32	ISSR9-8	2	1.1421	0.1244	0.2449
33	ISSR9-9	1	1.0000	0.0000	0.0000
34	ISSR9-10	1	1.0000	0.0000	0.0000
35	ISSR9-11	2	1.3846	0.2778	0.4506
36	ISSR9-12	2	1.4706	0.3200	0.5004
37	ISSR9-13	2	1.0689	0.0644	0.1461
38	ISSR9-14	1	1.0000	0.0000	0.0000
39	ISSR9-15	1	1.0000	0.0000	0.0000
40	ISSR9-16	1	1.0000	0.0000	0.0000
41	ISSR9-17	2	1.6423	0.3911	0.5799
42	ISSR10-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
43	ISSR10-2	2	1.1421	0.1244	0.2449
44	ISSR10-3	2	1.0689	0.0644	0.1461
45	ISSR10-4	1	1.0000	0.0000	0.0000
46	ISSR10-5	2	1.8000	0.4444	0.6365
47	ISSR10-6	2	1.6423	0.3911	0.5799
48	ISSR10-7	1	1.0000	0.0000	0.0000
49	ISSR10-8	2	1.1421	0.1244	0.2449
50	ISSR10-9	2	1.0689	0.0644	0.1461
51	ISSR10-10	2	1.0689	0.0644	0.1461
52	ISSR10-11	1	1.0000	0.0000	0.0000
53	ISSR11-1	1	1.0000	0.0000	0.0000
54	ISSR11-2	1	1.0000	0.0000	0.0000
55	ISSR11-3	1	1.0000	0.0000	0.0000
56	ISSR11-4	1	1.0000	0.0000	0.0000
57	ISSR11-5	2	1.0689	0.0644	0.1461
58	ISSR11-6	2	1.7241	0.4200	0.6109
59	ISSR11-7	2	1.3006	0.2311	0.3927
60	ISSR11-8	2	1.5571	0.3578	0.5433

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),

[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 13 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยเสียบจากหาดสวนสน (ต่อ 2)

No.	**Locus**	**N_a[1]**	**N_e[2]**	**H[3]**	**SI[4]**
61	ISSR11-9	2	1.8672	0.4644	0.6572
62	ISSR11-10	2	1.4706	0.3200	0.5004
63	ISSR11-11	2	1.5571	0.3578	0.5433
64	ISSR11-12	2	1.5571	0.3578	0.5433
65	ISSR11-13	2	1.7241	0.4200	0.6109
66	ISSR11-14	2	1.4706	0.3200	0.5004
67	ISSR11-15	1	1.0000	0.0000	0.0000
68	ISSR11-16	1	1.0000	0.0000	0.0000
69	ISSR11-17	2	1.0689	0.0644	0.1461
Mean±SD			**1.3373±0.3529**	**0.2025±0.1931**	**0.3083±0.2747**

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 14 ค่า N_a, N_e, **H และ SI** ของหอยตลับ

No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
1	ISSR8-1	2	1.0689	0.0644	0.1461
2	ISSR8-2	2	1.2195	0.1800	0.3251
3	ISSR8-3	1	1.0000	0.0000	0.0000
4	ISSR8-4	2	1.2195	0.1800	0.3251
5	ISSR8-5	2	1.3006	0.2311	0.3927
6	ISSR8-6	2	1.5571	0.3578	0.5433
7	ISSR8-7	2	1.3006	0.2311	0.3927
8	ISSR8-8	2	1.3846	0.2778	0.4506
9	ISSR8-9	2	1.7241	0.4200	0.6109
10	ISSR8-10	2	1.9912	0.4978	0.6909
11	ISSR8-11	2	1.2195	0.1800	0.3251
12	ISSR8-12	2	1.6423	0.3911	0.5799
13	ISSR8-13	2	1.5571	0.3578	0.5433
14	ISSR8-14	1	1.0000	0.0000	0.0000
15	ISSR8-15	2	1.2195	0.1800	0.3251
16	ISSR8-16	2	1.1421	0.1244	0.2449
17	ISSR8-17	2	1.8672	0.4644	0.6572
18	ISSR8-18	2	1.8672	0.4644	0.6572
19	ISSR8-19	2	1.8672	0.4644	0.6572
20	ISSR8-20	1	1.0000	0.0000	0.0000
21	ISSR8-21	1	1.0000	0.0000	0.0000
22	ISSR8-22	1	1.0000	0.0000	0.0000
23	ISSR8-23	2	1.0689	0.0644	0.1461
24	ISSR8-24	1	1.0000	0.0000	0.0000
25	ISSR9-1	2	1.1421	0.1244	0.2449
26	ISSR9-2	2	1.0689	0.0644	0.1461
27	ISSR9-3	2	1.2195	0.1800	0.3251
28	ISSR9-4	2	1.0689	0.0644	0.1461
29	ISSR9-5	2	1.5571	0.3578	0.5433
30	ISSR9-6	2	1.2195	0.1800	0.3251

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 14 ค่า N_a, N_e, **H และ SI** ของหอยตลับ (ต่อ 1)

No.	Locus	N_a [1]	N_e [2]	H [3]	SI [4]
31	ISSR9-7	2	1.9651	0.4911	0.6842
32	ISSR9-8	2	1.0689	0.0644	0.1461
33	ISSR9-9	1	1.0000	0.0000	0.0000
34	ISSR9-10	2	1.6423	0.3911	0.5799
35	ISSR9-11	2	1.1421	0.1244	0.2449
36	ISSR9-12	2	1.9912	0.4978	0.6909
37	ISSR9-13	2	1.1421	0.1244	0.2449
38	ISSR9-14	2	1.1421	0.1244	0.2449
39	ISSR9-15	1	1.0000	0.0000	0.0000
40	ISSR9-16	1	1.0000	0.0000	0.0000
41	ISSR9-17	1	1.0000	0.0000	0.0000
42	ISSR10-1	2	1.1421	0.1244	0.2449
43	ISSR10-2	2	1.0689	0.0644	0.1461
44	ISSR10-3	2	1.5571	0.3578	0.5433
45	ISSR10-4	2	1.4706	0.3200	0.5004
46	ISSR10-5	1	1.0000	0.0000	0.0000
47	ISSR10-6	2	1.8672	0.4644	0.6572
48	ISSR10-7	2	1.3006	0.2311	0.3927
49	ISSR10-8	2	1.0689	0.0644	0.1461
50	ISSR10-9	2	1.0689	0.0644	0.1461
51	ISSR10-10	1	1.0000	0.0000	0.0000
52	ISSR10-11	1	1.0000	0.0000	0.0000
53	ISSR11-1	2	1.0689	0.0644	0.1461
54	ISSR11-2	2	1.5571	0.3578	0.5433
55	ISSR11-3	1	1.0000	0.0000	0.0000
56	ISSR11-4	2	1.1421	0.1244	0.2449
57	ISSR11-5	2	1.4706	0.3200	0.5004
58	ISSR11-6	2	1.4706	0.3200	0.5004
59	ISSR11-7	2	1.8672	0.4644	0.6572
60	ISSR11-8	1	1.0000	0.0000	0.0000

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

ตารางที่ 14 ค่า **N_a, N_e, H และ SI** ของหอยตลับ (ต่อ 2)

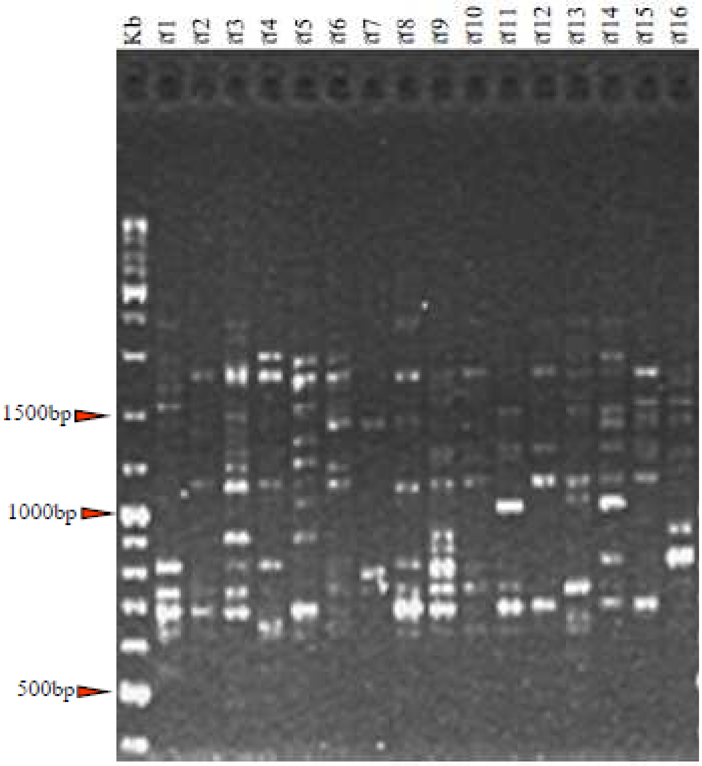
No.	Locus	N_a[1]	N_e[2]	H[3]	SI[4]
61	ISSR11-9	2	1.0689	0.0644	0.1461
62	ISSR11-10	2	1.0689	0.0644	0.1461
63	ISSR11-11	1	1.0000	0.0000	0.0000
64	ISSR11-12	1	1.0000	0.0000	0.0000
65	ISSR11-13	2	1.0689	0.0644	0.1461
66	ISSR11-14	2	1.1421	0.1244	0.2449
67	ISSR11-15	1	1.0000	0.0000	0.0000
68	ISSR11-16	2	1.0689	0.0644	0.1461
69	ISSR11-17	2	1.0689	0.0644	0.1461
Mean±SD			**1.2637±0.3058**	**0.1697±0.1659**	**0.2743±0.2346**

[1] N_a = Mean number of alleles, [2] N_e= Effective number of alleles (Kimura and Crow, 1964),
[3] H=Nei's (1973) gene diversity, [4] SI=Shannon's information index (Lewontin, 1972)

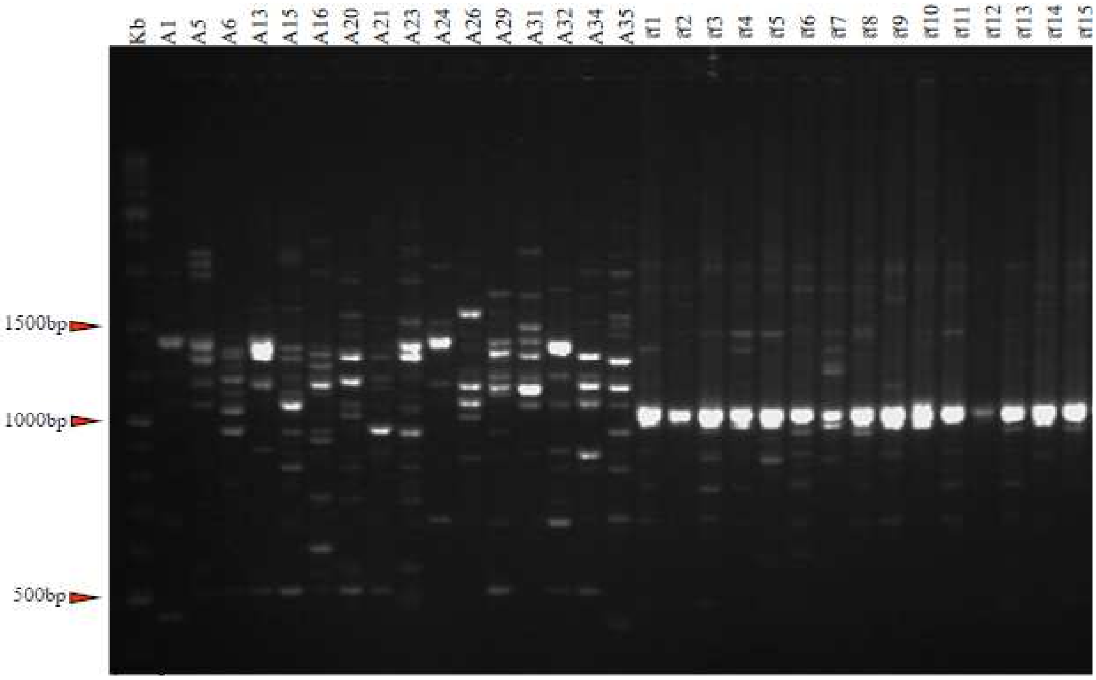
ตารางที่ 15 Primer ที่ใช้ในการในงานวิจัยของ Hou *et al.* (2006)

Primers	Sequence (5'→3')	Primer type	GC (%)	T_m (^{O}C)	Number of polymorphic loci
ISSR-1	B*DB$(TCC)_5$	Tri-repeat	66.7	57	15
ISSR-2	$(TCC)_5$RY	Tri-repeat	70.6	55	16
ISSR-3	VBV$(CA)_8$	Di-repeat	57.9	54	14
ISSR-4	VDV$(GT)_8$	Di-repeat	52.6	51	14
ISSR-5	$(AG)_8$T	Di-repeat	47.1	48	13
ISSR-6	HVH$(TG)_7$T	Di-repeat	44.4	51	12
ISSR-7	$(CT)_8$T	Di-repeat	47.1	49	13
ISSR-8	$(AC)_8$T	Di-repeat	47.1	45	17
ISSR-9	$(AC)_8$G	Di-repeat	47.1	45	9
ISSR-10	$(TG)_8$GT	Di-repeat	50.0	48	16
ISSR-11	$(AG)_8$TG	Di-repeat	50.0	54	15
ISSR-12	$(TC)_8$C	Di-repeat	52.9	52	11
ISSR-13	$(TG)_8$G	Di-repeat	52.9	53	9
ISSR-14	$(CA)_6$R	Di-repeat	53.8	45	8
ISSR-15	$(CA)_6$RY	Di-repeat	57.1	44	7
ISSR-16	$(GT)_6$YR	Di-repeat	57.1	44	8
ISSR-17	$(GT)_6$AY	Di-repeat	50.0	43	7
ISSR-18	$(ACTG)_4$	Tetra-repeat	50.0	52	8
ISSR-19	$(GACA)_4$	Tetra-repeat	50.0	48	11
ISSR-20	$(CAC)_6$	Tetra-repeat	66.7	57	12

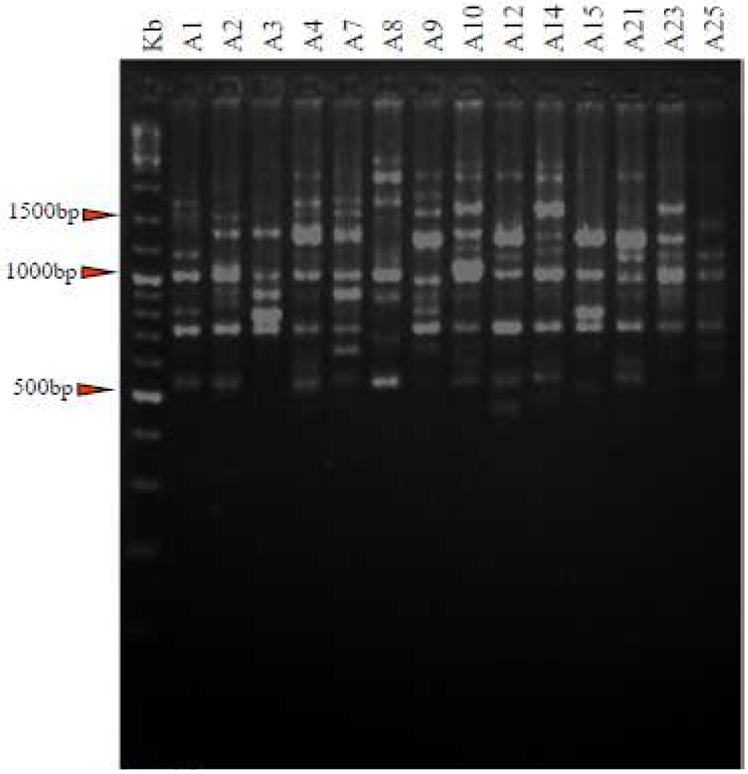
*B=C, G, T; Y=C, T; R=A, G; H=A, C, T; V=A, C, G; D=A, G, T



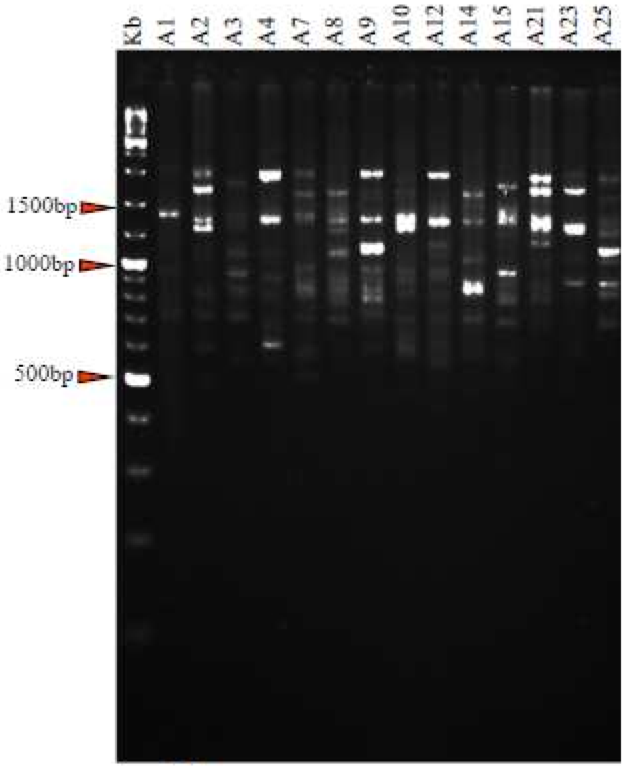
ภาพที่ 19 ISSR-PCR ของ ISSR-8 ของหอยเสียบจากหาดสวนสน (ส=หาดสวนสน; Marker = 1kb)



ภาพที่ 20 ISSR-PCR ของ ISSR-9 ของหอยเสียบจากหาดบางแสนและหาดสวนสน (A=หาดบางแสน, ส=หาดสวนสน; Marker = 1kb)



ภาพที่ 21 ISSR-PCR ของ ISSR-10 ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (A=หาดบางแสน; Marker = 1kb)



ภาพที่ 22 ISSR-PCR ของ ISSR-11 ของหอยเสียบจากหาดบางแสน (A=หาดบางแสน; Marker = 1kb)

ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่

Manatrinon, S., Thonglor, O.-U. and Boonyapakdee, A. Morphological variation of *Donax spp.* from five beaches in Prachaupkhirikhan, Thailand. The 3rd international conference on sustainable animal agriculture for developing countries (SAADC 2011), 26-29 July 2011, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Manatrinon, S., Thonglor, O.-U. and Boonyapakdee, A., 2011. Morphological variation of *Donax spp.* from five beaches in Prachaupkhirikhan, Thailand. Journal of Agricultural Science and Technology A 1(8): 1109-1111.

Manatrinon, S., Thonglor, O.-U. and Boonyapakdee, A., 2012. Genetic and Morphological Variation in Three Populations of *Donax spp.* in the Gulf of Thailand. Thai Journal of Genetics. 5(1): 76-85.

ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของนักวิจัย

<u>หัวหน้าโครงการวิจัย</u>

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) **นางสาว สุภาวดี มานะไตรนนท์**
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) **Miss SUPAWADEE MANATRINON**
2. ตำแหน่งปัจจุบัน **อาจารย์**
3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

   คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร
   ต.สามพระยา อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี 76120
   โทรศัพท์/โทรสาร 032-594037 โทรศัพท์มือถือ 081-2991380
   E-mail: manatrinon@hotmail.com

4. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	มหาวิทยาลัย	ปีที่จบการศึกษา
ปริญญาตรี	มหาวิทยาลัยศิลปากร (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)	พ.ศ. 2542
ปริญญาโท	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์)	พ.ศ. 2545
ปริญญาเอก	University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria (Animal breeding and genetics)	พ.ศ. 2552

5. ผลงานวิจัยตีพิมพ์

Manatrinon, S., B. Fuerst-Waltl, R. Baumung. Genetic parameters for calving ease, gestation length and stillbirth in three endangered Austrian blond cattle breed. Arch. Anim. Breed. **52** (2009) 6, 553-560.

Manatrinon, S., C. Egger-Danner, R. Baumung. Estimating lethal allele frequencies in complex pedigrees via gene dropping approach using the example of Brown Swiss cattle. Arch. Anim. Breed. **52** (2009) 3, 230-242

Manatrinon, S., F. Fischerleitner, R. Baumung. Genetic characterization among some Austrian and Hungarian cattle breeds. Arch. Anim. Breed. **51** (2008), 426-437

Manatrinon, S., C. Egger-Danner, R. Baumung. A novel approach for estimating allele frequencies of lethal autosomal-recessive genetic disorders. 58th Annual Meeting of the European Association of Animal Production (EAAP), 26 - 29 August 2007, Dublin, Ireland

6. การฝึกอบรม

ESF Workshop: Diversity, selection and adaptation in wildlife and livestock - molecular approaches, 26-28 October 2008, Salzburg, Austria

Conservation genetics of animals, International PhD-course, 21 November – 2 December 2005, Grub, Germany

7. หนังสือ

Manatrinon, S. Various approaches for describing genetic diversity by means of some cattle populations in Austria, 242 pages, VDM Verlag Dr.Muller Aktiengesellschaft & Co. KG, Germany (2009)

Baumung, R., **S. Manatrinon.** Die wichtigsten Vererber beim Tiroler Braunvieh (The most important ancestors of Tyrolean Brown Swiss). In: Tiroler Braunviehzuchtverband (Hrsg.), Tiroler Braunvieh: Rückblick und Ausblick, 1907-2007, pages:127-129; Verlag Edition Tirol , Reith, Austria (2007)

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

-

7. ประสบการณ์การทำงานวิจัยในฐานะหัวหน้าโครงการ

7.1 การตรวจสอบหายาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมดิบ เนื้อสุกร และเนื้อไก่ ในเขตอำเภอชะอำและอำเภอหัวหิน (Detection of antibiotic residues in raw milk, pork and chicken meat in Cha-Am and Hua-Hin areas) พ.ศ.2552-2553 เงินวิจัย 50,000 บาท

7.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมโคของเกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคกลางตอนล่าง (Factor Influencing on Dairy Milk Production in Lower Central Region) พ.ศ.2553-ปัจจุบัน ทุนวิจัย 70,000 บาท

7.3 การประมาณค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของเนื้อทรายโดยใช้ไมโครแซทเทิลไลท์มาร์กเกอร์ (Evaluation for genetic diversity of Thai hog deer by using microsatellite markers) พ.ศ.2554- ปัจจุบัน ทุนวิจัย 931,000 บาท

7.4 การปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะตกค้างและจุลินทรีย์ในน้ำนมโคดิบในเขตอำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี (The contamination of antibiotic residue and microorganisms in raw cattle milk collected from Cha-Am district, Phetchaburi province) พ.ศ.2554-ปัจจุบัน ทุนวิจัย 118,200 บาท

8. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : *(ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุนย้อนหลังไม่เกิน 5 ปี)*

8.1 การตรวจสอบหายาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมดิบ เนื้อสุกร และเนื้อไก่ ในเขตอำเภอชะอำและอำเภอหัวหิน (Detection of antibiotic residues in raw milk, pork and chicken meat in Cha-Am and Hua-Hin areas) ระยะเวลาการดำเนินการวิจัย พ.ศ.2552-2553,

<u>แหล่งทุน</u> งบประมาณเงินรายได้คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร จำนวนเงิน 50,000 บาท

<u>ผลงานวิจัย</u>

- **Manatrinon, S.**, A. Suthitiwanich, A. Tengmueangpuk, A. Lokcamlue, P. Meetum, S. Thongruang, T. Chalermchaikit. The preliminary study on antibiotic residues in raw milk: collected from Phetchaburi and Prajuabkirikhan provinces, Thailand. Second international conference on sustainable animal agriculture for developing countries (SAADC 2009), 8-11 November 2009, Corus Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia

- อภิชญา เต็งเมืองปัก อรุณโรจน์ สุฐิติวนิช อังสนา โลกคำลือ พิมพ์ใจ มีตุ้ม ศรัณย์พงศ์ ทองเรือง ธงชัย เฉลิมชัยกิจ และ **สุภาวดี มานะไตรนนท์**. การตรวจหายาต้านจุลชีพตกค้างในเนื้อสุกรและเนื้อไก่ในเขตพื้นที่อำเภอชะอำและอำเภอหัวหิน, การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยสร้างสรรค์ ศิลปากรวิจัย ครั้งที่ 3, 28-29 มกราคม 2553 ณ ศูนย์ศิลปวัฒนธรรมเฉลิมพระเกียรติ 6 รอบพระชนมพรรษา มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ – สกุล นางสาวอรอุมา ทองหล่อ
   Miss On-uma Thonglor

2. วัน เดือน ปีเกิด 11 กรกฎาคม 2523

3. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน ☐ ข้าราชการ ☑ พนักงาน

☑ อาจารย์	o ชำนาญการ
o ผู้ช่วยศาสตราจารย์	o เชี่ยวชาญ
o รองศาสตราจารย์	o เชี่ยวชาญพิเศษ
o ศาสตราจารย์	o อื่นๆ (โปรดระบุ)..................................

4. สถานที่ทำงาน คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี อ. ชะอำ จ.เพชรบุรี
   โทรศัพท์ 032 – 594038 โทรสาร 032-594038
   Email : on_uma2523@yahoo.com

   ที่อยู่ปัจจุบัน คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี อ. ชะอำ จ.เพชรบุรี
   โทรศัพท์ 032 – 594038 โทรสาร 032-594038

5. ประวัติการศึกษา
   - ปริญญาตรีสาขาคณิตศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
     ปีที่จบ พ.ศ. 2544
   - ปริญญาโทสาขาสถิติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
     ปีที่จบ พ.ศ. 2546

6. วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา (ชื่อเรื่อง/ปีที่ดำเนินการ ทั้งระดับปริญญาโทและปริญญาเอก)
   - **ระดับปริญญาโท**

   ชื่อเรื่อง การใช้โปรแกรมเชิงเส้นในการจัดสรรเงินกู้ของธนาคารพาณิชย์ : กรณีศึกษาธนาคารกรุงเทพ จำกัด(มหาชน)

   ปีที่ดำเนินการ พ.ศ.2545-2546

7. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ) โปรดระบุแขนงวิชา และแนวเรื่องย่อยด้วย (ถ้ามี)

   กลุ่มวิชาวิทยาศาสตร์สัณฐานวิทยาและคณิตศาสตร์ แขนงวิชา ฟิสิกส์

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ - สกุล นายอนวัช บุญญภักดี
   Mr. Anawat Boonyapakdee

2. วัน เดือน ปีเกิด 10 มิถุนายน 2516

3. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน ☐ ข้าราชการ ☑ พนักงาน
   - o อาจารย์
   - ☑ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
   - o รองศาสตราจารย์
   - o ศาสตราจารย์
   - o ชำนาญการ
   - o เชี่ยวชาญ
   - o เชี่ยวชาญพิเศษ
   - o อื่นๆ (โปรดระบุ)..................................

4. สถานที่ทำงาน
   ภาควิชา - คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร,มหาวิทยาลัยศิลปากรวิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี
   โทรศัพท์ 0-3259-4037
   โทรสาร 0-3259-4038
   E-mail address vcptours@hotmail.com , anawat@su.ac.th
   ที่อยู่ปัจจุบัน 3 ซอย 61 ถ. อาคารสงเคราะห์ คลองจั่น บางกะปิ กทม .10240
   โทรศัพท์ 023773184 (01-2910675)

5. ประวัติการศึกษา
   - มัธยมต้น ร.ร. มหาวชิราวุธ จ.สงขลา
   - ประกาศนียบัตรวิชาชีพ วิทยาลัยประมงติณสูลานนท์ จบการศึกษา พ.ศ. 2535
     (ประเภทวิชา เกษตรกรรม สาขา การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เกรดเฉลี่ย 3.04)
   - ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง วิทยาลัยประมงติณสูลานนท์ จบการศึกษา พ.ศ. 2537
     (ประเภทวิชา เกษตรกรรม สาขา ประมง เกรดเฉลี่ย 3.53)
   - ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จบการศึกษา พ.ศ. 2539
     (ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขา การประมง (การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) เกรดเฉลี่ย 3.08)
   - ปริญญาโท มหาวิทยาลัยบูรพา จบการศึกษา พ.ศ. 2542
     (ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขา วาริชศาสตร์ เกรดเฉลี่ย 3.71)

6. วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา
   - ระดับปริญญาโท
     ชื่อเรื่อง วิทยานิพนธ์ภาษาไทยเรื่อง : ลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมของปูทะเลสกุล *Scylla* ในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดตราด
     ชื่อเรื่อง วิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ: GENETIC DIFFERENTIATION OF CRABS (GENUS SCYLLA) FROM CHANTABURI AND TRAT PROVINCES)
     ปีที่ดำเนินการ................2539..............................

7. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ
   การประมงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นิเวศวิทยา

8. ประวัติประสบการณ์การทำงานและอบรม

- ปี 2546 - 2547 เป็นอาจารย์สอนที่คณะผลิตกรรมการเกษตร สาขาการประมง ที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วิทยาเขตชุมพร
- 2547 วิทยากรบรรยายเรื่องการประกอบอาชีพทางการประมง ที่ เรือนจำ กลาง จ. ชุมพร
- 2547 อบรมการบรรยายเชิงปฏิบัติการเรื่องคาร์โรทีนอยด์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- 2548 Work shop on "The use of GIS and RS for CZM" at BOGOR agricultural University Indonesia.

9. ผลงานตีพิมพ์

- Marine Biotechnology (2000) genetic diversity and species diagnostic markers of MUD crabs (Genus Scylla) in Eastern Thailand determined by RAPD analysis.
- The study of Chitin-Chitosan application from black tiger shrimp's carapaces (Penaeus monodon) and shells of pomancea insularrus for increasing growth rate in cyprinus carpio linn. Symposium on Themoterance in Domestic Animals
- The Comparison of Investment and Product in Tilapia Farm with Vannamei Shrimp Culture by Chicken Dung and Chicken Dung plus Rice Bran Feeding. Journal of Faculty of Animal Science and Agricultural Technology, Silpakorn University (ASAT e-Journal ISSN 1906-7976 year 1/3)

10. ความถนัดและสนใจ

- Aquatic taxonomy
- Marine Ecology
- Aquaculture

ตอนที่ 2 ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ทางด้านศิลปะการออกแบบที่ดำเนินการเสร็จแล้ว

1. ชื่อเรื่อง - Marine Biotechnology (2000) genetic diversity and species diagnostic markers of MUD crabs (Genus Scylla) in Eastern Thailand determined by RAPD analysis.

2. ลักษณะของโครงการ/ผลงาน

☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว ☑ คณะบุคล/กลุ่ม

☐ เป็นหัวหน้า ☑ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

4. งบประมาณ 9,000 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัยตั้งแต่ปี พ.ศ. ถึงปี พ.ศ. 2541-2542

5. ชื่อแหล่งทุน /แหล่งสนับสนุน : ทุนสิรินธรสนับสนุนงานวิจัยดีเด่นระดับบัญฑิตศึกษา

6. การเผยแพร่งานวิจัย: ในภาพของบทความทางวิชาการเรื่อง

Genetic diversity and species diagnostic markers of MUD crabs (Genus Scylla) in Eastern Thailand determined by RAPD analysis. S. Klinbunga, A. Boonyapakdee,B. Pratoomchart. Marine Biotechnology.2, (2000)180-187

ตอนที่ 3 ผลงานวิจัยหรือผลงานสร้างสรรค์ที่กำลังดำเนินการ

1. ชื่อเรื่อง : โครงการ การประเมินมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์และสังคมของทรัพยากรธรรมชาติชายฝั่งทะเล จังหวัดเพชรบุรีและประจวบคีรีขันธ์; งบประมาณปี 2549

   Socio-Economic Valuation of Marine Natural Resources along the coast of Phetchaburi and Prachuabkirikhan Provinces

2. ลักษณะของโครงการ/ผลงาน

☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว	☑ คณะบุคคล/กลุ่ม
☐ เป็นหัวหน้า	☑ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

4. จำนวนงบประมาณ 800,000 บาท

   ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย 2549 – 2551

5. ชื่อแหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย