



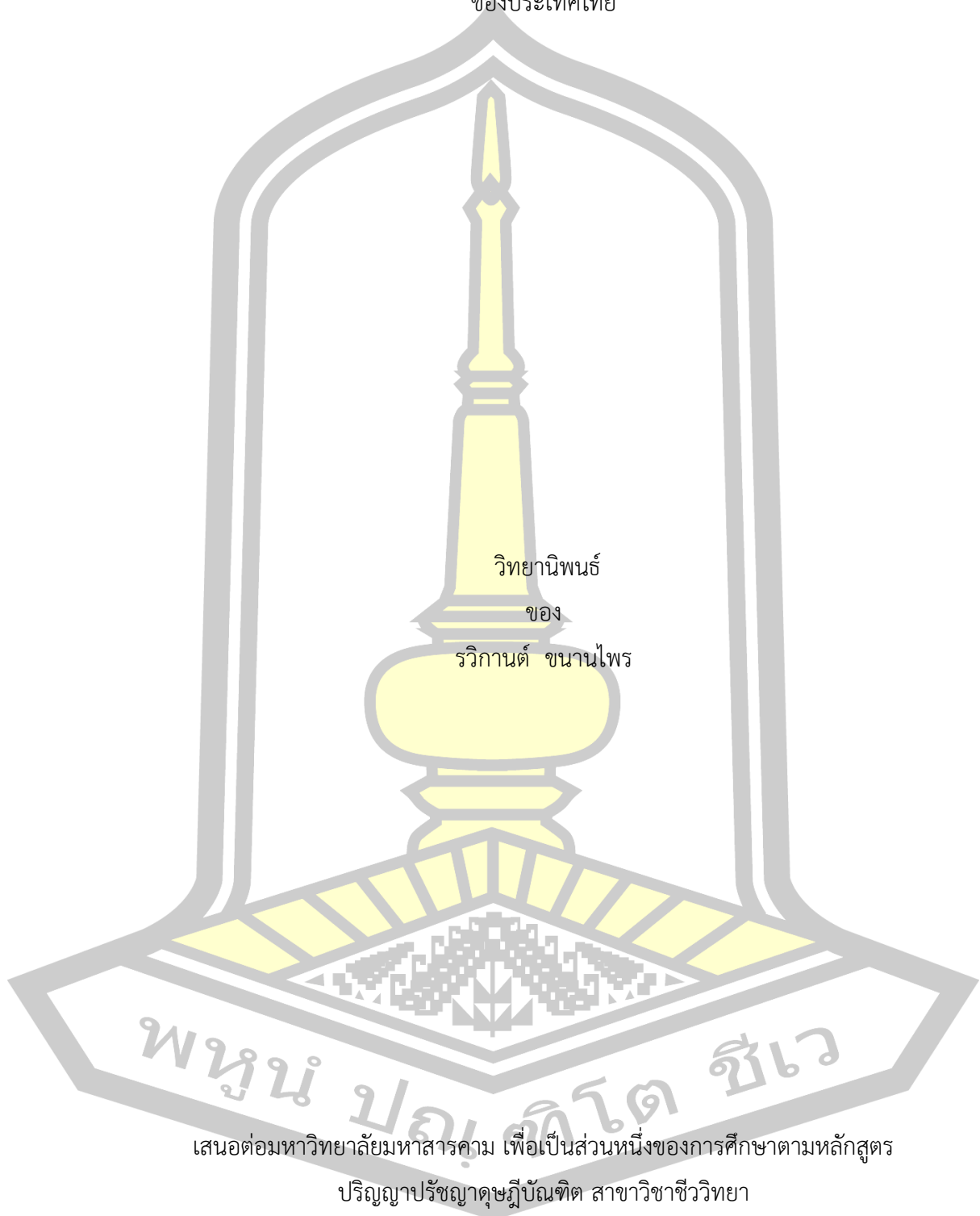
ความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ่มฝอย *Macrobrachium lanchesteri* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
ของประเทศไทย

วิทยานิพนธ์
ของ
รวิگانต์ ขนนานไพร

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
พฤษภาคม 2562

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย *Macrobrachium lanchesteri* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
ของประเทศไทย



พูน ปลูกโต ชีเว

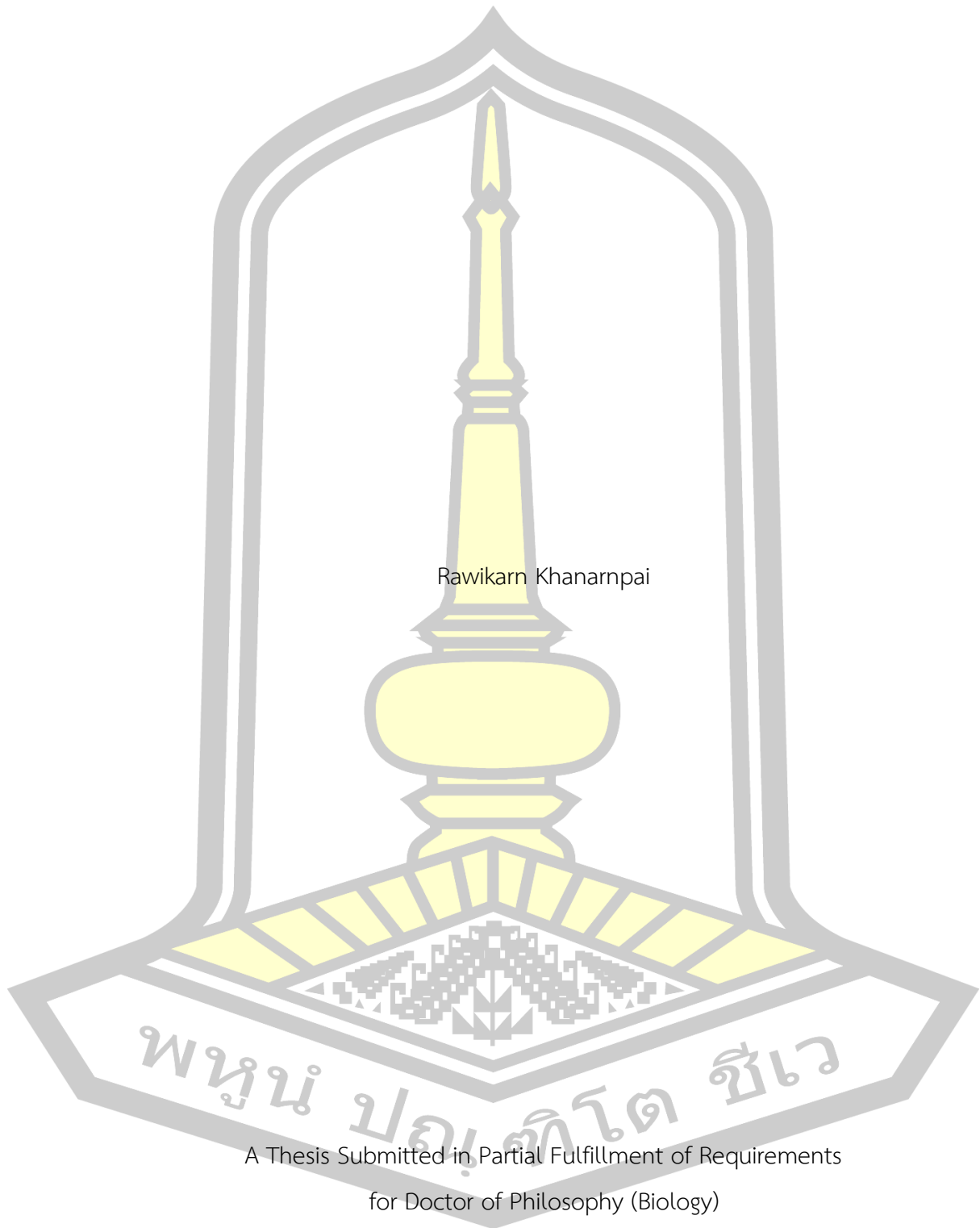
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

พฤษภาคม 2562

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Genetic Variation of *Macrobrachium lanchesteri* in Northeastern Thailand



Rawikarn Khanarnpai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Doctor of Philosophy (Biology)

May 2019

Copyright of Maharakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาววิกานต์ ขนานไพโร แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. กীরวิชญ์ เพชรจุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. บังอร แกลวโนนจิว)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. บังอร กองอิม)

.....กรรมการ

(ผศ. ดร. ปิยมาศ นานอก โสภาลดาวัลย์)

.....กรรมการ

(ผศ. ดร. พรทิพย์ อติชาติ)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ศาสตราจารย์ ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

..... (ผศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

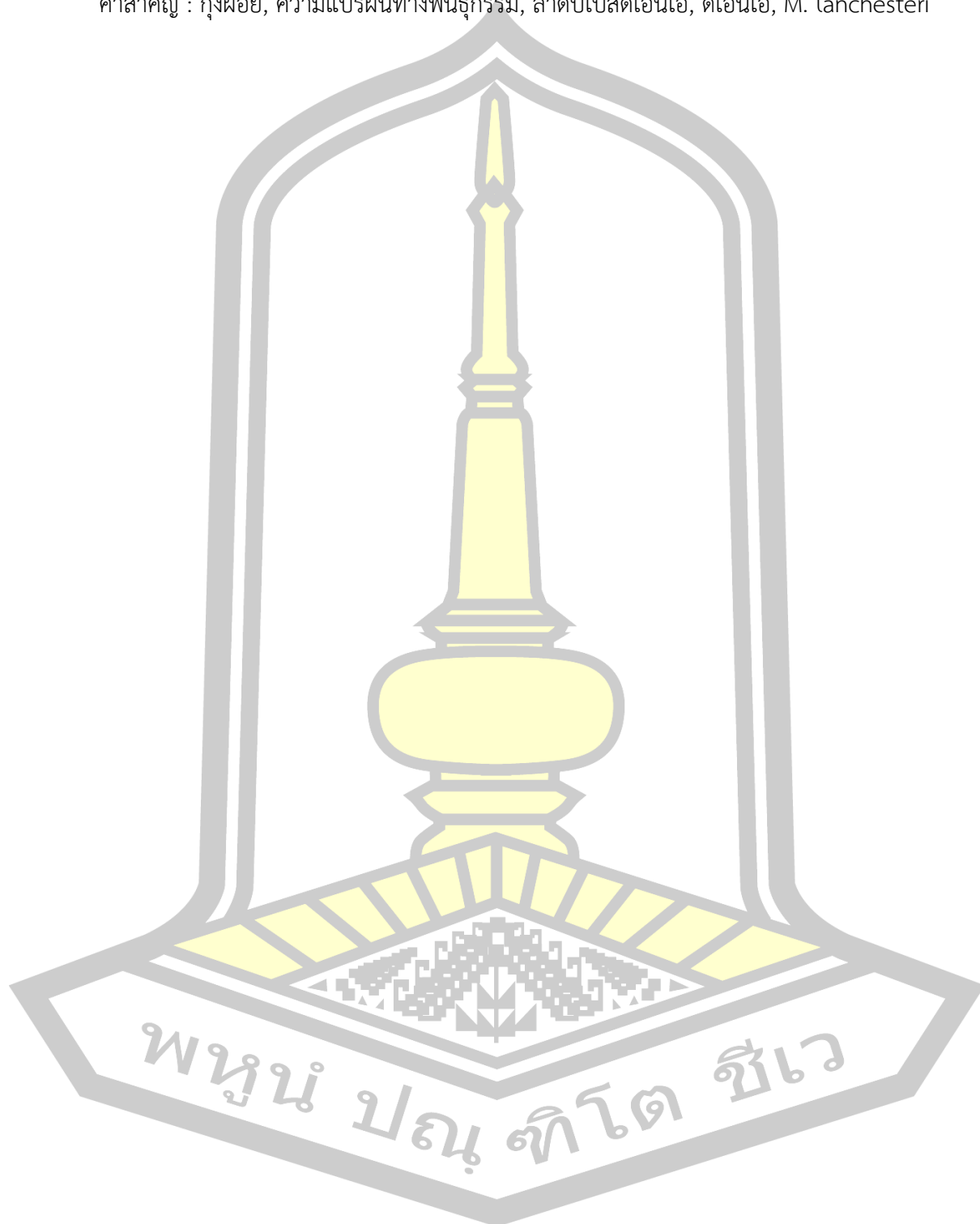
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย <i>Macrobrachium lanchesteri</i> ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย		
ผู้วิจัย	รวิกันต์ ขนานไพโร		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บังอร แฉวโนนจิว ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บังอร กองอิม		
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2562

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย *Macrobrachium lanchesteri* จากพื้นที่ทั้งหมด 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยทั้งหมด 1,771 ตัวอย่าง นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกพบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ชัดเจนคือกรีมี่ลักษณะตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อย ยาวหรือเท่ากับแผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 จำนวนฟันกรีด้านบน 7-3 ซี่ ด้านล่าง 2-4 ซี่ ความยาวของลำตัวทั้งหมด 1.4-4.5 เซนติเมตร เมื่อทำการวิเคราะห์การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าประชากรกุ้งฝอยที่มีขนาดความยาวของลำตัวมากที่สุดคือ จังหวัดหนองคาย มีค่าเฉลี่ย 3.86 เซนติเมตร ขณะที่ประชากรของกุ้งฝอยที่มีขนาดเล็กที่สุดพบที่จังหวัดบุรีรัมย์ และกาฬสินธุ์ มีค่าอยู่ในช่วง 1.62 และ 1.60 เซนติเมตร ตามลำดับ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยโดยเทคนิค PCR-RFLP โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 5 ชนิด คือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III พบ Composite haplotypes ทั้งหมด 2 รูปแบบ คือ AAAAA และBBBBB แล้วนำเอนไซม์ตัดจำเพาะมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.10p พบว่าสามารถจัดจำแนกกุ้งฝอยออกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 1.0 การศึกษาโดยเทคนิคการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ เมื่อทำการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย *M. lanchesteri* พบว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0-0.035 มีค่าเฉลี่ยที่ 0.014 ซึ่งพบว่ากุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ พบว่าค่าอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 25-33 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 6-9 ค่าความกระด้างของน้ำอยู่ในช่วง 64-101 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4-7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าค่าทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์คุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด

คำสำคัญ : กุ้งฝอย, ความแปรผันทางพันธุกรรม, ลำดับเบสดีเอ็นเอ, ดีเอ็นเอ, M. lanchesteri



TITLE	Genetic Variation of <i>Macrobrachium lanchesteri</i> in Northeastern Thailand		
AUTHOR	Rawikarn Khanarnpai		
ADVISORS	Assistant Professor Bung-on Thaewnongiw , Ph.D. Assistant Professor Bang-on Kong-im , Ph.D.		
DEGREE	Doctor of Philosophy	MAJOR	Biology
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2019

ABSTRACT

The objective of this study were to determine genetic variation of *M. lanchesteri* collecting total of 1,771 individuals from 16 provinces in northeastern Thailand. The morphological showed rostrum were slender and length, rostral teeth 7-3/2-4, total length 1.5-4.5 cm. The morphometric that mean length *M. lanchesteri* of female was higher than male in all 16 provinces. *M. lanchesteri* from Nongkhai seem to be larger than other while Buri Ram and Kalasin that mostly comprised of the smallest size Whereas, the genetic diversity was determined using PCR-RFLP technique with 5 restriction enzyme (*Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II and *Hae* III). The results of these samples showed 2 composite haplotypes as AAAAA and BBBBB. The UPGMA Dendrogram of restriction pattern was analyzed using NTSYSpc version 2.10p. The *M. lanchesteri* were divided into 2 group as group1 consisted of *M. lanchesteri* and group2 consisted of *M. rosenbergii*. The similarity coefficient between 2 groups was 1.0. genetic distance between different haplotypes of *M. lanchesteri* ranged from 0 - 0.035 showed a low rate of genetic variability. Water quality analyzed showed water including water temperature ranged 25 - 33 °C, pH ranged 6 - 9, water hardness ranged 64 - 101 mg/L and dissolved oxygen ranged 4 to 7.5 mg/L. Water quality was found appropriate for aquatic life.

Keyword : Shrimp Genetic Variation Sequence DNA *M. lanchesteri*



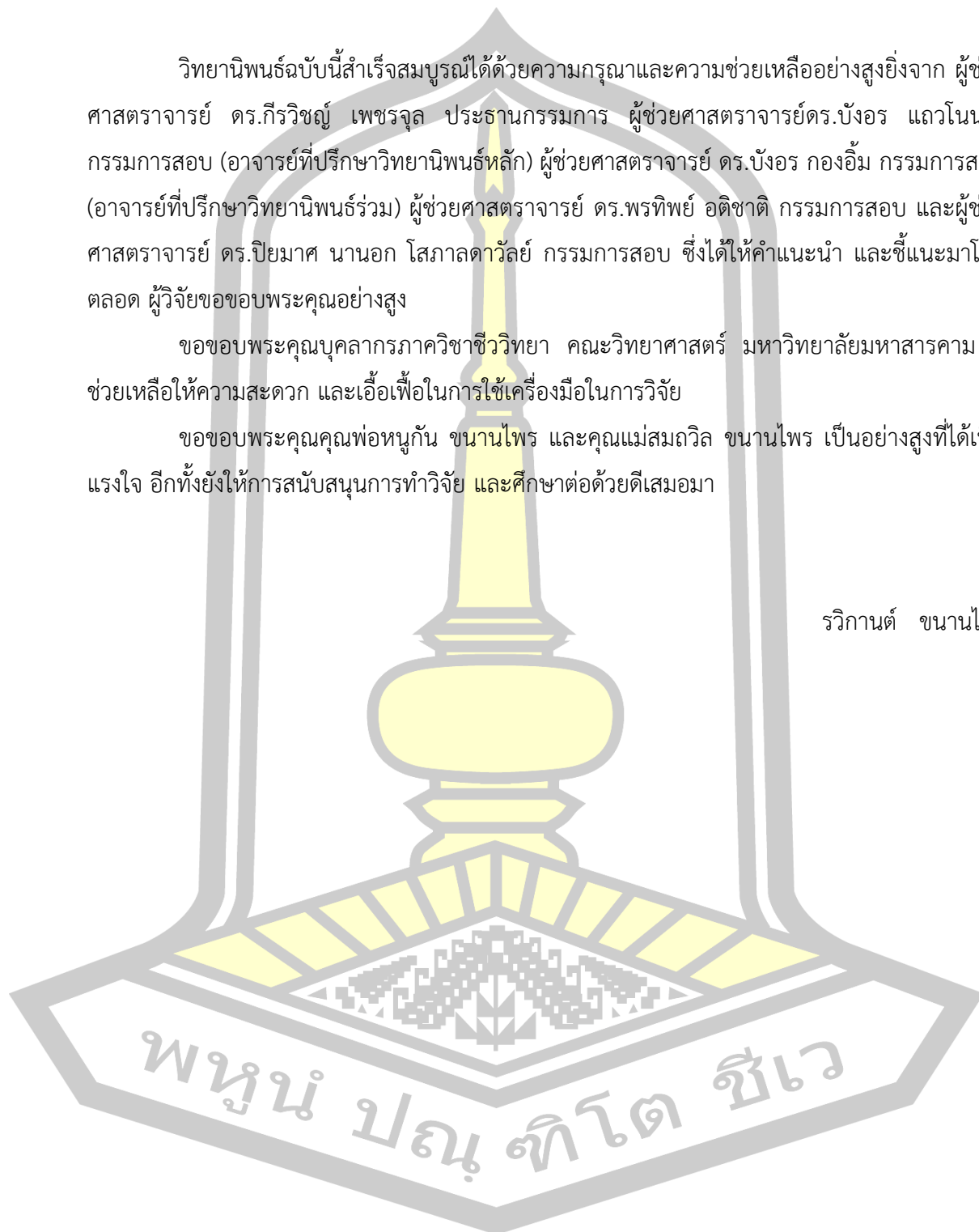
กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความรู้และความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กীরวิชญ์ เพชรจุล ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บังอร แถวโนนจิว กรรมการสอบ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บังอร กองอัม กรรมการสอบ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรทิพย์ อติชาติ กรรมการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยมาศ นานอก โสภาลดาวัลย์ กรรมการสอบ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ และชี้แนะมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบพระคุณบุคลากรภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ช่วยเหลือให้ความสะดวก และเอื้อเฟื้อในการใช้เครื่องมือในการวิจัย

ขอขอบพระคุณคุณพ่อหนูกัน ขนานไพโร และคุณแม่สมถวิล ขนานไพโร เป็นอย่างสูงที่ได้เป็นแรงใจ อีกทั้งยังให้การสนับสนุนการทำวิจัย และศึกษาต่อด้วยดีเสมอมา

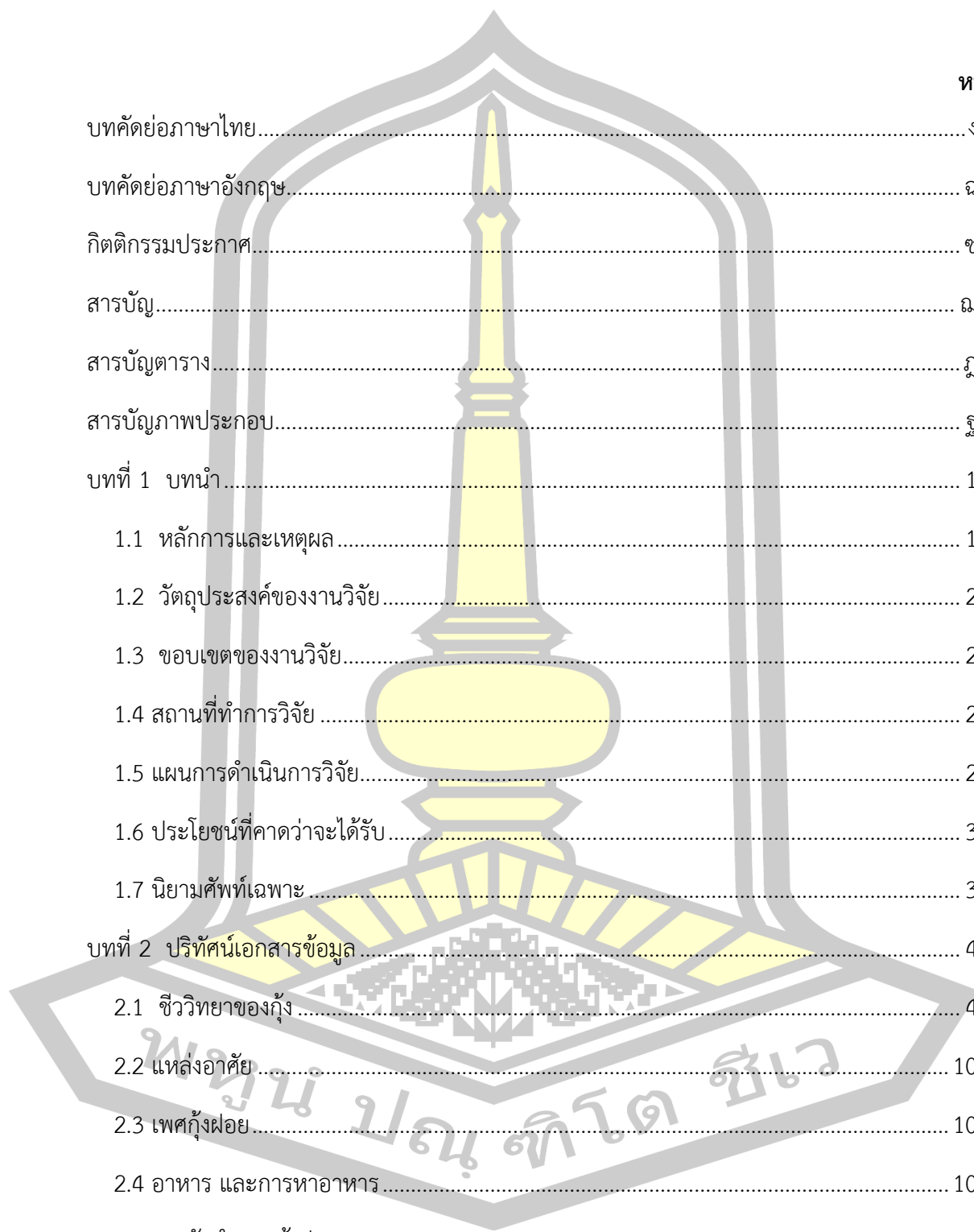
รวีกานต์ ขนานไพโร



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพประกอบ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 หลักการและเหตุผล.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	2
1.5 แผนการดำเนินการวิจัย.....	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
บทที่ 2 ปรีทัศน์เอกสารข้อมูล.....	4
2.1 ชีววิทยาของกิ้ง.....	4
2.2 แหล่งอาศัย.....	10
2.3 เพศกึ่งฝอย.....	10
2.4 อาหาร และการหาอาหาร.....	10
2.6 การจัดจำแนกกึ่งฝอย.....	11
2.7 การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometry).....	18

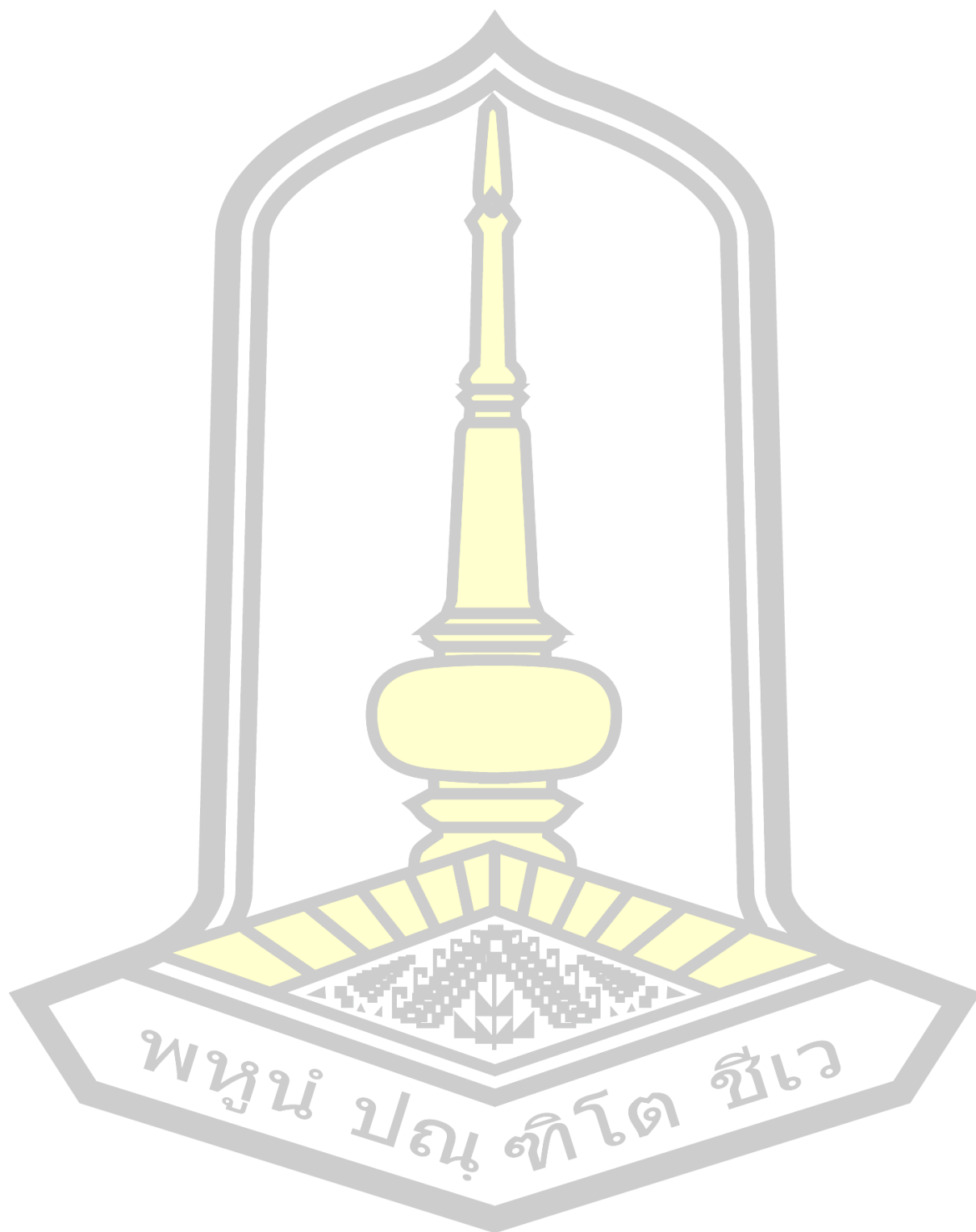


2.8 คุณภาพน้ำ (Water quality).....	18
2.9 เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์ในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม.....	20
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ่มฝอย	27
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometric).....	30
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	32
3.1 การศึกษาลักษณะทางกายภาพ และค่าทางเคมี ของน้ำ.....	32
3.2 การเก็บตัวอย่างกุ่มฝอย	33
3.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก <i>M. lanchesteri</i>	33
3.4 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม.....	34
บทที่ 4 ผลการวิจัย	37
4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.....	37
4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของกุ่มฝอย.....	43
4.3 ผลการวิเคราะห์หมอร์โฟเมตริกของกุ่มฝอย <i>M. lanchesteri</i>	51
4.4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของกุ่มฝอย <i>M. lanchesteri</i>	60
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	81
5.1 การศึกษาคุณภาพของแหล่งน้ำ.....	81
5.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	82
5.3 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ่มฝอย <i>M. lanchesteri</i>	84
5.4 สรุปผล.....	86
5.5 ข้อเสนอแนะ.....	87
บรรณานุกรม.....	89
ภาคผนวก.....	95
ประวัติผู้เขียน.....	149

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 กุ้งน้ำจืดสกุล <i>Macrobrachium</i> ที่พบในประเทศไทย	12
ตาราง 2 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งน้ำจืดสกุล <i>Macrobrachium</i>	13
ตาราง 3 เกณฑ์คุณภาพน้ำบางประการที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด	20
ตาราง 4 วิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการ	32
ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย	37
ตาราง 6 สถานที่เก็บ ชนิดและจำนวนของกุ้งฝอย (<i>M. lanchesteri</i>) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้.....	43
ตาราง 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอย <i>M. lanchesteri</i> ที่เก็บจากจังหวัดต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย	45
ตาราง 8 ลักษณะการวัดทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอยเพศผู้ที่เก็บจาก 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย	52
ตาราง 9 ลักษณะการวัดทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอยเพศเมียที่เก็บจาก 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย	55
ตาราง 10 สถิติเชิงพรรณนาสำหรับความยาวของลำตัวทั้งหมดของกุ้งฝอยเพศผู้และเพศเมีย.....	59
ตาราง 11 รูปแบบขนาดซันด์เอ็นเอที่ได้จากการตัดยีน COI ของกุ้งฝอย <i>M. lanchesteri</i>	67
ตาราง 12 รูปแบบขนาดซันด์เอ็นเอที่ได้จากการตัดยีน COI ของกุ้งฝอย <i>M. lanchesteri</i>	67
ตาราง 13 การกระจายของความถี่ของ Single haplotypes ที่พบในแต่ละแหล่งของยีน COI.....	68
ตาราง 14 ร้อยละ composite haplotypes ของกุ้งฝอย <i>M. lanchesteri</i> และ <i>M. rosenbergii</i> ..	69
ตาราง 15 Molecular taxonomic key แบบ single haplotype สำหรับการจัดจำแนกกุ้งฝอย ..	70
ตาราง 16 Molecular taxonomic key แบบ composite haplotype ที่พบในแต่ละแหล่ง.....	70
ตาราง 17 ผลความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ <i>M. lanchesteri</i> ที่ทำการศึกษาเมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST.....	73
ตาราง 18 รูปแบบของแฮพโลไทป์ (haplotype) ของ <i>M. lanchesteri</i> ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้..	74

ตาราง 19 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง *M. Lanchesteri* ที่ทำการศึกษา 79



สารบัญภาพประกอบ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้ง.....	6
ภาพประกอบ 2 วงจรชีวิตของกุ้งฝอย	11
ภาพประกอบ 3 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium dienbienphuense</i>	15
ภาพประกอบ 4 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium hirsutimanus</i>	15
ภาพประกอบ 5 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium rosenbergii dacqueti</i>	16
ภาพประกอบ 6 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium sintangense</i>	16
ภาพประกอบ 7 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium lanchesteri</i>	17
ภาพประกอบ 8 แสดงส่วนประกอบของ <i>Macrobrachium niphanæ</i>	17
ภาพประกอบ 9 หลักการของพีซีอาร์ (PCR).....	22
ภาพประกอบ 10 การแสดงแผนภาพของการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	34
ภาพประกอบ 11 ผลการตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	39
ภาพประกอบ 12 ผลการตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	40
ภาพประกอบ 13 ผลการตรวจวัดค่าความกระด้างของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ..	41
ภาพประกอบ 14 ผลการตรวจวัดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	42
ภาพประกอบ 15 ตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งฝอยจากพื้นที่การทำวิจัย	44
ภาพประกอบ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกรี และคาราเปสของ <i>M. lanchesteri</i>	47
ภาพประกอบ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นหนวดคู่ที่ 2 ของ <i>M. lanchesteri</i>	48
ภาพประกอบ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขาเดินคู่ที่ 2 ของ <i>M. lanchesteri</i>	49
ภาพประกอบ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหาง และแพนหางของ <i>M. lanchesteri</i>	50
ภาพประกอบ 20 กราฟแสดงความยาวลำตัวทั้งหมดของกุ้งเพศผู้และเพศเมียในพื้นที่ทำการวิจัย ...	58

ภาพประกอบ 21 ขนาดของ PCR product ขนาด 710 bp ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ	60
ภาพประกอบ 22 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์	62
ภาพประกอบ 23 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์	63
ภาพประกอบ 24 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์	64
ภาพประกอบ 25 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์	65
ภาพประกอบ 26 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์	66
ภาพประกอบ 27 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกิ้งฝอย <i>M. lanchesteri</i> ...	72
ภาพประกอบ 28 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่สร้างด้วยวิธี UPGMA ของ <i>M. lanchesteri</i>	80



บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

กุ้งฝอย (*Macrobrachium lanchesteri* (De Man, 1911) จัดอยู่ในวงศ์ Paleamonidae สกกุล *Macrobrachium* (Bate, 1868) กุ้งฝอยเป็นสัตว์น้ำจืดขนาดเล็ก ลำตัวมีสีใส มีลักษณะเด่นคือมีกริลักษณะตรง มักพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืด หนองน้ำ บึง และอ่างเก็บน้ำ หรือบริเวณแหล่งน้ำที่มีกระแสน้ำไหลเฉื่อยๆ (Jongyotha, 2004) *M. lanchesteri* คือ 1 ใน 5 ของชนิดพันธุ์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีการกระจายอย่างกว้างขวางในทวีปเอเชีย ได้แก่ ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ ลาว บรูไน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม (Degrave *et al.*, 2013) โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย กุ้งฝอยสามารถพบได้ในเกือบทุกจังหวัด *M. lanchesteri* เนื่องจากประชาชนส่วนใหญ่จะนำมาประกอบอาหาร กุ้งฝอยยังมีความสำคัญต่อห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศโดยเป็นอาหารสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่น ปลาช่อน ปลาน้ำจืด ปลาเนื้ออ่อนและปลากลาย (Hoa and Yi, 2007) เป็นต้น อีกทั้งยังเป็นอาหารพื้นเมืองของคนไทย สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายรูปแบบ เช่น ทอดมันกุ้ง ไข่เจียวกุ้ง ก้อยกุ้ง กุ้งจ่อม กุ้งเต้น และกุ้งจ่อมยังเป็นอาหารที่มีชื่อเสียงทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สร้างรายได้ให้แก่ผู้ประกอบการกุ้งจ่อมประมาณเดือนละ 20,000 บาท (อร่าม รัตนประดับ, 2556) อีกทั้งสามารถแปรรูปเป็นกะปิและทำเป็นกุ้งแห้งได้ ปัจจุบันการนำกุ้งมาทำการแปรรูปส่วนใหญ่ได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติยังไม่ได้มีการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายทำให้เกิดการขาดแคลนกุ้งฝอยมาใช้เป็นวัตถุดิบ ในการเพาะเลี้ยงกุ้งฝอยจำเป็นต้องคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกเพียงอย่างเดียวอาจทำให้เกิดการคลาดเคลื่อนได้จึงต้องหาเทคนิคในการช่วยจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นให้ถูกต้องจึงควรมีการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยเพื่อจะได้เป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ อีกทั้งในปัจจุบันสภาพของแหล่งน้ำมีการเปลี่ยนแปลง อาจเนื่องมาจากการปล่อยน้ำเสียจากครัวเรือน การปล่อยของเสียจากการผลิตของโรงงาน และน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสีย เป็นต้น อีกทั้งยังมีการกระจายทางภูมิศาสตร์ที่กว้างขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในแม่น้ำทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ยังมีการศึกษาน้อยมาก และยังไม่มีการศึกษาทางพันธุศาสตร์ประชากรกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จึงต้องมีการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม หรือตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรม ซึ่งในปัจจุบันได้มีการใช้เทคนิคต่างๆ ในการหาความสัมพันธ์และการจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิต การวิเคราะห์ Morphometric เป็นวิธีแรกสำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งเป็นการวัดโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิต และนำไปวิเคราะห์ในทางสถิติ (Daly, 1985) ต่อมาได้มีการใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลโดยอาศัยความแตกต่างในระดับยีนหรือดีเอ็นเอ ซึ่งช่วยในการบ่งชี้และจัดจำแนกชนิดพันธุ์ได้ (สิริพร พงษ์สมบูรณ์, 2539)

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของกึ่งฝอยโดยเทคนิคการหาลำดับเบสดีเอ็นเอ และ PCR-RFLP เพื่อเป็นแนวทางในการสืบค้นเครื่องหมายทางพันธุกรรมเพื่อใช้ในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของกึ่งฝอย ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้จึงใช้เทคนิคPCR-RFLP และการหาลำดับเบสมาตรวจสอบหาความแปรผันทางพันธุกรรมของกึ่งฝอยเพื่อยืนยันการจัดจำแนกกึ่งฝอยจากลักษณะภายนอกเพื่อเป็นแนวทางในการช่วยคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ของกึ่งฝอยในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมของกึ่งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

วิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมของ *M. lanchesteri* โดยเทคนิคการหาลำดับเบสดีเอ็นเอ (DNA sequence) และ PCR-RFLP ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เก็บตัวอย่างแบบสุ่มในแหล่งน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จำนวน 16 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย หนองบัวลำภู และอำนาจเจริญ

1.4 สถานที่ทำการวิจัย

สำรวจและเก็บตัวอย่างกึ่งฝอยแบบสุ่มในแหล่งน้ำของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และนำมาตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรม ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

1.5 แผนการดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินงาน	ระยะเวลา
รวบรวมและตรวจเอกสาร	มกราคม-เมษายน 2560
สำรวจเก็บข้อมูลภาคสนาม	พฤษภาคม-กันยายน 2560
วิเคราะห์ข้อมูลในห้องปฏิบัติการ	ตุลาคม 2560-พฤษภาคม 2561
เขียนรายงานวิจัย	พฤษภาคม-กันยายน 2561
เขียนบทความเพื่อตีพิมพ์ในวารสาร	กันยายน-ธันวาคม 2561
เสนอผลงานวิจัย	ธันวาคม 2561

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

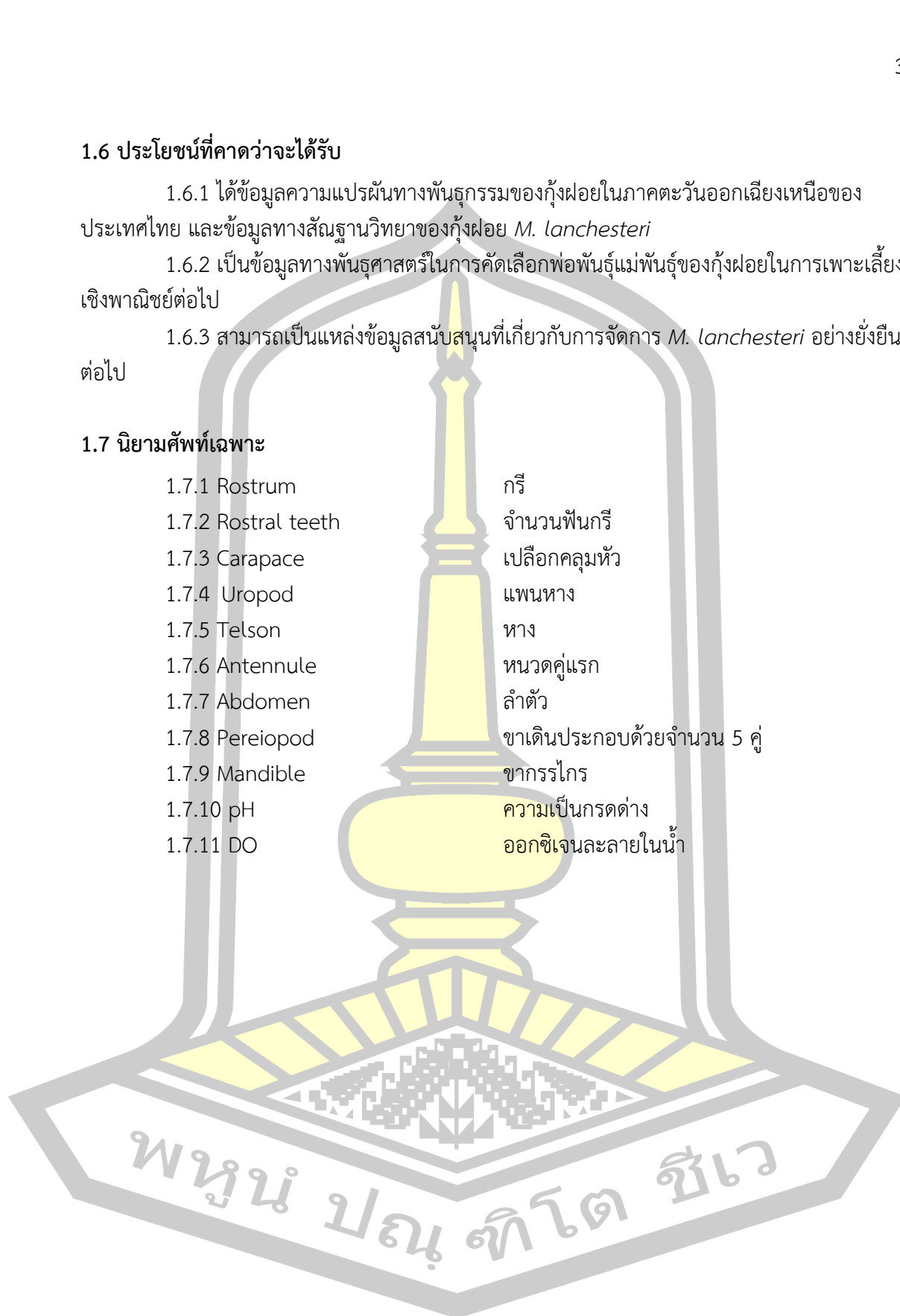
1.6.1 ได้ข้อมูลความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอย *M. lanchesteri*

1.6.2 เป็นข้อมูลทางพันธุศาสตร์ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ของกุ้งฝอยในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.6.3 สามารถเป็นแหล่งข้อมูลสนับสนุนที่เกี่ยวกับการจัดการ *M. lanchesteri* อย่างยั่งยืนต่อไป

1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.7.1 Rostrum	กรร
1.7.2 Rostral teeth	จำนวนฟันกรร
1.7.3 Carapace	เปลือกคลุมหัว
1.7.4 Uropod	แพนหาง
1.7.5 Telson	หาง
1.7.6 Antennule	หนวดคู่แรก
1.7.7 Abdomen	ลำตัว
1.7.8 Pereiopod	ขาเดินประกอบด้วยจำนวน 5 คู่
1.7.9 Mandible	ขากรรไกร
1.7.10 pH	ความเป็นกรดต่าง
1.7.11 DO	ออกซิเจนละลายในน้ำ



บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

กุ้งฝอยเป็นกุ้งน้ำจืดขนาดเล็กจัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทโปดา มีชื่อสามัญว่า Lanchester, Freshwater Prawn พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย ต่อมา De Man (1911) ได้ทำการศึกษา และอธิบายลักษณะรายละเอียดไว้อย่างชัดเจนพร้อมทั้งจำแนกชื่อกุ้งฝอยว่า *Macrobrachium lanchesteri* De Man Goddard (1911) ได้รวบรวม วิเคราะห์ และจัดจำแนก รายละเอียดตามหลักอนุกรมวิธานได้ ดังต่อไปนี้

Kingdom	Animalia
Phylum	Arthropoda
Class	Malacostraca
Order	Decapoda
Family	Palaemonidae
Genus	<i>Macrobrachium</i>
Species	<i>M. lanchesteri</i>

2.1 ชีวิตวิทยาของกุ้ง

กุ้งฝอยเป็นกุ้งน้ำจืดขนาดเล็กมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Macrobrachium lanchesteri* De Man, 1911 มีลักษณะเด่นคือที่ กรีของกุ้งฝอยมีลักษณะตรงมีปลายอนขึ้นเล็กน้อยมีความยาวพอดีกับแผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 ด้านบนมีฟันหยัก 4-7 ซี่ โดยเรียงอยู่หลังเข้าตา 1 ซี่ ด้านล่าง 1-2 ซี่ ขาเดินคู่ที่ 2 เป็นรูปทรงกระบอกยาวเรียวยาว ขาเดินทั้ง 2 ข้างมีความยาวเท่ากันปกติ ลำตัวมีสีใส

ลักษณะทั่วไปของกุ้ง

1. ส่วนของร่างกาย ตัวกุ้งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือเซฟาโลทอแรกซ์ กับท้อง

1.1 เซฟาโลทอแรกซ์ ส่วนนี้มักเรียกว่า หัวกุ้ง ประกอบด้วยปล้อง 13 ปล้อง (ส่วนหัวมี 5 ปล้อง และส่วนอกมี 8 ปล้อง) มีเปลือกแข็งแผ่นเดียวกันปกคลุม เปลือกแข็งนี้เรียกว่า คาราเปส ตรงกลางทางด้านหน้าของคาราเปสมีส่วนยื่นออกปลายแหลม และข้างบนมีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย ส่วนที่ยื่นแหลมออกไปนี้เรียกว่ากรีกุ้ง (rostrum) บนคาราเปสมีร่องแบ่งหัวกุ้งกับส่วนอก 1 ร่อง พาดขวางและเว้าไปข้างหน้า และร่องที่แบ่งเหงือกกับหัวใจ (branchiocardic groove) 2 ร่อง อยู่ทางด้านข้าง 2 ข้าง บริเวณตรงกลางระหว่างร่องเป็นตำแหน่งของหัวใจ (cardiac areal) ซึ่งอยู่ถัดเข้าไปภายในตัวได้คาราเปสด้านหน้าได้ตา มีหนามแอนเทนนา (antennal spine) ข้างละ 1 อัน ตรงบริเวณโคนของกรีกุ้ง มีตาประกอบ 1 คู่ ซึ่งสามารถที่จะตั้งขึ้นหรือพับลงไปนอนราบได้

1.2 ส่วนท้อง ส่วนนี้มักเรียกว่า ตัวกึ่ง ประกอบด้วยปล้อง 6 ปล้อง ปล้องที่ 6 จะเป็นปล้องสุดท้ายจะมีหางแข็งแหลม (telson) ยื่นออกไปบริเวณใต้โคนหางเป็นช่องทวารหนักหางเมื่อรวมกับครีบหาง (uropod) ก็จะกลายเป็นแพนหาง (tailson)

เปลือกที่หุ้มส่วนท้องจะแบ่งออกเป็นแผ่นๆ ตามจำนวนปล้อง เปลือกที่หุ้มปล้องแต่ละปล้อง เรียกว่า สเคลอไรต์ ระหว่างสเคลอไรต์จะเชื่อมด้วยเยื่อบางๆ เยื่อบางนี้จะพบพบอยู่ภายใน ทำให้งอและเหยียดตัวได้ดีเมื่อเคลื่อนไหว

แผ่นของสเคลอไรต์แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนที่ปกคลุมด้านหลังเรียกว่า เทอร์กัม (tergum) ส่วนที่ปกคลุมด้านท้องเรียกว่า สเตอรัม (sternum) ซึ่งเป็นส่วนที่อ่อนกว่าเทอร์กัม และส่วนที่ยื่นลงไปทางด้านข้างทั้ง 2 ข้าง เรียกว่า พลูรอน (pleuron)

2.รยางค์ รยางค์ของกุ้งมี 2 แบบ คือ รยางค์แบบ 2 แขนง (biramous) กับรยางค์แบบแขนงเดียว (uniramous)

2.1 รยางค์แบบ 2 แขนง ประกอบด้วยฐานของรยางค์ที่ยึดติดกับตัวกับแขนงของรยางค์ฐานของรยางค์ เรียกว่า โพรโทโพไดต์ (protopodite) ซึ่งประกอบด้วยข้อ 2 ข้อ ข้อในสุดเรียกว่า คอกโซโพไดต์ (coxapodite) เป็นข้อสั้นๆ คล้ายวงแหวนยึดติดกับสเตอรัมหรือติดกับตัว โดยมีเยื่อหุ้มข้อ ข้อที่ 2 เรียกว่า เบซิโพไดต์ (basipodite) เป็นข้อที่ต่างจากข้อแรกและยาวกว่า ต่อจากข้อที่ 2 จะมีแขนงแยกเป็น 2 แขนง แขนงที่อยู่ด้านบนเรียกว่า เอกโซโพไดต์ (exopodite) และแขนงที่อยู่ด้านล่างเรียกว่า เอนโดโพไดต์ (endopodite) ทั้งเอนโดโพไดต์และเอกโซโพไดต์ มีขนเล็กสั้นๆ อยู่ตามขอบ ตัวอย่างของรยางค์แบบ 2 แขนง เช่น รยางค์ว่ายน้ำ หนวดสัมผัส และขาเดินบางคู่ เป็นต้น

2.2 รยางค์แบบแขนงเดียว เป็นแบบข้อต่อเรียงต่อกัน ตรงปลายข้อไม่แยกเป็น 2 แขนง เช่น ขาเดินบางคู่ โคนของรยางค์มักจะมีติ่งหรือแขนงยื่นออกมา เรียกว่าอีพิโพไดต์ (epipodite) ซึ่งมักจะทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแก๊สเป็นส่วนใหญ่

จำแนกรยางค์ออกตามส่วนต่างๆ ของร่างกายได้ดังนี้

1.รยางค์ส่วนหัวมี 5 คู่ ได้แก่

1.1 หนวดคู่แรก (antennule) เป็นหนวดขนาดเล็กอยู่ใต้ก้านตา และเป็นคู่ที่อยู่ด้านในใช้ในการสัมผัส

1.2 หนวดคู่ที่สอง (antenna) เป็นหนวดคู่ที่อยู่ด้านนอก มีขนาดใหญ่กว่าคู่แรก ใช้ในการสัมผัส

1.3 ขากรรไกรหรือสำเภากุ้งมี 1 คู่ ทำหน้าที่ตัดและบดอาหาร ส่วนที่เป็นตัวเรื่อเรียกว่า อะโพไฟซิส (apophysis) ตอนหน้ามีแฉ่งแข็งทำหน้าที่เป็นฟันกัด และถัดลงมาตรงกลางมีแฉ่งยื่นออกมาเป็นฟันบด

1.4 แมกซิลลา (maxilla) มี 2 คู่ คู่แรกช่วยจับอาหารเข้าปาก ส่วนคู่ที่ 2 ช่วยจับอาหารเข้าปากและโบกพัดน้ำเข้าเหงือก

2. รยางค์ส่วนอก มี 8 คู่ ได้แก่

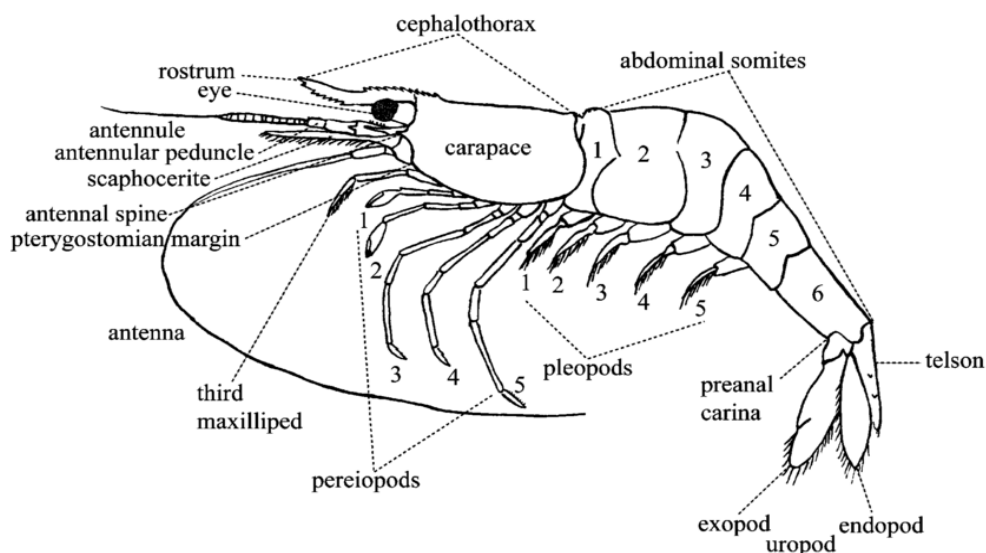
2.1 แมกซิลลิเพด (maxiliped) มี 3 คู่ ทำหน้าที่ช่วยในการกินอาหาร

2.2 ขาเดินมี 5 คู่ 2 คู่แรกมีลักษณะเป็นก้ามหนีบใช้ในการฉีกอาหาร และต่อสู้อันตราย ตัว คู่แรกเรียกว่า คีลิแพด (cheliped) คู่ที่ 2 มีขนาดใหญ่สุดเรียกว่า เกรทคีลา (great chela) ทั้ง 2 คู่นี้มีรยางค์แบบ 2 แขนง ส่วนอีก 3 คู่ ทำหน้าที่เป็นขาเดิน เป็นรยางค์แบบแขนงเดียว

3. รยางค์ส่วนท้อง มี 6 คู่ ได้แก่

3.1 รยางค์ว่ายน้ำมี 5 คู่ เป็นรยางค์แบบ 2 แขนง ทางด้านในตรงโคนมีติ่งเล็กๆยื่นออกมา 2 อัน ทำหน้าที่ตั้งของรยางค์ที่เป็นคู่กัน เพื่อจะได้โบกพัดไปพร้อมกัน ในตัวเมีย รยางค์ว่ายน้ำทำหน้าที่อุ้มไข่ได้อีกด้วย

3.2 ครีบหาง 1 คู่ เป็นรยางค์แบบ 2 แขนง ครีบหางทั้งคู่นี้จะขนานข้างทาง เเทลซัลกลายเป็นแพนหาง ทำหน้าที่เป็นหางเสียดังภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้ง
(ที่มา: Miller and Harley, 2010)

ลักษณะภายนอกของกุ้งฝอย

ลักษณะอวัยวะภายนอกส่วนต่างๆของกุ้งฝอย ประกอบด้วย

1. กอรี (rostrum) มีลักษณะตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อยคล้ายใบเลื่อย ด้านบนของกอรี มีฟันจำนวน 7-10 ซี่ อยู่หลังเขี้ยวจำนวน 1 ซี่ โดยซี่แต่ละอันมีระยะห่างเท่าๆกัน ด้านล่างมีฟันจำนวน 2-4 ซี่
2. เปลือกคลุมหัว (carapace) ผิวมีลักษณะเกลี้ยงเรียบ บาง สันของหนามบริเวณเหนือต้อยต่ำกว่าสันของหนามบริเวณหนวด และเอียงไปทางด้านหลัง
3. ลำตัว (abdomen) ขนาดความยาวลำตัวกุ้งฝอยมีขนาดประมาณ 15.6-56 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีใสเป็นปล้องๆ ทั้งหมด 6 ปล้อง
4. หาง (telson) เป็นรูปสี่เหลี่ยมเรียวสอดเข้าที่ปลายหาง บริเวณส่วนปลายเรียวแหลมและยื่นตรง

5. แพนหาง (uropod) ประกอบด้วย exopod และ endopod ส่วนใหญ่ exopod มีขนาดใหญ่กว่า endopod และด้านหลังของแผ่น exopod และ endopod มีขนเล็กๆกระจายอยู่ทั่วแผ่น

6. ตา (eye) เป็นแบบตาประกอบ (compound eye) มีก้านตาติดอยู่ระหว่างกรีและ antennules

7. หนวดคู่สั้น (antennules) ที่ฐานของ antennules มีปล้อง 3 ปล้อง ปล้องส่วนบนของปล้องที่ 3 มี styrocerite เป็นหนวดเล็กยาวต่อเป็นข้อๆ กับแผ่นสี่เหลี่ยมแบ่งเป็น 3-4 ข้อ ข้อสุดท้ายแยกออกเป็นหนวด 2 เส้น แต่ละเส้นแบ่งเป็นข้อๆ โครงฐานของ Antennules ปล้องที่ 1 มีอวัยวะสำหรับการทรงตัว

8. หนวดคู่ยาว (antenna) แบ่งเป็น scaphocerite และ antenna flagellum 1 เส้น

9. ขากรรไกรล่าง (mandible) แบ่งเป็นฟันบด (molar) และฟันตัด (incisor)

10. ขากรรไกรบน (maxilla) มี 2 คู่ ทำหน้าที่ช่วยจับอาหาร และโบกพัดน้ำผ่านเข้าสู่เหงือก

11. รยางค์ที่ใช้สำหรับกิน (maxilliped) มี 3 คู่

12. ขาเดิน (pereiopod) มี 5 คู่ คู่ที่ 1 และคู่ที่ 2 ของข้อสุดท้ายเปลี่ยนเป็นก้ามหนีบ ก้ามหนีบคู่ที่ 2 มีขนาดใหญ่และยาวกว่าก้ามหนีบคู่ที่ 1 โดยขาเดินแต่ละขา ประกอบด้วยปล้องข้อ จำนวน 7 ข้อ นับจากฐานจรดข้อสุดท้าย คือ coxa, basal, ischium, merus, carpus, propodus

และ dactylus ส่วนของ dactylus ที่ขาเดินคู่ที่ 3, 4 และ 5 มีปลายเรียวแหลม และขาเดินคู่ที่ 3, 4 และ 5 ความยาวใกล้เคียงกัน

13. ขาวายน้ำ (preopod) มี 5 คู่อยู่ที่ด้านล่างของลำตัว ปล้องละ 1 คู่ โดยขาวายน้ำแต่ละข้างแยกเป็น 2 แผ่น คือ exopodite และ endopodite (Kruatrachue, 2004)

ลักษณะภายในของกุ้ง

ถัดจากเปลือกที่หุ้มตัวเข้าไปก็เป็นผิวชั้นนอกที่ทำหน้าที่สร้างเปลือกและหุ้มตัวกุ้ง ตัวกุ้งประกอบด้วยอวัยวะและส่วนอื่นๆ ได้แก่

ระบบกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อส่วนใหญ่ของกุ้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือกล้ามเนื้อสำหรับงอตัว และกล้ามเนื้อสำหรับเหยียดตัว

1. กล้ามเนื้อสำหรับงอตัว (flexor muscle) เป็นกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ ยาว และแข็งแรงมาก มีอยู่ 2 คู่ ซึ่งกินที่เกือบเต็มท้อง เป็นกล้ามเนื้อส่วนใหญ่ที่กินเป็นอาหาร ทำหน้าที่ดึงหางและท้องเข้าหาตัว

2. กล้ามเนื้อสำหรับเหยียดตัว (extensor muscle) เป็นกล้ามเนื้อขนาดเล็กมีอยู่ 2 คู่ อยู่ทางด้านบนของกล้ามเนื้องอตัว ทำหน้าที่เหยียดตัว และรยางค์ต่างๆ ออกไป

ระบบย่อยอาหาร

ระบบย่อยอาหารของกิ้งประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

1. ปาก อยู่ใต้ระหว่างขากรรไกร เนื้อนุ่มข้างหน้าปากเรียกว่า ริมฝีปากบน ส่วนเนื้อนุ่มที่อยู่ข้างหลังปากเรียกว่า ริมฝีปากล่าง
2. หลอดอาหาร เป็นหลอดสั้นๆ สำหรับนำอาหารเข้าสู่กระเพาะอาหาร
3. กระเพาะอาหาร มีลักษณะเป็นถุงใหญ่บางแบ่งออกเป็น 2 ตอน คือตอนหน้าและตอนหลัง กระเพาะอาหารตอนหน้า มีขนาดใหญ่และพองโตกระเพาะอาหารตอนหลัง มีขนาดเล็กมาก ภายในกระเพาะอาหารตอนหน้ามีฟันซี่เล็กๆ 3 ซี่ เป็นสารแคลเซียมทำหน้าที่บดอาหาร ดังนั้นกระเพาะอาหารตอนหน้าจึงทำหน้าที่เป็นกระเพาะบด (gastric mill) การบดอาหารเกิดจากการหดตัวของกล้ามเนื้อผนังกระเพาะอาหารทำให้อาหารกระแทกกับฟันจนแหลกละเอียด ระหว่างกระเพาะอาหารตอนหน้ากับตอนหลังจะมีเครื่องกรอง สำหรับกรองอาหารที่ผ่านเข้าสู่กระเพาะอาหารตอนหลัง เครื่องกรองอาหารมีลักษณะแข็งรูปสามเหลี่ยม
4. ลำไส้ เป็นทางเดินอาหารขนาดเล็กยาวตลอดส่วนท้อง อยู่ถัดจากกระเพาะอาหารตอนหลังตอนต้นฝังอยู่ในต่อมสร้างน้ำย่อย แล้วพาดผ่านกล้ามเนื้อไปทางทวารหนัก
5. ทวารหนัก เป็นช่องเปิดอยู่ใต้โคนหางเทลซัล
6. ต่อมสร้างน้ำย่อย ซึ่งเป็นดับของกิ้งเรียกกันทั่วไปว่ามันกิ้ง มีอยู่ 2 ก้อน สีเหลืองแกมแสด อ่อนนุ่มและละเอียด มีขนาดใหญ่ใต้กระเพาะอาหาร บริเวณส่วนนอกมีท่อเล็กๆ ไปเปิดที่กระเพาะอาหารตอนหลัง

ระบบหมุนเวียนโลหิต

ระบบหมุนเวียนโลหิตของกิ้งเป็นระบบวงจรชนิดเปิดประกอบด้วยส่วนต่างๆ ได้แก่

1. หัวใจ หัวใจกิ้งเป็นสามเหลี่ยม อยู่ทางด้านหลังของอกเหนือทางเดินอาหารอยู่ในแอ่งเลือดรอบหัวใจ และเยื่อหุ้มหัวใจหุ้มอยู่โดยรอบ บนหัวใจมีรูเล็กๆหลายรูเป็นรูสำหรับให้เลือดจากแอ่งเลือดรอบหัวใจเข้าสู่หัวใจ
2. หลอดเลือด หลอดเลือดทำหน้าที่นำเลือดออกจากหัวใจไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายที่สำคัญได้แก่
 - 2.1 หลอดเลือดแดงออฟthalmic (ophthalmic artery) มี 1 เส้น ออกจากหัวใจทางข้างหน้าไปเลี้ยงส่วนหัว กระเพาะอาหารตอนหน้าและหลอดอาหาร
 - 2.2 หลอดเลือดแดงแอนเทนนารี (antennary artery) มี 1 คู่ออกจากหัวใจทางข้างหน้าขนานไปกับหลอดเลือดแดงออฟthalmic ไปเลี้ยงหนวด ต่อมเขี้ยว กรีกุ้ง และกระเพาะอาหาร
 - 2.3 หลอดเลือดแดงเฮพาทิค (hepatic artery) มี 1 คู่ ออกจากด้านล่างของหัวใจทางข้างหน้าไปเลี้ยงตับ
 - 2.4 หลอดเลือดแดงทางด้านหลังของส่วนท้อง (dorsal abdominal artery) มี 1 เส้นออกจากหัวใจทางข้างหลัง ทอดไปตามความยาวของส่วนท้องเหนือลำไส้จนถึงหางมีหลอดเลือดแยกออกไปเป็นคู่ๆ เพื่อนำเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อและอวัยวะในปล้องนั้นๆ

2.5 หลอดเลือดแดงสเตอรัล (sternal artery) มี 1 เส้น แยกออกจากหลอดเลือดแดงทางด้านหลังของส่วนท้อง วกลงมาทางด้านแยกเป็น 2 แขนง แขนงหนึ่งไปข้างหน้านำเลือดไปเลี้ยงส่วนท้อง และส่วนอก อีกแขนงแยกไปข้างหลังนำเลือดไปเลี้ยงด้านหลังของส่วนท้อง

3. แอ่งเลือด กิ่งไม่มีหลอดเลือดฝอยแต่ภายในตัวจะมีฮีโมไซลหรือแอ่งเลือดแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อกระจายอยู่ทั่วตัว ทำหน้าที่รับเลือดจากหลอดเลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายไปฟอกที่ปอด แอ่งเลือดมีตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่แอ่งเลือดที่สำคัญได้แก่

3.1 แอ่งเลือดด้านท้อง เป็นแอ่งเลือดขนาดใหญ่อยู่ด้านท้องของส่วนอก รวมเลือดเสียที่ใช้แล้วจากแอ่งเลือดทั่วร่างกายส่งไปฟอกที่เหงือก

3.2 แอ่งเลือดรอบหัวใจรวมเลือดดีที่ฟอกแล้วจากเหงือกกลับเข้าสู่หัวใจ

4. เลือด เลือดกิ่งส่วนใหญ่โดยทั่วไปมีสีฟ้าอ่อนหรือไม่มีสี เพราะในพลาสมาไม่มีสารฮีโมไซยานินเป็นสารประกอบ แต่กิ่งบางชนิดมีเลือดสีแดงเพราะมีสารฮีโมโกลบินเป็นส่วนประกอบ

การไหลหมุนเวียนของเลือดแบบวงจรเปิดนั้นเมื่อเลือดออกจากหัวใจไปตามเส้นเลือดแดงแล้ว เลือดจะไหลออกไปทั่วตัวตามช่องฮีโมไซลหรือแอ่งขนาดเล็ก เพื่อไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกาย เลือดเสียจากส่วนต่างๆ ของร่างกายจะไหลกลับมารวมกันในแอ่งเลือดด้านท้อง เพื่อไปฟอกที่เหงือก เลือดดีที่ฟอกแล้วจากเหงือกจะไหลไปรวมกันจากแอ่งเลือดรอบหัวใจเข้าสู่หัวใจทางรูรับเลือด

ระบบหายใจ

กิ่งหายใจด้วยเหงือกซึ่งมีทั้งหมด 8 คู่ อยู่ทางด้านข้างของส่วนอก ข้างละ 8 อัน โดยมีแผ่นเปลือกแข็งยื่นออกมาคลุมเอาไว้ เหงือกแต่ละอันมีลักษณะคล้ายขนนกประกอบด้วยแกนเหงือกและเส้นใยเหงือก ซึ่งเป็นเส้นใยเล็กๆ ยื่นออกมาจากแกนกลางเป็นพู่ เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการแลกเปลี่ยนแก๊ส ภายในแกนเหงือกจะมีช่องแคบๆ สำหรับนำเลือดเข้าสู่เหงือกเพื่อไปฟอกที่เหงือก

เหงือกทั้ง 8 คู่นี้มีจุดกำเนิดหลายแบบ เช่น บางคู่มาจากโคนของรยางค์ต่างๆ บางคู่มาจากบริเวณรอยต่อระหว่างข้อ ปล้อง และบางคู่มาจากผนังด้านข้างของบริเวณอก ในการหายใจของกุ้งน้ำจะผ่านเหงือกตลอดเวลาเพื่อแลกเปลี่ยนแก๊ส

ระบบขับถ่าย

กุ้งมีต่อมเขี้ยวเป็นอวัยวะขับถ่าย ต่อมเขี้ยวของกุ้งเป็นต่อมขนาดใหญ่สีเหลืองแกมน้ำตาลหรืออมเขี้ยวเล็กน้อยมี 1 คู่ อยู่ตรงด้านในบริเวณของโคนหนวดสัมผัสคู่ที่ 2 และมีท่อขับถ่ายมาเปิดที่บริเวณโคนหนวด

ระบบประสาท

ระบบประสาทของกุ้งคล้ายกับของไส้เดือนดินประกอบด้วยสมองซึ่งเป็นปมประสาทขนาดใหญ่อยู่เหนือหลอดอาหาร มีเส้นประสาทไปยังหนวดและตาจากปมประสาทสมองมีเส้นประสาทรอบหลอดอาหารไปพบกันได้ปมประสาทใหญ่ใต้หลอดอาหาร ซึ่งเป็นปมประสาทท้องปมแรก ประกอบด้วยปมประสาท 5-6 คู่รวมกัน จากปมประสาทใต้หลอดอาหารจะมีแขนงประสาทยื่นไปเลี้ยงรยางค์ปาก หลอดอาหาร ต่อมเขี้ยว และกล้ามเนื้อข้างหน้า (อาจ แจ่มเมฆ, 2520)

2.2 แหล่งอาศัย

กึ่งฝอยพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำไหล เช่น แม่น้ำ ลำห้วย และพบได้ในแหล่งน้ำนิ่ง เช่น บ่อน้ำ อ่างเก็บน้ำ บึง เป็นต้น พบอาศัยมากบริเวณน้ำตื้นใกล้ริมตลิ่ง ความลึกประมาณ 0.5-1 เมตร โดยในเวลากลางวันจะว่ายน้ำลงลึกหรือหลบซ่อนตัวใต้ก้อนหินใต้น้ำ หรือใต้พืชน้ำ ส่วนเวลากลางคืนจะว่ายน้ำขึ้นมาอาหารบริเวณริมตลิ่ง และโดยธรรมชาติจะชอบหลบอาศัยบริเวณที่มีแหล่งพืชน้ำบริเวณน้ำตื้น (De grave *et al*, 2013)

2.3 เพศกึ่งฝอย

กึ่งฝอยตัวเต็มวัยจะสามารถแยกเพศได้ง่าย โดยกึ่งฝอยเพศเมียจะมีส่วนอวัยวะเพศใต้ท้องมีสีเขียว และดูได้จากด้านในของขาเดินคู่ที่ 3 มีช่องเปิดของไข่ และขาเดินคู่ที่ 5 มีช่องเปิดสำหรับ ส่วน กึ่งฝอยเพศผู้ เปลือกที่หัวจะมีสีขนออกเหลือง และเพศผู้จะมีตั้งยื่นออกมาจากขาว่ายน้ำน้ำคู่ที่ 2 ส่วน ขนาดลำตัวจะพบเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ มีช่องเปิดสำหรับเก็บน้ำเชื้อตัวผู้ตรงบริเวณส่วน ปลายของขาว่ายน้ำน้ำคู่ที่ 2 จะมีลักษณะเป็นแผ่น 2 แผ่นโดยมีตั้งยื่นออกมา 1 ปีเรียกว่า appendix interna เพศผู้ดูได้จากด้านในของขาเดินคู่ที่ 5 เป็นปุ่มสำหรับเป็นที่เปิดของน้ำเชื้อตัวผู้บริเวณส่วน ปลายของขาว่ายน้ำน้ำคู่ที่ 2 จะมีลักษณะเป็นแผ่น 2 แผ่นมีตั้งยื่นออกมา 2 ตั้งเรียกว่า appendix musculina และลักษณะอื่นๆที่พอจะแยกกึ่งฝอยและเพศผู้และเพศเมียได้คือบริเวณส่วนหัวของกึ่ง ฝอยเพศผู้มีสีน้ำตาลเหลืองส่วนในเพศเมียมีสีเขียวจัดกึ่งตัวผู้จะมีขนาดเล็กรูปร่างเพรียวส่วนเพศเมียมี ขนาดโตกว่ารูปร่างค่อนข้างป้อม (บัญชา ทองมี, 2555)

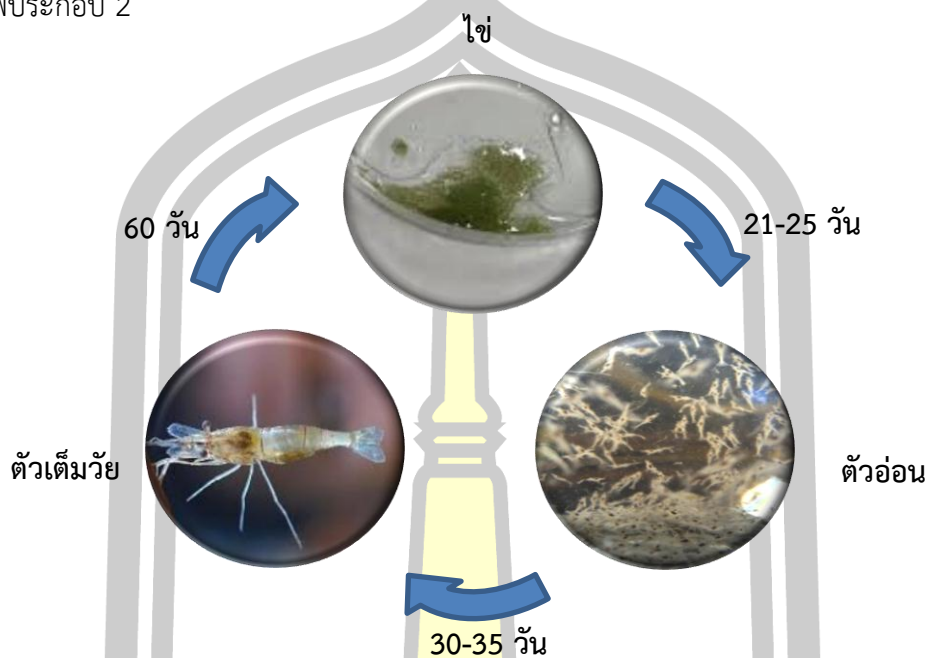
2.4 อาหาร และการหาอาหาร

อาหารสำคัญของกึ่งฝอย ได้แก่ ไคอะตอม และตัวอ่อนของแมลงในน้ำ รวมถึงซากพืชซาก สัตว์ที่เน่าเปื่อย โดยจะชอบออกหาอาหารในช่วงกลางคืนเป็นหลัก (บัญชา ทองมี, 2555)

2.5 การผสมพันธุ์

กึ่งฝอยเป็นกึ่งน้ำจืดชอบซ่อนตัวอยู่ตามใต้ก้อนหินหรือเกาะตามพรรณไม้ และอาศัยอยู่ในน้ำ นิ่งหรือ น้ำไหลเอื่อยๆ กึ่งฝอยเพศเมียจะเริ่มมีไข่และผสมพันธุ์ได้เมื่ออายุ 60 วันขึ้นไปจะสร้างไข่เก็บ ไว้ในถุงเก็บไข่ กึ่งเพศผู้จะพยายามติดตามกึ่งเพศเมียตลอดเวลา หลังจากกึ่งเพศเมียลอกคราบภายใน 3 - 6 ชั่วโมง ขณะที่เปลือกของกึ่งเพศเมียยังอ่อนอยู่จะมีการผสมพันธุ์กัน โดยกึ่งเพศผู้จะปล่อย น้ำเชื้อที่อยู่ในถุงเก็บน้ำเชื้อที่อยู่บริเวณ โคนขาช่วงที่ 5 ปล่อยน้ำเชื้อในถุงเก็บน้ำเชื้อเพศเมียเพื่อผสม กับไข่ ไข่ที่ผสมแล้วจะเคลื่อนไปอยู่ในส่วนล่าง ของท้องบริเวณขาว่ายน้ำ กึ่งเพศเมียจะมัดโบกขาว่ายน้ำ น้ำตลอดเวลา เพื่อให้ไข่ได้รับออกซิเจนแม้กึ่งฝอยขนาดยาวประมาณ 2 - 2.5 เซนติเมตร จะมีไข่ ประมาณ 200 - 250 ฟอง หลังจากผสมพันธุ์แล้ว 3 วัน ไข่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนและสีเหลือง

ต่อมาอีก 7 - 9 วัน จะมองเห็นตัวอ่อนอย่างชัดเจน หลังจากนั้นไข่ในท้องแม่กุ้งฝอยจะเปลี่ยนเป็นสีเทาและฟักออกมาเป็นตัวเมื่ออายุ 21 - 25 วัน และตัวเต็มวัย 30-35 วัน (บัญชา ทองมี, 2555) ดังภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 วงจรชีวิตของกุ้งฝอย

2.6 การจัดจำแนกกุ้งฝอย

กุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium* ได้ถูกจัดจำแนกอยู่ใน Family Palaemonidae ประกอบด้วย 239 ชนิด (De Grave *et al.*, 2009) กุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium* พบการกระจายทั่วไปบริเวณเขตร้อน และกึ่งเขตร้อนสามารถพบได้เกือบทุกที่ในแหล่งน้ำจืดเช่น ทะเลสาบ แม่น้ำ หนองน้ำ ชลประทาน คลอง และบ่อ (Bauer, 2011) กุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium* ได้ถูกพบในประเทศไทย 19 ชนิด ดังตาราง 1

กุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium* มีลักษณะทั่วไปคือ กริมีลักษณะตรง หรือโค้งขึ้นตอนปลายขอบด้านบน และด้านล่างมีแง่งยื่นแบบฟันเลื่อยยื่นอยู่ คาราเปสมีผิวเกลี้ยงเรียบ หรือมีหนามขนาดเล็กกระจายอยู่ด้านข้าง ขาคู่ที่ 1 และ 2 ตอนปลายเป็นกล้ามเนื้อ ขาคู่ที่ 2 เป็นรูปทรงกระบอก ขาคู่ทั้งสองข้างมีความยาวเท่ากันหรือไม่เท่ากันมีขนาดใหญ่และมีความยาวมากกว่าขาเดิน 4 คู่ ขาคู่ที่ 3 ถึงคู่ที่ 5 อาศัยอยู่ในน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำทะเล

ตาราง 1 กุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium* ที่พบในประเทศไทย

Species	Freshwater	Brackish water
<i>Macrobrachium amplimanus</i> (Cai and Dang, 1999)	✓	X
<i>Macrobrachium dienbienphuense</i> (Dang and Nguyen, 1972)	✓	X
<i>Macrobrachium equidens</i> (Dana, 1825)	X	✓
<i>Macrobrachium eriocheirum</i> (Dai, 1984)	✓	X
<i>Macrobrachium esculentum</i> (Thallwitz, 1891)	✓	X
<i>Macrobrachium hirsutimanus</i> (Tiwari, 1952)	✓	X
<i>Macrobrachium idae</i> (Heller, 1862)	X	✓
<i>Macrobrachium lanchesteri</i> (De Man, 1911)	✓	X
<i>Macrobrachium lar</i> (Fabricius, 1793)	X	✓
<i>Macrobrachium latidactylus</i> (Thallwitz, 1891)	X	✓
<i>Macrobrachium mirabile</i> (Kemp, 1917)	X	✓
<i>Macrobrachium mieni</i> (Dang, 19750)	✓	X
<i>Macrobrachium neglectus</i> (De Man, 1905)	X	✓
<i>Macrobrachium niphanae</i> (Shokita and Takeda, 19890)	✓	X
<i>Macrobrachium rosenbergii</i> <i>dacqueti</i> (Sunier, 1925)	✓	X
<i>Macrobrachium sintangense</i> (De Man, 1898)	✓	X

ตาราง 1 (ต่อ)

Species	Freshwater	Brackish water
<i>Macrobrachium sirindhorn</i> (Naiyanetr, 2001)	✓	X
<i>Macrobrachium yui</i> (Holthuis, 1950)	✓	X
<i>Macrobrachium</i> sp. (Cai, Naiyanetr and Ng, in press)	✓	X

ที่มา: Uraiwan and Sodsuk (2004)

หมายเหตุ: ✓ คือ พบ X คือ ไม่พบ

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจัดจำแนกกุ้งประกอบด้วย ลักษณะของกรี ฟันกรี แผ่นกำบังหมวดคูที่ 2 ขาเดินคูที่ 2 คาราเปส หางและแพนหาง โดยลักษณะเหล่านี้จะทำให้ง่ายต่อการจัดจำแนกชนิดของกุ้งน้ำจืด และกุ้งฝอย ดังภาพประกอบ 3-8 และตาราง 2

ตาราง 2 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งน้ำจืดสกุล *Macrobrachium*

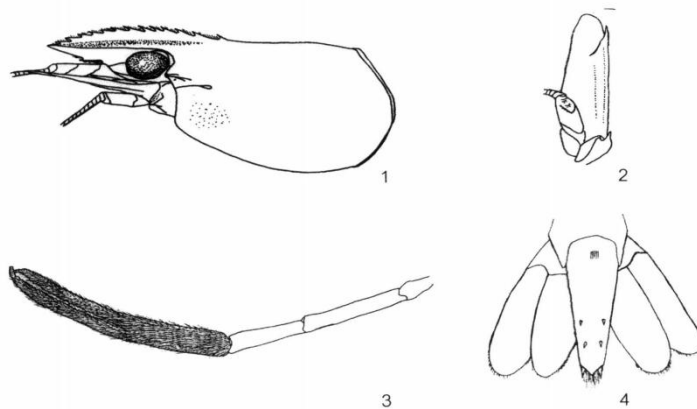
Morphological Characteristics	<i>M. dienbienphuense</i>	<i>M. hirsutimanus</i>
ความยาวลำตัว (body length)	3.12-6.38 เซนติเมตร	4.10-6.36 เซนติเมตร
กรี (rostrum)	ตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อย	ตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อย
จำนวนฟันบนกรี (rostral teeth)	11-17/3-5	12-14/2-4
ความยาวคาราเปส (carapace length)	3-11 มิลลิเมตร	6-11.3 มิลลิเมตร
ขาเดินคูที่ 2 (second pair of walking leg)	เรียวยาวกระบอก ขนาดยาวไม่เท่ากันโดยข้างที่ยาวจะยาวกว่าความยาวลำตัวอย่างชัดเจน	ยาวไม่เท่ากัน โดยมีความยาวเท่ากับบางที่ยาวกว่าความยาวลำตัว

ตาราง 2 (ต่อ)

Morphological Characteristics	<i>M. rosenbergii</i>	<i>M. sintangense</i>
ความยาวลำตัว (body length)	7.22-20.03 เซนติเมตร	3.02-8.79 เซนติเมตร
กรร (rostrum)	ส่วนโคนมีลักษณะนูน ส่วนตรงกลาง และปลายมีลักษณะโค้งขึ้น	ตรง ส่วนปลายเรียว และงอนขึ้น
จำนวนฟันบนกรร (rostral teeth)	12-14/2-4	9-14/2-3
ความยาวคาราเปส (carapace length)	5.4-6.0 มิลลิเมตร	6.8-10 มิลลิเมตร
ขาเดินคู่ที่ 2 (second pair of walking leg)	ทรงกระบอก ขาเดินทั้งสองข้างมีขนาดและความยาวไม่เท่ากันแต่มีลักษณะเหมือนกัน	ทรงกระบอก ความยาวไม่เท่ากันแต่มีรูปร่างคล้ายกัน
Morphological Characteristics	<i>M. lanchesteri</i>	<i>M. niphae</i>
ความยาวลำตัว (body length)	1.7-8.59 เซนติเมตร	2.30-4.08 เซนติเมตร
กรร (rostrum)	กรรมีลักษณะยาว เรียว และตรง	กรรมีลักษณะเรียว ตรง ยาวกว่าแผ่นหนวดคู่ที่ 2
จำนวนฟันบนกรร (rostral teeth)	7-10/3-4	7-13/2-3
ความยาวคาราเปส (carapace length)	1.8-10.3 มิลลิเมตร	3.3-13.8 มิลลิเมตร
ขาเดินคู่ที่ 2 (second pair of walking leg)	เป็นรูปทรงกระบอกยาว เรียว มีขนาดเล็ก และสั้นบริเวณก้ามหนีบ	มีรูปร่างเหมือนกันแต่ยาวไม่เท่ากัน ยาวกว่าลำตัว บริเวณข้อ สั้นกว่า merus

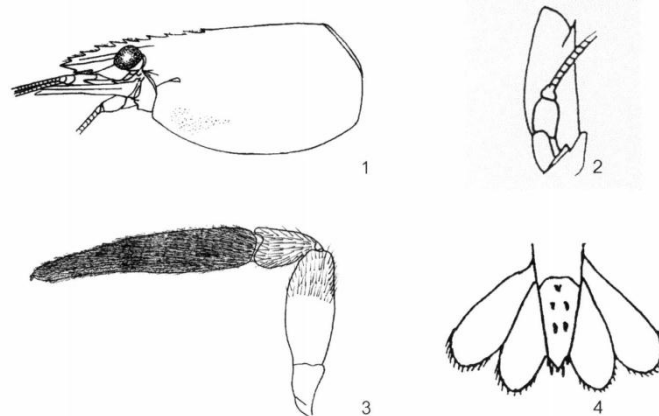
ที่มา: วณิชยา น้อยวังคลัง (2544)

พหุ ประถมศึกษา



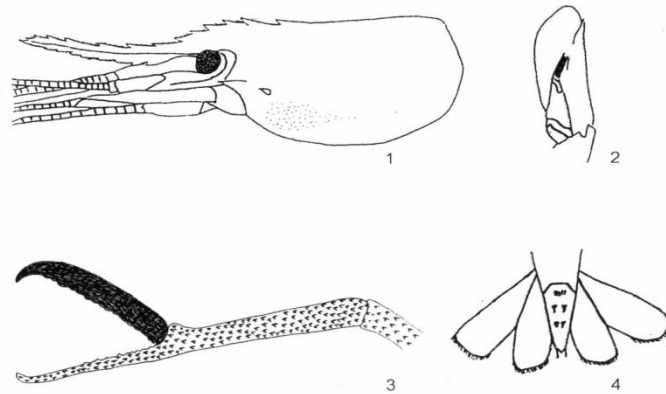
ภาพประกอบ 3 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium dienbienphuense*
(Dang and Nguyen, 1972)

- | | |
|---------------------|--------------------------|
| 1. คารราเปส และกรี้ | 2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 |
| 3. ขาเดินคู่ที่ 2 | 4. หาง และแพนหาง |
- (ที่มา: วณิชยา น้อยวังคลัง, 2544)



ภาพประกอบ 4 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium hirsutimanus*
(Tiwari, 1952)

- | | |
|---------------------|--------------------------|
| 1. คารราเปส และกรี้ | 2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 |
| 3. ขาเดินคู่ที่ 2 | 4. หาง และแพนหาง |
- (ที่มา: วณิชยา น้อยวังคลัง, 2544)



ภาพประกอบ 5 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium rosenbergii dacqueti*

(Sunier, 1925)

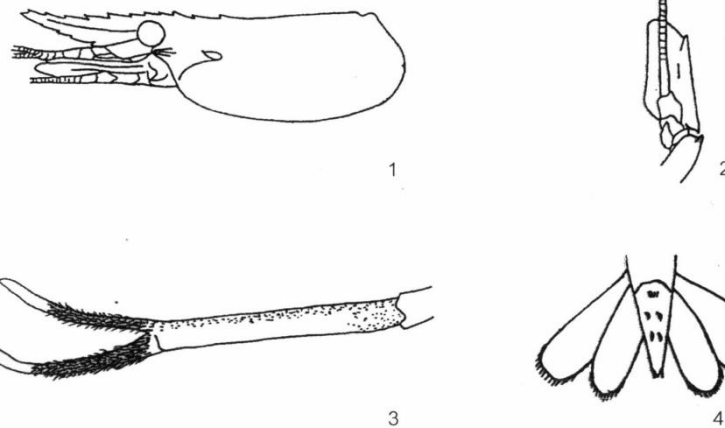
1. คาราเปส และกรี

2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2

3. ขาเดินคู่ที่ 2

4. หาง และแพนหาง

(ที่มา: วณิชยา น้อยวังคลัง, 2544)



ภาพประกอบ 6 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium sintangense*

(De Man, 1898)

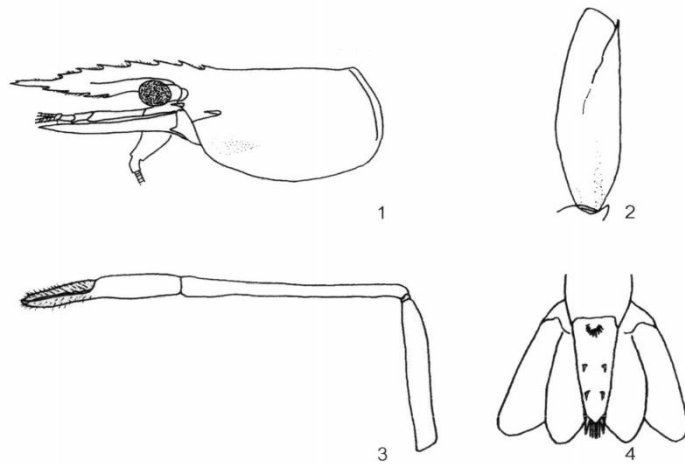
1. คาราเปส และกรี

2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2

3. ขาเดินคู่ที่ 2

4. หาง และแพนหาง

(ที่มา: วณิชยา น้อยวังคลัง, 2544)



ภาพประกอบ 7 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium lanchesteri*

(De Man, 1911)

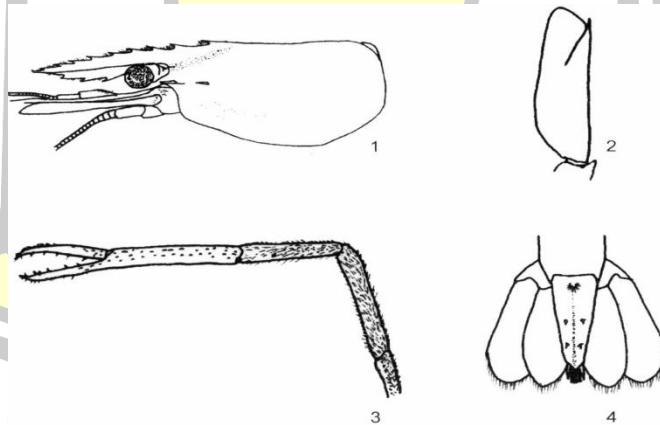
1. คาราเปส และกรี

2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2

3. ขาเดินคู่ที่ 2

4. ทาง และแพนหาง

(ที่มา: วณิชยา น้อยวงศ์, 2544)



ภาพประกอบ 8 แสดงส่วนประกอบของ *Macrobrachium niphanae*

(Shokita and Takeda, 19890)

1. คาราเปส และกรี

2. แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2

3. ขาเดินคู่ที่ 2

4. ทาง และแพนหาง

(ที่มา: วณิชยา น้อยวงศ์, 2544)

2.7 การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometry)

การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis) เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาโดยอาศัยข้อมูลการวัดขนาด ระยะ อัตราส่วน หรือมุมมองของลักษณะสำคัญของสัณฐานวิทยาของการจัดจำแนกร่วมกับการวิเคราะห์ทางสถิติของพหุตัวแปร (multivariate analysis) เช่น การวัดทางสัณฐานมาตรฐาน (standard morphometric) ส่วนการวัดทางสัณฐานเรขาคณิต (geometric analysis) เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางเรขาคณิตโดยอาศัยรูปร่าง (shape) ที่กำหนดบนโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Rohlf, 1999) จากลักษณะของสิ่งมีชีวิตโดยการกำหนดจุดเครื่องหมายบ่งชี้ในโครงสร้างหรือลักษณะที่แตกต่างกัน เพื่อตรวจสอบขนาด (size) รูปร่าง (shape) และทิศทาง เพื่อแยกความสัมพันธ์ที่มีความซ้ำซ้อนกันได้ จึงจัดเป็นวิธีที่มีศักยภาพในการจัดจำแนกได้ดี สำหรับการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของกุ้งนิยมใช้วิธีวิเคราะห์ลักษณะความยาวของลำตัว body length) ความยาวคาราเปส (carapace length) ความกว้างคาราเปส (carapace width) ความยาวปล้อง (segment length) และความยาวหาง (telson length) (Lester, 1983; Arshad *et al.*, 2013)

2.8 คุณภาพน้ำ (Water quality)

คุณภาพน้ำ (water quality) หมายถึง สภาวะของน้ำที่มีองค์ประกอบของสิ่งเจือปนทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีววิทยา ในปริมาณที่ควรจะมีในแต่ละประเภทของแหล่งน้ำ (เกษม จันทร์แก้ว, 2541) คุณภาพน้ำเป็นปัญหาหลักประการหนึ่งที่ทำให้ปริมาณน้ำที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ลดน้อยลง แหล่งน้ำหลายแห่งที่ประสบกับภาวะมลพิษทำให้น้ำมีคุณภาพแยงไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้ น้ำจะมีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไปจากเดิม เนื่องจากมีสารมลพิษ ตัวอย่างเช่นน้ำทิ้งจากบ้านเรือน และโรงงานอุตสาหกรรมขยะมูลฝอย และสารเคมีต่างๆ การเปลี่ยนแปลงบางอย่างอาจมองเห็นได้อย่างชัดเจน และการเปลี่ยนแปลงบางอย่างอาจมองไม่เห็น เช่น การที่น้ำกลายเป็นน้ำที่ไม่มีคุณภาพมีสารละลายต่างๆเพิ่มมากขึ้น ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงดังนั้นจึงมีตัววัดชี้คุณภาพน้ำที่บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำต่างๆ

2.8.1 ลักษณะน้ำเสียด้านกายภาพ

1. ของแข็ง (solids) ของแข็งประเภทต่างๆ ทั้งประเภทที่ละลายในน้ำ แขนลอยในน้ำ หรือประเภทที่ลอยน้ำได้ เช่น ดิน เศษกระดาษ ขยะพลาสติก เม็ดทราย เศษพืช เป็นต้น ก่อให้เกิดความไม่สวยงามของแหล่งน้ำ ลดการส่องสว่างของแสงอาทิตย์ลงสู่แหล่งน้ำทำให้สิ่งมีชีวิตในน้ำที่สังเคราะห์แสงไม่สามารถสร้างอาหารได้

2. อุณหภูมิ (temperature) ของน้ำที่สูงกว่าอุณหภูมิของน้ำในธรรมชาติจะมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทำให้การเจริญเติบโตของพืช และสัตว์ในน้ำลดลง

3. น้ำทิ้งที่ปล่อยจากชุมชนจะมีสีเทาปนน้ำตาลอ่อน และจะเปลี่ยนเป็นสีเทาหรือสีดำ สีอาจเกิดจากสาหร่าย หรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในน้ำ ทำให้แหล่งน้ำในนั้นมีสีเขียว

4. ความขุ่น (turbidity) ของน้ำเกิดจากสารแขวนลอยต่างๆ เช่น ดิน ตะกอน สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ สิ่งมีชีวิตทั้งพืช และสัตว์ที่มีขนาดเล็กลอยอยู่ในน้ำ เป็นต้น

5. กลิ่น (odour) น้ำทิ้งจากชุมชนมีกลิ่นเหม็นอับ เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายที่ไม่ใช้ออกซิเจนทำให้เกิดกลิ่นคล้ายไข่เน่า

2.8.2 ลักษณะน้ำเสียด้านเคมี

1. ไขมัน และน้ำมัน (fat, oil) น้ำทิ้งจากชุมชนมีการปนเปื้อนของไขมันหรือน้ำมันจากกระบวนการชำระล้าง อู่ซ่อมรถ สถานีบริการน้ำมัน เป็นต้น ไขมัน น้ำมัน และไขมันเป็นสารที่มีความคงตัวสูงมาก จุลินทรีย์ย่อยสลายได้ยาก หากมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำทำให้ดูไม่สวยงาม และจากลักษณะสมบัติที่ลอยเหนือน้ำทำให้สามารถกั้นมิให้แสงอาทิตย์และออกซิเจนกระจายลงสู่น้ำ ทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนขึ้นได้

2. บีโอดี (biochemical oxygen demand: BOD) หมายถึง “ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส” เป็นค่าที่บอกให้ทราบถึงปริมาณของออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำ ซึ่งถือว่ามีการย่อยสลายได้หมดในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากการศึกษาหากค่าบีโอดีมีค่าสูงแสดงว่าน้ำนั้นเน่าเสียมาก มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ที่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณมาก

3. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) หรือค่าพีเอชมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไปน้ำมีค่า pH อยู่ในช่วง 5-8

4. ไนโตรเจน (nitrogen: N) เป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน อยู่ในรูปสารอินทรีย์ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรต หรือก๊าซไนโตรเจน ถ้ามีไนโตรเจนในแหล่งน้ำมากทำให้พืชน้ำมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

5. สารโลหะหนัก (heavy metal) ได้แก่ สารตะกั่ว (Pb) ทองแดง (Cu) โครเมียม (Cr) แคดเมียม (Cd) สารหนู (As) เป็นต้น สารโลหะหนักแพร่กระจายส่งสู่อ่างน้ำได้มากจากน้ำทิ้งของกระบวนการชุบโลหะ โรงงานผลิตแบตเตอรี่ โรงงานเคมี การใช้สารปราบศัตรูพืช เป็นต้น สารโลหะหนักยอมให้มิได้ในน้ำในปริมาณน้อยมาก เนื่องจากเป็นสารที่มีความเป็นพิษแม้จะปนเปื้อนในปริมาณที่น้อยแต่มีบางชนิดหากปริมาณไม่มากนักจะมีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เช่น สารทองแดง สังกะสี เป็นต้น

6. ก๊าซออกซิเจน (O_2) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำ โดยทั่วไปไม่ควรจะมีปริมาณต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หากมีปริมาณน้อยสิ่งมีชีวิตไม่สามารถอาศัยอยู่ในน้ำได้เพราะไม่มีออกซิเจนไปหล่อเลี้ยง เมื่อไม่มีออกซิเจนจะเกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนได้ผลผลิตเป็นก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งมีกลิ่นเหม็น และก๊าซมีเทน

7. ความกระด้าง (hardness) ความกระด้างของน้ำ หมายถึง “น้ำที่ปนเปื้อนด้วยสารแคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) และต้องการสบู่ค่อนข้างมากในการทำให้เกิดฟอง หรือน้ำที่ทำให้เกิดตะกอนที่กั้นภาชนะเมื่อทำการต้ม” น้ำกระด้างมี 2 ชนิด คือ น้ำกระด้างชั่วคราว หรือน้ำกระด้างคาร์บอเนต (carbonate hardness) เกิดจากสารไบคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) รวมตัวกับแคลเซียมหรือแมกนีเซียม น้ำกระด้างประเภทนี้สามารถทำให้หายกระด้างได้โดยการต้ม อีกประเภทหนึ่งคือน้ำกระด้างถาวร หรือ ความกระด้างที่ไม่ได้เกิดจากคาร์บอเนต น้ำกระด้างถาวรไม่สามารถทำให้หายกระด้างได้โดยการต้ม ต้องใช้กระบวนการบำบัดทางเคมี (ศรีสุวรรณ เกษมสวัสดิ์ และคณะ, 2555)

2.8.3 เกณฑ์คุณภาพมาตรฐานของแหล่งน้ำ

การกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจำเป็นต้องกำหนดดัชนีมาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืดสำหรับการเปรียบเทียบและการใช้ประโยชน์จากน้ำดังตาราง 3

ตาราง 3 เกณฑ์คุณภาพน้ำบางประการที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด

ลำดับ	ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม
1.	สี กลิ่น (Colour, Odour)	-	เป็นไปตามธรรมชาติ
2.	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	5-9
3.	อุณหภูมิ (Temperature)	°C	23-32
4.	ออกซิเจนละลาย (DO)	mg/l	ไม่น้อยกว่า 3
5.	ความกระด้าง (Hardness)	mg/l	20-150

ที่มา: เอกสารวิชาการเกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อการคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืด (2530)

ค่าดัชนีคุณภาพน้ำที่ใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำที่จะใช้ตรงตามวัตถุประสงค์ เรียกว่า เกณฑ์การกำหนดซึ่งเป็นค่าบนพื้นฐานการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ที่นำมาประยุกต์เพื่อตัดสินคุณภาพน้ำซึ่งมาตรฐานคุณภาพน้ำจะได้รับการกำหนดจากหน่วยงานในการจำกัดปริมาณสิ่งเจือปนที่อาจมีได้ตามวัตถุประสงค์ของการใช้น้ำในลักษณะต่างกัน (ณฐมน หนูโยธา และสิริลักษณ์ แสงแก้ว, 2557)

2.9 เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม

2.9.1 เทคนิคระดับโมเลกุลที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ในการศึกษาความแปรผันของยีนที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะใช้ลักษณะภายนอก วงจรชีวิต และสิ่งมีชีวิตหลายพันธุ์ แต่ข้อมูลที่ได้ยังมีข้อจำกัดมากมาย จึงได้นำเอาเทคนิคทางโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรและการจัดจำแนกชนิด ซึ่งเทคนิคต่างๆ ที่นำมาใช้ในปัจจุบันนี้มีทั้งเทคนิคในระดับโปรตีนและดีเอ็นเอ ซึ่งแต่ละเทคนิคมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกัน (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2539)

2.9.1.1 Polymerase Chain Reaction (PCR)

เทคนิคการทำ PCR โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์ที่จะทำให้ยีนที่ต้องการเพิ่มปริมาณยีนดังกล่าว ซึ่งเทคนิคนี้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้มีจำนวนมากขึ้นกว่าเดิมหลายล้านเท่า โดยการเพิ่มปริมาณยีนที่สนใจในหลอดทดลอง ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเรียกว่า *In vitro enzymatic gene amplification* วิธีนี้มีประโยชน์ในการตรวจหาชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการในสิ่งตรวจ ค้นพบครั้งแรกโดย Kary Mullis และคณะ ในปี 1983 โดยใช้หลักการเลียนแบบธรรมชาติที่ว่าโดยอาศัยดีเอ็นเอต้นแบบเป็นจุดเริ่มต้นและเอนไซม์พวก DNA polymerase ช่วยทำให้สายดีเอ็นเอยาวออกไปโดยเลือกจับเอานิวคลีโอไทด์ตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ชนิด dATP, dGTP, dCTP, dTTP เข้ามาต่อเป็นคู่เบสคู่สมกับดีเอ็นเอสายต้นแบบ (template) ส่วนประกอบต่างๆในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมี ดังนี้คือ ดี

เอ็นเอต้นแบบ (template DNA) thermostable DNA polymerase, deoxynucleotide, triphosphate (dNTP_s) ทั้ง 4 ชนิด oligonucleotide primer อย่างน้อย 1 คู่และบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมปริมาณดีเอ็นเอจะเพิ่มขึ้นมากด้วย ต้องอาศัยปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องหลายๆ รอบซึ่งแต่ละรอบจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 คือขั้นตอน denaturation เป็นขั้นตอนการทำดีเอ็นเอสายคู่แยกสายเดี่ยวโดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส ขั้นตอนที่ 2 คือขั้นตอน primer annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงที่ประมาณ 45-60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ primer annealing เป็นขั้นตอนการสลายดีเอ็นเอโดยการต่อลำดับเบสคู่ ขั้นตอนที่ 3 คือขั้นตอน primer extension เป็นขั้นตอนการสลายดีเอ็นเอโดยการต่อลำดับนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3' ของ primer แล้วมีการขยายดีเอ็นเอสายใหม่จากทิศทาง 5' ไป 3' โดยอาศัยเอนไซม์ thermostable DNA polymerase เช่น *Taq* polymerase ซึ่งปกติใช้อุณหภูมิในช่วง 70-75 องศาเซลเซียส ถ้าพิจารณาดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นโดยเริ่มจากสายดีเอ็นเอต้นแบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดรอบที่ 1 จะได้สายดีเอ็นเอเป็น 2 คู่ เมื่อทำเช่นนี้หลายๆ รอบ PCR ดีเอ็นเอก็จะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของทุกๆ รอบลักษณะทวีคูณเป็น 2^n เมื่อ n เป็นจำนวนรอบของปฏิกิริยา ดังนั้นถ้าปฏิกิริยาดำเนินไปได้ 20 รอบจะได้ดีเอ็นเอ 220 ชุดหรือปริมาณดีเอ็นเอประมาณ 1 ล้านเท่า (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2539) ดังแสดงในภาพประกอบ 9

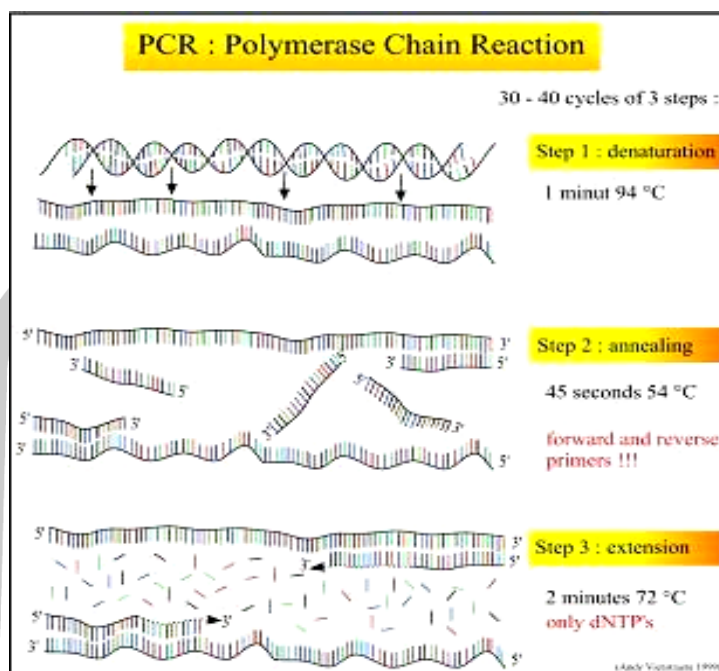
เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ผลผลิต PCR ขั้นพื้นฐาน

วิธีการตรวจหาผลผลิต PCR กระทำได้โดยหลายวิธี เทคนิคที่ใช้แบ่งออกเป็น 2 เทคนิคใหญ่ๆ คือ

1. Gel electrophoresis การตรวจดูผลผลิต PCR จากการย้อมดีเอ็นเอด้วย ethidium bromide หลังจากผ่านกระบวนการอิเล็กโทรโฟรีซิสแล้ว วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย และรวดเร็วที่สุดเหมาะสำหรับการตรวจสอบหาผลผลิต PCR ที่ทราบขนาดแน่นอน และได้ผลผลิต PCR เพียงชนิดเดียวหรือจำนวนน้อยชนิดที่สามารถเห็นความแตกต่างของขนาดได้ชัดเจน หากเป็นชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดมากกว่า 500 bp นิยมใช้ 1% agarose gel เป็นเจลตรวจหาแต่หากเป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดสั้นกว่า 500 bp นิยมใช้ 2 เปอร์เซ็นต์ agarose gel หรือ 5 เปอร์เซ็นต์ polyacrylamide gel

2. Nucleic acid hybridization วิธีตรวจหาผลผลิต PCR ที่ต้องการในกรณีที่การดูผลจากเจลไม่ชัดเจน หรือต้องการเพิ่มความมั่นใจ วิธีการนี้ต้องใช้ตัวติดตามที่มีเบสคู่สมกับผลผลิต PCR และจะจับเบสคู่สมกันในสภาวะที่เหมาะสม ตัวติดตามอาจเป็นดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ แต่ต้องติดฉลากด้วยสารรังสีหรือสารปลดรังสี ซึ่งมีการตรวจหาตัวติดตามนั้นอีกครั้ง (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2539)

พูน ปณ กิโต ชเว



ภาพประกอบ 9 หลักการของพีซีอาร์ (PCR)

(ที่มา: http://www.barascientific.com/article/DNA/dna_4.php)

2.9.1.2 PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP เป็นเทคนิคที่ใช้ระบุตำแหน่งชนิด dominant marker เป็นวิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างของความหลากหลายของขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ที่เกิดหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) เอนไซม์นี้สามารถเรียกได้อีกชื่อหนึ่งว่า restriction endonuclease จะมีความเฉพาะเจาะจงในการตัดตามลำดับเบสบนเส้นดีเอ็นเอ ซึ่งลำดับเบสที่เฉพาะเจาะจงสำหรับเอนไซม์แต่ละตัวเรียกว่า “รหัสเบสจำเพาะ” เอนไซม์ตัดจำเพาะนี้มีอยู่หลายชนิดซึ่งแต่ละชนิดก็จะตัดที่ตำแหน่งเบสที่แตกต่างกัน จึงสามารถตัดดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่งขึ้นอยู่กับว่าจะใช้เอนไซม์ชนิดใด ตัวอย่างเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam* HI, *Taq* I และ *Bst* EII จะตัดดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ลำดับเบสเป็น GGATCC, TCGA และ GGTNACC ตามลำดับ เทคนิค PCR-RFLP เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายให้ได้ปริมาณเพิ่มขึ้นหลายเท่าในระยะเวลาอันสั้น ทั้งนี้จึงต้องทราบลำดับเบสดีเอ็นเอเป้าหมายนั้นทั้งหมด หรือส่วนปลายของดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อใช้สังเคราะห์ไพรเมอร์ 2 ชนิด เพื่อใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายนั้น เมื่อทราบลำดับดีเอ็นเอของยีนใดหรือลำดับเบสที่ปลาย 2 ด้านของชิ้นดีเอ็นเอใดๆ แล้ว (sequence tagged site) ก็สามารถนำมาสร้างไพรเมอร์ได้ ผลผลิตของ PCR จะสามารถตรวจสอบได้ถึงความแตกต่างของลำดับเบสภายใน โดยนำมาตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะ อาจพบความแตกต่าง (polymorphism) PCR-RFLP จึงถูกนำมาใช้เป็นเทคนิคในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมเนื่องจากสะดวก รวดเร็ว ไม่ยุ่งยาก ไม่ใช้สารกัมมันตรังสี สามารถที่จะแยกสิ่งมีชีวิตที่เป็น homozygote และ heterozygote และปริมาณตัวอย่างที่ใช้สกัดดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อยก็เพียงพอจะศึกษาได้และข้อมูลก็น่าเชื่อถือมากกว่าเทคนิค PCR-RAPD (สุรินทร์ ปิยะโชคณกุล, 2539)

2.9.1.3 RAPD-PCR (Random amplified polymorphic DNA fragments)

หลักการของ Random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) คือ จะใช้ primer ที่มีขนาดสั้นๆ นิยมใช้ความยาวของ primer ประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ ที่มีลำดับเบส GC ค่อนข้างมาก primer เหล่านี้จะเป็น primer ที่มีการจับกับ DNA template แบบสุ่ม มีการสุ่มหาลำดับเบสเป้าหมายที่กระจายอยู่ภายใน spelling DNA ของ DNA template ดีเอ็นเอที่ได้จะมีความแปรปรวนเรื่องความยาวและขนาดและมีจำนวนน้อย การทดลองด้วยเทคนิคนี้มีจุดดีที่ทำได้ง่าย โดยไม่จำเป็นต้องรู้ข้อมูลเรื่องดีเอ็นเอในจีโนมนั้นมาก่อน ความจำเป็นในการจัดจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมจึงทำให้มีการพัฒนาเทคนิคเพื่อความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี จึงทำให้มีเทคนิคมากมายในการจัดจำแนก ในปี 1990 Williams และคณะให้พัฒนาเทคนิคใหม่สำหรับการตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับโปรตีนโดยไม่ต้องทราบข้อมูลในลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายและยังสามารถใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เทคนิคนี้เรียกว่า Random amplified polymorphic DNA (RAPD) เป็นเทคนิคที่สะดวก ง่าย รวดเร็ว ใช้เวลาน้อยและต้องการปริมาณดีเอ็นเอในปริมาณที่น้อยมาก จึงสามารถตรวจสอบศึกษาได้คราวละหลายๆ โดยการที่ประยุกต์เทคนิค PCR แตกต่างกันตรงที่ RAPD จะใช้ primer แบบสุ่มเท่านั้น นิยมใช้ primer ที่มีขนาดสั้นๆ ประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ ลักษณะการจับกัน (annealing) ระหว่าง primer กับลำดับเบสเป้าหมายมี 2 กรณี คือ จับกันได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และจับกันได้บางส่วน หลังจากที่มีการจับกันแล้วจะมีการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นเรียกว่า amplified DNA fragment จนขั้นสุดท้ายจะได้ PCR product แล้วจึงนำไปแยกชิ้นส่วนโดยอาศัยเทคนิค electrophoresis ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอหรือแถบใดๆ ที่เกิดขึ้นจะไม่ทราบลำดับเบส การปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอนี้สามารถนำมาเปรียบเทียบระหว่างสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการศึกษาที่เป็นสิ่งมีชีวิตเดียวกันและสามารถบอกความสำคัญทางวิวัฒนาการได้ (มนตรี จุฬาวัดชนทล และคณะ, 2542)

2.9.1.4 Microsatellites

microsatellites คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอที่มีจำนวนซ้ำแตกต่างกันตั้งแต่ 1-4 bp เช่น A, CA, GAG หรือ CCGG เป็นต้น และมีจำนวนซ้ำกันประมาณ 10-50 ครั้ง ซึ่งกระจายตัวอยู่ทั่วทั้งจีโนม โดยจำนวนซ้ำของ microsatellite ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มีจำนวนซ้ำไม่เท่ากันทำให้เกิดความแปรผันในประชากร ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยการใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณที่มี microsatellites ขึ้นอยู่กับความยาวของชิ้นส่วน PCR ที่แตกต่างกัน คือ ผลสะท้อนของจำนวนซ้ำของ microsatellites ที่ไม่เท่ากัน เครื่องหมายทางพันธุกรรมชนิดนี้มีการนำไปใช้สร้างแผนที่จีโนมกันอย่างแพร่หลาย เพื่อใช้ในการค้นหาตำแหน่งที่ตั้งของยีนที่ควบคุมลักษณะสำคัญที่ต้องการศึกษา (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

2.9.1.5 SNPs (Single nucleotide polymorphisms DNA fragments)

SNPs คือ นิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอที่เกิดการกลายพันธุ์ หรือเปลี่ยนแปลง 1 ตำแหน่ง โดยทั่วไป ลำดับนิวคลีโอไทด์ในจีโนมที่มีความยาวทุกๆ 1 กิโลเบส จะมีนิวคลีโอไทด์ผันแปรไป 1 ตำแหน่ง ปัจจุบันนิยมเรียกนิวคลีโอไทด์ที่ผันแปรนี้ว่า single nucleotide polymorphisms (SNPs) มากกว่าจุดกลายพันธุ์ (point mutation) และสามารถตรวจสอบได้โดย RFLPs หรือ PCR-RFLPs หรือใช้การตรวจสอบจาก conformation ของดีเอ็นเอสายเดี่ยว ในขณะวิ่ง

อยู่ในสนามไฟฟ้าของอิเล็กโทรโฟรีซิสด้วยความเร็วแตกต่างกัน เรียกว่าวิธีการตรวจสอบนี้ว่า single stranded conformation polymorphism (SSCP) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบได้โดยตรง ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ เป็นต้น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

2.9.1.6 Microsatellites/VNTR marker (Variable number tandem repeat markers)

microsatellites หรือ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า VNTR marker คือ การศึกษา รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอที่มีจำนวนซ้ำแตกต่างกัน ซึ่งมีขนาด ตั้งแต่ 5-100 คู่เบส(base pair, bp) กระจายตัวอยู่ทั่วจีโนม โดยสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มีจำนวนซ้ำของ นิวคลีโอไทด์ไม่เท่ากัน สามารถตรวจสอบได้โดยเทคนิค southern hybridization คือ การตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) แล้วยกขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสและย้าย ดีเอ็นเอจากเจลไปยังแผ่นไนลอนเมมเบรน และนำดีเอ็นเอตัวติดตาม (DNA probe) ที่เป็น repeated nucleotide sequence ไปจับกับ (hybridized) ดีเอ็นเอเป้าหมาย และตรวจสอบด้วย autoradiography รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏหรือไม่ปรากฏโดยสิ่งมีชีวิต แต่ละชนิดมีรูปแบบเฉพาะตัว ซึ่งได้รับการถ่ายทอดทางพันธุกรรมมาจากพ่อและแม่ ส่วนมากวิธีการนี้ ถูกนำมาใช้พิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูก หรือตรวจสอบความถูกต้องของประวัติพันธุ์รวมถึงศึกษาความ หลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเช่นกัน (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

2.9.1.7 AFLP (Amplified fragment length polymorphisms)

เทคนิค AFLP เป็นการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลแบบหลายตำแหน่ง (multi-locus markers) ในคราวเดียวกัน โดยพื้นฐานของ AFLP คือ การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะโดยการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR ดังนั้นจึงรวมเอาความน่าเชื่อถือของ เทคนิค RFLP, RAPD และประสิทธิภาพของ PCR เข้าด้วยกัน เทคนิค AFLP พัฒนาขึ้นโดย Zabeau และ Vos นักวิจัยของบริษัท Keygene N.V. ประเทศเนเธอร์แลนด์ จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1993 เทคนิค AFLP อาศัยหลักการตัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด (มีตำแหน่ง จดจำ 4 และ 6 bp) การเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอที่มาจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ทำได้โดยการเชื่อมต่อ adapter เข้าที่ปลายของชิ้นดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ โดย adapter เป็นดีเอ็นเอสายคู่สั้นๆ ที่มีปลายด้านหนึ่งเป็นปลายเหนียว (sticky end) และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นคู่สม กับปลายโมเลกุลของดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เลือกใช้ ดังนั้นจึงสามารถเชื่อมต่อกับดีเอ็นเอที่ตัดไว้โดยใช้ปลายเหนียว (sticky end ligation) และจะทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่จับกับไพรเมอร์ ในการทำ PCR ต่อไปด้วย วิธีการดังกล่าวนี้ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะก็สามารถเพิ่มปริมาณขึ้นได้ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสตรงกับส่วนของ adapter รวมกับส่วนของ เบสที่ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ อย่างไรก็ตามจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มในคราวเดียวกัน มีมาก และไม่สามารถแยกจากกัน หรือตรวจสอบโดยวิธีทั่วไป เช่น การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส ดังนั้นการ สังเคราะห์ไพรเมอร์ในการทำ AFLP จึงเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกว่าเข้าที่ปลาย 3' ต่อจากเบสที่ตำแหน่งตัด จำเพาะ ของเอนไซม์ เพื่อให้เลือกจับกับชิ้นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสส่วนที่อยู่ต่อกับบริเวณตัดจำเพาะ สอดคล้องกับเบสที่เพิ่มเข้าไปที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์เท่านั้น ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอเพียงบางส่วน และสามารถกำหนดจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณ โดยจำนวนเบสที่เพิ่ม

เข้าไป ถ้าดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตหรือจีโนมที่ศึกษา มีส่วนประกอบของเบสทั้ง 4 ชนิด (G, A, T, C) ในสัดส่วนที่เท่ากัน การเพิ่มเบสเข้าที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์ที่คัดเลือก 1 เบสจะช่วยลดจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ช่วยเพิ่มปริมาณเหลือเพียง 1 ใน 4 ของทั้งหมด ถ้าเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือก 2 เบส จำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ตรวจสอบได้ จะลดลงเหลือ $(1/4)^2$ หรือ 1 ใน 16 ของชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดได้ทั้งหมดเท่านั้น ดังนั้นจึงสามารถควบคุมให้เกิดปริมาณชิ้นดีเอ็นเอเหลือ $(1/4)^n$ ของทั้งหมด (n คือจำนวนเบสสำหรับคัดเลือกที่เพิ่มขึ้น) ในทางปฏิบัติ ต้องการให้มีจำนวนชิ้นดีเอ็นเอในช่วง 50-100 แถบ ซึ่งเป็นช่วงที่สามารถตรวจสอบได้โดยวิธี denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนมขนาดเล็ก จะใช้ไพรเมอร์ที่มีการเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกจำนวนน้อย เพราะจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะมีจำนวนน้อย ในขณะที่การตรวจสอบสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนมขนาดใหญ่ หรือมีความซับซ้อนมากต้องใช้ ไพรเมอร์ที่มีการเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกจำนวนมากขึ้น เพื่อปรับจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่จะเพิ่มปริมาณให้มีจำนวนพอเหมาะ รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์คู่หนึ่งๆ เรียกว่า ลายพิมพ์เอเอฟแอลพี (AFLP fingerprint) ดังนั้นเทคนิค AFLP จึงเป็นการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอวิธีหนึ่ง แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่าง บ่งบอกถึงความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะจึงสามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ใช้ศึกษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตได้เช่นเดียวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบอื่น (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

2.9.1.8 SSCP (Single strand conformation polymorphism)

SSCP เป็นวิธีตรวจหาโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) จากดีเอ็นเอ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเบสตัวใดตัวหนึ่งในชิ้นดีเอ็นเอนั้น (point mutation) หรือ Single nucleotide polymorphism (SNPs) นิยมใช้ในการศึกษา point mutation detection จากสายดีเอ็นเอที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้จากขนาดและไม่รู้ลำดับเบสด้วยวิธีทางกายภาพ จึงไม่ต้องทำการหาลำดับเบส (DNA sequencing) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง ถ้ามีลำดับเบสภายในสายดีเอ็นเอต่างกันเพียง 1 เบส และการเปลี่ยนแปลงของเบสเกิดในบริเวณที่ไม่มีเอนไซม์ตัดได้ หรือการเปลี่ยนแปลงในตำแหน่งที่ไม่ทราบแน่ชัดก็สามารถแยกความแตกต่างได้ เทคนิค SSCP มีขั้นตอนหลักอยู่ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่ต้องการด้วยเทคนิค PCR การแยกดีเอ็นเอสายคู่ให้เป็นสายเดี่ยว (denature) และการแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอสายเดี่ยวบน polyacrylamide gel โดยเทคนิค SSCP จะอาศัยหลักที่ว่าดีเอ็นเอสายเดี่ยวในสภาพธรรมชาติ (nondenaturing condition) จะมีการขดหรือพันกันภายในโมเลกุล เกิดเป็นโครงสร้างที่จำเพาะ หรือมี conformation ที่จำเพาะขึ้นอยู่กับลำดับเบสของดีเอ็นเอสายนั้น ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างขั้นทุติยภูมิ (secondary structure) ที่เกิดจากอิทธิพลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของไอออนต่าง ๆ จึงมีผลต่อการเคลื่อนที่ในระหว่างการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบน nondenaturing polyacrylamide gel โมเลกุลของดีเอ็นเอที่มีเบสแตกต่างกันเพียงเบสเดียวก็สามารถทำให้เกิดโครงสร้างที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การเคลื่อนที่บนเจลในระหว่างการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสเร็วช้าต่างกัน นอกจากนี้ปัจจัยในการเคลื่อนที่และโครงสร้างของดีเอ็นเอแล้วยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ ความเป็นกรดต่างของบัฟเฟอร์ ส่วนประกอบของเจล acrylamide และอุณหภูมิที่ใช้ และพบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการทำ SSCP คือความเข้มข้นของ

บัฟเฟอร์ 0.5X TBE ที่อุณหภูมิห้อง และมีกลีเซอรอลอยู่ภายในเจลร้อยละ 5 (วีระพงศ์ ลุฬิตานนท์, 2536)

การตรวจหาความแตกต่างของลำดับเบส มีอยู่หลายวิธี ได้แก่ RNase cleavage, chemical cleavage, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE), Heteroduplex Analysis (HA) และ Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) ซึ่ง SSCP เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากขั้นตอนง่าย ไม่ยุ่งยาก และมีข้อได้เปรียบดังนี้

1. เป็นวิธีที่มีขั้นตอนในการปฏิบัติงานไม่ยุ่งยาก จำนวนขั้นตอนมีน้อย
2. มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบความแตกต่างสูง โดยเฉพาะในสายดีเอ็นเอที่มีความยาวน้อยกว่า 220 คู่เบส และยิ่งความยาวของสายดีเอ็นเอสั้นลง ประสิทธิภาพในการตรวจสอบจะยิ่งมากขึ้น
3. ไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย โดยเฉพาะในขั้นตอนการย้อมสีดีเอ็นเอ
4. ต้นทุนในการปฏิบัติงานต่ำ อุปกรณ์ที่ใช้เป็นอุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป
5. ไม่มีความจำเป็นต้องใช้ heterozygous และ homozygous ในการเปรียบเทียบอย่างวิธี HA
6. ไม่ต้องใช้ formamide และ urea ในแผ่นเจล

การประยุกต์ใช้ PCR-SSCP

เนื่องจาก PCR-SSCP เป็นเทคนิคที่ง่ายไม่ซับซ้อนและมีศักยภาพในการตรวจพบความเปลี่ยนแปลงหรือความแตกต่างที่เกิดภายในสายดีเอ็นเอ จึงเป็นเทคนิคที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านต่าง ๆ เช่น

1. การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนต่าง ๆ ในโรคทางพันธุกรรม และโรคมะเร็ง
2. ใช้ในการศึกษา DNA polymorphism และการทำ genetic mapping
3. ประยุกต์ใช้ในการทำ competitive PCR
4. ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส เช่น Epstein-Barr virus
5. ใช้ในการตรวจหาเชื้อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในหลอดทดลอง (วีระพงศ์ ลุฬิตานนท์, 2536)

พจน ปรณ ทิโต ชีเว

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของกิ้งฝอย

วุฒิวัดน์ เรืองชัย และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกิ้งฝอยน้ำจืด จากการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมจาก ดีเอ็นเอ ส่วน ITS2 ของกิ้งฝอยน้ำจืดชนิด *M. lanchesteri* จาก 9 จังหวัด จังหวัดละ 10 ตัวอย่าง ด้วยวิธี PCR-RFLP พบว่า เมื่อนำดีเอ็นเอส่วน ITS2 ของตัวอย่างกิ้งทั้งหมดมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิดคือ *Hha* | *Msp* | *Alu* | *Tru* II | *Rsa* | *Hae* III และ *Taq* I เมื่อรวมรูปแบบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดทั้งหมดในทุกประชากร พบว่ามี 9 รูปแบบ (haplotype) ผลการวิเคราะห์ AMOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวน (percentage of variation) ระหว่างภาค (among regions) ระหว่างประชากรภายในภาค (among populations within regions) และ ภายในประชากร (within population) เท่ากับ 35.61, 56.71 และ 8.22 ตามลำดับ ผลที่ได้ชี้ให้เห็นการมีโครงสร้างประชากรภายในชนิด ของ *M. lanchesteri* ตามแหล่งที่อยู่อาศัย

ฉัตรชัย ปรีชา และคณะ (2557) ได้ทำการศึกษาพลวัตประชากรกิ้งฝอยในแม่น้ำโขงบริเวณจังหวัด เพื่อศึกษาพลวัตประชากร ผลการศึกษาพบว่าขนาดของกิ้งฝอยเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความยาวคาราเปสเฉลี่ย 14.4 ± 3.1 มิลลิเมตร ส่วนกิ้งฝอยเพศผู้มีความยาวคาราเปสเฉลี่ย 12.1 ± 2.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1:1.5 มีความดกไข่เฉลี่ย 91.21 ± 20.71 ฟองและมีความสัมพันธ์ระหว่างความดกไข่กับความยาวคาราเปสคือ $Fe = 3.37CL^{1.21}$ ค่าพารามิเตอร์การเติบโตของฟอนเบอร์ทาแลนพีที่เกิดความอ่อนไหวของฤดูกาลพบว่าค่าความยาวคาราเปส เท่ากับ 21.25 มิลลิเมตร ค่าพารามิเตอร์ความโค้งเท่ากับ 1.06 ต่อปี ค่าแอมพลิจูดเท่ากับ 0.9 และจุดในฤดูร้อนเท่ากับ 0.46 โดยกิ้งฝอยมีอายุขัยเท่ากับ 2.83 ปี สัมประสิทธิ์การตายรวมการตายโดยธรรมชาติและการตายโดยการประมงเท่ากับ 2.24, 1.01 และ 1.23 ต่อปีตามลำดับ

กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์ (2558) ได้ทำการศึกษาชีววิทยาบางประการของกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) ในพื้นที่ชุ่มน้ำหนองเล็งทราย จังหวัดพะเยา จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวตัวและความยาวหัวพบว่า ความสัมพันธ์ความยาวตัวและความยาวหัวมีความสัมพันธ์ตามสมการ $TL = 0.7451 + 3.4123CL$ ($R^2 = 0.8743$, $n=1,437$) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวตัวและน้ำหนักมีความสัมพันธ์ตามสมการ $W = 0.0114TL^{2.7759}$ ($R^2 = 0.9548$, $n=1,852$) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวหัวและน้ำหนักมีความสัมพันธ์ตามสมการ $W = 0.6262CL^{2.4791}$ ($R^2 = 0.8585$, $n=1,402$) อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1:1.33 จากการศึกษาขนาดเจริญพันธุ์พบว่าสามารถวางไข่ได้ตลอดทั้งปี โดยช่วงที่มีจำนวนของแม่กิ้งที่มีไข่มากที่สุดคือช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม ขนาดของแม่กิ้งที่เล็กที่สุดมีความยาวตัว 3.22 เซนติเมตร ความยาวหัว 0.72 เซนติเมตร และน้ำหนักตัว 0.28 กรัม ส่วนขนาดใหญ่ที่สุดมีความยาวตัว 5.28 เซนติเมตร ความยาวหัว 1.23 เซนติเมตร และน้ำหนักตัว 1.30 กรัม ซึ่งให้เห็นว่าประชากรกิ้งเพศเมียมีจำนวนมากกว่ากิ้งเพศผู้ ผลการศึกษานี้สามารถนำไปบริหารจัดการกิ้งฝอยในแหล่งน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

Amato and Corach (1996) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกิ้งน้ำจืด *Macrobrachium borellii* โดยเทคนิค RAPD โดยทำการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม

ของ 2 ประชากรของ *M. borellii* ที่พบการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ในทางตอนใต้ ซึ่งพบว่า ประชากรทั้ง 2 ประชากร มีการแบ่งแยกกันมากขึ้น หรือมีการผสมพันธุกันมากขึ้น ซึ่งความ หลากหลายทางพันธุกรรมในบ่อเพาะเลี้ยงต่ำกว่าประชากรในแม่น้ำ Rio de Ta Plata จากการ ทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า เทคนิค RAPD สามารถเป็นเครื่องมือที่นำมาใช้ประโยชน์ในการหา ความหลากหลายทางพันธุกรรมในอนุกรมวิธานนี้ได้เป็นอย่างดี

Qing-yi *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ้งสกุล *Macrobrachium* ทั้ง 3 ชนิด (*M. rosenbergii*, *M. nipponense* และ *M. qilianensis*) โดยยื่น COI จากผลการทดลองพบว่ามี 7 haplotypes และพบว่าใน *M. rosenbergii* มีค่า nucleotide diversity 0.411% ใน *M. nipponense* มีค่า nucleotide diversity 0.092% และ *M. qilianensis* มีค่า nucleotide diversity 0.031% ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *M. qilianensis* ที่เก็บ จากแหล่งน้ำธรรมชาติมีค่าที่ต่ำกว่า *M. rosenbergii* และ *M. nipponense* ที่เก็บมาจากฟาร์ม เพาะเลี้ยง ซึ่งระยะห่างทางพันธุกรรมของ 3 ชนิด มีค่าจาก 19.89%-23.84% ซึ่งให้เห็นว่า 3 ชนิดนี้มี ระยะห่างทางพันธุกรรมของ 3 ชนิดนี้ค่อนข้างมาก

Fernanda *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของกุ้ง *Macrobrachium amazonium* ในแม่น้ำอเมซอนซึ่ง *M. amazonium* มีการกระจายอย่าง แพร่หลายในอเมริกาใต้ จึงทำการเปรียบเทียบลักษณะของประชากรชายฝั่งของ *M. amazonium* จากบราซิลโดยใช้ข้อมูลโมเลกุล 16S และ COI เพื่ออธิบายระดับความแปรผัน โครงสร้าง การจัดการ โครงสร้างถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1.บริเวณน่านน้ำของแม่น้ำอเมซอน 2.ขอบเขตปารากวัย และ 3.ชายฝั่งทะเลของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของบราซิล ในการแบ่งแยกทางภูมิศาสตร์ อาจมีผลทำให้เกิดความแปรผันได้ และถ้ามีการแบ่งแยกอย่างต่อเนื่อง *M. amazonium* อาจเกิด ชนิดใหม่ภายในการกระจายทางภูมิศาสตร์ในวงกว้าง การหาลำดับเบสสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ในการจัดจำแนกประชากร และการนำเข้าสู่ของประชากรที่ไม่ทราบถิ่นกำเนิด

Ma K.Y. *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม วิเคราะห์โดยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ของกุ้ง *Macrobrachium nipponense* จากแม่น้ำ Qiandao ในประเทศจีน โดยใช้ เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ 9 เครื่องหมาย เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม และการ พัฒนาการคัดเลือกสายพันธุ์ โดยผลการทดสอบพบ 185 อัลลีลที่ 9 ตำแหน่งของตัวอย่างนี้ ค่า (H_D) และ (H_E) มีค่าจาก 0.43-0.89 และ 0.56-0.95 ตามลำดับ จากตัวอย่างของ *M. nipponense* ใน แม่น้ำ Qiandao ได้แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สูงคือ 14.33-15.89 alleles/locus H_D เท่ากับ 0.66-0.77 และ H_E เท่ากับ 0.78-0.88 ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เก็บมาจากแม่น้ำ Qiandao มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำกว่าตัวอย่างที่เก็บจากสถานที่อื่น

Qiao *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งแม่น้ำ *Macrobrachium nipponense* ในแม่น้ำเหลียงโดยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ โดยทำการศึกษา ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *M. nipponense* จากพื้นที่ 7 พื้นที่ ในแม่น้ำเหลียง ซึ่ง ทำการตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 20 เครื่องหมาย ความหลากหลายทาง พันธุกรรมระหว่างประชากรแสดงให้เห็นจำนวนเฉลี่ยประชากรของอัลลีลต่อโลคัส และค่าเฉลี่ย heterozygosity (H) ซึ่งเรียงจาก 2-10 จาก 0.4705-0.5731 และจาก 0.5174-0.6146 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ AMOVA แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างประชากร ส่วนสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดที่สอดคล้องกับความใกล้ชิดทางภูมิศาสตร์ จากข้อมูลได้แสดงให้เห็นว่าประชากรกึ่งในแม่น้ำเหลืองมีพันธุกรรมที่กว้างจึงมีความเหมาะสมสำหรับการผสมพันธุ์

Rahman Khan *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่ง *Macrobrachium rosenbergii* โดยประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของแหล่งน้ำ 3 แหล่ง ประกอบด้วย แม่น้ำ Paira แม่น้ำ Naaf และแม่น้ำ Pashure ของกึ่งกัมพูชา จำนวนที่แตกต่างกันของอัลลีลถูกตรวจสอบโดย 7 เครื่องหมาย โดยมีค่าเฉลี่ย 9.833, 9.167 และ 10.167 ในประชากรของแม่น้ำ Paira, Naaf และ Pashure ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับปานกลางของ *M. rosenbergii* ทั้ง 3 แม่น้ำ จากการตรวจสอบการลดลงของขนาดประชากรในแม่น้ำระบุว่าแผนการในเชิงปฏิบัติคือสิ่งจำเป็นเพื่อสร้างความสมดุลระหว่างการจับ และการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่ง *M. rosenbergii*

Salman *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาการบูรณกรรมของ *Macrobrachium nipponense* (De Maan, 1849) ในทางตอนใต้ของประเทศอิรัก วิเคราะห์โดยใช้จำนวนทั้งหมด 42 ตัวอย่าง โดยเก็บจากแม่น้ำ Abu-Zirig ในตอนใต้ของอิรัก จากผลการทดลองของ DNA sequence สามารถยืนยันการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบได้ว่ามีความคล้ายคลึง 99% โดยใช้ยีน 16S สำหรับสายพันธุ์ไม่ใช่ชนิดพันธุ์ท้องถิ่น การเข้ามาสู่ธรรมชาติน่าจะหลุดออกมาจากการเพาะเลี้ยงในฟาร์มโดยไม่ตั้งใจ

Ranjane and Mariapan (2011) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และระบบนิเวศของ *Macrobrachium canarae* และ *Caridina Gracilirostris* จาก Tamil Nadu ประเทศอินเดีย ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค RAPD ทั้ง 2 ชนิดพันธุ์ ตัวอย่างถูกจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีข้อจำกัดในการอธิบายทางพันธุกรรมภายในสายพันธุ์เดียวกัน และการแสดงออกยังสามารถปรับเปลี่ยนไปโดยสภาพแวดล้อม การใช้เทคนิคทางโมเลกุลไม่เพียงแต่หาความหลากหลายทางพันธุกรรมเท่านั้น และยังใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้อีกด้วย จากการวิเคราะห์โมเลกุลโดยสกัดดีเอ็นเอ และตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดแล้วโดยใช้ nanodrop spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 280 nm และทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมโดยเทคนิค PCR-RAPD โดยการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณโดย multiplex PCR โดยใช้ 16S rRNA จากนั้นพบว่าเกิดการซ้อนกันและกัน และเกิดความแปรผันทางพันธุกรรมของ 2 ชนิดพันธุ์นี้

Khamnamtong *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาการจำแนกกึ่ง 5 ชนิดพันธุ์ ได้แก่ *Penaeus monodon*, *P. semisulcatus*, *Feneropenaeus merguensis*, *Litopenaeus vannamei* และ *Marsupenaeus japonicas* โดยเทคนิค PCR-RFLP และ SSCP ของ 16S rDNA ผลการทดลองวิเคราะห์ความแตกต่างของ *P. monodon*, *P. semisulcatus* และ *L. vannamei* สามารถดำเนินการโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ของ 16S rDNA₅₆₀ ขณะที่ *P. semisulcatus* และ *M. japonicas* ถูกแบ่งเป็น BABB mitotype การวิเคราะห์ SSCP สามารถแยกกึ่งได้ทั้งหมด แต่การเพิ่มปริมาณของ *L. vannamei* และ *F. merguensis* ไม่สอดคล้องกันเมื่อทำการทดลองอีกครั้งกับ

ตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่กว่า จากผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบขึ้นมาใหม่ได้ทดสอบกับตัวอย่างขนาดใหญ่พบว่าได้ PCR product ที่มีขนาด 312 bp การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอถือว่าประสบความสำเร็จซึ่งสอดคล้องกับทุกๆ สายพันธุ์ในเทคนิค PCR-RFLP ใช้ยีน 16S rDNA₃₁₀ พบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด ส่วน 16S rDNA₅₆₀ สามารถอธิบายความแตกต่างของสายพันธุ์ทั้งหมดได้โดยใช้เทคนิค SSCP

Guerra *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่าง *M. amazonicum* และ *M. jelskii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกัน นอกจากนี้อนุกรมวิธานของกึ่งเหล่านี้ยังเป็นปัญหาสำหรับการแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ จึงได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้ยีน COI และ 16S rRNA เพื่อประเมินโครงสร้างพันธุกรรมของสายพันธุ์เหล่านี้ ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากเมือง Tiete hydrographic basin (Sao Paulo State, Brazil) โดยทำการเปรียบเทียบจากตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งเดียวกัน และสถานที่ที่ต่างกัน ผลการทดลองพบว่าความแปรผันทางพันธุกรรมมีอัตราต่ำ นอกจากนี้ผลเหล่านี้มีความสอดคล้องกับสมมติฐานว่าเป็นสายพันธุ์เดียวกัน หรือเกิดการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ เป็นต้น

Udayasuriyan *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องหมายทางพันธุกรรมของยีน COI ใน DNA barcoding ของกึ่งน้ำจืดทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Macrobrachium rosenbergii*, *M. malcolmsonii*, *M. lamarrei*, *M. lamarrei lamarroids* และ *Caridina gracilipes* โดยทำการจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยา และระดับโมเลกุล โดยยีน mtCOI กับ 4 ไพรเมอร์ที่ต่างกัน คือ LCO1490 & HCO2198, COIa & COIb, CrustF1 & HCO2198 และ CrustF2 & HCO2198 เพื่อหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่สุด โดยไพรเมอร์ชุด LCO1490 & HCO2198 และ COIa & COIb พบว่ามีความเหมาะสมที่สุดและมีประสิทธิภาพในทุกชนิด ในส่วนของลำดับเบส รูปแบบของไพรเมอร์พบว่าไพรเมอร์ชุดแรกมีประสิทธิภาพที่ต่ำกว่าชุดหลัง ดังนั้นไพรเมอร์ชุด COIa & COIb แสดงประสิทธิภาพที่ดีกว่าไพรเมอร์ชุด LCO1490 & HCO2198 อย่างมีนัยสำคัญ

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometric)

Chu *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกของกึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจจากปากแม่น้ำ Zhujiang ของประเทศจีน โดยศึกษาการวัดทางสัณฐานวิทยาของ carapace length และ body length เพศผู้ และเพศเมียของ *Penaeus chinensis*, *P. penicillatus*, *Metapenaeus affinis*, *M. ensis*, *M. joyneri* และ *Parapenaeopsis hungerfordi* โดยทั่วไปเพศผู้จะมีขนาดเล็กกว่าเพศเมียซึ่งมีความแตกต่างในความสัมพันธ์ของความยาว-น้ำหนักระหว่างเพศผู้ และในเพศเมียของ *M. affinis* และ *M. joyneri* ความสัมพันธ์ความยาว-น้ำหนัก ในเพศเมียของ *M. affinis*, *M. ensis*, *M. joyneri* และ *P. hungerfordi* มีความแตกต่างกันในระดับเพศของกึ่งที่เต็มวัย

Arshad *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาความแปรผันมอร์โฟเมตริกระหว่างประชากรของกึ่งชนิด *Acetes japonicas* ในชายฝั่งตะวันตกของหมู่เกาะประเทศมาเลเซีย จาก 4 สถานที่ ข้อมูลการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ total length, standard length, carapace length, abdomen

length และ telson length ของสายพันธุ์นี้วิเคราะห์โดยใช้ ANOVA เพื่อตรวจสอบระดับความคล้ายระหว่างประชากรของ *A. Japonicas* จาก 4 สถานที่ (Malacca, Penang และอีก 2 สถานที่ในชายฝั่งตะวันตกของ Peninsular) การวิเคราะห์ ANOVA แสดงให้เห็นถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันของความยาวทั้งหมด ความยาวมาตรฐาน ความยาวคาราเปส และความยาวช่วงท้อง ระหว่าง 4 ประชากร ($p < 0.05$) และพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความยาวหางของ 4 ประชากร ($p > 0.05$) ผลของ dendrogram จะขึ้นอยู่กับเพศ โดยประชากรจาก Sg. Berembang และ Pantai Bersin ถูกจัดกลุ่มเป็น 1 กลุ่ม ประชากรของ Sg. Baharu อยู่ในกลุ่มอื่น และมีอีก 2 กลุ่มที่ถูกแยกออกจากกันจาก Klebang Besar ผลของสัญญาณวิทยามีความคล้ายคลึงกันมาก คือ ประชากรจาก Sg. Berembang และ Pantai Bersin ซึ่งอยู่ภายในกลุ่มเดียวกันโดยมีความคล้ายคลึง 99.67% การวิเคราะห์ความแปรผันของกิ่งจาก 4 สถานที่ที่แตกต่างกันได้แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างจาก 4 สถานที่ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัญญาณวิทยา

Rebello *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างมอร์โฟเมตริกของ *Penaeus monodon* จากชายฝั่งตะวันออกเฉียงใต้ และชายฝั่งตะวันตกเฉียงใต้ของอินเดีย เพื่อตรวจหาความแปรผันของประชากรแบบสุ่มของ *P. monodon* จากชายฝั่งตะวันออก และชายฝั่งตะวันตก (Kochi, Calicut, Mangalore, Karwae, Kakinada และ Chennai) ของอินเดีย ในบรรดาตัวแปรเหล่านี้ Partial carapace length (PCL) แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์สูงมาก กับ Tail weight (TLW) ในเพศผู้ (0.9605) และเพศเมีย (0.9639) การวิเคราะห์โครงข่ายด้วยการวัด 26 ลักษณะ ความแปรผันการวิเคราะห์โครงข่ายคิดเป็น 89.15% และพบว่าไม่มีการแยกกลุ่ม และสามารถยืนยันได้ว่าเป็นโครงสร้างที่เหมือนกัน

Chen *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางมอร์โฟเมตริกของ *Macrobrachium nipponense* ในประเทศไต้หวัน เพื่ออธิบายความแปรผันทางภูมิศาสตร์ และสายวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของ *M. nipponense* โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 8 กลุ่ม จาก 3 แหล่งน้ำ คือ 1. Tamsui River Estuary (TSE) 2. Kaoping River Estuary (KPE) 3. Houlung River Estuary (HLE) และอ่างเก็บน้ำอีก 5 สถานที่ คือ 1. Shimen reservoir (SMR) 2. Mingde reservoir (MDR) 3. Deji reservoir (DIR) 4. Tsengwen reservoir (TWR) 5. Chengqing lake reservoir (CLR) โดยวัดมาตรฐานทางสัญญาณวิทยา 12 ลักษณะ ด้วยวิธี allometric method, via Cluster analysis และ canonical analysis ทำการวัดโดยสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจสอบความแปรผันระหว่างกลุ่ม จากการศึกษาพบว่าสามารถจัดกลุ่มของ 8 ตัวอย่างได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก DJR, MDR, CLR และ TWR กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก SMR และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยตัวอย่างที่เหลือ คือ TSE, HLE และ KPE ความแปรผันทางมอร์โฟเมตริกระหว่างทั้ง 3 กลุ่ม มีนัยสำคัญของแต่ละเพศ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 กลุ่ม อาจมาจากต้นกำเนิดของวิวัฒนาการ เหตุการณ์ทางภูมิศาสตร์ หรือการปรับตัวทางสิ่งแวดล้อม

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การศึกษาลักษณะทางกายภาพ และค่าทางเคมี ของน้ำ

การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ขวดพลาสติก และวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างกึ่งฝอย ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย 16 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย หนองบัวลำภู และอำนาจเจริญ โดยทำการวิเคราะห์ทางกายภาพ และเคมี ดังตาราง 4

ตาราง 4 วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการ

พารามิเตอร์	วิธีการวัด	สถานที่วิเคราะห์/ตรวจวัด	
		ภาคสนาม	ห้องปฏิบัติการ
1. ลักษณะทางกายภาพ เช่นสี กลิ่นของน้ำ	สังเกต	✓	
2. อุณหภูมิ	เทอร์โมมิเตอร์	✓	
3. ความเป็นกรด-ด่าง	ชุดทดสอบกระดาษลิตมัส	✓	
4. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ(DO)	ชุดทดสอบออกซิเจนที่ละลายในน้ำ	✓	
5. ปริมาณความกระด้าง	ชุดทดสอบความกระด้างของน้ำ	✓	

1. การวิเคราะห์การสังเกตสีของน้ำ

สังเกตสีของแหล่งน้ำจากแหล่งน้ำโดยตรง หรือตักขึ้นมาอย่างน้อย 2 ลิตร ใส่หลอดแก้ว หรือขวดแก้วใส แล้วทำการสังเกตสี บันทึกผล

2. การวิเคราะห์กลิ่นของน้ำ

ดมกลิ่นจากแหล่งน้ำโดยตรง โดยการไปยืนริมน้ำแล้วสูดหายใจดมกลิ่น หรือตักน้ำขึ้นมาอย่างน้อย 2 ลิตร ใส่ขวดแก้วแล้วจึงดมกลิ่นโดยใช้มือโบกกลิ่นให้โชยเข้าจมูก

3. การวัดอุณหภูมิของน้ำ

ทำการตรวจสอบสภาพความพร้อมของเครื่องมือ จากนั้นทำการวัดอุณหภูมิในอากาศก่อนวัดในน้ำโดยให้กระเปาะเทอร์โมมิเตอร์สัมผัสอากาศ 5 นาที แล้วจึงอ่านค่า บันทึกอุณหภูมิในอากาศที่วัดไว้ แล้วทำการวัดอุณหภูมิในน้ำให้ลึกอย่างน้อย 4 นิ้ว คอยอ่านค่าเมื่ออุณหภูมิหยุดนิ่งคงที่ (3-5 นาที) ทำซ้ำ 2 ครั้ง และบันทึกค่าอุณหภูมิ

4. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (โดยชุดทดสอบกระดาษลิตมัส)

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากกึ่งกลางความลึกของแหล่งน้ำ จากนั้นจุ่มกระดาษในด้านที่มีแผ่นสารเคมีติดอยู่ลงในน้ำตัวอย่างประมาณ 15 วินาที จนเกิดการเปลี่ยนสีแล้วนำไปเทียบสีมาตรฐาน

5. การวัดค่าความกระด้างของน้ำ (โดยชุดทดสอบความกระด้างของน้ำ)

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใส่ถ้วยพลาสติกประมาณ 10 ซี.ซี. จากนั้นหยดน้ำยาความกระด้าง 1 จำนวน 3-4 หยด เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นทำการตักผงเคมีความกระด้าง 2 ปริมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟใส่ลงในถ้วยพลาสติก เขย่าให้ผงเคมีละลายหมด แล้วทำการหยดน้ำยาทดสอบความกระด้าง 3 ลงไปที่ละหยดจนสีม่วงเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน แล้วนำไปประเมินผลตรวจ

3.2 การเก็บตัวอย่างกุ้งฝอย

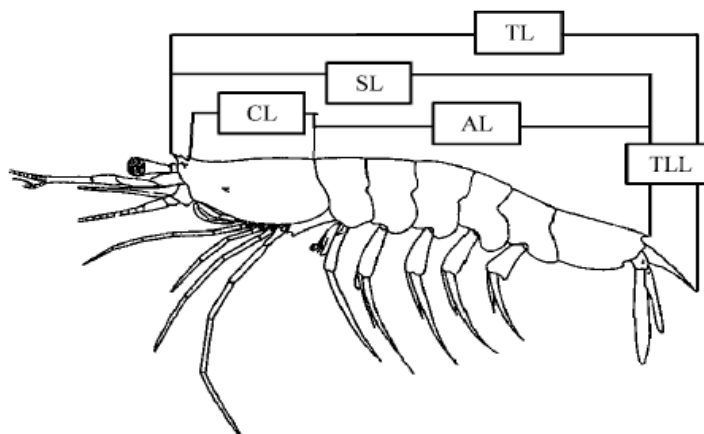
ตัวอย่างกุ้งฝอยที่นำมาทำการศึกษา โดยเก็บจากแหล่งน้ำในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย 16 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย หนองบัวลำภู และอำนาจเจริญ โดยเก็บตัวอย่างกุ้งฝอยในช่วงเดือน มีนาคม ถึง กันยายน 2560

3.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก *M. lanchesteri*

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อจัดจำแนกกุ้งฝอย โดยศึกษาลักษณะที่สำคัญในการจัดจำแนกซึ่งได้แก่ ลักษณะสีลำตัว (body color) ลักษณะกรีของกิ้ง (rostrum) คาราเปส (carapace) แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 (scaphocerite) ขาเดินคู่ที่ 2 (second pereopod) หางและแพนหาง (telson and uropod) ตามวิธีของ Holthuis (1950,1995); Uraivan and Sodsuk (2004); Jivaluk and Suppakitratanakul (n.d.) และพิมพ์พรรณ สีสระวัฒนากุล (2518)

การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometry)

M. lanchesteri ถูกเก็บมาจาก 16 จังหวัด ทั้งหมด 1,600 ตัวอย่าง โดยในแต่ละพื้นที่ใช้กุ้งฝอยตัวเต็มวัยทั้งหมด (100 ตัวอย่าง/ประชากร: เพศผู้ 50 ตัวอย่าง เพศเมีย 50 ตัวอย่าง) โดยลักษณะของกุ้งฝอยเพศเมียช่องเปิดไข่อุณหภูมิโคนขาเดินคู่ที่ 3 ตรงปลายขาว่ายน้ำคู่ที่ 2 ปล้องสุดท้ายแยกออกเป็นแขนง 3 อัน โดยอันเล็กสุดอยู่ด้านใน ส่วนเพศผู้มีช่องเปิดน้ำเชื้ออยู่บริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 5 ปลายขาว่ายน้ำคู่ที่ 2 แยกเป็นแขนง 4 อัน หรือกุ้งฝอยเพศผู้บริเวณส่วนหัวจะมีสีน้ำตาล ส่วนกุ้งฝอยเพศเมียบริเวณส่วนหัวมีสีเขียว (Sriphuttinipon and Jongyotha, 1997) จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา ประกอบด้วยการวัด 5 ลักษณะ ดังนี้ 1. Total length (TL) 2. Standard length (SL) 3. Carapace length (CL) 4. Abdomen length (AL) 5. Telson length (TLL) ซึ่งการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหล่านี้ทำตามวิธีของ Arshad *et al.* (2013) ดังภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 การแสดงแผนภาพของการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา

Total length (TL), Standard length (SL), Carapace length (CL), Abdomen length (AL), Telson length (TLL)

(ที่มา: Arshad *et al*, 2013)

การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอยในแต่ละตัวจะทำการวัดภายใต้กล้องสเตอริโอ และเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (vernier caliper) เพื่อวัดขนาดทั้ง 5 ลักษณะ และทำการบันทึกข้อมูลจากการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ IBM SPSS statistics 24 (Arshad *et al*, 2013)

3.4 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

3.4.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

ในการสกัดดีเอ็นเอในครั้งนี้จะสกัดโดยวิธีสกัด Genomic DNA จากเนื้อเยื่อของกุ้งฝอยส่วนบนของลำตัว โดยวิธี CTAB Phenol chloroform Proteinase K method โดยทำการตัดเนื้อเยื่อจากตัวอย่างปริมาตร 0.5 cm^2 ใส่ใน centrifuge tube นำไปเติม CTAB buffer 500 μl (CTAB ต้องนำไปต้มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีก่อนนำมาใช้) เติม Proteinase K (20 mg/ml) 5 μl นำไป incubated ที่ 55 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติม Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25: 24: 1) ปริมาตร 500 μl กลับหลอดไปมาให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาของเหลวที่แยกชั้นอยู่ด้านบนใส่หลอด centrifuge tube หลอดใหม่ (โดยใช้ Tip ปลายตัด) จากนั้นก็เติม Chloroform: Isoamyl alcohol (24: 1) ปริมาตร 500 μl เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาของเหลวที่แยกชั้นอยู่ด้านบนใส่ในหลอด centrifuge tube หลอดใหม่ (โดยใช้ Tip ปลายตัด) ทำซ้ำอีก 1 รอบ เติม absolute ethanol (ที่เย็นจัด) 2 เท่าของปริมาตรรวม ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ดีเอ็นเอ

เอตคตะกอน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดหรือเทส่วนบนทิ้ง แล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอโดยเติมเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ 500 μ l แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนบนทิ้งคว่ำหลอดลงบนกระดาษทิชชู ประมาณ 30 นาที แล้วหงายหลอดขึ้นเพื่อให้เอทานอลระเหยออกให้หมด จากนั้นจึงละลายดีเอ็นเอด้วย TE buffer 100 μ l (10 mM Tris-HCL, pH 7.4 และ 1 mM EDTA) นำ DNA solution ไปปั่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอโดยวิธี electrophoresis

3.4.2 การตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

นำ Genomic DNA ที่สกัดได้มาวัดหาปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร หรือค่า optical density ที่ 260 nm (OD_{260}) และ 280 nm (OD_{280}) ทดสอบความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 280 nm เพื่อดูการปนเปื้อนของโปรตีน แล้วคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ 260/280 nm ถ้าผลการคำนวณมีค่าประมาณ 1.8 แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีคุณภาพดี หากมีน้อยกว่า 1.6 แสดงว่ามีการปนเปื้อนของโปรตีน หรือ phenol และหากมีค่ามากกว่า 2 แสดงว่ามีการปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอ และนำไปคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดย

$$\text{ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ} = OD_{260} \times \text{dilution factor} \times 50 (\mu\text{g/ml})$$

3.4.3 ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ โดยวิธี Agarose gel electrophoresis

นำดีเอ็นเอที่เตรียมไว้มาตรวจสอบคุณภาพโดยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel โดยชั่ง agarose มา 0.72 กรัม เติม 0.5X TBE buffer 72 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมละลายและเทลงในแชมเบอร์ที่เตรียมไว้ ปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณ 45 นาที เติม 0.5X TBE buffer ลงในแชมเบอร์จนท่วมเจล จากนั้นนำดีเอ็นเอตัวอย่างจำนวน 5 μ l ผสมกับ 10X loading dye ปริมาตร 2 μ l และผสมกับ novel Juice nontoxic DNA stain solution dye ปริมาตร 1 μ l นำไปหยอดในช่องสำหรับหยอดบนแผ่นเจลปิดฝาแล้วใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ใช้เวลา 30 นาที แล้วนำไปตรวจดูภายใต้แสง UV

3.4.4 ขั้นตอนการทำ Polymerase Chain Reaction (PCR)

ทำการคัดเลือกหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ไพรเมอร์

LSU-2-4 [F] = 5' GGG TTG TTT GGG AAT GCA GC 3'

LSU-2-4 [R] = 5' GTT AGA CTC CTT GGT CCG TG 3'

16S rDNA [F] = 5' CGCCTGTTTAACAAAAACAT 3'

16S rDNA [R] = 5' CCGGTCTGAACTCAGATCATGT 3'

18S rDNA [F] = 5' TGGATCCCGGGCAAGCTCTGGTGCC 3'

18S rDNA [R] = 5' TGAAGTCAAGGGCATCACAGACC 3'

COI [F] = 5' GGTCACAAATCATAAAGATATATTGG 3'

COI [R] = 5' TAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA 3'

โดยทำปฏิกิริยาในปริมาตร 25 μ l ซึ่งประกอบด้วย dH_2O ปริมาตร 3.4 μ l, 10X buffer ปริมาตร 2.5 μ l, 2.0 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 1 μ l, 1mM dNTP ปริมาตร 5 μ l, 0.5 U/ μ l *Taq* DNA

polymerase ปริมาตร 0.3 μ l, 10 μ M COI [F] และ COI [R] ปริมาตร 1.25 μ l และ DNA sample (5 mg/ μ l) ปริมาตร 10 μ l ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้อุณหภูมิ Initial denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วย 35 รอบของ denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที annealing ที่ 45 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที และ extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 10 วินาที และ final extension นาน 72 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นนำผลผลิตของปฏิกิริยา PCR มาทำการตรวจสอบขนาดโดยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเอาไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกุ้งฝอยไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกุ้งฝอยต่อไป

3.4.5 การตัดโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (PCR-RFLP)

นำ PCR product มาคัดเลือกหาเอนไซม์ตัดจำเพาะ 13 ชนิด ได้แก่ *Sau* 3AI, *Hha* I, *Eco* RI, *Alu* I, *Dde* I, *Ssp* I, *Pst* I, *Bgl* II, *Hin* dIII, *Bam* III, *Sma* I, และ *Hin* FI โดยมีส่วนผสมในการทำปฏิกิริยาดังนี้ ใช้น้ำปริมาตร 5.56 μ l, 10X buffer ปริมาตร 1.5 μ l (*Sau* 3AI ใช้ buffer B, *Hha* I ใช้ buffer C และ *Eco* RI ใช้ buffer H), 10X BSA ปริมาตร 0.15 μ l, 40 mM sp ปริมาตร 1.5 μ l, (10U/ μ l) restriction Enzyme ปริมาตร 0.3 μ l เขย่าให้เข้ากัน เติม PCR product 6 μ l นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ยกเว้น *Taq* I ใช้ buffer E นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ผลการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยช่องแรกของเจลจะใช้ 100 bp DNA marker ปริมาตร 3 μ l ช่องที่ 2 เป็น uncut PCR product ช่องที่ 3 เป็นต้นไป ใส่เอนไซม์ตัดจำเพาะที่ผสมกับสี loading day และผสมกับ novel Juice nontoxic DNA stain solution dye ปริมาตร 1 μ l ใช้ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และกระแสไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจดูใต้แสง UV และบันทึกภาพ แล้วคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมไปใช้ในการวิเคราะห์โดยเทคนิค PCR-RFLP จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยนำรูปแบบของโมเลกุลดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์โดยโปรแกรม NTSYSpc version 2.11X เพื่อสร้างเป็น dendrogram

3.4.6 การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ถูกเพิ่มปริมาณโดยยีน COI ไปตรวจสอบเพื่อหาลำดับเบสนิวคลีโอไทด์โดยบริษัท 1st BASE (Malaysia) แล้วนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาตรวจสอบความถูกต้องโดยเปรียบเทียบกับข้อมูล Genbank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) จากนั้นเปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม CLUSTAL W เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยใช้โปรแกรม MEGA 10.0.5 และเลือกการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (unweight pair group method using arithmetic average)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำในเขตพื้นที่ 16 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย หนองบัวลำภู และอำนาจเจริญ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สรุปได้ดังตาราง 5

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

Location	Water Quality						
	Code	Color	Oder	Tem. (°C)	pH (pH)	TH (mg/l)	DO (mg/l)
กาฬสินธุ์	KS	สีเขียวใส	ซากพืช	30	8	68	6.5
ขอนแก่น	KK	ใส	ซากพืช	29	6	72	6.5
ชัยภูมิ	CP	ใส	ซากพืช	28	7	67	4.0
นครพนม	NP	สีชาใส	ดิน โคลน	33	7	95	6.5
นครราชสีมา	NR	สีชาใส	ดิน โคลน	25	9	90	5.0
บุรีรัมย์	BR	ใส	ซากพืช	31	6	88	6.5
มหาสารคาม	MS	ใส	ปลา หอย	32	8	66	5.5
มุกดาหาร	MD	ใส	ซากพืช	32	7	64	7.0
ยโสธร	YS	สีเขียวใส	ซากพืช	30	8	70	4.0
ร้อยเอ็ด	RE	สีชาใส	ดิน โคลน	31	7	75	6.0
เลย	L	ใส	ปลา หอย	30	7	101	6.0
ศรีสะเกษ	SK	สีชาใส	ดิน โคลน	32	7	79	6.5
สุรินทร์	SR	สีเขียวใส	ซากพืช	26	6	90	6.5
หนองคาย	NK	สีชาขุ่น	ดิน โคลน	28	7	77	7.0
หนองบัวลำภู	NB	ใส	ปลา หอย	29	7	92	6.0
อำนาจเจริญ	AC	สีเขียวใส	ซากพืช	30	8	65	7.5
ค่าเฉลี่ย	-	-	-	29.68	7.18	78.68	6.06

หมายเหตุ: Tem= อุณหภูมิ, pH= ความเป็นกรด-ด่าง, DO= ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง และคุณภาพน้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ดังแสดงตาราง 4.1 สรุปได้ดังนี้

4.1.1 สีของน้ำ

ผลการสังเกตสีของน้ำทั้ง 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ดังแสดงตาราง 4.21 พบว่า สีของน้ำในแต่ละแหล่งน้ำในเขตพื้นที่ 16 จังหวัด มีสีที่แตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่สีของแหล่งน้ำมีสีใส พบที่จังหวัดชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม บุรีรัมย์ เลย มุกดาหาร และหนองบัวลำภู รองลงมาพบว่าแหล่งน้ำมีสีเขียวใส พบที่จังหวัดยโสธร สุรินทร์ อำนาจเจริญ และกาฬสินธุ์ แหล่งน้ำที่มีสีขุ่น พบที่จังหวัดนครพนม ศรีสะเกษ นครราชสีมา และร้อยเอ็ด ส่วนแหล่งน้ำที่มีสีชาขุ่น พบที่จังหวัดหนองคาย

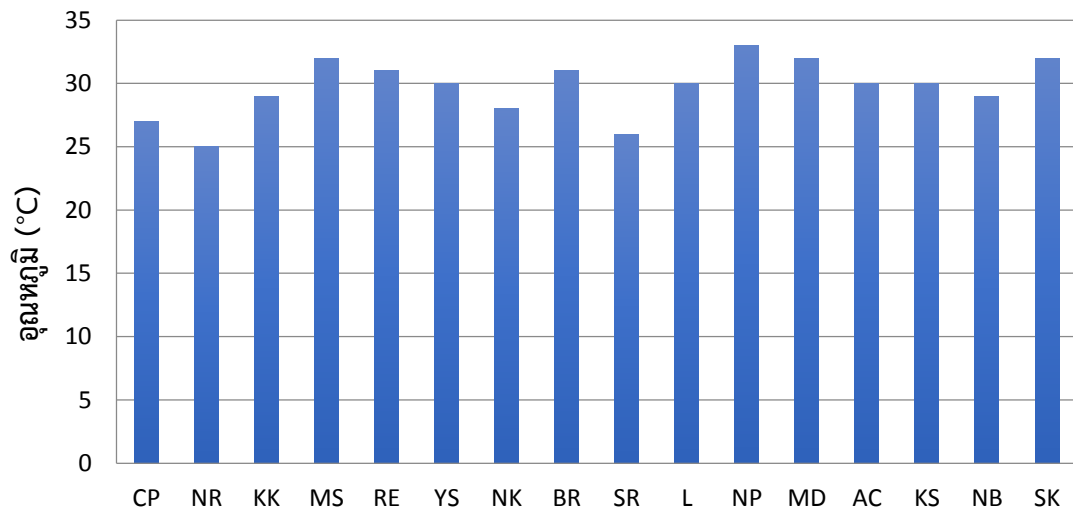
4.1.2 กลิ่นของน้ำ

ผลการสังเกตสีของน้ำทั้ง 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ดังแสดงตาราง 4.21 พบว่า กลิ่นของน้ำในแต่ละแหล่งน้ำในเขตพื้นที่ 16 จังหวัด มีกลิ่นที่แตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่ส่วนใหญ่จะพบว่าแหล่งน้ำมีกลิ่นต้นไม้ ซากพืช พบที่จังหวัดชัยภูมิ ขอนแก่น ยโสธร บุรีรัมย์ สุรินทร์ มุกดาหาร อำนาจเจริญ และกาฬสินธุ์ รองลงมาคือ กลิ่นดิน กลิ่นโคลนพบที่จังหวัดนครราชสีมา ร้อยเอ็ด หนองคาย นครพนม และศรีสะเกษ และกลิ่นคาวปลา หอยต่างๆ พบที่จังหวัดมหาสารคาม เลย และหนองบัวลำภู



4.1.3 อุณหภูมิของน้ำ

ผลการตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำ พบว่าทั้ง 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีค่าอยู่ในช่วง 25-33 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส มีค่าสูงสุดเท่ากับ 33 องศาเซลเซียส และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.68 องศาเซลเซียส จังหวัดที่มีอุณหภูมิของน้ำต่ำสุดคือ จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดที่มีอุณหภูมิของน้ำสูงสุดคือ จังหวัดนครพนม ดังภาพประกอบ 11



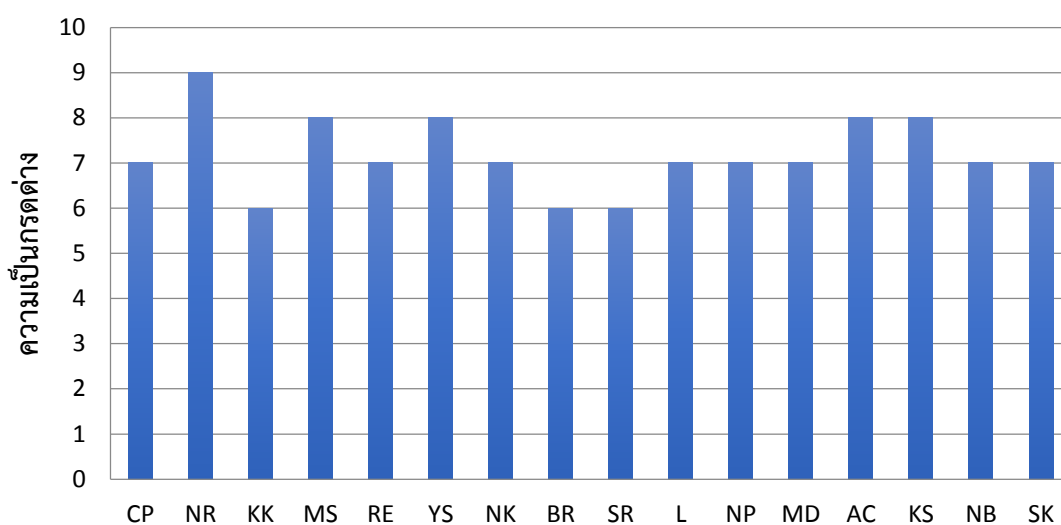
(จุดเก็บตัวอย่าง)

ภาพประกอบ 11 ผลการตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



4.1.4 ความเป็นกรดต่าง

ผลการตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบว่ามีค่าในช่วง 6-9 ค่าต่ำสุดเท่ากับ 6 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 9 และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.18 จังหวัดที่มีความเป็นกรดต่างต่ำสุดคือ จังหวัดหนองคาย สุรินทร์ และขอนแก่น และจังหวัดที่มีความเป็นกรดต่างสูงสุด คือ จังหวัดนครราชสีมา ดังภาพประกอบ 12



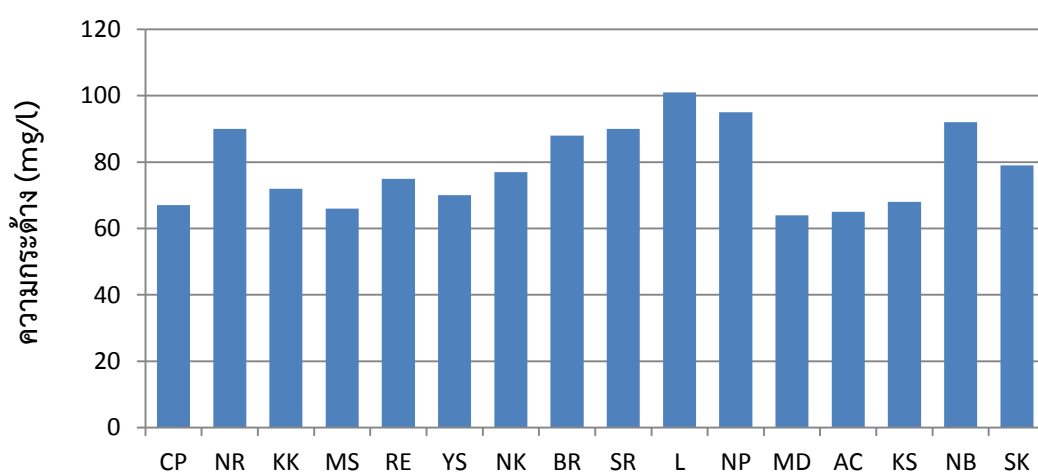
(จุดเก็บตัวอย่าง)

ภาพประกอบ 12 ผลการตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



4.1.5 ความกระด้างของน้ำ

ผลการตรวจวัดค่าความกระด้างของน้ำทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบว่าค่าความกระด้างของน้ำในแต่ละแหล่งน้ำส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วง 64-101 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 64 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดเท่ากับ 101 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 78.68 มิลลิกรัมต่อลิตร จังหวัดที่มีความกระด้างต่ำสุดคือ จังหวัดมุกดาหาร และจังหวัดที่มีความกระด้างมากที่สุดคือ จังหวัดเลย ดังภาพประกอบ 13



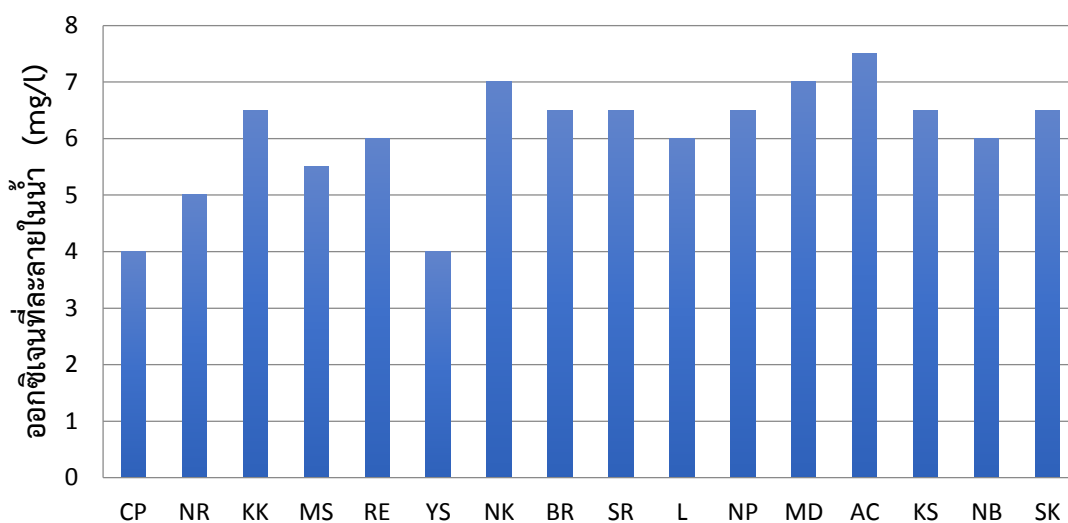
(จุดเก็บตัวอย่าง)

ภาพประกอบ 13 ผลการตรวจวัดค่าความกระด้างของน้ำ 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

พหุบัณฑิต ชีวะ

4.1.6 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ผลการตรวจวัดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบว่าค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4-7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดเท่ากับ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.06 มิลลิกรัมต่อลิตร จังหวัดที่พบว่ามีค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำสุดคือ จังหวัดชัยภูมิ จังหวัดที่พบว่ามีค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำสูงสุดคือ จังหวัดอำนาจเจริญ ดังภาพประกอบ 14



(จุดเก็บตัวอย่าง)

ภาพประกอบ 14 ผลการตรวจวัดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



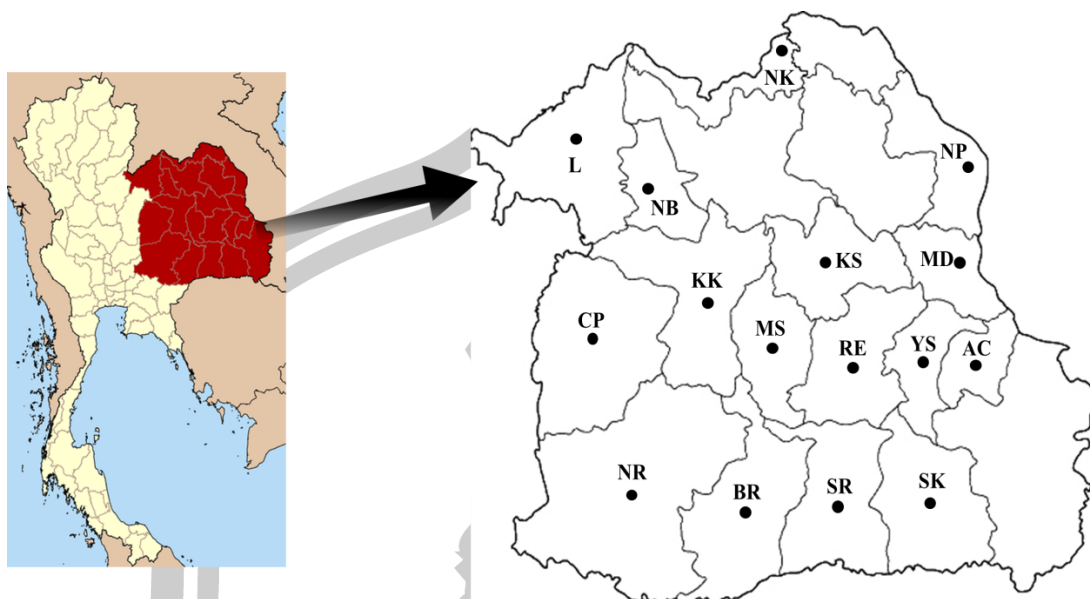
4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของกิ้งฝอย

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามวิธีของ Holthuis (1950,1995); Uraiwan and Sodsuk (2004); Jivaluk and Suppakitratanakul (n.d.) และพิมลพรรณ ลีละวัฒนากุล (2518) เพื่อจัดจำแนกกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ 16 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย หนองบัวลำภู และอำนาจเจริญ พบว่าได้ตัวอย่างแต่ละพื้นที่ ดังตาราง 6 และภาพประกอบ 15

ตาราง 6 สถานที่เก็บ ชนิดและจำนวนของกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

Species	Location	Latitude/Longitude	Morphological (N)	DNA (N)
<i>M. lanchesteri</i>	อ.ยางตลาด จ.กาฬสินธุ์	16 34'51.2"N 103 26'13.5"E	100	12
	อ.แวงใหญ่ จ.ขอนแก่น	15 59'15.8"N 102 24'53"E	30	5
	อ.ชนบท จ.ขอนแก่น	16 05'54.1"N 102 36'27.4"E	36	5
	อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น	16 07'28.5"N 102 33'39.0"E	34	5
	อ.เนินสง่า จ.ชัยภูมิ	15 37'18.6"N 102 04'19.6"E	100	12
	อ.ท่าอุเทน จ.นครพนม	17° 39'20.8"N 104° 25'43"E	100	10
	อ.หนองกรด จ.นครราชสีมา	15 21'39"N 101 41'59"E	50	5
	อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	15 38'01.2"N 102 11'53.5"E	50	5
	อ.สตึก จ.บุรีรัมย์	15 18'14.1"N 103 16'57.8"E	100	10
	อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม	16 13'56.6"N 103 16'07.9"E	100	10
	อ.เมือง จ.มุกดาหาร	16 33'33"N 104 43'50"E	100	10
	อ.คำเขื่อนแก้ว จ.ยโสธร	15 44'58.4"N 104 20'32.4"E	100	10
	อ.ธวัชบุรี จ.ร้อยเอ็ด	16 02'23"N 103 44'49"E	50	6
	อ.เสลภูมิ จ.ร้อยเอ็ด	13 03'01.6"N 104 00'16.1"E	50	6
	อ.เชียงคาน จ.เลย	17 54'20.7"N 101 42'08.4"E	100	10
	อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ	15 08'21.7"N 104 31'51.6"E	100	10
	อ.ท่าตูม จ.สุรินทร์	15 15'37.4"N 103 33'16.5"E	100	10
	อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย	17 58'08.7"N 102 27'32.8"E	100	10
	อ.นาวัง จ.หนองบัวลำภู	17 24'32.4"N 102 04'43.4"E	100	10
	อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ	15 53'36.3"N 104 35'21.7"E	100	10
รวมทั้งหมด			1,600	171

หมายเหตุ: N=จำนวนทั้งหมด



ภาพประกอบ 15 ตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งฝอยจากพื้นที่การทำวิจัย

CP= ชัยภูมิ	NK= หนองคาย
NR= นครราชสีมา	L= เลย
KK= ขอนแก่น	NP= นครพนม
MS= มหาสารคาม	MD= มุกดาหาร
RE= ร้อยเอ็ด	AC= อำนาจเจริญ
YS= ยโสธร	KS= กาฬสินธุ์
SR= สุรินทร์	NB= หนองบัวลำภู
BR= บุรีรัมย์	SK= ศรีสะเกษ

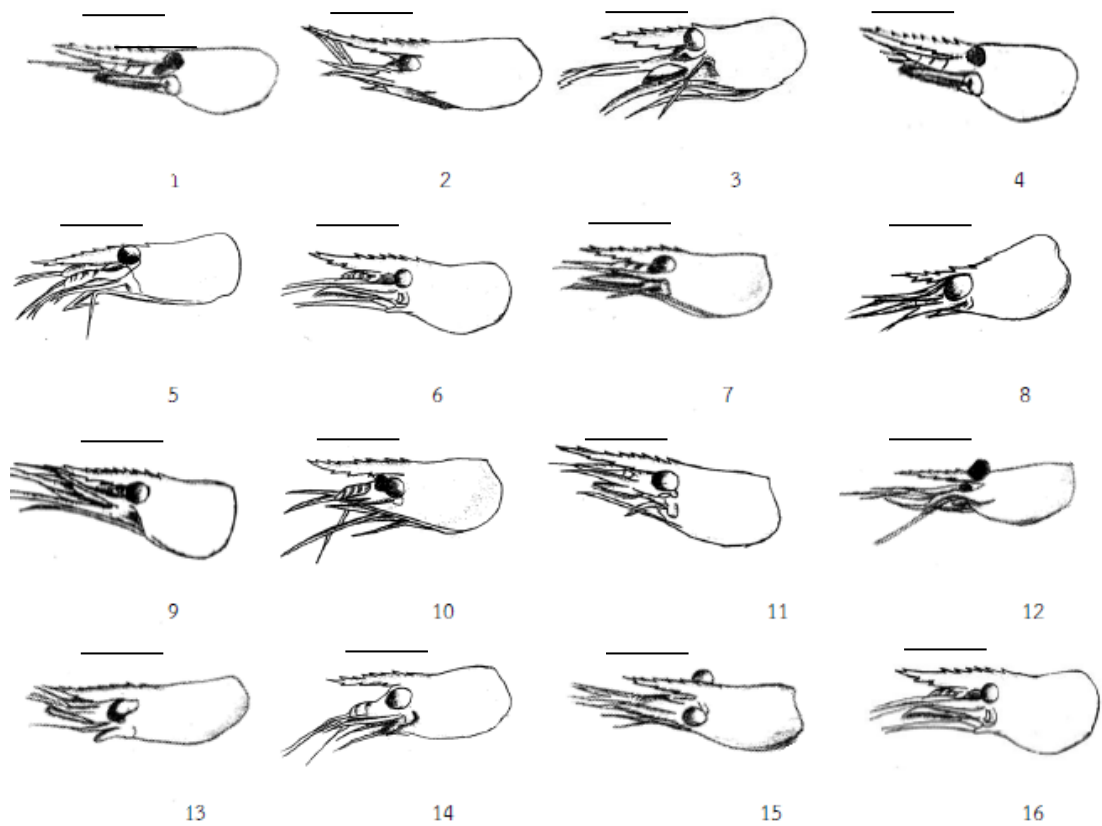
ผลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอย พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เด่นชัด คือ กรี ของกุ้งฝอยมีลักษณะตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อยมีความยาวกว่า หรือมีความยาวพอดีกับแผ่นกำบังหมวดคู่ที่ 2 ฟันกรามีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย จำนวนด้านบนมีฟัน 7-9 ซึ่งด้านล่างมี 2-4 ซึ่ง ลำตัวมีขนาดเล็กมีความยาวลำตัว 1.5-4.5 เซนติเมตร บริเวณของลำตัวมีลักษณะเป็นปล้องๆทั้งหมด 6 ปล้อง ความยาวคาราเปสมีขนาด 0.3-1.3 เซนติเมตร ผิวมีลักษณะเรียบเกลี้ยง แผ่นกำบังหมวดคู่ที่ 2 มีลักษณะส่วนปลายกลมมน ขอบด้านนอกมีลักษณะตรง มีขาเดินทั้งหมด 5 คู่ ขาเดินคู่ที่ 2 มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกเรียว ยาว บริเวณส่วนปลายจะมีลักษณะเป็นก้ามหนีบมีขนปกคลุม ขาวายน้ำมีทั้งหมด 5 คู่ อยู่ด้านล่างของลำตัวปล้องละ 1 คู่ มีสีใส และไม่มีจุดสีน้ำตาลแดง ทางมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมเรียวยาวสอดเข้าที่ปลายหาง และแพนหาง ส่วนปลายคู่ในมีลักษณะกลมรี ส่วนปลายคู่นอก กลมมนซึ่งมีรายละเอียดดังตาราง 7 และภาพประกอบ 16-19

ตาราง 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอย *M. Manchesteri* ที่เก็บจากจังหวัดต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

location	morphological analysis							
	body color	body length (cm)	carapace length (cm)	rostrum	rostral teeth	five pairs of walking legs	second pair of walking legs	telson
CP	clear	2.2-2.8	0.4-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
NR	clear orange	2.3-2.8	0.4-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
KK	orange opaque	2.4-3.5	0.5-1.0	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
MS	white opaque	2.8-3.5	0.7-1.0	straight and slender	8/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
RE	light gray	3.3-3.7	0.8-1.0	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
YS	clear orange	2.2-2.9	0.4-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
SR	clear	2.9-3.7	0.7-1.0	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
BR	white opaque (head has gray)	1.5-1.9	0.3-0.4	straight and slender	6/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
NK	white opaque	3.5-4.5	0.8-1.3	straight and slender	9/4	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
L	clear orange (head brown)	3.2-3.8	0.8-1.0	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair

ตาราง 7 (ต่อ)

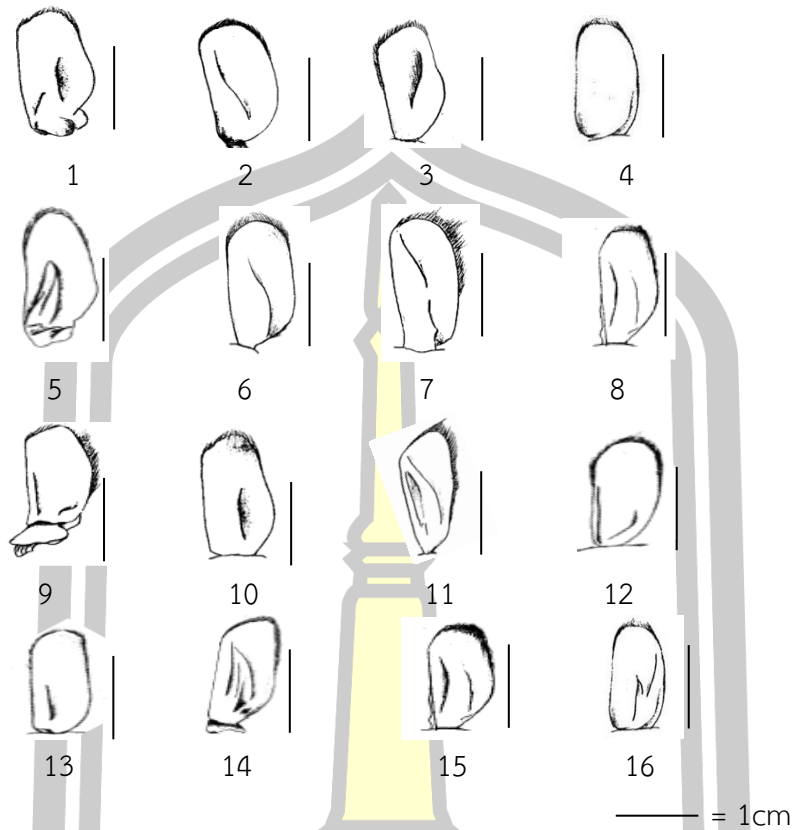
location	morphological analysis							
	body color	body length (cm)	carapace length (cm)	rostrum	rostral teeth	five pairs of walking legs	second pair of walking legs	telson
NP	clear orange	2.3-2.9	0.4-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
MD	clear	2.3-2.8	0.4-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
AC	light gray	3.5-4.1	0.8-1.1	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
KS	clear	1.5-1.9	0.3-0.4	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
NB	clear	1.5-1.8	0.3-0.4	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair
SK	clear dark	2.3-2.8	0.3-0.7	straight and slender	7/3	clear, without red brown spot	cylinder and little short hair	slender with short hair



— = 1 cm

ภาพประกอบ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกริ และคาราเปสของ *M. lanchesteri*
ในพื้นที่ทำการศึกษา

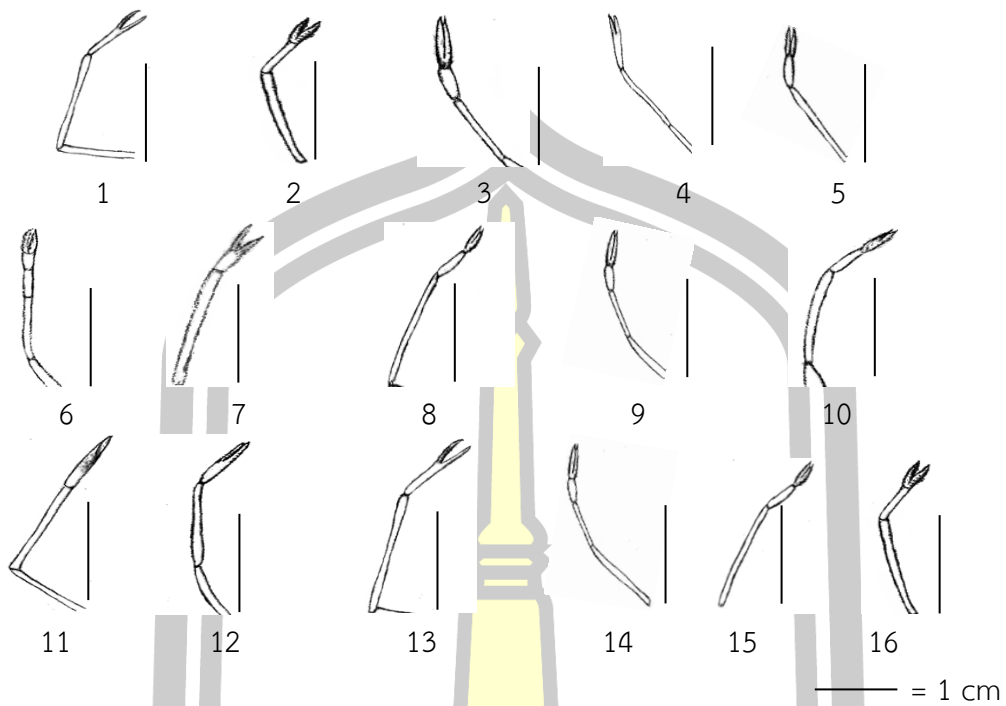
- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1 = <i>M. lanchesteri</i> CP | 9 = <i>M. lanchesteri</i> NK |
| 2 = <i>M. lanchesteri</i> NR | 10 = <i>M. lanchesteri</i> L |
| 3 = <i>M. lanchesteri</i> KK | 11 = <i>M. lanchesteri</i> NP |
| 4 = <i>M. lanchesteri</i> MS | 12 = <i>M. lanchesteri</i> MD |
| 5 = <i>M. lanchesteri</i> RE | 13 = <i>M. lanchesteri</i> AC |
| 6 = <i>M. lanchesteri</i> YS | 14 = <i>M. lanchesteri</i> KS |
| 7 = <i>M. lanchesteri</i> SR | 15 = <i>M. lanchesteri</i> NB |
| 8 = <i>M. lanchesteri</i> BR | 16 = <i>M. lanchesteri</i> SK |



ภาพประกอบ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นหนวดคู่ที่ 2 ของ *M. lanchesteri* ในพื้นที่ทำการศึกษา

- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1 = <i>M. lanchesteri</i> CP | 9 = <i>M. lanchesteri</i> NK |
| 2 = <i>M. lanchesteri</i> NR | 10 = <i>M. lanchesteri</i> L |
| 3 = <i>M. lanchesteri</i> KK | 11 = <i>M. lanchesteri</i> NP |
| 4 = <i>M. lanchesteri</i> MS | 12 = <i>M. lanchesteri</i> MD |
| 5 = <i>M. lanchesteri</i> RE | 13 = <i>M. lanchesteri</i> AC |
| 6 = <i>M. lanchesteri</i> YS | 14 = <i>M. lanchesteri</i> KS |
| 7 = <i>M. lanchesteri</i> SR | 15 = <i>M. lanchesteri</i> NB |
| 8 = <i>M. lanchesteri</i> BR | 16 = <i>M. lanchesteri</i> SK |

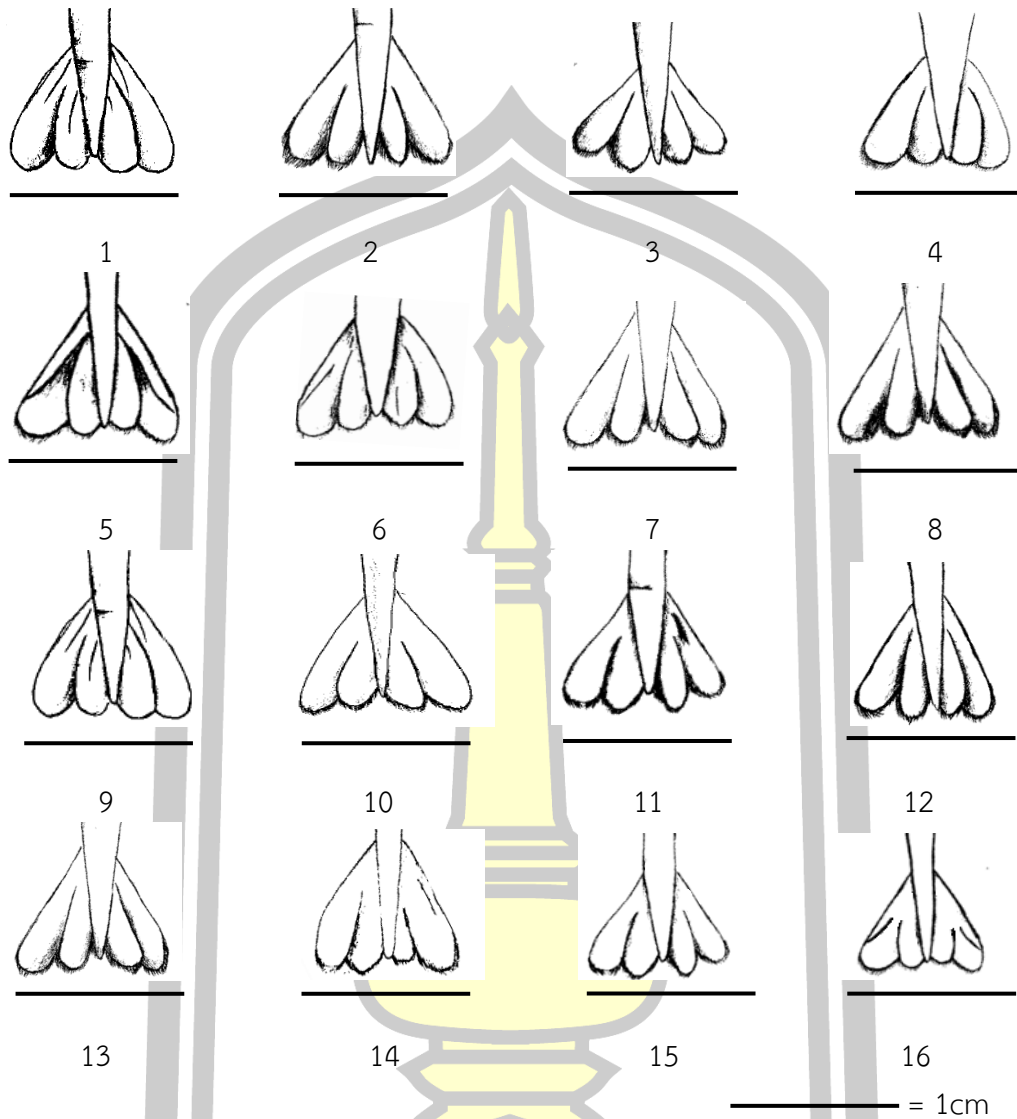
พหุจน์ ปณฺ ทิโต ชโว



ภาพประกอบ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขาเดินคู่ที่ 2 ของ *M. lanchesteri*
ในพื้นที่ทำการศึกษา

- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1 = <i>M. lanchesteri</i> CP | 9 = <i>M. lanchesteri</i> NK |
| 2 = <i>M. lanchesteri</i> NR | 10 = <i>M. lanchesteri</i> L |
| 3 = <i>M. lanchesteri</i> KK | 11 = <i>M. lanchesteri</i> NP |
| 4 = <i>M. lanchesteri</i> MS | 12 = <i>M. lanchesteri</i> MD |
| 5 = <i>M. lanchesteri</i> RE | 13 = <i>M. lanchesteri</i> AC |
| 6 = <i>M. lanchesteri</i> YS | 14 = <i>M. lanchesteri</i> KS |
| 7 = <i>M. lanchesteri</i> SR | 15 = <i>M. lanchesteri</i> NB |
| 8 = <i>M. lanchesteri</i> BR | 16 = <i>M. lanchesteri</i> SK |

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพประกอบ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหาง และแพนหางของ *M. lanchesteri* ในพื้นที่ทำการศึกษา

- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1 = <i>M. lanchesteri</i> CP | 9 = <i>M. lanchesteri</i> NK |
| 2 = <i>M. lanchesteri</i> NR | 10 = <i>M. lanchesteri</i> L |
| 3 = <i>M. lanchesteri</i> KK | 11 = <i>M. lanchesteri</i> NP |
| 4 = <i>M. lanchesteri</i> MS | 12 = <i>M. lanchesteri</i> MD |
| 5 = <i>M. lanchesteri</i> RE | 13 = <i>M. lanchesteri</i> AC |
| 6 = <i>M. lanchesteri</i> YS | 14 = <i>M. lanchesteri</i> KS |
| 7 = <i>M. lanchesteri</i> SR | 15 = <i>M. lanchesteri</i> NB |
| 8 = <i>M. lanchesteri</i> BR | 16 = <i>M. lanchesteri</i> SK |

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างกุ้งน้ำจืดเพื่อเปรียบเทียบ คือ กุ้งก้ามกราม (*M. rosenbergii*) จากจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งกุ้งก้ามกราม จัดอยู่ในวงศ์ Palaemonidae พบได้ตาม ลำห้วย แม่น้ำ ทะเลสาบ และแม่น้ำที่มีทางติดต่อทางทะเล โดยอาศัยบริเวณริมฝั่งหรือพื้นแม่น้ำโดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้

M. rosenbergii

ส่วนหัวและอกปกคลุมด้วยเปลือกชั้นเดียวกัน ลำตัวมีลักษณะเป็นปล้องทั้งหมด 6 ปล้อง กรีมีลักษณะรูปโค้งขึ้นมีลักษณะหยักเป็นฟันเลื่อย ด้านบนมีจำนวน 13-16 ซี่ ด้านล่างมีจำนวน 10-14 ซี่ เปลือกคลุมหัวมีหนามเล็กๆ กระจายทั่วไปใต้ตามีหนามเล็กๆ 2 อัน ขาเดินมี 5 คู่ ส่วนของแพนหางมีลักษณะแหลมตรงปลายด้านข้างแยกเป็นแพน 2 แพน

4.3 ผลการวิเคราะห์หัตถ์โพเมตริกของกุ้งฝอย *M. lanchesteri*

4.3.1 ความแปรผันทางสัณฐานวิทยา

ในกุ้งฝอย (*M. lanchesteri*) เพศผู้เต็มวัย ค่า Mean±standard (SD) และค่า Range ของการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ความยาวขนาดลำตัวของทั้งหมด 800 ตัวอย่าง ของเพศผู้มีค่าตั้งแต่ 1.40-4.30 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.70 ± 0.71 เซนติเมตร ค่า Standard length มีค่าตั้งแต่ 1.20-3.00 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.06 ± 0.40 เซนติเมตร ค่า Carapace length มีค่าตั้งแต่ 0.30-1.10 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.62 ± 0.20 เซนติเมตร ค่า Abdomen length มีค่าตั้งแต่ 0.70-2.00 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.44 ± 0.22 เซนติเมตร และค่า Telson length มีค่าตั้งแต่ 0.20-1.30 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.63 ± 0.27 เซนติเมตร ประชากรกุ้งฝอยที่มีขนาดลำตัวใหญ่ที่สุดพบได้ในจังหวัดหนองคายมีความยาวตั้งแต่ 3.5-4.3 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.86 ± 0.23 เซนติเมตร ขณะที่จังหวัดบุรีรัมย์มีความยาวตั้งแต่ 1.4-4.8 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.62 ± 0.08 เซนติเมตร และกาฬสินธุ์ ค่าความยาวตั้งแต่ 1.4-4.8 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.62 ± 0.10 เซนติเมตร พบประชากรกุ้งฝอยที่มีขนาดเล็กที่สุด แสดงดังตาราง 8

พจนานุกรมศัพท์โต ชีวะ

ตาราง 8 ลักษณะการวัดทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอยเพศผู้สี่ที่เก็บจาก 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

morphometric character (cm)	location											
	CP		NR		KK		MS		RE		YS	
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range
total length	2.53±0.12	2.3-2.7	2.51±0.12	2.3-2.7	2.28±0.25	2.5-3.4	3.19±0.22	2.7-3.7	3.45±0.13	3.2-3.7	2.46±0.17	2.2-2.9
standard length	1.95±0.09	1.8-2.1	1.93±0.08	1.8-2.1	2.14±0.19	1.9-2.7	2.38±0.11	2.1-2.7	2.49±0.09	2.4-2.7	1.92±0.11	1.8-2.2
carapace length	0.58±0.06	0.5-0.7	0.54±0.12	0.4-0.7	0.62±0.12	0.4-1.0	0.78±0.08	0.7-1.0	0.86±0.06	0.8-1.0	0.54±0.07	0.4-0.7
abdomen length	1.35±0.07	1.2-1.5	1.39±0.04	1.3-1.5	1.49±0.12	1.3-1.8	1.56±0.06	1.4-1.7	1.62±0.06	1.5-1.7	1.35±0.06	1.2-1.4
Telson length	0.52±0.06	0.2-0.4	0.56±0.06	0.5-0.7	0.59±0.14	0.4-1.0	0.78±0.12	0.6-1.0	0.98±0.06	0.8-1.1	0.54±0.08	0.4-0.7
morphometric character (cm)	location											
	BR		SR		L		NK		NP		MD	
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range
total length	1.62±0.08	1.4-1.8	3.22±0.22	2.9-3.6	3.43±0.13	3.1-3.7	3.86±0.23	3.5-4.3	2.52±0.11	2.3-2.7	2.46±0.13	2.2-2.7
standard length	1.46±0.10	1.2-1.6	2.38±0.13	2.0-2.6	2.48±0.09	2.4-2.7	2.68±0.17	2.3-3.0	1.96±0.07	1.9-2.1	1.92±0.09	1.8-2.1
carapace length	0.34±0.05	0.3-0.4	0.78±0.08	0.7-0.9	0.85±0.08	0.7-1.0	0.98±0.07	0.8-1.1	0.56±0.08	0.4-0.7	0.53±0.09	0.4-0.7
abdomen length	1.13±0.08	0.9-1.2	1.63±0.21	0.7-1.8	1.74±0.07	1.6-1.9	1.83±0.12	1.7-2.0	1.35±0.05	1.2-1.4	1.38±0.03	1.3-1.4
Telson length	0.23±0.04	0.2-0.3	0.84±0.12	0.7-1.0	0.95±0.07	0.7-1.0	1.08±0.09	1.0-1.3	0.55±0.05	0.4-0.6	0.53±0.07	0.4-0.6

ตาราง 8 (ต่อ)

morphometric character (cm)	location												F-value
	KS			NB			SK			AC			
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	
total length	1.60±0.10	1.4-1.8	1.62±0.12	1.5-1.9	2.45±0.12	2.2-2.7	3.60±0.12	3.4-3.9	4.88.43*				
standard length	1.42±0.10	1.3-1.6	1.50±0.08	1.3-1.7	1.88±0.06	1.8-2.0	2.59±0.12	2.4-2.8	303.81*				
carapace length	0.34±0.05	0.3-0.4	0.34±0.12	0.3-0.4	0.50±0.07	0.3-0.6	0.92±0.07	0.8-1.0	176.88*				
abdomen length	1.13±0.05	1.0-1.2	1.03±0.04	0.9-1.3	1.45±0.05	1.3-1.5	1.64±0.05	1.6-1.8	148.42*				
Telson length	0.24±0.05	0.2-0.3	0.24±0.06	0.2-0.3	0.55±0.05	0.5-0.6	1.02±0.07	0.9-1.1	275.40*				

* Significant at the 5% level at $p \leq 0.05$.

ในกุ้งฝอย (*M. lanchesteri*) เพศเมียเต็มวัย ค่า Mean±standard (SD) และค่า Range ของการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย แสดงดังตาราง 9

ความยาวขนาดลำตัวของทั้งหมด 800 ตัวอย่าง ของเพศเมียมีค่าตั้งแต่ 1.50-4.50 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.83 ± 0.69 เซนติเมตร ค่า Standard length มีค่าตั้งแต่ 1.30-3.50 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.14 ± 0.40 เซนติเมตร ค่า Carapace length มีค่าตั้งแต่ 0.30-1.30 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.67 ± 0.21 เซนติเมตร ค่า Abdomen length มีค่าตั้งแต่ 0.90-2.00 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.49 ± 0.22 เซนติเมตร และค่า Telson length มีค่าตั้งแต่ 0.20-1.30 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.68 ± 0.28 เซนติเมตร ประชากรกุ้งฝอยที่มีขนาดลำตัวใหญ่ที่สุดพบได้ในจังหวัดหนองคายมีค่าความยาวตั้งแต่ 3.5-4.5 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.90 ± 0.29 เซนติเมตร ขณะที่จังหวัดบุรีรัมย์มีค่าความยาวตั้งแต่ 1.5-1.8 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.69 ± 0.10 เซนติเมตร และกาฬสินธุ์มีค่าความยาวตั้งแต่ 1.5-1.9 เซนติเมตร กับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.72 ± 0.09 เซนติเมตร พบประชากรกุ้งฝอยที่มีขนาดเล็กที่สุด



ตาราง 9 ลักษณะการวัดทางสัณฐานวิทยาของกุ้งฝอยเพศเมียที่เก็บจาก 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

morphometric character (cm)	location											
	CP		NR		KK		MS		RE		YS	
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range
total length	2.69±0.12	2.5-2.9	2.68±0.10	2.5-2.9	2.88±0.30	2.4-3.5	3.37±0.18	3.0-3.7	3.52±0.12	3.3-3.8	2.68±0.15	2.4-3.0
standard length	2.01±0.08	1.9-2.2	2.03±0.08	1.9-2.2	2.19±0.20	1.9-2.7	2.42±0.08	2.2-2.6	2.56±0.11	2.4-2.7	1.96±0.11	1.8-2.3
carapace length	0.61±0.08	0.5-0.7	0.63±0.07	0.5-0.7	0.71±0.14	0.5-1.0	0.82±0.09	0.7-1.0	0.89±0.09	0.7-1.0	0.62±0.06	0.5-0.7
abdomen length	1.45±0.05	1.4-1.6	1.40±0.04	1.3-1.5	1.51±0.15	1.4-1.9	1.60±0.14	1.0-1.8	1.75±0.09	1.5-1.8	1.63±0.12	1.4-1.9
Telson length	0.62±0.05	0.5-0.7	0.64±0.05	0.6-0.7	0.70±0.14	0.6-1.1	0.84±0.10	0.7-1.0	0.97±0.07	0.8-1.1	0.63±0.06	0.5-0.7
location												
morphometric character (cm)	BR		SR		L		NK		NP		MD	
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range
	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range	mean±sd	range
total length	1.69±0.10	1.5-1.8	3.31±0.34	2.1-3.8	3.50±0.19	3.1-3.8	3.90±0.29	3.5-4.5	2.66±0.10	2.5-2.8	2.66±0.10	2.3-2.8
standard length	1.55±0.08	1.4-1.7	2.48±0.09	2.3-2.7	2.50±0.10	2.4-2.7	2.88±0.21	2.6-3.5	2.02±0.08	1.5-2.2	1.99±0.08	1.9-2.1
carapace length	0.36±0.04	0.3-0.4	0.82±0.09	0.7-1.0	0.89±0.08	0.8-1.0	1.02±0.15	0.8-1.3	0.62±0.06	0.5-0.7	0.61±0.06	0.5-0.7
abdomen length	1.16±0.10	1.0-1.3	1.66±0.11	1.4-1.9	1.75±0.08	1.6-1.9	1.88±0.12	1.7-2.0	1.39±0.04	1.3-1.5	1.38±0.04	1.3-1.5
Telson length	0.26±0.04	0.2-0.3	0.69±0.19	0.7-1.1	0.97±0.21	0.7-1.9	1.14±0.12	1.0-1.3	0.64±0.06	0.5-0.7	0.62±0.06	0.5-0.7

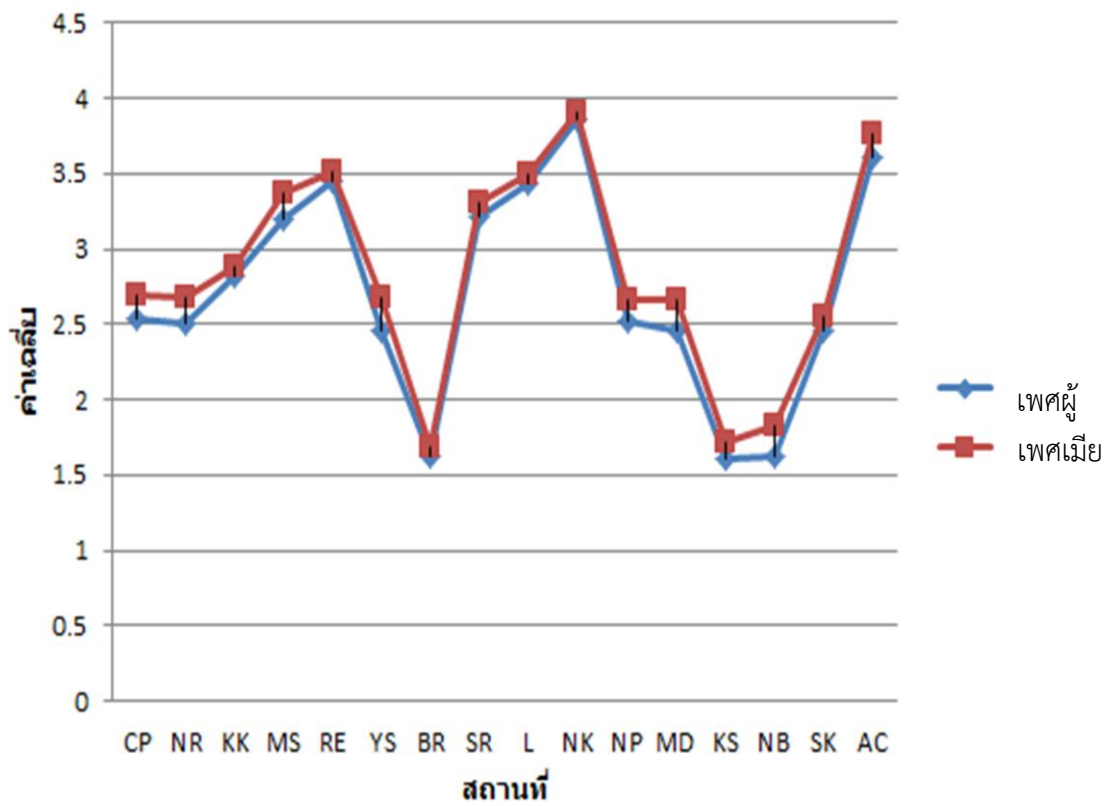
ตาราง 9 (ต่อ)

morphometric character (cm)	location												F-value
	KS			NB			SK			AC			
	mean±sd	range		mean±sd	range		mean±sd	range		mean±sd	range		
total length	1.72±0.09	1.5-1.9	1.82±0.10	1.7-2.1	2.55±0.11	2.3-2.7	3.77±0.20	3.4-4.1	354.63*				
standard length	1.54±0.09	1.3-1.7	1.61±0.14	1.4-1.9	1.97±0.08	1.8-2.1	2.68±0.15	2.4-2.9	169.89*				
carapace length	0.34±0.05	0.3-0.4	0.38±0.04	0.3-0.4	0.51±0.08	0.4-0.7	0.98±0.07	0.9-1.1	142.75*				
abdomen length	1.16±0.06	1.0-1.2	1.08±0.14	0.9-1.4	1.46±0.07	1.4-1.6	1.72±0.10	1.6-1.9	126.05*				
Telson length	0.22±0.04	0.2-0.3	0.25±0.05	0.2-0.3	0.54±0.05	0.5-0.6	1.05±0.06	1.0-1.2	288.27*				

* Significant at the 5% level at $p \leq 0.05$.

4.3.2 การแจกแจงความถี่ของความยาวลำตัว

ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมด สำหรับประชากรกึ่งฝอยของจังหวัดชัยภูมิ มีค่าเท่ากับ 2.53 ± 0.12 เซนติเมตร และ 2.69 ± 0.12 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดนครราชสีมา มีค่าเท่ากับ 2.51 ± 0.12 เซนติเมตร และ 2.68 ± 0.10 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมด ของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดขอนแก่น มีค่าเท่ากับ 2.82 ± 0.25 เซนติเมตร และ 2.88 ± 0.30 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมีย ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดมหาสารคาม มีค่าเท่ากับ 3.19 ± 0.22 เซนติเมตร และ 3.37 ± 0.18 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดร้อยเอ็ด มีค่าเท่ากับ 3.45 ± 0.13 เซนติเมตร และ 3.52 ± 0.12 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดยโสธร มีค่าเท่ากับ 2.46 ± 0.17 เซนติเมตร และ 2.68 ± 0.15 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดบุรีรัมย์ มีค่าเท่ากับ 1.62 ± 0.08 เซนติเมตร และ 1.69 ± 0.10 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดสุรินทร์ มีค่าเท่ากับ 3.22 ± 0.22 เซนติเมตร และ 3.31 ± 0.34 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดหนองคาย มีค่าเท่ากับ 3.86 ± 0.23 เซนติเมตร และ 3.90 ± 0.29 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดนครพนม มีค่าเท่ากับ 2.52 ± 0.11 เซนติเมตร และ 2.66 ± 0.10 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดมุกดาหาร มีค่าเท่ากับ 2.46 ± 0.13 เซนติเมตร และ 2.66 ± 0.10 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดกาฬสินธุ์ มีค่าเท่ากับ 1.60 ± 0.10 เซนติเมตร และ 1.72 ± 0.09 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดหนองบัวลำภูมีค่าเท่ากับ 1.62 ± 0.11 เซนติเมตร และ 1.82 ± 0.10 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมด ของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดศรีสะเกษ มีค่าเท่ากับ 2.45 ± 0.12 เซนติเมตร และ 2.55 ± 0.11 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวทั้งหมดของประชากรกึ่งฝอยจังหวัดอำนาจเจริญ มีค่าเท่ากับ 3.60 ± 0.12 เซนติเมตร และ 3.77 ± 0.20 เซนติเมตร สำหรับเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ดังตาราง 10 และภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 กราฟแสดงความยาวลำตัวทั้งหมดของกิ้งก่าเพศผู้และเพศเมียในพื้นที่ทำการวิจัย



ตาราง 10 สถิติเชิงพรรณนาสำหรับความยาวของลำตัวทั้งหมดของกิ้งฝอยเพศผู้และเพศเมีย
ที่เก็บจาก 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

location	number	sex	Length range (cm)	Mean total length (cm)	SD (cm)	Variance (cm)
CP	50	เพศผู้	2.30-2.70	2.53	0.12	0.016
	50	เพศเมีย	2.50-2.90	2.69	0.12	0.015
NR	50	เพศผู้	2.30-2.70	2.51	0.12	0.014
	50	เพศเมีย	2.50-2.90	2.68	0.10	0.012
KK	50	เพศผู้	2.50-3.40	2.82	0.25	0.063
	50	เพศเมีย	2.40-3.50	2.88	0.30	0.094
MS	50	เพศผู้	2.70-3.70	3.19	0.22	0.051
	50	เพศเมีย	3.00-3.70	3.37	0.18	0.033
RE	50	เพศผู้	3.20-3.70	3.45	0.13	0.018
	50	เพศเมีย	3.30-3.80	3.52	0.12	0.016
YS	50	เพศผู้	2.20-2.90	2.46	0.17	0.031
	50	เพศเมีย	2.40-3.00	2.68	0.15	0.023
BR	50	เพศผู้	1.40-1.80	1.62	0.08	0.008
	50	เพศเมีย	1.50-1.80	1.69	0.10	0.011
SR	50	เพศผู้	2.90-3.60	3.22	0.22	0.051
	50	เพศเมีย	2.10-3.80	3.31	0.34	0.12
L	50	เพศผู้	3.10-3.70	3.43	0.13	0.018
	50	เพศเมีย	3.10-3.80	3.50	0.19	0.039
NK	50	เพศผู้	3.50-4.30	3.86	0.23	0.053
	50	เพศเมีย	3.50-4.50	3.90	0.29	0.085
NP	50	เพศผู้	2.30-2.70	2.52	0.11	0.013
	50	เพศเมีย	2.50-2.80	2.66	0.10	0.012
MD	50	เพศผู้	2.20-2.70	2.46	0.13	0.019
	50	เพศเมีย	2.30-2.80	2.66	0.10	0.012
KS	50	เพศผู้	1.40-1.80	1.60	0.10	0.012
	50	เพศเมีย	1.50-1.90	1.72	0.09	0.010
NB	50	เพศผู้	1.50-1.90	1.62	0.11	0.014
	50	เพศเมีย	1.70-2.10	1.82	0.10	0.011
SK	50	เพศผู้	2.20-2.70	2.45	0.12	0.016
	50	เพศเมีย	2.30-2.70	2.55	0.11	0.013
AC	50	เพศผู้	3.40-3.90	3.60	0.12	0.017
	50	เพศเมีย	3.40-4.10	3.77	0.20	0.041

4.4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของกิ้งฝอย *M. lanchesteri*

4.4.1 ผลการสกัดดีเอ็นเอ

ผลจากการสกัดดีเอ็นเอ โดยวิธี CTAB-Phenol Chloroform Proteinase K method เมื่อนำมาวิเคราะห์บน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าดีเอ็นเอชัดเจนแต่มีบางส่วนที่มีปนเปื้อนของโปรตีน และมีการแตกหักของดีเอ็นเอ

4.4.2 ผลการเพิ่มปริมาณ Genomic DNA ด้วยเทคนิค PCR

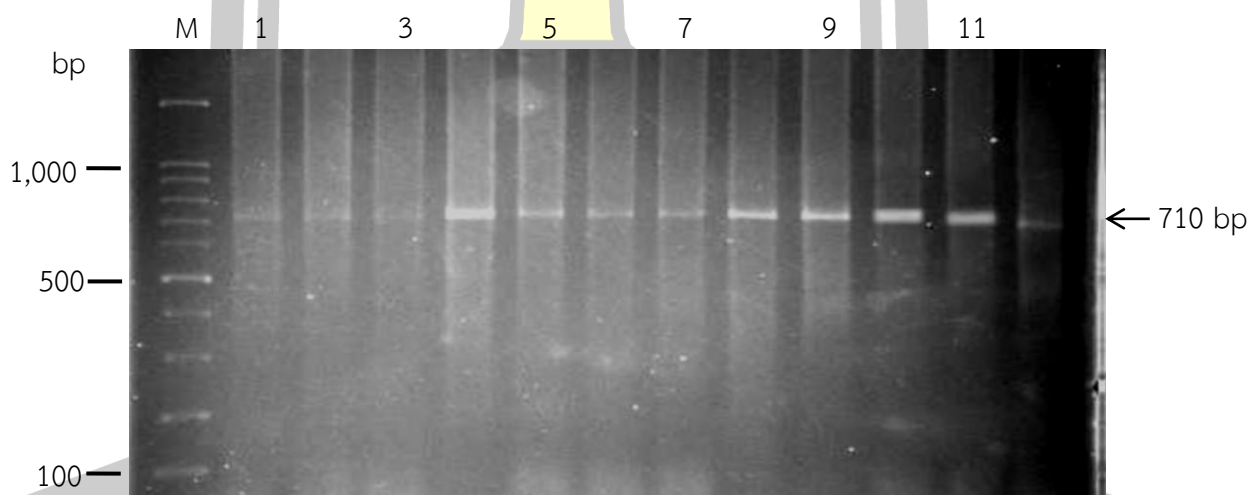
จากการนำ Genomic DNA ของกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) ทั้ง 171 ตัว มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค PCR และใช้ Primer COI (F) และ COI (R)

จากการคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* ทั้งหมด 4 ไพรเมอร์ คือ 16S, 28S, LSU2-4 และ COI โดยพบว่า COI มีความเหมาะสมที่สุด

COI (F) = 5' TCA-ACC-AAC-CAC-AAA-GAC-ATT-GGC-AC 3'

COI (R) = 5' TAG-ACT-TCT-GGG-TGG-CCA-AAG-AAT-CA 3'

สามารถเพิ่มปริมาณ Genomic DNA ของกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) ได้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ซึ่งได้ขึ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 710 bp ซึ่งมีขนาดเท่ากันในกิ้งฝอยทุกตัว ดังภาพประกอบ 21



ภาพประกอบ 21 ขนาดของ PCR product ขนาด 710 bp ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ

Genomic DNA ของกิ้งฝอย (*M. lanchesteri*) โดยใช้ไพรเมอร์ COI (F) และ COI (R)

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = MLCP

Lane 5 = MLKS

Lane 9 = MLNB

Lane 2 = MLNR

Lane 6 = MLBR

Lane 10 = MLSK

Lane 3 = MLKK

Lane 7 = MLSR

Lane 11 = MLMS

Lane 4 = MLRE

Lane 8 = MLL

Lane 12 = MLMD

หมายเหตุ: ML = *M. lanchesteri*

4.4.3 การตัดโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ PCR-RFLP

จากการนำโมเลกุลของดีเอ็นเอของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ COI (F) และ COI (R) พบว่า PCR product ของกิ้งฝอยทั้งหมดมีขนาดประมาณ 710 bp เมื่อนำ PCR product มาคัดเลือกหาเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เหมาะสมจาก 13 ชนิด ได้แก่ *Sau* 3A1, *Hha* I, *Taq* I, *Eco*R I, *Alu* I, *Dde* I, *Ssp* I, *Pst* I, *Bgl* II, *Hind* III, *Bam* III, *Sma* I และ *Hinf* I พบว่ามี 5 เอนไซม์ตัดจำเพาะ คือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III สามารถตัดโมเลกุลขนาด 710 bp ของกิ้งฝอย โดยมีรูปแบบของการตัดเอนไซม์ของแต่ละชนิด ดังนี้

Dde I สามารถตัดโมเลกุลดีเอ็นเอขนาด 710 bp ได้ single haplotype 2 รูปแบบ คือ รูปแบบ A พบใน *M. lanchesteri* (300 และ 450 bp) และรูปแบบ B พบใน *M. rosenbergii* (310 และ 430 bp) ดังภาพประกอบ 22 ตาราง 11

Alu I สามารถตัดโมเลกุลดีเอ็นเอขนาด 710 bp ได้ single haplotype 2 รูปแบบ คือรูปแบบ A พบใน *M. lanchesteri* (300, 350 และ 400 bp) และรูปแบบ B พบใน *M. rosenbergii* (710 bp) (uncut) ดังภาพประกอบ 23 และตาราง 11

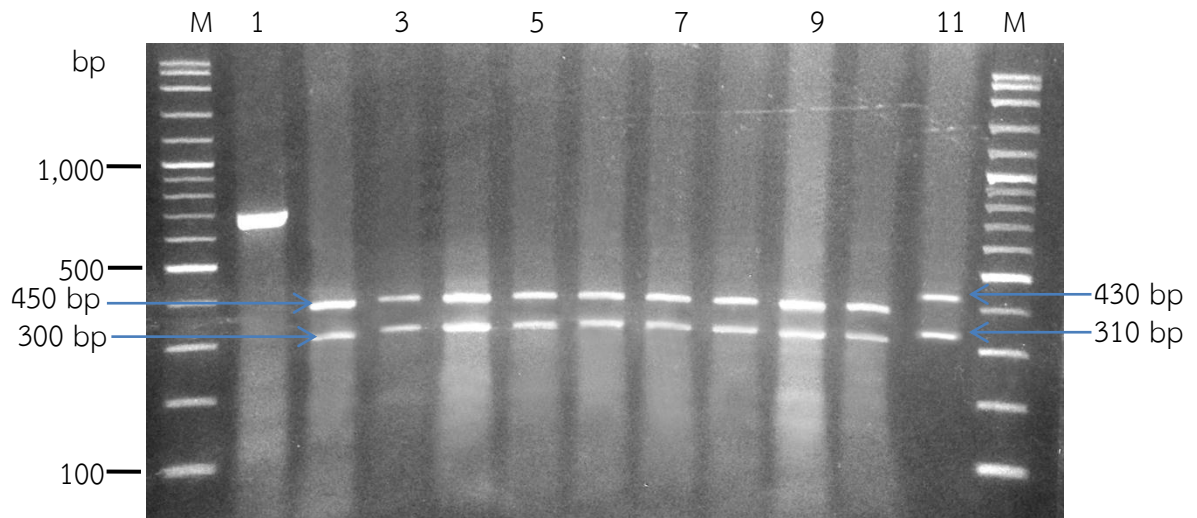
Hinf I สามารถตัดโมเลกุลดีเอ็นเอขนาด 710 bp ได้ single haplotype 2 รูปแบบ คือรูปแบบ A พบใน *M. lanchesteri* (150, 290 และ 300 bp) และรูปแบบ B พบใน *M. rosenbergii* (290 และ 450 bp) ดังภาพประกอบ 24 ตาราง 11

Bgl II สามารถตัดโมเลกุลดีเอ็นเอขนาด 710 bp ได้ single haplotype 2 รูปแบบ คือรูปแบบ A พบใน *M. lanchesteri* (620 bp) และรูปแบบ B พบใน *M. rosenbergii* (710 bp) (uncut) ดังภาพประกอบ 25 ตาราง 12

Hae III สามารถตัดโมเลกุลดีเอ็นเอขนาด 710 bp ได้ single haplotype 2 รูปแบบ คือรูปแบบ A พบใน *M. lanchesteri* (180 และ 490 bp) และรูปแบบ B พบใน *M. rosenbergii* (290 และ 350 bp) ดังภาพประกอบ 26 ตาราง 12

ความถี่ของ single haplotype ที่พบในประชากรเมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะคือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III ในกิ้งฝอย *M. lanchesteri* มีความถี่เท่ากับ 1.0 ดังตาราง 13 จากนั้นเมื่อนำ single haplotype ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III ในรูปแบบของขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ COI มาสร้าง Composite haplotype พบว่ามีทั้งหมด 2 รูปแบบ คือ AAAAA พบใน *M. lanchesteri* และรูปแบบ BBBBB พบใน *M. rosenbergii* ดังตาราง (14, 15, 16)

พหุบัน ภิโต ชีเว



ภาพประกอบ 22 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = uncut

Lane 2 = *M. lanchesteri* (CP)

Lane 3 = *M. lanchesteri* (NR)

Lane 4 = *M. lanchesteri* (KK)

Lane 5 = *M. lanchesteri* (RE)

Lane 6 = *M. lanchesteri* (KS)

Lane 7 = *M. lanchesteri* (BR)

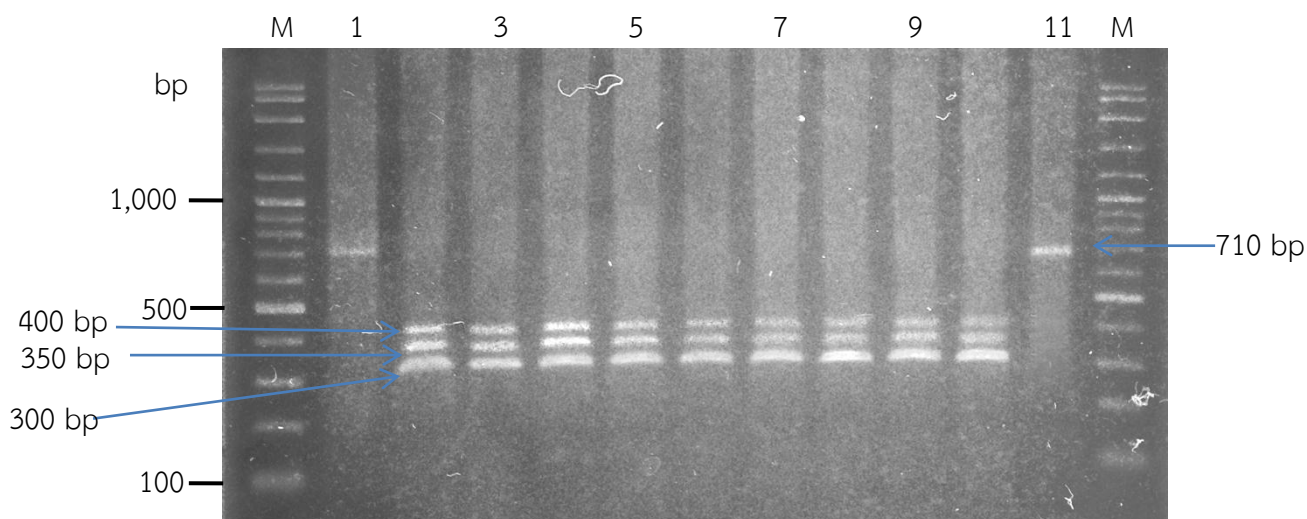
Lane 8 = *M. lanchesteri* (SR)

Lane 9 = *M. lanchesteri* (NB)

Lane 10 = *M. lanchesteri* (SK)

Lane 11 = *M. rosenbergii*

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพประกอบ 23 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu I*

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = uncut

Lane 2 = *M. lanchesteri* (CP)

Lane 3 = *M. lanchesteri* (NR)

Lane 4 = *M. lanchesteri* (KK)

Lane 5 = *M. lanchesteri* (RE)

Lane 6 = *M. lanchesteri* (KS)

Lane 7 = *M. lanchesteri* (BR)

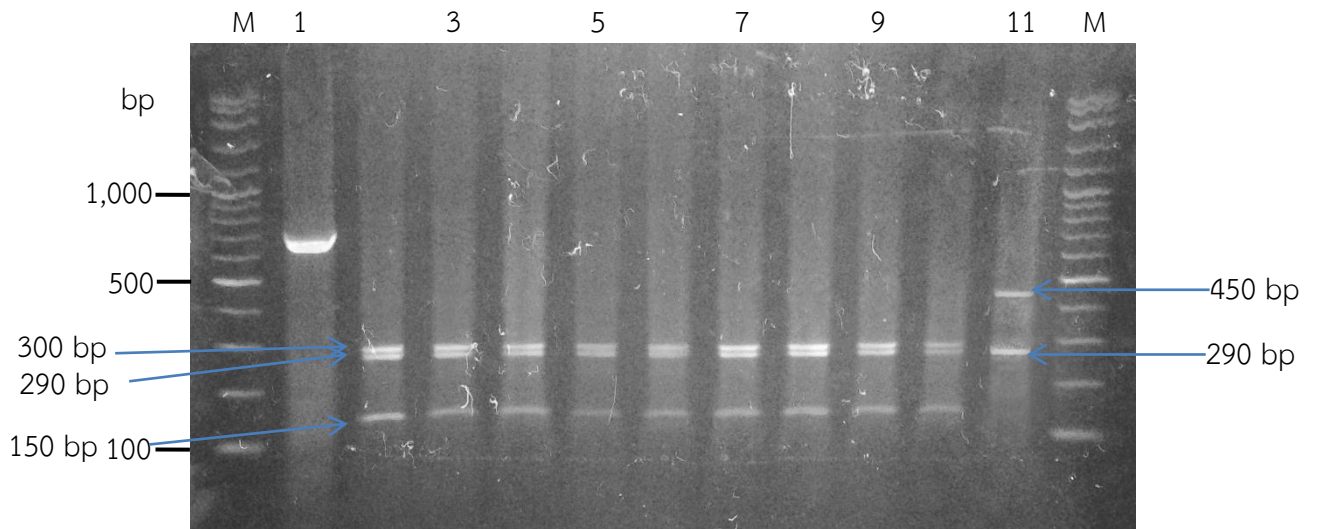
Lane 8 = *M. lanchesteri* (SR)

Lane 9 = *M. lanchesteri* (NB)

Lane 10 = *M. lanchesteri* (SK)

Lane 11 = *M. rosenbergii*

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพประกอบ 24 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์
ตัดจำเพาะ *Hinf* I

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = uncut

Lane 2 = *M. lanchesteri* (CP)

Lane 3 = *M. lanchesteri* (NR)

Lane 4 = *M. lanchesteri* (KK)

Lane 5 = *M. lanchesteri* (RE)

Lane 6 = *M. lanchesteri* (KS)

Lane 7 = *M. lanchesteri* (BR)

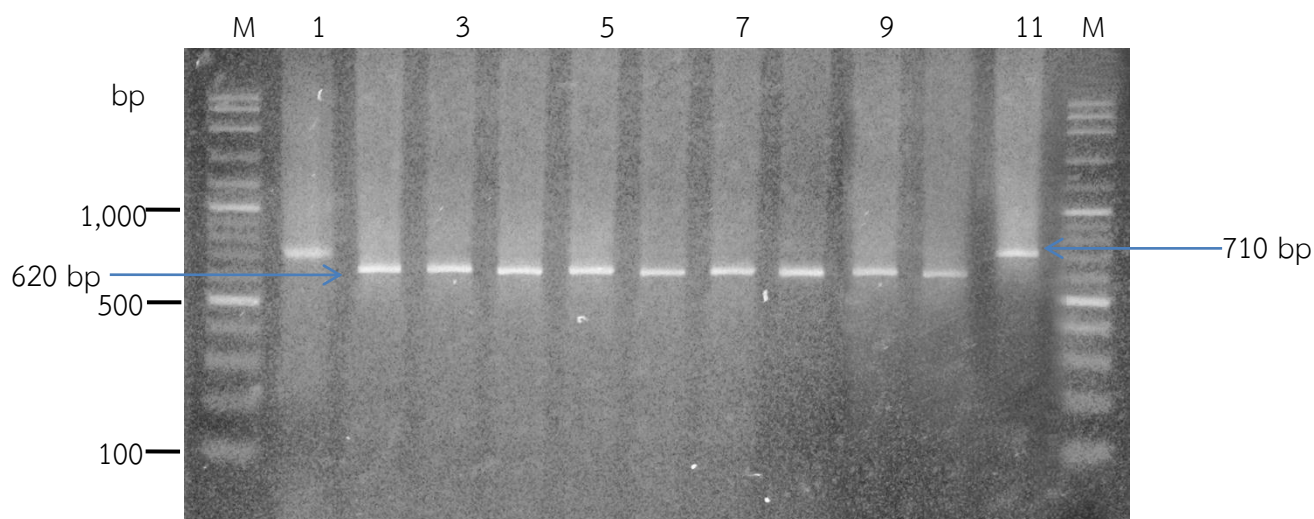
Lane 8 = *M. lanchesteri* (SR)

Lane 9 = *M. lanchesteri* (NB)

Lane 10 = *M. lanchesteri* (SK)

Lane 11 = *M. rosenbergii*

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพประกอบ 25 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bgl* II

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = uncut

Lane 2 = *M. lanchesteri* (CP)

Lane 3 = *M. lanchesteri* (NR)

Lane 4 = *M. lanchesteri* (KK)

Lane 5 = *M. lanchesteri* (RE)

Lane 6 = *M. lanchesteri* (KS)

Lane 7 = *M. lanchesteri* (BR)

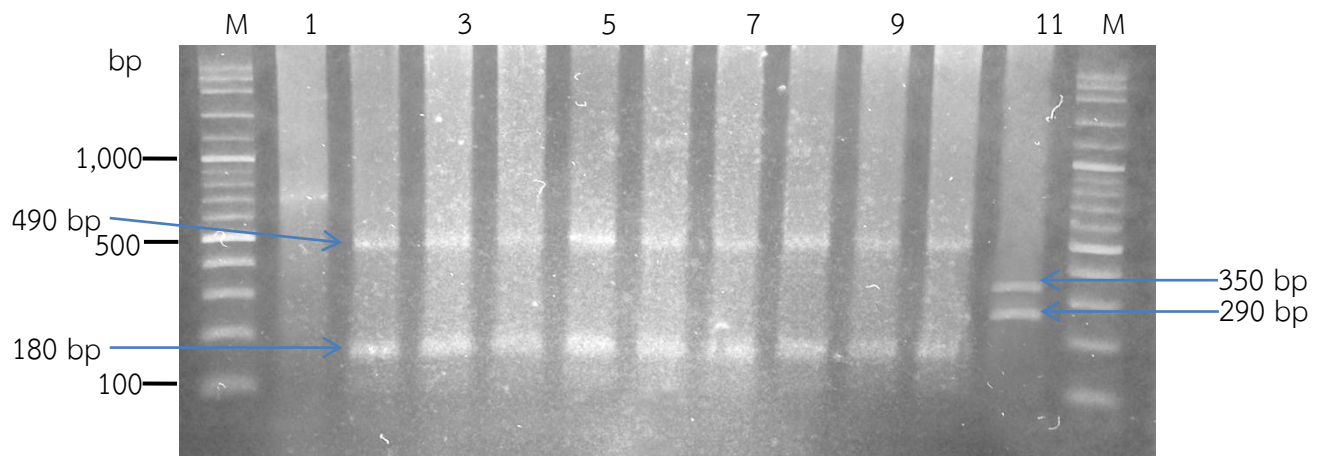
Lane 8 = *M. lanchesteri* (SR)

Lane 9 = *M. lanchesteri* (NB)

Lane 10 = *M. lanchesteri* (SK)

Lane 11 = *M. rosenbergii*

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพประกอบ 26 ผลการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ไพรมอร์ COI ขนาด 710 bp ด้วยเอนไซม์
ตัดจำเพาะ *Hae* III

Lane M 100bp Ladder marker

Lane 1 = uncut

Lane 2 = *M. lanchesteri* (CP)

Lane 3 = *M. lanchesteri* (NR)

Lane 4 = *M. lanchesteri* (KK)

Lane 5 = *M. lanchesteri* (RE)

Lane 6 = *M. lanchesteri* (KS)

Lane 7 = *M. lanchesteri* (BR)

Lane 8 = *M. lanchesteri* (SR)

Lane 9 = *M. lanchesteri* (NB)

Lane 10 = *M. lanchesteri* (SK)

Lane 11 = *M. rosenbergii*

พหุบัน ปณ กิโต ชีเว

ตาราง 11 รูปแบบขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดยีน COI ของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* และ *M. rosenbergii* เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I และ *Hinf* I

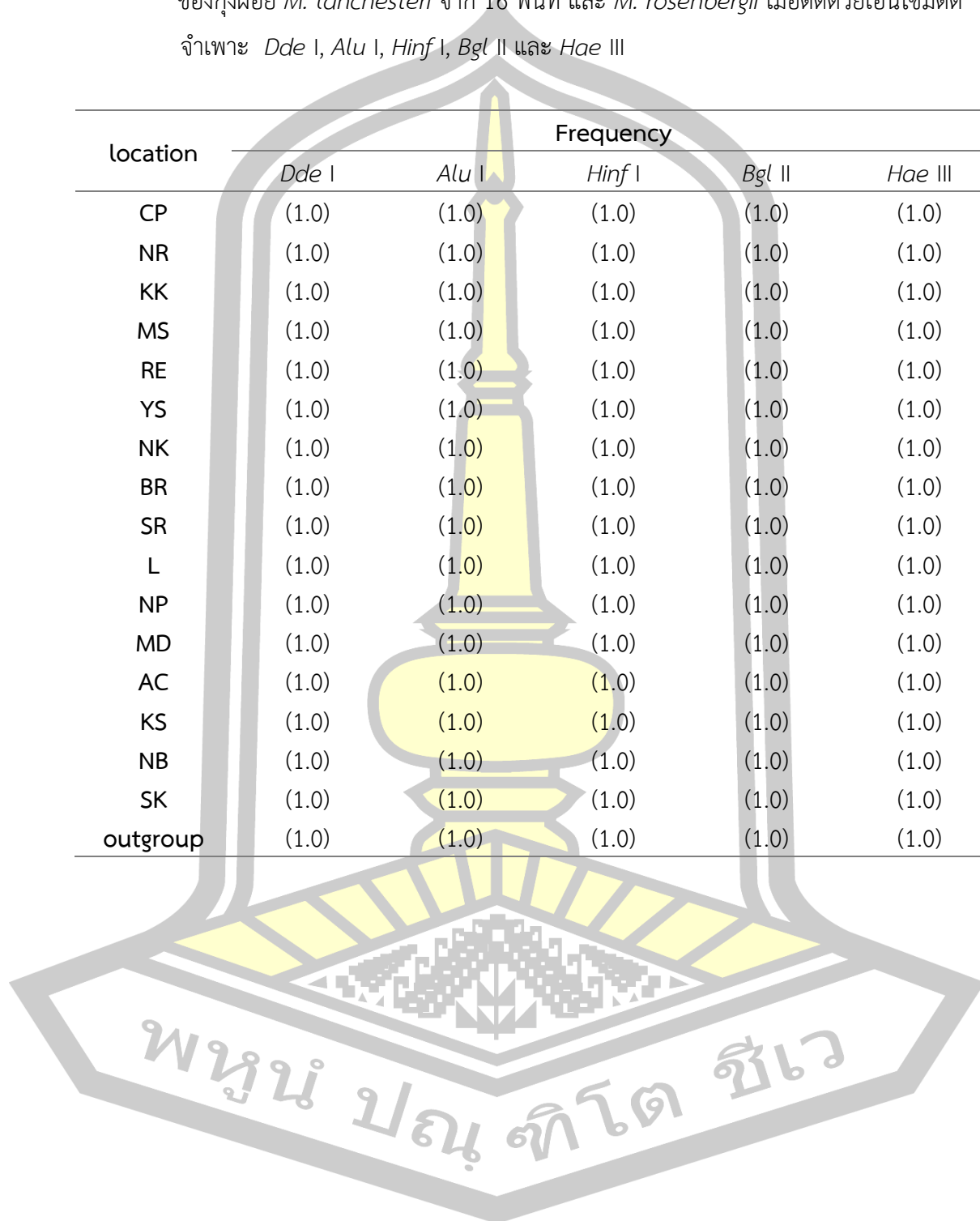
Restriction patterns (single haplotypes)					
COI <i>Dde</i> I (bp)		COI <i>Alu</i> I (bp)		COI <i>Hinf</i> I (bp)	
A	B	A	B	A	B
-	-	-	710	-	-
450	-	-	-	-	450
-	430	-	-	-	-
-	-	400	-	-	-
350	-	350	-	-	-
-	310	-	-	-	-
-	-	300	-	300	-
-	-	-	-	290	290
-	-	-	-	150	-

ตาราง 12 รูปแบบขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดยีน COI ของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* และ *M. rosenbergii* เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bgl* II และ *Hae* III

Restriction patterns (single haplotypes)			
COI <i>Bgl</i> II (bp)		COI <i>Hae</i> III (bp)	
A	B	A	B
-	710	-	-
620	-	-	-
-	-	490	-
-	-	-	350
-	-	-	290
-	-	180	-

ตาราง 13 การกระจายของความถี่ของ Single haplotypes ที่พบในแต่ละแหล่งของยีน COI ของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* จาก 16 พื้นที่ และ *M. rosenbergii* เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III

location	Frequency				
	<i>Dde</i> I	<i>Alu</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Hae</i> III
CP	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
NR	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
KK	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
MS	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
RE	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
YS	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
NK	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
BR	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
SR	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
L	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
NP	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
MD	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
AC	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
KS	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
NB	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
SK	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
outgroup	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)



ตาราง 14 ร้อยละ composite haplotypes ของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* และ *M. rosenbergii* ที่ได้จาก restriction analysis ของยีน COI primer ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III

Sample	Composite haplotypes	
	AAAAA	BBBBB
MLCP	(1.0) 100%	-
MLNR	(1.0) 100%	-
MLKK	(1.0) 100%	-
MLMS	(1.0) 100%	-
MLRE	(1.0) 100%	-
MLYS	(1.0) 100%	-
MLNK	(1.0) 100%	-
MLBR	(1.0) 100%	-
MLSR	(1.0) 100%	-
MLL	(1.0) 100%	-
MLNP	(1.0) 100%	-
MLMD	(1.0) 100%	-
MLAC	(1.0) 100%	-
MLKS	(1.0) 100%	-
MLNB	(1.0) 100%	-
MLSK	(1.0) 100%	-
outgroup	-	(1.0) 100%

หมายเหตุ: ตัวเลขในวงเล็บ คือ ค่าความถี่



ตาราง 15 Molecular taxonomic key แบบ single haplotype สำหรับการจำแนกกุ้งฝอย และตัวอย่างเปรียบเทียบ *M. rosenbergii* ที่พบในตำแหน่งของยีน COI เมื่อตัดด้วย เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III

species	restriction analysis				
	<i>Dde</i> I	<i>Alu</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Hae</i> III
<i>M. lanchesteri</i> (100%)	Haplotype A (350 และ 450)	Haplotype A (300, 350 และ 400)	Haplotype A (150, 290 และ 300)	Haplotype A (620)	Haplotype A (180และ 490)
<i>M. rosenbergii</i> (100%)	Haplotype B (310 และ 430)	Haplotype B (710)	Haplotype B (290 และ 450)	Haplotype B (710)	Haplotype B (290 และ 350)

ตาราง 16 Molecular taxonomic key แบบ composite haplotype ที่พบในแต่ละแหล่ง ของยีน COI ของกุ้งฝอย (*M. lanchesteri*) และตัวอย่างเปรียบเทียบ *M. rosenbergii* เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III

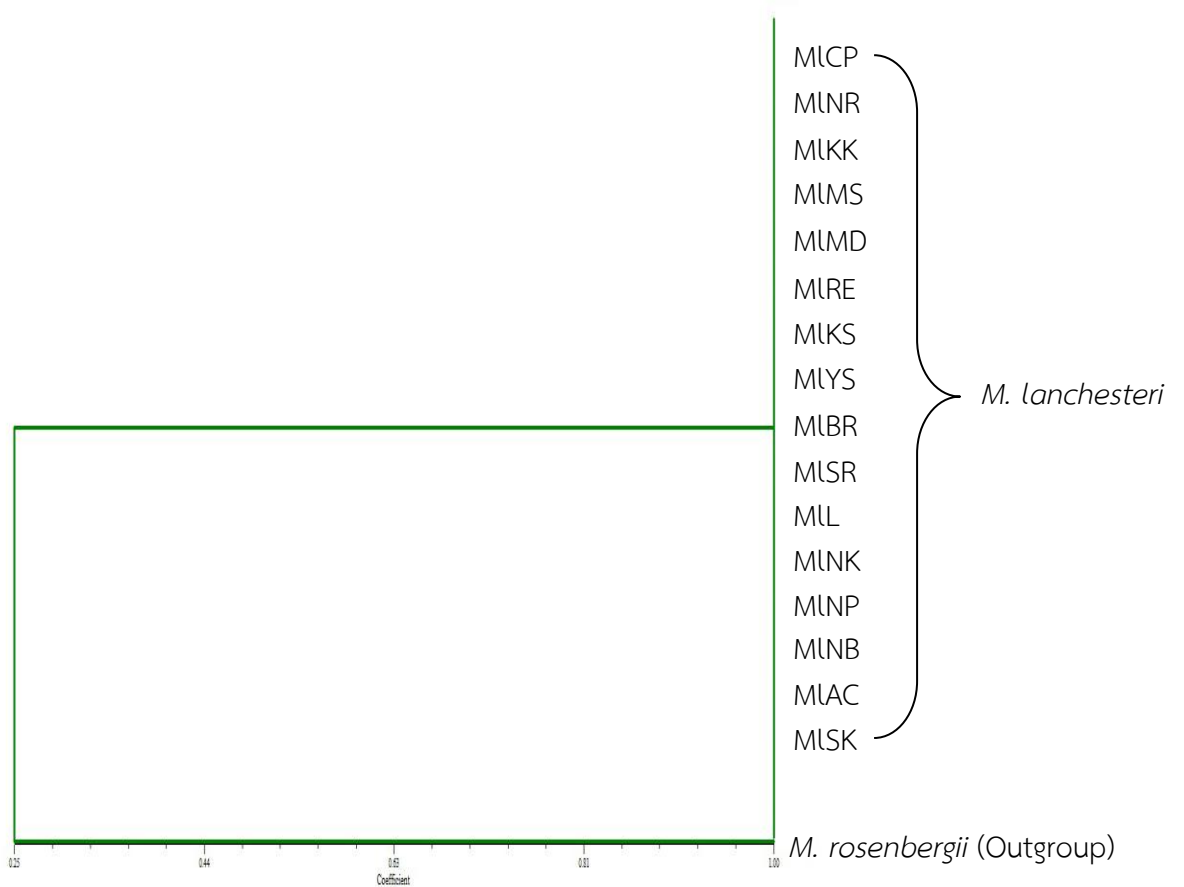
Species	composite haplotype
<i>Macrobrachium lanchesteri</i> (CP, NR, KK, MS, RE, YS, NK, BR, SR, L, NP, MD, AC, KS, NB และ SK)	AAAAA
<i>M. rosenbergii</i>	BBBBB



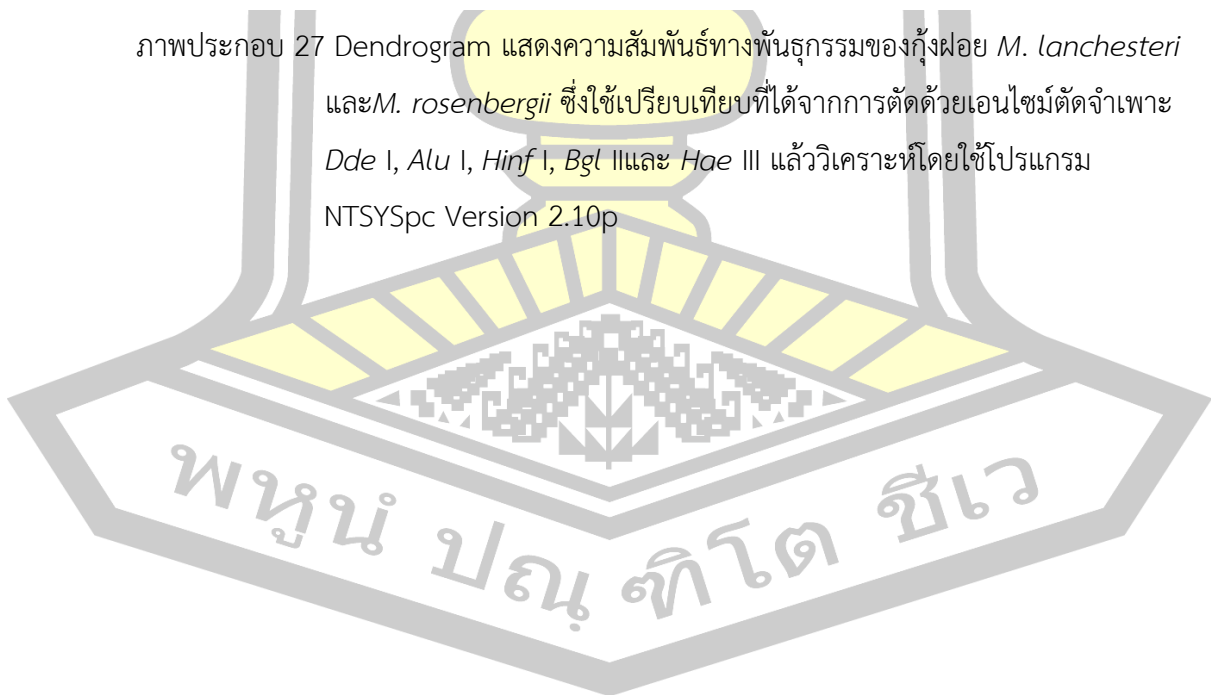
4.4.4 ผลการวิเคราะห์รูปแบบโมเลกุลดีเอ็นเอภายหลังการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วย NTSYSpc Version2.10p

จากการนำ PCR Product ขนาด 710 bp ของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมร่วมกับ *M. rosenbergii* ซึ่งเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยนำแถบดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.10p ข้อมูลจะถูกปรับเปลี่ยนโดยกำหนดสัญลักษณ์ “1” กรณีที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และกำหนดสัญลักษณ์ “0” กรณีที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ แล้ววิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Cluster analysis ของโปรแกรม NTSYSpc Version2.10p เพื่อคำนวณระดับความเหมือน และความแตกต่างของกิ้งฝอย *M. lanchesteri* จากนั้นนำค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบไปเขียนแผนภูมิเพื่อหาความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมในรูปแบบ dendrogram ดังภาพประกอบ 27 พบว่า แบ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่1 *M. rosenbergii* พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมของกิ้งฝอยอย่างชัดเจน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 1.00 กลุ่มที่2 พบว่าประกอบด้วย MICP, MINR, MIKK, MIMS, MIRE, MIYS, MINK, MILB, MISR, MIL, MINP, MIMD, MIAC, MIKS, MINB และ MISK ซึ่งพบว่าทั้ง 2 กลุ่มใหญ่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 1.00





ภาพประกอบ 27 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกุ่มฝอย *M. lanchesteri* และ *M. rosenbergii* ซึ่งใช้เปรียบเทียบที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* II และ *Hae* III แล้ววิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc Version 2.10p



4.4.5 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอ (DNA sequencing)

4.4.5.1 ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Genbank

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าประสบความสำเร็จ 11 กลุ่มประชากรของ *M. lanchesteri* ที่ทำการศึกษากับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST พบว่า กลุ่มประชากรที่ทำการศึกษาทั้งหมดมีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกับ *Macrobrachium lanchesteri* (Genbank accession number: AF088854) โดยมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังตาราง 17

ตาราง 17 ผลความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* ที่ทำการศึกษาเมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST

รหัสตัวอย่าง	ผลจากการเปรียบเทียบ	เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง	Genbank accession number ที่คล้ายคลึง
BR	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
CP	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
NR	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
KK	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
MS	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
RE	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
L	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
NK	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
NB	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
SK	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854
SR	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	100	AF088854

พหุ ประถมศึกษา

4.4.5.2 ระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance)

จากการวิเคราะห์รูปแบบของแฮพโลไทป์ (haplotype) ของกลุ่มประชากร *M. lanchesteri* 11 กลุ่ม พบว่า กลุ่มประชากรมีรูปแบบแฮพโลไทป์ทั้งหมด 10 รูปแบบ โดยเป็นรูปแบบของแฮพโลไทป์ที่ไม่มีการใช้ร่วมกัน (unique haplotype) ทั้งหมด 9 รูปแบบ ได้แก่ H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9 และเป็นแฮพโลไทป์ที่มีการใช้ร่วมกัน (share haplotypes) ของ 2 กลุ่มประชากร มี 1 รูปแบบ ได้แก่ H10 โดยมีการใช้แฮพโลไทป์ร่วมกันของกลุ่มประชากร KK และ RE ดังตาราง 18

ตาราง 18 รูปแบบของแฮพโลไทป์ (haplotype) ของ *M. lanchesteri* ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้

location	Haplotype	haplo type
BR	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCCTATTGATAATGACCAAATCTTT AATGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTCTTTATAGTTATACCCATTA TAATTGGAGGGTTCGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGGCCCCGGACATA GCATTCCCGGAATGAACAACATAAGATTTGACTCCTCCCCCGTCACTGACTCTA CTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGGAACCGGATGAACAGTCTACCC CCCCCTAGCTGCGGGACCGCCACGCAGGAGCGTCCGTTGACTTGGGAATTTCT CCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCATCAATCCTAGGTGCTGTCAATTCATTACCACAG TAATTAACATACGGTCTCCCGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTCTGTCTGAG CCGTATTCTAACAGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCA TTACAATACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTGATCCCGCAGGAG GCGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTACCCTGAAGTTT AAAT	H1
CP	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGCGAAATCTTT TTTATTATTGTTACCGCCGGTGCTTTCATAATAATTTCTTTATAGTTATACCCATTA TAATTGGAGGGTTCGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGGCCCCGGACATA GCATTCCCGGAATGAACAACATAAGATTTGACTCCTCCCCCGTCACTGACTCTA CTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGGAACCGGATGAACAGTCTACCC CCCCCTAGCTGCGGGACCGCCACGCAGGAGCGTCCGTTGACTTGGGAATTTCT CCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCATCAATCCTAGGTGCTGTCAATTCATTACCACAG TAATTAACATACGGTCTCCCGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTCTGTCTGAG CCGTATTCTAACAGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCA TTACAATACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTGATCCCGCAGGAG GCGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTACCCTGAAGTTT AAAT	H2

ตาราง 18 (ต่อ)

location	Haplotype	haplo type
NR	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGCGAAATCTTT TTTATTATTGTTACCGCCGGTGCTTTCATAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTCACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTGGATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H3
MS	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGCGAAATCTTT TTTATTATTGTTACCGCCGGTGCTTTCATAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTCACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTGGATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H4

ตาราง 18 (ต่อ)

location	Haplotype	haplo type
L	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCTTATTGATAATGACCAATCTTT AATGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTC ACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H5
NK	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGCGAAATCTTT TTTGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTC ACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H6

ตาราง 18 (ต่อ)

location	Haplotype	haplo type
NB	CCCTGAGTTTAAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTGTGG TCAGCCTGAAGTTTAAATGGTCAACAAGTCTTATTGGTAATGACCAAATCTAT AATGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTC ACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H7
SK	CCCTGAGTTTAAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAAATGGTCAACAATCATATTGATAATGACCAAATCTAT AATGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTC ACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAA	H8

ตาราง 18 (ต่อ)

location	Haplotype	haplo type
SR	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTTTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACGAGTCTTATTGATAATGACCAAATCTAT AATGTTATTGTTACCGCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTCACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAATT	H9
KK และ RE	CCCTGAGTTTAATAGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTGATTTTTTTGTGG TCACCCTGAAGTTTAATGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGCGAAATCTTT TTTATTATTGTTACCGCCGGTGTCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAC CCATTATAATTGGAGGGTTCGGAAATTGACTTGTCCCCCTGATGCTAGGGG CCCC GGACATAGCATTCCCGCAATGAACAACATAAGATTTTGACTCCTCC CCCC GTCACTGACTCTACTCCTGTCCAGAGGAATGGTAGAAAGGGGAGTGG GAACCGGATGAACAGTCTACCCCCCTAGCTGCGGGGACCGCCCACGCAG GAGCGTCGGTTGACTTGGGAATTTTCTCCCTTCACTTAGCTGGAGTCTCAT CAATCCTAGGTGCTGTCAATTTTATTACCACAGTAATTAACATACGGTCTCC CGGAATAACGATAGACCGGCTCCCCCTGTTTCGTCTGAGCCGTATTCTAAC AGCCATTCTGCTACTCCTTTCCCTCCCCGTCTGGCGGGAGCCATTACAAT ACTCCTGACCGATCGAAACCTCAACACCTCCTTTTTTATCCCGCAGGAGG CGGTGACCCAATCCTCTATCAACACCTATTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAA GTTTAAAT	H10

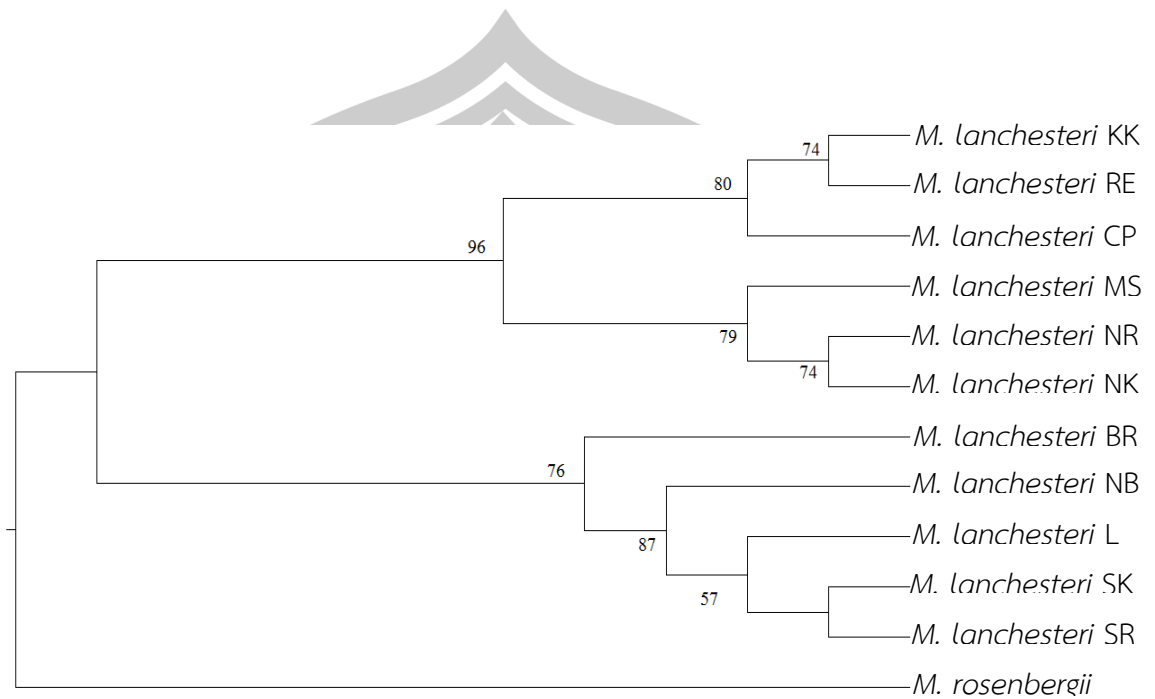
ระยะห่างทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากร *M. lanchesteri* มีค่าค่อนข้างต่ำ โดยระยะห่างทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากร มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ในตัวอย่าง KK และ RE ถึง 0.035 ในตัวอย่าง BR และ CP และมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.014 ดังตาราง 19

ตาราง 19 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง *M. Lanchesteri* ที่ทำการศึกษา

location	BR	CP	NR	KK	MS	RE	L	NK	NB	SK	SR
BR											
CP	0.035										
NR	0.029	0.006									
KK	0.033	0.001	0.004								
MS	0.030	0.004	0.001	0.006							
RE	0.033	0.001	0.004	0.000	0.006						
L	0.017	0.018	0.012	0.016	0.013	0.016					
NK	0.030	0.007	0.001	0.006	0.003	0.006	0.013				
NB	0.010	0.024	0.018	0.023	0.020	0.023	0.006	0.0			
SK	0.017	0.018	0.012	0.016	0.013	0.016	0.003	0.0	0.006		
SR	0.013	0.024	0.018	0.023	0.020	0.023	0.006	0.0	0.006	0.006	
								20			
								13			
								16			

4.4.5.3 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี UPGMA (unweight pair group method using arithmetic average) พบว่า ตัวอย่างแบ่งแยกออกเป็น 2 เคลด (clade) โดยเคลดที่ 1 ประกอบด้วยกลุ่มประชากร KK, RE, CP, MS, NR, NK ซึ่งกลุ่มประชากร KK และ RE และตัวอย่าง NR และ NK มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เหลือภายในเคลดเดียวกันโดยตัวอย่างทั้งสองคู่มีค่า bootstrap สนับสนุนเท่ากับ 74% และเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างทั้งหมดภายในเคลดที่ 1 พบว่า ตัวอย่าง KK, RE, CP มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากกว่ากลุ่มตัวอย่าง NR, NK, MS โดยทั้งสองกลุ่มแยกออกจากกันและมีค่า bootstrap สนับสนุน 96% และเคลดที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่าง BR, NB, L, SK, SR โดยตัวอย่างทั้งหมดมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากยกเว้นตัวอย่าง BR ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแยกออกจากตัวอย่างอื่นๆ ภายในเคลดเดียวกันโดยมีค่า bootstrap สนับสนุน 76% การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่าง *Macrobrachium rosenbergii* เป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม (out group) ดังภาพประกอบ 28



ภาพประกอบ 28 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่สร้างด้วยวิธี UPGMA ของ *M. lanchesteri*
โดยมีค่าสนับสนุน bootstrap ที่ 1,000 replications



บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การศึกษาคุณภาพของแหล่งน้ำ

การวิเคราะห์คุณภาพของแหล่งน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างกึ่งฝอยในพื้นที่ 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพิจารณาคุณภาพน้ำจากค่าคุณภาพน้ำ 5 พารามิเตอร์ ซึ่งมีทั้งหมด 16 แหล่งน้ำจากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 5 พารามิเตอร์ พบว่ามีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 6-9 อุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 25-33 องศาเซลเซียส ค่าความกระด้างของน้ำอยู่ในช่วง 64-101 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4.0-7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับผลคุณภาพน้ำตามเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำซึ่งได้กำหนดอุณหภูมิอยู่ในช่วง 23-32 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 5-9 ค่าความกระด้างอยู่ในช่วง 20-150 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำไม่น้อยกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (เอกสารวิชาการสำนักวิจัย และพัฒนาประมงน้ำจืด เรื่องเกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อการคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืด) คุณภาพน้ำในแหล่งน้ำที่ทำการศึกษาทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ แหล่งน้ำที่พบกึ่งฝอยจะเป็นบริเวณแหล่งน้ำที่มีคุณภาพปานกลางถึงคุณภาพดี แหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์จะพบการกระจายตัวของกึ่งฝอยได้มากแต่หากแหล่งน้ำที่ไม่สะอาดจะไม่พบการกระจายตัวของกึ่งฝอยเลย (อภิสิทธิ์ สุวรรณรักษ์, 2559) จากรายงานงานวิจัยของชุตินา คู่คู่สมุทร และคณะ (2549) ได้ทำการวิเคราะห์ค่าดัชนีคุณภาพน้ำของลำน้ำมูล โดยเก็บทั้งหมด 10 จุด คือ อำเภอโขงเจียม อำเภอพิมาย อำเภอชุมพวง อำเภอพุทไธสง อำเภอสตึก อำเภอลำทะเมนชัย อำเภอรัตนบุรี อำเภอวารินชำราบ และ อำเภอพิบูลย์รักษ์ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพบว่าลำน้ำมูลส่วนใหญ่มีแนวโน้มคุณภาพน้ำปานกลาง ต่อมา กัลยากร พิราอรอภิชา และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษา ความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดิน และการประเมินคุณภาพน้ำตกวังเต่า อุทยานแห่งชาติทับลาน อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา พบว่า แหล่งน้ำที่ทำการศึกษามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่สูง และคุณภาพของน้ำดีมาก เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด และจากงานวิจัยของณัฐมน หมูโยธา และสิริลักษณ์ แสงแก้ว (2557) ทำการศึกษาคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำของแหล่งน้ำ แม่น้ำสงคราม แม่น้ำเสียว แม่น้ำพอง แม่น้ำอุบล แม่น้ำมูล แม่น้ำเลย แม่น้ำลำตะคอง แม่น้ำลำปาว แม่น้ำชี และบึงหนองหาร ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพบว่าแม่น้ำในแต่ละแห่งมีคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์พอใช้ คุณภาพของแหล่งน้ำอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อม ภาวะมลพิษ การปล่อยของเสียลงบนแหล่งน้ำ ซึ่งสิ่งเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำของแต่ละพื้นที่ได้

5.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphometric) ของกึ่งฝอย *M. lanchesteri*

จากงานวิจัยในครั้งนี้นำการศึกษา กึ่งฝอย *M. lanchesteri* เนื่องจากเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศไทย (Uraivan and Sodsuk, 2004) อีกทั้งยังพบว่ามี การกระจายตัวอย่างกว้างขวางในทวีปเอเชีย และในประเทศไทยยังพบว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบ การกระจายตัวของกึ่งฝอยมากที่สุด (Degrave *et al.*, 2013) จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของกึ่งฝอยในแต่ละพื้นที่ของ 16 จังหวัด ในครั้งนี้พบว่ากึ่งฝอยแต่ละพื้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่แตกต่างกันประกอบด้วย

กรีของกึ่งฝอย รูปร่างกรีของกึ่งฝอยในแต่ละพื้นที่ 16 จังหวัด ในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มีลักษณะตรง ปลายงอนขึ้นเล็กน้อยมีความยาวที่มากกว่าหรือ อาจเท่ากับแผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 รูปร่างของกรีมีความคล้ายคลึงกันในทุกพื้นที่ อีกทั้งจำนวนฟันกรี ของแต่ละพื้นที่พบความแตกต่างกันโดยแบ่งออกได้เป็น 4 แบบ 1. จำนวนฟันกรีด้านบน 7 ซี่ และ ด้านล่าง 3 ซี่ (7/3) พบการกระจายตัวที่จังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ขอนแก่น ร้อยเอ็ด ยโสธร สุรินทร์ เลย นครพนม มุกดาหาร กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู และศรีสะเกษ 2. จำนวนฟันกรีด้านบน 8 ซี่ และด้านล่าง 3 ซี่ (8/3) พบการกระจายตัวที่จังหวัดมหาสารคาม และอำนาจเจริญ 3. จำนวนฟันกรีด้านบน 6 ซี่ และด้านล่าง 3 ซี่ (6/3) พบการกระจายตัวที่จังหวัดบุรีรัมย์ และ 4. จำนวนฟันกรีด้านบน 9 ซี่ และด้านล่าง 4 ซี่ (9/4) พบการกระจายตัวที่จังหวัดหนองคาย จากที่กล่าวมาจำนวนฟัน กรีอยู่ในช่วง 7-9/3-4 ซี่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวณิชยา น้อยวังคลัง (2544) พบลักษณะกรีของ กึ่งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยโดยมีลักษณะกรีตรง และปลายงอนขึ้น จำนวน ฟันกรีด้านบนมีจำนวน 7-10 ซี่ และด้านล่าง 3-4 ซี่ โดยลักษณะฟันกรีเป็นแบบฟันเลื่อย และจาก รายงานของจุฑามาศ จิวาลักษณ์ และพรพรรณ ศุภกิจรัตนากุล (ม.ท.ป.) พบว่ากรีของกึ่งฝอยในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีกรีลักษณะตรง ส่วนปลายงอนเล็กน้อย กรีมีความยาวกว่าแผ่น กำบังหนวดคู่ที่ 2 จำนวนฟันกรีด้านบนพบว่ามีจำนวน 7-8 ซี่ ด้านล่าง 2-4 ซี่

สีของลำตัว สีลำตัวของประชากรกึ่งฝอย *M. lanchesteri* ในพื้นที่ 16 จังหวัด ในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยจากการสังเกตพบว่ามีสีของลำตัวที่แตกต่างกันออกไปโดยแบ่ง ออกได้เป็น 6 สี ซึ่งส่วนใหญ่พบ 1. สีใส (ไม่มีสี) พบการกระจายตัวที่จังหวัดชัยภูมิ สุรินทร์ มุกดาหาร กาฬสินธุ์ และหนองบัวลำภู คิดเป็น 31.25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวณิชยา น้อยวัง คลัง (2544) พบ *M. lanchesteri* ที่มีสีของลำตัว สีใส (ไม่มีสี) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของ ประเทศไทย 2. สีส้มใส พบการกระจายตัวที่จังหวัดนครราชสีมา ยโสธร นครพนม แต่มีจังหวัดเลยที่ พบจุดสีน้ำตาลบนส่วนเปลือกคลุมหัวของกึ่งฝอย คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ 3. สีส้มขุ่น พบการกระจาย ตัวที่จังหวัดขอนแก่น คิดเป็น 6.25 เปอร์เซ็นต์ 4. สีขาวขุ่น พบการกระจายตัวที่จังหวัดมหาสารคาม หนองคาย แต่มีจังหวัดบุรีรัมย์พบจุดสีเทาบนส่วนเปลือกคลุมหัวของกึ่งฝอย คิดเป็น 18.75

เปอร์เซ็นต์ 5 สีเทา พบการกระจายตัวที่จังหวัดร้อยเอ็ด และอำนาจเจริญ คิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์ 6. สีดำใสบพบการกระจายตัวที่จังหวัดศรีสะเกษ คิดเป็น 6.25 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยครั้งนี้พบสีที่ไม่มีรายงานคือ สีส้มใส สีส้มขุ่น สีขาวขุ่น สีเทา และสีดำใส ซึ่งสาเหตุของสีที่เกิดขึ้นอาจมาจาก สภาพอากาศ คุณภาพของน้ำ อาหาร แสงแดด และสภาพแวดล้อม (Yamada *et al.*, 1990; Boonyaratpalin *et al.*, 2001; A redondofigueroa *et al.*, 2003)

ขนาดของลำตัว ความยาวของขนาดลำตัวใช้การวัดทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา 5 ลักษณะโดยวัด Total length, Standard length, Carapace length, Abdomen length และ Telson length ของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบว่าขนาดความยาวของประชากรได้แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ที่มีความยาวใกล้เคียงกัน 1. ความยาวขนาดลำตัวที่อยู่ในช่วง 2.9-3.5 เซนติเมตร พบการกระจายตัวที่จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม สุรินทร์ หนองคาย และอำนาจเจริญ 2. ความยาวขนาดลำตัวที่อยู่ในช่วง 2.2-2.9 เซนติเมตร พบการกระจายตัวที่จังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ยโสธร นครพนม และศรีสะเกษ 3. ความยาวขนาดลำตัวที่อยู่ในช่วง 1.5-1.9 เซนติเมตร พบการกระจายตัวที่จังหวัดบุรีรัมย์ กาฬสินธุ์ และหนองบัวลำภู ขนาดความยาวของประชากร *M. lanchesteri* ที่มีความแปรผันต่อหลายประชากรโดยมีความยาวลำตัวมากที่สุดพบได้ที่จังหวัดหนองคาย ขณะที่ประชากรที่มีขนาดความยาวลำตัวเล็กที่สุด พบที่จังหวัดบุรีรัมย์ และกาฬสินธุ์ โดยขนาดของลำตัวกุ้งฝอยในพื้นที่ที่ทำการศึกษามีขนาดลำตัวทั้งหมดที่อยู่ในช่วง 1.5-4.5 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวงวิศิยา น้อยวงศ์ (2544) พบความยาวของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยโดยมีขนาด 1.71-5.89 เซนติเมตร อีกทั้งยังสอดคล้องกับ Raman *et al.* (1986) พบความยาวของ *M. lanchesteri* ในแหล่งน้ำจืดบังคาลอร์ประเทศอินเดีย โดยมีความยาวอยู่ในช่วง 1-5.6 เซนติเมตร และต่อมา Cai *et al.* (2010) พบความยาวของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยมีขนาด 0.65-1.6 เซนติเมตร จากผลการวิเคราะห์ความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของประชากร *M. lanchesteri* โดยการวิเคราะห์ ANOVA แสดงให้เห็นว่า การตรวจวัด 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *M. lanchesteri* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยเพศเมียมีความยาวลำตัวมากกว่าเพศผู้ ของทุกกลุ่มประชากรในพื้นที่ที่ทำการศึกษาคือ สอดคล้องกับงานวิจัยของฉัตรชัย ปรีชา และคณะ (2557) พบว่าขนาดลำตัวกุ้งฝอย *M. lanchesteri* ในแม่น้ำโขง จังหวัดหนองคายเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความยาวคาราเปสเฉลี่ย 14.4 ± 3.1 มิลลิเมตร และ 12.1 ± 2.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ อีกทั้งยังสอดคล้องกับ Olele *et al.* (2012) พบว่าความยาวลำตัวของ *M. vollenhovenii* ในเพศเมียมีค่าความยาวลำตัวมากกว่าเพศผู้ 10 เซนติเมตร และ 9 เซนติเมตร ตามลำดับ คาราเปส มีลักษณะผิวที่เรียบ และเกลี้ยง ซึ่งพบว่ามีลักษณะเหมือนกันในทุกๆพื้นที่ แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 ในแต่ละพื้นที่จะมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากปลายของแผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 ของกุ้งฝอยมีลักษณะปลายกลมมนเหมือนกัน ลักษณะของขาเดินคู่ที่ 2 ประชากรกุ้งฝอยในแต่ละพื้นที่มีลักษณะของขาเดินคู่ที่ 2 ไม่แตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่ขาเดินคู่ที่ 2 จะเป็นรูปทรงกระบอกยาวเรียวยาวบริเวณส่วนก้ามหนีบจะมีขนเล็กสั้นๆปกคลุม หางและแพนหาง จากการสังเกตลักษณะหาง และแพนหางมีลักษณะที่เหมือนกันโดยกุ้งฝอยในแต่ละพื้นที่จะมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมโดยจะเรียวยาวในส่วนปลายหาง ส่วนแพนหางกุ้งฝอยในแต่ละพื้นที่จะมีแพนหางลักษณะกลม

รีเหมือนกัน ลักษณะสัญญาณของคาราเปส แผ่นกำบังหนวดคู่ที่ 2 ลักษณะของขาเดินคู่ที่ 2 หาง และแพนหางมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ วณิชญา น้อยวังคลัง (2544)

ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น การกินอาหาร สภาพแวดล้อม ระยะของการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล (Sinha, 1972) ดังนั้นการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวในการจัดจำแนกไม่สามารถได้ข้อมูลที่เพียงพอจึงจำเป็นต้องทำควบคู่กับลักษณะทางพันธุกรรมร่วมด้วย เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกอาจมีความแปรผันเพื่อสามารถดำรงชีวิตอยู่รอดได้ และการแข่งขันการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรในแหล่งอาศัยให้ได้อย่างสูงสุด (Albertson and Kocher, 2001; Andresson, 2003)

5.3 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย *M. lanchesteri*

การสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนลำตัวของกุ้งฝอย โดยใช้วิธี CTAB-Phenol-Chloroform-Proteinase K method เมื่อทำการวิเคราะห์ผลโดยการตรวจสอบด้วย Agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วพบว่ามี การแตกหักของดีเอ็นเอเล็กน้อย จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยการทำเทคนิคพีซีอาร์ก็พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ดี แต่มีบางหลอดที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณจำนวนของดีเอ็นเอได้ก็จะนำไปกำจัดโปรตีนและอาร์เอ็นเอ โดยการเติม Phenol: Chloroform: Isoamyl Alcohol เมื่อนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ COI primer ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ก็พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนได้ดี เนื่องจากตำแหน่งยีน COI มีข้อดีกว่ายีนไมโทคอนเดรียบริเวณอื่นๆ คือมีขนาดไม่ยาวเกินไป สามารถเพิ่มปริมาณด้วย universal primer ได้อย่างมีประสิทธิภาพครอบคลุมขอบเขตความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในกลุ่มสัตว์ได้อย่างดี นอกจากนี้ลำดับดีเอ็นเอของยีน COI ยังให้ความแตกต่างในสัตว์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากได้อีกด้วย (Frezal and Ledlois, 2008) ส่วนบางหลอดที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนของยีนได้ก็นำไปกำจัดโปรตีน และอาร์เอ็นเอตามวิธีของ Thawnon-nigiw *et al* (2004) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณโดยใช้ COI primer ก็สามารถเพิ่มปริมาณยีนได้เช่นกันซึ่งกล่าวไว้ในงานวิจัยของ Yu Long Li *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมและภูมิประชากรศาสตร์ของกุ้ง *Feneropenaeus chinensis* ใน Yellow sea และ Bohai sea โดยใช้ COI gene พบว่ามีขนาด PCR product เท่ากับ 850 bp และจากงานวิจัยของ Qing-yi *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาความแปรผันและการจัดหมวดหมู่ของกุ้งสกุล *Macrobrachium* 3 สายพันธุ์ คือ *M. rosenbergii*, *M. nipponense* และ *M. qilianensis* ในประเทศจีน โดยใช้ COI primer ซึ่งได้ขนาดเท่ากับ 720 bp ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ในงานวิจัยนี้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอย *M. lanchesteri* เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์เดียวกันพบว่าได้ขนาดของ PCR product เท่ากับ 710 bp ซึ่งมีความแตกต่างกันของกุ้งแต่ละสายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่ากุ้งแต่ละสายพันธุ์มีลำดับเบสบนยีน COI ที่แตกต่างกันออกไป

จากการนำ PCR product ของกุ้งฝอยมาทำการคัดเลือกหาเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้งหมด 13 ชนิด พบเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตัดโมเลกุลของดีเอ็นเอของกุ้งฝอย *M. lanchesteri* และ *M. rosenbergii* กุ้งเปรียบเทียบ 5 ชนิด คือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* I และ *Hae* III เอนไซม์เหล่านี้

สามารถแบ่งแยกความแตกต่างของกุ้งฝอยได้อย่างชัดเจน และได้รูปแบบที่ตัดแตกต่างกันออกไปโดยพบว่าเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Dde* I ได้ single haplotype 2 รูปแบบ *Alu* I ได้ single haplotype 2 รูปแบบ *Hinf* I ได้ single haplotype 2 รูปแบบ *Bgl* I ได้ single haplotype 2 รูปแบบ และ *Hae* III ได้ single haplotype 2 รูปแบบ และเมื่อนำมาสร้างเป็น composite haplotype ได้ทั้งหมด 1 รูปแบบ โดยพบว่า *M. lanchesteri* มีรูปแบบเป็นแบบ AAAAA ซึ่งค่าความถี่ของทุกรูปแบบมีค่าเท่ากับ 1.0 จากรายงานงานวิจัยของ Khamnamtong *et al* (2005) ได้ทำการศึกษาการจัดจำแนกกุ้ง 5 สายพันธุ์โดยใช้ การวิเคราะห์ PCR-RFLP และSSCP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 ชนิด คือ *Alu* I, *Ssp* I, *Vsp* I และ *Dra* I พบว่าสามารถแบ่งแยก และยืนยันความแตกต่างของกุ้งทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ และจากงานวิจัยของอมรรัตน์ พงศ์ดารา และคณะ (2547) ได้ทำการทดลองการแยกชนิดกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* และ *Penaeus* ชนิดอื่นโดยวิธี PCR-RFLP ของยีน COI โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Rsa* I ซึ่งพบว่าวิธีนี้สามารถใช้ในการจัดจำแนกกุ้งขาว *L. vannamei* ออกจากกุ้งชนิดอื่นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันได้อย่างชัดเจน ต่อมาวุฒิวัดน์ เรืองชัย และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยน้ำจืดโดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิด คือ *Hha* I *Msp* I *Alu* I *Tru* II *Rsa* I *Hae* III และ *Taq* I ซึ่งพบว่าสามารถแบ่งแยก และชี้ให้เห็นถึงโครงสร้างประชากรภายในชนิดของ *M. lanchesteri* ได้ตามแหล่งที่อยู่อาศัยแต่ในงานวิจัยครั้งนี้ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 5 ชนิดพบว่าไม่พบความแตกต่างของในแต่ละสถานที่ อาจเนื่องมาจากการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะเพื่อการจัดจำแนกที่น้อยเกินไปจึงทำให้ผลการทดลองไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในครั้งนี้

เมื่อนำ PCR product ของกุ้งฝอย และ *M. rosenbergii* มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* I และ *Hae* III โดยวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี cluster analysis ของโปรแกรม NTSYSpe version 2.10p เพื่อคำนวณระดับความเหมือนและความแตกต่างของกุ้งฝอยที่ใช้ในการศึกษา จากนั้นนำค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบไปเขียนแผนภูมิตะสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูปแบบ UPGMA dendrogram จากการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยเมื่อใช้ COI primer ด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบว่าแบ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยกลุ่มที่ 1 *M. rosenbergii* (outgroup) ถูกแยกออกจากกลุ่มที่ 2 กุ้งฝอย *M. lanchesteri* อย่างชัดเจนโดย *M. lanchesteri* ไม่มีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มประชากร จากงานวิจัยของกีรวิชัย เพชรจุล และมณีนรัตน์ สิริสวัสดิ์ (2016) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งก้ามกราม โดยพบว่าได้แบ่งความสัมพันธ์โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งพบว่าสามารถแบ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยมีกุ้งฝอยเป็นตัวเปรียบเทียบที่สามารถแยกออกมาจากกุ้งก้ามกรามอย่างชัดเจน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 52.00 และ 67.50 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมในประชากรของ *M. rosenbergii* ในประเทศไทยและพม่าของ Daungwongsa (2003) พบว่าสามารถแบ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกประกอบด้วย กุ้งจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ส่วนกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยกุ้งจากฟาร์มและอ่างเก็บน้ำ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.65 จะเห็นได้ว่าสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะภายนอกที่แตกต่างกัน แต่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ไม่แปรเปลี่ยนตามสภาพแวดล้อม หรือสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะภายนอกที่

เหมือนกันอาจมีลักษณะทางพันธุกรรมไม่แปรเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อม ดังนั้นข้อมูลทางพันธุศาสตร์จึงน่าเชื่อถือกว่าข้อมูลทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในการทดลองนี้ได้นำ PCR product ของกุ้งฝอยจาก 11 กลุ่มประชากรไปวิเคราะห์หาลำดับเบสดีเอ็นเอโดยใช้ COI ในการตรวจสอบหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เมื่อวิเคราะห์หาความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Genbank พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* ได้มีความคล้ายคลึงกับ *M. lanchesteri* 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดว่าอยู่ในชนิดเดียวกัน เนื่องจากค่าเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงมีค่า 100 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรม พบรูปแบบแฮพโลไทป์ 1 รูปแบบ ได้แก่ H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 และ H9 และมีอีก 2 สถานที่ที่มีแฮพโลไทป์ร่วมกันคือจังหวัดขอนแก่น และร้อยเอ็ด โดยระยะห่างทางพันธุกรรมของ *M. lanchesteri* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีค่าทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 0.035 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.014 พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ เนื่องจากค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าเข้าใกล้ 0 อย่างมากซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Guerra *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในสกุล *Macrobrachium* ของประเทศบราซิล เมื่อทำการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมจากสถานที่ที่แตกต่างกันพบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมที่ต่ำโดยมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในช่วง 0 ถึง 0.03 อีกทั้งยังสอดคล้องกับ Yu Long Li *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้ง *Feneropenaeus chinensis* ในทะเลเหลืองประเทศจีน เมื่อทำการวิเคราะห์หาค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของกุ้งพบว่าประชากรของกุ้งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำโดยมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.012 ถึง 0.019 และเมื่อวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แคลด โดยทั้ง 2 แคลด มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน ยกเว้นจังหวัดบุรีรัมย์ มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่แยกออกมาจากสถานที่อื่นๆ

5.4 สรุปผล

5.4.1 ผลการศึกษารวิเคราะห์คุณภาพน้ำในเขตพื้นที่ 16 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเพื่อสำรวจ ตรวจสอบคุณภาพของแหล่งน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืดโดยพบว่าคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ และเคมี ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 25-33 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่างมีค่าอยู่ในช่วง 6-9 ความกระด้างของน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 64-401 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 4-7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าค่าเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด ส่วนสีของน้ำ และกลิ่นของน้ำทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ที่เป็นน้ำคุณภาพดี สีของน้ำและกลิ่นของน้ำไม่สามารถเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานได้เนื่องจากไม่มีการกำหนดค่ามาตรฐาน คุณภาพน้ำทางกายภาพ และเคมีของแหล่งน้ำในพื้นที่ทำการศึกษาอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจืด และมีคุณภาพน้ำที่ดี

5.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการศึกษาการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า *M. lanchesteri* จาก 16 พื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่คล้ายคลึงกัน แต่มีบางลักษณะที่มีความแตกต่างกันได้แก่ จำนวนฟันกรีด ด้านบนอยู่ในช่วง 6-9 ซี่ ด้านล่าง 3-4 ซี่ ลักษณะสีของลำตัวพบว่ามีสีใส (ไม่มีสี) สีส้มใส สีส้มขุ่น สีขาวขุ่น สีเทา และสีดำใส และขนาดความยาวของลำตัวกึ่งฝอยอยู่ในช่วง 1.5-4.5 เซนติเมตร โดยพบว่าเมื่อทำการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *M. lanchesteri* ทั้ง 5 ลักษณะ พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวลำตัวในเพศเมียมีค่ามากกว่าในเพศผู้ทั้ง 16 พื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยค่าเฉลี่ยของ *M. lanchesteri* ทั้งในเพศผู้และเพศเมียที่มีค่ามากที่สุดอยู่ในช่วง 3.5-4.5 เซนติเมตร พบที่จังหวัดหนองคายขณะที่จังหวัดบุรีรัมย์ และกาฬสินธุ์ มีค่าเฉลี่ยความยาวลำตัวที่น้อยที่สุดอยู่ในช่วง 1.4-1.8 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

5.4.3 ผลการศึกษา PCR-RFLP เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ 5 เอนไซม์ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* I และ *Hae* III พบ Composite haplotype 1 รูปแบบ รูปแบบ AAAAA พบใน *M. lanchesteri* เทคนิค PCR-RFLP ไม่สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของกึ่งฝอยได้ เมื่อนำ Restriction pattern จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 5 ชนิด คือ *Dde* I, *Alu* I, *Hinf* I, *Bgl* I และ *Hae* III มาสร้าง Dendrogram โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc version 2.10p พบว่าสามารถแบ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย *M. lanchesteri* ซึ่งไม่สามารถแยกออกจากกันได้ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย *M. rosenbergii* (outgroup)

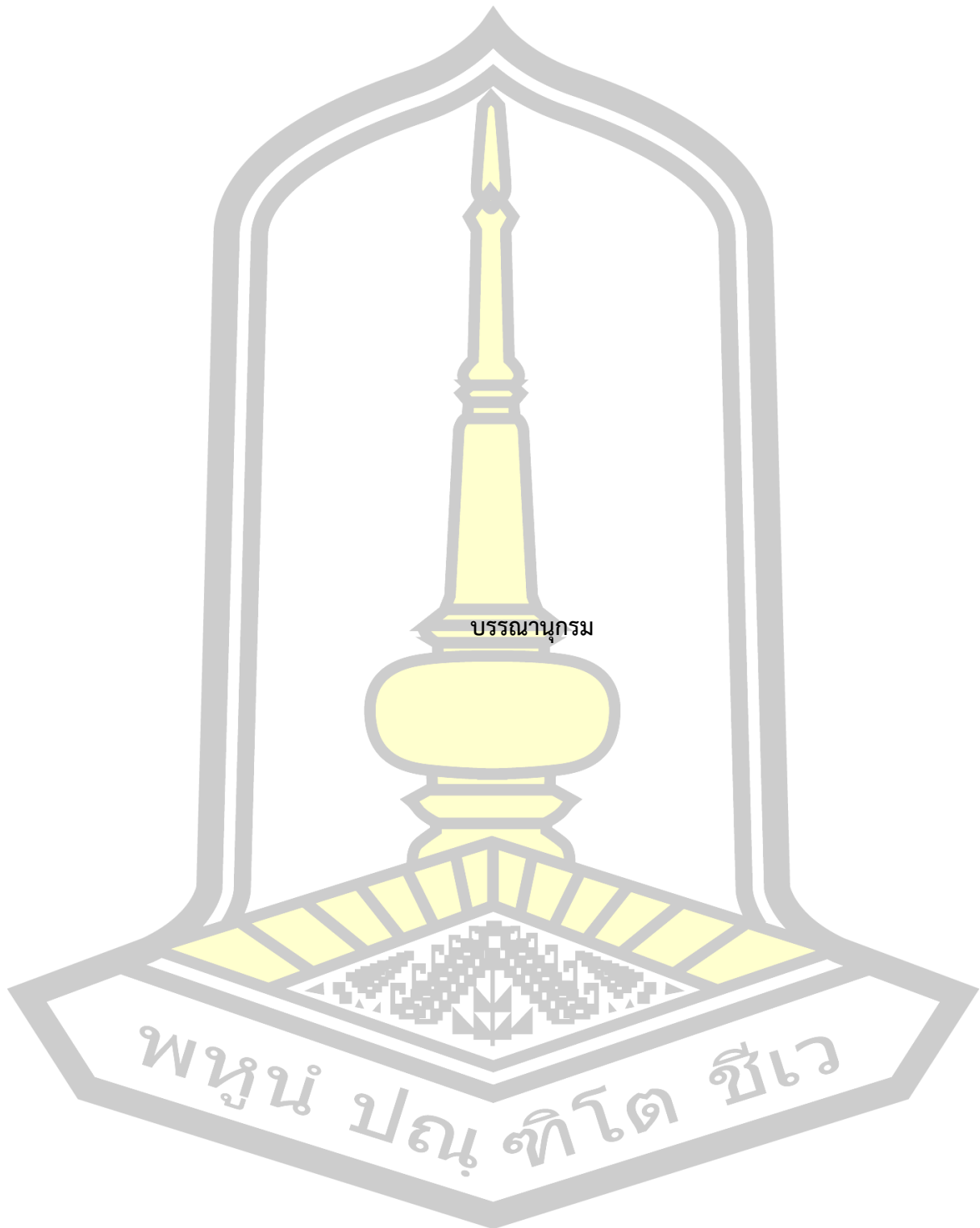
5.4.4 ผลการศึกษาการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* มีความคล้ายคลึงกับ *M. lanchesteri* มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดว่าอยู่ในชนิดเดียวกัน เมื่อวิเคราะห์หาระยะห่างทางพันธุกรรมของ *M. lanchesteri* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยพบว่ามีพันธุกรรมค่อนข้างต่ำโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 0.035

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 งานวิจัยนี้เป็นเพียงบางส่วนเท่านั้น และควรมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมของกึ่งฝอยให้ครอบคลุมทุกภาคของประเทศไทย

5.5.2 นำข้อมูลที่ได้เกี่ยวกับความแตกต่างทางพันธุกรรมกึ่งฝอยเหล่านี้ไปเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรต่อไป

พจนานุกรมศัพท์โต ชีวะ



บรรณานุกรม

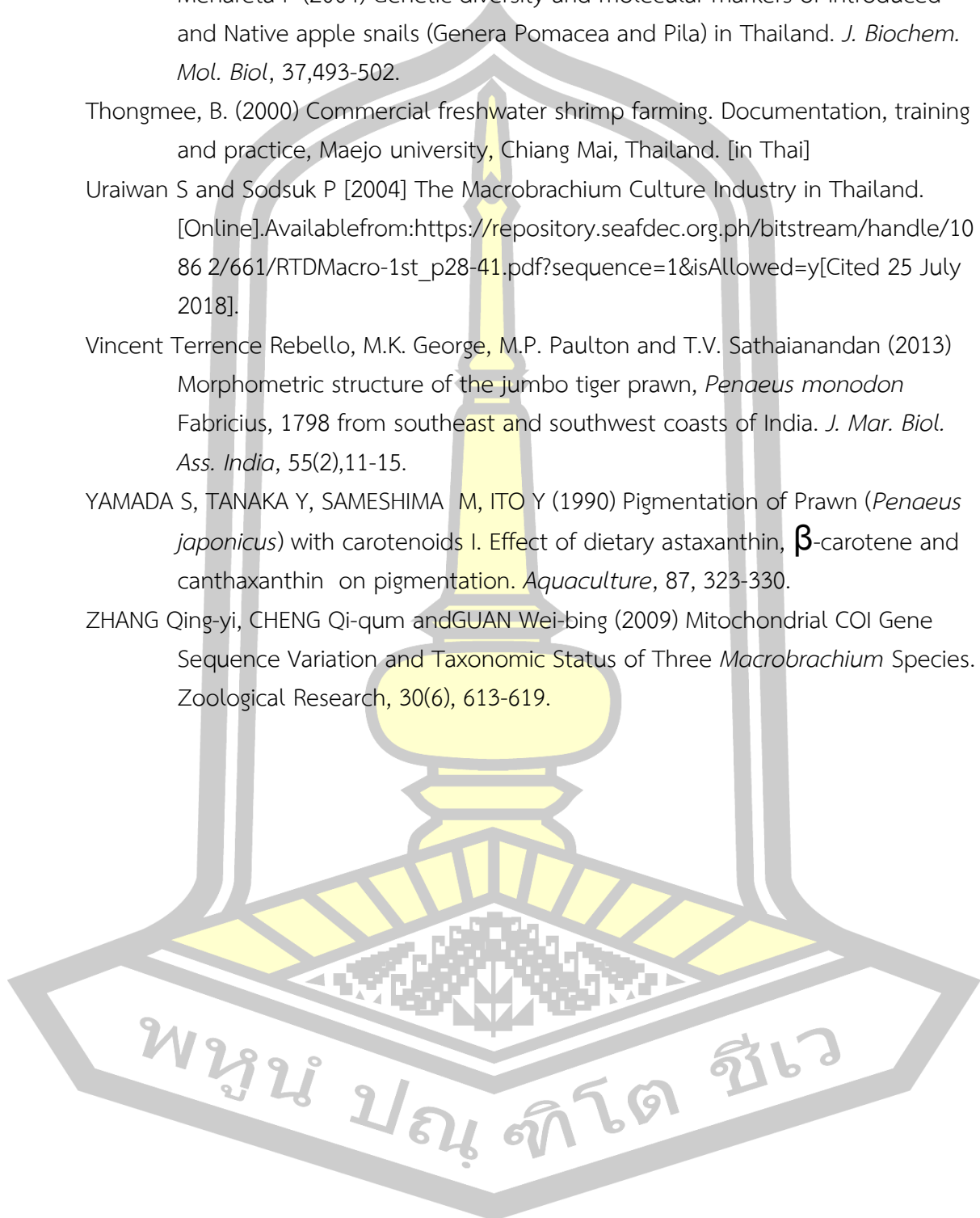
- กัลป์ยกร พิราอรอภิษา และคณะ (2556) ความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดิน และการประเมินคุณภาพน้ำตกวังเต่า อุทยานแห่งชาติทับลาน อำเภอบัวชุม จังหวัดนครราชสีมา. ปัญหาพิเศษ. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.
- กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์ (2558) ชีวบางประการของกุ่มฝอยในพื้นที่ชุ่มน้ำหนองเล็งทราย จังหวัดพะเยา วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.
- กีรวิษณุ เพชรจูล และมณีรัตน์ ศิริสวัสดิ์ (2559) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ่มก้ามกรามในบ่อเลี้ยงของเกษตรกร จังหวัดกาฬสินธุ์ โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์. ว. วิทย์. มข, 44(2), 331-344.
- เกษม จันทรแก้ว (2541) เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม = Environmental technology. กรุงเทพฯ : โครงการสหวิทยาการบัณฑิตศึกษา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จุฑามาศ จิวาลักษณ์ และพรพรรณ ศุภกิจรัตนากุล (ม.ท.ป.) กุ่มสกุล *Macrobrachium* ที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย. สถาบันวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง. มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- ฉัตรชัย ปรีชา, ทวนทอง จุฑาเกตุ และสำเนาวิ เสาวกุล (2557) พลวัตประชากรของกุ่มฝอยในแม่น้ำโขงบริเวณจังหวัดหนองคาย. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.
- ชุตินา คูคุ้มสมุทร, ทิพวัลย์ คำเหม็ง, รัชมี สุวรรณวิระกำธร, ดารารวรรณ เวียงยศ, งามนิจ นนทโส, เสาวนิตย์ ทองพิมพ์และคณะ (2549) โครงการประเมินคุณภาพน้ำโดยใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์เพื่อการจัดการลุ่มน้ำ โขง ชี มูล แบบยั่งยืน. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ณัฐมน หมูโยธา และสิริลักษณ์ แสงแก้ว (2557) การประเมินคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยด้วยวิธีการตัดสินใจแบบหลายเกณฑ์. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- บัญชา ทองมี (2555) การเพาะเลี้ยงกุ่มฝอยเชิงพาณิชย์. [Online]. Available from: <http://www.nnr.nstda.or.th> [Cited 18 May 2018].
- บัญชา ทองมี (2557) การเลี้ยงกุ่มฝอยในระบบที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมโดยเลี้ยงร่วมกับปลา และพรรณไม้บางชนิด. รายงานการวิจัย. คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- พิมลพรรณ สีสละวัฒนากุล (2518) อนุกรมวิธานของกุ่มพาลีโมนิคในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มนตรี จุฬาวัฒนทล และคณะ (2542) ชิวเคมี. กรุงเทพฯ: จิรัชการพิมพ์.

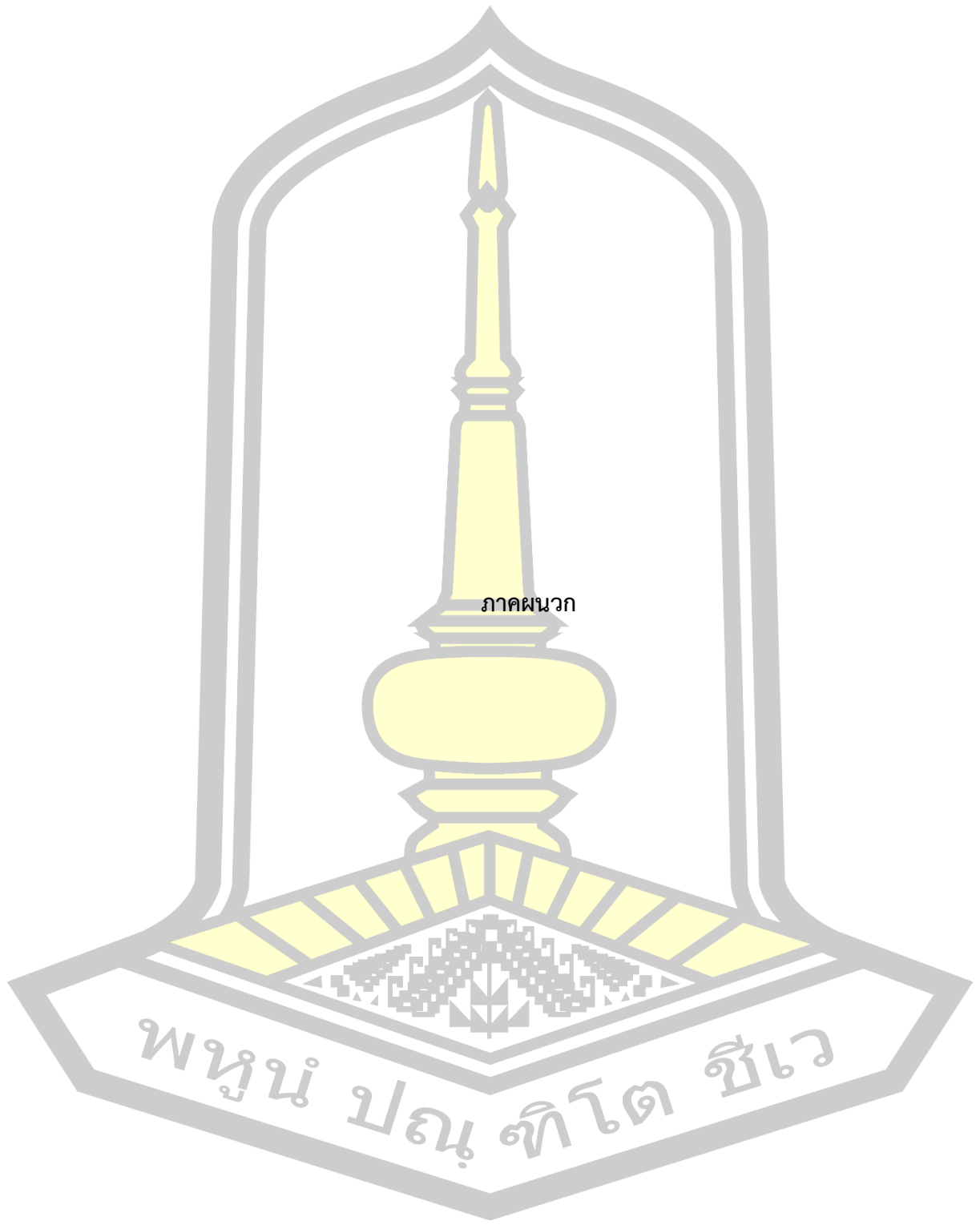
- วณิชญา น้อยวังคลัง (2544) *อนุกรมวิธานของกุ้งน้ำจืดสกุล Macrobrachium Bate, 1868 ในลุ่มน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทศนาจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรุ สิริทธิดิกรัตน์ และสกล พันธุ์ยิ้ม (2541) *สายพืมหีตี่เอ็นเอ: จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล*. กรุงเทพฯ, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.
- วีระพงษ์ ลูธิตานนท์ (2536) *เทคนิคการทำ Polymerase Chain Reaction*. ใน วัฒนา ปานบ้านเกร็ด และสรวง อุดมวรภัณฑ (บรรณาธิการ) *หนังสือคู่มือปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ: เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม*. กรุงเทพฯ, โรงพิมพ์สาธารณสุขมูลฐานอาเซียน. หน้า 20.2-20.12.
- วุฒิวัดน์ เรืองชัย ประดิษฐ์ แสงทอง และ เลิศลักษณ์ เงินศิริ (2552) *ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกุ้งฝอยน้ำจืด (Macrobrachium lanchesteri De Man)*. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 17-20 มีนาคม 2009, กรุงเทพฯ.
- ศรีสุวรรณ เกษมสวัสดิ์ (2555) *คุณภาพน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภคอย่างยั่งยืนในเขตพื้นที่อำเภอบางคนทีจังหวัดสมุทรสงคราม*. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- สิริพร พงษ์สมบุรณ์ (2539) *การตรวจหาความแปรผันทางพันธุกรรมในประชากรกุ้งกุลาดำ Penaeus monodon โดยการตรวจหาลายพืมหีตี่เอ็นเอ*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล (2539) *พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล (2552) *เครื่องหมายดีเอ็นเอจากพื้นฐานสู่การประยุกต์*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อาก แจ่มเมฆ (2520) *ปฏิบัติการสัตววิทยา*. ไทยวัฒนาพานิช.
- Albertson RC and Kocher TD (2001) Assessing morphological differences in an adaptive trait: A landmarkbased morphometric approach. *Journal of Experimental Zoology*, 29(6), 385-403.
- A.L. Guerra, A.V.B. Lima, R.V. Lucato Junior, M.C. Chiachio (2014) Genetic variability and phylogenetic aspects in species of the genus *Macrobrachium*. *Genetics and Molecular Research*, 13(2), 3646-3655.
- ARREDONDO-FIGUEROA J L, PEDROZA-ISLAS R, PONCE-PALAFox J.T, VERNON-CARTER E J (2003) Pigmentation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) with esterified and saponified carotenoids from red chili (*Capsicum annuum*) in comparison to astaxanthin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 2, 101-108.

- Aziz Arshad, S.N.M. Amin, Wan Nurul Izzah, D. Aziz and R. Ara (2013) Morphometric variation among the populations of planktonic shrimp, *Acetes japonicas* in the west coast of peninsular Malaysia. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2), 194-204.
- Bavornlak Khamnamtong, Sirawut Klinbunga and Piamsak Menasveta (2005) Species identification of five penaeid shrimps using PCR-RFLP and SSCP analyses of 16S ribosomal DNA. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38(4), 491-499.
- BOONYARATPALIN M, THONGROD S, SUPAMATTAYA K, BRITTON G, SCHLIPALIUS L E (2001) Effects of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus mondon*. *Aquaculture Research*, 32: 1825-1905.
- D' Amato ME and D Corach (1996) Genetic diversity of population of the freshwater shrimp *Macrobrachium borellii* (Caridae: Palaemonidae) evaluated by RAPD marker analysis. *J.Crustacean Biol*, 16, 650-655.
- Daly, H.V. (1985) Insect morphometric. *Annual Review of Entomology*, 30,415-438.
- De Grave S, Wowor D and Cai X [2013] *Macrobrachium lanchesteri*. [Online]. Available from: <https://www.iucnredlist.org/species/197834/2502036> [Cited 11 April 2018].
- Fernanda G, Verganaini Leonerdo G, Pileggi and Fernando L.Mantelatto (2011) Genetid variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Zoology*, 80(1), 67-83.
- Frezal L and Leblois R (2008) Four years of DNA barcoding. Current advances and prospects. *Infection Genatice and Evolution*, 8, 727-736.
- H.Qiao, D.LV, S.F. Jiang, S.M. Sun, V.S. Gong, Y.W. Xiong, S.B. Jin and H.T. Fu (2013) Geneticdiversity analysis of oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*, in Yellow River using microsatellite marker. *Genetics and Molecular Research*, 12(4), 5694-5703.
- Hoa, N. P. and Yi, Y. (2007) Prey ingestion and live food selectivity of marble goby (*Oxyeleotris marmorata*) using rice field prawn (*Macrobrachium lanchesteri*) as . prey. *Aquaculture*. 273 (4): 443-448.
- Holthuis LB (1980) Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interast to fisherics. FAO species catalogue.Vol.1,(125), 1-261.

- Jongyotha S. (2004) Some Factors Relating to Productivity of Mass Culture of Lanchester's Freshwater Prawn, (*Macrobrachium lanchesteri* de Man, 1911). Master of Science Thesis in Fisheries, Graduate School, Khon Kaen University. [In Thai]
- K.H. Chu, Q.C. Chen, L.M. Huang and C.K. Wong (1995) Morphometric analysis of commercially important penaeid shrimps from the zhujiang estuary, China. *Fisheries Research*, 23, 83-93.
- K V Anantha Raman, S Ravichandra Reddy and Katre Shakuntala (1986) Distribution and abundance of prawns in the freshwater habitats of Bangalore, South India. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 95(1), 77-87.
- K.Y.Ma, J.B.Feng and J.L.Li (2012) Genetic variation based on microsatellite analysis of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense* from Qiandao Lake in China. *Genetics and Molecular Research*, 11(4), 4235-4244.
- Lester L. J. (1983) Developing a selective breeding program for penaeid shrimp mariculture. *Aquaculture*, 33, 41-50.
- Maria Eugenia D'Amato and Daniel Corach (1996) Genetic Diversity of Populations of the Fresh-water Shrimp *Macrobrachium borellii* (CARIDEA: PALAEMONIDAE) Evaluated by RAPD Analysis. *Crustacean Biology*, 16(4), 650-655.
- Nkeonyeasua Florence OLELE, Prekeyi TAWARI-FUFEYIN and Josiah Chidiebere OKONKWO (2012) Reproductive biology of freshwater prawn *Macrobrachium vollenhovenii* (Herklot, 1857) caught in warri river. *Banat's Journal of Biotechnology*, 3(6)86-96.
- Po Cheng Chen (2015) Morphometric variation of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) in Taiwan. *Limnologica*, 52, 51-58.
- R.Udayasuriyan, P.Saravana Bhavan, C. Vadivalagan and G.Rajkumar (2015) Efficiency of different COI markers in DNA barcoding of freshwater prawn species. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(3), 98-110.
- Rohlf FT. (1999) Shape Statistical: Procrustes Superimposition and Tangent Spaces. *Journal of Classification*, 16, 197-223.
- Sadequr Rahman Khan, Habiba Akter, Nargis Suitana, Mohd. Golam Quader Khan, Md.Abdul Wahab and Md. Samsul Alam (2014) Genetic Diversity in Three River Population of the Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Bangladesh Assessed by Microsatellite DNA Markers. *Int.J.Agric.Biol*, 16, 195-200.
- Sinha, A.K. (1972) Colorimetric assay of catalase. *Anal. Biochem*, 47,389-394.

- Thaewnon-ngiew B, Klinbunga S, Phanwichien K, Sangduen N, Lauhajinda N and Menareta P (2004) Genetic diversity and molecular markers of introduced and Native apple snails (Genera Pomacea and Pila) in Thailand. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 37,493-502.
- Thongmee, B. (2000) Commercial freshwater shrimp farming. Documentation, training and practice, Maejo university, Chiang Mai, Thailand. [in Thai]
- Uraivan S and Sodsuk P [2004] The Macrobrachium Culture Industry in Thailand. [Online]. Available from: https://repository.seafdec.org.ph/bitstream/handle/10862/661/RTDMacro-1st_p28-41.pdf?sequence=1&isAllowed=y [Cited 25 July 2018].
- Vincent Terrence Rebello, M.K. George, M.P. Paulton and T.V. Sathianandan (2013) Morphometric structure of the jumbo tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 from southeast and southwest coasts of India. *J. Mar. Biol. Ass. India*, 55(2),11-15.
- YAMADA S, TANAKA Y, SAMESHIMA M, ITO Y (1990) Pigmentation of Prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids I. Effect of dietary astaxanthin, β -carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture*, 87, 323-330.
- ZHANG Qing-yi, CHENG Qi-qum and GUAN Wei-bing (2009) Mitochondrial COI Gene Sequence Variation and Taxonomic Status of Three *Macrobrachium* Species. *Zoological Research*, 30(6), 613-619.





ภาคผนวก

พหุบัณฑิตยาลัย

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. TBE buffer 5X

Tris base	54 กรัม
Boric acid	27.5 กรัม
EDTA	3.72 กรัม

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. Tris HCL 1M

เตรียม Tris base 121.1 กรัม ละลายในน้ำ 800 มิลลิเมตร จากนั้นปรับ pH โดยใช้กรด HCL เข้มข้นจนได้ pH ที่ต้องการ (pH 6.8-8) แล้วปรับปริมาตรด้วยการเติมน้ำให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. TE buffer (Tris- EDTA buffer)

10mM Tris HCL
1mM EDTA

4. EDTA

ชั่ง disodium ethylenediamine tetraacetata 7.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย NaOH ให้ได้ pH 8.0 ที่ EDTA จะละลายได้หมดพอดี จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

5. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง Ethidium bromide 0.1 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในการเตรียมสารละลายนี้จะต้องระมัดระวังมาก โดยการใส่ถุงมือและอย่าหายใจเอาผงของ Ethidium bromide เข้าไป เนื่องจากสารนี้มีคุณสมบัติเป็น Strong mutagen

6. Loading dye 10X

Bromophenol blue	0.4 กรัม
Glycerol	5 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	5 มิลลิลิตร

ชั่ง Bromophenol blue 0.4 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร เติม Glycerol 5 มิลลิลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7. NaCl 5 M

ละลายสาร NaCl 29.2 กรัม ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิกรัม แล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

8. SDS 20%

ชั่งสาร SDS 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยทำให้อุ่นเล็กน้อยเพื่อให้สารละลายได้ดียิ่งขึ้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

9. Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol (25:24:1)

Phenol 25 มิลลิลิตร

Chloroform 24 มิลลิลิตร

Isoamyl alcohol 1 มิลลิลิตร

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

10. Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1)

Chloroform 48 มิลลิลิตร

Isoamyl alcohol 2 มิลลิลิตร

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

11. CTAB buffer (Cetyltrimethylammonium bromide) 2%

เตรียม CTAB buffer 100 มิลลิลิตร

5 M NaCl 28 มิลลิลิตร

0.5 M EDTA 4 มิลลิลิตร

1 M Tris HCL 10 มิลลิลิตร

CTAB 2 กรัม

น้ำกลั่น 56 มิลลิลิตร

ละลายทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

พหุ ประถมศึกษา

คุณสมบัติของเอนไซม์ตัดจำเพาะ และคุณสมบัติของไพรเมอร์

ตารางภาคผนวก 1 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ใช้คัดเลือก

Enzyme	Buffer	Recognition
<i>Dde</i> I	D	G/TNGC CANC/G
<i>Taq</i> I	E	T/CGA AGC/T
<i>Alu</i> I	B	AG/CT TC/GA
<i>Sau</i> 3A	B	/GATC CTAG/
<i>Pst</i> I	H	CTGCA/G G/ACGTC
<i>EcoR</i> I	H	G/AATTC CTTAA/G
<i>Hha</i> I	C	GCG/C C/GCG
<i>Hind</i> I	E	A/AGCTT TTCGA/A
<i>Hinf</i> I	B	.G/ANTC CTNA/G
<i>BamH</i> I	E	G/GATCC CCTAG/G

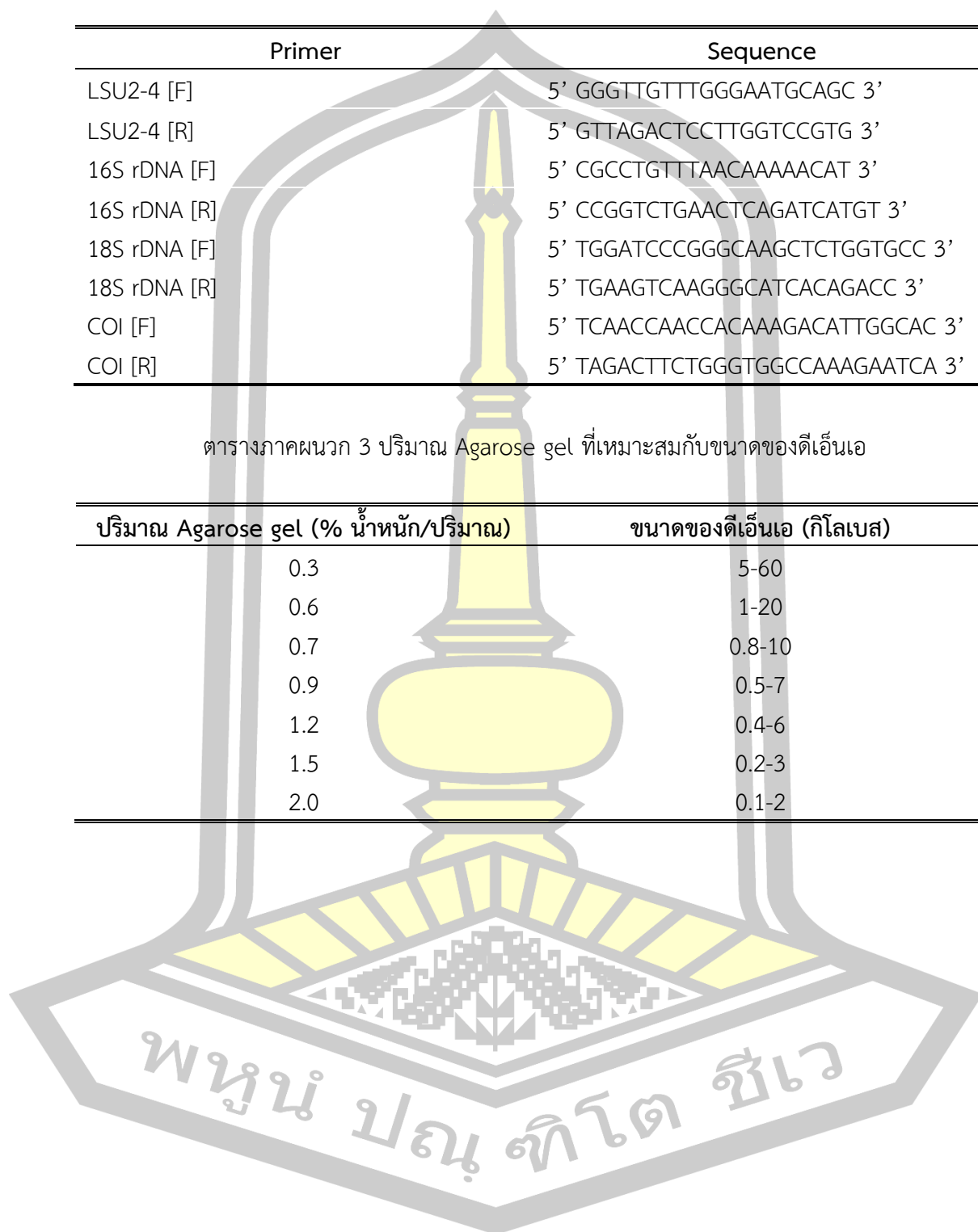
พหุ ประถมศึกษา ชีวะ

ตารางภาคผนวก 2 ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำ PCR-RFLP

Primer	Sequence
LSU2-4 [F]	5' GGGTTGTTTGGGAATGCAGC 3'
LSU2-4 [R]	5' GTTAGACTCCTTGGTCCGTG 3'
16S rDNA [F]	5' CGCCTGTTTAACAAAAACAT 3'
16S rDNA [R]	5' CCGGTCTGAACTCAGATCATGT 3'
18S rDNA [F]	5' TGGATCCCGGGCAAGCTCTGGTGCC 3'
18S rDNA [R]	5' TGAAGTCAAGGGCATCACAGACC 3'
COI [F]	5' TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC 3'
COI [R]	5' TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA 3'

ตารางภาคผนวก 3 ปริมาณ Agarose gel ที่เหมาะสมกับขนาดของดีเอ็นเอ

ปริมาณ Agarose gel (% น้ำหนัก/ปริมาณ)	ขนาดของดีเอ็นเอ (กิโลเบส)
0.3	5-60
0.6	1-20
0.7	0.8-10
0.9	0.5-7
1.2	0.4-6
1.5	0.2-3
2.0	0.1-2



ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกึ่งฝอย

ตารางภาคผนวก 4 ข้อมูลการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเพศผู้ ในพื้นที่ 16 จังหวัดที่ทำการวิจัย

CP	1	2.3	1.8	0.5	1.4	0.5	NR	2	2.4	1.9	0.4	1.4	0.5
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.6		2	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.4	1.9	0.4	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.7	1.5	0.5		2	2.5	1.9	0.5	1.5	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.5		2	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.4	1.8	0.6	1.3	0.5		2	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7
	1	2.6	2	0.6	1.3	0.5		2	2.7	2.1	0.6	1.3	0.7
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.4		2	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.4		2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.5
	1	2.6	2	0.7	1.3	0.6		2	2.4	1.8	0.5	1.4	0.6
	1	2.3	1.8	0.5	1.3	0.5		2	2.5	1.9	0.5	1.3	0.5
	1	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5		2	2.6	1.9	0.6	1.5	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5
	1	2.7	2.1	0.6	1.4	0.5		2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.6	1.5	0.5		2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5		2	2.6	2	0.4	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.3	0.6		2	2.5	1.9	0.7	1.4	0.5
	1	2.3	1.8	0.5	1.2	0.6		2	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5		2	2.3	1.8	0.6	1.3	0.6
	1	2.6	2	0.7	1.3	0.5		2	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5
	1	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6		2	2.3	1.9	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.7	1.3	0.5		2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6
	1	2.3	1.8	0.5	1.4	0.5		2	2.3	1.8	0.5	1.4	0.6
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.6		2	2.4	1.9	0.4	1.4	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.5
	1	2.7	2.1	0.7	1.5	0.5		2	2.4	1.9	0.4	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.5	1.9	0.5	1.5	0.5
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.5		2	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5
	1	2.4	1.8	0.6	1.3	0.5		2	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.3	0.5		2	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.4		2	2.7	2.1	0.6	1.3	0.7
	1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.4		2	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.7	1.3	0.6		2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.5
	1	2.3	1.8	0.5	1.3	0.5		2	2.4	1.8	0.5	1.4	0.6



ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

1	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5	2	2.5	1.9	0.5	1.3	0.5		
1	2.6	2	0.6	1.4	0.6	2	2.6	1.9	0.6	1.5	0.5		
1	2.7	2	0.6	1.4	0.6	2	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5		
1	2.7	2.1	0.6	1.5	0.6	2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6		
1	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5	2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		
1	2.6	2.1	0.6	1.3	0.6	2	2.6	2	0.4	1.4	0.6		
1	2.3	1.8	0.5	1.2	0.6	2	2.5	1.9	0.7	1.4	0.5		
1	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5	2	2.6	2	0.5	1.4	0.6		
1	2.6	2	0.7	1.3	0.5	2	2.3	1.8	0.6	1.3	0.6		
1	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6	2	2.4	1.9	0.6	1.4	0.5		
1	2.6	2	0.7	1.3	0.5	2	2.3	1.9	0.5	1.4	0.6		
1	2.6	2	0.6	1.3	0.5	2	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6		
1	2.5	1.9	0.5	1.3	0.4	2	2.3	1.8	0.5	1.4	0.6		
KK	3	2.9	2.2	0.7	1.5	0.7	MS	4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	3	2.2	0.7	1.6	0.7		4	3	2.3	0.7	1.6	0.7
	3	3.1	2.4	0.7	1.7	0.6		4	3.1	2.4	0.7	1.7	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.6		4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.8	2.1	0.6	1.4	0.5		4	3	2.3	0.7	1.5	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.4		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	3.2	2.4	0.8	1.6	0.5		4	3.4	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.7	2.1	0.6	1.4	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.6	2	0.6	1.4	0.7		4	3.3	2.4	0.8	1.6	1
	3	2.9	2.1	0.6	1.3	0.6		4	3.4	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.5	1.9	0.4	1.5	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.8	2.1	0.5	1.4	0.5		4	3.1	2.4	0.7	1.6	0.7
	3	2.7	2.1	0.5	1.5	0.4		4	3	2.3	0.7	1.5	0.6
	3	2.6	2	0.6	1.4	0.4		4	2.8	2.1	0.7	1.6	0.7
	3	2.8	2.1	0.5	1.5	0.6		4	3	2.3	0.7	1.5	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.4		4	2.7	2.1	0.7	1.4	1
	3	2.5	1.9	0.6	1.5	0.6		4	3	2.3	0.9	1.5	1
	3	2.6	2	0.5	1.3	0.5		4	3.4	2.4	0.8	1.5	0.6
	3	2.7	2	0.6	1.4	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.5	0.7
	3	3	2.3	0.5	1.4	0.5		4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.7	2	0.6	1.5	0.6		4	3.5	2.5	0.9	1.5	0.6
	3	2.6	1.9	0.5	1.4	0.6		4	3.3	2.5	0.7	1.6	0.7
	3	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8		4	3.1	2.4	0.9	1.6	0.8
	3	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		4	3.5	2.5	1	1.5	0.9
	3	3.4	2.7	1	1.8	1		4	3.7	2.7	0.7	1.6	0.8
	3	2.9	2.2	0.7	1.5	0.7		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	3	2.2	0.7	1.6	0.7		4	3	2.3	0.7	1.6	0.7
	3	3.1	2.4	0.7	1.7	0.6		4	3.1	2.4	0.7	1.7	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.6		4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.8	2.1	0.6	1.4	0.5		4	3	2.3	0.7	1.5	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.4		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	3.2	2.4	0.8	1.6	0.5		4	3.4	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.7	2.1	0.6	1.4	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.6	2	0.6	1.4	0.7		4	3.3	2.4	0.8	1.6	1
	3	2.9	2.1	0.6	1.3	0.6		4	3.4	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.5	1.9	0.4	1.5	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8
	3	2.8	2.1	0.5	1.4	0.5		4	3.1	2.4	0.7	1.6	0.7
	3	2.7	2.1	0.5	1.5	0.4		4	3	2.3	0.7	1.5	0.6
	3	2.6	2	0.6	1.4	0.4		4	2.8	2.1	0.7	1.6	0.7
	3	2.8	2.1	0.5	1.5	0.6		4	3	2.3	0.7	1.5	0.7
	3	2.7	2.1	0.6	1.5	0.4		4	2.7	2.1	0.7	1.4	1
	3	2.5	1.9	0.6	1.5	0.6		4	3	2.3	0.9	1.5	1
	3	2.6	2	0.5	1.3	0.5		4	3.4	2.4	0.8	1.5	0.6
	3	2.7	2	0.6	1.4	0.6		4	3.2	2.4	0.8	1.5	0.7
	3	3	2.3	0.5	1.4	0.5		4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	2.7	2	0.6	1.5	0.6		4	3.5	2.5	0.9	1.5	0.6
	3	2.6	1.9	0.5	1.4	0.6		4	3.3	2.5	0.7	1.6	0.7
	3	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8		4	3.1	2.4	0.9	1.6	0.8
	3	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		4	3.5	2.5	1	1.5	0.9
	3	3.4	2.7	1	1.8	1		4	3.7	2.7	0.7	1.6	0.8
RE	5	3.4	2.4	0.8	1.6	1	YS	6	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7
	5	3.5	2.5	0.9	1.6	1		6	2.9	2.2	0.7	1.4	0.7
	5	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8		6	2.7	2.1	0.7	1.4	0.4
	5	3.4	2.4	0.8	1.6	1		6	2.2	1.8	0.4	1.3	0.6
	5	3.5	2.5	0.8	1.7	1		6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6
	5	3.5	2.5	0.8	1.5	1		6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6
	5	3.6	2.5	0.9	1.6	1		6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6
	5	3.7	2.6	0.9	1.6	1.1		6	2.6	2	0.6	1.4	0.4
	5	3.5	2.7	0.9	1.7	1		6	2.2	2.1	0.5	1.3	0.6
	5	3.4	2.5	1	1.7	1		6	2.5	1.8	0.5	1.4	0.6
	5	3.5	2.4	0.9	1.6	1		6	2.6	1.9	0.5	1.4	0.6

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

5	3.4	2.5	0.9	1.7	1	6	2.5	1.9	0.6	1.4	0.5		
5	3.6	2.4	1	1.6	1	6	2.4	2	0.6	1.3	0.5		
5	3.5	2.6	0.8	1.6	1	6	2.3	1.9	0.5	1.2	0.5		
5	3.7	2.5	0.9	1.7	1	6	2.4	1.8	0.5	1.3	0.6		
5	3.3	2.7	0.8	1.6	1	6	2.4	1.9	0.5	1.4	0.5		
5	3.3	2.4	0.9	1.6	1	6	2.3	1.8	0.5	1.4	0.5		
5	3.5	2.4	0.9	1.7	1	6	2.2	1.9	0.5	1.3	0.4		
5	3.4	2.5	1	1.6	0.9	6	2.4	1.9	0.6	1.2	0.6		
5	3.2	2.4	0.8	1.7	1	6	2.3	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.3	2.5	0.9	1.7	1	6	2.5	1.8	0.6	1.3	0.6		
5	3.4	2.5	0.9	1.5	1	6	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5		
5	3.4	2.4	0.8	1.5	1	6	2.4	1.8	0.5	1.3	0.5		
5	3.6	2.6	0.8	1.6	0.8	6	2.5	2	0.6	1.4	0.5		
5	3.5	2.5	0.8	1.6	0.9	6	2.5	1.8	0.5	1.3	0.5		
5	3.4	2.4	0.8	1.6	1	6	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7		
5	3.5	2.5	0.9	1.6	1	6	2.9	2.2	0.7	1.4	0.7		
5	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8	6	2.7	2.1	0.7	1.4	0.4		
5	3.4	2.4	0.8	1.6	1	6	2.2	1.8	0.4	1.3	0.6		
5	3.5	2.5	0.8	1.7	1	6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.5	2.5	0.8	1.5	1	6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.6	2.5	0.9	1.6	1	6	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.7	2.6	0.9	1.6	1.1	6	2.6	2	0.6	1.4	0.4		
5	3.5	2.7	0.9	1.7	1	6	2.2	2.1	0.5	1.3	0.6		
5	3.4	2.5	1	1.7	1	6	2.5	1.8	0.5	1.4	0.6		
5	3.5	2.4	0.9	1.6	1	6	2.6	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.4	2.5	0.9	1.7	1	6	2.5	1.9	0.6	1.4	0.5		
5	3.6	2.4	1	1.6	1	6	2.4	2	0.6	1.3	0.5		
5	3.5	2.6	0.8	1.6	1	6	2.3	1.9	0.5	1.2	0.5		
5	3.7	2.5	0.9	1.7	1	6	2.4	1.8	0.5	1.3	0.6		
5	3.3	2.7	0.8	1.6	1	6	2.4	1.9	0.5	1.4	0.5		
5	3.3	2.4	0.9	1.6	1	6	2.3	1.8	0.5	1.4	0.5		
5	3.5	2.4	0.9	1.7	1	6	2.2	1.9	0.5	1.3	0.4		
5	3.4	2.5	1	1.6	0.9	6	2.4	1.9	0.6	1.2	0.6		
5	3.2	2.4	0.8	1.7	1	6	2.3	1.9	0.5	1.4	0.6		
5	3.3	2.5	0.9	1.7	1	6	2.5	1.8	0.6	1.3	0.6		
5	3.4	2.5	0.9	1.5	1	6	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5		
5	3.4	2.4	0.8	1.5	1	6	2.4	1.8	0.5	1.3	0.5		
5	3.6	2.6	0.8	1.6	0.8	6	2.5	2	0.6	1.4	0.5		
5	3.5	2.5	0.8	1.6	0.9	6	2.5	1.8	0.5	1.3	0.5		
BR	7	1.6	1.4	0.4	1.1	0.2	SR	8	3.6	2.6	0.9	1.8	1
7	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.6	0.9	1.8	1	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3.3	2.4	0.9	1.7	0.9	1	
7	1.6	1.4	0.4	1.1	0.3	8	3.4	2	0.8	1.8	1	1	
7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9	1	
7	1.6	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.7	1.7	1	1	
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.6	1	1	
7	1.7	1.5	0.3	1	0.3	8	3	2.3	0.7	1.7	1	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.7	1.8	0.7	1	
7	1.5	1.2	0.3	1.1	0.2	8	3.5	2.5	0.9	1.6	0.7	1	
7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	3.1	2.4	0.7	1.6	1	1	
7	1.7	1.5	0.3	1.2	0.2	8	3	2.3	0.7	0.7	0.7	0.7	
7	1.7	1.5	0.3	0.9	0.3	8	3	2.3	0.7	1.5	0.7	1	
7	1.6	1.4	0.3	1	0.2	8	3	2.3	0.7	1.6	0.7	1	
7	1.4	1.2	0.3	1.2	0.3	8	2.9	2.2	0.7	1.7	0.7	1	
7	1.6	1.6	0.3	1.2	0.3	8	3	2.3	0.8	1.8	0.7	1	
7	1.5	1.6	0.3	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.8	1.6	0.8	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3	2.3	0.9	1.6	0.8	1	
7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	2.9	2.2	0.7	1.5	0.9	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.2	2.4	0.8	1.7	0.8	1	
7	1.7	1.4	0.3	1.2	0.3	8	3.1	2.4	0.9	1.6	0.7	1	
7	1.7	1.4	0.3	1.1	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.8	0.7	1	
7	1.6	1.5	0.3	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.7	1.7	0.9	1	
7	1.5	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.7	1.6	0.9	1	
7	1.6	1.5	0.3	1.1	0.2	8	3.3	2.6	0.8	1.7	0.8	1	
7	1.6	1.4	0.4	1.1	0.2	8	3.6	2.6	0.9	1.8	1	1	
7	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.6	0.9	1.8	1	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3.3	2.4	0.9	1.7	0.9	1	
7	1.6	1.4	0.4	1.1	0.3	8	3.4	2	0.8	1.8	1	1	
7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9	1	
7	1.6	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.7	1.7	1	1	
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.6	1	1	
7	1.7	1.5	0.3	1	0.3	8	3	2.3	0.7	1.7	1	1	
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.7	1.8	0.7	1	
7	1.5	1.2	0.3	1.1	0.2	8	3.5	2.5	0.9	1.6	0.7	1	

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	3.1	2.4	0.7	1.6	1		
7	1.7	1.5	0.3	1.2	0.2	8	3	2.3	0.7	0.7	0.7		
7	1.7	1.5	0.3	0.9	0.3	8	3	2.3	0.7	1.5	0.7		
7	1.6	1.4	0.3	1	0.2	8	3	2.3	0.7	1.6	0.7		
7	1.4	1.2	0.3	1.2	0.3	8	2.9	2.2	0.7	1.7	0.7		
7	1.6	1.6	0.3	1.2	0.3	8	3	2.3	0.8	1.8	0.7		
7	1.5	1.6	0.3	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.8	1.6	0.8		
7	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2	8	3	2.3	0.9	1.6	0.8		
7	1.6	1.4	0.3	1.2	0.2	8	2.9	2.2	0.7	1.5	0.9		
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.2	2.4	0.8	1.7	0.8		
7	1.7	1.4	0.3	1.2	0.3	8	3.1	2.4	0.9	1.6	0.7		
7	1.7	1.4	0.3	1.1	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.8	0.7		
7	1.6	1.5	0.3	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.7	1.7	0.9		
7	1.5	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.7	1.6	0.9		
7	1.6	1.5	0.3	1.1	0.2	8	3.3	2.6	0.8	1.7	0.8		
L	9	3.6	2.5	0.9	1.7	1	NK	10	4.3	3	1.1	2	1.3
	9	3.5	2.6	1	1.8	1		10	3.6	2.6	0.9	1.8	1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	4	2.9	1	2	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	3.9	2.8	1	1.9	1.1
	9	3.6	2.4	0.8	1.6	0.9		10	3.5	2.5	0.9	1.7	1
	9	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		10	4.2	2.4	1.1	2	1.3
	9	3.5	2.4	0.8	1.7	1		10	4.3	2.3	1.1	2	1.2
	9	3.7	2.7	0.8	1.8	1		10	3.5	2.4	1.1	2	1.3
	9	3.1	2.4	1	1.8	1		10	3.7	2.5	0.9	2	1
	9	3.6	2.4	0.7	1.7	0.7		10	3.9	2.7	1	2	1
	9	3.4	2.6	0.8	1.7	0.8		10	4	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.5	2.5	0.9	1.8	0.9		10	3.6	2.7	1	1.9	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	0.9		10	3.7	2.7	0.9	1.8	1
	9	3.3	2.5	0.9	1.8	1		10	3.7	2.5	1	1.7	1
	9	3.5	2.5	0.9	1.9	1		10	3.8	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	3.7	2.7	0.9	1.9	1
	9	3.2	2.4	0.8	1.7	1		10	3.8	2.7	1	1.7	1
	9	3.3	2.7	0.8	1.7	1		10	3.8	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.5	2.5	1	1.8	1		10	3.8	2.8	1	1.7	1
	9	3.4	2.6	0.9	1.6	0.9		10	4	2.9	1	1.7	1.1
	9	3.6	2.5	1	1.7	0.9		10	3.9	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		10	3.9	2.8	1	1.9	1.1
	9	3.5	2.6	0.8	1.6	1		10	4.3	2.7	0.8	1.7	1.1
	9	3.3	2.5	0.8	1.7	1		10	3.8	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.4	2.5	0.9	1.8	1		10	4.3	3	1.1	2	1.3
	9	3.6	2.5	0.9	1.7	1		10	3.6	2.6	0.9	1.8	1
	9	3.5	2.6	1	1.8	1		10	4	2.9	1	2	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	3.9	2.8	1	1.9	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	3.5	2.5	0.9	1.7	1
	9	3.6	2.4	0.8	1.6	0.9		10	4.2	2.4	1.1	2	1.3
	9	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		10	4.3	2.3	1.1	2	1.2
	9	3.5	2.4	0.8	1.7	1		10	3.5	2.4	1.1	2	1.3
	9	3.7	2.7	0.8	1.8	1		10	3.7	2.5	0.9	2	1
	9	3.1	2.4	1	1.8	1		10	3.9	2.7	1	2	1
	9	3.6	2.4	0.7	1.7	0.7		10	4	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.4	2.6	0.8	1.7	0.8		10	3.6	2.7	1	1.9	1.1
	9	3.5	2.5	0.9	1.8	0.9		10	3.7	2.7	0.9	1.8	1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	0.9		10	3.7	2.5	1	1.7	1
	9	3.3	2.5	0.9	1.8	1		10	3.8	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.5	2.5	0.9	1.9	1		10	3.7	2.7	0.9	1.9	1
	9	3.4	2.4	0.8	1.8	1		10	3.8	2.7	1	1.7	1
	9	3.2	2.4	0.8	1.7	1		10	3.8	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.3	2.7	0.8	1.7	1		10	3.8	2.8	1	1.7	1
	9	3.5	2.5	1	1.8	1		10	4	2.9	1	1.7	1.1
	9	3.4	2.6	0.9	1.6	0.9		10	3.9	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.6	2.5	1	1.7	0.9		10	3.9	2.8	1	1.9	1.1
	9	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		10	4.3	2.7	0.8	1.7	1.1
	9	3.5	2.6	0.8	1.6	1		10	3.8	2.8	1	1.7	1.1
	9	3.3	2.5	0.8	1.7	1		10	3.7	2.5	0.9	2	1
	9	3.4	2.5	0.9	1.8	1		10	3.9	2.7	1	2	1
NP	11	2.4	1.9	0.4	1.4	0.5	MD	12	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6
	11	2.5	1.9	0.4	1.3	0.6		12	2.5	1.8	0.4	1.4	0.4
	11	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		12	2.2	1.9	0.5	1.4	0.5
	11	2.6	2	0.6	1.4	0.6		12	2.4	1.8	0.6	1.4	0.6
	11	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6		12	2.5	2	0.5	1.3	0.6
	11	2.5	1.9	0.5	1.3	0.6		12	2.6	1.9	0.7	1.4	0.6
	11	2.6	2	0.6	1.2	0.6		12	2.4	2.1	0.6	1.4	0.6
	11	2.6	1.9	0.6	1.3	0.6		12	2.5	2.1	0.7	1.3	0.6
	11	2.7	1.9	0.6	1.4	0.5		12	2.2	2.1	0.7	1.4	0.6

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

13	1.5	1.5	0.4	1.1	0.3	14	1.5	1.3	0.4	1	0.2		
13	1.6	1.3	0.3	1.1	0.2	14	1.7	1.3	0.4	0.9	0.2		
13	1.5	1.6	0.3	1.1	0.3	14	1.7	1.5	0.4	0.9	0.3		
13	1.5	1.3	0.3	1.2	0.3	14	1.6	1.5	0.4	1	0.2		
13	1.6	1.3	0.4	1.1	0.2	14	1.7	1.5	0.3	1	0.3		
13	1.7	1.6	0.3	1.2	0.3	14	1.5	1.6	0.4	1	0.3		
13	1.5	1.5	0.3	1.1	0.3	14	1.5	1.5	0.3	1.1	0.2		
13	1.6	1.4	0.4	1.1	0.2	14	1.5	1.3	0.4	1.1	0.2		
13	1.5	1.4	0.3	1.1	0.3	14	1.6	1.5	0.3	0.9	0.2		
13	1.6	1.4	0.4	1.2	0.2	14	1.7	1.5	0.4	1	0.3		
13	1.7	1.5	0.3	1.1	0.2	14	1.6	1.6	0.3	1.1	0.2		
13	1.6	1.3	0.3	1.2	0.2	14	1.5	1.5	0.4	0.9	0.2		
13	1.6	1.4	0.4	1.1	0.2	14	1.6	1.5	0.3	0.9	0.2		
13	1.6	1.4	0.3	1.1	0.3	14	1.5	1.6	0.3	1	0.3		
13	1.5	1.6	0.4	1.2	0.2	14	1.6	1.5	0.3	1	0.3		
13	1.6	1.5	0.4	1.1	0.3	14	1.5	1.6	0.4	1.1	0.3		
13	1.7	1.3	0.4	1.1	0.3	14	1.6	1.6	0.3	1	0.2		
SK	15	2.2	1.8	0.6	1.5	0.6	AC	16	3.7	2.7	1	1.7	1
	15	2.6	2	0.6	1.4	0.6		16	3.5	2.5	0.9	1.6	1
	15	2.3	1.8	0.3	1.5	0.5		16	3.6	2.6	0.9	1.7	1
	15	2.4	1.9	0.5	1.4	0.5		16	3.6	2.6	0.9	1.7	1
	15	2.4	1.9	0.5	1.5	0.5		16	3.5	2.5	0.9	1.7	1
	15	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		16	3.4	2.4	0.8	1.8	1.1
	15	2.6	2	0.5	1.4	0.6		16	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9
	15	2.4	1.9	0.6	1.5	0.5		16	3.9	2.8	0.8	1.6	0.9
	15	2.4	1.9	0.5	1.5	0.5		16	3.8	2.8	1	1.6	0.9
	15	2.4	2	0.6	1.5	0.6		16	3.6	2.7	1	1.7	1.1
	15	2.6	1.9	0.5	1.5	0.6		16	3.6	2.6	1	1.6	1
	15	2.5	1.9	0.6	1.5	0.6		16	3.5	2.5	1	1.6	1
	15	2.6	2	0.5	1.5	0.5		16	3.7	2.5	1	1.6	1
	15	2.6	1.8	0.6	1.5	0.5		16	3.6	2.6	1	1.6	1
	15	2.4	1.8	0.5	1.4	0.6		16	3.5	2.5	0.9	1.6	1.1
	15	2.4	1.9	0.5	1.3	0.5		16	3.5	2.7	0.9	1.6	1.1
	15	2.4	1.8	0.4	1.5	0.6		16	3.5	2.7	0.9	1.7	1.1
	15	2.3	1.9	0.4	1.4	0.5		16	3.5	2.7	0.9	1.6	1.1
	15	2.3	1.9	0.5	1.5	0.5		16	3.6	2.8	0.8	1.6	1.1
	15	2.5	1.9	0.4	1.4	0.6		16	3.8	2.6	0.9	1.6	1
	15	2.7	1.8	0.6	1.4	0.5		16	3.7	2.5	0.9	1.6	1
	15	2.3	1.9	0.5	1.5	0.6		16	3.8	2.7	0.9	1.6	1
	15	2.6	1.8	0.5	1.4	0.6		16	3.6	2.6	1	1.7	0.9
	15	2.5	1.8	0.5	1.5	0.6		16	3.5	2.4	1	1.6	1.1
	15	2.4	1.9	0.5	1.4	0.6		16	3.6	2.5	1	1.7	1.1
	15	2.4	1.9	0.5	1.3	0.5		16	3.5	2.7	0.9	1.6	1.1
	15	2.4	1.8	0.4	1.5	0.6		16	3.5	2.7	0.9	1.7	1.1
	15	2.3	1.9	0.4	1.4	0.5		16	3.5	2.7	0.9	1.6	1.1
	15	2.3	1.9	0.5	1.5	0.5		16	3.6	2.8	0.8	1.6	1.1
	15	2.5	1.9	0.4	1.4	0.6		16	3.8	2.6	0.9	1.6	1
	15	2.7	1.8	0.6	1.4	0.5		16	3.7	2.5	0.9	1.6	1
	15	2.3	1.9	0.5	1.5	0.6		16	3.8	2.7	0.9	1.6	1
	15	2.6	1.8	0.5	1.4	0.6		16	3.6	2.6	1	1.7	0.9
	15	2.5	1.8	0.5	1.5	0.6		16	3.5	2.4	1	1.6	1.1
	15	2.4	1.9	0.5	1.4	0.6		16	3.6	2.5	1	1.7	1.1

ตารางภาคผนวก 5 การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาในเพศเมีย ในพื้นที่ 16 สถานที่ที่ทำการวิจัย

CP	1	2.5	1.9	0.5	1.5	0.6	NR	2	2.5	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.5	0.1	0.7	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.5	0.7		2	2.7	2	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.7	1.5	0.6		2	2.7	1.9	0.7	1.3	0.7
	1	2.7	1.9	0.7	1.6	0.6		2	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7
	1	2.6	1.9	0.7	1.5	0.6		2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6		2	2.6	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.5	1.5	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.7	1.5	0.6		2	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.8	2	0.5	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		2	2.7	2.1	0.6	1.5	0.7
	1	2.8	2.2	0.5	1.4	0.7		2	2.6	2.1	0.7	1.3	0.6
	1	2.7	1.9	0.7	1.4	0.5		2	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.8	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2	0.5	1.4	0.6		2	2.7	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.9	2	0.5	1.5	0.6		2	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	1	2.8	1.9	0.5	1.4	0.6		2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.5	1.5	0.7		2	2.9	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.5	2	0.7	1.5	0.6		2	2.8	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.8	2	0.7	1.5	0.6		2	2.9	2.1	0.7	1.5	0.7
	1	2.7	2	0.5	1.5	0.7		2	2.8	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.9	2	0.6	1.4	0.6		2	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.7	1.5	0.7		2	2.7	2.1	0.5	1.4	0.6
	1	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6		2	2.6	2.2	0.6	1.4	0.6
	1	2.5	1.9	0.5	1.5	0.6		2	2.5	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.4	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.5	0.1	0.7	1.4	0.6
	1	2.6	2	0.6	1.5	0.7		2	2.7	2	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.7	1.5	0.6		2	2.7	1.9	0.7	1.3	0.7
	1	2.7	1.9	0.7	1.6	0.6		2	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7
	1	2.6	1.9	0.7	1.5	0.6		2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.5	1.9	0.6	1.4	0.6		2	2.6	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.5	1.5	0.6		2	2.6	2	0.6	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.7	1.5	0.6		2	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	1	2.6	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.8	2	0.5	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		2	2.7	2.1	0.6	1.5	0.7
	1	2.8	2.2	0.5	1.4	0.7		2	2.6	2.1	0.7	1.3	0.6
	1	2.7	1.9	0.7	1.4	0.5		2	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	1	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6		2	2.8	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2	0.5	1.4	0.6		2	2.7	1.9	0.7	1.4	0.6
	1	2.9	2	0.5	1.5	0.6		2	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	1	2.8	1.9	0.5	1.4	0.6		2	2.7	2.1	0.6	1.4	0.6
	1	2.7	2.1	0.5	1.5	0.7		2	2.9	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.5	2	0.7	1.5	0.6		2	2.8	2.1	0.6	1.4	0.7
	1	2.8	2	0.7	1.5	0.6		2	2.9	2.1	0.7	1.5	0.7
	1	2.7	2	0.5	1.5	0.7		2	2.8	2	0.6	1.4	0.6
	1	2.9	2	0.6	1.4	0.6		2	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6
	1	2.8	2.1	0.7	1.5	0.7		2	2.7	2.1	0.5	1.4	0.6
	1	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6		2	2.6	2.2	0.6	1.4	0.6
KK	3	3.4	2.4	0.8	1.9	1	MS	4	3.4	2.4	0.8	1.5	1
	3	3.5	2.5	0.9	1.8	1		4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9
	3	3.4	2.7	1	1.8	1.1		4	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9
	3	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7		4	3.5	2.5	0.9	1.5	1
	3	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		4	3.7	2.5	1	1.6	0.9
	3	3	2.3	0.7	1.6	0.7		4	3.6	2.6	0.9	1.6	1
	3	2.9	2.2	0.7	1.5	0.7		4	3.4	2.4	1	1.7	0.7
	3	2.8	1.9	0.8	1.4	0.7		4	3.5	2.4	0.9	1.6	0.8
	3	3.2	2.4	0.7	1.6	0.8		4	3.2	2.4	0.8	1	0.7
	3	2.9	2.2	0.6	1.5	0.7		4	3.4	2.3	0.8	1.6	0.8

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

3	2.8	2.1	0.5	1.7	0.7	4	3.3	2.2	0.8	1.7	0.9		
3	3.1	2.4	0.5	1.6	0.7	4	3	2.4	0.7	1.7	1		
3	3	2.3	0.7	1.4	0.6	4	3.1	2.4	0.8	1.8	1		
3	2.8	2.1	1	1.4	0.6	4	3.3	2.5	0.8	1.7	0.8		
3	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6	4	3.2	2.4	0.7	1.7	0.7		
3	2.6	2.3	0.5	1.4	0.6	4	3.1	2.4	0.8	1.6	0.7		
3	2.5	2.1	0.6	1.4	0.6	4	3.5	2.6	1	1.6	0.8		
3	2.5	2.2	0.7	1.4	0.6	4	3.2	2.4	0.9	1.6	0.9		
3	3	2.1	0.9	1.4	0.6	4	3.7	2.5	0.8	1.7	0.9		
3	2.7	2.2	0.7	1.5	0.6	4	3.5	2.4	0.7	1.6	0.8		
3	2.4	2	0.5	1.4	0.6	4	3.3	2.4	0.8	1.7	0.7		
3	2.5	2.1	0.7	1.5	0.6	4	3.4	2.4	0.8	1.5	0.7		
3	2.9	2	0.6	1.4	0.6	4	3.4	2.4	0.7	1.6	0.8		
3	2.9	1.9	0.8	1.4	0.6	4	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		
3	2.8	2	0.7	1.4	0.6	4	3.6	2.4	0.7	1.5	0.8		
3	3.4	2.4	0.8	1.9	1	4	3.4	2.4	0.8	1.5	1		
3	3.5	2.5	0.9	1.8	1	4	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9		
3	3.4	2.7	1	1.8	1.1	4	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		
3	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7	4	3.5	2.5	0.9	1.5	1		
3	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9	4	3.7	2.5	1	1.6	0.9		
3	3	2.3	0.7	1.6	0.7	4	3.6	2.6	0.9	1.6	1		
3	2.9	2.2	0.7	1.5	0.7	4	3.4	2.4	1	1.7	0.7		
3	2.8	1.9	0.8	1.4	0.7	4	3.5	2.4	0.9	1.6	0.8		
3	3.2	2.4	0.7	1.6	0.8	4	3.2	2.4	0.8	1	0.7		
3	2.9	2.2	0.6	1.5	0.7	4	3.4	2.3	0.8	1.6	0.8		
3	2.8	2.1	0.5	1.7	0.7	4	3.3	2.2	0.8	1.7	0.9		
3	3.1	2.4	0.5	1.6	0.7	4	3	2.4	0.7	1.7	1		
3	3	2.3	0.7	1.4	0.6	4	3.1	2.4	0.8	1.8	1		
3	2.8	2.1	1	1.4	0.6	4	3.3	2.5	0.8	1.7	0.8		
3	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6	4	3.2	2.4	0.7	1.7	0.7		
3	2.6	2.3	0.5	1.4	0.6	4	3.1	2.4	0.8	1.6	0.7		
3	2.5	2.1	0.6	1.4	0.6	4	3.5	2.6	1	1.6	0.8		
3	2.5	2.2	0.7	1.4	0.6	4	3.2	2.4	0.9	1.6	0.9		
3	3	2.1	0.9	1.4	0.6	4	3.7	2.5	0.8	1.7	0.9		
3	2.7	2.2	0.7	1.5	0.6	4	3.5	2.4	0.7	1.6	0.8		
3	2.4	2	0.5	1.4	0.6	4	3.3	2.4	0.8	1.7	0.7		
3	2.5	2.1	0.7	1.5	0.6	4	3.4	2.4	0.8	1.5	0.7		
3	2.9	2	0.6	1.4	0.6	4	3.4	2.4	0.7	1.6	0.8		
3	2.9	1.9	0.8	1.4	0.6	4	3.4	2.4	0.8	1.7	0.9		
3	2.8	2	0.7	1.4	0.6	4	3.6	2.4	0.7	1.5	0.8		
L	5	3.3	2.4	0.8	1.5	0.9	YS	6	2.7	2.1	0.7	1.9	0.7
5	3.7	2.7	1	1.7	1	6	3	2.3	0.7	1.7	0.6		
5	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9	6	2.8	2	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.5	1	1.7	1.1	6	2.8	1.9	0.5	1.6	0.6		
5	3.6	2.7	0.9	1.6	1	6	2.6	2	0.6	1.6	0.5		
5	3.8	2.6	1	1.8	1	6	2.6	1.9	0.7	1.5	0.7		
5	3.5	2.7	1	1.7	0.8	6	3	2	0.6	1.4	0.6		
5	3.7	2.5	0.9	1.8	0.9	6	2.5	2.1	0.6	1.8	0.7		
5	3.4	2.4	0.8	1.7	1	6	2.4	2	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.4	0.9	1.5	1	6	2.7	1.8	0.7	1.5	0.6		
5	3.7	2.5	0.9	1.6	1	6	2.8	1.9	0.5	1.6	0.6		
5	3.5	2.7	0.8	1.6	1	6	2.6	2	0.6	1.6	0.6		
5	3.4	2.5	1	1.7	1	6	2.5	2	0.7	1.5	0.5		
5	3.5	2.6	0.7	1.5	1	6	2.5	1.9	0.6	1.7	0.7		
5	3.5	2.7	0.7	1.8	1	6	2.7	2.1	0.6	1.8	0.7		
5	3.7	2.6	0.9	1.7	1	6	2.5	1.9	0.7	1.6	0.6		
5	3.6	2.5	0.9	1.6	0.9	6	2.6	1.8	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.5	0.8	1.7	0.9	6	2.7	1.9	0.7	1.8	0.6		
5	3.4	2.7	0.8	1.7	0.8	6	2.9	1.9	0.7	1.8	0.7		
5	3.4	2.7	0.9	1.6	0.9	6	2.8	2	0.6	1.7	0.7		

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

5	3.5	2.6	1	1.7	1	6	2.7	2	0.7	1.6	0.7		
5	3.6	2.6	1	1.6	1	6	2.7	2	0.6	1.6	0.7		
5	3.5	2.6	0.9	1.5	1	6	2.6	1.8	0.6	1.7	0.6		
5	3.6	2.5	0.8	1.7	1	6	2.6	1.9	0.6	1.6	0.7		
5	3.5	2.4	0.8	1.6	0.9	6	2.7	1.8	0.6	1.7	0.7		
5	3.3	2.4	0.8	1.5	0.9	6	2.7	2.1	0.7	1.9	0.7		
5	3.7	2.7	1	1.7	1	6	3	2.3	0.7	1.7	0.6		
5	3.3	2.4	0.8	1.6	0.9	6	2.8	2	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.5	1	1.7	1.1	6	2.8	1.9	0.5	1.6	0.6		
5	3.6	2.7	0.9	1.6	1	6	2.6	2	0.6	1.6	0.5		
5	3.8	2.6	1	1.8	1	6	2.6	1.9	0.7	1.5	0.7		
5	3.5	2.7	1	1.7	0.8	6	3	2	0.6	1.4	0.6		
5	3.7	2.5	0.9	1.8	0.9	6	2.5	2.1	0.6	1.8	0.7		
5	3.4	2.4	0.8	1.7	1	6	2.4	2	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.4	0.9	1.5	1	6	2.7	1.8	0.7	1.5	0.6		
5	3.7	2.5	0.9	1.6	1	6	2.8	1.9	0.5	1.6	0.6		
5	3.5	2.7	0.8	1.6	1	6	2.6	2	0.6	1.6	0.6		
5	3.4	2.5	1	1.7	1	6	2.5	2	0.7	1.5	0.5		
5	3.5	2.6	0.7	1.5	1	6	2.5	1.9	0.6	1.7	0.7		
5	3.5	2.7	0.7	1.8	1	6	2.7	2.1	0.6	1.8	0.7		
5	3.7	2.6	0.9	1.7	1	6	2.5	1.9	0.7	1.6	0.6		
5	3.6	2.5	0.9	1.6	0.9	6	2.6	1.8	0.6	1.5	0.6		
5	3.5	2.5	0.8	1.7	0.9	6	2.7	1.9	0.7	1.8	0.6		
5	3.4	2.7	0.8	1.7	0.8	6	2.9	1.9	0.7	1.8	0.7		
5	3.4	2.7	0.9	1.6	0.9	6	2.8	2	0.6	1.7	0.7		
5	3.5	2.6	1	1.7	1	6	2.7	2	0.7	1.6	0.7		
5	3.6	2.6	1	1.6	1	6	2.7	2	0.6	1.6	0.7		
5	3.5	2.6	0.9	1.5	1	6	2.6	1.8	0.6	1.7	0.6		
5	3.6	2.5	0.8	1.7	1	6	2.6	1.9	0.6	1.6	0.7		
5	3.5	2.4	0.8	1.6	0.9	6	2.7	1.8	0.6	1.7	0.7		
BR	7	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2	SR	8	3.5	2.7	1	1.9	1.1
7	1.6	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.6	0.8		
7	1.7	1.4	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.8	1.7	0.8		
7	1.8	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.8	2.4	0.8	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.3	1	0.3	8	3.2	2.5	0.8	1.7	1		
7	1.6	1.6	0.3	1	0.3	8	3.5	2.6	0.8	1.7	1		
7	1.5	1.5	0.4	1.1	0.3	8	3.5	2.4	0.8	1.8	1		
7	1.5	1.6	0.4	1.3	0.3	8	3.5	2.3	0.7	1.6	0.7		
7	1.6	1.4	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.4	0.8	1.5	0.7		
7	1.7	1.5	0.3	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.8	1.4	0.9		
7	1.8	1.7	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.5	0.7	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.9	2.7	0.7	1.6	1		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.8	2.5	0.9	1.6	0.8		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.1	2.4	0.9	1.8	1		
7	1.8	1.7	0.3	1.2	0.3	8	3.3	2.5	1	1.6	0.8		
7	1.7	1.6	0.4	1.1	0.3	8	3	2.5	1	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.3	1	0.3	8	3.2	2.4	0.9	1.6	1		
7	1.5	1.4	0.3	1	0.3	8	3.2	2.6	0.8	1.7	1		
7	1.6	1.5	0.3	1	0.3	8	3.3	2.4	0.7	1.6	1		
7	1.6	1.5	0.3	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.9	1.7	1		
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.4	0.7	1.7	1		
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.5	0.8	1.7	1		
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.5	2.5	0.8	1.7	0.9		
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.5	0.8	1.7	0.9		
7	1.8	1.7	0.3	1.3	0.2	8	3.4	2.5	0.9	1.7	0.8		
7	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.5	2.7	1	1.9	1.1		
7	1.6	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.4	0.8	1.6	0.8		
7	1.7	1.4	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.8	1.7	0.8		
7	1.8	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.8	2.4	0.8	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.3	1	0.3	8	3.2	2.5	0.8	1.7	1		

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

7	1.6	1.6	0.3	1	0.3	8	3.5	2.6	0.8	1.7	1		
7	1.5	1.5	0.4	1.1	0.3	8	3.5	2.4	0.8	1.8	1		
7	1.5	1.6	0.4	1.3	0.3	8	3.5	2.3	0.7	1.6	0.7		
7	1.6	1.4	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.4	0.8	1.5	0.7		
7	1.7	1.5	0.3	1.1	0.2	8	3.1	2.4	0.8	1.4	0.9		
7	1.8	1.7	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.5	0.7	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.9	2.7	0.7	1.6	1		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.8	2.5	0.9	1.6	0.8		
7	1.8	1.6	0.4	1.3	0.3	8	2.1	2.4	0.9	1.8	1		
7	1.8	1.7	0.3	1.2	0.3	8	3.3	2.5	1	1.6	0.8		
7	1.7	1.6	0.4	1.1	0.3	8	3	2.5	1	1.7	1		
7	1.8	1.6	0.3	1	0.3	8	3.2	2.4	0.9	1.6	1		
7	1.5	1.4	0.3	1	0.3	8	3.2	2.6	0.8	1.7	1		
7	1.6	1.5	0.3	1	0.3	8	3.3	2.4	0.7	1.6	1		
7	1.6	1.5	0.3	1.2	0.3	8	3.5	2.5	0.9	1.7	1		
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.3	8	3.5	2.4	0.7	1.7	1		
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.4	2.5	0.8	1.7	1		
7	1.7	1.6	0.4	1.2	0.2	8	3.5	2.5	0.8	1.7	0.9		
7	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2	8	3.6	2.5	0.8	1.7	0.9		
7	1.8	1.7	0.3	1.3	0.2	8	3.4	2.5	0.9	1.7	0.8		
L	9	3.6	2.6	0.9	1.8	1	NK	10	4.5	3.2	1.3	2	1.3
	9	3.7	2.7	0.8	1.7	1		10	3.5	3.5	0.9	1.7	1
	9	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		10	4	2.9	1	2	1.1
	9	3.5	2.4	0.9	1.7	1		10	3.5	2.7	0.9	1.7	1
	9	3.2	2.4	0.8	1.6	0.8		10	3.7	3	1.3	1.7	1
	9	3.3	2.4	0.8	1.7	0.9		10	4.5	3.3	1.2	2	1.3
	9	3.2	2.5	0.9	1.6	0.7		10	4.3	3.1	1.3	2	1.3
	9	3.5	2.4	1	1.7	1		10	3.6	3	1.2	2	1.3
	9	3.1	2.7	1	1.8	1		10	3.8	2.7	1.3	2	1.3
	9	3.3	2.6	1	1.8	1		10	4	2.6	0.9	2	1
	9	3.8	2.4	1	1.8	1		10	3.7	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.5	2.5	1	1.6	1		10	3.9	2.9	1	1.9	1.1
	9	3.7	2.5	0.9	1.7	1		10	3.8	2.7	1.1	2	1
	9	3.5	2.5	0.8	1.7	1		10	4.3	2.7	1.1	1.7	1.1
	9	3.7	2.6	0.9	1.8	0.9		10	4	2.8	0.9	1.8	1
	9	3.8	2.4	1	1.8	1		10	3.7	2.7	1	1.8	1.1
	9	3.5	2.5	1	1.6	1		10	3.9	2.9	1	1.9	1.1
	9	3.7	2.5	0.9	1.7	1		10	3.8	2.7	1.1	2	1
	9	3.5	2.5	0.8	1.7	1		10	4.3	2.7	1.1	1.7	1.1
	9	3.7	2.6	0.9	1.8	0.9		10	4	2.8	0.9	1.8	1

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

9	3.8	2.4	1	1.9	0.9	10	3.9	2.8	0.9	1.8	1		
9	3.6	2.4	0.8	1.8	0.8	10	3.8	2.9	1.1	2	1.3		
9	3.5	2.4	0.8	1.8	0.7	10	4.4	2.9	0.9	1.8	1.2		
9	3.3	2.6	0.9	1.8	0.8	10	3.7	2.7	0.8	2	1.3		
9	3.8	2.5	1	1.7	0.9	10	3.6	2.8	1	1.9	1.2		
9	3.4	2.4	0.9	1.9	0.9	10	3.8	2.8	0.9	1.7	1.1		
9	3.6	2.6	0.8	1.8	1.1	10	3.7	2.8	0.8	1.9	1		
9	3.5	2.6	0.9	1.7	1	10	3.8	2.8	0.9	2	1.3		
9	3.5	2.6	0.8	1.8	1	10	3.9	2.8	1	1.9	1.2		
9	3.6	2.6	0.9	1.9	1	10	4	2.9	1	1.9	1		
NP	11	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6	MD	12	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.6	2	0.6	1.3	0.6		12	2.3	2	0.6	1.4	0.5
	11	2.6	2	0.6	1.4	0.6		12	2.5	2	0.5	1.4	0.7
	11	2.7	2.1	0.7	1.3	0.7		12	2.8	1.9	0.7	1.4	0.6
	11	2.8	2.1	0.7	1.4	0.7		12	2.6	2.1	0.7	1.3	0.6
	11	2.6	2.1	0.6	1.5	0.5		12	2.7	2.1	0.7	1.4	0.6
	11	2.5	2	0.5	1.4	0.6		12	2.8	2.1	0.5	1.4	0.7
	11	2.6	1.9	0.6	1.3	0.6		12	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.8	2	0.7	1.4	0.5		12	2.6	2	0.5	1.4	0.6
	11	2.5	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.7	1.9	0.5	1.5	0.6
	11	2.7	1.9	0.7	1.4	0.7		12	2.6	2.1	0.5	1.4	0.5
	11	2.6	1.9	0.7	1.4	0.7		12	2.7	1.9	0.6	1.3	0.6
	11	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7		12	2.6	1.9	0.7	1.3	0.7
	11	2.8	2	0.6	1.4	0.6		12	2.6	1.9	0.6	1.3	0.7
	11	2.5	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.8	1.9	0.6	1.4	0.7
	11	2.6	2.2	0.5	1.4	0.6		12	2.7	2.1	0.6	1.3	0.6
	11	2.8	2.1	0.6	1.4	0.6		12	2.7	2.1	0.5	1.4	0.7
	11	2.8	1.9	0.7	1.4	0.7		12	2.5	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.6	2	0.7	1.5	0.6		12	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	11	2.8	2	0.7	1.4	0.6		12	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.8	2	0.6	1.4	0.6		12	2.7	1.9	0.7	1.4	0.7
	11	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7		12	2.6	1.9	0.7	1.3	0.6
	11	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6
	11	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.6	1.9	0.6	1.3	0.6
	11	2.6	1.9	0.6	1.4	0.7		12	2.7	1.9	0.6	1.3	0.6
	11	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7		12	2.6	1.9	0.7	1.3	0.7
	11	2.8	2	0.6	1.4	0.6		12	2.6	1.9	0.6	1.3	0.7
	11	2.5	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.8	1.9	0.6	1.4	0.7
	11	2.6	2.2	0.5	1.4	0.6		12	2.7	2.1	0.6	1.3	0.6
	11	2.8	2.1	0.6	1.4	0.6		12	2.7	2.1	0.5	1.4	0.7
	11	2.8	1.9	0.7	1.4	0.7		12	2.5	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.6	2	0.7	1.5	0.6		12	2.6	2	0.7	1.4	0.7
	11	2.8	2	0.7	1.4	0.6		12	2.6	2	0.6	1.4	0.6
	11	2.8	2	0.6	1.4	0.6		12	2.7	1.9	0.7	1.4	0.7
	11	2.7	2.1	0.7	1.4	0.7		12	2.6	1.9	0.7	1.3	0.6
	11	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.5	1.9	0.7	1.4	0.6
	11	2.7	2.1	0.6	1.4	0.7		12	2.6	2.1	0.7	1.4	0.7
	11	2.6	1.9	0.6	1.4	0.7		12	2.6	2.1	0.6	1.4	0.6

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

KS	13	1.8	1.6	0.3	1.2	0.2	NB	14	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2
	13	1.5	1.6	0.3	1.1	0.3		14	1.9	1.7	0.4	1	0.2
	13	1.6	1.5	0.3	1.2	0.2		14	2.1	1.9	0.4	1.3	0.3
	13	1.6	1.6	0.3	1.1	0.2		14	2	1.8	0.4	1.4	0.3
	13	1.8	1.7	0.4	1	0.2		14	1.9	1.8	0.4	1.1	0.3
	13	1.9	1.5	0.4	1	0.2		14	1.8	1.7	0.4	1.3	0.3
	13	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2		14	1.7	1.6	0.3	1.2	0.2
	13	1.8	1.4	0.4	1.2	0.3		14	1.8	1.5	0.4	1.3	0.3
	13	1.9	1.3	0.4	1.2	0.3		14	1.9	1.6	0.4	1.2	0.3
	13	1.7	1.5	0.3	1.2	0.3		14	1.8	1.7	0.3	1.2	0.3
	13	1.8	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.7	1.4	0.4	1.1	0.3
	13	1.8	1.5	0.3	1.2	0.2		14	1.7	1.8	0.3	1.1	0.2
	13	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2		14	1.8	1.9	0.4	0.9	0.2
	13	1.7	1.7	0.3	1.1	0.2		14	1.7	1.6	0.4	1	0.3
	13	1.7	1.6	0.3	1.1	0.2		14	1.8	1.7	0.3	1	0.2
	13	1.7	1.6	0.4	1.2	0.3		14	1.9	1.5	0.4	1	0.3
	13	1.6	1.4	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.6	0.4	0.9	0.3
	13	1.8	1.5	0.3	1.2	0.2		14	1.8	1.4	0.4	1.2	0.3
	13	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.4	0.4	1.1	0.3
	13	1.6	1.6	0.3	1.2	0.2		14	1.8	1.6	0.4	1	0.3
	13	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.8	1.5	0.4	1	0.2
	13	1.7	1.6	0.3	1.2	0.2		14	1.7	1.6	0.4	1	0.2
	13	1.7	1.5	0.3	1.2	0.3		14	1.7	1.5	0.3	0.9	0.2
	13	1.7	1.7	0.34	1.2	0.2		14	1.8	1.6	0.4	1	0.2
	13	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.5	0.4	0.9	0.2
	13	1.8	1.6	0.3	1.2	0.2		14	1.7	1.5	0.4	1.1	0.2
	13	1.5	1.6	0.3	1.1	0.3		14	1.9	1.7	0.4	1	0.2
	13	1.6	1.5	0.3	1.2	0.2		14	2.1	1.9	0.4	1.3	0.3
	13	1.6	1.6	0.3	1.1	0.2		14	2	1.8	0.4	1.4	0.3
	13	1.8	1.7	0.4	1	0.2		14	1.9	1.8	0.4	1.1	0.3
	13	1.9	1.5	0.4	1	0.2		14	1.8	1.7	0.4	1.3	0.3
	13	1.8	1.4	0.4	1.2	0.3		14	1.8	1.5	0.4	1.3	0.3
	13	1.9	1.3	0.4	1.2	0.3		14	1.9	1.6	0.4	1.2	0.3
	13	1.7	1.5	0.3	1.2	0.3		14	1.8	1.7	0.3	1.2	0.3
	13	1.8	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.7	1.4	0.4	1.1	0.3
	13	1.8	1.5	0.3	1.2	0.2		14	1.7	1.8	0.3	1.1	0.2
	13	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2		14	1.8	1.9	0.4	0.9	0.2
	13	1.7	1.7	0.3	1.1	0.2		14	1.7	1.6	0.4	1	0.3
	13	1.7	1.6	0.3	1.1	0.2		14	1.8	1.7	0.3	1	0.2
	13	1.7	1.6	0.4	1.2	0.3		14	1.9	1.5	0.4	1	0.3
	13	1.6	1.4	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.6	0.4	0.9	0.3
	13	1.8	1.5	0.3	1.2	0.2		14	1.8	1.4	0.4	1.2	0.3
	13	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.4	0.4	1.1	0.3
	13	1.6	1.6	0.3	1.2	0.2		14	1.8	1.6	0.4	1	0.3
	13	1.7	1.5	0.4	1.2	0.2		14	1.8	1.5	0.4	1	0.2
	13	1.7	1.6	0.3	1.2	0.2		14	1.7	1.6	0.4	1	0.2
	13	1.7	1.5	0.3	1.2	0.3		14	1.7	1.5	0.3	0.9	0.2
	13	1.7	1.7	0.34	1.2	0.2		14	1.8	1.6	0.4	1	0.2
	13	1.8	1.6	0.4	1.2	0.2		14	1.9	1.5	0.4	0.9	0.2
SK	15	2.3	1.8	0.4	1.5	0.5	AC	16	3.8	2.8	0.9	1.6	1.1
	15	2.6	2	0.6	1.6	0.6		16	4.1	2.9	1	1.7	1.2
	15	2.4	1.9	0.5	1.4	0.5		16	3.6	2.6	1	1.6	1.2
	15	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6		16	3.7	2.7	0.9	1.8	1
	15	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5		16	3.7	2.7	1	1.9	1
	15	2.5	2	0.6	1.5	0.6		16	3.5	2.5	1	1.8	1
	15	2.6	2.1	0.7	1.5	0.5		16	3.5	2.5	1.1	1.7	1
	15	2.7	1.9	0.5	1.6	0.5		16	4	2.5	1.1	1.6	1
	15	2.5	1.9	0.5	1.5	0.5		16	4	2.9	0.9	1.7	1.1
	15	2.7	1.9	0.5	1.5	0.6		16	4	2.9	0.9	1.6	1.1

ตารางภาคผนวก 5 (ต่อ)

15	2.7	1.9	0.7	1.5	0.5	16	4	2.6	0.9	1.6	1
15	2.7	2	0.5	1.5	0.6	16	3.6	2.5	0.9	1.7	1
15	2.5	2	0.4	1.5	0.6	16	3.5	2.4	1	1.6	1
15	2.6	2.1	0.4	1.6	0.5	16	3.4	2.6	1	1.7	1
15	2.6	2.1	0.6	1.4	0.5	16	4	2.7	1	1.6	1
15	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5	16	4	2.9	1	1.7	1.1
15	2.5	2	0.6	1.4	0.5	16	4	2.6	0.9	1.6	1.1
15	2.7	2	0.5	1.4	0.5	16	3.7	2.8	1.1	1.8	1.1
15	2.7	2	0.4	1.4	0.6	16	3.9	2.5	1.1	1.7	1.1
15	2.6	1.9	0.5	1.5	0.5	16	3.8	2.8	1.1	1.9	1.1
15	2.5	1.9	0.4	1.4	0.6	16	3.8	2.6	0.9	1.9	1
15	2.5	2.1	0.6	1.4	0.6	16	3.6	2.6	0.9	1.8	1
15	2.6	2.1	0.4	1.4	0.6	16	3.8	2.7	0.9	1.9	1
15	2.4	2	0.6	1.4	0.6	16	3.6	2.9	1	1.8	1.1
15	2.4	2	0.5	1.5	0.5	16	3.8	2.8	1	1.7	1.1
15	2.3	1.8	0.4	1.5	0.5	16	3.8	2.8	0.9	1.6	1.1
15	2.6	2	0.6	1.6	0.6	16	4.1	2.9	1	1.7	1.2
15	2.4	1.9	0.5	1.4	0.5	16	3.6	2.6	1	1.6	1.2
15	2.5	1.9	0.5	1.4	0.6	16	3.7	2.7	0.9	1.8	1
15	2.5	1.9	0.5	1.4	0.5	16	3.7	2.7	1	1.9	1
15	2.5	2	0.6	1.5	0.6	16	3.5	2.5	1	1.8	1
15	2.6	2.1	0.7	1.5	0.5	16	3.5	2.5	1.1	1.7	1
15	2.7	1.9	0.5	1.6	0.5	16	4	2.5	1.1	1.6	1
15	2.5	1.9	0.5	1.5	0.5	16	4	2.9	0.9	1.7	1.1
15	2.7	1.9	0.5	1.5	0.6	16	4	2.9	0.9	1.6	1.1
15	2.7	1.9	0.7	1.5	0.5	16	4	2.6	0.9	1.6	1
15	2.7	2	0.5	1.5	0.6	16	3.6	2.5	0.9	1.7	1
15	2.5	2	0.4	1.5	0.6	16	3.5	2.4	1	1.6	1
15	2.6	2.1	0.4	1.6	0.5	16	3.4	2.6	1	1.7	1
15	2.6	2.1	0.6	1.4	0.5	16	4	2.7	1	1.6	1
15	2.6	1.9	0.5	1.4	0.5	16	4	2.9	1	1.7	1.1
15	2.5	2	0.6	1.4	0.5	16	4	2.6	0.9	1.6	1.1
15	2.7	2	0.4	1.4	0.6	16	3.9	2.5	1.1	1.7	1.1
15	2.6	1.9	0.5	1.5	0.5	16	3.8	2.8	1.1	1.9	1.1
15	2.5	1.9	0.4	1.4	0.6	16	3.8	2.6	0.9	1.9	1
15	2.5	2.1	0.6	1.4	0.6	16	3.6	2.6	0.9	1.8	1
15	2.6	2.1	0.4	1.4	0.6	16	3.8	2.7	0.9	1.9	1
15	2.4	2	0.6	1.4	0.6	16	3.6	2.9	1	1.8	1.1
15	2.4	2	0.5	1.5	0.5	16	3.8	2.8	1	1.7	1.1



ตารางภาคผนวก 6 ผลการวิเคราะห์ One way anova ค่า F-value ของกึ่งฝอยเพศผู้



ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TL	Between Groups	188.977	15	12.598	488.430	.000
	Within Groups	9.905	384	.026		
	Total	198.882	399			
SL	Between Groups	61.066	15	4.071	303.812	.000
	Within Groups	5.146	384	.013		
	Total	66.212	399			
CL	Between Groups	16.456	15	1.097	176.886	.000
	Within Groups	2.382	384	.006		
	Total	18.838	399			
AL	Between Groups	18.808	15	1.254	148.422	.000
	Within Groups	3.244	384	.008		
	Total	22.052	399			
TLL	Between Groups	28.814	15	1.921	275.406	.000
	Within Groups	2.678	384	.007		
	Total	31.493	399			



ตารางภาคผนวก 7 ผลการวิเคราะห์ One way anova ค่า F-value ของกุ่มฝอยเทศเมีย

▲

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TL	Between Groups	181.274	15	12.085	354.636	.000
	Within Groups	13.086	384	.034		
	Total	194.360	399			
SL	Between Groups	61.423	15	4.095	169.896	.000
	Within Groups	9.255	384	.024		
	Total	70.678	399			
CL	Between Groups	16.993	15	1.133	142.759	.000
	Within Groups	3.047	384	.008		
	Total	20.041	399			
AL	Between Groups	19.239	15	1.283	126.051	.000
	Within Groups	3.907	384	.010		
	Total	23.146	399			
TLL	Between Groups	29.323	15	1.955	288.276	.000
	Within Groups	2.604	384	.007		
	Total	31.927	399			





CP



NR



KK



MS



RE



YS

ภาพประกอบภาคผนวก 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนลำตัวของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



BR



SR



L



NK



NP



MD

ภาพประกอบภาคผนวก 1 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนลำตัวของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดใน
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



KS



NB



SK



AC

ภาพประกอบภาคผนวก 1 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาลำตัวของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดใน
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

พหุณั ปณุ ทิโต ชีเว



CP



NR



KK



MS

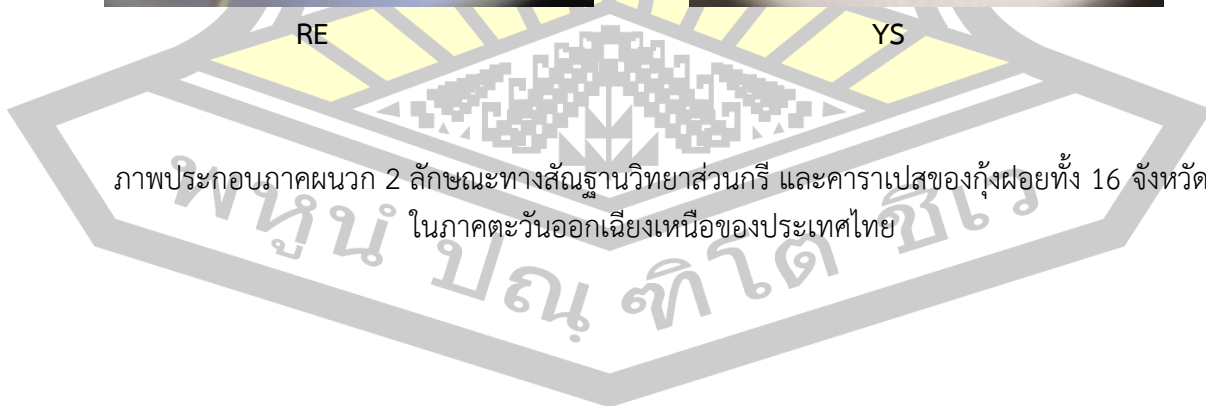


RE



YS

ภาพประกอบภาคผนวก 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนกรี และคาราเปสของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัด
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย





BR



SR



RE



YS



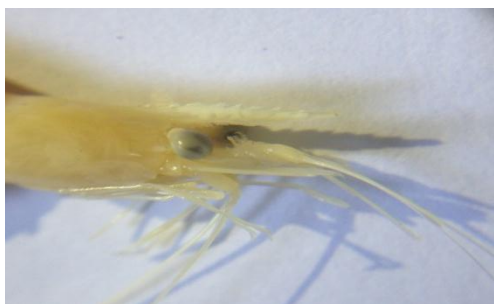
NP



MD

ภาพประกอบภาคผนวก 2 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนกรี และคาราเปสของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

พหุบัน ปณฺ ทิโต ขเว



KS



NB



SK



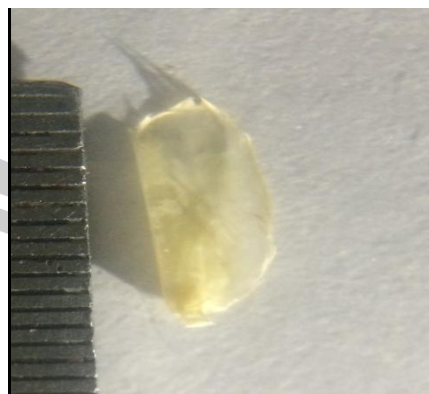
AC

ภาพประกอบภาคผนวก 2 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนกรี และคาราเปสของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย





CP



NR



KK



MS

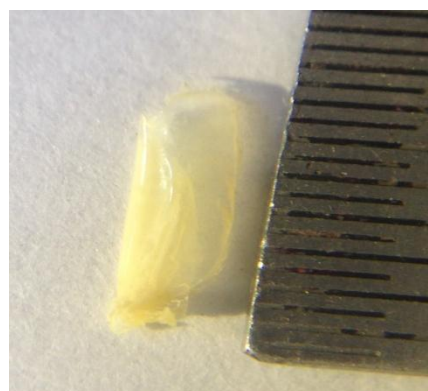


RE



YS

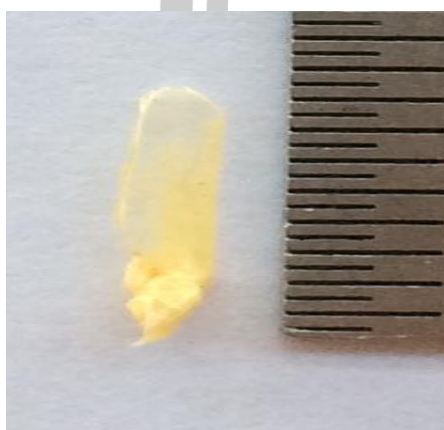
ภาพประกอบภาคผนวก 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนแผ่นหนวดคู่ที่ 2 ของกุ่มฝอยทั้ง 16 จังหวัด
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



BR



SR



L



NK

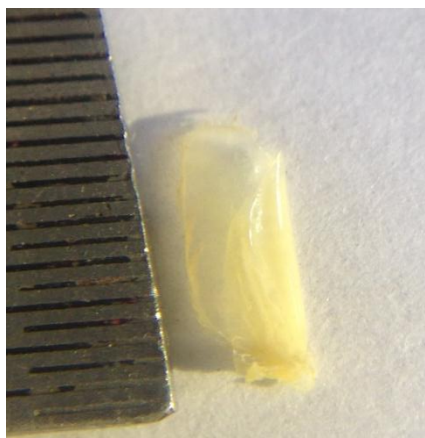


NP



MD

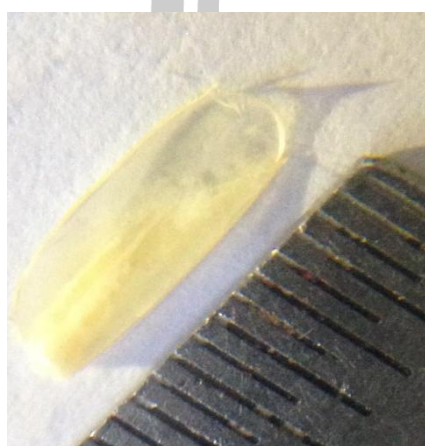
ภาพประกอบภาคผนวก 3 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนแผ่นหนวดคู่ที่ 2 ของกิ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



KS



NB



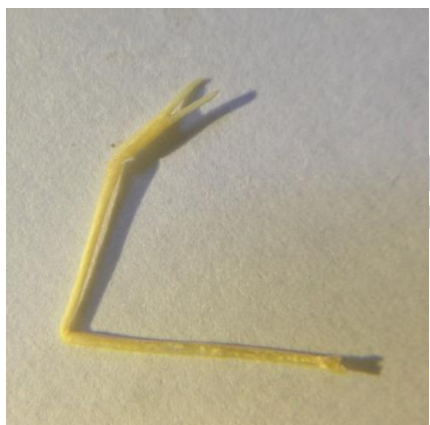
SK



AC

ภาพประกอบภาคผนวก 3 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนแผ่นหนวดคู่ที่ 2 ของกิ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

พูน ปรณ ทิโต ชีเว



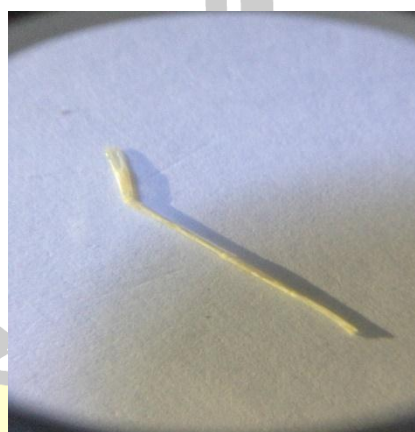
CP



NR



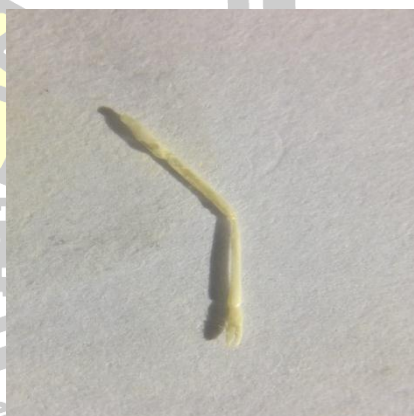
KK



MS

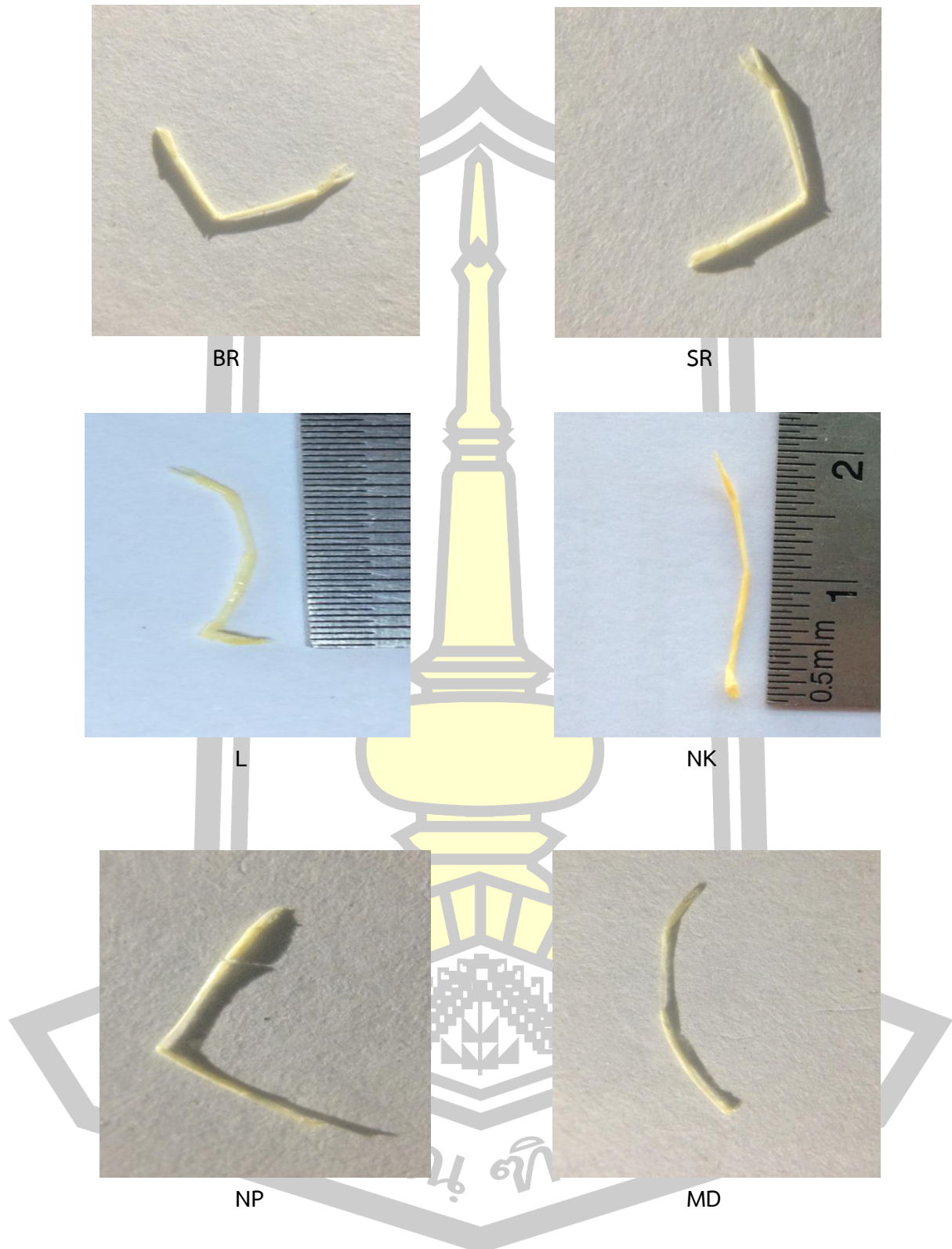


RE



YS

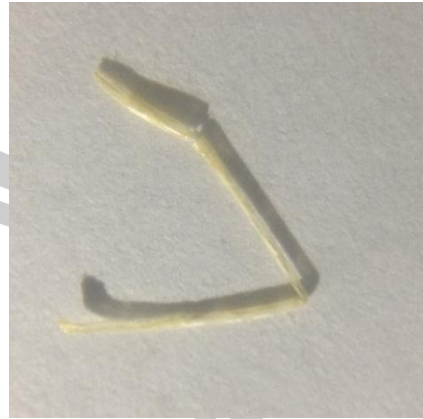
ภาพประกอบภาคผนวก 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนขาเดินคู่ที่ 2 ของกุ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



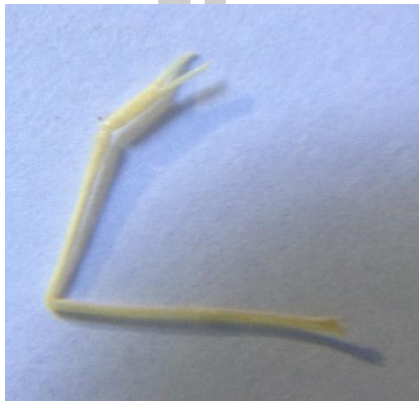
ภาพประกอบภาคผนวก 4 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนขาเดินคู่ที่ 2 ของกิ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



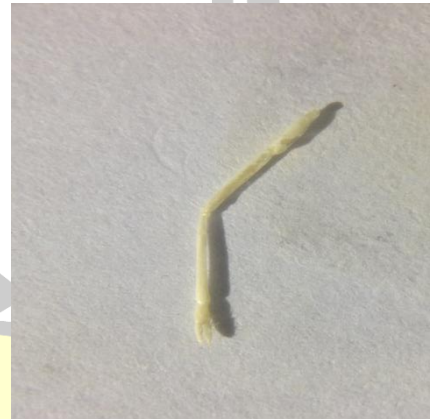
KS



NB



SK



AC

ภาพประกอบภาคผนวก 4 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนขาเดินคู่ที่ 2 ของกิ้งฟอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย





CP



NR



KK



MS



RE



YS

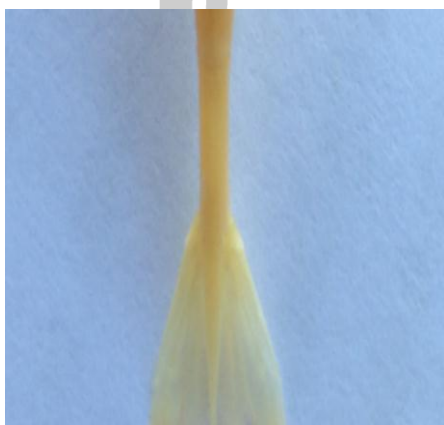
ภาพประกอบภาคผนวก 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนหาง และแผนทางของกุ่มฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



BR



SR



L



NK



NP



MD

ภาพประกอบภาคผนวก 5 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนหาง และแผนทางของกึ่งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย



KS



NB



SK



AC

ภาพประกอบภาคผนวก 5 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนหาง และแผนหางของกิ้งฝอยทั้ง 16 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

พหุจน์ ปณฺ ทิโต ชีเว

ลำดับเบสดีเอ็นเอ

Alignment: Untitled

```

.....| .....| .....| .....| .....|
      10      20      30      40      50
3176426_BR GNNNNNTNNN GNNCCTGAGT TTAGTAGGTC ANCAAATCGT AAAGATATTG

.....| .....| .....| .....| .....|
      60      70      80      90     100
3176426_BR GAGATTATTT GTGGTGGGCC GAGCTTTGAC GGCCCGGGAG CCTTATTGGC

.....| .....| .....| .....| .....|
     110     120     130     140     150
3176426_BR AATGACCAAA TCTATAATGT TATTGTTACC GCCCATGCTT TCGTAATAAT

.....| .....| .....| .....| .....|
     160     170     180     190     200
3176426_B1 TTTCTTTATA GTTATAACCA TTATAATTGG AGGGTTCGGA AATTGACTTG

.....| .....| .....| .....| .....|
     210     220     230     240     250
3176426_BR TCCCCCTGAT GCTAGGGGCC CCGGACATAG CATTCCC GCG AATGAACAAC

.....| .....| .....| .....| .....|
     260     270     280     290     300
3176426_BR ATAAGATTTT GACTCCTCCC CCCGTCCTG ACTCTACTCC TGTCCAGAGG

.....| .....| .....| .....| .....|
     310     320     330     340     350
3176426_BR AATGGTAGAA AGGGGAGTGG GAACCGGATG AACAGTCTAC CCCCCCTAG

.....| .....| .....| .....| .....|
     360     370     380     390     400
3176426_BR CTGCGGGGAC CGCCACGCA GGAGCGTCGG TTGACTTGGG AATTTTCTCC

.....| .....| .....| .....| .....|
     410     420     430     440     450
3176426_BR CTTCACTTAG CTGGAGTCTC ATCAATCCTA GGTGCTGTCA ATTTATTAC

.....| .....| .....| .....| .....|
     460     470     480     490     500
3176426_BR CACAGTAATT AACATACGGT CTCCCGGAAT AACGATAGAC CGGCTCCCCC

.....| .....| .....| .....| .....|
     510     520     530     540     550

```

3176426_BR TGTTTCGTCTG AGCCGTATTC CTAACAGCCA TTCTGCTACT CCTTCCCTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 560 570 580 590 600

3176426_BR CCCGTCCTGG CGGGAGCCAT TACAATACTC CTGACCGATC GAAACCTCAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 610 620 630 640 650

3176426_BR CACCTCCTTT TTTGATCCCG CAGGAGGCGG TGACCCAATC CTCTATCAAC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 660 670 680

3176426_BR ACCTATTCTG ATTTTTTGGT CACCCTGAAG TTAAAA

Alignment: Untitled

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 10 20 30 40 50

3176414_CP GNGNTTNGG TCCCTGAGTT TATGGTCAAC AAATCATAAA GATATTGGTG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 60 70 80 90 100

3176414_CP ATTTTTTGGT CACCCTGAAG TTTAATGGTC AACAAATCAT AAAGATATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 110 120 130 140 150

3176414_CP GTGATTTTTT TTTACCCCTC GNTTTTANTG GTCATTTTCAT AATAATTTTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 160 170 180 190 200

3176414_CP TTTATAGTTA TACCATTAT AATTGGAGGG TTCGAAATG GACTTGTCCTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 210 220 230 240 250

3176414_CP CCTGATGCTA GGGGCCCCCG ACATAGCATT CCCGCGAATG AACAAACATAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 260 270 280 290 300

3176414_CP GATTTTGACT CCTCCCCCG TCACTGACTC TACTCCTGTC CAGAGGAATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 310 320 330 340 350

3176414_CP GTAGAAAGGG GAGTGGGAAC CGGATGAACA GTCTACCCCC CCCTAGCTGC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|

3176415_NR CCTGATGCTA GGGGCCCCGG ACATAGCATT CCCGCGAATG AACAACATAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 260 270 280 290 300

3176415_NR GATTTTGGACT CCTCCCCCG TCACTGACTC TACTCCTGTC CAGAGGAATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 310 320 330 340 350

3176415_NR GTAGAAAGGG GAGTGGGAAC CGGATGAACA GTCTACCCCC CCCTAGCTGC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 360 370 380 390 400

3176415_NR GGGGACCGCC CACGCAGGAG CGTCGGTTGA CTTGGGAATT TTCTCCCTTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 410 420 430 440 450

3176415_NR ACTTAGCTGG AGTCTCATCA ATCCTAGGTG CTGTCAATTT CATTACCACA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 460 470 480 490 500

3176415_NR GTAATTAACA TACGGTCTCC CGGAATAACG ATAGACCGGC TCCCCCTGTT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 510 520 530 540 550

3176415_NR CGTCTGAGCC GTATTCCTAA CAGCCATTCT GCTACTCCTT TCCCTCCCCG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 560 570 580 590 600

3176415_NR TCCTGGCGGG AGCCATTACA ATACTCCTGA CCGATCGAAA CCTCAACACC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 610 620 630 640 650

3176415_NR TCCTTTTTTG ATCCCGCAGG AGGCGGTGAC CCAATCCTCT ATCAACACCT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 660 670 680

3176415_NR ATTCTGATTT TTTGGTCACC CTGAAGTTTA AT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10      20      30      40      50
3176417_KK CCNNTNNNNN NCNNCTGAGT TNATGGTCAA CAAATCATAA AGATATTGGT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          60      70      80      90     100
3176417_KK GATTTTTTGG TCACCCTGAA GTTAAATGGT CAACAAATCA TAAAGATATT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         110     120     130     140     150
3176417_KK GGTGATTTTT TTTTCACCCN NAAGTTTAAAT GGTCACAAAA TAATAAAAAAT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         160     170     180     190     200
3176417_KK ATTTATGGTT TTTTTTTTAT AATTGGAGGG TCGGAAATT GACTTGTCCC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         210     220     230     240     250
3176417_KK CCTGATGCTA GGGGCCCGG ACATAGCATT CCCGCAATG AACAAATAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         260     270     280     290     300
3176417_KK GATTTTGACT CCTCCCCCG TCACTGACTC TACTCCTGTC CAGAGGAATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         310     320     330     340     350
3176417_KK GTAGAAAGGG GAGTGGGAAC CGGATGAACA GTCTACCCCC CCCTAGCTGC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         360     370     380     390     400
3176417_KK GGGGACCGCC CACGCAGGAG CGTCGGTTGA CTGGGAATT TTCTCCCTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         410     420     430     440     450
3176417_KK ACTTAGCTGG AGTTCATCA ATCCTAGGTG CTGTCAATTT CATTACCACA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         460     470     480     490     500
3176417_KK GTAATTAACA TACGGTCTCC CGGAATAACG ATAGACCGGC TCCCCCTGTT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
         510     520     530     540     550
3176417_KK CGTCTGAGCC GTATTCCTAA CAGCCATTCT GCTACTCCTT TCCCTCCCCG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|

```

3176417_KK 560 570 580 590 600
 TCCTGGCGGG AGCCATTACA ATACTCCTGA CCGATCGAAA CCTCAACACC

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 610 620 630 640 650
 3176417_KK TCCTTTTTTG ATCCCGCAGG AGGCGGTGAC CCAATCCTCT ATCAACACCT

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 660 670 680 690 700
 3176417_KK ATTCTGATTT TTTGGTCACC CTGAAGTTT

.....|.....||.....||
 710 720

Alignment: Untitled

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 10 20 30 40 50
 3176418_MS GCCGAATNNN NNNNNCTGAA GTTNNTGGTC AACAAATCAT AAAGATATTG

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 60 70 80 90 100
 3176418_MS GTGATTTTTT GNGTCACCCT GAAGTTTAAT GGTC AACAAA TCATAAAGAT

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 110 120 130 140 150
 3176418_MS ATTGGCGATT TTTTTTTTGC CCCTGTTACC GCCCATGCTT TCATAATAAT

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 160 170 180 190 200
 3176418_MS TTTCTTTATA GTTATACCCA TTATAATTGG AGGGTTCGGA AATTGACTTG

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 210 220 230 240 250
 3176418_MS TCCCCCTGAT GCTAGGGGCC CCGGACATAG CATTCCCGCG AATGAACAAC

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 260 270 280 290 300
 3176418_MS ATAAGATTTT GACTCCTCCC CCCGTCCTG ACTCTACTCC TGTCCAGAGG

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 310 320 330 340 350
 3176418_MS AATGGTAGAA AGGGGAGTGG GAACCGGATG AACAGTCTAC CCCCCCTAG

.....|.....||.....||.....||.....||.....|
 360 370 380 390 400

3176418_MS CTGCGGGGAC CGCCACGCA GGAGCGTCGG TTGACTTGGG AATTTTCTCC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 410 420 430 440 450

3176418_MS CTTCACTTAG CTGGAGTCTC ATCAATCCTA GGTGCTGTCA ATTTTCATTAC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 460 470 480 490 500

3176418_MS CACAGTAATT AACATACGGT CTCCCGGAAT AACGATAGAC CGGCTCCCCC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 510 520 530 540 550

3176418_MS TGTTCGTCTG AGCCGTATTC CTAACAGCCA TTCTGCTACT CCTTCCCTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 560 570 580 590 600

3176418_MS CCCGTCTGG CGGGAGCCAT TACAATACTC CTGACCGATC GAAACCTCAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 610 620 630 640 650

3176418_MS CACCTCCTTT TTGATCCCG CAGGAGGCGG TGACCCAATC CTCTATCAAC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 660 670 680

3176418_MS ACCTATTCTG ATTTTTTGGT CACCCTGAAG TTTAAA

Alignment: Untitled

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 10 20 30 40 50

3176422_RE GNGNNNNNG GTTNNCTGAA GTNNNNGGTC AACAAATCAT AAAGATATTG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 60 70 80 90 100

3176422_RE GTGATTTTTT GGTCACCCTG AAGTTAATG GTCAACAAAT CATAAAGATA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 110 120 130 140 150

3176422_RE TTGGCGATTT TTTTTNACC CTCGNNTTTA ATGGGCTTTC GTAATAATTT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 160 170 180 190 200

3176422_RE TCTTTATAGT TATACCATT ATAATTGGAG GGTCGGAAA TTGACTTGTC

```

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      210      220      230      240      250
3176422_RE CCCCTGATGC TAGGGGCCCC GGACATAGCA TTCCCGCGAA TGAACAACAT

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      260      270      280      290      300
3176422_RE AAGATTTTGA CTCCTCCCC CGTCACTGAC TCTACTCCTG TCCAGAGGAA

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      310      320      330      340      350
3176422_RE TGGTAGAAAG GGGAGTGGGA ACCGGATGAA CAGTCTACCC CCCCCTAGCT

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      360      370      380      390      400
3176422_RE GCGGGGACCG CCCACGCAGG AGCGTCGGTT GACTTGGGAA TTTTCTCCCT

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      410      420      430      440      450
3176422_RE TCACTTAGCT GGAGTCTCAT CAATCCTAGG TGCTGTCAAT TTCATTACCA

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      460      470      480      490      500
3176422_RE CAGTAATTAA CATA CGGTCT CCCGGAATAA CGATAGACCG GCTCCCCCTG

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      510      520      530      540      550
3176422_RE TTCGTCTGAG CCGTATTCTT AACAGCCATT CTGCTACTCC TTTCCCTCCC

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      560      570      580      590      600
3176422_RE CGTCCTGGCG GGAGCCATTA CAATACTCCT GACCGATCGA AACCTCAACA

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      610      620      630      640      650
3176422_RE CCTCCTTTTT TGATCCCGCA GGAGGCGGTG ACCCAATCCT CTATCAACAC

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      660      670      680
3176422_RE CTATTCTGAT TTTTGGTCA CGCCTGAAGT TTAAT

```

Alignment: Untitled

```

.....| .....| .....| .....| .....| .....|
      10      20      30      40      50
3176428_L GCGNNNTN NNCTGAGTTT AGTGTCACA AATCATAAAG ATATTGGTGA

.....| .....| .....| .....| .....| .....|

```



```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          310          320          330          340          350
3176435_NB ATGGTAGAAA GGGGAGTGGG AACCGGATGA ACAGTCTACC CCCCCCTAGC
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          360          370          380          390          400
3176435_NB TGCGGGGACC GCCCACGCAG GAGCGTCGGT TGACTTGGGA ATTTTCTCCC
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          410          420          430          440          450
3176435_NB TTCACTTAGC TGGAGTCTCA TCAATCCTAG GTGCTGTCAA TTTCATTACC
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          460          470          480          490          500
3176435_NB ACAGTAATTA ACATACGGTC TCCCGGAATA ACGATAGACC GGCTCCCCCT
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          510          520          530          540          550
3176435_NB GTTCGTCTGA GCCGTATTCC TAACAGCCAT TCTGCTACTC CTTTCCCTCC
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          560          570          580          590          600
3176435_NB CCGTCCTGGC GGGAGCCATT ACAATACTCC TGACCGATCG AAACCTCAAC
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          610          620          630          640          650
3176435_NB ACCTCCTTTT TTGATCCC GC AGGAGGCGGT GACCCAATCC TCTATCAACA
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          660          670          680
3176435_NB CCTATTCTGA TTTTTGGTC ACCCTGGAAG TTAAAA

```

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10          20          30          40          50
3176436_SK GCGNNTTTTN NCCNGNAGTT TAGTGGTCAA CAAATCATAA AGATATTGGT
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          60          70          80          90          100
3176436_SK GATTTTTTGT GTCACCCCGA AGTTTAATGG TCAAGAAATC ATATTGATAA
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          110          120          130          140          150

```

3176436_SK TGACCAAATC TATAATGTTA TTGTTACCGC CCATGCTTTC GTAATAATTT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 160 170 180 190 200

3176436_SK TCTTTATAGT TATACCCATT ATAATTGGAG GGTTCGGAAA TTGACTTGTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 210 220 230 240 250

3176436_SK CCCCTGATGC TAGGGGCCCC GGACATAGCA TTCCCGCGAA TGAACAACAT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 260 270 280 290 300

3176436_SK AAGATTTTGA CTCCTCCCC CGTCACTGAC TCTACTCCTG TCCAGAGGAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 310 320 330 340 350

3176436_SK TGGTAGAAAG GGGAGTGGGA ACCGGATGAA CAGTCTACCC CCCCTAGCT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 360 370 380 390 400

3176436_SK GCGGGGACCG CCCACGCAGG AGCGTCGGTT GACTTGGGAA TTTTCTCCCT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 410 420 430 440 450

3176436_SK TCACTTAGCT GGAGTCTCAT CAATCCTAGG TGCTGTCAAT TTCATTACCA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 460 470 480 490 500

3176436_SK CAGTAATTAA CATA CGGTCT CCCGGAATAA CGATAGACCG GCTCCCCCTG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 510 520 530 540 550

3176436_SK TTCGTCTGAG CCGTATTCCT AACAGCCATT CTGCTACTCC TTTCCCTCCC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 560 570 580 590 600

3176436_SK CGTCCTGGCG GGAGCCATTA CAATACTCCT GACCGATCGA AACCTCAACA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 610 620 630 640 650

3176436_SK CCTCCTTTTT TGATCCCGCA GGAGGCGGTG ACCCAATCCT CTATCAACAC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
 660 670 680

3176436_SK CTATTCTGAT TTTTGGTCA CCCTGGAAGT TTAAA

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10      20      30      40      50
3180531_SR CCNNNNNNNN NNNCNGAGTN NATGGTCACA AATCATAAAG ATATTGGTGA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          60      70      80      90     100
3180531_SR TTTTTTGNTC ACCCCGAAGT TTAATGGTCA GGAAGCCTT ATTGATAATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          110     120     130     140     150
3180531_SR ACCAAATCTA TAATGTTATT GTTACCGCCC ATGCTTTCGT AATAATTTTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          160     170     180     190     200
3180531_SR TTTATAGTTA TACCCATTAT AATGGGAGG TCGGAAATT GACTTGTCCC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          210     220     230     240     250
3180531_SR CCTGATGCTA GGGGCCCGG ACATAGCATT CCCGGAATG AACAACTAA

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          260     270     280     290     300
3180531_SR GATTTTGA CTCCCCCG TCACTGACTC TACTCTGTC CAGAGGAATG

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          310     320     330     340     350
3180531_SR GTAGAAAGG GAGTGGGAAC CGGATGAACA GTCTACCCCC CCCTAGCTGC

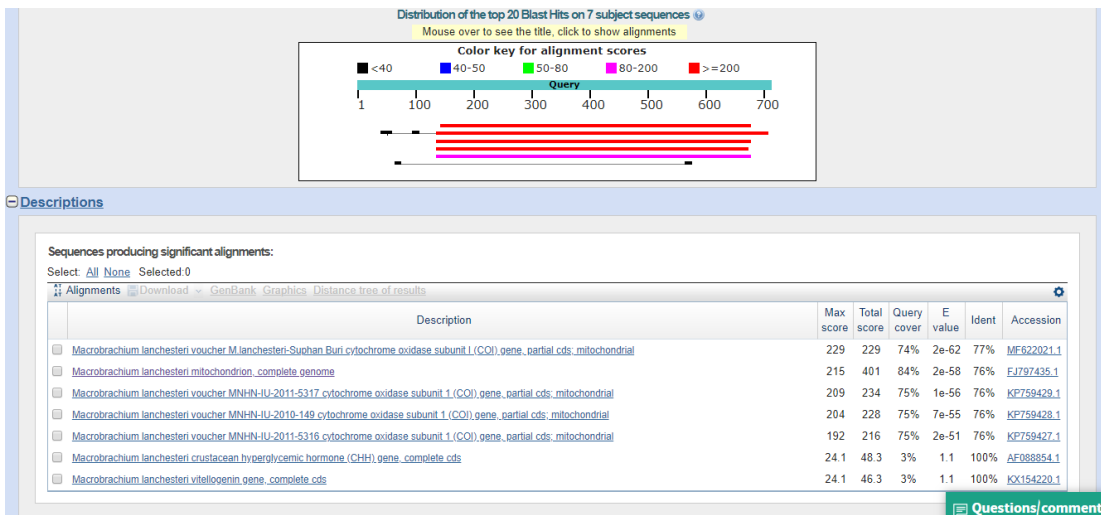
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          360     370     380     390     400
3180531_SR GGGGACCGCC CACGCAGGAG CGTCGGTTGA CTTGGGAATT TTCTCCCTTC

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          410     420     430     440     450
3180531_SR ACTTAGCTGG AGTCTCATCA ATCCTAGGTG CTGTCAATTT CATTACCACA

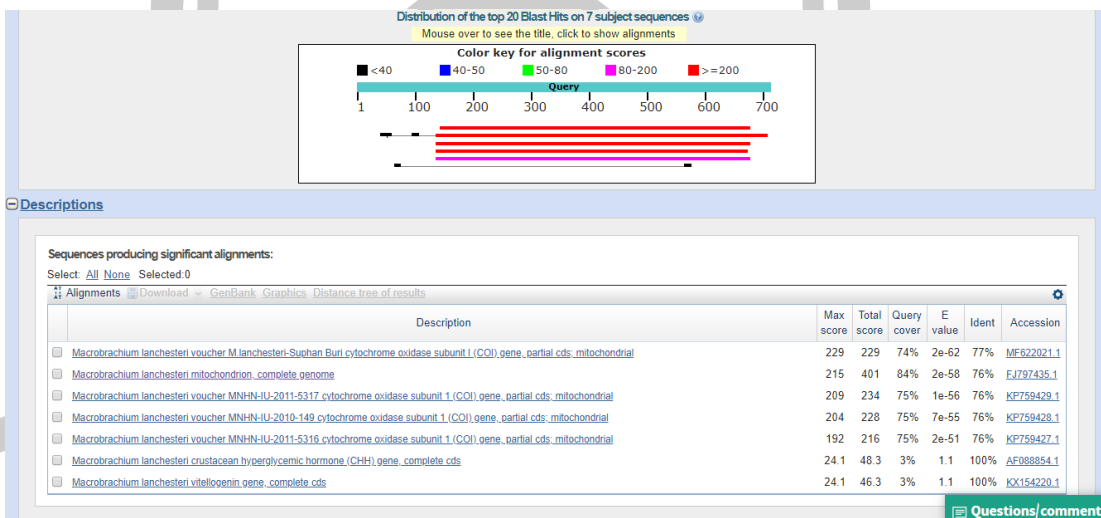
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          460     470     480     490     500
3180531_SR GTAATTAACA TACGGTCTCC CGGAATAACG ATAGACCGGC TCCCCCTGTT

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          510     520     530     540     550
3180531_SR CGTCTGAGCC GTATTCCTAA CAGCCATTCT GCTACTCCTT TCCCTCCCCG

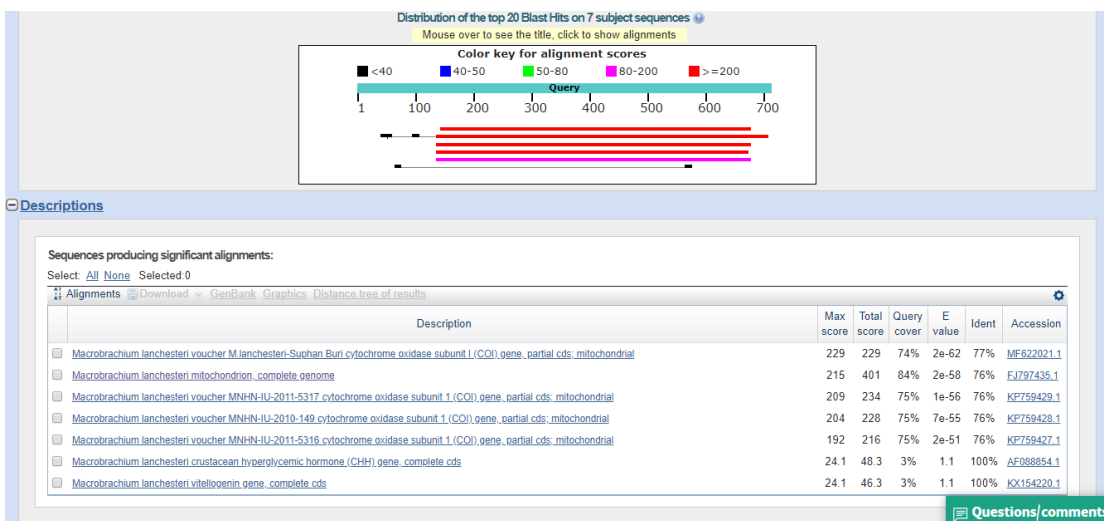
```

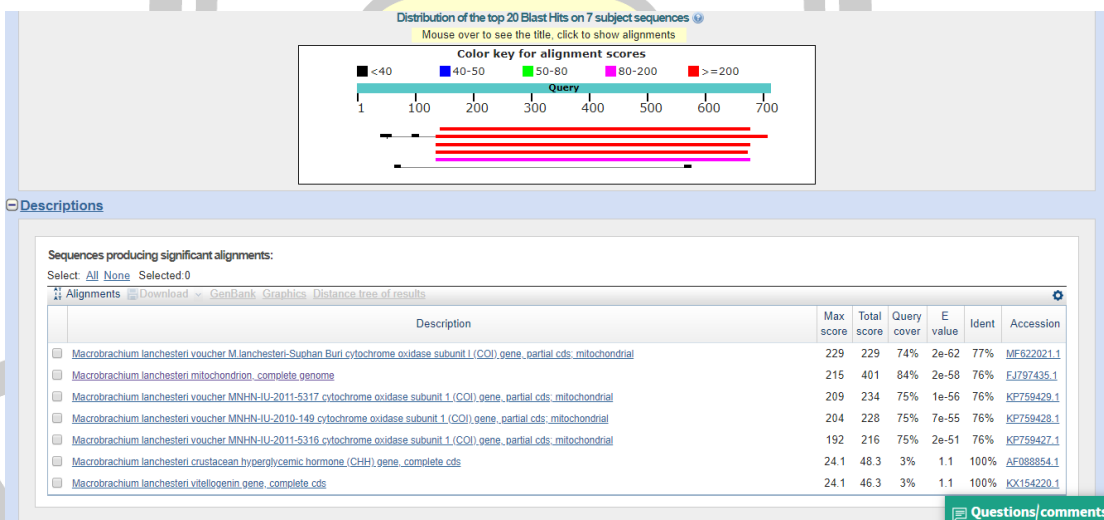
ภาพประกอบภาคผนวก 6 ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ M. lancheateri (BR)



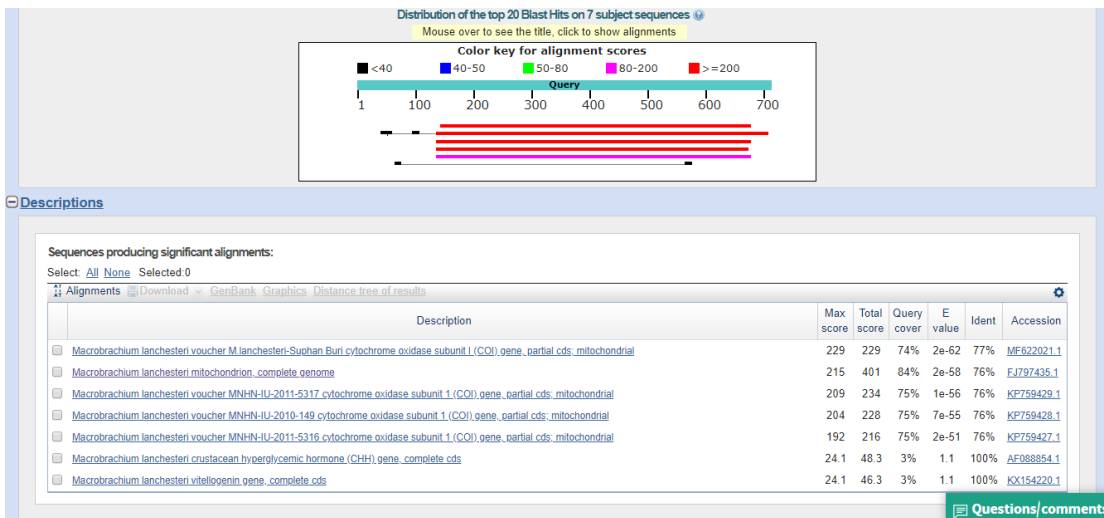
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ M. lancheateri (CP)



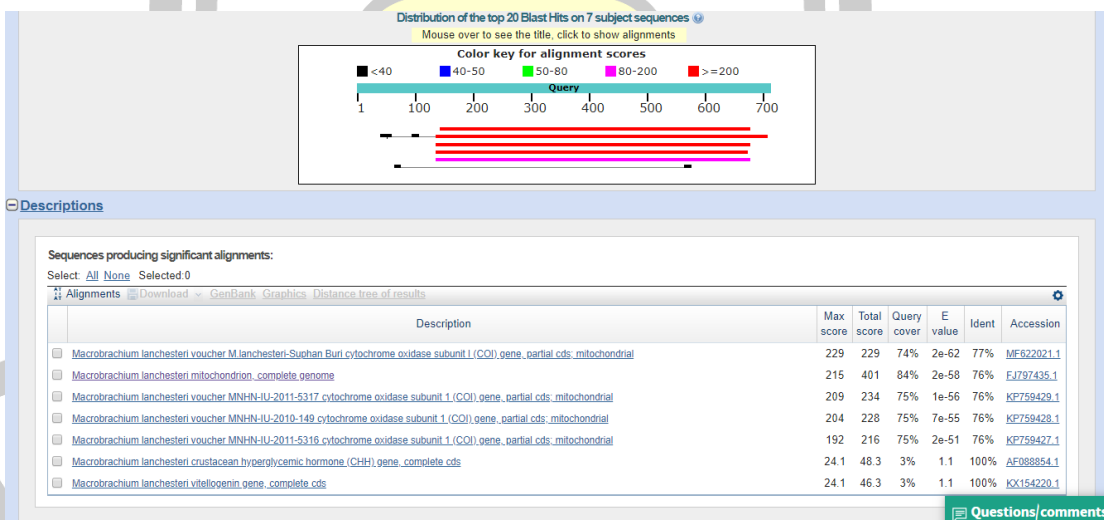
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ M. lanchesteri (NR)



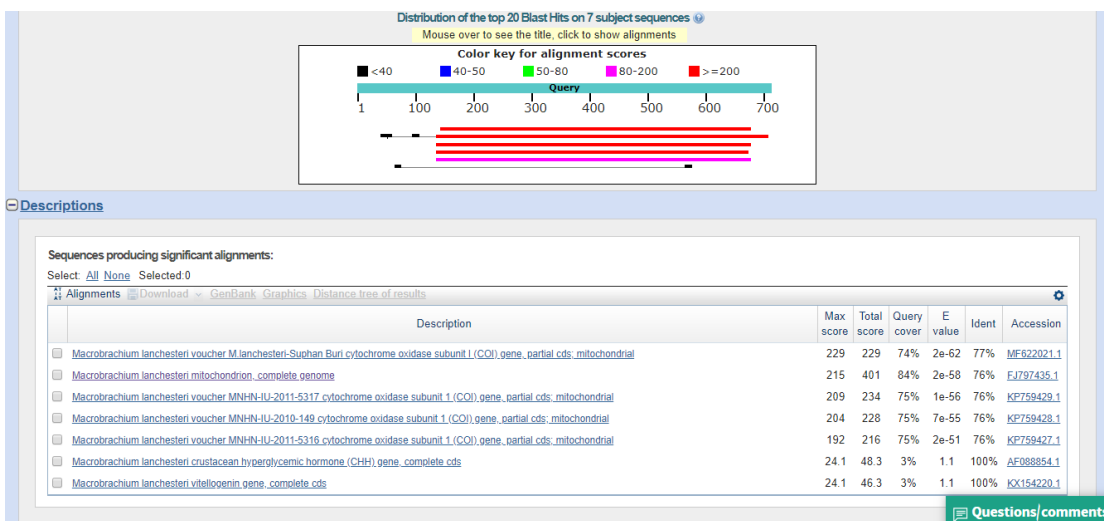
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ M. lanchesteri (KK)



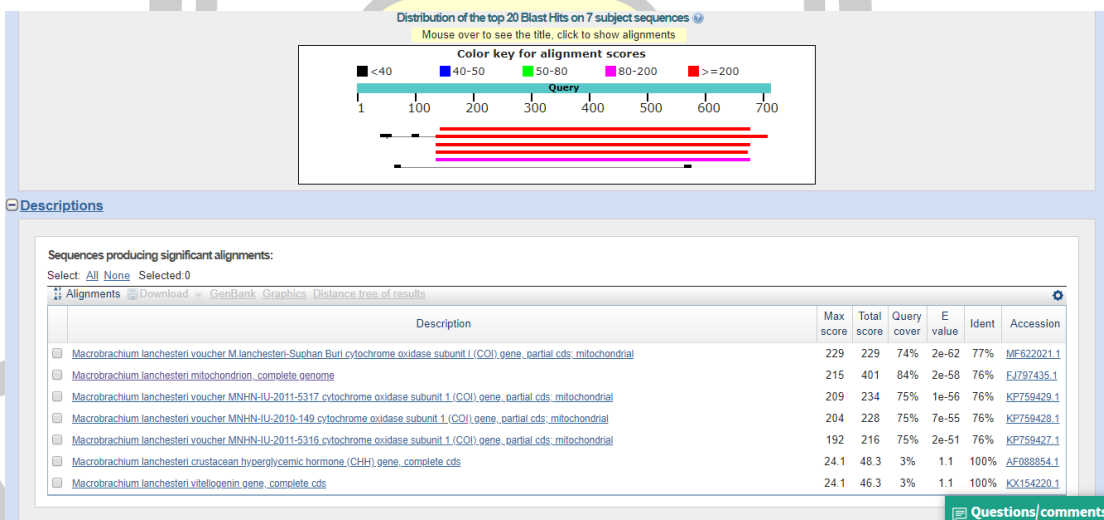
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* (MS)



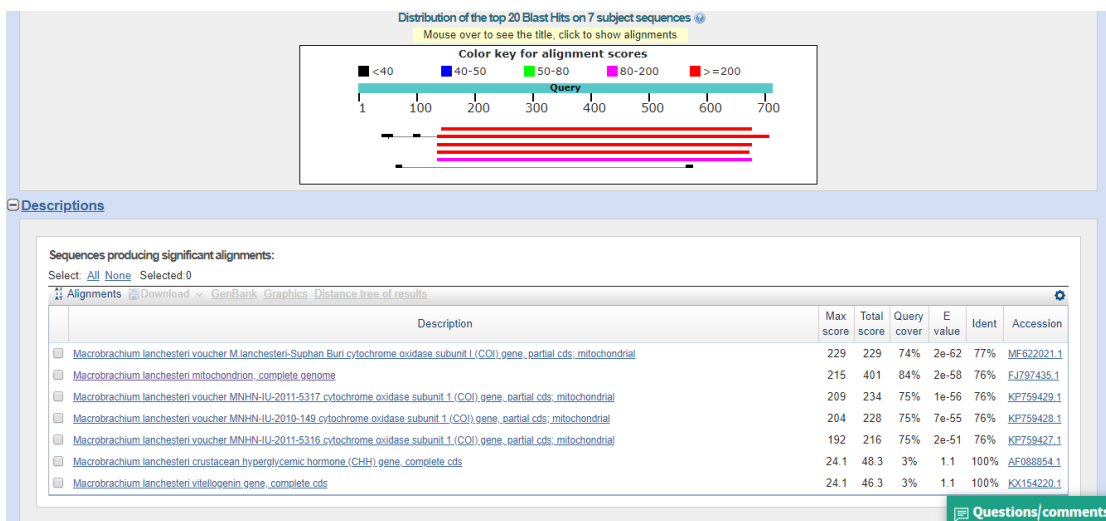
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* (RE)



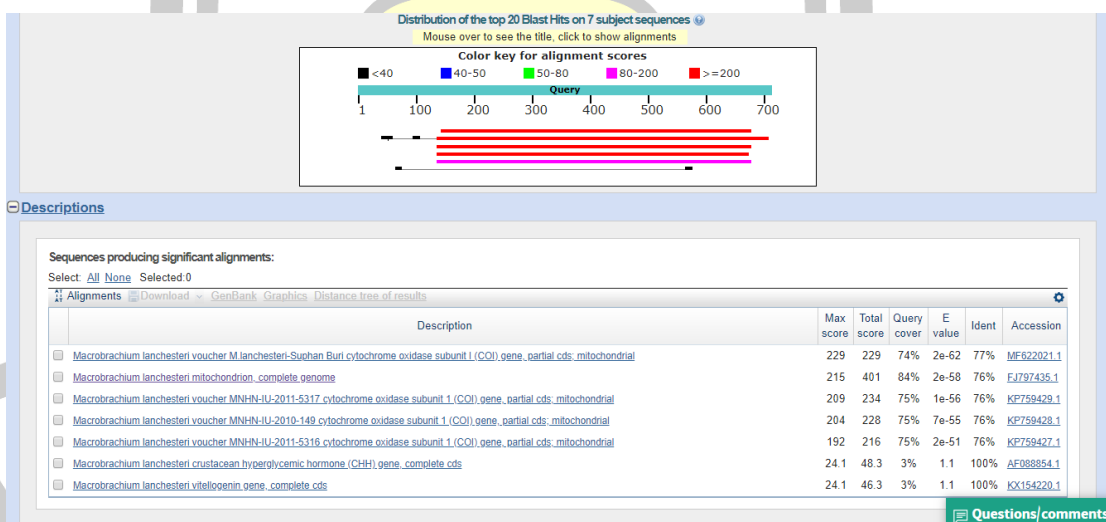
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* (L)



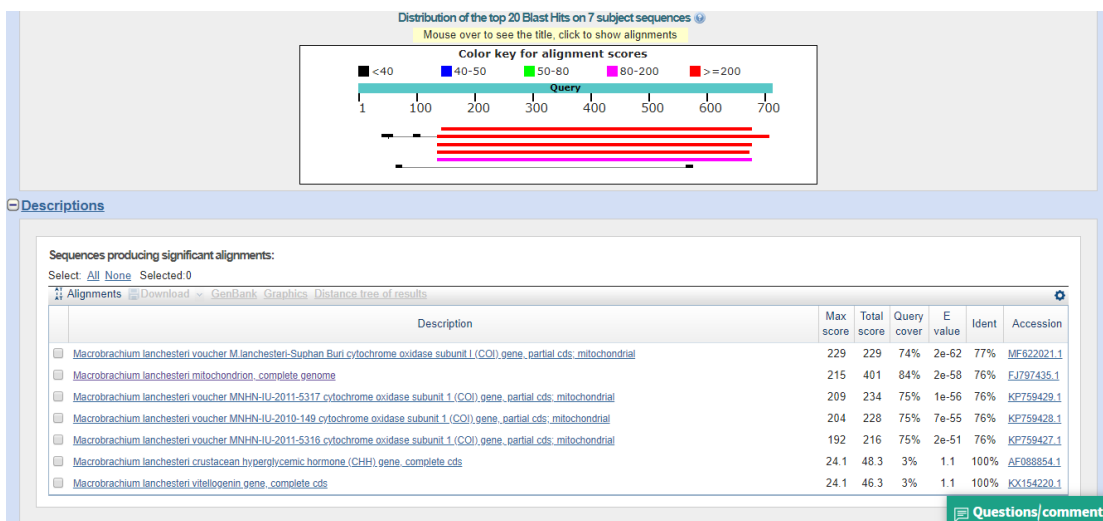
ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *M. lanchesteri* (NK)



ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ *M. lanchesteri* (NB)



ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ *M. lanchesteri* (SK)



ภาพประกอบภาคผนวก 6 (ต่อ) ผลวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์
ของ *M. lanchesteri* (SR)



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว รวิกานต์ ขนนานไพร
วันเกิด	วันที่ 27 ธันวาคม พ.ศ. 2532
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 96 หมู่ที่ 1 ตำบลโพธิ์สัย อำเภอศรีสมเด็จ จังหวัดร้อยเอ็ด รหัสไปรษณีย์ 45000
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2551 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีศึกษา อำเภอเมืองร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด พ.ศ. 2554 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2558 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2562 ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

พูนัน ปณุกิตโต ชีวะ