วิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย

GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE OF SURF CLAM (*Paphia undulata*) OF FISHING GROUND IN THAILAND

นายปฏิพล ตลรุ้ง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
พ.ศ. ๒๕๕๒

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย

Genetic Diversity and Population Structure of Surf Clam (*Paphia undulata*) of Fishing Ground in Thailand

นามผู้วิจัย นายปฏิพล คลรุ้ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ, Dr.Scient.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ....

(รองศาสตราจารย์สุภาวดี พุ่มพวง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ....

(รองศาสตราจารย์เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนันท์ ภัทรจินดา, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 **เดือน** พ.ย. **พ.ศ.** 2552

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย

Genetic Diversity and Population Structure of Surf Clam (*Paphia undulata*) of Fishing Ground in Thailand

โดย

นายปฏิพล ดลรุ้ง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล)

พ.ศ. 2552

ปฏิพล ดลรุ้ง 2552: ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ, Dr.Scient. 136 หน้า

การประมงหอยลาย (*Paphia undulata*) ในประเทศไทยมีมาตั้งแต่ปี 2513 แต่ในปัจจุบัน ประสบปัญหาผลผลิตหอยลายลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอาจเป็นผลจากการทำการประมงที่มากเกินไปหรือประชากรหอยลาย มีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับต่ำ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดไอเอสเอสอาร์ ประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างหอยลาย 500 ตัวอย่างในแหล่งทำการประมงในบริเวณ 4 พื้นที่ในอ่าวไทยและ 1 พื้นในบริเวณทะเลอันดามัน

ผลการวิเคราะห์เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ 300 ตำแหน่ง แสดงให้เห็นว่าในประชากรหอยลาย ในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร และ สมุทรปราการ มีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลาง และมีค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ที่มีค่าใกล้เคียงกัน (0.122-0.141) ในขณะที่ประชากรหอยลายในบริเวณอ่าวไทยตอนล่างในบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานีและทางฝั่งทะเลอันดามันในจังหวัดสตูลมีระดับของความหลากหลายทางพันธุกรรมในค่อนข้างต่ำ โดยมีค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้เท่ากับ 0.053 และ 0.047 จากวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรซึ่งประกอบด้วยค่า F_{ST} การวิเคราะห์ AMOVA การวิเคราะห์ Principal coordinate analysis (PCoA) และการทดสอบ Assignment test แสดงให้เห็นถึงระดับของความแตกต่างในแต่ละประชากรในระดับสูง โดยที่โครงสร้างของประชากรของหอยลายน่าจะมีรูปแบบการถ่ายเทยีนในรูปแบบ Stepping stone นั่นคือมีการถ่ายเทยีนเฉพาะประชากรในบริเวณอ่าวไทยตอนบนที่อยู่ใกล้ชิดกัน แต่ไม่มีการถ่ายเทยีนระหว่างประชากรดังกล่าวกับประชากรในจังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดสตูล

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างต่ำในประชากรหอยลายจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีและสตูล อาจทำให้ความสามารถในการอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงของหอยลายลดลง ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการฟื้นฟูทรัพยากรหอยลายและการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยลายเพื่อลดผลกระทบจาก การทำประมงหอยลายและรักษาการทำประมงหอยลายได้อย่างยั่งยืน

ลายมือชื่อนิสิต	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	26 / MA / 2552

Patipon Donrung 2009: Genetic Diversity and Population Structure of Surf Clam (*Paphia undulata*) of Fishing Ground in Thailand. Master of Science (Marine Science), Major Field: Marine Science, Department of Marine Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Suriyan Tunkijjanukij, Dr.Scient. 136 pages.

Surf clam *Paphia undulata* support offshore fishery of Thailand since 1970's. Present, most of fishing sites have experienced declines in production. Overexploitation and low levels of genetic variation of surf clam populations may be responsible for low productivity of the species. The ISSR markers were used to assess genetic diversity of surf clam sampled from four fishing areas in the Gulf of Thailand and one location from the Andaman Sea.

A total of 500 individuals were analyzed at 300 ISSR loci. Three neighboring populations (SG, SS, and SP) in the upper Gulf of Thailand exhibited moderate genetic variation and were similar with Nei's gene diversity (H_j) of 0.122 to 0.141. While the populations from the lower Gulf of Thailand (ST) and the Andaman Sea (ST) had relatively low genetic variability with Hj values of 0.053 and 0.047. Different analyses, including the F_{ST} values, AMOVA, principal coordinate analysis (PCoA) and assignment test revealed high levels of population substructure. The stepping stone structure of surf clam populations implicated gene flow may occur between stocks in the upper Gulf of Thailand. In contrast, the SR and ST populations were more geographically isolated with absence of gene flow.

The relatively low amount of genetic diversity of the SR and ST stocks may reduce the ability to survive in changing environment. Our results suggested that restocking programs as well as aquaculture development of this species should be considered to reduce fishing effort and maintain the sustainability of surf clam fishery.

Student's signature   Thesis Advisor's signature   26 / Oct / 2009

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาวดี พุ่มพวง กรรมการที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ กรรมการที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบพระคุณอย่างสูง Dr. Hugo volkaert ที่ช่วยเหลือในการให้คำแนะนำการใช้วิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ และขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ที่สนับสนุนเงินทุนในการวิจัย และได้รับทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอกราบขอบพระคุณ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ห้องปฏิบัติการในการศึกษาวิจัย

ขอขอบคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากเพื่อน น้องๆในภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และขอบขอบพระคุณแพหอยรุ่งเจริญกิจที่ให้ออกเรือไปเก็บตัวอย่าง

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อ และคอยให้เป็นกำลังใจและความห่วงใยเสมอ

ปฏิพล ดลรุ้ง
สิงหาคม 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลการทดลอง	26
วิจารณ์ผลการทดลอง	38
สรุปและข้อเสนอแนะ	44
สรุป	44
ข้อเสนอแนะ	45
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	46
ภาคผนวก	56
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี	57
ภาคผนวก ข ภาพแผนที่แสดงพื้นที่อนุรักษ์หอยลายบริเวณจังหวัด สมุทรสาคร	60
ภาคผนวก ค ขนาดแถบดีเอ็นเอและความถี่ของอัลลิลในแต่ละประชากร	62
ภาคผนวก ง ภาพตัวอย่างแถบอัลลิลไพรเมอร์จากการทดลอง	122
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	135

สารบัญตาราง

ตารางที่ | หน้า

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างของประชากร ชื่อย่อประชากร จำนวนตัวอย่าง สถานที่เก็บตัวอย่าง เดือนที่เก็บหอยลายที่ใช้ในการศึกษา	20
2	ส่วนประกอบของปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์	21
3	ไพรเมอร์ 9 ชนิด (Wolfe and Liston, 1998) ที่ใช้ปฏิกิริยา ISSR-PCR	26
4	ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งประมงในประเทศไทย 5 ประชากร [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และ สตูล (ST)] คำนวณจาก Lynch and Miligan (1994)	28
5	Pairwise F_{ST} ของหอยลาย 5 ประชากรในประเทศไทย [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และ สตูล (ST)] ที่กำหนดให้ค่า $F_{IS} = 0$ (ด้านบนเส้นแทยง) ระยะห่างทางพันธุกรรม ของหอยลาย 5 ประชากรในประเทศไทยที่กำหนดให้ค่า $F_{IS} = 0$ (ด้านล่างเส้นแทยง)	30
6	ผลความสัมพันธ์ของประชากรหอยลายทั้ง 5 ประชากร บริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และ สตูล (ST) โดยใช้ Inferred Clusters ที่ระดับ K=5	34
7	ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม Nei's (1978) (ด้านล่างของเส้นทแยงมุม) และระยะทางระหว่างประชากร (กิโลเมตร) จำนวน 4 ประชากร ในจังหวัดสมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) และสุราษฎร์ธานี (SR) (ด้านบนของเส้นทแยงมุม)	36
8	ค่าความแปรปรวนโดยวิธีวิเคราะห์ AMOVA ระหว่างประชากรและภายในประชากรของหอยลายในประเทศไทยจาก 5 ประชากร (1) ระหว่างอันดามันและรวมตัวอย่างประชากรในอ่าวไทย (2) ระหว่างประชากรสุราษฎร์ธานีและ รวมตัวอย่างประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ค1	ขนาดแถบดีเอ็นเอและความถี่ของอัลลิลในแต่ละประชากร	63

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนที่แสดงที่จุดเก็บตัวอย่างหอยลายทั้ง 5 ประชากร	24
2	แผนผังความสัมพันธ์ของระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายในแหล่งทำการประมงหอยลายในประเทศไทยทั้ง 5 ประชากรในบริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS)สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และสตูล (ST) โดยใช้โปรแกรม TFPGA (เปอร์เซ็นต์ที่แสดงบนจุดแยกคือค่าร้อยละของการทำซ้ำจากการสุ่ม 10,000 ครั้ง)	32
3	Principal coordinate Analysis ของประชากรหอยลายในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย 5 ประชากร [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และสตูล (ST)]	33
4	การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Structure โดยใช้ K=5	35
5	ความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมและระยะทางระหว่างประชากรของหอยลายในบริเวณแหล่งทำการประมงอ่าวไทย บริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการและในจังหวัด สุราษฎร์ธานี	36

ภาพผนวกที่

ข1	แผนที่แสดงพื้นที่อนุรักษ์หอยลายบริเวณจังหวัด สมุทรสาคร	61
ง1	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 1-12	123
ง2	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 13-24	123
ง3	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 25-36	124
ง4	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 37-48	124
ง5	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 49-60	125
ง6	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 61-72	125
ง7	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 73-84	126

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ง8	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 85-96	126
ง9	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 1-12	127
ง10	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 13-24	127
ง11	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 25-36	128
ง12	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 37-48	128
ง13	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 49-60	129
ง14	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 61-72	129
ง15	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 73-84	130
ง16	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 2 (SP) 85-96	130
ง17	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 1-12	131
ง18	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 13-24	131
ง19	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 25-36	132
ง20	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 37-48	132
ง21	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 49-60	133
ง22	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 61-72	133
ง23	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 73-84	134
ง24	แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 9 (SP) 85-96	134

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

bp	=	base pairs
dNTPs	=	deoxynucleotide triphosphate
df	=	degrees of freedom
EDTA	=	ethylenediamine tetraacetic acid
HCl	=	hydrochloric acid
M	=	molar
μg	=	microgram (s) (10^{-6})
μl	=	microliter (s)
μM	=	micromolar
mg	=	milligram (s)
ml	=	milliliter (s)
mM	=	millimolar
$MgCl_2$	=	magnesium chloride
ng	=	nanogram (s) (10^{-9})
NaCl	=	sodium chloride
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
pmol	=	picomole (s) (10^{-12})
pH	=	logarithm of reciprocal of hydrogen (H) ion
rpm	=	revolutions per minute
SDS	=	Sodium Dodecyl Sulfate
Taq	=	*Thermus aquaticus*
TBE	=	Tris-borate EDTA buffer
TE	=	Tris-EDTA buffer
TNES	=	Tris-NaCl-EDTA-Sodium Dodecyl Sulfate
Tris	=	Tris (hydroxymethyl) methylamine
U	=	unit

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย

Genetic Diversity and Population Structure of Surf Clam (*Paphia undulata*) of Fishing Ground in Thailand

คำนำ

หอยลายเป็นหอยสองฝา ซึ่งจัดเป็นทรัพยากรสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ซึ่งนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย หอยชนิดนี้มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในระดับความลึกน้ำทะเล 1-25 เมตร ทั้งทางฝั่งอ่าวไทยและอันดามัน โดยเฉพาะในแหล่งหอยลายใน จังหวัด ตราด ชลบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง พังงา กระบี่ และ ภูเก็ต ในปี 2517 หอยลายในอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน มีผลผลิตทั้งหมด 13,806 ตัน ตั้งแต่ปี 2517 หอยลายมีผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจนถึงปี 2524 ซึ่งมีผลผลิตเท่ากับ 62,220 ตัน จากนั้นลดลงและเพิ่มขึ้นในปี 2527 ที่มีผลผลิต 50,507 ตัน ผลผลิตหอยลายทั้งฝั่งอ่าวไทยและอันดามันมีผลผลิตเพิ่มขึ้นทุกปีจนถึงปี 2530 ซึ่งเป็นปีที่มีผลผลิตสูงสุดถึง 131,230 ตัน จากนั้นผลผลิตหอยลายก็ค่อยๆลดลง จนถึงปี 2545 ที่มีผลผลิตเหลือเพียง 31,737 ตัน และพบว่าแนวโน้มที่ลดลงทุกปี (กรมประมง, 2547) ซึ่งในปัจจุบันแหล่งทำการประมงหอยลายได้เสื่อมโทรมลงไปหลายแหล่ง บางแหล่งไม่สามารถทำการประมงได้ตลอดทั้งปี ซึ่งจากการสำรวจหอยลายในบริเวณอ่าวไทยตอนบน ตั้งแต่ปี 2530 ถึง 2545 พบว่าปริมาณการจับของผลผลิตหอยลายมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จนถึงปี 2545 ที่มีผลผลิตเพียง ร้อยละ 24.2 (มาลาและ จินตนา, 2548) และหอยลายที่จับได้ยังมีขนาดเล็กลงทุกปี อีกทั้งการฟื้นตัวของแหล่งทรัพยากรหอยลายในบริเวณที่เสื่อมโทรมไปแล้วพบว่าอัตราการฟื้นตัวของทรัพยากรหอยลายเป็นไปอย่างเชื่องช้าและใช้ระยะเวลานาน (มิคมินทร์, 2533) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของแหล่งทรัพยากรหอยลายที่ต่ำ ที่เกิดจากผลกระทบจากการทำการประมงที่มากเกินไป

พันธุศาสตร์ประชากร เป็นการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างองค์ประกอบทางพันธุกรรมของประชากรรวมถึงปัจจัยที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางพันธุกรรม ซึ่งทำให้มีผลทำให้เกิดการวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต หลักการของพันธุศาสตร์ประชากร สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ทั้งประชากรในโรงเพาะฟักและประชากรในธรรมชาติ ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลง

ทางพันธุกรรมนั้นอาจเป็นจากธรรมชาติเองหรืออาจเกิดจากการกระทำของมนุษย์ ผลเสียจากการลดลงของความหลากหลายทางพันธุกรรม อาจมีผลกระทบต่อความอยู่รอดของประชากรที่มีขนาดเล็ก ซึ่งการที่เราสามารถเข้าใจในกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆทางพันธุกรรมในระดับประชากร ทำให้เราสามารถนำมาใช้ในการวางแผนการจัดการประชากรสัตว์น้ำเพื่อรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมให้คงอยู่ในประชากร

ในปัจจุบันเครื่องหมายพันธุกรรม โดยเฉพาะเครื่องหมายระดับดีเอ็นเอ หลายๆ ชนิด เช่น ไมโครแซทเทลไลท์, AFLP, RAPD, ISSR ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในการศึกษาข้อมูลทางชีววิทยาหลายๆ ประการในสัตว์ทะเล ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากร ทำให้มีแนวคิดที่จะใช้ความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรเข้ามาช่วยศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลายของทั้งสองฝั่งทะเลทางอ่าวไทยและอันดามัน ที่อาจมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมเนื่องจากการขวางกั้นทางภูมิศาสตร์ โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรม ISSR ซึ่งคล้ายคลึงกับเทคนิค RAPD แต่มีข้อดีกว่า และไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลของลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อนและด้านค่าใช้จ่ายทางด้านเทคนิคในการศึกษาที่ไม่สูงนัก ใช้เวลาในการตรวจสอบสั้นกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องหมายพันธุกรรม อย่างไมโครแซทเทลไลท์ ที่ต้องใช้ระยะเวลานานในการพัฒนาและค่าใช้จ่ายในการพัฒนาค่อนข้างที่สูง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนมาตรการอนุรักษ์ทรัพยากรหอยลายในธรรมชาติอย่างยั่ง

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมและศึกษาโครงสร้างประชากรของหอยลายในแหล่งทรัพยากรหอยลายฝั่งอ่าวไทยบริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรปราการ สมุทรสาคร สุราษฎร์ธานี และฝั่งทะเลอันดามันบริเวณจังหวัดสตูล โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดไอเอสเอสอาร์

การตรวจเอกสาร

อนุกรมวิธานของหอยลาย

หอยลายเป็นหอยสองฝา มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นว่า หอยลาย ภาษาอังกฤษเรียกว่า Surf clam หรือ Short-necked clam หรือ Carpet clam

หอยลายมีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธานอยู่ใน Phylum Mollusca, Class Pelecypoda, Order Eumellibranchia, Family Veneridae, Genus *Paphia* หอยลายมีลักษณะที่สำคัญคือ เปลือกค่อนข้างบาง แข็ง มีรูปร่างยาวรี ฝาทั้งสองข้างมีขนาดเท่ากัน โดยปกติแล้วผิวด้านนอกของเปลือกหอยเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน และมีลวดลายหยักเป็นเส้นคล้ายตาข่ายตลอดความยาวของผิวเปลือกด้านนอก เส้นลายหยักเหล่านี้จะมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนผิวเปลือกด้านในเรียบ มีสีขาว ในส่วนของบานพับ (Hinge) ซึ่งเป็นส่วนต่อระหว่างฝาทั้งสอง มีลักษณะคล้ายฟันซี่เล็กๆ ฝาละ 3 ซี่ หอยลายในประเทศไทยมีรายงานพบอยู่ 3 ชนิด *Paphia undulata* , *P. alapapilionis* และ *P. crassisulca* (กรมประมง, 2548)

ชีววิทยาวงจรชีวิตและการแพร่กระจายของหอยลาย

หอยลายมีการสืบพันธุ์แบบแยกเพศผู้และเพศเมีย มีการวางไข่ตลอดปี โดยช่วงที่วางไข่สูงสุดจะอยู่ระหว่างเดือนสิงหาคม-ตุลาคม และมีนาคม-พฤษภาคม ทุกปี (ทั้งทางฝั่งอ่าวไทยและทะเลอันดามัน) (จินตนา, 2543) หอยลายมีความสมบูรณ์เพศที่จะสืบพันธุ์ได้จะมีขนาดประมาณ 3 เซนติเมตร หรือมีอายุประมาณ 1 ปี เมื่อผสมพันธุ์แล้วไข่จะฟักเป็นตัวอ่อนซึ่งตัวอ่อนจะล่องลอยไปตามกระแสน้ำเป็นเวลาประมาณ 12 วัน หลังจากนั้นจะลงเกาะยังพื้นท้องทะเล ในสภาพพื้นท้องทะเลที่เหมาะสมในพื้นที่ที่ลักษณะเป็นโคลน ปนทราย และหอยลายจะฝังตัวอาศัยอยู่ในระดับความลึกของผิวดิน 1-4 นิ้ว (นวลมณี, 2531) การแพร่กระจายทั่วไปจะอยู่ตามแนวชายฝั่งทะเลทั้งฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน ที่ระดับความลึกของน้ำ 1-25 เมตร ห่างจากชายฝั่งประมาณ 3 กิโลเมตร (ไพเราะและ สุนันท์, 2536)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นข้อมูลที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต ซึ่งประกอบด้วยความแปรผันของยีนหรือหน่วยทางพันธุกรรม ความแปรผันนี้สามารถตรวจสอบได้จากความหลากหลายของอัลลิลและยีโนไทป์ในกลุ่มของประชากรหรือในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ค่าที่ได้จะแสดงถึงระดับของความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรและระหว่างประชากร ในสิ่งมีชีวิตที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ธรรมชาติจะรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร โดยการเกิดรีคอมบิเนชั่น (Recombination) ซึ่งมีการแลกเปลี่ยนและสลับที่รวมตัวกันของยีนในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (Meiosis) (Hedrick, 2000)

ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร เกิดเมื่อสมาชิกของแต่ละประชากรมีการแยกตัวออกจากประชากรเดิมและลดการถ่ายเทยีน (Gene flow) ระหว่างประชากร จนเป็นเหตุให้ความถี่ของประชากรเปลี่ยนแปลงไป ต่อมาประชากรที่แยกจากกันจะมีลักษณะของวิวัฒนาการที่แตกต่างออกไปตามสภาพแหล่งที่อยู่อาศัย เพื่อให้สิ่งมีชีวิตสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงเป็นรากฐานที่สำคัญในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด (Hedrick, 2000)

ประชากร หมายถึง กลุ่มของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน ที่มีการผสมพันธุ์และแลกเปลี่ยนยีนกันภายในกลุ่ม ซึ่งเกิดขึ้นในเวลาและสถานที่เดียวกัน (Hedrick, 2000) การศึกษาโครงสร้างของประชากร หมายถึง การศึกษาถึงแบบแผนความแตกต่างระหว่างประชากรย่อยภายในสิ่งชีวิตชนิดเดียวกัน โดยมุ่งเน้นที่ศึกษาว่าสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ แยกออกเป็นประชากรย่อยๆ หรือไม่ ประชากรเหล่านี้มีพันธุกรรมแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรมากน้อยเพียงใด ประชากรนั้นอยู่ในสมดุลหรือไม่ ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงจากสภาพสมดุล ความเปลี่ยนแปลงนั้นเกิดจากสาเหตุใด (May and Krueger, 1990)

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้โครงสร้างของประชากรเปลี่ยนแปลงไป ได้แก่

1. การคัดเลือก (Selection) เป็นปัจจัยเดียวที่ได้รับอิทธิพลมาจากสภาพแวดล้อม โดยการคัดเลือกจากธรรมชาตินี้จะส่งผลต่อความผันแปรทางพันธุกรรมในแง่ที่จะไปเพิ่มความถี่ของอัลลิลที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมนั้นๆ

2. การอพยพ (Migration) หรือการถ่ายเทของยีนระหว่างประชากร ทำให้ความถี่อัลลีลของประชากรเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสัดส่วนความแตกต่างของอัลลีลจากประชากรที่มีการอพยพเข้าและประชากรดั้งเดิม นอกจากนี้การอพยพจะช่วยลดความแตกต่างระหว่างประชากรอันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ การคัดเลือก และการขาดช่วงทางพันธุกรรม

3. การขาดช่วงทางพันธุกรรม (Genetic drift) เป็นการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนในแต่ละชั่วอายุโดยมีทิศทางไม่แน่นอน เกิดจากการที่พ่อแม่พันธุ์ที่มีส่วนร่วมในการผสมพันธุ์สร้างประชากรในชั่วอายุต่อมาไม่เป็นตัวแทนของยีโนไทพ์ต่างๆ ในสัดส่วนเท่ากับที่มีอยู่ในประชากรเดิม มีผลให้ความถี่ของยีนแตกต่างจากประชากรเดิมโดยมาสามารถคาดการณ์ได้ การขาดช่วงทางพันธุกรรมจะมีผลทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง โดยลดจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งและจะมีผลกระทบในประชากรที่มีขนาดเล็กชัดเจนกว่าประชากรขนาดใหญ่ (อุทัยรัตน์, 2543)

4. การกลายพันธุ์ (Mutation) ความหลากหลายทางพันุกรรมของสิ่งมีชีวิตมีความแตกต่างกันไปก็มีจุดเริ่มต้นมาจากการกลายพันธุ์ แต่อัตราการเกิดการกลายพันธุ์ต่ำมากและอาศัยระยะเวลาที่ยาวนานโดยต้องใช้เวลาเป็นพันหรือล้านชั่วรุ่นในการทำให้เกิดความผันแปรในยีนหนึ่งตำแหน่ง ดังนั้นการกลายจึงส่งผลน้อยมากต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรในช่วงเวลาสั้นๆ (Frankham *et al.*, 2002)

ค่าที่บอกความหลากหลายทางพันธุกรรม

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากร ต้องสุ่มตัวอย่างยีนจำนวนหนึ่งจากจำนวนทั้งหมดมาศึกษาและวิเคราะห์ค่าความผันแปรของพันธุกรรมในประชากรนั้น (วิสุทธิ์, 2536) ความถี่ของยีโนไทป์ของประชากรนำไปคำนวณค่าที่แสดงความถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากรได้ดังนี้

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

1. จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (Average number of allele per locus) คำนวณจากผลรวมของจำนวนอัลลีลทั้งหมดทุกตำแหน่งแล้วหารด้วยจำนวนตำแหน่งยีนทั้งหมดที่ทำการศึกษา (Hedrick, 2000) จำนวนอัลลีลสามารถใช้ในการติดตามผลกระทบจากการเกิดสภาวะคอขวด

(Bottleneck) และติดตามการเกิดการขาดช่วงทางพันธุกรรมได้ดี เนื่องจากการเกิดการขาดช่วงทางพันธุกรรมจะทำให้อัลลีลที่มีความถี่ต่ำ (Rare allele) สูญหายไป (Allendorf and Phelps, 1980) โดยประชากรที่มีจำนวนอัลลีลน้อยจะทำให้ความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมลดน้อยลง จนนำไปสู่การผสมเลือดชิด (Inbreeding) ภายในประชากร ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อความสามารถในการสืบพันธุ์และการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต

2. Effective number of allele (N_e) เป็นค่าที่แสดงถึงจำนวนอัลลีลของพ่อแม่ที่สามารถผสมพันธุ์กันและถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้ โดยค่านี้ใช้ในการเปรียบเทียบประชากรที่มีจำนวนและการกระจายตัวของอัลลีลแตกต่างกัน โดยปกติจะมีค่าน้อยกว่าจำนวณที่แท้จริง (Actual number)

3. เฮตเทอโรไซโกซิตี้ (Heterozygosity) เป็นค่าความถี่ของเฮตเทอโรไซโกต ต่อยีน 1 ตำแหน่ง ซึ่งจะคำนวณทั้งค่าจากการสังเกต (H_0) และจากค่าคาดหมาย (H_e) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้มีความสัมพันธ์กับขนาดประชากร โดยถ้ามีค่าต่ำแสดงว่าประชากรมีขนาดเล็ก ซึ่งเฮตเทอโรไซโกซิตี้เป็นตัวชี้วัดการขาดช่วงทางพันธุกรรมที่ไม่ดีนัก (Falconer, 1996)

การประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากร

1. ข้อมูลจากเครื่องหมายข่มร่วม

ในการประเมินค่าจากข้อมูลจากเครื่องหมายพันธุกรรมที่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และ เฮตเทอโรไซโกต เช่น อัลโลไซม์, ไมโครแซทเทลไลท์ สามารถคำนวณความถี่ของยีนได้ดังนี้

$$p = \frac{(2N_{AA} + N_{Aa})}{2N}$$

$$q = \frac{(2N_{aa} + N_{Aa})}{2N}$$

โดย p เป็นความถี่ของอัลลีล A และ q เป็นความถี่ของอัลลีล a, N เป็นจำนวนตัวอย่างที่ทำการศึกษา และ N_{AA}, N_{aa} และ N_{Aa} เป็นจำนวนตัวอย่างที่มีจีโนไทพ์ แบบ AA, aa และ Aa ตามลำดับ

สำหรับค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี้ เป็นสัดส่วนของ Aa เฉลี่ยต่อเครื่องหมาย 1 ตำแหน่ง ต่อตัวอย่าง 1 ตัว จะสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$H_0 = \sum \frac{(N_{Aa} / N)}{n}$$

โดย n คือจำนวนตำแหน่งที่ทำการศึกษา

เมื่อมีการสมมุติฐานว่า ประชากรที่ทำการศึกษาอยู่ในสมดุลฮาร์ดีไวน์เบอร์ก สามารถคำนวณค่าคาดหมายเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_e) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$h_i = 1 - \sum X_i^2$$

โดย X_i คือ ความถี่ของอัลลีล i ; h_e เป็นค่าคาดหมายเฮตเทอโรไซโกซิตี้ ของเครื่องหมายแต่ละตำแหน่งที่คำนวณจากเครื่องหมายแต่ละตำแหน่งมารวมกันและหารด้วยจำนวนตำแหน่งที่ศึกษา

ถ้าประชากรอยู่ในสมดุลฮาร์ดีไวน์เบอร์กค่าคาดหมายเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_e) และ ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_0) ของแต่ละตำแหน่ง ในแต่ละประชากร จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยวิธี Chi-square, log likelihood ratio หรือ exact test

2. ข้อมูลจากเครื่องหมายข่มสมบูรณ์ที่ไม่สามารถแยกโฮโมไซโกตและเฮตเทอโรไซโกต

ในการประเมินค่าจากข้อมูลที่ไม่สามารถบอกความแตกต่างโฮโมไซโกต และ เฮตเทอโรไซโกตในแต่ละตำแหน่งของส่วนดีเอ็นเอที่ทำการศึกษา เช่น Random amplified polymorphic DNA (RAPD), Inter simple sequence repeat (ISSR), Amplified fragment length polymorphism

(AFLP) จุดประสงค์หลักคือ การค้นหาแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ได้รูปแบบ ที่เรียกว่า แฮพโพลไทป์ ทำได้โดยคำนวณระดับความคล้ายคลึงระหว่างแฮพโพลไทป์โดยใช้สูตร

$$S_{xy} = \frac{2n_{xy}}{(n_x + n_y)}$$

โดย n_x และ n_y คือ จำนวนแถบดีเอ็นเอของแฮพโพลไทป์ x และ y ตามลำดับ n_{xy} คือ จำนวนแถบดีเอ็นเอเหมือนกันใน 2 แฮพโพลไทป์

ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างแฮพโพลไทป์โดยใช้สูตร

$d = 1 - S$ (Lynch, 1990)

โดยคำนวณค่าความหลากหลายของแฮพโพลไทป์ภายในประชากรจากสูตร

$h = 2n\left(\frac{1 - \sum (X_i^2)}{2n - 1}\right)$ สำหรับยีนในนิวเคลียส

หรือ มีค่าเท่ากับ $h = n\left(\frac{1 - \sum (X_i^2)}{n - 1}\right)$ สำหรับยีนในไมโตคอนเดรีย

โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ

$$H = \sum_{j=1}^{r} \frac{h_j}{r}$$

โดย r คือจำนวนตำแหน่ง ที่ทำการศึกษา (Nei, 1987)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

1. ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (*F*-coefficient) เป็นค่าที่สำคัญในการศึกษาโครงสร้างของประชากร โดยค่านี้แสดงความสัมพันธ์ของอัลลิลภายในกลุ่มประชากร ซึ่งจะบ่งบอกว่ากลุ่มของประชากรนั้นๆ ได้แบ่งออกเป็นประชากรย่อยหรือไม่ (Wright, 1978) สิ่งมีชีวิตหนึ่งๆ อาจมีโครงสร้างประชากรเป็นแบบประชากรเดี่ยวขนาดใหญ่ หรือแบ่งออกเป็นประชากรย่อยที่ตัดขาดกันอย่างสิ้นเชิง หรือแบ่งเป็นประชากรย่อยที่อาจผสมข้ามประชากรบางโอกาส หรืออาจเป็นประชากรที่อยู่ในสภาพภูมิศาสตร์เดียวกันอาจแต่ไม่มีการผสมข้ามประชากร หรือไม่เกิดการถ่ายเทยีนระหว่างประชากร หรืออาจมีหลายลักษณะปนกันไป โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์เอฟมีทั้งหมด 3 แบบ คือ

F_{IS} เป็นค่าที่บอกระดับการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรย่อย ซึ่งค่านี้มีทั้งค่าบวกและค่าลบ

F_{IT} เป็นค่าที่บอกระดับการเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กของประชากรทั้งหมด

F_{ST} เป็นค่าที่วัดความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรต่างๆ หากมีค่าสูงแสดงว่าตัวอย่างที่ศึกษานั้นมีการแบ่งเป็นประชากรย่อยจริง

2. ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) เป็นค่าที่แสดงถึงจำนวนของอัลลีลที่มีการเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละตำแหน่งหลังจากที่ประชากรทั้งสองเริ่มแยกจากกัน โดยจะบ่งบอกถึงความถี่และปริมาณการถ่ายเทยีนระหว่างประชากร หากความถี่อัลลีลของสองประชากรคล้ายคลึงกัน ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมจะมีค่าเข้าใกล้ 1 และค่าระยะห่างพันธุกรรมเข้าใกล้ 0 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมนี้สามารถนำไปใช้สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic dendrogram) ได้ (Frankham *et al.*, 2002)

การประเมินค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

1. ข้อมูลจากเครื่องหมายข่มร่วม

การคำนวณหาค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรเป็นการแสดงค่าที่ได้จากความถี่ของจีโนไทพ์ซึ่งมีสูตรหลายสูตร โดยทั่วไปค่าพื้นฐานที่ใช้ทั่วไป คือ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาตรฐาน โดย Nei (Nei, 1972)

ในประชากร X และ Y ค่าความน่าจะเป็นที่ประชากรมีจีโนไทพ์เหมือนกันของตำแหน่งคำนวณจากสมการ

$$j_x = \sum x_i^2 \text{ และ } j_y = \sum y_i^2$$

โดย *Xi* และ *yi* เป็นความถี่อัลลีล *i* ของตำแหน่งที่ทำการศึกษาในประชากร X และ Y หากตำแหน่งที่ทำการศึกษามีจำนวน 2 อัลลีลด้วยความถี่ *p* และ *q* ดังนั้น

$$J = p^2 + q^2$$

ค่าความน่าจะเป็นที่ประชากร *X* และ *Y* มีจีโนไทพ์ของตำแหน่งยีนเดียวกันเหมือนกัน (j_{xy}) เท่ากับ

$$j_{xy} = \sum x_i y_i$$

ค่า Normalized identity ในประชากร X และ Y ในตำแหน่งที่ทำการศึกษาทั้งหมดเท่ากับ

$$I = \frac{J_{xy}}{J_x J_y^{1/2}}$$

โดย J_{XY}, J_X และ J_Y คือค่าเฉลี่ยของ J_{XY}, J_X และ J_Y ในตำแหน่งที่ทำการศึกษาทั้งหมดตามลำดับ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร X และ Y เท่ากับ

$$\bar{D} = \ln(\bar{I})$$

2. ข้อมูลที่ไม่สามารถแยกโฮโมไซโกตและเฮตเทอโรไซโกต

คำนวณระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่แฮพโพลไทป์โดยคำนวณระดับความคล้ายคลึงระหว่างแฮพโพลไทป์โดยใช้สูตร

$$S_{ij} = \frac{2n_{ij}}{n_i + n_j}$$

โดย n_i และ n_j คือจำนวณแถบดีเอ็นเอของตัวอย่าง i และ j ในประชากร I และ J ตามลำดับ n_{ij} คือจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันในคู่ตัวอย่างที่ทำการเปรียบเทียบ (Lynch, 1990)

คำนวณค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (*Sij*) โดยคำนวณค่าความเหมือนระหว่างคู่ตัวอย่างจากต่างประชากรที่เป็นไปได้ทั้งหมดหารด้วยจำนวนตัวอย่างที่ตรวจสอบทั้งหมด และหาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม *(d)* โดยใช้สูตร

$$d_j = 1 - S_{ij}$$

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรหอยทะเล

หอยเป็นสัตว์น้ำที่มีความแตกต่างจากสัตว์น้ำชนิดอื่นๆในเรื่องของการแพร่กระจาย เนื่องจากหอยทะเลส่วนใหญ่เมื่อเจริญเติบโตเต็มวัยจะมีการเคลื่อนที่เชื่องช้าหรือไม่มีการเคลื่อนที่ แต่ในระยะตัวอ่อนของหอย จะมีลักษณะที่เป็นแพลงก์ตอน ซึ่งสามารถล่องลอยไปตามกระแสน้ำ ถ้าหอยมีระยะตัวอ่อนนาน ตัวอ่อนจะมีโอกาสลอยไปได้ไกล ทำให้เกิดการปะปนกันระหว่างประชากรได้ง่ายในทะเลเปิด ซึ่งหมายถึงมีการถ่ายเทยีนระหว่างประชากร ทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรสูงและไม่มีความแตกต่างกันระหว่างประชากร ในทางตรงกันข้าม ถ้ามีระยะของตัวอ่อนที่สั้น ล่องลอยไปได้ไม่ไกล ส่งผลให้การแพร่กระจายที่มีอยู่อย่างจำกัด (Rhodes *et al.*, 2003) ในการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของหอย 2 ชนิด ที่มีระยะตัวอ่อนที่ต่างกันคือ หอย *Goniodoris nodosa* มีระยะตัวอ่อนที่ยาวนานถึง 3 เดือน ไม่พบความแตกต่างที่

ระยะทางมากกว่า 1000 กิโลเมตร และการเกิดประชากรในรุ่นถัดไปจะได้รับตัวอ่อนจากประชากรอื่นที่อยู่ห่างไกลเป็นส่วนใหญ่ ในทางตรงกันข้ามกับหอย *Adalaris proxima* มีระยะตัวอ่อนเพียง 1-2 วัน รวมถึงลักษณะของไข่จะจมลงสู่พื้นดินและเกาะติดกับวัสดุ จึงพบความแตกต่างได้ในระยะทางที่น้อยกว่า 100 เมตร ซึ่งทำให้การแทนที่ในรุ่นถัดไปมาจากประชากรเดิม (Todd *et al.*, 1998; Lambert *et al.*, 2003)

นอกจากการกระจายของตัวอ่อนแล้ว สิ่งกีดขวางยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการถ่ายเทยีนจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยเชลล์ พบว่าระหว่างประชากรจากอ่าวไทยและทะเลอันดามันมีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง เป็นผลมาจากลักษณะภูมิประเทศที่มีแผ่นดินกีดขวาง ทำให้มีการแยกขาดออกจากกันระหว่างประชากร (Mahidol *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับการศึกษาในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Klinbunga *et al.*, 2001) และ หอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina*) (Klinbunga *et al.*, 2003)

นอกจากนี้ทิศทางของกระแสน้ำก็เป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดรูปแบบโครงสร้างประชากร เช่น ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาเก๋าดอกแดงในประเทศไทยและอินโดนีเซีย โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษาที่ไม่สอดคล้องกับระยะทางระหว่างประชากร โดยประชากรที่อยู่ห่างกันถึง 1,044 กิโลเมตร กลับมีพันธุกรรมคล้ายคลึงกันมาก เนื่องจากอยู่ในทิศทางของกระแสน้ำเดียวกัน แต่ประชากรที่อยู่ห่างกันเพียง 638 กิโลเมตร กลับมีพันธุกรรมที่แตกต่างกันมาก เนื่องจากไม่อยู่ในทิศทางของกระแสน้ำเดียวกัน แสดงให้ทราบว่าแบบแผนของการไหลเวียนของกระแสน้ำในมหาสมุทรมีอิทธิพลต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (Antoro *et al.*, 2005) การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis fulgens*) ตามแนวชายฝั่งแคลิฟอร์เนียและเกาะ Isla Guadalupe ที่ตั้งอยู่ทางเหนือของชายฝั่ง พบว่าประชากรจากเกาะแตกต่างจากประชากรตามแนวชายฝั่ง เนื่องจากหอยชนิดนี้มีการวางไข่ในช่วงที่กระแสน้ำแคลิฟอร์เนียไหลย้อนกลับไปทางเหนือ จึงไม่มีการถ่ายเทยีนจากเกาะมาสู่ประชากรตามแนวชายฝั่งแคลิฟอร์เนีย (Gutierrez-Gonzalez *et al.*, 2007)

Tang *et al.* (2004) ได้ศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรในหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina* ในธรรมชาติในฝั่งอันดามันและอ่าวไทย โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ 3 ตำแหน่ง พบว่าค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้ (H_o) จากอ่าวไทย (H_o มีค่า 0.70 และ H_e มีค่า 0.87) และอันดามัน (H_o มีค่า 0.58 และ H_e มี

ค่า 0.62 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อในธรรมชาติจากอ่าวไทย มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สูงกว่าหอยเป๋าฮื้อจากฝั่งอันดามัน แต่โครงสร้างของประชากรของหอยเป๋าฮื้อ *H.asinina* ไม่พบความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มตัวอย่างของหอยภายในอ่าวไทย แต่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างของหอยในธรรมชาติจากอ่าวไทยและอันดามัน

Li *et al.* (2006) ศึกษาและประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกความแตกต่างระหว่างประชากรโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 7 ตำแหน่งในการประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอยนางรม *Crassostrea gigas* ในประเทศจีน พบว่าค่าเฮตโทโรไซโกซิตี้ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.916-0.949 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประชากรหอยยังคงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับสูงและยังพบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระหว่างประชากรใน 5 พื้นที่ของการศึกษา

Wolf *et al.* (2004) ศึกษาผลกระทบจากการเกิดมลพิษในปากแม่น้ำ Scheldt ในประเทศเนเธอร์แลนด์ที่มีผลกระทบต่อโครงสร้างประชากรของหอย *Littorina littorea* โดยการใช้เครื่องหมาย RAPD จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยในทุกประชากรทางตอนเหนือและทางตอนใต้ของปากแม่น้ำมีระดับของค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ในระดับสูง แต่ไม่ได้แสดงให้ถึงความแตกต่างระหว่างประชากรในปากแม่น้ำ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้แสดงให้ว่าการเกิดมลพิษไม่ได้ไปมีผลกระทบต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ทำให้ระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรลดลง

Hou *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอย Surf clam *(Mactra veneriformis)* ในประเทศจีน ใน 7 พื้นที่ โดยการใช้เทคนิค ISSR-PCR marker พบว่าค่าเฮตโทโรไซโกซิตี้อยู่ในช่วงระหว่าง 0.212-0.342 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหอยใน 7 พื้นที่ ยังคงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลางและสามารถแบ่งแยกประชากรหอยได้ออกเป็น 3 กลุ่มประชากรคือ กลุ่มประชากรใน Liaoning, Oingdao/Lianyungang และ Ningbo

Milton *et al.* (1998) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอย *Venus antiqua* ในบริเวณทางใต้ของประเทศชิลีโดยการใช้เทคนิคไอโซไซม์ จำนวน 13 ตำแหน่ง ผลการศึกษาพบว่าประชากรหอยที่ทำการศึกษาในแต่ละแหล่งนั้น ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างประชากรและยังพบว่าประชากรหอยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลาง

ซึ่งมีความสอดคล้องกันกับการที่พบว่าอัตราของการเจริญเติบโตหอยมีค่าที่ต่ำและหอยมีความสมบูรณ์ทางเพศช้า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการทำการประมงในบริเวณนั้นมากเกินไป

Kong *et al.* (2007) ศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรและความแตกต่างของโครงสร้างประชากรในหอย *Coelomactra antiquata* ในแหล่งทำการประมง 4 แหล่งในบริเวณชายฝั่งทะเลในประเทศจีน โดยใช้เทคนิคไอไซไซม์ ซึ่งทำการศึกษาเพื่ออธิบายการถึงลดลงของผลผลิตหอยในบริเวณแหล่งทำการประมงทั้ง 4 แหล่งซึ่งมีการทำการประมงอย่างหนาแน่นในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา เพื่อใช้ในการวางแผนโปรแกรมในการจัดทรัพยากรและการอนุรักษ์ ผลจากการศึกษาพบว่าหอยทั้ง 4 บริเวณ มีค่า Allele richness อยู่ในช่วง 2.79 - 3.53 และมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้อยู่ในช่วง 0.326 - 0.519 และมีความแตกระหว่างประชากร 3ประชากรในบริเวณทางตอนเหนือ และ 1 ประชากรในบริเวณทางตอนใต้ในระดับสูง

Hui and Hou (2006) ทำการศึกษาหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรหอย (*Pinctada fucata)* ในประชากรธรรมชาติและในโรงเพาะเลี้ยง 3 พื้นที่ Beibu Bay, Daya Bay, Sanya Bay ในประเทศจีน โดยใช้เทคนิค AFLP พบว่าค่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรธรรมชาติและในโรงเพาะเลี้ยงมีค่าความหลากหลายในระดับปานกลาง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ (0.393, 0.378), (0.374, 0.378), (0.367, 0.377) ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของหอยหมวกเจ๊ก *Patella ferruginea* ใน 2 พื้นที่ Sardinian ในบริเวณที่มีการถูกคุกคามและบริเวณที่มีการอนุรักษ์พบว่า ค่า (H) = 0.173, H = 0.203-0.233 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าบริเวณที่มีการคุกคามมีค่าความหลากหลายที่ต่ำกว่าบริเวณที่มีการอนุรักษ์ (Casu *et al.*, 2006)

สำหรับหอยลายนั้น ยังไม่พบว่ามีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรหอยลายในประเทศไทย

เครื่องหมายพันธุกรรมที่ใช้ศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร

เครื่องหมายพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ โปรตีนเครื่องหมาย ได้แก่ อัลโลไซม์ ซึ่งเป็นการตรวจสอบและเปรียบเทียบความแตกต่าง

ของโปรตีนชนิดต่างๆ และดีเอ็นเอเครื่องหมาย ได้แก่ เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ เครื่องหมาย RAPD (Randomly Amplified polymorphic DNA) เครื่องหมาย ISSR (Inter simple Sequence Repeat) และ เครื่องหมาย AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

เครื่องหมาย RAPDและ เครื่องหมาย ISSR

เทคนิค RAPD ได้ถูกพัฒนาโดยนักวิทยาศาสตร์ 2 กลุ่ม คือ Welsh and McClelland (1990) และ Williams *et al.* (1990) หลักการของเทคนิคนี้คือ การใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบมาโดยสุ่มซึ่งจะสามารถที่จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในจีโนม ให้ได้ผลผลิตของ PCR ได้หลายๆ ชิ้น ที่แสดงความหลากหลายในหลายระดับตั้งแต่ตัวอย่างภายในประชากร ระหว่างประชากร และระหว่างชนิด (Hadrys *et al.,* 1992) แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏนั้นจะได้มาจากหลายส่วนในจีโนม ทั้งส่วนที่อนุรักษ์ (Conserved region) ส่วนที่แสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ส่วนที่เป็นส่วนของยีนและที่ไม่ใช่ยีน ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD สามารถนำไปพัฒนาเป็นโมเลกุลเครื่องหมาย ที่ใช้ประยุกต์ใช้ในงานส่วนอื่นๆ

ไพรเมอร์ที่ใช้มีขนาด 8-12 คู่เบส โดยมีหลักการง่ายๆ ว่าไพรเมอร์ควรมีเองประกอบของเบส G+C มากกว่า 50% และมีลำดับเบสแบบสุ่ม ซึ่งการทำ PCR นั้นจะใช้อุณหภูมิ annealing ต่ำๆ ไพรเมอร์แบบสุ่มนี้จะสามารถจับดีเอ็นเอต้นแบบได้หลายตำแหน่ง และความหลากหลายจะแสดงในลักษณะมีและไม่มีของแถบดีเอ็นเอแต่ละแถบ โดยแต่ละแถบถือให้เป็น 1 ตำแหน่ง (Locus)

เทคนิค ISSR มีหลักการคล้ายคลึงกับเทคนิค RAPD แต่ไพรเมอร์ที่ใช้จะเป็น ลำดับเบสซ้ำอย่างง่ายๆ (Simple repeat) เช่น $(AG)_8G$ $(GA)_8$ YC $(ATG)_8$ เป็นต้น เทคนิคนี้ในทางทฤษฎีมีเปอร์เซ็นต์การทำซ้ำ ของแถบดีเอ็นที่ได้ดีกว่า RAPD เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้มีความยาวมากกว่า จึงสามารถทำปฏิกิริยา PCR ที่อุณหภูมิสูงกว่า RAPD นอกจากนี้ไพรเมอร์ ISSR ยังจับกับส่วนไมโครแซทเทลไลท์ โดยตรงทำให้ได้เครื่องหมายที่มีระดับความหลากหลายสูงกว่า RAPD ยังเป็นการรวมข้อดีของเทคนิค RAPD, AFLP และไมโครแซทเทลไลท์ ไว้ด้วยกัน และให้ผลการตรวจสอบใช้เวลาสั้นกว่า AFLP และไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลของลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน และค่าใช้จ่ายในการศึกษาที่ไม่สูงมาก

การวิเคราะห์พันธุศาสตร์ประชากรจากข้อมูลเครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์

เครื่องหมายพันธุกรรมแบบข่มสมบูรณ์ (Dominant markers) เช่นเครื่องหมาย RAPD และ ISSR ซึ่งเริ่มมีความนิยมนำมาใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรและการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตามหนึ่งในข้อจำกัดในการใช้เครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์ คือ เครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์ประเมินค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ต่ำกว่าเครื่องหมายแบบข่มร่วมเนื่องจากไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่าง โฮโมไซโกตและเฮตเทอโรไซโกต (Lynch and Milligan, 1994)

นอกจากนี้เครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์มีความยากในการวิเคราะห์ค่าทางสถิติต่างๆเช่นมีความยากในการคำนวณค่าความถี่อัลลิล และค่าทางสถิติทางพันธุศาสตร์ เช่น (H_e, F_{ST}) เนื่องจากข้อมูลเครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์จะแสดงให้เห็นเพียง ลักษณะที่ปรากฏและไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอซึ่งเป็นไปไม่ได้ที่จะคำนวณความถี่ของอัลลิลจากเครื่องหมายแบบข่มสมบูรณ์ได้โดยตรง การคำนวณจะต้องมีการกำหนดว่าประชากรที่ศึกษาอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวเบิร์ก เช่นวิธีการของ Lynch and Milligan (1994) ซึ่งใช้ในการคำนวณค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้อมูลแบบข่มสมบูรณ์ (Dominant marker) เช่น RAPD, ISSR, AFLP

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่างทำการเลือกจุดเก็บตัวอย่างของหอยลายในบริเวณแหล่งทำการประมงหอยลาย โดยทำการสำรวจเอกสารจากกรมประมงและสอบถามจากผู้ประกอบการที่ทำการประมงหอยลาย ซึ่งทำการประมงอยู่ในปัจจุบัน การศึกษาครั้งนี้ทำการเลือกจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งทำการประมงหอยลายในประเทศไทย 5 แหล่งในบริเวณอ่าวไทย 4 แหล่ง ในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ และ สุราษฎร์ธานี 1 แหล่งในฝั่งทะเลอันดามัน ในจังหวัดสตูล ในช่วงเดือนมกราคม-มิถุนายน 2551 โดยทำการเก็บตัวอย่างโดยใช้เรือติดเครื่องยนต์ติดเครื่องมือคราดหอยขนาดไม่น้อยกว่า 1.2 เซ็นติเมตร คราดครูดไปกับพื้นทะเลเพื่อเก็บตัวอย่าง เก็บรวบรวมตัวอย่างหอยลายขนาด 3 เซ็นติเมตร โดยเก็บแหล่งละ 3 จุด เก็บตัวอย่างประชากรละ 100 ตัว สถานที่เก็บและจุดเก็บตัวอย่างจำนวนตัวอย่าง เดือนที่เก็บตัวอย่างแสดงไว้ใน ตารางที่ 1

2. การสกัดดีเอ็นเอจากกล้ามเนื้อเท้าของหอยลาย

สกัดดีเอ็นเอจากกล้ามเนื้อเท้าของหอยลายแต่ละตัว ด้วยวิธี ฟีนอล/ คลอโรฟอร์ม โดยดัดแปลงจากวิธี Taggart *et al.* (1992)

ตัดตัวอย่างกล้ามเนื้อเท้า (Foot mussel) ให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.1 กรัม 2 ถึง 3 ชิ้น ใส่ในหลอดขนาด 1.5 ml เติมบัพเฟอร์ (ความเข้มข้น 10 mM Tris-HCl, 1% NaCl, ความเข้มข้น 1mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 350 µl และเติม Proteinase K ความเข้มข้น 20 mg/ml, SDS ความเข้มข้น 10% บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 55° C ทิ้งไว้ข้ามคืน หลังจากการบ่มนำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : 400 µl และขั้นที่สอง ฟีนอล:คลอโรฟอร์ม: ไอโซเอมิลในอัตราส่วน 25:24:1 ในแต่ละขั้นตอนนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm นาน 10 นาที ดูดเฉพาะสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่ จากนั้นล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 95% ที่เย็นจัด ปริมาตร 1.5-2 เท่าของปริมาณตัวอย่าง ล้างตะกอนดีเอ็นเออีก 2 ครั้ง ด้วยเอทานอล 70% ปริมาตร 0.5-1 ml นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm นาน 5 นาที ละลายตัวอย่างดีเอ็นเอในสารละลายบัฟเฟอร์TE (10 mM Tris-HCl pH 7.6, 1mM EDTA, pH 8.0) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

3. วัดปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

วัดปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) โดยอาศัยหลักการว่าดีเอ็นเอจะดูดกลืนแสงอุตราไวโอเลตได้ดีที่ความยาวคลื่น 260 nm (A_{260}) ซึ่งในสภาพสารละลายดีเอ็นเอเกลียวคู่ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml จะมีค่า A_{260} เท่ากับ 1 และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอได้โดยการหาอัตราส่วนของ A_{260}: A_{280} ถ้าได้ค่าระหว่าง 1.65 - 1.85 แสดงว่าได้ดีเอ็นเอเกลียวคู่ที่บริสุทธิ์ แต่ถ้าหากได้ค่ามากกว่า 1.85 แสดงว่าในตัวอย่างดีเอ็นเอมีอาร์เอ็นเอปนอยู่ และถ้าได้ค่าที่น้อยกว่า 1.65 แสดงว่ามีโปรตีนหรือ ฟีนอลปนอยู่ในสารละลายดีเอ็นเอตัวอย่าง (Kirby, 1992)

4. การทดสอบไพรเมอร์

นำดีเอ็นเอจากข้อ 3 มาทดสอบกับไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ ISSR1-20 ของ Wolfe and Liston (1998) เพื่อทดสอบไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอยลายในสารละลายส่วนผสมในปฏิกิริยาพีซีอาร์ 20 µl ประกอบด้วยสารต่างๆตาม ตารางที่ 2

5. การทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม

5.1 คัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมจำนวน 9 ไพรเมอร์ จากการทดสอบทั้งหมด 20 ไพรเมอร์ เพื่อใช้ในการทดสอบความหลากหลายของ ISSR ไพรเมอร์ที่สภาวะเหมาะสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในสภาวะมาตราฐานของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในสารละลายส่วนผสม 20 µl (ตารางที่2) ในตัวอย่างของหอยลายทั้ง 5 ประชากร ในประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุราษฎร์ธานี และ สตูล

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของประชากร ชื่อย่อประชากร จำนวนตัวอย่าง สถานที่เก็บตัวอย่าง เดือนที่เก็บหอยลายที่ใช้ในการศึกษา

สถานที่เก็บ	สัญลักษณ์	ตำแหน่งที่เก็บ (Lat.-Long.)		จำนวนที่เก็บ	วันที่เก็บตัวอย่าง (เดือน)
		ละติจูด(Lat.) (N)	ลองติจูด(Long.) (E)		
สมุทรสงคราม	SG	13° 07' 861"	100° 05' 276"	35	เมษายน
		13° 08' 106"	100° 05' 279"	35	
		13° 04' 741"	100° 06' 693"	30	
สมุทรสาคร	SS	13° 22' 340"	100° 16' 701"	35	เมษายน
		13° 17' 501"	100° 17' 133"	35	
		13° 25' 839"	100° 18' 772"	30	
สมุทรปราการ	SP	13° 26' 144"	100° 35' 015"	35	มกราคม
		13° 26' 907"	100° 39' 168"	35	
		13° 28' 027"	100° 39' 161"	30	
สุราษฎร์ธานี	SR	09° 41' 413"	099° 30' 029"	35	มิถุนายน
		09° 37' 644"	099° 32' 067"	35	
		09° 35' 479"	099° 27' 102"	30	
สตูล	ST	06° 37' 400"	099° 50' 203"	35	มิถุนายน
		06° 32' 820"	099° 50' 203"	35	
		06° 33' 016"	099° 51' 205"	30	

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

สาร	ปริมาตร (μl)
ดีเอ็นเอต้นแบบ	2.0
10X PCR Buffer (1X)	2.0
50 mM $MgCl_2$ (1.5 mM)	1.2
1mM dNTPs (100 μM)	2.0
5 U *Taq* DNA polymerase	0.2
2.5 μmol Primer	1.0
น้ำกลั่น (de- ionized)	11.6
รวม	20.0

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกข้อมูลยีในไทป์หอยลายในแต่ละตำแหน่งที่สามารถอ่านผลได้ชัดเจนทุกประชากร เป็น 1 หรือ 0 จากนั้นนำมาคำนวณและวิเคราะห์ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร ตามวิธีการของ Lynch and Milligan (1994) และคำนวณค่าเมื่อกำหนดให้ประชากรอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS} = 0) และเมื่อมีการเบี่ยงเบนจากสมดุล (F_{IS}= 0.05, 0.10, 0.25) ใช้โปรแกรม AFLP-SURV (Vekemans *et al.*, 2002) ดังนี้

6.1 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

6.1.1 ค่าเปอร์เซ็นต์โพลีมอร์ฟิกโลไซ (Proportion of polymorphic loci , PLP)

$$P = \frac{\text{จำนวนโลกัสที่มีความถี่ของอัลลีลหนึ่ง} \leq 0.95\text{x}100}{\text{จำนวนโลกัสทั้งหมด}}$$

6.1.2 ค่าสังเกตเฮตเทอโรไซโกซิตี้หรือ gene diversity (H_j) ของประชากร

$$\hat{H}_j = \frac{1}{L}\sum_{i-1}^{L}\hat{H}_j(i)$$

i	คือ	ความถี่ของอัลลิล i ที่ตำแหน่ง k
N	คือ	จำนวณอัลลิลที่ตำแหน่ง k
L	คือ	จำนวนตำแหน่งที่ทำการศึกษา
$\hat{H}_j$	คือ	ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตี้ต่อตำแหน่ง

6.2 ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ (F_{ST}) และ Pairwise F_{ST}

วิเคราะห์โครงสร้างประชากรย่อยของประชากรหอยลายโดยใช้โปรแกรม AFLP-SURV (Vekemans *et al.*, 2002) ตามวิธีการของ Lynch and Milligan (1994) และประเมินค่าความแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญด้วย Bootstapping ที่ความเชื่อมั่น 95

6.3 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม Nei's (Genetic distance)

นำค่าความถี่อัลลิลของประชากรหอยลายมาทำซ้ำข้อมูล 10,000 ครั้ง ข้อมูลที่ได้ นำมาคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมโดยวิธี Nei (1978) โดยใช้โปรแกรม AFLP-SURV (Vekemans *et al.*, 2002) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม โดยวิธีของ (Lynch and Milligan, 1994)

คำนวณจากสูตร

$$\hat{D}_{jk} = -\ln\left(\frac{\hat{J}_{jk}}{\sqrt{\hat{J}_j\hat{J}_k}}\right) - \frac{Var\left(\hat{H}'_{jk}\right)}{2\hat{J}_{jk}^2} + \frac{Var\left(\hat{H}_j\right)}{4\hat{J}_j^2} + \frac{Var\left(\hat{H}_k\right)}{4\hat{J}_k^2}$$

6.4 สร้างแผนผัง UPGMA

นำค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) สร้างแผนผังความสัมพันธ์โดยวิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม TFPGA version 1.3 (Miller, 1997)

6.5 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ Principal coordinated Analysis

นำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมจากข้อมูลไม่ปรับ Null alleles มาจัดรูปแบบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรด้วย Principal coordinate Analysis โดยใช้ โปแกรม FAMD (Fingerprint Analysis with Missing Data 1.21) (Schluter and Harris, 2006)

6.6 Assignment test (Cluster analysis)

ทดสอบการจัดกลุ่มประชากร โดยนำข้อมูลจีโนไทพ์ทั้งหมดทุกประชากรมารวมกันแล้วแบ่งกลุ่มตามจีโนไทพ์ที่แท้จริงของประชากร โดยโปรแกรม Structure version 2.2 (Pritchard *et al.*, 2007)

6.7 การทดสอบ Mantel' s Test

นำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณโดยวิธี Nei's distance (1978) มา ทดสอบสหสัมพันธ์ระยะห่างทางพันธุกรรมและระยะห่างทางภูมิศาสตร์ที่วัดความยาวตามพื้นที่ทะเล โดยวิธี Mantel's Test (Mantel, 1967) ด้วยโปรแกรม TFPGA version 1.3 (Miller, 1997)

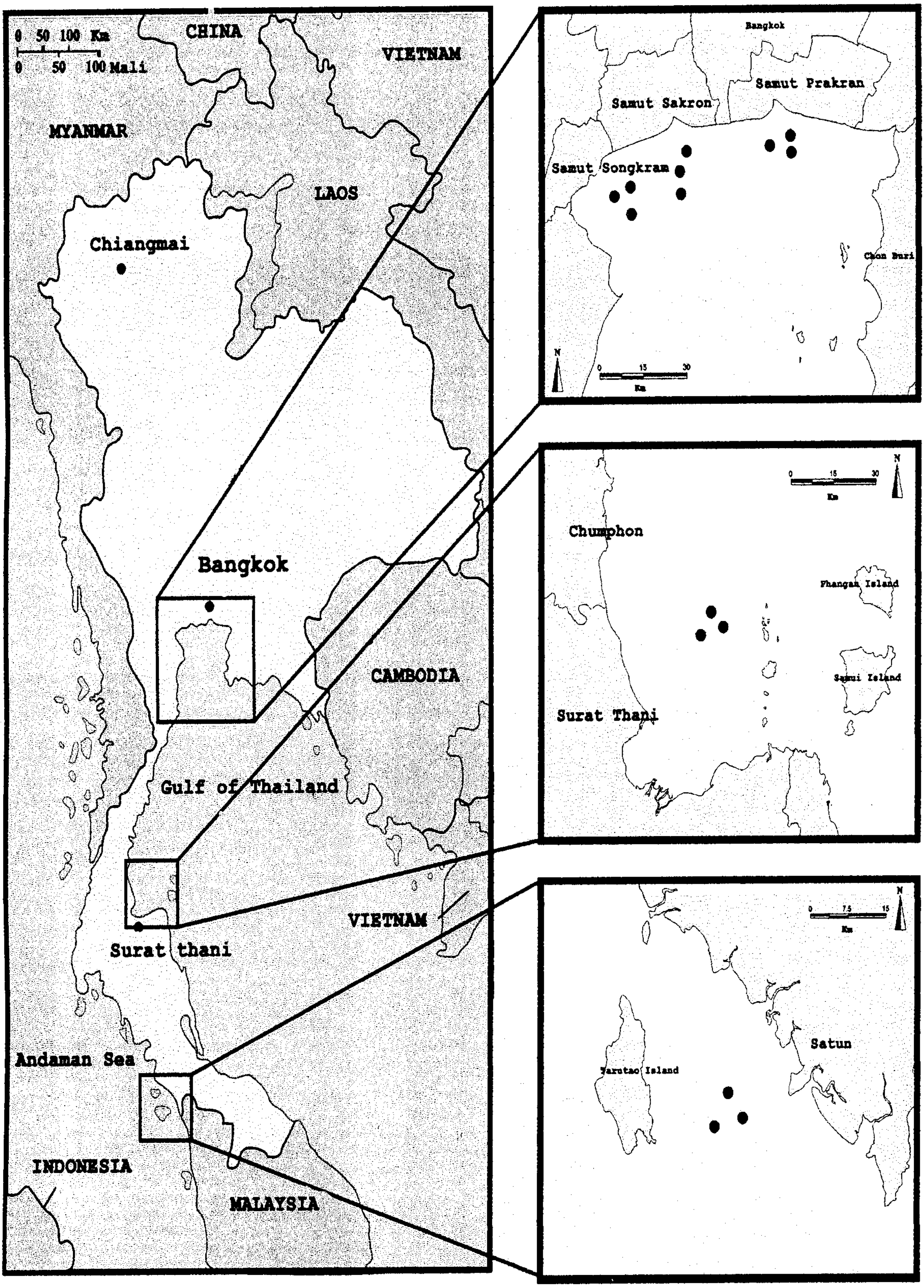
6.8 AMOVA (Analysis of molecular variance)

วิเคราะห์ความแปรปรวนของประชากรย่อยตามวิธีการของ Excoffier *et al.* (1992) ด้วยโปรแกรม FAMD (Schluter and Harris, 2006) โดย Variance component จะนำมาคำนวณค่า Φ - statistics ซึ่งเป็น analogues ของ theta (Excoffier *et al.*,1992) สำหรับการศึกษา AMOVA ค่า Φ - statistics ที่ใช้ในการคำนวณ คือ

Φ_{ST} = อัตราส่วนความแปรปรวนระหว่างประชากรทั้งหมด (Waterholes)

Φ_{SC} = อัตราส่วนความแปรปรวนระหว่างประชากรภายในกลุ่ม (Catchments)

Φ_{CT} = อัตราส่วนความแปรปรวนระหว่างกลุ่มภายในตัวอย่างทั้งหมด



ภาพที่ 1 แผนที่แสดงที่จุดเก็บตัวอย่างหอยลายทั้ง 5 ประชากร

7. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

8. ระยะเวลาทำการทดสอบ

ระยะเวลาเริ่มทำการทดสอบเดือนมกราคม 2551 สิ้นสุดการทดลองในเดือนเมษายน 2552

ผลการทดลอง

1. การเพิ่มปริมาณของไอเอสเอสอาร์ในหอยลาย

ไอเอสเอสอาร์ ไพรเมอร์ทั้ง 9 ได้แก่ ISSR3, ISSR4, ISSR12, ISSR10, ISSR11, ISSR18, ISSR20, ISSR13, ISSR9 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของหอยลายได้และพบสภาวะหลากรูปแบบในทุกประชากร โดยที่ตำแหน่ง ISSR3 พบ 40 อัลลิล (ขนาด 200 - 1600) ตำแหน่ง ISSR4 พบ 29 อัลลิล (ขนาด 220-1400) ตำแหน่ง ISSR12 พบ 27 อัลลิล (ขนาด 280 - 1050) ตำแหน่ง ISSR10 พบ 37 อัลลิล (ขนาด 280-2200) ตำแหน่ง ISSR11 พบ 30 อัลลิล (ขนาด 260-1400) ตำแหน่ง ISSR18 พบ 42 อัลลิล (ขนาด 220-1900) ตำแหน่ง ISSR20 พบ 43 อัลลิล (ขนาด 260-1800) ตำแหน่ง ISSR13 พบ 24 อัลลิล (ขนาด 280 - 840) และตำแหน่ง ISSR9 พบ 28 อัลลิล (ขนาด 180-940) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ไพรเมอร์ 9 ชนิด (Wolfe and Liston, 1998) ที่ใช้ปฏิกิริยา ISSR-PCR

ไพรเมอร์	ลำดับเบสของไพรเมอร์ 5'-3'	Annealing (^{0}C)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ (อัลลิล)	ขนาดแถบดีเอ็นเอ
ISSR3	$VBV(CA)_8$	54	40	200-1600
ISSR4	$VDV(GT)_8$	51	29	220-1400
ISSR12	$(TC)_8C$	52	27	280-1050
ISSR10	$(TG)_8GT$	48	37	280-2200
ISSR11	$(AG)_8TG$	54	30	260-1400
ISSR18	$(ACTG)_4$	52	42	220-1900
ISSR20	$(CAC)_6$	57	43	260-1800
ISSR13	$(TG)_8G$	55	24	280-840
ISSR9	$(AC)_8G$	55	28	180-940

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

2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

ค่าเฉลี่ยของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_j) เมื่อกำหนดค่า F_{IS} = 0, 0.05, 0.10, 0.25 ที่กำหนดให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในระดับต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 พบว่าค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ H_j ของประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุราษฎร์ธานี และ สตูล ที่กำหนดให้ค่า F_{IS} = 0 มีค่าเท่ากับ 0.14128, 0.12863, 0.12237, 0.05323 และ 0.04750 ตามลำดับ และค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_j) ที่ F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25 อยู่ในช่วง 0.04676-0.14303, 0.04608-0.14511 และ 0.04520-0.15200 (ตารางที่ 4)

เปอร์เซ็นต์โพลิเมอร์ฟิกโลไซม์ (Polymorphic loci) ที่กำหนดให้อยู่ในสมดุล ฮาร์ดีไวน์ – เบิร์ก (F_{IS} = 0) ของประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุราษฎร์ธานี และ สตูล ซึ่งมีค่าเท่ากับ 47.0%, 45.7%, 37.3%, 17.7%, 13.3% ตามลำดับ และโพลิเมอร์ฟิกโลไซม์ เมื่อ F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25 มีค่าอยู่ระหว่าง 13.3-47.0%, 13.3-47.0%, 13.0-51.3% ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

3. ความแตกต่างระหว่างประชากร

เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรของหอยลายทั้ง 5 ประชากร ด้วยวิธี Nei's (1973) ที่ทุกตำแหน่ง พบว่าประชากรหอยลาย ที่ F_{IS} = 0 ส่วนใหญ่มีความแตกต่างระหว่างประชากร (F_{ST}) เท่ากับ 0.314 ค่าความแตกต่างระหว่างประชากรที่ F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25 มีค่า (F_{ST}) เท่ากับ 0.322, 0.327 และ 0.340 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ระหว่างประชากรในส่วนที่เพิ่มในค่าสังเกตภายในประชากร (H_b) ที่กำหนดให้อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS} = 0) มีค่าเท่ากับ 0.046 และค่าที่กำหนดให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25) มีค่าเท่ากับ 0.048, 0.050 และ 0.054 ตามลำดับ ค่า ค่าเฉลี่ยของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ภายในประชากร (H_W) ที่กำหนดให้อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS} = 0) มีค่าเท่ากับ 0.145 ส่วนค่าที่กำหนดให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25) มีค่าเท่ากับ 0.147, 0.149 และ 0.157 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลาย (*Paphia undulata*) ในแหล่งประมงในประเทศไทย 5 ประชากร [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และ สตูล (ST)] คำนวณจาก Lynch and Miligan (1994)

Locality	Deficit of heterozygotes	*Hj*	F_{ST}	PLP	*Ht*	*Hw*	*Hb*
SG	Absent (F_{IS}=0)	0.14128 ± 0.00835	0.314 ± 0.183468	47.0			
SS		0.12863 ± 0.00773		45.7			
SP		0.12237 ± 0.00940		37.3			
SR		0.05323 ± 0.00652		17.7			
ST		0.04750± 0.00657		13.3			
					0.1451	0.0986	0.0465
SG	Low (F_{IS}=0.05)	0.14303 ± 0.00846	0.322 ± 0.182938	47.0			
SS		0.12981 ± 0.00784		45.7			
SP		0.12255 ± 0.00949		37.3			
SR		0.05214 ± 0.00643		17.7			
ST		0.04676 ± 0.00655		13.3			
					0.1471	0.0989	0.0483

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Locality	Deficit of heterozygotes	*Hj*	F_{ST}	PLP	*Ht*	*Hw*	*Hb*
SG	Moderate (F_{IS}=0.10)	0.14511 ± 0.00849	0.327 ± 0.182901	47.0			
SS		0.13177 ± 0.00792		45.7			
SP		0.12390 ± 0.00954		37.3			
SR		0.05142 ± 0.00636		17.7			
ST		0.04608 ± 0.00653		13.3			
					0.1496	0.0997	0.0500
SG	High (F_{IS}=0.25)	0.15200 ± 0.00866	0.340 ± 0.181693	51.3			
SS		0.13832± 0.00819		48.3			
SP		0.12736± 0.00972		38.3			
SR		0.05023 ± 0.00624		17.0			
ST		0.04520 ± 0.00652		13.0			
					0.1572	0.1026	0.0546

หมายเหตุ: *Hj*= ค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้
F_{ST}= Wright's fixation index
PLP= เปอร์เซ็นต์โพลิเมอร์ฟิกโลไซม์
H_t= ผลรวมค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้
H_W= ค่าเฉลี่ยของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ภายในประชากร
H_b= ค่าเฉลี่ยของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตีระหว่างประชากร

4. ค่า pairwise F_{ST} ระหว่างคู่ประชากร

ค่า pairwise F_{ST} ระหว่างคู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามกับสมุทรสาครมีค่าเท่ากับ 0.1786 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามกับสมุทรปราการมีค่าเท่ากับ 0.1989 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามกับสุราษฎร์ธานี มีค่าเท่ากับ 0.2989 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามกับสตูล มีค่าเท่ากับ 0.3475 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสาครกับสมุทรปราการ มีค่าเท่ากับ 0.2023 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสาครกับสุราษฎร์ธานี มีค่าเท่ากับ 0.3464 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสาครกับสตูล มีค่าเท่ากับ 0.3717 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรปราการกับสุราษฎร์ธานี มีค่าเท่ากับ 0.3377 คู่ประชากรในจังหวัดสมุทรปราการกับสตูล มีค่าเท่ากับ 0.3603 และ คู่ประชากรในจังหวัดสุราษฎร์ธานีกับสตูล มีค่าเท่ากับ 0.4846 จากการศึกษาพบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมของคู่ pairwise F_{ST} ระหว่างคู่ Pairwise F_{ST} จำนวน 7 คู่ จาก 10 คู่ ในคู่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามกับสุราษฎร์ธานี สมุทรสงครามกับสตูล สมุทรสาครกับสุราษฎร์ธานี สมุทรสาครกับสตูล สมุทรปราการกับสุราษฎร์ธานี สมุทรปราการกับสตูล และสุราษฎร์ธานีกับสตูล (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 Pairwise F_{ST} ของหอยลาย 5 ประชากรในประเทศไทย [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และ สตูล (ST)] ที่กำหนดให้ค่า $F_{IS} = 0$ (ด้านบนเส้นแทยง) ระยะห่างทางพันธุกรรม ของหอยลาย 5 ประชากรในประเทศไทยที่กำหนดให้ค่า $F_{IS} = 0$ (ด้านล่างเส้นแทยง)

ประชากร	SG	SS	SP	SR	ST
SG	****	0.1786	0.1989	0.2989*	0.3475*
SS	0.0334	****	0.2023	0.3464*	0.3717*
SP	0.0389	0.0368	****	0.3377*	0.3603*
SR	0.0499	0.0574	0.0544	****	0.4846*
ST	0.0627	0.0644	0.0597	0.0630	****

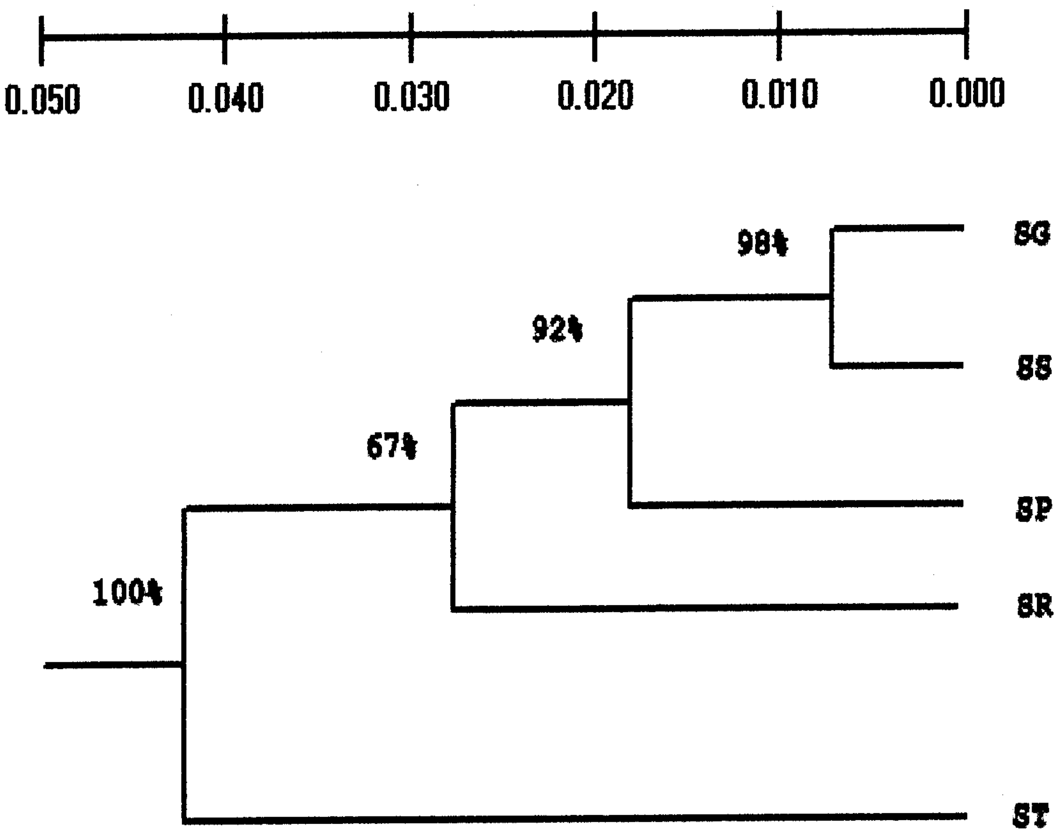
หมายเหตุ Significant genetic differentiation test ($P<0.05$) (Bonferroni correction)

5. ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม

ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายทั้ง 5 ประชากร คำนวณโดยวิธีของ Lynch and Miligan (1994) พบว่าประชากรหอยลายจากแหล่งประมงหอยลายมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.0334 – 0.0644 ดังตารางที่ 5

6. แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

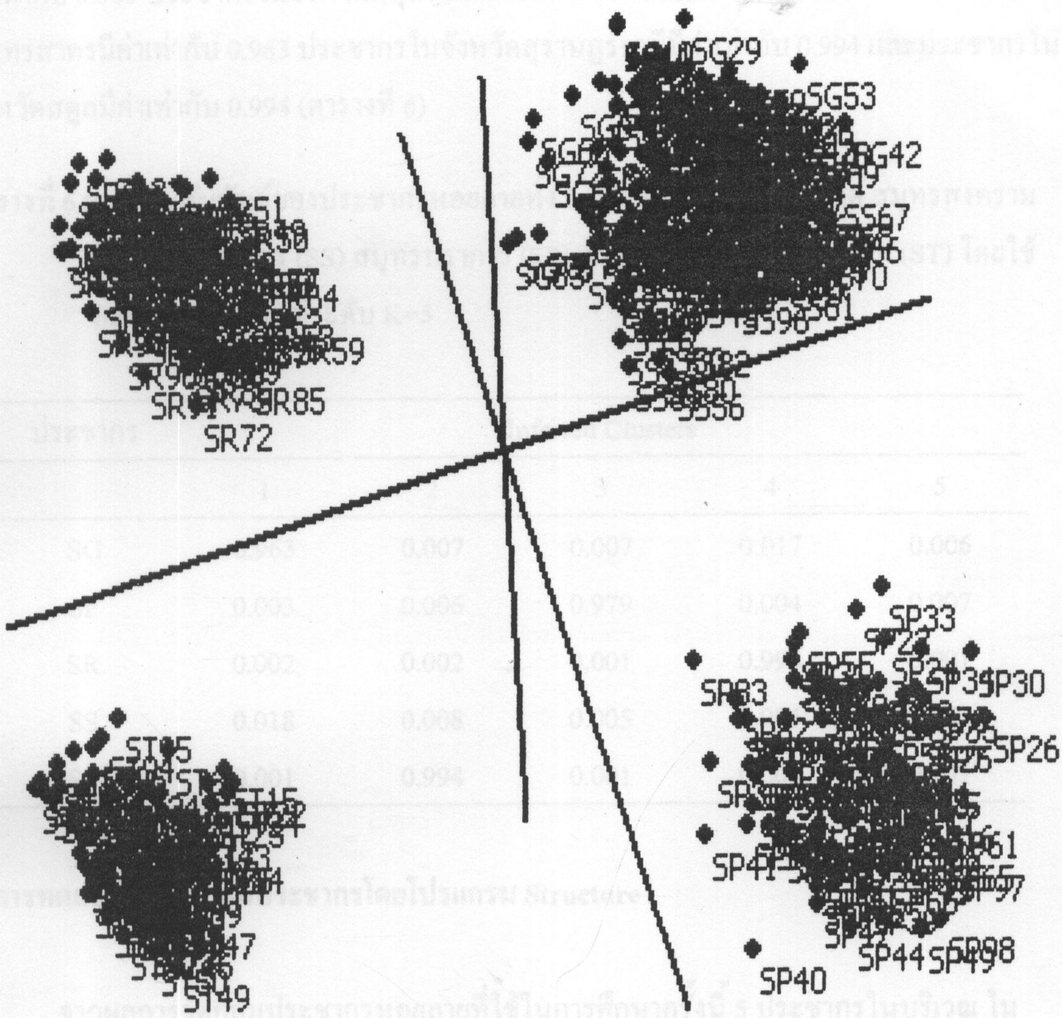
แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายจากทุกประชากร จัดโดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณด้วยวิธี Lynch and Miligan (1994) จากแผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอยลายในแหล่งประมงหอยลายในประเทศไทยทั้ง 5 ประชากร พบว่าแผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นประชากรหอยลายในจังหวัดสมุทรสงคราม, สมุทรสาคร มีค่าการทำซ้ำเท่ากับ 98% กลุ่มที่สองเป็นประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ มีค่าการทำซ้ำเท่ากับ 92% กลุ่มที่สามเป็นประชากรหอยลายในจังหวัด สุราษฎร์ธานี มีค่าการทำซ้ำ 67% และ กลุ่มที่สี่เป็นประชากรในจังหวัด สตูล มีค่าการทำซ้ำเท่ากับ 100% โดยที่กลุ่มแรกยังแบ่งเป็นประชากรย่อย 2 ประชากร คือ สมุทรสงครามกับสมุทรสาคร มีค่าการทำซ้ำเท่ากับ 98% แสดงไว้ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนผังความสัมพันธ์ของระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายในแหล่งทำการประมงหอยลายในประเทศไทยทั้ง 5 ประชากรในบริเวณจังหวัด สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และสตูล (ST) โดยใช้โปรแกรม TFPGA (เปอร์เซ็นต์ที่แสดงบนจุดแยกคือค่าร้อยละของการทำซ้ำจากสุ่ม 10,000 ครั้ง)

7. แผนผังความสัมพันธ์ Principal coordinate

จากแผนผังความสัมพันธ์ Principal coordinate แสดงว่าประชากรหอยลายในประเทศไทยแบ่งออกได้เป็น 4 ประชากรย่อย คือกลุ่มที่ 1 ประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม, สมุทรสาคร กลุ่มที่ 2 ประชากรในจังหวัด สมุทรปราการ กลุ่มที่ 3 ประชากรในจังหวัด สุราษฎร์ธานีและ กลุ่มที่ 4 ประชากรในจังหวัดสตูล ซึ่งได้จากการการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม FAMD (ดังภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 Principal coordinate Analysis ของประชากรหอยลายในแหล่งทำการประมงในประเทศไทย 5 ประชากร [สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และสตูล (ST)]

8. การวิเคราะห์ Assignment test

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของประชากรหอยลาย 5 ประชากร พบว่าประชากรหอยลายมีความแตกต่างกันมาก โดยแบ่งหอยลายออกเป็น 5 ประชากร พบว่าประชากรจากทุกประชากรที่นำมาศึกษามีความแตกต่างทางพันธุกรรมทุกประชากร โดยที่ประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามมี

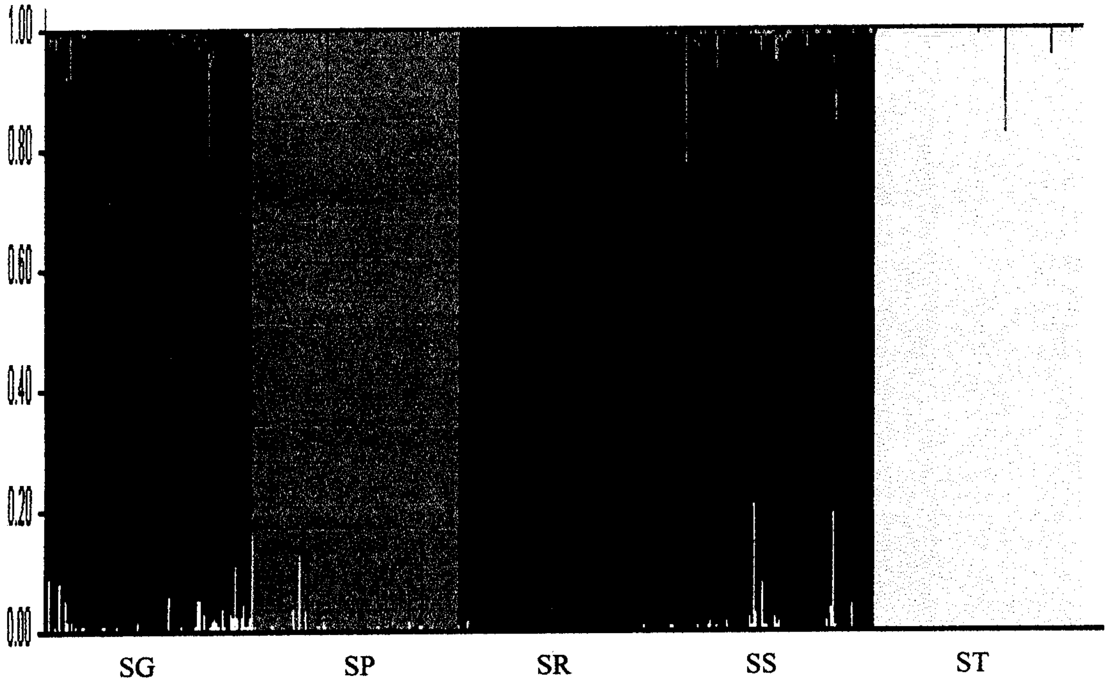
ค่าเท่ากับ 0.963 ประชากรในจังหวัดสมุทรปราการมีค่าเท่ากับ 0.979 ประชากรในจังหวัดสมุทรสาครมีค่าเท่ากับ 0.963 ประชากรในจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีค่าเท่ากับ 0.994 และประชากรในจังหวัดสตูลมีค่าเท่ากับ 0.994 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลความสัมพันธ์ของประชากรหอยลายทั้ง 5 ประชากร บริเวณจังหวัด สมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) สุราษฎร์ธานี (SR) และสตูล (ST) โดยใช้ Inferred Clusters ที่ระดับ K=5

ประชากร	Inferred Clusters				
	1	2	3	4	5
SG	0.963	0.007	0.007	0.017	0.006
SP	0.003	0.006	0.979	0.004	0.007
SR	0.002	0.002	0.001	0.994	0.001
SS	0.018	0.008	0.005	0.006	0.963
ST	0.001	0.994	0.001	0.003	0.001

9. การทดสอบการจัดกลุ่มประชากรโดยโปรแกรม Structure

จากผลการจัดกลุ่มประชากรหอยลายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ 5 ประชากรในบริเวณ ในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุราษฎร์ธานี และ สตูล ให้เส้นกราฟสูงที่สุดที่ k = 5 (ภาพที่ 4) สามารถนำค่ามาใช้ในการจัดกลุ่มประชากรได้ออกเป็น 5 กลุ่มประชากรคือ ประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุราษฎร์ธานี และ สตูล



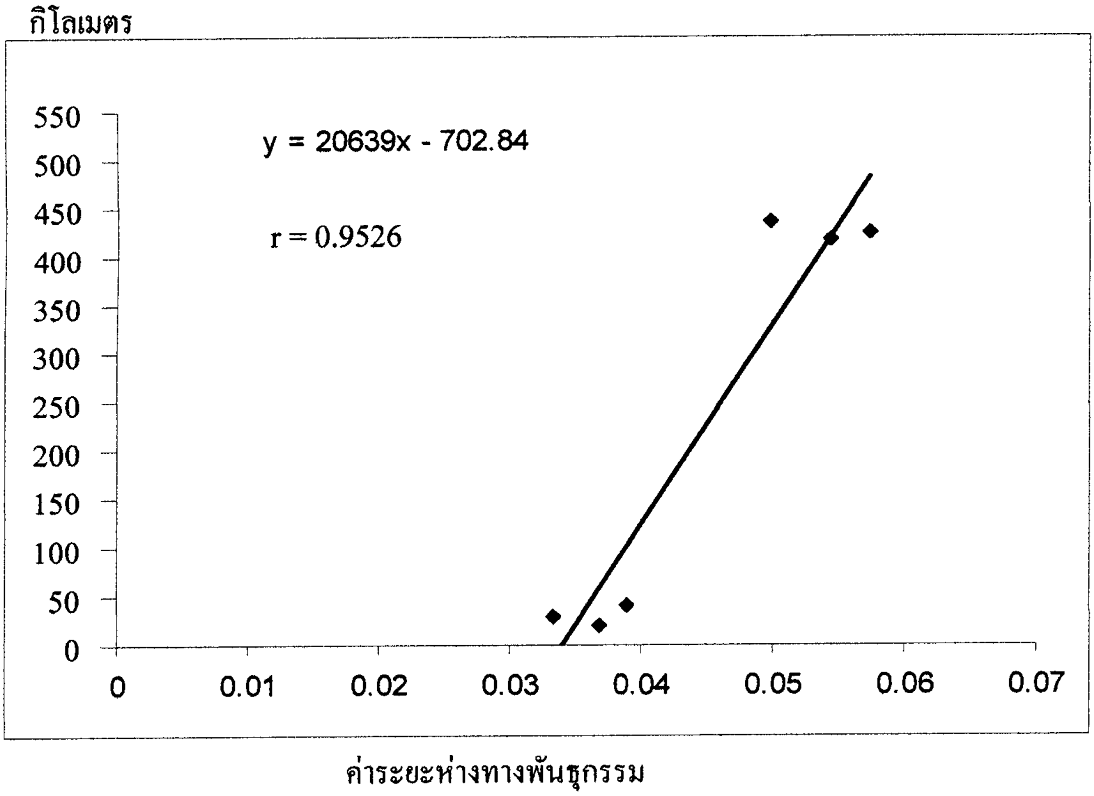
ภาพที่ 4 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างประชากรโดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Structure โดยใช้ K=5

10. การทดสอบ Mantel's test

จากการทดสอบ Mantel's test พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางระหว่างประชากรในกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 4 ประชากร โดยไม่รวมประชากรในจังหวัดสตูลเนื่องจากไม่ได้อยู่ในแหล่งเดียวกัน (ค่าสหสัมพันธ์, r เท่ากับ r = 0.9526, *P*= 0.2490 (ภาพที่ 5) แสดงว่าพบความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางระหว่างประชากร แบบ Stepping stone model โดยระยะทางระหว่างประชากรแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม Nei's (1978) (ด้านล่างของเส้นทแยงมุม) และระยะทางระหว่างประชากร (กิโลเมตร) จำนวน 4 ประชากร ในจังหวัดสมุทรสงคราม (SG) สมุทรสาคร (SS) สมุทรปราการ (SP) และสุราษฎร์ธานี (SR) (ด้านบนของเส้นทแยงมุม)

ประชากร	SP	SS	SG	SR
SP	-	30	41	437
SS	0.0361	-	20	426
SG	0.0403	0.0389	-	419
SR	0.0499	0.0583	0.0544	-



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมและระยะทางระหว่างประชากรของหอยลายในบริเวณแหล่งทำการประมงอ่าวไทย บริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ และในจังหวัด สุราษฎร์ธานี

11. AMOVA (Analysis of molecular variance)

จากการทดสอบค่าความแปรปรวนของประชากรหอยหายในประเทศไทยโดยวิธี AMOVA เมื่อรวม 5 แหล่งประมงหอยลายพบว่าเปอร์เซ็นต์ความแปรแปรวน (1) ระหว่างประชากรในอันดามันและรวมตัวอย่างประชากรในอ่าวไทย มีค่าความแปรปรวนระหว่างประชากรเท่ากับ 53.29 เปอร์เซ็นต์ ความแปรปรวนระหว่างภายในประชากรมีค่าเท่ากับ 6.34 และ เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนภายในประชากรมีค่าเท่ากับ 40.37 (2) ระหว่างประชากรสุราษฎร์ธานีและ รวมตัวอย่างประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม มีค่าความแปรปรวนระหว่างประชากรเท่ากับ 68.98 เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนระหว่างภายในประชากรมีค่าเท่ากับ 4.56 และ เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนภายในประชากรมีค่าเท่ากับ 26.46 (ตารางที่ 8) จากการทดสอบทางสถิติพบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.001) ระหว่างประชากรและภายในประชากร

ตารางที่ 8 แสดงค่าความแปรปรวนโดยวิธีวิเคราะห์ AMOVA ระหว่างประชากรและภายในประชากรของหอยลายในประเทศไทยจาก 5 ประชากร (1) ระหว่างอันดามันและรวมตัวอย่างประชากรในอ่าวไทย (2) ระหว่างประชากรสุราษฎร์ธานีและ รวมตัวอย่างประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม

	แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of squares	Variance components	เปอร์เซ็นความแปรปรวน	Φ_{ST}	*P*-value
(1)	รวมระหว่าง	1	22.52	0.246	53.29	-	
	ระหว่างภายในประชากร	3	74.42	0.034	6.34	-	
	ภายในประชากร	495	82.73	0.167	40.37	-	
	รวม	499	179.68	0.447		0.596	0.000
(2)	รวมระหว่าง	1	83.12	0.414	68.98	-	
	ระหว่างภายในประชากร	2	63.12	0.044	4.56	-	
	ภายในประชากร	396	74.04	0.148	26.46	-	
	รวม	399	220.28	0.607		0.735	0.000

วิจารณ์ผลการทดลอง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรของหอยลาย

จากผลการศึกษาของประชากรหอยลายด้วยเทคนิคไอเอสเอสอาร์ ทั้ง 9 ตำแหน่ง ได้แก่ ISSR3, ISSR4, ISSR12, ISSR10, ISSR11, ISSR18, ISSR20, ISSR13 และ ISSR9 พบว่าไพรเมอร์ที่นำมาใช้พบรูปแบบ อัลลิลทั้งหมด 300 อัลลิล โดยที่พบตำแหน่ง ISSRให้รูปแบบของอัลลิลทั้งหมด 40, 29, 27, 37, 30, 49, 42, 43, 24, 28, อัลลิลตามลำดับ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.33 อัลลิล ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลายทั้ง 5 ประชากร ที่กำหนดให้อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS}= 0) แสดงได้จากค่าโพลิกเมอร์ฟิกโลไซม์ ที่อยู่ระหว่าง 13.3 – 47.0% ค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้หรือ gene diversity (*Hj*) อยู่ระหว่าง 0.04750-0.14128 (ตารางที่ 4) มีค่าไม่แตกต่างจากการกำหนดให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (F_{IS}= 0.05, 0.10, 0.25) (ตารางที่ 4)

การศึกษาพบว่าค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมพบปานกลางในประชากรหอยลายในจังหวัด สมุทรสงคราม, สมุทรสาคร, สมุทรปราการ และความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำในจังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดสตูล โดยทั่วไปมักคิดว่าสิ่งมีชีวิตทางทะเลมักจะมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สูง เนื่องจากขนาดของประชากร ความอุดมสมบูรณ์ที่สูงและมีการถ่ายเทยีนที่ดี เนื่องจากการแพร่กระจายของตัวเต็มวัย ตัวอ่อน ซึ่งไม่เป็นอุปสรรคในบริเวณทะเลเปิด (Waples, 1998) จากการศึกษาในหลายการศึกษาพบว่าปัจจัยจากกระแสน้ำก็เป็นปัจจัยที่อาจช่วยให้เกิดการถ่ายเทยีนได้ในระยะทางไกลๆ ซึ่งในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น หอยสองฝา การถ่ายเทยีนโดยทั่วไปมักเกิดขึ้นจากการแพร่กระจายของตัวอ่อนเพราะว่าตัวเต็มวัยไม่สามารถเคลื่อนที่ได้หรือเคลื่อนที่ได้ในระยะทางที่ไม่ไกล ในสายพันธุ์ที่มีระยะตัวอ่อนที่นานก็มีโอกาสที่จะมีการถ่ายเทยีนได้ในระยะทางที่ไกลเช่นการศึกษาในหอย *Gemma gemma* (Casu *et al.,* 2005) หรือในหอยแมลงภู่ *Placopecten magellanicus* (Kenchington *et al.,* 2006) หรือในหอยนางรม *Pinctada maxima* (Lind et *al.,* 2007) และในหอยเชลล์ *Chlamys farreri* (Zhan *et al.,* 2008)

จากการใช้ประโยชน์ที่มากเกินไปของทรัพยากรหอยลายในประเทศไทยแสดงให้เห็นจากความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีค่าปานกลางจนถึงระดับต่ำและมีความแตกต่างกันระหว่างประชากรในระดับสูงจากการประเมินค่าโดยใช้ไอเอสเอสอาร์ พบว่าในประชากรของหอยลายในบริเวณอ่าวไทยตอนบนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีค่าใกล้เคียงกันในประชากรใน

จังหวัด สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ แต่จะพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำในประชากรหอยลายในบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานี และในจังหวัดสตูล ซึ่งเหตุผลที่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลาง ในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ อาจเป็นผลจากในพื้นที่บริเวณอ่าวไทยตอนบนมีพื้นที่เขตอนุรักษ์หอยลายในบริเวณจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งมีการประกาศจากกรมประมง เพื่อจุดประสงค์ในการอนุรักษ์ ซึ่งเป็นบริเวณที่ห้ามทำการประมงในบริเวณ ปากคลองเสาธง เขตตำบลพันท้ายนรสิงห์ ณ จุดเส้นละติจูด 13^{0}- 29’-24” เหนือ ตัดกับเส้นลองติจูด 100^{0} -24’-40” ตะวันออก ท้องที่อำเภอเมืองสมุทรสาคร ตัดตรงไปทางทิศใต้เป็นระยะทาง 8 กิโลเมตร ถึงจุดเส้นละติจูด เขตละติจูดที่ 13^{0}- 25’-00” เหนือ ตัดกับเส้นลองติจูด 100^{0}-24’-40” ตะวันออก แล้วตัดตรงไปทางทิศตะวันตกถึงจุดเส้นละติจูด 13^{0}- 23’-25” เหนือ ตัดกับเส้นลองติจูด 100^{0}-13’-20” ตะวันออกแล้วตัดตรงไปทางทิศเหนือเป็นระยะทาง 8 กิโลเมตร ถึงปากคลองบางกระเจ้า เขตตำบลบางหญ้าแพรก ณ จุดเส้นละติจูด 13^{0}- 27’-50” เหนือ ตัดกับเส้นลองติจูด 100^{0}-23’-25” ตะวันออก ท้องที่อำเภอเมืองสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ดังภาพที่ภาคผนวก ข (จินตนา, 2543) ทำให้มีโอกาสที่หอยลายในประชากรบริเวณนั้นมีโอกาสที่ถ่ายเทยีนได้ดีและยังคงความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากร ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในระหว่างสองพื้นที่ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และในจังหวัดสตูล ซึ่งบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานีนั้นเป็นแหล่งทำการประมงที่สำคัญมากและเป็นแหล่งทำการแหล่งใหญ่ที่สุดและมีการทำประมงกันหนาแน่นมาก (กรมประมง, 2548) ส่วนแหล่งประมงในจังหวัดสตูลเป็นแหล่งทำการประมงที่มีขนาดเล็ก เป็นแหล่งทำการประมงเพียงแหล่งเดียวในทะเลฝั่งอันดามันที่ยังมีการทำการประมง ซึ่งผลจากการทำประมงอาจไปมีผลกระทบต่อขนาดประชากรของหอยลาย ซึ่งผลการศึกษาพบว่ามีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำ ผลจากความแตกต่างทางพันธุกรรมอาจเป็นผลมาจากการขาดช่วงทางพันธุกรรมที่เกิดจากการทำประมงที่มากเกินไปในตลอดระยะเวลา 30 ปีที่ผ่านมา โดยที่พฤติกรรมของการทำประมงหอยลายนั้นเมื่อมีการพบแหล่งทำการประมงแหล่งไหนก็จะทำการประมงบริเวณนั้นจนปริมาณผลผลิตหอยลายบริเวณนั้นจนหมดหรือจับแล้วไม่คุ้มทุนจึงทำการย้ายไปทำการประมงแหล่งใหม่ ซึ่งการทำการประมงลักษณะนี้อาจมีผลกระทบต่อขนาดของประชากรหอยลายหรือเครื่องมือทำการประมงเป็นตัวคัดเลือกให้อัลลิลบางอัลลิลที่สำคัญในประชากรนั้นหายไป ทำให้อาจเกิดผลจากการขาดช่วงทางพันธุกรรม (Genetic drift) ซึ่งมีผลทำให้ลดความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ หรือการเพาะพันธุ์ลูกหอยลายเพื่อปล่อยลงสู่ทะเลเพื่อเพิ่มปริมาณหอยลายอาจไปมีผลกระทบต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ ซึ่งอาจส่งผลทำให้ประชากรลูกผสมในรุ่นถัดไปมี fitness ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรเดิมที่ประชากรนั้นสามารถปรับสภาพให้อยู่ในสภาพพื้นนั้นๆ ได้แล้ว Hallerman (2003)

ได้กล่าวไว้ว่าการผสมข้ามระหว่างประชากรที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากๆ อาจส่งผลให้ประชากรในรุ่นถัดไปมีค่า fitness ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรเดิมที่มีอยู่ ซึ่งปรากฏการณ์นี้เกิดจากการ outbreeding depression เช่นการศึกษาของ Gharrett *et al.* (1999) ที่ตรวจสอบอัตรารอดของปลา pink salmon ลูกผสมระหว่างปลาที่วางไข่ต่างปี พบว่าลูกผสมรุ่น F_2 มีอัตรารอดต่ำกว่ารุ่นพ่อแม่เช่นเดียวกันกับรุ่น F_1 ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นถึงของการเกิด outbreeding depression ซึ่งความหลากหลายของการการสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัย ความสามารถในการสืบพันธุ์จะขึ้นอยู่กับความสามารถของตัวเต็มวัย ซึ่งพบได้ในสิ่งมีชีวิตที่มีการออกลูกมากๆเพื่อการการอยู่รอด เช่นในหอยสองฝาและกุ้ง (Li and Hedgecock, 1998; Ball and Chapman, 2003)

ประชากรของหอยลาย *Paphia undulata* ในการศึกษาครั้งนี้โดยใช้เครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ พบว่ามีความสัมพันธ์ของระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในหอย Surf clam *M.veneriformis* ในประเทศจีนซึ่งมีค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (H_j) อยู่ในช่วง0.212-0.342 (Hou *et al.*, 2006) แต่จะมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันในหอย *G.gemma* ซึ่งค่า H_j อยู่ในช่วง0.169-0.184 (Casu *et al.*, 2005) และหอย *Patella ferruginea* ซึ่งมีค่า H_j = 0.173-0.233 (Casu *et al.*, 2006) หรือการศึกษาซึ่งมีการศึกษาก่อนหน้านี้โดยใช้เครื่องหมายอัลโซไซม์ในการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมในหอย Australian surf clam คือ *Donax serra* ซึ่งพบว่าค่าระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับปานกลาง มีค่าโพลิเมอร์ฟิกโลไซม์อยู่ในช่วง 42-75% (Murray-Jones and Ayre, 1997) และ African surf clam *D.deltoids* ซึ่งมีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้อยู่ระหว่าง 18-22% (Laudien *et al.*, 2003)

โครงสร้างทางพันธุกรรมความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

การศึกษาโครงสร้างประชากรโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์เอฟ Wrigth (1978) ได้ให้ความหมายของค่า F_{ST} ในแต่ละช่วงไว้ดังนี้ ค่า F_{ST} เท่ากับ 0 - 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย ค่า F_{ST} เท่ากับ 0.05 - 0.15 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมปานกลาง ค่า F_{ST} เท่ากับ 0.15 - 0.25 แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมมาก และค่า F_{ST} มากกว่า 0.25 ขึ้นไป แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุด จากการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของหอยลายจากแหล่งทำการประมงหอยลาย 5 แหล่งในประเทศไทย โดยการกำหนดให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กในระดับต่างๆ กัน เช่น 0, 0.05, 0.10, 0.25 และทำการทดสอบความแตกต่างทางสถิติไม่พบความ

แตกต่างกัน จึงสามารถเลือกใช้การเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ที่ F_{IS} เท่ากับ 0 เพื่อใช้บอกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ซึ่งพบว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสูง โดยมีค่าเฉลี่ย F_{ST} เท่ากับ 0.3146 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าประชากรของหอยลายที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีการแบ่งออกเป็นประชากรย่อย ซึ่งระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายนี้มีค่าที่ค่อนข้างจะสูงเมื่อเทียบกับการศึกษาในหอยชนิดอื่นๆ เช่น หอย *Mactra veneriformis* ในประเทศจีนพบว่าค่า (F_{ST} = 0.202) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการทำการประมงในบริเวณแหล่งทำการประมงหอยลายมากเกินไปซึ่งอาจมีผลต่อการขาดช่วงทางพันธุกรรม สำหรับค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ นั้นจากการศึกษาในสัตว์น้ำหลายชนิด มีแนวโน้มว่าสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันเช่นการศึกษาในหอยฝาเดียว *Patella ferruginea* ในบริเวณที่มีการคุกคามโดยการทำการประมงที่มากเกินควรทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมในบริเวณนั้นมีค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับบริเวณที่มีการอนุรักษ์ (Casu *et al.*, 2006)

ความแตกต่างระยะทางของประชากรหอยลายพบว่ามีอัตราโดยประมาณ 450 กิโลเมตรโดยประมาณสำหรับการถ่ายเทยีนในประชากรในอ่าวไทยซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดหนึ่ง สำหรับหอยลายนั้นซึ่งจะมีระยะตัวอ่อนที่ล่องลอยอยู่ในทะเลจะมีอายุเพียง 12 วัน จากในหลายๆการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากระแสน้ำหรือลักษณะภูมิประเทศในทะเลเปิดสามารถทำให้ง่ายในการถ่ายเทยีนหรืออุปสรรคของลักษณะภูมิประเทศที่มีการขวางกั้นก็มีผลต่อการถ่ายเทยีน เช่นจากตัวอย่างของการศึกษาของการกระจายตัวของหอยแมลงภู่ *P. magellanicus* ในทางเหนือของทะเลแอตแลนติกในประเทศแคนาดา ซึ่งพบว่าหอยมีระยะของตัวอ่อนโดยประมาณ 30 วัน หรือการศึกษาในหอยนางรม *P. maxima* ที่ลักษณะคล้ายคลึงกันซึ่งพบว่าหอยมีระยะของตัวอ่อนโดยประมาณ 17-24 วัน จากการศึกษานั้นแสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสูงในทะเล อินโดนีเซีย และออสเตรเลีย (Lind *et al.*, 2007)

ผลจากการจัดกลุ่มทั้งใช้การจัดกลุ่มโดยการสร้างแผนผังเดนโดแกรม (UPGMA) และการวิเคราะห์ Principal coordinate สามารถจัดกลุ่มประชากรออกได้เป็น 4 กลุ่มประชากรคือ กลุ่มที่1 กลุ่มประชากรในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร กลุ่มที่2 คือ กลุ่มประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ กลุ่มที่3 กลุ่มประชากรในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และกลุ่มที่4 กลุ่มประชากรในจังหวัดสตูล ส่วนการจัดกลุ่มประชากรโดยการใช้การวิเคราะห์ Assingment test โดยใช้โปรแกรม Structure พบว่าสามารถจัดกลุ่มประชากรของหอยลายได้แตกต่างจากแผนผังเดนโดแกรมและการ

วิเคราะห์ Principal coordinate เนื่องจากการทดสอบ Assingment test มีระดับของการจัดกลุ่มได้ละเอียดกว่า ซึ่งสามารถจัดกลุ่มของประชากรหอยลายออกเป็น 5 กลุ่มประชากร

ประชากรของหอยมีระดับความแตกต่างระหว่างประชากรอยู่ในระดับสูง ซึ่งแสดงว่ามีการถ่ายเทยีนเกิดที่ขึ้นน้อยมากในประชากรหอยลายในบริเวณทั้ง 5 ประชากร ในจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี สตูล เหตุที่มีการถ่ายเทยีนระหว่างประชากรน้อยมากของหอยลายทั้ง 5 ประชากร อาจเกิดจากที่หอยลายมีระยะตัวอ่อนที่ค่อนข้างสั้นและแต่ละแหล่งมีการทำประมงกันอย่างหนาแน่น จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ประชากรหอยลายในประเทศไทยในบริเวณจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี มีระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สูง ซึ่งการกระจายตัวของสมาชิกในประชากรทำให้เกิดการถ่ายเทยีน (Gene flow) สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างที่อยู่ในระยะตัวอ่อนซึ่งจะล่องลอยไปตามกระแสน้ำ (Lin *et al.*, 2007) ระยะตัวอ่อนของหอยลายมีระยะเวลาเพียง 12 วัน ที่ตัวอ่อนจะล่องลอยไปตามกระแสน้ำ หลังจากนั้นจะลงเกาะยังพื้นท้องทะเล ในสภาพพื้นท้องทะเลที่เหมาะสมในพื้นที่ที่ลักษณะเป็นโคลน ปนทราย และหอยลายจะฝังตัวอาศัยอยู่ในระดับความลึกของผิวดิน 1-4 นิ้ว (นวลมณี, 2531) ส่วนหอยลายในจังหวัดสมุทรสงครามและ สมุทรสาครที่มีการรวมกันเป็นกลุ่มเดียวกัน อาจเกิดจากพื้นที่บริเวณทั้งสองจังหวัดมีพื้นที่ที่อนุรักษ์หอยลายและทิศจากการที่กระแสน้ำบริเวณในสองพื้นที่มีทิศทางเดียวกัน (อนูกูล, 2551) ในช่วงที่ตัวอ่อนล่องลอยในกระแสน้ำทำให้หอยลายโอกาสที่จะถ่ายเทยีนในประชากรในจังหวัดสมุทรสาครและ สมุทรสงครามได้ดี ทำให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในประชากรน้อย แต่พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในจังหวัดสมุทรปราการ สุราษฎร์ธานีและสตูล

ผลการศึกษาครั้งนี้มีแตกต่างของความแตกต่างระหว่างประชากรของค่า F_{ST} จากการศึกษาในสัตว์ทะเลชนิดอื่นๆ ในอ่าวไทยตอนบน เช่น กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Klinbunga *et al.*, 2001) หอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina*) (Klinbunga *et al.*, 2003; Tang *et al.*,2004) หอยเชลล์ (*Amusium pleuronectes*) (Mahidol *et al.*, 2007) และหอยทะเลชนิดอื่นที่มีการแพร่กระจายได้กว้างขวาง เช่น หอยนางรม (*Crassostrea virginica*) (F_{ST} = 0.0034) (Rose *et al.*, 2006) หอยเชลล์ (*Patinopecten yessoensis*) (F_{ST} = 0.0606) (Li *et al.*, 2007) หอยมุก (*Pinctada margaritifera cumingii*) (F_{ST} = 0.007) (Arnaud-Haonda *et al.*, 2003) European oyster (*Ostrea edulis*) (F_{ST} = 0.027) (Vercaemer *et al.*, 2003; Vercaemer *et al.*, 2006) marine gastropods (*Littorina scutulata, Littorina plena*) (F_{ST} = 0.004, 0.052) (Kyle and Boulding, 2000) ที่ไม่มีความแตกต่างกันใน

ระหว่างประชากร ซึ่งต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างประชากรของหอยลายในระดับสูง

ผลการวิเคราะห์ Mantel's test พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมและระยะห่างระหว่างประชากร แสดงว่าโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรหอยลายมีความสอดคล้องกับรูปแบบ Stepping stone model ดังภาพที่ 5 คือประชากรย่อยที่อยู่ติดกันมีโอกาสในการแลกเปลี่ยนยีนกันได้มากกว่าประชากรย่อยที่อยู่ห่างกัน มีการเปลี่ยนแปลงไปตามกระแสน้ำในแต่ละฤดูกาลดังกล่าว พบได้บ่อยในหอยทะเล เช่น Limpet (*Siphonaria jeaneae*) (Johnson and Black, 1982; 1984) bivalve (*Spisula ovalis*) (David *et al.*,1997) Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) (Li and Hedgecock, 1998) black abalone (*Haliotis cracherodii*) (Hamm and Burton, 2000) bivalve (*Gemma gemma*) (Casu *et al.*, 2005) Arctic surfclam (*Mactromeris polynyma*) (Cassista and Hart, 2007)

ผลจากการศึกษา ความแตกต่างของประชากรหอยลายในประเทศไทย อาจมีผลกระทบจากการประมงที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของประชากรสัตว์น้ำในด้านขนาดของประชากรสัตว์น้ำ การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของประชากรโดยเครื่องมือคราดหอยจะเลือกจับเฉพาะบางสมาชิกในประชากร ทำให้ประชากรเสียความสมดุลของโครงสร้างขนาดสมาชิกในประชากร ซึ่งมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อม ทำให้ค่าเฉลี่ยของลักษณะภายนอกเปลี่ยนไป ทำให้สูญเสีย Gene pool และลดความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากร (Begg *et al.*, 1999) การทำการประมงที่หนาแน่นอาจทำให้เกิดการเร่งกระบวนการขาดช่วงทางพันธุกรรมการถ่ายเทยีนระหว่างประชากรและการคัดเลือก การประมงโดยทั่วไปนอกจากทำให้ประชากรสัตว์น้ำลดลงลักษณะการจับสัตว์น้ำของเครื่องมือประมง ยังอาจเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของสัตว์น้ำในธรรมชาติได้โดยกระบวนการคัดเลือกทางตรงและทางอ้อม ลักษณะที่ถูกคัดเลือกโดยเครื่องมือประมงอาจจะมีทิศทางของความสัมพันธ์ได้ทั้งทางบวกและทางลบ การคัดเลือกลักษณะหนึ่งๆ จึงสามารถเปลี่ยนค่าเฉลี่ยของลักษณะหนึ่ง ซึ่งอาจรวมถึงลักษณะที่มีผลต่อความอยู่รอดของประชากร (Fitness-related traits) ในระยะยาว (Garcia de Leaniz *et al.*, 2007)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของหอยลายในประเทศไทย ด้วยเทคนิคไอเอสเอสอาร์ไพรเมอร์ สรุปได้ดังนี้

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรของหอยลายในประเทศไทย ที่กำหนดให้อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($F_{IS} = 0$) มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมระดับปานกลางในจังหวัดสมุทรสงคราม, สมุทรสาคร, สมุทรปราการ และมีค่าที่ต่ำในจังหวัดสุราษฎ์ธานีและสตูล โดยที่มีค่าของค่าคาดหวังเฮตเทอโรไซโกซิตี้ (*Hj*) และค่าเปอร์เซ็นต์โพลิเมอร์ฟิกโลไซม์ อยู่ระหว่าง 0.04750-0.14128 และ 13.3-47.0% โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการกำหนดค่าให้เบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($F_{IS} = 0.05, 0.10, 0.25$) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน

2. ประชากรหอยลายส่วนใหญ่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ระดับของความแตกต่างอยู่ในระดับสูง ($F_{ST} = 0.314$) แสดงว่าประชากรของหอยลายแบ่งออกเป็นประชากรย่อย มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.0361-0.0616

3. ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรของหอยลายในประเทศไทยที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ โดยการวิเคราะห์ Principal coordinate แบ่งออกเป็น 4 ประชากร โดยกลุ่มที่1เป็นประชากรหอยลายในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร กลุ่มที่ 2 สมุทรปราการ กลุ่มที่ 3 จังหวัดสุราษฎร์ธานีและกลุ่มที่ 4 เป็นประชากรหอยลายในจังหวัดสตูล

ข้อเสนอแนะ

ในการวางแผนการจัดทรัพยากรหอยลายในประเทศไทยควรจะต้องมีความคำนึงถึงระดับความความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรหอยลายด้วย จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในระดับสูง การใช้มาตราการในการเพาะพันธุ์ลูกหอยลายเพื่อปล่อยลงสู่ทะเลเพื่อเพิ่มปริมาณหอยลายในปัจจุบัน โดยการใช้พ่อแม่พันธุ์จากแหล่งใดแหล่งหนึ่งในการเพาะพันธุ์เพื่อปล่อยอาจจะไม่ได้ผล เนื่องจากประชากรหอยลายในแต่ละประชากรมีความแตกต่างกันในระดับสูง การเพาะพันธุ์ควรจะใช้หอยลายในประชากรนั้นๆ เพื่อเพาะพันธุ์ปล่อยลงสู่ทะเล หรืออาจมีการกำหนดพื้นที่ในการอนุรักษ์พันธุ์หอยลายเพิ่มขึ้น อย่างในพื้นที่ในบริเวณจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ยังคงดีอยู่ หรือมีการจำกัดขนาดของเรือที่ทำการประมงและช่วงเวลาทำการประมงเพื่อลดการทำการประมงที่หนาแน่นเกินไป หรืออาจส่งเสริมการวิจัยพัฒนาเพื่อการเพาะเลี้ยงหอยลาย ซึ่งอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่ดีในอนาคตเพื่อการลดการใช้ทรัพยากรหอยลายในธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันผลผลิตหอยลายที่ได้จะได้มาจากประชากรหอยในธรรมชาติเพียงอย่างเดียว นี่อาจเป็นแนวหนึ่งที่จะสามารถนำมาวางแผนมาตราการและการจัดการทรัพยากรหอยลายในประเทศไทยให้สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2547. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย ปี พ.ศ. 2517-2547**. รายงานประจำปี. ฝ่ายเศรษฐกิจการประมง, กรมประมง.

______. 2548. **หอยลายในประเทศไทย**. กลุ่มวิชาการ. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล. กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

จินตนา จินดาลิขิต. 2543. **ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยลาย *Paphia undulata* บริเวณอ่าวมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 16. กลุ่มชีวประวัติสัตว์ทะเล, ศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยตอนบน, กองประมงทะเล, กรมประมง. 57 น.

นวลมณี พงศ์ธนา. 2531. **การทดลองเพาะเลี้ยงหอยลาย (*Paphia undulata*)**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3. ศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก, กองประมงทะเล, กรมประมง. 18 น.

ไพเราะ ศุทธากรณ์ และสุนันท์ ทวยเจริญ. 2536. **การศึกษาชีวประวัติของหอยลาย *Paphia undulata* ทางฝั่งตะวันตกของประเทศไทย**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 24. กลุ่มชีวประวัติสัตว์ทะเล, ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งอันดามัน, กองประมงทะเล, กรมประมง. 54 น.

มาลา สุพงษ์พันธุ์ และ จินตนา จินดาลิขิต. 2548. **การประมงหอยลายและการสำรวจหอยลายร่วมกับชาวประมง**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 9. กลุ่มอำนวยการและประสานงานวิชาการ, กรมประมง. 55 น.

มิคมินทร์ จารุจินดา. 2533. **การทดลองหาขนาดความห่างซี่คราดที่เหมาะสมในการประมงหอย**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 25. ศูนย์พัฒนาประมงทะเลฝั่งตะวันออก, กองประมงทะเล, กรมประมง. 20 น.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2536. **พันธุศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. **พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนุกูล บูรณประทีปรัตน์. 2551. การไหลเวียนของกระแสน้ำในอ่าวไทยตอนบน: **การทบทวนงานวิจัย.** วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 18 : 75-83.

Allendorf, F.W. and S.R. Phelps. 1980. Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout. Trans. Am. **Fish. Soc.** 109: 537-543.

Antoro, S., U. Na-Nakorn and W. Koedprang. 2005. Genetic Diversity of Orange spotted Grouper, *Epinephelus coioides* from Thailand and Indonesia using micosatellite markers. **Mar. Biotechnol.** 8: 17-26.

Arnaud-Haonda, S., V. Vonaua, F. Bonhommeb, P. Boudryc, J. Proua, T. Seamand, M. Veyreta and E. Goyard. 2003. Spat collection of the pearl oyster (*Pinctada margaritifera cumingii*) in French Polynesia: an evaluation of the potential impact on genetic variability of wild and farmed populations after 20 years of commercial exploitation. **Aquaculture**. 219: 181-192.

Ball, A.O. and R.W. Chapman. 2003. Population genetic analysis of white shrimp, *Litopenaeus setiferus*, using microsatellite genetic markers. **Mol. Ecol.** 12: 2319-2330.

Begg, G.A., Friedland, K.D., and J.B Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. **Fish. Res.** 43: 1-8.

Casu, M., Casu, D., Lai, T., Cossu, P. and Curini-Galletti, M. 2006. Inter-simple sequence repeat marker reveal strong genetic differentiation among population of the endangered molluse *Patella ferruginea* (Gastropoda : Patellidae) from two Sardinian marine protected areas. **Mar. Biol.** 149: 1163-1174.

______. Maltagliatib, F., Cossu, P., Lai, T., Gallettia, M.C., Castelli, A., and Commitoc, J.A. 2005. Fine-grained spatial genetic structure in the bivalve *Gemma gemma* from Maine and Virginia (USA), as revealed by Inter-Simple Sequence Repeat markers. **Mar. Biol. Ecol.** 325: 46-54.

Cassista, M.C. and M.W. Hart. 2007. Spatial and temporal genetic homogeneity in the Arctic surfclam (*Mactromeris polynyma*). **Mar. Biol.** 152: 569–579.

David, P. and P. Jarne. 1997. Context-dependent survival differences among electrophoretic genotypes in natural populations of the marine bivalve, *Spisula ovalis*. **Genetics**. 146: 335–344.

David, P., M.A. Perdieu, A.F. Pernot and P. Jarne. 1997. Fine-grained spatial and temporal population genetic structure in the marine bivalve *Spisula ovalis*. **Evolution**. 51: 1318–1322.

Excoffier, L., P.E. Smouse and J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics.** 131: 479-491.

Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. 1996. **Introduction to Quatitative Genetics**. Longman, Essex.

Frankham, R., J.D. Ballou and D.A. Briscoe. 2002. **Introduction to Conservation Genetics.** Cambridge University. 617 p.

Garcia de Leaniz, C., Fleming, I.A., Einum, S., Verspoor, E., Jordan, W.C., Consuegra, S., Aubin-Horth, N., Lajus, D., Letcher, B.H., Youngson, A.F., Webb, J.H., Vollestad, L.A., Villanueva, B., Ferguson, A. and T.P. Quinn. 2007. A critical review of adaptive genetic variation in Atlantic salmon: implications for conservation. **Bio. Rev.** 82:173-211.

Gharrett, A.J., Smoker, W.W., Reisenbichler, R.R., Taylor, S.G. 1999. Outbreeding depression in hybrids between odd and even-broodyear pink salmon. **Aquaculture** 173: 117-129.

Gutierrez-Gonzalez, J.L., P. Cruz, M.A.D. Rio-Portilla. and A.R. Perez-Enriquez. 2007. Genetic structure of green abalone (*Haliotis fulgens*) population off BaJa California, Mexico. **J Shellfish Res.** (26) 3: 839-846.

Hadrys, H., Balick, M. and B. Schierwater. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. **Mol. Ecol.** 1: 55-63.

Hallerman, E. 2003. **Coadaptation and outbreeding depression**. Pp. 239-259, In: Hallerman, E. (Ed.). Population Genetics: Principles and Application for Fisheries Scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.

Hamm, D.E. and R.S. Burton. 2000. Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast. **Mar. Biol. Ecol.** 254: 235-247.

Hedrick, P.W. 1985. **Genetics of Population**. Jones and Barttett Publishers, Inc., USA.

______. 2000. **Genetic of population.** Boston, Mass: Jones and Bartlett, 553 p.

Hui, D. and Y. K. Hou . 2006. Genetic variation in wild and culture populations of the pearl oyster *pinctada fucata* from southern China. **Aquaculture.** 258: 220-227.

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

Johnson, M.S. and R. Black. 1984. Pattern beneath the chaos: the effect of recruitment on genetic patchiness in an intertidal limpet. **Evolution.** 38: 1371–1383.

Kenchington, E.L., Patwary, M.U., Zouros, E. and C.J. Bird. 2006. Genetic differentiation in relation to marine landscape in a broadcast-spawning bivalve mollusc (*Placopecten magellanicus*). **Mol. Eco.l** 15: 1781–1796.

Kirby, L.T. 1992. **DNA Fingerprinting: An Introduction.** W.H. Freeman and Company, New York.

Klinbunga, S., Siludjai, D., Wudthijinda, W., Tassanakajon, A., Jarayaphand, P. and P. Menasveta. 2001. Genetic heterogeneity of the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand revealed by RAPD and mitochondrial DNA RFLP analyses. **Mar. Biotechnol.** 3: 428–438.

______. Pripue, P., Khamnamtong, N., Puangiarp, N., Tassanakajon, A., Jarayaphand, P., Hirono, I., Aoki T. and P. Menasveta. 2003. Genetic diversity and molecular markers of the tropical abalone (*Haliotis asinina*) in Thailand. **Mar. Biotechnol.** 5: 505–517.

Kong, L., Li, O. and Z. Qiu. 2007. Genetic and morphological differentiation in the clam Coelomactra antiquata (Bivalvia: Veneroida) along the coast of China. **J Exp Mar Biol Ecol.** 343: 110-117.

Kyle, C.J. and E.G. Boulding. 2000. Comparative population genetic structure of marine gastropods (*Littorina* ssp.) with and without pelagic larval dispersal. **Mar. Biotechnol.** 137: 835-845.

Lambert, W.J., C.D. Todd and J.P. Thorpe. 2003. Genetic population structure of two intertidal nudibranch molluscs with contrasting larval types: temporal variation and transplant experiments. **Mar. Biotechnol.** 142: 461-471.

Laudien, J., Brey, T., Estuarine, A.W.E. 2003. Population structure, growth and production of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian Sandy beaches. **Est Coast Shelf Sci.** 58S:105–115.

Li, G. and D. Hedgecock. 1998. Genetic heterogeneity, detected by PCR-SSCP, among samples of larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) supports the hypothesis of large variance in reproductive success. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 55:1025–1033.

Li, Q., Xu, K. and R. Yu. 2007. Genetic variation in Chinese hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. **Aquaculture**. 253: 229-237.

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

Lind, C.E., Evans, B.S., Taylor, J.J.U. and D.R. Jerry. 2007. Population genetics of a marine bivalve, *Pinctada maxima*, throughout the Indo-Australian Archipelago shows differentiation and decreased diversity at range limits. **Mol. Ecol.** 16: 5193–5203.

Lin, G., F. Feng and G.H. Yue. 2007. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites from Asian green mussel (*Perna viridis*). **Mol. Ecol. Notes.** 7:1036-1038.

Lynch, M. 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. **Mol. Bio. Evol.** 7: 478-484.

Lynch, M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD marker. **Mol. Ecol.** 3: 91-99.

Mahidol, C., U. Na-Nakorn, S. Sukmanomon, N. Taniguchi and Thuy T. T. Nguyen. 2007. Mitochondrial DNA diversity of the Asian moon scallop, *Amusium pleuronectes* (Pectinidae), in Thailand. **Mar. Biotechnol.** 9: 352–359.

Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Res.** 27: 209-220.

May, B. and C.C. Krueger. 1990. Use of allozyme data for population analysis. pp. 157-172. *In.* D.H. Whitmore (ed.), Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management. **CRC Press.**

Miller, M. 1997. **Tools for population genetic analices (TFPGA) 1.3**: A windows program for analysis of allozyme and molecular population genetic data. http://herb.bio.nau.edu/miller/tfpga.htm.

Milton H. Gallardoa, L. Penaloza and E. Clasingb. 1998. Gene flow and allozymic population structure in the clam *Venus antique* (Bivalvia, Veneriidae) from Southern Chile. **J Exp Mar Biol Ecol.** 230. 193-205.

Murray-Jones, S.E., Ayre, D.J. 1997. High levels of gene flow in the surf clam bivalve *Donax deltoids* (Bivalvia: Donacidae) on the east coast of Australia. **Mar. Biol.** 128, 83-89.

Nei, M. 1987. **Molecular Evolutionary Genetics.** Columbia University Press, New York. 512 pp.

______. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small nuber of individuals. **Genetic.** 89, 83-590.

______. 1972. Genetic distance between populations. **Amer. Natur.** 106: 282-292.

Pritchard, J.K., Stephens, M. and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155: 9197-9201.

Rhodes, K.L., R.I. Lewis, R.W. Chapman and Y. Sadovy. 2003. Genetic structure of camouflage grouper, *Epinephelus polyphekadion* (Pisces: Serranidae), in the western central Pacific. **Mar. Biotechnol.** 142: 771-776.

Rose C.G., Paynter K.T. and M.P. Hare. 2006. Isolation by distance in the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica,* in Chesapeake Bay. **Heredity** 97 (2): 158-170.

Schlüter, P.M. and S.A. Harris. 2006. Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data. **Mol. Ecol.** 6, 569-572.

Tang, S., Tassanakajon, A., Klinbunga, S., Jarayabhand, P. and P. Menasveta. 2004. Population structure of Tropical abalone (*Haliotis asinina*) in coastal waters of Thailand determined using microsatellite markers. **Mar. Biotechnol.** 6: 604-611.

Taggart, J.B., R.A. Hynes, P.A. Prodohl and A. Ferguson. 1992. A simplified protocol for routine tatal DNA isolation from salmonid fishes. **J. Fish. Biol.** 40: 963-965.

Todd, C.D., W.J. Lamberta and J.P. Thorpec. 1998. The genetic structure of intertidal populations of two species of nudibranch molluscs with planktotrophic and pelagic lecithotrophic larval stages: are pelagic larvae "for" dispersal. **Mar. Biol. Ecol.** 228: 1-28.

Vekemans X., T. Beauwens, M. Lemaire and I. Roldan-Ruiz. 2002. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) marker show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size **Mol Ecol.**11: 139-151.

Vercaemer, B., K. Spence, E. Kenchington, A. Mallet and J. Harding. 2003. Assessment of genetic diversity of the European oyster (*Ostrea edulis*) in Nova Scotia using microsatellite markers. **Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci** 2453: v + 30 pp.

_______. K.R. Spence, C.M. Herbinger, S. Lapègue S. and E.L. Kenchington. 2006. Genetic diversity of the European oyster (*Ostrea edulis* L.) in Nova Scotia:Comparison with other parts of Canada, Maine and Europe and implications for broodstock management. **J. Shellfish Res.** 25 (2): 543-551.

Waples, R., 1998. Separating the wheat from the chaff: Patterns of genetic differentiation in high gene flow species. **J Hered.** 89, 439–450.

Welsh, L., McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Res.** 18: 7213-7218.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Res.** 18: 6531-6535.

Wolf, H.D., Blust, R. and T. Backeljau. 2004. The population genetic structure of *Littorina littorea* (Mollusca: Gastropoda) along a pollution gradient in the Scheldt estuary (The Netherlands) using RAPD analysis. **Sci Total Environ.** 325: 59-69.

Wolfe, A.D. and A. Liston. 1998. **Contributions of PCR based methods to plant systematics and evolutionary biology**. In: Soltis, P.S., Soltis, D.E., Doyle (Eds.), Molecular Systematics of Plants: DNA Sequencing. Kluwer, pp. 43-186.

Wright, S. 1978. **Evolution and the Genetics of Populations**. Vol. 4: Variability within and among Natural Populations. Chicago: University of Chicago Press.

Zhan, A., Hu, J., Hu, X., Zhou, Z., Hui, M., Wang, S., Peng, W., Wang, M. and Z. Bao. 2008. Fine-scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): Do local marine currents drive geographical differentiation. **Mar Biotechnol.** 11: 223–235.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

การทำ Agarose gel eletroresis

1. การเตรียมสารเคมี

a. **บัฟเฟอร์ TBE ความเข้มข้น 10 เท่า**

ผสม Tris base 108 กรัม, กรดบอริค 55 กรัม, และ 0.5 M EDTA (pH 8.0) ปริมาณ 40 ml เข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาณ 1 ลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วยกรด HCl นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave เก็บที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำมาใช้งานให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน บัฟเฟอร์ TBE 10 เท่าต่อน้ำกลั่นเป็น 1 ต่อ 9

b. Loading buffer

ผสม 0.25 % bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF และ 30% glecerol เข้าด้วยกันเก็บที่ อุณหภูมิ 4^{0}C

c. สีย้อม ethidium bromide ความเข้มข้น 0.5 ug/ml

ผสม ethidium bromide 250 ug เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 ml กวนให้สีละลายด้วยเครื่อง magnetic stirrer นำไปเก็บไว้ในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิห้อง

2. วิธีการ

a. ประกอบถาดหล่อเจลเข้ากับ comb เพื่อให้เจลที่แข็งตัวมีสีช่อง (well) ซึ่งใช้สำหรับหยอดตัวอย่าง DNA
b. ชั่ง agarose 0.42 กรัมลงใน flask เติมบัฟเฟอร์ TBE ความเข้มข้น 1 เท่าจนได้ปริมาณ 35 ml จะได้ agarose ความเข้มข้น 1.2%
c. ละลาย agarose โดยนำเข้าตู้ไมโครเวฟนานประมาณ 1 นาที เมื่อเดือดให้นำออกมาเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำเข้าตู้ไมโครเวฟอีกครั้ง ทำซ้ำดังกล่าวอีก 2-3 ครั้ง จนกว่า agarose ละลายจนสารละลายจะใส
d. ปล่อยสารละลายเจลทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอุ่น นำไปเทลงในถาดหล่อเจลโดยระวังมิให้เกิดฟองอากาศเกิดขึ้น ทิ้งไว้จนกระทั่งเจลแข็งตัวและเย็น
e. ดึง comb ออกจากเจล ดึงแผ่นเจลขึ้น นำไปวางใน eletrophoresis chamber โดยหันด้านที่มี ช่องหยอดตัวอย่างไปทางขั้วลบ
f. เติมบัฟเฟอร์ TBE เข้มข้น 1 เท่าลงใน eletrophoresis chamber จนท่วมผิวหน้าเจลขึ้นมามิลลิเมตร

g. ผสม loading buffer กับตัวอย่าง DNA อัตราส่วน 2.5 ต่อ 7.5 ul (1 ช่อง well ใส่สารละลายได้ 10 ul) บนแผ่นพาราฟิน ผสมให้เข้ากันโดยใช้ไมโครไปเปตดูดตัวอย่างขึ้นลง แล้วนำไปหยอดลงในช่องบบนเจล ส่วน DNA size Maker ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ 100 bp marker ledder (ward medic)

h. ปิดฝา eletrophoresis chamber ต่อขั้วไฟฟ้า แล้วเปิดสวิตซ์ปล่อยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ โดยให้กระแสไฟฟ้าไหลจากขั้วลบไปหาขั้วบวก ตามความยาวของแผ่นเจล

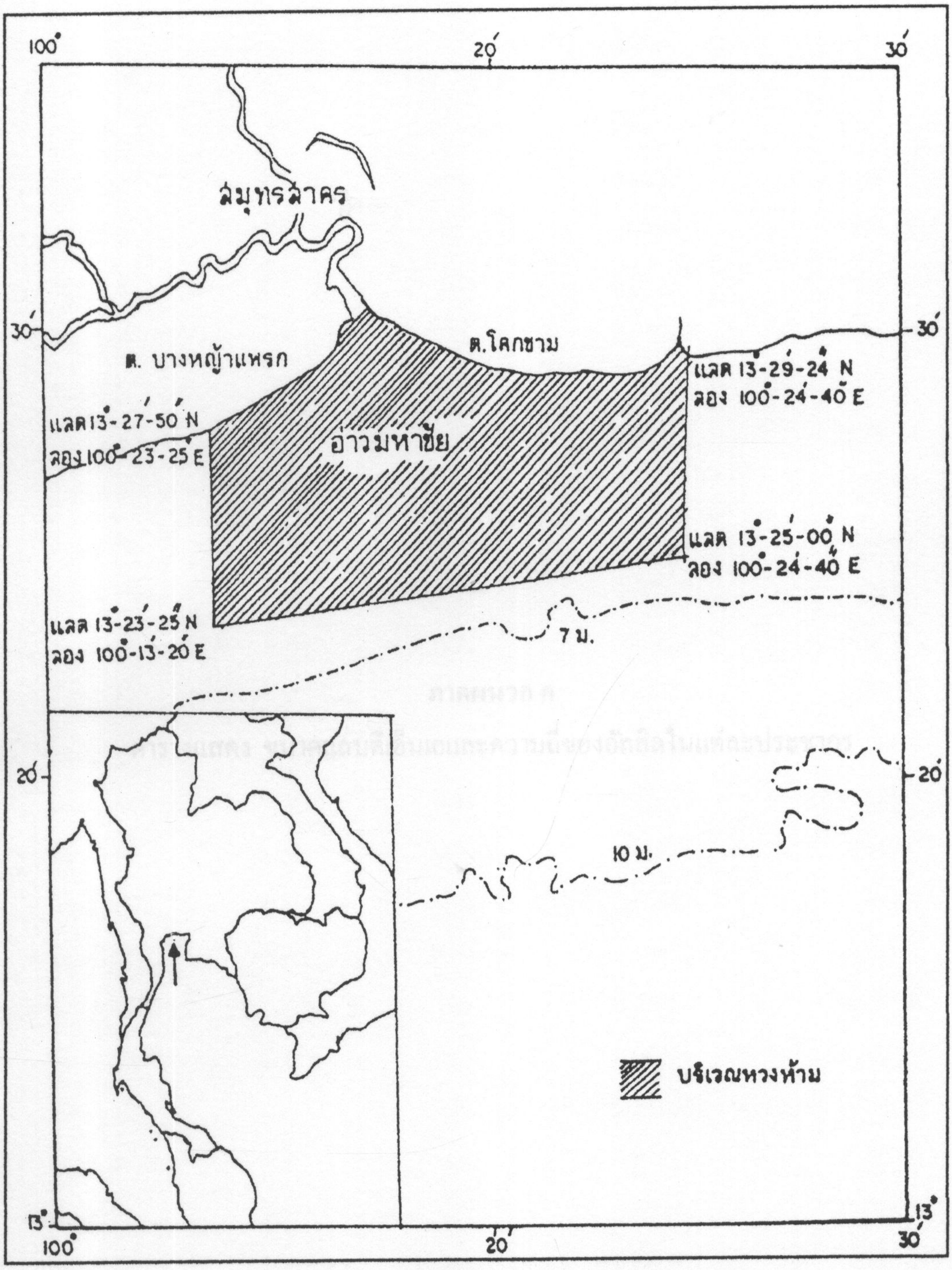
i. สังเกตที่สีของ loading buffer เมื่อเจล สีเคลื่อนที่ค่อนไปทางด้านปลายของแผ่นเจล ให้หยุดให้กระแสไฟ

j. นำแผ่นเจลที่ได้ไปย้อมด้วย ethidium bromide นาน 15 นาทีเมื่อครบให้แช่น้ำเปล่าประมาณ 10 นาที

k. นำแผ่นเจลไปส่องดูแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV Transilluminator ถ่ายรูปเจล DNA ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องถ่ายภาพ นำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ผล

ภาคผนวก ข

ภาพแผนที่แสดงพื้นที่อนุรักษ์หอยลายบริเวณจังหวัด สมุทรสาคร



ภาพผนวกที่ ข1 แผนที่แสดงพื้นที่อนุรักษ์หอยลายบริเวณจังหวัด สมุทรสาคร

ที่มา: จินตนา (2543)

ภาคผนวก ค

ตารางแสดง ขนาดแถบดีเอ็นเอและความถี่ของอัลลิลในแต่ละประชากร

ตารางผนวกที่ ค1 ขนาดแอบดีเอ็นเอและความถี่ของอัลลีลในแต่ละประชากร

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_1	100	0.02	0.01173	0.98827
band_2	100	0.03	0.0167	0.9833
band_3	100	0.02	0.01173	0.98827
band_4	100	0.1	0.05223	0.94777
band_5	100	0.18	0.09455	0.90545
band_6	100	0.07	0.03686	0.96314
band_7	100	0.09	0.04707	0.95293
band_8	100	0.46	0.26155	0.73845
band_9	100	0.12	0.06264	0.93736
band_10	100	0.22	0.11647	0.88353
band_11	100	0.06	0.03176	0.96824
band_12	100	0.38	0.21023	0.78977
band_13	100	0.48	0.27495	0.72505
band_14	100	0.03	0.0167	0.9833
band_15	100	0.07	0.03686	0.96314
band_16	100	0.54	0.31673	0.68327
band_17	100	0.4	0.22274	0.77726
band_18	100	0.07	0.03686	0.96314
band_19	100	0.21	0.11095	0.88905
band_20	100	0.4	0.22274	0.77726
band_21	100	0.2	0.10546	0.89454
band_22	100	0.3	0.16204	0.83796
band_23	100	0.51	0.29552	0.70448
band_24	100	0	0.00185	0.99815

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_25	100	0.02	0.01173	0.98827
band_26	100	0.58	0.34605	0.65395
band_27	100	0.2	0.10546	0.89454
band_28	100	0.65	0.40081	0.59919
band_29	100	0.15	0.07847	0.92153
band_30	100	0.09	0.04707	0.95293
band_31	100	0.05	0.0267	0.9733
band_32	100	0.08	0.04196	0.95804
band_33	100	0.11	0.05742	0.94258
band_34	100	0.14	0.07317	0.92683
band_35	100	0.14	0.07317	0.92683
band_36	100	0.08	0.04196	0.95804
band_37	100	0.14	0.07317	0.92683
band_38	100	0.09	0.04707	0.95293
band_39	100	0.11	0.05742	0.94258
band_40	100	0.02	0.01173	0.98827
band_41	100	0.1	0.05223	0.94777
band_42	100	0.02	0.01173	0.98827
band_43	100	0.29	0.15622	0.84378
band_44	100	0.07	0.03686	0.96314
band_45	100	0.13	0.06789	0.93211
band_46	100	0.08	0.04196	0.95804
band_47	100	0.1	0.05223	0.94777
band_48	100	0.21	0.11095	0.88905
band_49	100	0.13	0.06789	0.93211
band_50	100	0.02	0.01173	0.98827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_51	100	0.2	0.10546	0.89454
band_52	100	0.16	0.0838	0.9162
band_53	100	0.09	0.04707	0.95293
band_54	100	0.18	0.09455	0.90545
band_55	100	0.14	0.07317	0.92683
band_56	100	0.07	0.03686	0.96314
band_57	100	0.13	0.06789	0.93211
band_58	100	0.15	0.07847	0.92153
band_59	100	0.01	0.00677	0.99323
band_60	100	0.2	0.10546	0.89454
band_61	100	0.36	0.19791	0.80209
band_62	100	0.2	0.10546	0.89454
band_63	100	0.29	0.15622	0.84378
band_64	100	0.13	0.06789	0.93211
band_65	100	0.52	0.30253	0.69747
band_66	100	0.37	0.20404	0.79596
band_67	100	0.02	0.01173	0.98827
band_68	100	0.04	0.02169	0.97831
band_69	100	0.69	0.43448	0.56552
band_70	100	0.02	0.01173	0.98827
band_71	100	0	0.00185	0.99815
band_72	100	0.02	0.01173	0.98827
band_73	100	0.01	0.00677	0.99323
band_74	100	0.38	0.21023	0.78977
band_75	100	0	0.00185	0.99815
band_76	100	0.02	0.01173	0.98827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_77	100	0.06	0.03176	0.96824
band_78	100	0.21	0.11095	0.88905
band_79	100	0.39	0.21646	0.78354
band_80	100	0.22	0.11647	0.88353
band_81	100	0.04	0.02169	0.97831
band_82	100	0.06	0.03176	0.96824
band_83	100	0.03	0.0167	0.9833
band_84	100	0.05	0.0267	0.9733
band_85	100	0.15	0.07847	0.92153
band_86	100	0.58	0.34605	0.65395
band_87	100	0.65	0.40081	0.59919
band_88	100	0.11	0.05742	0.94258
band_89	100	0.01	0.00677	0.99323
band_90	100	0.14	0.07317	0.92683
band_91	100	0.55	0.32393	0.67607
band_92	100	0.01	0.00677	0.99323
band_93	100	0.07	0.03686	0.96314
band_94	100	0.46	0.26155	0.73845
band_95	100	0.04	0.02169	0.97831
band_96	100	0.1	0.05223	0.94777
band_97	100	0.02	0.01173	0.98827
band_98	100	0.05	0.0267	0.9733
band_99	100	0.24	0.12767	0.87233
band_100	100	0.01	0.00677	0.99323
band_101	100	0.05	0.0267	0.9733
band_102	100	0.06	0.03176	0.96824

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_103	100	0.09	0.04707	0.95293
band_104	100	0.3	0.16204	0.83796
band_105	100	0.22	0.11647	0.88353
band_106	100	0.11	0.05742	0.94258
band_107	100	0.22	0.11647	0.88353
band_108	100	0.05	0.0267	0.9733
band_109	100	0.07	0.03686	0.96314
band_110	100	0.44	0.24839	0.75161
band_111	100	0.05	0.0267	0.9733
band_112	100	0.24	0.12767	0.87233
band_113	100	0.31	0.16792	0.83208
band_114	100	0.28	0.15044	0.84956
band_115	100	0	0.00185	0.99815
band_116	100	0.23	0.12204	0.87796
band_117	100	0.48	0.27495	0.72505
band_118	100	0.21	0.11095	0.88905
band_119	100	0	0.00185	0.99815
band_120	100	0.1	0.05223	0.94777
band_121	100	0.06	0.03176	0.96824
band_122	100	0	0.00185	0.99815
band_123	100	0.4	0.22274	0.77726
band_124	100	0	0.00185	0.99815
band_125	100	0.08	0.04196	0.95804
band_126	100	0.2	0.10546	0.89454
band_127	100	0.22	0.11647	0.88353
band_128	100	0	0.00185	0.99815

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_129	100	0	0.00185	0.99815
band_130	100	0.43	0.24191	0.75809
band_131	100	0.08	0.04196	0.95804
band_132	100	0	0.00185	0.99815
band_133	100	0	0.00185	0.99815
band_134	100	0.13	0.06789	0.93211
band_135	100	0.11	0.05742	0.94258
band_136	100	0.05	0.0267	0.9733
band_137	100	0.13	0.06789	0.93211
band_138	100	0.03	0.0167	0.9833
band_139	100	0.15	0.07847	0.92153
band_140	100	0	0.00185	0.99815
band_141	100	0.07	0.03686	0.96314
band_142	100	0.05	0.0267	0.9733
band_143	100	0	0.00185	0.99815
band_144	100	0.14	0.07317	0.92683
band_145	100	0.5	0.2886	0.7114
band_146	100	0.15	0.07847	0.92153
band_147	100	0.08	0.04196	0.95804
band_148	100	0	0.00185	0.99815
band_149	100	0.14	0.07317	0.92683
band_150	100	0.04	0.02169	0.97831
band_151	100	0.18	0.09455	0.90545
band_152	100	0.13	0.06789	0.93211
band_153	100	0.32	0.17382	0.82618
band_154	100	0.18	0.09455	0.90545

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_155	100	0.92	0.69289	0.30711
band_156	100	0.71	0.4521	0.5479
band_157	100	0.02	0.01173	0.98827
band_158	100	0.85	0.59635	0.40365
band_159	100	0.05	0.0267	0.9733
band_160	100	0.01	0.00677	0.99323
band_161	100	0.05	0.0267	0.9733
band_162	100	0.53	0.30959	0.69041
band_163	100	0.45	0.25494	0.74506
band_164	100	0.03	0.0167	0.9833
band_165	100	0.05	0.0267	0.9733
band_166	100	0.03	0.0167	0.9833
band_167	100	0.01	0.00677	0.99323
band_168	100	0.02	0.01173	0.98827
band_169	100	0.09	0.04707	0.95293
band_170	100	0.1	0.05223	0.94777
band_171	100	0.05	0.0267	0.9733
band_172	100	0.06	0.03176	0.96824
band_173	100	0.09	0.04707	0.95293
band_174	100	0.26	0.13896	0.86104
band_175	100	0	0.00185	0.99815
band_176	100	0.18	0.09455	0.90545
band_177	100	0.09	0.04707	0.95293
band_178	100	0.24	0.12767	0.87233
band_179	100	0	0.00185	0.99815
band_180	100	0.17	0.08915	0.91085

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_181	100	0	0.00185	0.99815
band_182	100	0.22	0.11647	0.88353
band_183	100	0.16	0.0838	0.9162
band_184	100	0	0.00185	0.99815
band_185	100	0.06	0.03176	0.96824
band_186	100	0.01	0.00677	0.99323
band_187	100	0.04	0.02169	0.97831
band_188	100	0.32	0.17382	0.82618
band_189	100	0.12	0.06264	0.93736
band_190	100	0.2	0.10546	0.89454
band_191	100	0.03	0.0167	0.9833
band_192	100	0.43	0.24191	0.75809
band_193	100	0.49	0.28175	0.71825
band_194	100	0.2	0.10546	0.89454
band_195	100	0.45	0.25494	0.74506
band_196	100	0.32	0.17382	0.82618
band_197	100	0.09	0.04707	0.95293
band_198	100	0.24	0.12767	0.87233
band_199	100	0.16	0.0838	0.9162
band_200	100	0.22	0.11647	0.88353
band_201	100	0.23	0.12204	0.87796
band_202	100	0.05	0.0267	0.9733
band_203	100	0.21	0.11095	0.88905
band_204	100	0	0.00185	0.99815
band_205	100	0.17	0.08915	0.91085
band_206	100	0.18	0.09455	0.90545

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_207	100	0.07	0.03686	0.96314
band_208	100	0.13	0.06789	0.93211
band_209	100	0.52	0.30253	0.69747
band_210	100	0.46	0.26155	0.73845
band_211	100	0.15	0.07847	0.92153
band_212	100	0.5	0.2886	0.7114
band_213	100	0.25	0.13328	0.86672
band_214	100	0.01	0.00677	0.99323
band_215	100	0.76	0.49882	0.50118
band_216	100	0	0.00185	0.99815
band_217	100	0	0.00185	0.99815
band_218	100	0	0.00185	0.99815
band_219	100	0.03	0.0167	0.9833
band_220	100	0.01	0.00677	0.99323
band_221	100	0.85	0.59635	0.40365
band_222	100	0.01	0.00677	0.99323
band_223	100	0	0.00185	0.99815
band_224	100	0.02	0.01173	0.98827
band_225	100	0	0.00185	0.99815
band_226	100	0.02	0.01173	0.98827
band_227	100	0.96	0.76521	0.23479
band_228	100	0.01	0.00677	0.99323
band_229	100	0.06	0.03176	0.96824
band_230	100	0	0.00185	0.99815
band_231	100	0.01	0.00677	0.99323
band_232	100	0	0.00185	0.99815

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_233	100	0	0.00185	0.99815
band_234	100	0	0.00185	0.99815
band_235	100	0	0.00185	0.99815
band_236	100	0.7	0.44323	0.55677
band_237	100	0.17	0.08915	0.91085
band_238	100	0.02	0.01173	0.98827
band_239	100	0.03	0.0167	0.9833
band_240	100	0	0.00185	0.99815
band_241	100	0.02	0.01173	0.98827
band_242	100	0.05	0.0267	0.9733
band_243	100	0.01	0.00677	0.99323
band_244	100	0.05	0.0267	0.9733
band_245	100	0	0.00185	0.99815
band_246	100	0.01	0.00677	0.99323
band_247	100	0	0.00185	0.99815
band_248	100	0	0.00185	0.99815
band_249	100	0.09	0.04707	0.95293
band_250	100	0.08	0.04196	0.95804
band_251	100	0.06	0.03176	0.96824
band_252	100	0.78	0.51879	0.48121
band_253	100	0.1	0.05223	0.94777
band_254	100	0.01	0.00677	0.99323
band_255	100	0.2	0.10546	0.89454
band_256	100	0.76	0.49882	0.50118
band_257	100	0	0.00185	0.99815
band_258	100	0.04	0.02169	0.97831

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_259	100	0.07	0.03686	0.96314
band_260	100	0.05	0.0267	0.9733
band_261	100	0.84	0.58438	0.41562
band_262	100	0.01	0.00677	0.99323
band_263	100	0.06	0.03176	0.96824
band_264	100	0.95	0.74521	0.25479
band_265	100	0.01	0.00677	0.99323
band_266	100	0	0.00185	0.99815
band_267	100	0.03	0.0167	0.9833
band_268	100	0	0.00185	0.99815
band_269	100	0.64	0.39269	0.60731
band_270	100	0.05	0.0267	0.9733
band_271	100	0	0.00185	0.99815
band_272	100	0.09	0.04707	0.95293
band_273	100	0.04	0.02169	0.97831
band_274	100	0.11	0.05742	0.94258
band_275	100	0.06	0.03176	0.96824
band_276	100	0.07	0.03686	0.96314
band_277	100	0	0.00185	0.99815
band_278	100	0	0.00185	0.99815
band_279	100	0.23	0.12204	0.87796
band_280	100	0.05	0.0267	0.9733
band_281	100	0.09	0.04707	0.95293
band_282	100	0.07	0.03686	0.96314
band_283	100	0.16	0.0838	0.9162
band_284	100	0.13	0.06789	0.93211

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสงคราม			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_285	100	0.02	0.01173	0.98827
band_286	100	0.13	0.06789	0.93211
band_287	100	0.15	0.07847	0.92153
band_288	100	0.47	0.26822	0.73178
band_289	100	0	0.00185	0.99815
band_290	100	0.67	0.4174	0.5826
band_291	100	0.09	0.04707	0.95293
band_292	100	0.04	0.02169	0.97831
band_293	100	0	0.00185	0.99815
band_294	100	0.54	0.31673	0.68327
band_295	100	0.01	0.00677	0.99323
band_296	100	0.79	0.52909	0.47091
band_297	100	0.06	0.03176	0.96824
band_298	100	0.39	0.21646	0.78354
band_299	100	0.65	0.40081	0.59919
band_300	100	0	0.00185	0.99815

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_1	100	0	0.00173	0.99827
band_2	100	0.01	0.00665	0.99335
band_3	100	0.07	0.03668	0.96332
band_4	100	0.03	0.01657	0.98343
band_5	100	0.19	0.09984	0.90016
band_6	100	0.01	0.00665	0.99335
band_7	100	0.34	0.1856	0.8144

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_8	100	0.12	0.0625	0.9375
band_9	100	0.09	0.04695	0.95305
band_10	100	0.03	0.01657	0.98343
band_11	100	0.06	0.03161	0.96839
band_12	100	0.71	0.45179	0.54821
band_13	100	0.16	0.08366	0.91634
band_14	100	0.06	0.03161	0.96839
band_15	100	0.14	0.07302	0.92698
band_16	100	0.77	0.50835	0.49165
band_17	100	0.15	0.0783	0.9217
band_18	100	0.17	0.08901	0.91099
band_19	100	0.24	0.12748	0.87252
band_20	100	0.16	0.08366	0.91634
band_21	100	0.36	0.19774	0.80226
band_22	100	0.31	0.16774	0.83226
band_23	100	0.24	0.12748	0.87252
band_24	100	0.01	0.00665	0.99335
band_25	100	0.05	0.02658	0.97342
band_26	100	0.28	0.15025	0.84975
band_27	100	0.16	0.08366	0.91634
band_28	100	0.18	0.09442	0.90558
band_29	100	0.06	0.03161	0.96839
band_30	100	0	0.00173	0.99827
band_31	100	0.1	0.05211	0.94789
band_32	100	0.16	0.08366	0.91634
band_33	100	0.05	0.02658	0.97342

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_34	100	0.19	0.09984	0.90016
band_35	100	0.14	0.07302	0.92698
band_36	100	0.03	0.01657	0.98343
band_37	100	0.35	0.19164	0.80836
band_38	100	0.01	0.00665	0.99335
band_39	100	0.36	0.19774	0.80226
band_40	100	0	0.00173	0.99827
band_41	100	0.07	0.03668	0.96332
band_42	100	0.01	0.00665	0.99335
band_43	100	0.24	0.12748	0.87252
band_44	100	0.4	0.22255	0.77745
band_45	100	0.04	0.02154	0.97846
band_46	100	0.04	0.02154	0.97846
band_47	100	0.06	0.03161	0.96839
band_48	100	0.06	0.03161	0.96839
band_49	100	0.03	0.01657	0.98343
band_50	100	0.05	0.02658	0.97342
band_51	100	0.21	0.11079	0.88921
band_52	100	0.11	0.05727	0.94273
band_53	100	0.11	0.05727	0.94273
band_54	100	0	0.00173	0.99827
band_55	100	0.09	0.04695	0.95305
band_56	100	0.06	0.03161	0.96839
band_57	100	0.02	0.01161	0.98839
band_58	100	0.32	0.17366	0.82634
band_59	100	0	0.00173	0.99827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สมุทรสาคร N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_60	100	0	0.00173	0.99827
band_61	100	0.05	0.02658	0.97342
band_62	100	0.7	0.44292	0.55708
band_63	100	0.1	0.05211	0.94789
band_64	100	0.2	0.10529	0.89471
band_65	100	0.3	0.16186	0.83814
band_66	100	0.11	0.05727	0.94273
band_67	100	0.08	0.04181	0.95819
band_68	100	0	0.00173	0.99827
band_69	100	0.25	0.13314	0.86686
band_70	100	0.07	0.03668	0.96332
band_71	100	0.07	0.03668	0.96332
band_72	100	0.07	0.03668	0.96332
band_73	100	0.3	0.16186	0.83814
band_74	100	0.19	0.09984	0.90016
band_75	100	0.12	0.0625	0.9375
band_76	100	0.01	0.00665	0.99335
band_77	100	0.08	0.04181	0.95819
band_78	100	0.09	0.04695	0.95305
band_79	100	0.44	0.2482	0.7518
band_80	100	0.06	0.03161	0.96839
band_81	100	0.23	0.12188	0.87812
band_82	100	0.17	0.08901	0.91099
band_83	100	0.01	0.00665	0.99335
band_84	100	0.08	0.04181	0.95819
band_85	100	0.05	0.02658	0.97342

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_86	100	0.63	0.38441	0.61559
band_87	100	0.3	0.16186	0.83814
band_88	100	0.23	0.12188	0.87812
band_89	100	0.01	0.00665	0.99335
band_90	100	0.09	0.04695	0.95305
band_91	100	0.55	0.32371	0.67629
band_92	100	0	0.00173	0.99827
band_93	100	0.16	0.08366	0.91634
band_94	100	0.15	0.0783	0.9217
band_95	100	0.58	0.3458	0.6542
band_96	100	0.07	0.03668	0.96332
band_97	100	0.03	0.01657	0.98343
band_98	100	0	0.00173	0.99827
band_99	100	0.14	0.07302	0.92698
band_100	100	0.13	0.06774	0.93226
band_101	100	0.08	0.04181	0.95819
band_102	100	0.03	0.01657	0.98343
band_103	100	0.17	0.08901	0.91099
band_104	100	0.21	0.11079	0.88921
band_105	100	0.29	0.15605	0.84395
band_106	100	0.29	0.15605	0.84395
band_107	100	0.09	0.04695	0.95305
band_108	100	0.11	0.05727	0.94273
band_109	100	0.03	0.01657	0.98343
band_110	100	0.2	0.10529	0.89471
band_111	100	0.05	0.02658	0.97342

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สมุทรสาคร N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_112	100	0.44	0.2482	0.7518
band_113	100	0.17	0.08901	0.91099
band_114	100	0.49	0.28154	0.71846
band_115	100	0	0.00173	0.99827
band_116	100	0.09	0.04695	0.95305
band_117	100	0.45	0.25475	0.74525
band_118	100	0.03	0.01657	0.98343
band_119	100	0.04	0.02154	0.97846
band_120	100	0	0.00173	0.99827
band_121	100	0.17	0.08901	0.91099
band_122	100	0.26	0.13879	0.86121
band_123	100	0.32	0.17366	0.82634
band_124	100	0.05	0.02658	0.97342
band_125	100	0.25	0.13314	0.86686
band_126	100	0.5	0.28839	0.71161
band_127	100	0.09	0.04695	0.95305
band_128	100	0.12	0.0625	0.9375
band_129	100	0.15	0.0783	0.9217
band_130	100	0.4	0.22255	0.77745
band_131	100	0.16	0.08366	0.91634
band_132	100	0.04	0.02154	0.97846
band_133	100	0.22	0.11634	0.88366
band_134	100	0	0.00173	0.99827
band_135	100	0	0.00173	0.99827
band_136	100	0	0.00173	0.99827
band_137	100	0	0.00173	0.99827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_138	100	0.04	0.02154	0.97846
band_139	100	0.08	0.04181	0.95819
band_140	100	0.05	0.02658	0.97342
band_141	100	0.05	0.02658	0.97342
band_142	100	0.01	0.00665	0.99335
band_143	100	0.03	0.01657	0.98343
band_144	100	0.08	0.04181	0.95819
band_145	100	0.5	0.28839	0.71161
band_146	100	0.28	0.15025	0.84975
band_147	100	0.06	0.03161	0.96839
band_148	100	0.04	0.02154	0.97846
band_149	100	0.12	0.0625	0.9375
band_150	100	0.05	0.02658	0.97342
band_151	100	0.03	0.01657	0.98343
band_152	100	0.28	0.15025	0.84975
band_153	100	0.45	0.25475	0.74525
band_154	100	0.14	0.07302	0.92698
band_155	100	0.02	0.01161	0.98839
band_156	100	0.99	0.83831	0.16169
band_157	100	0.96	0.76443	0.23557
band_158	100	0.01	0.00665	0.99335
band_159	100	0.97	0.78622	0.21378
band_160	100	0.25	0.13314	0.86686
band_161	100	0.02	0.01161	0.98839
band_162	100	0.22	0.11634	0.88366
band_163	100	0.55	0.32371	0.67629

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_164	100	0.02	0.01161	0.98839
band_165	100	0.02	0.01161	0.98839
band_166	100	0.02	0.01161	0.98839
band_167	100	0.05	0.02658	0.97342
band_168	100	0.07	0.03668	0.96332
band_169	100	0	0.00173	0.99827
band_170	100	0.14	0.07302	0.92698
band_171	100	0.2	0.10529	0.89471
band_172	100	0.19	0.09984	0.90016
band_173	100	0.16	0.08366	0.91634
band_174	100	0.12	0.0625	0.9375
band_175	100	0.45	0.25475	0.74525
band_176	100	0	0.00173	0.99827
band_177	100	0.21	0.11079	0.88921
band_178	100	0.16	0.08366	0.91634
band_179	100	0.23	0.12188	0.87812
band_180	100	0.01	0.00665	0.99335
band_181	100	0.24	0.12748	0.87252
band_182	100	0.1	0.05211	0.94789
band_183	100	0	0.00173	0.99827
band_184	100	0.08	0.04181	0.95819
band_185	100	0.14	0.07302	0.92698
band_186	100	0	0.00173	0.99827
band_187	100	0.07	0.03668	0.96332
band_188	100	0.11	0.05727	0.94273
band_189	100	0.09	0.04695	0.95305

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สมุทรสาคร N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_190	100	0.12	0.0625	0.9375
band_191	100	0.01	0.00665	0.99335
band_192	100	0.26	0.13879	0.86121
band_193	100	0.35	0.19164	0.80836
band_194	100	0.02	0.01161	0.98839
band_195	100	0.41	0.22889	0.77111
band_196	100	0.02	0.01161	0.98839
band_197	100	0	0.00173	0.99827
band_198	100	0.04	0.02154	0.97846
band_199	100	0.19	0.09984	0.90016
band_200	100	0	0.00173	0.99827
band_201	100	0	0.00173	0.99827
band_202	100	0.07	0.03668	0.96332
band_203	100	0	0.00173	0.99827
band_204	100	0	0.00173	0.99827
band_205	100	0.27	0.1445	0.8555
band_206	100	0.3	0.16186	0.83814
band_207	100	0.11	0.05727	0.94273
band_208	100	0.12	0.0625	0.9375
band_209	100	0.25	0.13314	0.86686
band_210	100	0.06	0.03161	0.96839
band_211	100	0.14	0.07302	0.92698
band_212	100	0.23	0.12188	0.87812
band_213	100	0.12	0.0625	0.9375
band_214	100	0.1	0.05211	0.94789
band_215	100	0.55	0.32371	0.67629

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_216	100	0.01	0.00665	0.99335
band_217	100	0	0.00173	0.99827
band_218	100	0.01	0.00665	0.99335
band_219	100	0.18	0.09442	0.90558
band_220	100	0.08	0.04181	0.95819
band_221	100	0.04	0.02154	0.97846
band_222	100	0.2	0.10529	0.89471
band_223	100	0.02	0.01161	0.98839
band_224	100	0.06	0.03161	0.96839
band_225	100	0.02	0.01161	0.98839
band_226	100	0.53	0.30937	0.69063
band_227	100	0.19	0.09984	0.90016
band_228	100	0.64	0.39243	0.60757
band_229	100	0.36	0.19774	0.80226
band_230	100	0	0.00173	0.99827
band_231	100	0.14	0.07302	0.92698
band_232	100	0.04	0.02154	0.97846
band_233	100	0.01	0.00665	0.99335
band_234	100	0.05	0.02658	0.97342
band_235	100	0.01	0.00665	0.99335
band_236	100	0.01	0.00665	0.99335
band_237	100	0.72	0.4608	0.5392
band_238	100	0	0.00173	0.99827
band_239	100	0	0.00173	0.99827
band_240	100	0	0.00173	0.99827
band_241	100	0.1	0.05211	0.94789

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_242	100	0	0.00173	0.99827
band_243	100	0	0.00173	0.99827
band_244	100	0.01	0.00665	0.99335
band_245	100	0	0.00173	0.99827
band_246	100	0	0.00173	0.99827
band_247	100	0	0.00173	0.99827
band_248	100	0	0.00173	0.99827
band_249	100	0	0.00173	0.99827
band_250	100	0	0.00173	0.99827
band_251	100	0.39	0.21628	0.78372
band_252	100	0	0.00173	0.99827
band_253	100	0	0.00173	0.99827
band_254	100	0	0.00173	0.99827
band_255	100	0.24	0.12748	0.87252
band_256	100	0	0.00173	0.99827
band_257	100	0	0.00173	0.99827
band_258	100	0	0.00173	0.99827
band_259	100	0.02	0.01161	0.98839
band_260	100	0.56	0.33099	0.66901
band_261	100	0	0.00173	0.99827
band_262	100	0	0.00173	0.99827
band_263	100	0	0.00173	0.99827
band_264	100	0.34	0.1856	0.8144
band_265	100	0	0.00173	0.99827
band_266	100	0	0.00173	0.99827
band_267	100	0	0.00173	0.99827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_268	100	1	0.87192	0.12808
band_269	100	0	0.00173	0.99827
band_270	100	0	0.00173	0.99827
band_271	100	1	0.87192	0.12808
band_272	100	0	0.00173	0.99827
band_273	100	0	0.00173	0.99827
band_274	100	0.08	0.04181	0.95819
band_275	100	0.05	0.02658	0.97342
band_276	100	0.06	0.03161	0.96839
band_277	100	0.01	0.00665	0.99335
band_278	100	0.01	0.00665	0.99335
band_279	100	0	0.00173	0.99827
band_280	100	0.36	0.19774	0.80226
band_281	100	0.06	0.03161	0.96839
band_282	100	0.01	0.00665	0.99335
band_283	100	0.53	0.30937	0.69063
band_284	100	0.01	0.00665	0.99335
band_285	100	0.03	0.01657	0.98343
band_286	100	0	0.00173	0.99827
band_287	100	0.3	0.16186	0.83814
band_288	100	0.45	0.25475	0.74525
band_289	100	0.1	0.05211	0.94789
band_290	100	0.92	0.69229	0.30771
band_291	100	0.01	0.00665	0.99335
band_292	100	0	0.00173	0.99827
band_293	100	0	0.00173	0.99827

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรสาคร			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_294	100	0.53	0.30937	0.69063
band_295	100	0.55	0.32371	0.67629
band_296	100	0.23	0.12188	0.87812
band_297	100	0.11	0.05727	0.94273
band_298	100	0.48	0.27474	0.72526
band_299	100	0.55	0.32371	0.67629
band_300	100	0	0.00173	0.99827

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_1	100	0	0.00099	0.99901
band_2	100	0	0.00099	0.99901
band_3	100	0.03	0.01597	0.98403
band_4	100	0	0.00099	0.99901
band_5	100	0	0.00099	0.99901
band_6	100	0.02	0.01094	0.98906
band_7	100	0.13	0.06766	0.93234
band_8	100	0.01	0.00592	0.99408
band_9	100	0.31	0.16873	0.83127
band_10	100	0.12	0.06235	0.93765
band_11	100	0	0.00099	0.99901
band_12	100	0	0.00099	0.99901
band_13	100	0.82	0.56888	0.43112
band_14	100	0.06	0.03116	0.96884
band_15	100	0.02	0.01094	0.98906
band_16	100	0.79	0.53571	0.46429

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_17	100	0.42	0.23708	0.76292
band_18	100	0.08	0.04146	0.95854
band_19	100	0.07	0.0363	0.9637
band_20	100	0.11	0.05707	0.94293
band_21	100	0.33	0.18074	0.81926
band_22	100	0.33	0.18074	0.81926
band_23	100	0.47	0.27026	0.72974
band_24	100	0.32	0.17472	0.82528
band_25	100	0.01	0.00592	0.99408
band_26	100	0.55	0.32673	0.67327
band_27	100	0.3	0.1628	0.8372
band_28	100	0.51	0.29792	0.70208
band_29	100	0.24	0.12803	0.87197
band_30	100	0	0.00099	0.99901
band_31	100	0	0.00099	0.99901
band_32	100	0	0.00099	0.99901
band_33	100	0	0.00099	0.99901
band_34	100	0.03	0.01597	0.98403
band_35	100	0	0.00099	0.99901
band_36	100	0.03	0.01597	0.98403
band_37	100	0.06	0.03116	0.96884
band_38	100	0.15	0.07831	0.92169
band_39	100	0.01	0.00592	0.99408
band_40	100	0.06	0.03116	0.96884
band_41	100	0.02	0.01094	0.98906
band_42	100	0.01	0.00592	0.99408

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_43	100	0.06	0.03116	0.96884
band_44	100	0.19	0.10005	0.89995
band_45	100	0.09	0.04662	0.95338
band_46	100	0.08	0.04146	0.95854
band_47	100	0.04	0.021	0.979
band_48	100	0.2	0.10561	0.89439
band_49	100	0.04	0.021	0.979
band_50	100	0.15	0.07831	0.92169
band_51	100	0.18	0.09459	0.90541
band_52	100	0.31	0.16873	0.83127
band_53	100	0	0.00099	0.99901
band_54	100	0.05	0.02606	0.97394
band_55	100	0.1	0.05185	0.94815
band_56	100	0.19	0.10005	0.89995
band_57	100	0.02	0.01094	0.98906
band_58	100	0.56	0.33413	0.66587
band_59	100	0.01	0.00592	0.99408
band_60	100	0	0.00099	0.99901
band_61	100	0.04	0.021	0.979
band_62	100	0.92	0.70533	0.29467
band_63	100	0.02	0.01094	0.98906
band_64	100	0	0.00099	0.99901
band_65	100	0.65	0.40482	0.59518
band_66	100	0.35	0.19293	0.80707
band_67	100	0.01	0.00592	0.99408
band_68	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สมุทรปราการ N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_69	100	0.23	0.12237	0.87763
band_70	100	0	0.00099	0.99901
band_71	100	0	0.00099	0.99901
band_72	100	0.09	0.04662	0.95338
band_73	100	0.01	0.00592	0.99408
band_74	100	0.12	0.06235	0.93765
band_75	100	0	0.00099	0.99901
band_76	100	0	0.00099	0.99901
band_77	100	0.03	0.01597	0.98403
band_78	100	0.14	0.07295	0.92705
band_79	100	0.81	0.55755	0.44245
band_80	100	0	0.00099	0.99901
band_81	100	0	0.00099	0.99901
band_82	100	0	0.00099	0.99901
band_83	100	0.13	0.06766	0.93234
band_84	100	0.33	0.18074	0.81926
band_85	100	0	0.00099	0.99901
band_86	100	1	0.91111	0.08889
band_87	100	0	0.00099	0.99901
band_88	100	0.89	0.65863	0.34137
band_89	100	0.13	0.06766	0.93234
band_90	100	0.48	0.27707	0.72293
band_91	100	0.18	0.09459	0.90541
band_92	100	0.58	0.34918	0.65082
band_93	100	0	0.00099	0.99901
band_94	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_95	100	0.08	0.04146	0.95854
band_96	100	0.25	0.13372	0.86628
band_97	100	0	0.00099	0.99901
band_98	100	0	0.00099	0.99901
band_99	100	0	0.00099	0.99901
band_100	100	0	0.00099	0.99901
band_101	100	0	0.00099	0.99901
band_102	100	0.01	0.00592	0.99408
band_103	100	0	0.00099	0.99901
band_104	100	0.11	0.05707	0.94293
band_105	100	0.01	0.00592	0.99408
band_106	100	0	0.00099	0.99901
band_107	100	0.11	0.05707	0.94293
band_108	100	0	0.00099	0.99901
band_109	100	0.31	0.16873	0.83127
band_110	100	0.07	0.0363	0.9637
band_111	100	0.32	0.17472	0.82528
band_112	100	0.56	0.33413	0.66587
band_113	100	0.38	0.21155	0.78845
band_114	100	0.48	0.27707	0.72293
band_115	100	0	0.00099	0.99901
band_116	100	0	0.00099	0.99901
band_117	100	0.49	0.28396	0.71604
band_118	100	0.53	0.31219	0.68781
band_119	100	0.01	0.00592	0.99408
band_120	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_121	100	0.14	0.07295	0.92705
band_122	100	0	0.00099	0.99901
band_123	100	0.25	0.13372	0.86628
band_124	100	0	0.00099	0.99901
band_125	100	0.21	0.11113	0.88887
band_126	100	0.44	0.25018	0.74982
band_127	100	0	0.00099	0.99901
band_128	100	0	0.00099	0.99901
band_129	100	0	0.00099	0.99901
band_130	100	0	0.00099	0.99901
band_131	100	0.33	0.18074	0.81926
band_132	100	0	0.00099	0.99901
band_133	100	0	0.00099	0.99901
band_134	100	0	0.00099	0.99901
band_135	100	0	0.00099	0.99901
band_136	100	0	0.00099	0.99901
band_137	100	0	0.00099	0.99901
band_138	100	0	0.00099	0.99901
band_139	100	0	0.00099	0.99901
band_140	100	0	0.00099	0.99901
band_141	100	0	0.00099	0.99901
band_142	100	0	0.00099	0.99901
band_143	100	0.09	0.04662	0.95338
band_144	100	0.06	0.03116	0.96884
band_145	100	0.31	0.16873	0.83127
band_146	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_147	100	0	0.00099	0.99901
band_148	100	0	0.00099	0.99901
band_149	100	0.54	0.31941	0.68059
band_150	100	0	0.00099	0.99901
band_151	100	0.22	0.11673	0.88327
band_152	100	0.31	0.16873	0.83127
band_153	100	0	0.00099	0.99901
band_154	100	0	0.00099	0.99901
band_155	100	0.43	0.2436	0.7564
band_156	100	0.52	0.30501	0.69499
band_157	100	0.9	0.67345	0.32655
band_158	100	0	0.00099	0.99901
band_159	100	0.97	0.80673	0.19327
band_160	100	0.11	0.05707	0.94293
band_161	100	0.03	0.01597	0.98403
band_162	100	0.04	0.021	0.979
band_163	100	0.04	0.021	0.979
band_164	100	0	0.00099	0.99901
band_165	100	0	0.00099	0.99901
band_166	100	0.01	0.00592	0.99408
band_167	100	0.01	0.00592	0.99408
band_168	100	0	0.00099	0.99901
band_169	100	0	0.00099	0.99901
band_170	100	0	0.00099	0.99901
band_171	100	0	0.00099	0.99901
band_172	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_173	100	0	0.00099	0.99901
band_174	100	0.08	0.04146	0.95854
band_175	100	0.01	0.00592	0.99408
band_176	100	0	0.00099	0.99901
band_177	100	0	0.00099	0.99901
band_178	100	0.02	0.01094	0.98906
band_179	100	0.09	0.04662	0.95338
band_180	100	0.08	0.04146	0.95854
band_181	100	0.45	0.25681	0.74319
band_182	100	0	0.00099	0.99901
band_183	100	0	0.00099	0.99901
band_184	100	0	0.00099	0.99901
band_185	100	0.1	0.05185	0.94815
band_186	100	0.51	0.29792	0.70208
band_187	100	0	0.00099	0.99901
band_188	100	0.11	0.05707	0.94293
band_189	100	0.05	0.02606	0.97394
band_190	100	0	0.00099	0.99901
band_191	100	0.71	0.45702	0.54298
band_192	100	0	0.00099	0.99901
band_193	100	0.09	0.04662	0.95338
band_194	100	0.74	0.48512	0.51488
band_195	100	0.31	0.16873	0.83127
band_196	100	0.69	0.43909	0.56091
band_197	100	0	0.00099	0.99901
band_198	100	0.18	0.09459	0.90541

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_199	100	0.8	0.54649	0.45351
band_200	100	0.4	0.2242	0.7758
band_201	100	0.18	0.09459	0.90541
band_202	100	0.27	0.14524	0.85476
band_203	100	0.76	0.50474	0.49526
band_204	100	0	0.00099	0.99901
band_205	100	0.04	0.021	0.979
band_206	100	0	0.00099	0.99901
band_207	100	0	0.00099	0.99901
band_208	100	0	0.00099	0.99901
band_209	100	0	0.00099	0.99901
band_210	100	0.25	0.13372	0.86628
band_211	100	0	0.00099	0.99901
band_212	100	0.22	0.11673	0.88327
band_213	100	0	0.00099	0.99901
band_214	100	0	0.00099	0.99901
band_215	100	0	0.00099	0.99901
band_216	100	0.96	0.78265	0.21735
band_217	100	0	0.00099	0.99901
band_218	100	0.56	0.33413	0.66587
band_219	100	0.03	0.01597	0.98403
band_220	100	0	0.00099	0.99901
band_221	100	0	0.00099	0.99901
band_222	100	0	0.00099	0.99901
band_223	100	0	0.00099	0.99901
band_224	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_225	100	0	0.00099	0.99901
band_226	100	0.49	0.28396	0.71604
band_227	100	0	0.00099	0.99901
band_228	100	0.7	0.44798	0.55202
band_229	100	0.05	0.02606	0.97394
band_230	100	0	0.00099	0.99901
band_231	100	0.01	0.00592	0.99408
band_232	100	0	0.00099	0.99901
band_233	100	0	0.00099	0.99901
band_234	100	0	0.00099	0.99901
band_235	100	0.01	0.00592	0.99408
band_236	100	0.68	0.43034	0.56966
band_237	100	0.34	0.18679	0.81321
band_238	100	0	0.00099	0.99901
band_239	100	0	0.00099	0.99901
band_240	100	0	0.00099	0.99901
band_241	100	0.01	0.00592	0.99408
band_242	100	0.01	0.00592	0.99408
band_243	100	0.02	0.01094	0.98906
band_244	100	0.53	0.31219	0.68781
band_245	100	0.2	0.10561	0.89439
band_246	100	0	0.00099	0.99901
band_247	100	0	0.00099	0.99901
band_248	100	0.28	0.15105	0.84895
band_249	100	0.52	0.30501	0.69499
band_250	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สมุทรปราการ N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_251	100	0.27	0.14524	0.85476
band_252	100	0.19	0.10005	0.89995
band_253	100	0.39	0.21784	0.78216
band_254	100	0.19	0.10005	0.89995
band_255	100	0	0.00099	0.99901
band_256	100	0.28	0.15105	0.84895
band_257	100	0	0.00099	0.99901
band_258	100	0	0.00099	0.99901
band_259	100	0.4	0.2242	0.7758
band_260	100	0	0.00099	0.99901
band_261	100	0.82	0.56888	0.43112
band_262	100	0.75	0.49483	0.50517
band_263	100	0.39	0.21784	0.78216
band_264	100	0	0.00099	0.99901
band_265	100	0.17	0.08911	0.91089
band_266	100	0.39	0.21784	0.78216
band_267	100	0.2	0.10561	0.89439
band_268	100	0.07	0.0363	0.9637
band_269	100	0.33	0.18074	0.81926
band_270	100	0	0.00099	0.99901
band_271	100	0	0.00099	0.99901
band_272	100	0	0.00099	0.99901
band_273	100	0	0.00099	0.99901
band_274	100	0	0.00099	0.99901
band_275	100	0.13	0.06766	0.93234
band_276	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สมุทรปราการ			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_277	100	0	0.00099	0.99901
band_278	100	0.28	0.15105	0.84895
band_279	100	0	0.00099	0.99901
band_280	100	0	0.00099	0.99901
band_281	100	0	0.00099	0.99901
band_282	100	0.17	0.08911	0.91089
band_283	100	0	0.00099	0.99901
band_284	100	0	0.00099	0.99901
band_285	100	0	0.00099	0.99901
band_286	100	0.32	0.17472	0.82528
band_287	100	0	0.00099	0.99901
band_288	100	0.65	0.40482	0.59518
band_289	100	0	0.00099	0.99901
band_290	100	0.78	0.52515	0.47485
band_291	100	0	0.00099	0.99901
band_292	100	0	0.00099	0.99901
band_293	100	0	0.00099	0.99901
band_294	100	0.77	0.51484	0.48516
band_295	100	0	0.00099	0.99901
band_296	100	1	0.91111	0.08889
band_297	100	0	0.00099	0.99901
band_298	100	0.56	0.33413	0.66587
band_299	100	0.98	0.83424	0.16576
band_300	100	0	0.00099	0.99901

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎ์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_1	100	0.02	0.01027	0.98973
band_2	100	0.01	0.00521	0.99479
band_3	100	0.03	0.01533	0.98467
band_4	100	0	0.00022	0.99978
band_5	100	0.08	0.04101	0.95899
band_6	100	0	0.00022	0.99978
band_7	100	0	0.00022	0.99978
band_8	100	0.01	0.00521	0.99479
band_9	100	0.87	0.6381	0.3619
band_10	100	0.01	0.00521	0.99479
band_11	100	0	0.00022	0.99978
band_12	100	0.01	0.00521	0.99479
band_13	100	0.97	0.82336	0.17664
band_14	100	0	0.00022	0.99978
band_15	100	0	0.00022	0.99978
band_16	100	0.2	0.10563	0.89437
band_17	100	0.83	0.58661	0.41339
band_18	100	0.01	0.00521	0.99479
band_19	100	0	0.00022	0.99978
band_20	100	0.02	0.01027	0.98973
band_21	100	0.21	0.11124	0.88876
band_22	100	0.01	0.00521	0.99479
band_23	100	0.5	0.29263	0.70737
band_24	100	0	0.00022	0.99978
band_25	100	0	0.00022	0.99978
band_26	100	0.04	0.02039	0.97961

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_27	100	0.04	0.02039	0.97961
band_28	100	0.92	0.71528	0.28472
band_29	100	0.53	0.31414	0.68586
band_30	100	0	0.00022	0.99978
band_31	100	0	0.00022	0.99978
band_32	100	0.01	0.00521	0.99479
band_33	100	0	0.00022	0.99978
band_34	100	0	0.00022	0.99978
band_35	100	0.01	0.00521	0.99479
band_36	100	0	0.00022	0.99978
band_37	100	0	0.00022	0.99978
band_38	100	0	0.00022	0.99978
band_39	100	0	0.00022	0.99978
band_40	100	0.25	0.134	0.866
band_41	100	0	0.00022	0.99978
band_42	100	0	0.00022	0.99978
band_43	100	0.32	0.17534	0.82466
band_44	100	0	0.00022	0.99978
band_45	100	0	0.00022	0.99978
band_46	100	0.01	0.00521	0.99479
band_47	100	0.01	0.00521	0.99479
band_48	100	0.01	0.00521	0.99479
band_49	100	0.13	0.06739	0.93261
band_50	100	0.26	0.13978	0.86022
band_51	100	0	0.00022	0.99978
band_52	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_53	100	0	0.00022	0.99978
band_54	100	0.14	0.07275	0.92725
band_55	100	0	0.00022	0.99978
band_56	100	0	0.00022	0.99978
band_57	100	0	0.00022	0.99978
band_58	100	0.11	0.05674	0.94326
band_59	100	0	0.00022	0.99978
band_60	100	0	0.00022	0.99978
band_61	100	0.96	0.79712	0.20288
band_62	100	0	0.00022	0.99978
band_63	100	0	0.00022	0.99978
band_64	100	0	0.00022	0.99978
band_65	100	1	0.95496	0.04504
band_66	100	0.08	0.04101	0.95899
band_67	100	0	0.00022	0.99978
band_68	100	0	0.00022	0.99978
band_69	100	0.99	0.89327	0.10673
band_70	100	0	0.00022	0.99978
band_71	100	0	0.00022	0.99978
band_72	100	0	0.00022	0.99978
band_73	100	0.19	0.10008	0.89992
band_74	100	0	0.00022	0.99978
band_75	100	0	0.00022	0.99978
band_76	100	0	0.00022	0.99978
band_77	100	0	0.00022	0.99978
band_78	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_79	100	0.95	0.77388	0.22612
band_80	100	0	0.00022	0.99978
band_81	100	0	0.00022	0.99978
band_82	100	0	0.00022	0.99978
band_83	100	0	0.00022	0.99978
band_84	100	0	0.00022	0.99978
band_85	100	0	0.00022	0.99978
band_86	100	0	0.00022	0.99978
band_87	100	1	0.95496	0.04504
band_88	100	0	0.00022	0.99978
band_89	100	0	0.00022	0.99978
band_90	100	0	0.00022	0.99978
band_91	100	0	0.00022	0.99978
band_92	100	0	0.00022	0.99978
band_93	100	0	0.00022	0.99978
band_94	100	0	0.00022	0.99978
band_95	100	0	0.00022	0.99978
band_96	100	0	0.00022	0.99978
band_97	100	0	0.00022	0.99978
band_98	100	0	0.00022	0.99978
band_99	100	0	0.00022	0.99978
band_100	100	0	0.00022	0.99978
band_101	100	0	0.00022	0.99978
band_102	100	0	0.00022	0.99978
band_103	100	0.01	0.00521	0.99479
band_104	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_105	100	0	0.00022	0.99978
band_106	100	0	0.00022	0.99978
band_107	100	0	0.00022	0.99978
band_108	100	0	0.00022	0.99978
band_109	100	0	0.00022	0.99978
band_110	100	0	0.00022	0.99978
band_111	100	0	0.00022	0.99978
band_112	100	0	0.00022	0.99978
band_113	100	0.08	0.04101	0.95899
band_114	100	0	0.00022	0.99978
band_115	100	0.07	0.03579	0.96421
band_116	100	0	0.00022	0.99978
band_117	100	0.13	0.06739	0.93261
band_118	100	0.01	0.00521	0.99479
band_119	100	0.01	0.00521	0.99479
band_120	100	0.16	0.08359	0.91641
band_121	100	0	0.00022	0.99978
band_122	100	0.41	0.23174	0.76826
band_123	100	0.01	0.00521	0.99479
band_124	100	0.05	0.02552	0.97448
band_125	100	0.01	0.00521	0.99479
band_126	100	0.11	0.05674	0.94326
band_127	100	0	0.00022	0.99978
band_128	100	0	0.00022	0.99978
band_129	100	0	0.00022	0.99978
band_130	100	1	0.95496	0.04504

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_131	100	0	0.00022	0.99978
band_132	100	0.06	0.03065	0.96935
band_133	100	0	0.00022	0.99978
band_134	100	0	0.00022	0.99978
band_135	100	0	0.00022	0.99978
band_136	100	0	0.00022	0.99978
band_137	100	0	0.00022	0.99978
band_138	100	0	0.00022	0.99978
band_139	100	0	0.00022	0.99978
band_140	100	0	0.00022	0.99978
band_141	100	0	0.00022	0.99978
band_142	100	0	0.00022	0.99978
band_143	100	0	0.00022	0.99978
band_144	100	0.88	0.65218	0.34782
band_145	100	0	0.00022	0.99978
band_146	100	0	0.00022	0.99978
band_147	100	0	0.00022	0.99978
band_148	100	0	0.00022	0.99978
band_149	100	0	0.00022	0.99978
band_150	100	0.96	0.79712	0.20288
band_151	100	0	0.00022	0.99978
band_152	100	0	0.00022	0.99978
band_153	100	0	0.00022	0.99978
band_154	100	0	0.00022	0.99978
band_155	100	1	0.95496	0.04504
band_156	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_157	100	0.98	0.85419	0.14581
band_158	100	0	0.00022	0.99978
band_159	100	0.99	0.89327	0.10673
band_160	100	0	0.00022	0.99978
band_161	100	0	0.00022	0.99978
band_162	100	0	0.00022	0.99978
band_163	100	0	0.00022	0.99978
band_164	100	0	0.00022	0.99978
band_165	100	0	0.00022	0.99978
band_166	100	0	0.00022	0.99978
band_167	100	0	0.00022	0.99978
band_168	100	0	0.00022	0.99978
band_169	100	0	0.00022	0.99978
band_170	100	0	0.00022	0.99978
band_171	100	0	0.00022	0.99978
band_172	100	0	0.00022	0.99978
band_173	100	0	0.00022	0.99978
band_174	100	0	0.00022	0.99978
band_175	100	0	0.00022	0.99978
band_176	100	0	0.00022	0.99978
band_177	100	0	0.00022	0.99978
band_178	100	0	0.00022	0.99978
band_179	100	0	0.00022	0.99978
band_180	100	0	0.00022	0.99978
band_181	100	0	0.00022	0.99978
band_182	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_183	100	0	0.00022	0.99978
band_184	100	0	0.00022	0.99978
band_185	100	0	0.00022	0.99978
band_186	100	0	0.00022	0.99978
band_187	100	0	0.00022	0.99978
band_188	100	0	0.00022	0.99978
band_189	100	0	0.00022	0.99978
band_190	100	0	0.00022	0.99978
band_191	100	0	0.00022	0.99978
band_192	100	0	0.00022	0.99978
band_193	100	0	0.00022	0.99978
band_194	100	0	0.00022	0.99978
band_195	100	0	0.00022	0.99978
band_196	100	0.1	0.05146	0.94854
band_197	100	0	0.00022	0.99978
band_198	100	0	0.00022	0.99978
band_199	100	0	0.00022	0.99978
band_200	100	0	0.00022	0.99978
band_201	100	0	0.00022	0.99978
band_202	100	0	0.00022	0.99978
band_203	100	0	0.00022	0.99978
band_204	100	0	0.00022	0.99978
band_205	100	1	0.95496	0.04504
band_206	100	0.02	0.01027	0.98973
band_207	100	0.01	0.00521	0.99479
band_208	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_209	100	0.05	0.02552	0.97448
band_210	100	0.13	0.06739	0.93261
band_211	100	0	0.00022	0.99978
band_212	100	0.08	0.04101	0.95899
band_213	100	0.02	0.01027	0.98973
band_214	100	0	0.00022	0.99978
band_215	100	0.42	0.23826	0.76174
band_216	100	0.43	0.24485	0.75515
band_217	100	0.16	0.08359	0.91641
band_218	100	0.25	0.134	0.866
band_219	100	0.01	0.00521	0.99479
band_220	100	0	0.00022	0.99978
band_221	100	0.02	0.01027	0.98973
band_222	100	0.07	0.03579	0.96421
band_223	100	0.01	0.00521	0.99479
band_224	100	0.15	0.07815	0.92185
band_225	100	0	0.00022	0.99978
band_226	100	0.18	0.09454	0.90546
band_227	100	0.01	0.00521	0.99479
band_228	100	0.73	0.47967	0.52033
band_229	100	0.01	0.00521	0.99479
band_230	100	0	0.00022	0.99978
band_231	100	0	0.00022	0.99978
band_232	100	0	0.00022	0.99978
band_233	100	0	0.00022	0.99978
band_234	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_235	100	0	0.00022	0.99978
band_236	100	0.29	0.15736	0.84264
band_237	100	0.67	0.42499	0.57501
band_238	100	0	0.00022	0.99978
band_239	100	0	0.00022	0.99978
band_240	100	0	0.00022	0.99978
band_241	100	0	0.00022	0.99978
band_242	100	0	0.00022	0.99978
band_243	100	0	0.00022	0.99978
band_244	100	0.23	0.12256	0.87744
band_245	100	0.09	0.0462	0.9538
band_246	100	0	0.00022	0.99978
band_247	100	0	0.00022	0.99978
band_248	100	0.15	0.07815	0.92185
band_249	100	0	0.00022	0.99978
band_250	100	0	0.00022	0.99978
band_251	100	0	0.00022	0.99978
band_252	100	0	0.00022	0.99978
band_253	100	0	0.00022	0.99978
band_254	100	0	0.00022	0.99978
band_255	100	0	0.00022	0.99978
band_256	100	0	0.00022	0.99978
band_257	100	0	0.00022	0.99978
band_258	100	0	0.00022	0.99978
band_259	100	0.02	0.01027	0.98973
band_260	100	0.01	0.00521	0.99479

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_261	100	0.01	0.00521	0.99479
band_262	100	0	0.00022	0.99978
band_263	100	0.09	0.0462	0.9538
band_264	100	0.33	0.1814	0.8186
band_265	100	0	0.00022	0.99978
band_266	100	0	0.00022	0.99978
band_267	100	0	0.00022	0.99978
band_268	100	0.01	0.00521	0.99479
band_269	100	0.99	0.89327	0.10673
band_270	100	0	0.00022	0.99978
band_271	100	0	0.00022	0.99978
band_272	100	0.83	0.58661	0.41339
band_273	100	0	0.00022	0.99978
band_274	100	0	0.00022	0.99978
band_275	100	0.12	0.06205	0.93795
band_276	100	0	0.00022	0.99978
band_277	100	0.18	0.09454	0.90546
band_278	100	0.12	0.06205	0.93795
band_279	100	0	0.00022	0.99978
band_280	100	0.05	0.02552	0.97448
band_281	100	0	0.00022	0.99978
band_282	100	0	0.00022	0.99978
band_283	100	0	0.00022	0.99978
band_284	100	0.1	0.05146	0.94854
band_285	100	0	0.00022	0.99978
band_286	100	0	0.00022	0.99978

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สุราษฎร์ธานี			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_287	100	0.19	0.10008	0.89992
band_288	100	0	0.00022	0.99978
band_289	100	0.9	0.68216	0.31784
band_290	100	0.62	0.38311	0.61689
band_291	100	0.08	0.04101	0.95899
band_292	100	0	0.00022	0.99978
band_293	100	0	0.00022	0.99978
band_294	100	0.29	0.15736	0.84264
band_295	100	0.01	0.00521	0.99479
band_296	100	0.96	0.79712	0.20288
band_297	100	0	0.00022	0.99978
band_298	100	0.97	0.82336	0.17664
band_299	100	0.99	0.89327	0.10673
band_300	100	0	0.00022	0.99978

ประชากร	สตูล			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_1	100	0	0.00016	0.99984
band_2	100	0	0.00016	0.99984
band_3	100	0	0.00016	0.99984
band_4	100	0	0.00016	0.99984
band_5	100	0	0.00016	0.99984
band_6	100	0.01	0.00518	0.99482
band_7	100	0	0.00016	0.99984
band_8	100	0	0.00016	0.99984
band_9	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร	สตูล			
locus	N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_10	100	0	0.00016	0.99984
band_11	100	0.01	0.00518	0.99482
band_12	100	0.18	0.09459	0.90541
band_13	100	0	0.00016	0.99984
band_14	100	0	0.00016	0.99984
band_15	100	0	0.00016	0.99984
band_16	100	0	0.00016	0.99984
band_17	100	0.28	0.15158	0.84842
band_18	100	0.01	0.00518	0.99482
band_19	100	0	0.00016	0.99984
band_20	100	0.01	0.00518	0.99482
band_21	100	0.18	0.09459	0.90541
band_22	100	0	0.00016	0.99984
band_23	100	0.93	0.73504	0.26496
band_24	100	0	0.00016	0.99984
band_25	100	0.86	0.62564	0.37436
band_26	100	0	0.00016	0.99984
band_27	100	0	0.00016	0.99984
band_28	100	1	0.96412	0.03588
band_29	100	0.33	0.18157	0.81843
band_30	100	0	0.00016	0.99984
band_31	100	0	0.00016	0.99984
band_32	100	0	0.00016	0.99984
band_33	100	0	0.00016	0.99984
band_34	100	0	0.00016	0.99984
band_35	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_36	100	0	0.00016	0.99984
band_37	100	0	0.00016	0.99984
band_38	100	0	0.00016	0.99984
band_39	100	0.01	0.00518	0.99482
band_40	100	0	0.00016	0.99984
band_41	100	0	0.00016	0.99984
band_42	100	0	0.00016	0.99984
band_43	100	0	0.00016	0.99984
band_44	100	0.08	0.04101	0.95899
band_45	100	0	0.00016	0.99984
band_46	100	0.03	0.0153	0.9847
band_47	100	0	0.00016	0.99984
band_48	100	0	0.00016	0.99984
band_49	100	0	0.00016	0.99984
band_50	100	0.05	0.02549	0.97451
band_51	100	0	0.00016	0.99984
band_52	100	0	0.00016	0.99984
band_53	100	0.07	0.03582	0.96418
band_54	100	0.14	0.07278	0.92722
band_55	100	0	0.00016	0.99984
band_56	100	0	0.00016	0.99984
band_57	100	0.02	0.01024	0.98976
band_58	100	0.04	0.02036	0.97964
band_59	100	0.08	0.04101	0.95899
band_60	100	0	0.00016	0.99984
band_61	100	0.02	0.01024	0.98976

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_62	100	0.66	0.41688	0.58312
band_63	100	0	0.00016	0.99984
band_64	100	0.38	0.21269	0.78731
band_65	100	1	0.96412	0.03588
band_66	100	0	0.00016	0.99984
band_67	100	0	0.00016	0.99984
band_68	100	0	0.00016	0.99984
band_69	100	1	0.96412	0.03588
band_70	100	0	0.00016	0.99984
band_71	100	0	0.00016	0.99984
band_72	100	0	0.00016	0.99984
band_73	100	0	0.00016	0.99984
band_74	100	0	0.00016	0.99984
band_75	100	0	0.00016	0.99984
band_76	100	0	0.00016	0.99984
band_77	100	0	0.00016	0.99984
band_78	100	0	0.00016	0.99984
band_79	100	1	0.96412	0.03588
band_80	100	0	0.00016	0.99984
band_81	100	0	0.00016	0.99984
band_82	100	0	0.00016	0.99984
band_83	100	0	0.00016	0.99984
band_84	100	0	0.00016	0.99984
band_85	100	0	0.00016	0.99984
band_86	100	1	0.96412	0.03588
band_87	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_88	100	1	0.96412	0.03588
band_89	100	0	0.00016	0.99984
band_90	100	0	0.00016	0.99984
band_91	100	0	0.00016	0.99984
band_92	100	0	0.00016	0.99984
band_93	100	0	0.00016	0.99984
band_94	100	0	0.00016	0.99984
band_95	100	0	0.00016	0.99984
band_96	100	0	0.00016	0.99984
band_97	100	0	0.00016	0.99984
band_98	100	0	0.00016	0.99984
band_99	100	0	0.00016	0.99984
band_100	100	0	0.00016	0.99984
band_101	100	0	0.00016	0.99984
band_102	100	0	0.00016	0.99984
band_103	100	0	0.00016	0.99984
band_104	100	0	0.00016	0.99984
band_105	100	0	0.00016	0.99984
band_106	100	0	0.00016	0.99984
band_107	100	0	0.00016	0.99984
band_108	100	0	0.00016	0.99984
band_109	100	0	0.00016	0.99984
band_110	100	0	0.00016	0.99984
band_111	100	0	0.00016	0.99984
band_112	100	0	0.00016	0.99984
band_113	100	0.09	0.04623	0.95377

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_114	100	0.44	0.25175	0.74825
band_115	100	0	0.00016	0.99984
band_116	100	0	0.00016	0.99984
band_117	100	0	0.00016	0.99984
band_118	100	0.12	0.06205	0.93795
band_119	100	0.09	0.04623	0.95377
band_120	100	0	0.00016	0.99984
band_121	100	0	0.00016	0.99984
band_122	100	0.13	0.06742	0.93258
band_123	100	0.71	0.46143	0.53857
band_124	100	0	0.00016	0.99984
band_125	100	0.07	0.03582	0.96418
band_126	100	0	0.00016	0.99984
band_127	100	0.01	0.00518	0.99482
band_128	100	0.07	0.03582	0.96418
band_129	100	0	0.00016	0.99984
band_130	100	0.51	0.30005	0.69995
band_131	100	0.63	0.39173	0.60827
band_132	100	0	0.00016	0.99984
band_133	100	0.21	0.11129	0.88871
band_134	100	0	0.00016	0.99984
band_135	100	0	0.00016	0.99984
band_136	100	0	0.00016	0.99984
band_137	100	0	0.00016	0.99984
band_138	100	0	0.00016	0.99984
band_139	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_140	100	0	0.00016	0.99984
band_141	100	0	0.00016	0.99984
band_142	100	0.24	0.12833	0.87167
band_143	100	0	0.00016	0.99984
band_144	100	0	0.00016	0.99984
band_145	100	0	0.00016	0.99984
band_146	100	0	0.00016	0.99984
band_147	100	0	0.00016	0.99984
band_148	100	0	0.00016	0.99984
band_149	100	0.59	0.3597	0.6403
band_150	100	0	0.00016	0.99984
band_151	100	0.7	0.45225	0.54775
band_152	100	0	0.00016	0.99984
band_153	100	0.19	0.10012	0.89988
band_154	100	0	0.00016	0.99984
band_155	100	1	0.96412	0.03588
band_156	100	0	0.00016	0.99984
band_157	100	1	0.96412	0.03588
band_158	100	0	0.00016	0.99984
band_159	100	1	0.96412	0.03588
band_160	100	1	0.96412	0.03588
band_161	100	0	0.00016	0.99984
band_162	100	0	0.00016	0.99984
band_163	100	0.27	0.14571	0.85429
band_164	100	0	0.00016	0.99984
band_165	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_140	100	0	0.00016	0.99984
band_167	100	0	0.00016	0.99984
band_168	100	0	0.00016	0.99984
band_169	100	0	0.00016	0.99984
band_170	100	0	0.00016	0.99984
band_171	100	0	0.00016	0.99984
band_172	100	0	0.00016	0.99984
band_173	100	0	0.00016	0.99984
band_174	100	0	0.00016	0.99984
band_175	100	0	0.00016	0.99984
band_176	100	0	0.00016	0.99984
band_177	100	0	0.00016	0.99984
band_178	100	0.04	0.02036	0.97964
band_179	100	0.01	0.00518	0.99482
band_180	100	0	0.00016	0.99984
band_181	100	0	0.00016	0.99984
band_182	100	0.15	0.07817	0.92183
band_183	100	0	0.00016	0.99984
band_184	100	0.01	0.00518	0.99482
band_185	100	0.1	0.05146	0.94854
band_186	100	0.18	0.09459	0.90541
band_187	100	0.02	0.01024	0.98976
band_188	100	0.05	0.02549	0.97451
band_189	100	0	0.00016	0.99984
band_190	100	0.02	0.01024	0.98976
band_191	100	0.68	0.43429	0.56571

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_192	100	0	0.00016	0.99984
band_193	100	0	0.00016	0.99984
band_194	100	0.01	0.00518	0.99482
band_195	100	0.83	0.58754	0.41246
band_196	100	0	0.00016	0.99984
band_197	100	0	0.00016	0.99984
band_198	100	0.01	0.00518	0.99482
band_199	100	0.8	0.55266	0.44734
band_200	100	0	0.00016	0.99984
band_201	100	0	0.00016	0.99984
band_202	100	0	0.00016	0.99984
band_203	100	0	0.00016	0.99984
band_204	100	0	0.00016	0.99984
band_205	100	0.32	0.1755	0.8245
band_206	100	0	0.00016	0.99984
band_207	100	0	0.00016	0.99984
band_208	100	0	0.00016	0.99984
band_209	100	0	0.00016	0.99984
band_210	100	0	0.00016	0.99984
band_211	100	0	0.00016	0.99984
band_212	100	0.13	0.06742	0.93258
band_213	100	0.99	0.89767	0.10233
band_214	100	0.01	0.00518	0.99482
band_215	100	0.81	0.56398	0.43602
band_216	100	0	0.00016	0.99984
band_217	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_218	100	0	0.00016	0.99984
band_219	100	0	0.00016	0.99984
band_220	100	0	0.00016	0.99984
band_221	100	0.12	0.06205	0.93795
band_222	100	0	0.00016	0.99984
band_223	100	0	0.00016	0.99984
band_224	100	0	0.00016	0.99984
band_225	100	0	0.00016	0.99984
band_226	100	0.01	0.00518	0.99482
band_227	100	0.94	0.75461	0.24539
band_228	100	0	0.00016	0.99984
band_229	100	0	0.00016	0.99984
band_230	100	0	0.00016	0.99984
band_231	100	0	0.00016	0.99984
band_232	100	0	0.00016	0.99984
band_233	100	0	0.00016	0.99984
band_234	100	0	0.00016	0.99984
band_235	100	0.01	0.00518	0.99482
band_236	100	0.99	0.89767	0.10233
band_237	100	0	0.00016	0.99984
band_238	100	0	0.00016	0.99984
band_239	100	0	0.00016	0.99984
band_240	100	0	0.00016	0.99984
band_241	100	0	0.00016	0.99984
band_242	100	0	0.00016	0.99984
band_243	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_244	100	0	0.00016	0.99984
band_245	100	0	0.00016	0.99984
band_246	100	0	0.00016	0.99984
band_247	100	0	0.00016	0.99984
band_248	100	0	0.00016	0.99984
band_249	100	0	0.00016	0.99984
band_250	100	0	0.00016	0.99984
band_251	100	0	0.00016	0.99984
band_252	100	0	0.00016	0.99984
band_253	100	0	0.00016	0.99984
band_254	100	0	0.00016	0.99984
band_255	100	0	0.00016	0.99984
band_256	100	0	0.00016	0.99984
band_257	100	0	0.00016	0.99984
band_258	100	0	0.00016	0.99984
band_259	100	0	0.00016	0.99984
band_260	100	0.03	0.0153	0.9847
band_261	100	0	0.00016	0.99984
band_262	100	0	0.00016	0.99984
band_263	100	0	0.00016	0.99984
band_264	100	0.09	0.04623	0.95377
band_265	100	0	0.00016	0.99984
band_266	100	0	0.00016	0.99984
band_267	100	0.01	0.00518	0.99482
band_268	100	0.98	0.85738	0.14262
band_269	100	0.01	0.00518	0.99482

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_270	100	0.99	0.89767	0.10233
band_271	100	0	0.00016	0.99984
band_272	100	1	0.96412	0.03588
band_273	100	0	0.00016	0.99984
band_274	100	0	0.00016	0.99984
band_275	100	0	0.00016	0.99984
band_276	100	0	0.00016	0.99984
band_277	100	0	0.00016	0.99984
band_278	100	0	0.00016	0.99984
band_279	100	0	0.00016	0.99984
band_280	100	0	0.00016	0.99984
band_281	100	0	0.00016	0.99984
band_282	100	0	0.00016	0.99984
band_283	100	0	0.00016	0.99984
band_284	100	0.03	0.0153	0.9847
band_285	100	0.04	0.02036	0.97964
band_286	100	0	0.00016	0.99984
band_287	100	0.02	0.01024	0.98976
band_288	100	0	0.00016	0.99984
band_289	100	0.32	0.1755	0.8245
band_290	100	0.82	0.5756	0.4244
band_291	100	0	0.00016	0.99984
band_292	100	0	0.00016	0.99984
band_293	100	0.45	0.25845	0.74155
band_294	100	0	0.00016	0.99984
band_295	100	0	0.00016	0.99984

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

ประชากร locus	สตูล N	freq_frag	freq_+all	freq_-all
band_296	100	1	0.96412	0.03588
band_297	100	0.01	0.00518	0.99482
band_298	100	1	0.96412	0.03588
band_299	100	0	0.00016	0.99984
band_300	100	0.99	0.89767	0.10233

หมายเหตุ: N= sample size

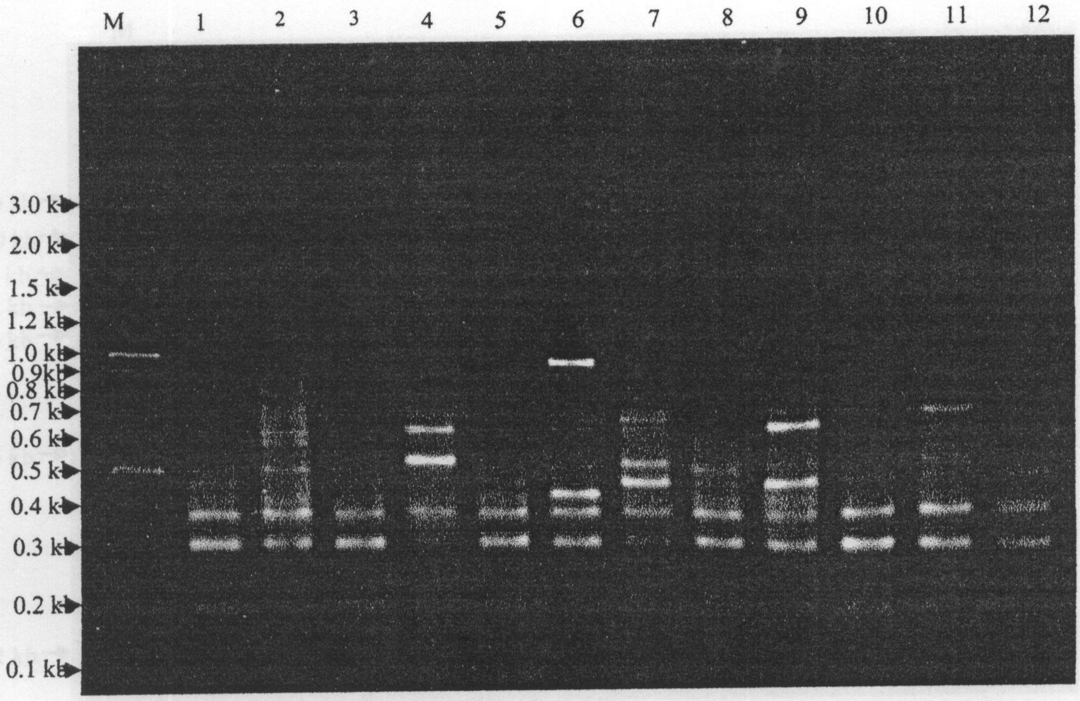
Freq_frag = Frequency of each ISSR fragment or marker in the total sample (all populations put together) The following statistics are given for each population and each locus

Freq_+all = Estimated frequency of the marker allele

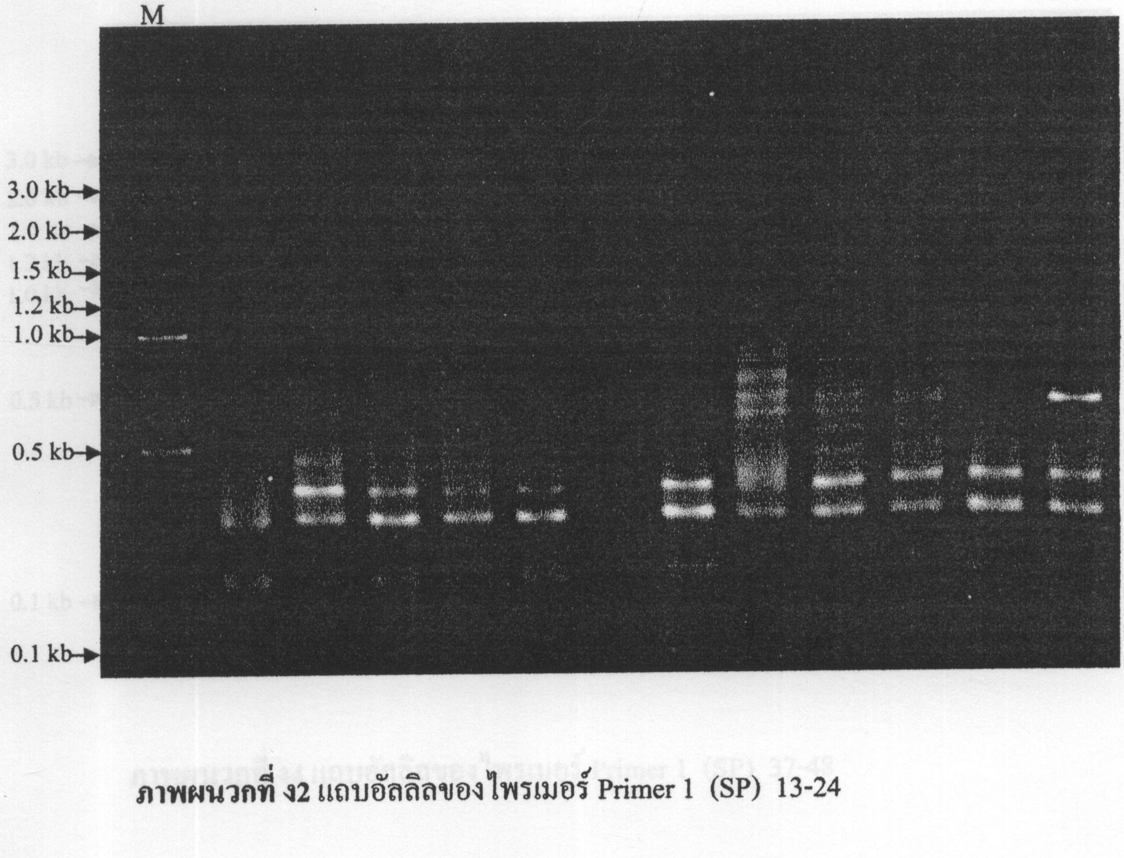
Freq_-all = Estimated frequency of the null allele

ภาคผนวก ง

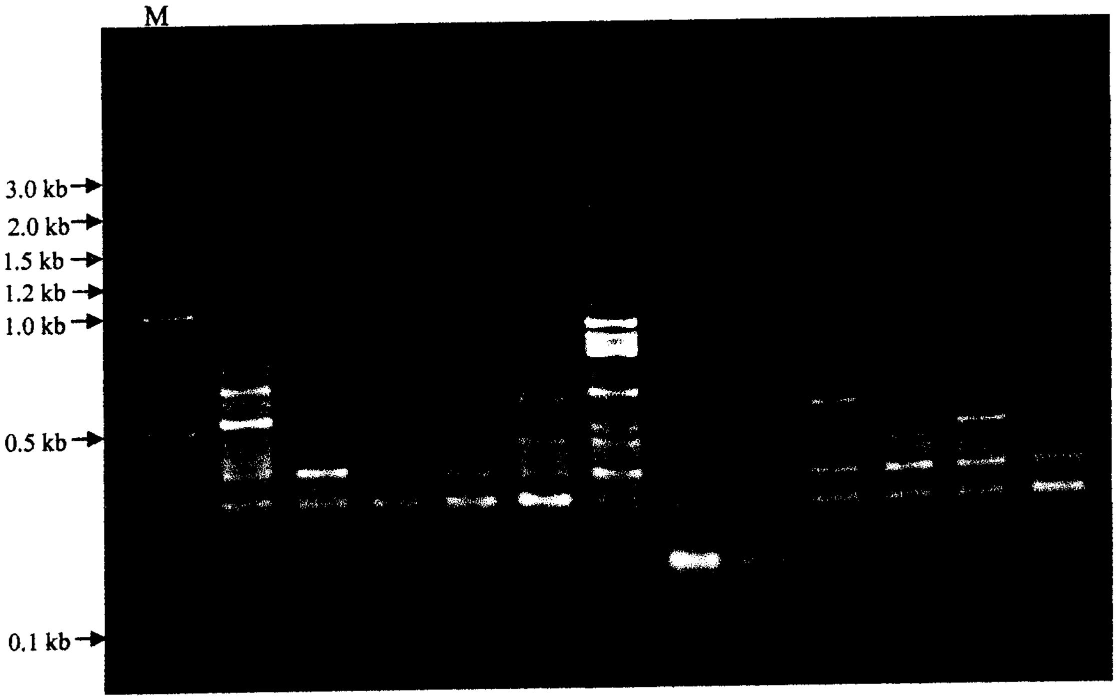
ภาพตัวอย่างแถบอัลลิลไพรเมอร์จากการทดลอง



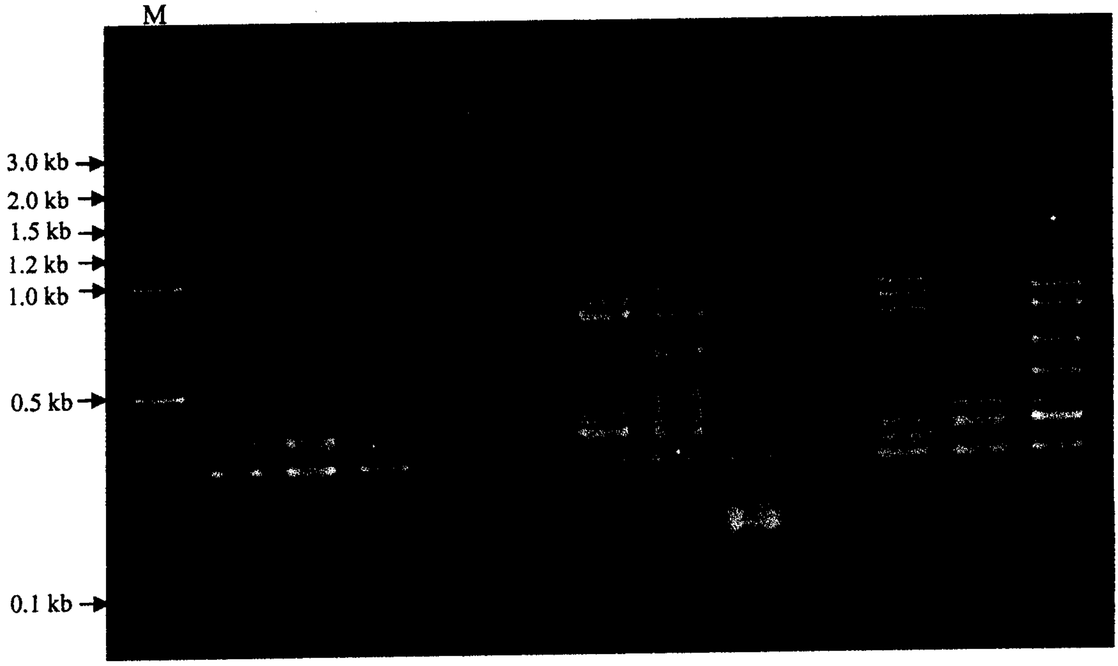
ภาพผนวกที่ ง1 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 1-12



ภาพผนวกที่ ง2 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 13-24

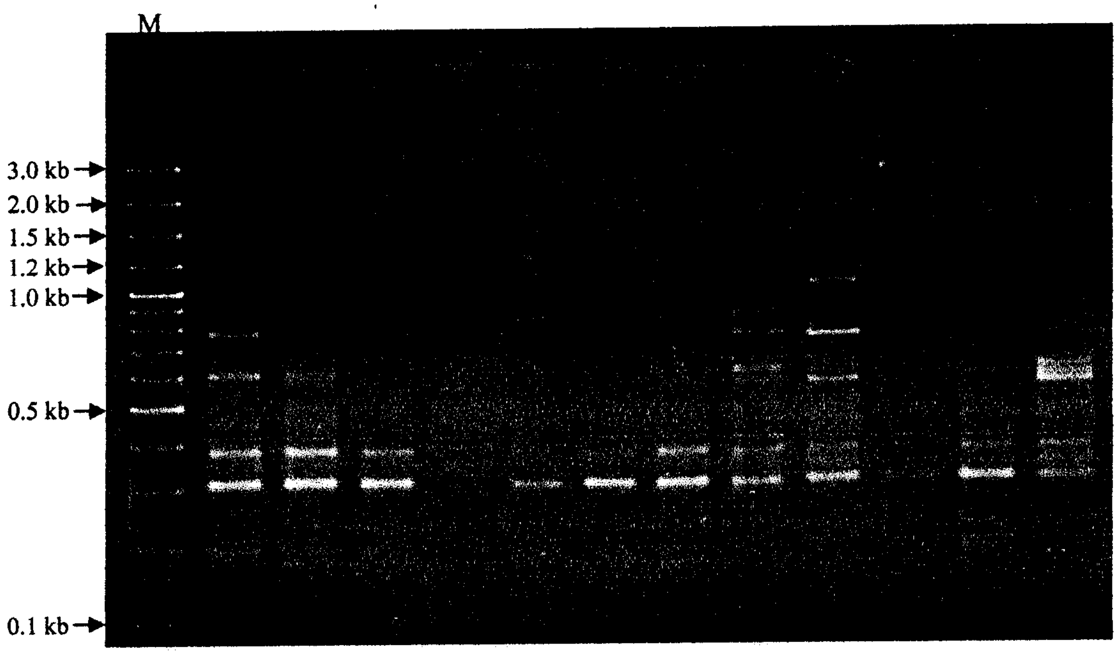


ภาพผนวกที่ ง3 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 25-36

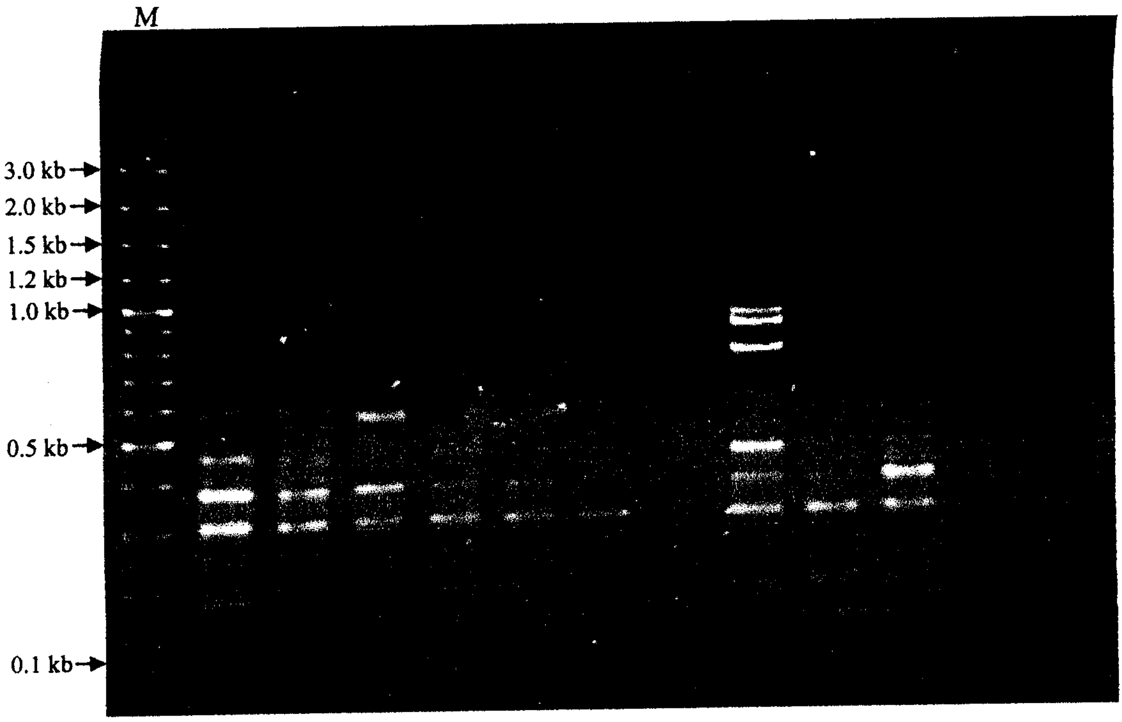


ภาพผนวกที่ ง4 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 37-48

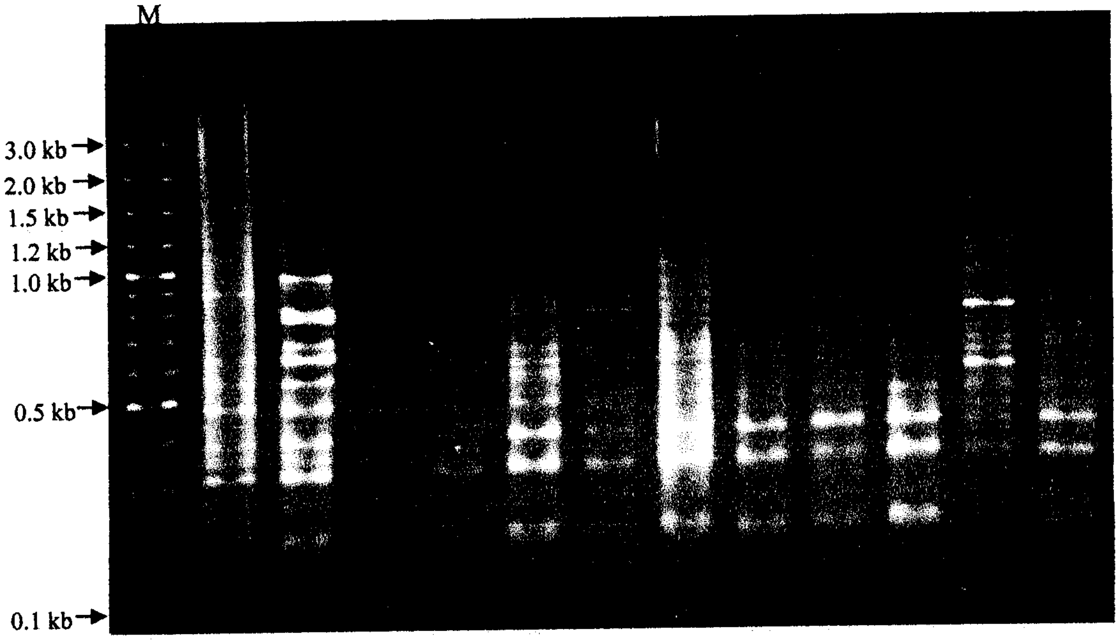
ภาพผนวกที่ ง5 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 49-60



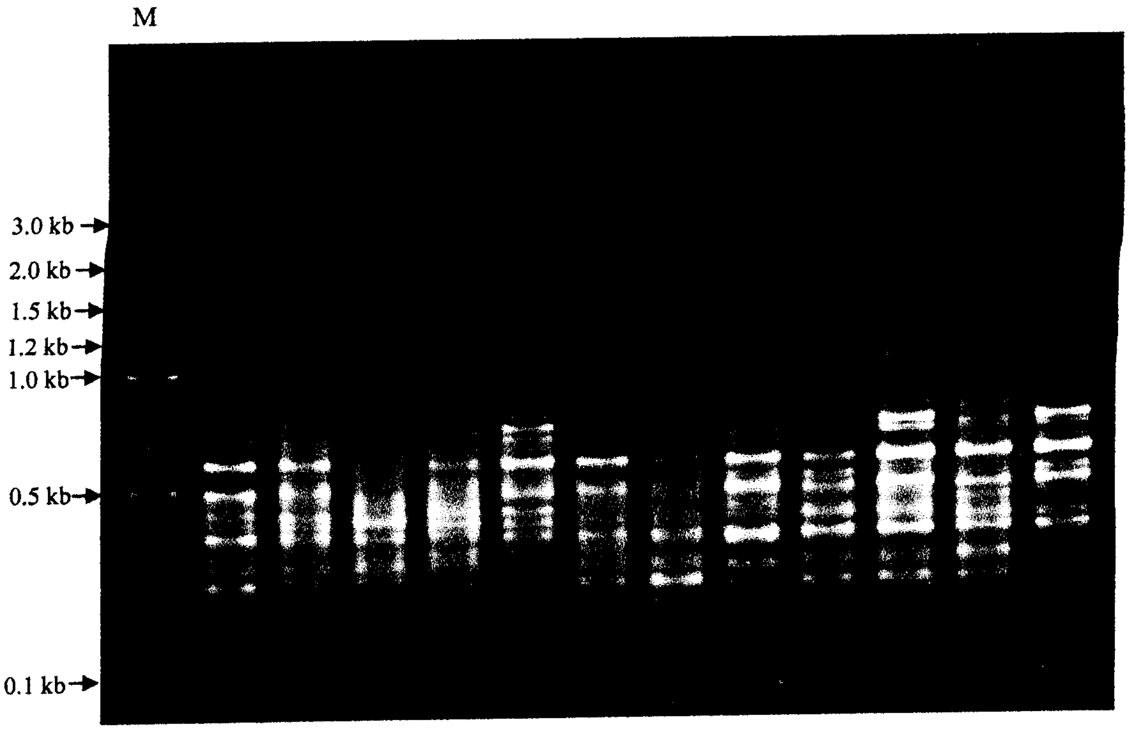
ภาพผนวกที่ ง6 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 61-72



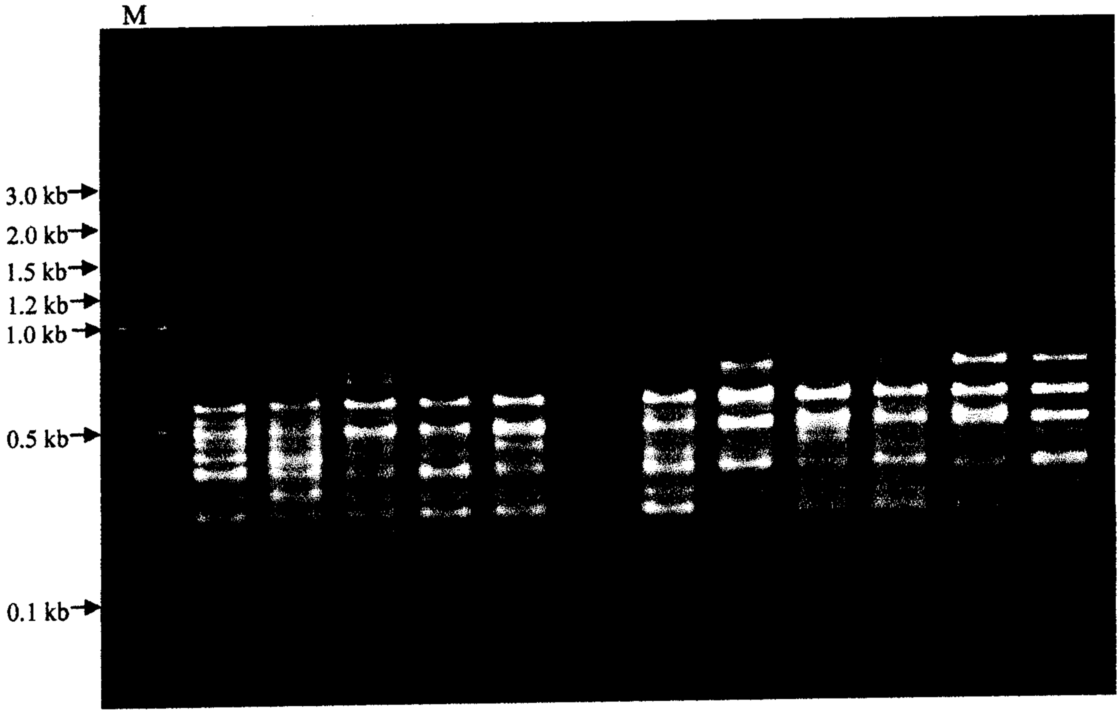
ภาพผนวกที่ ง7 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 73-84



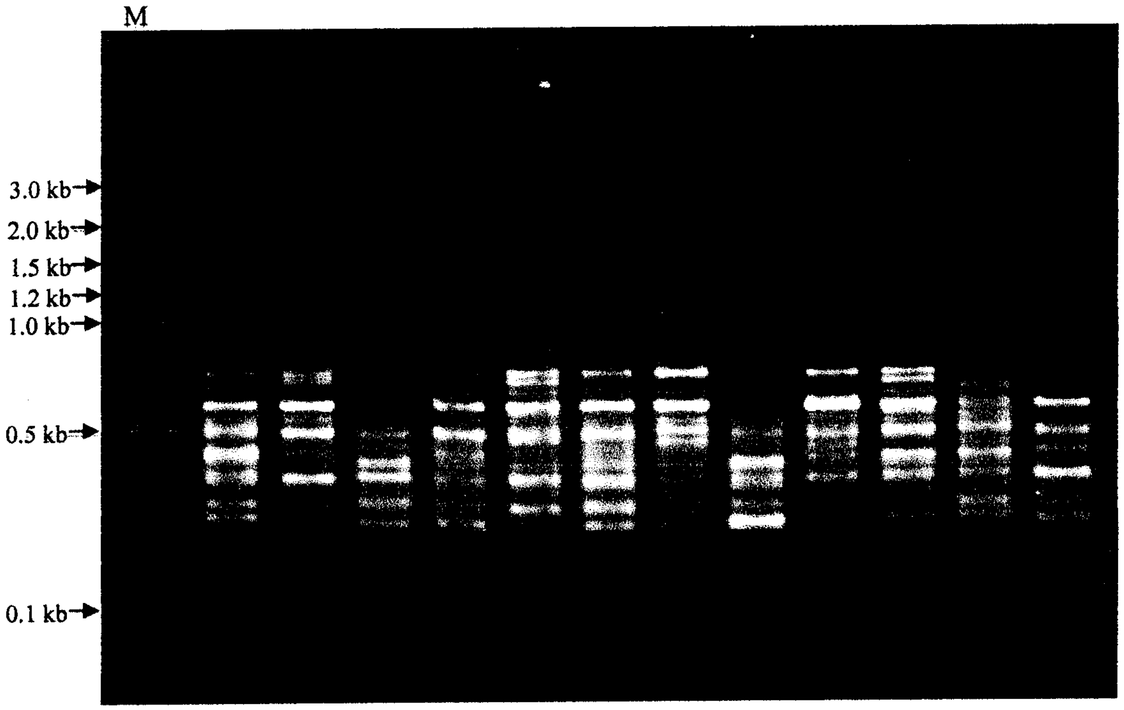
ภาพผนวกที่ ง8 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer 1 (SP) 85-96



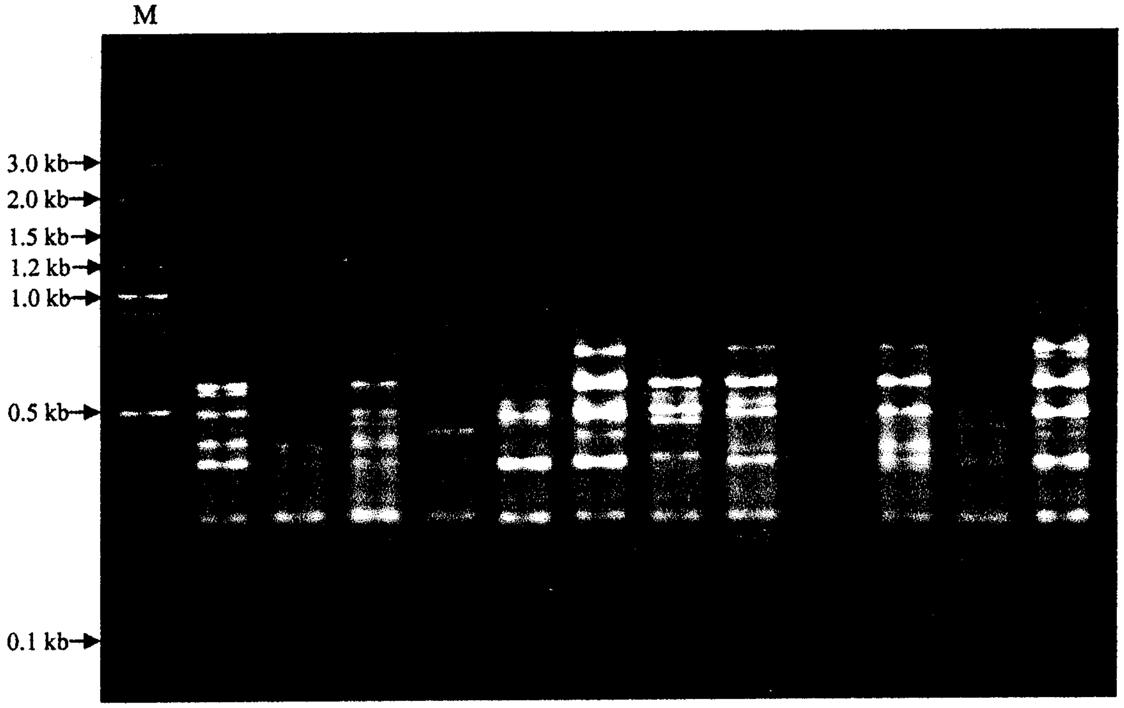
ภาพผนวกที่ ง9 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 1-12



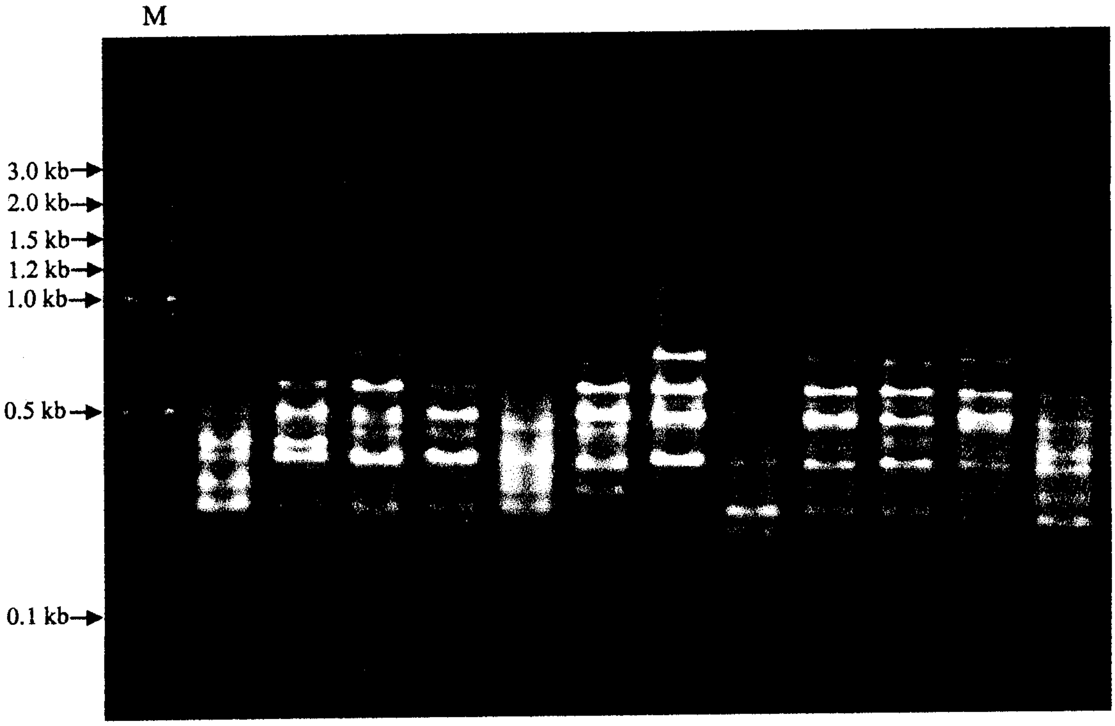
ภาพผนวกที่ ง10 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 13-24



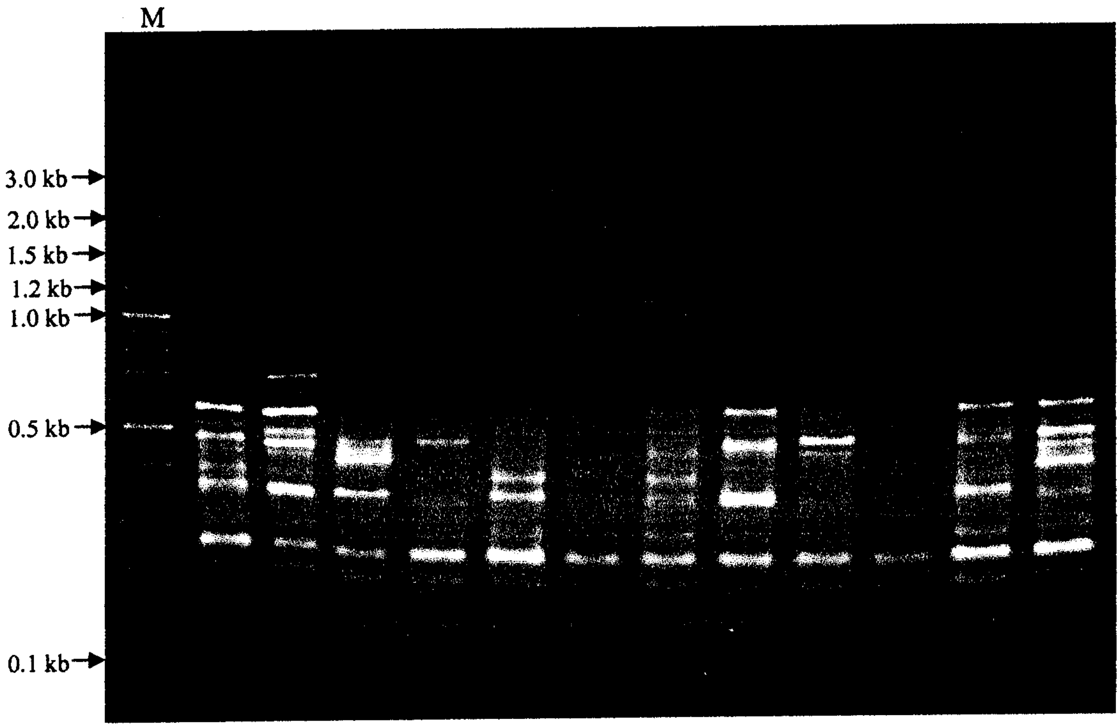
ภาพผนวกที่ ง11 แถบอัลลีลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 25-36



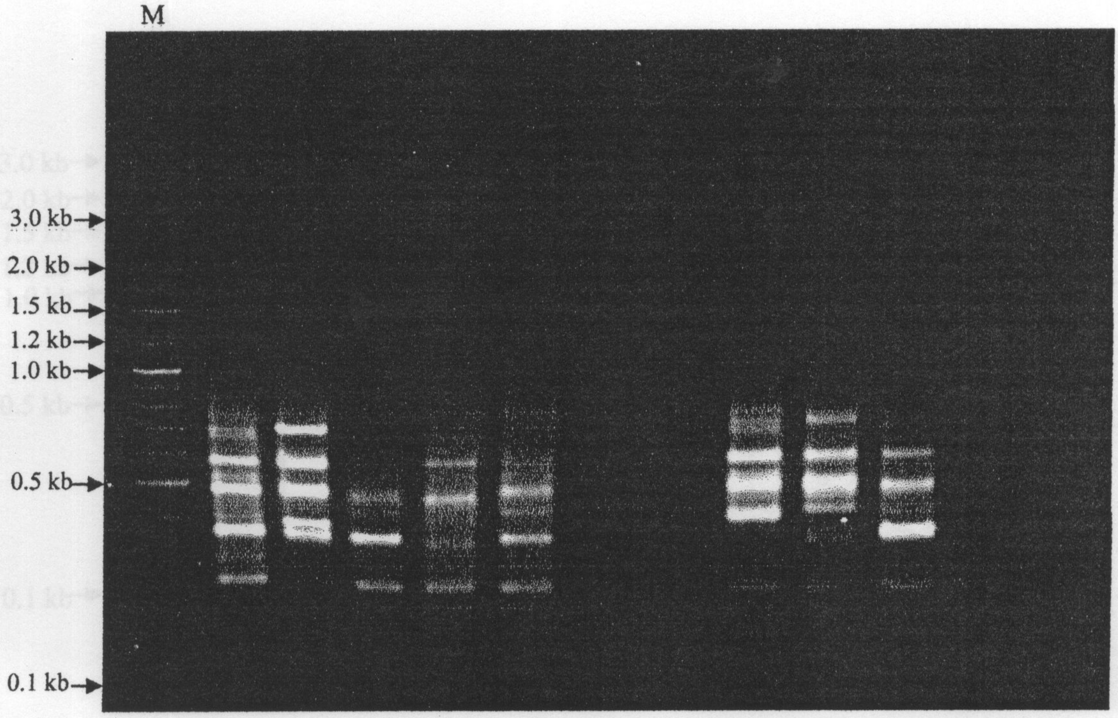
ภาพผนวกที่ ง12 แถบอัลลีลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 37-48



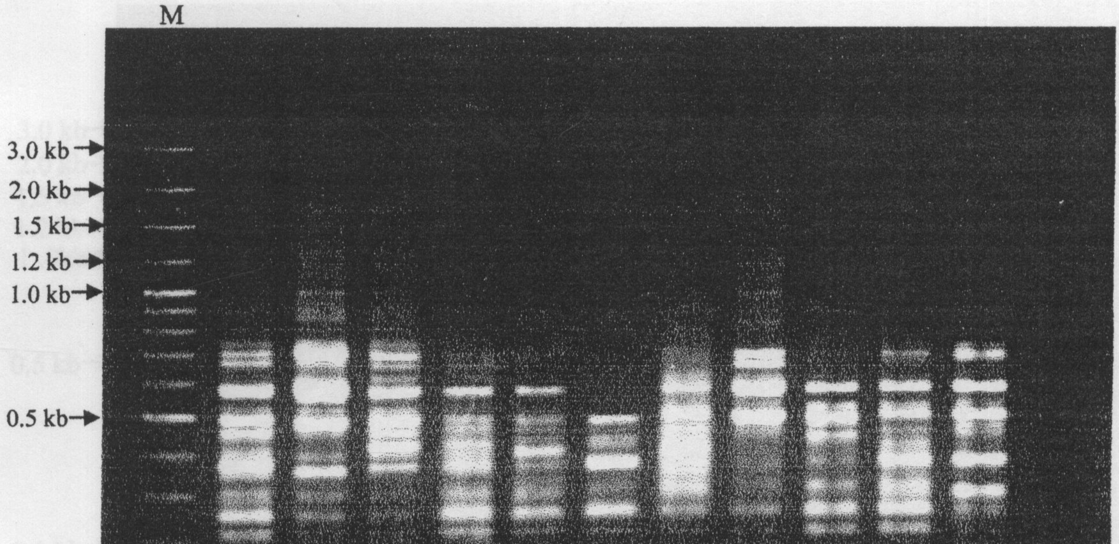
ภาพผนวกที่ ง13 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 49-60



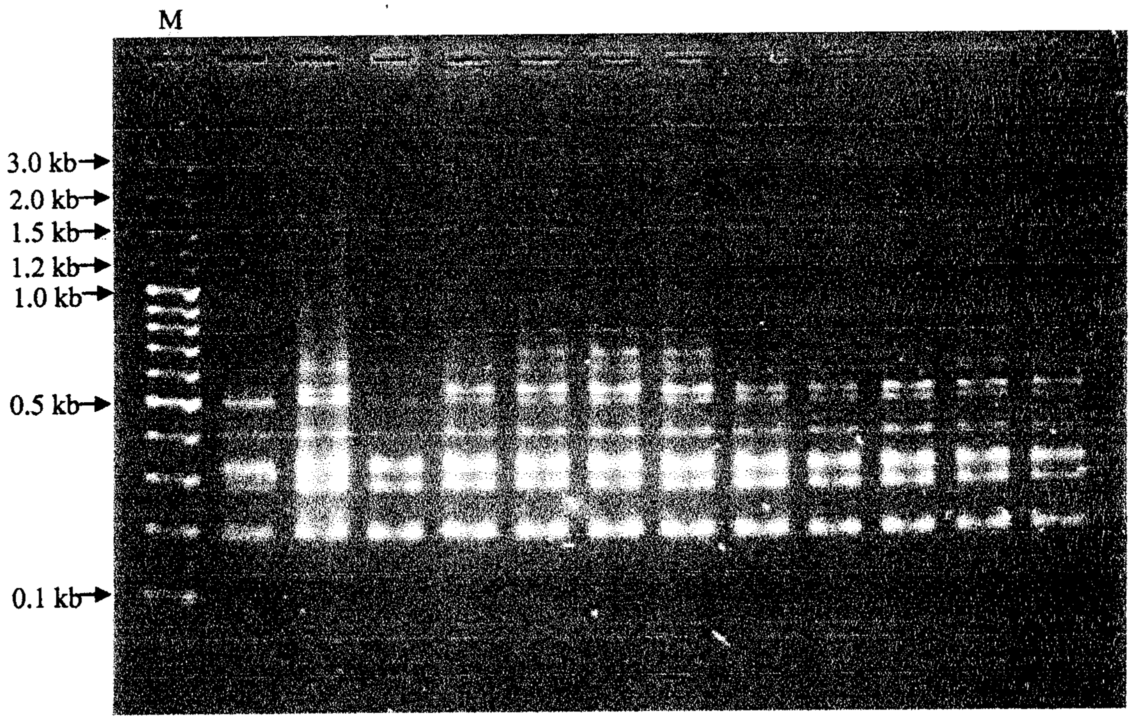
ภาพผนวกที่ ง14 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 61-72



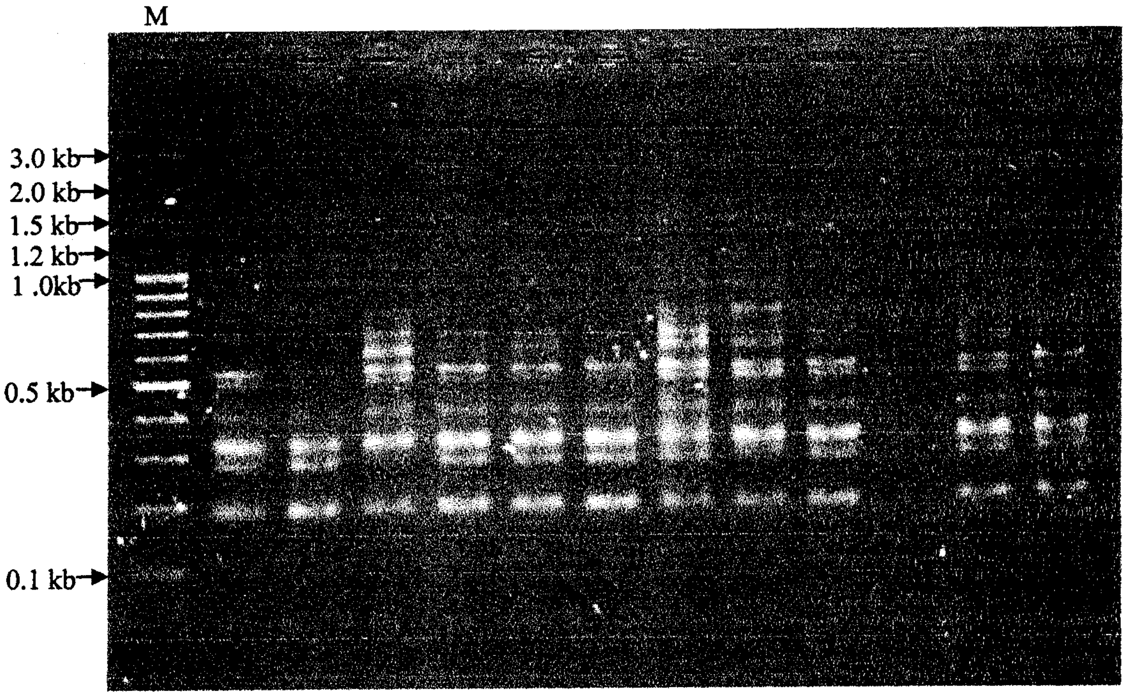
ภาพผนวกที่ ง15 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 73-84



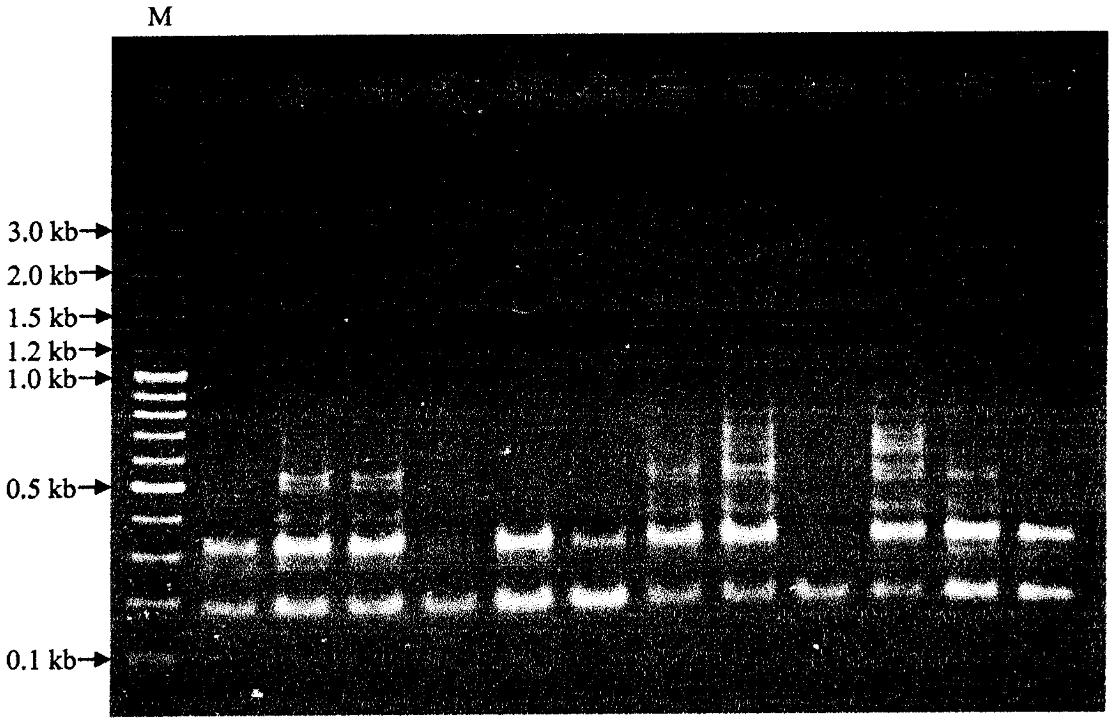
ภาพผนวกที่ ง16 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 2 (SP) 85-96



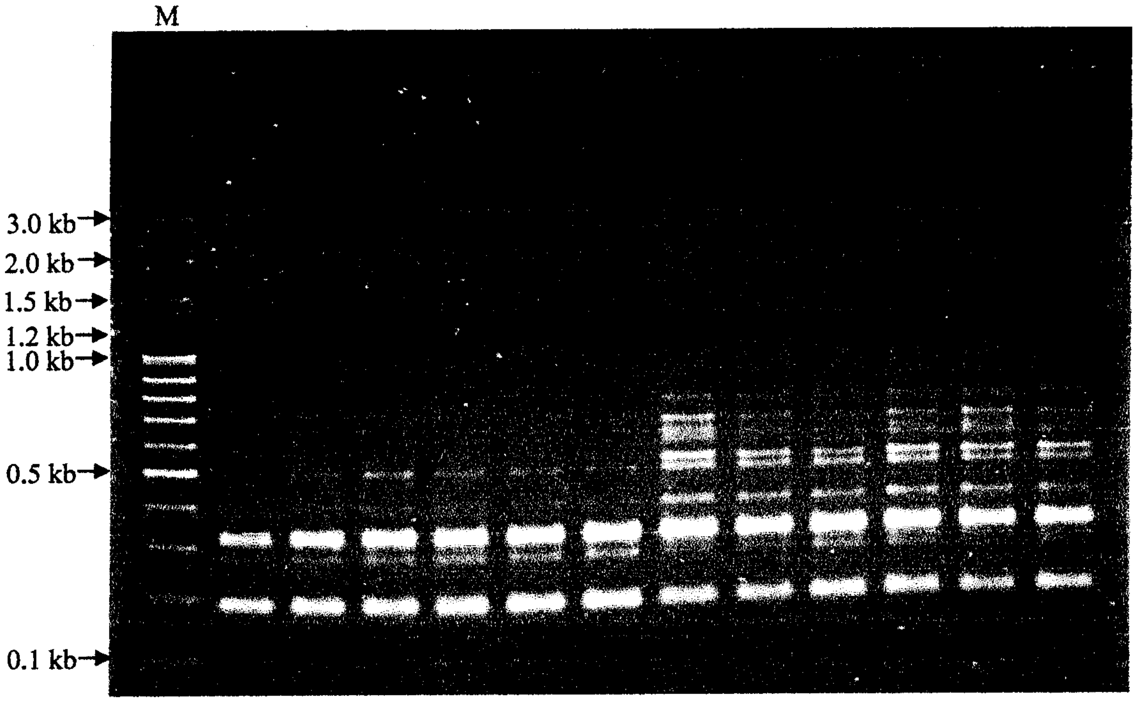
ภาพผนวกที่ ง17 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 1-12



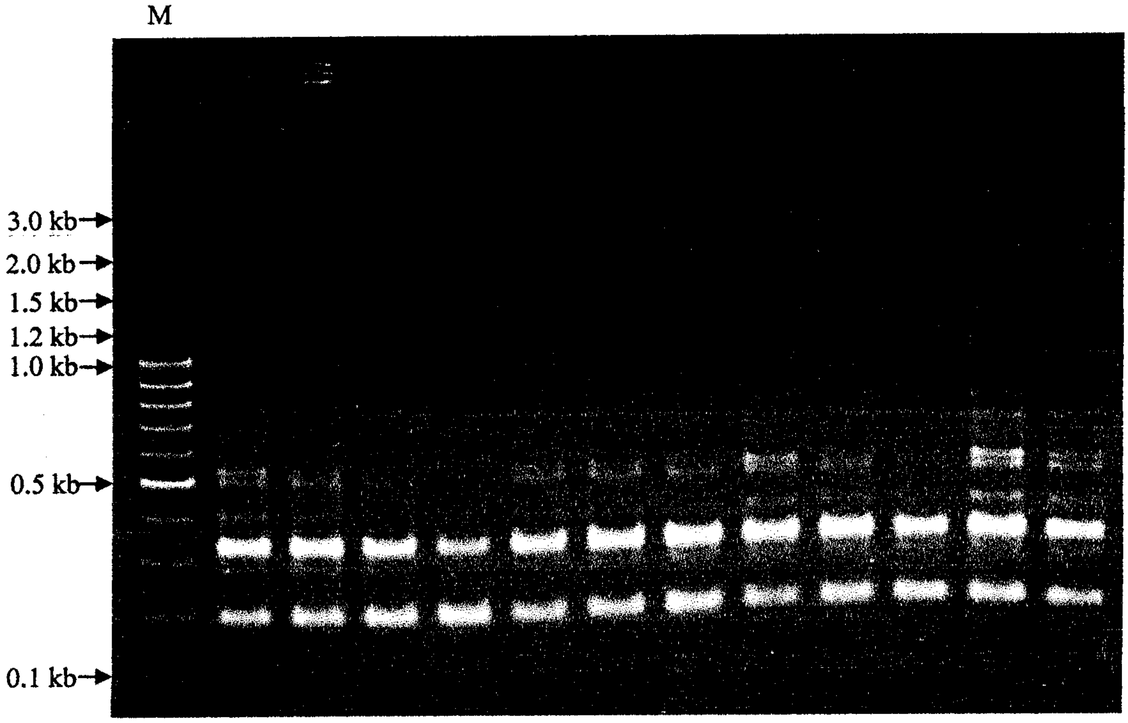
ภาพผนวกที่ ง18 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 13-24



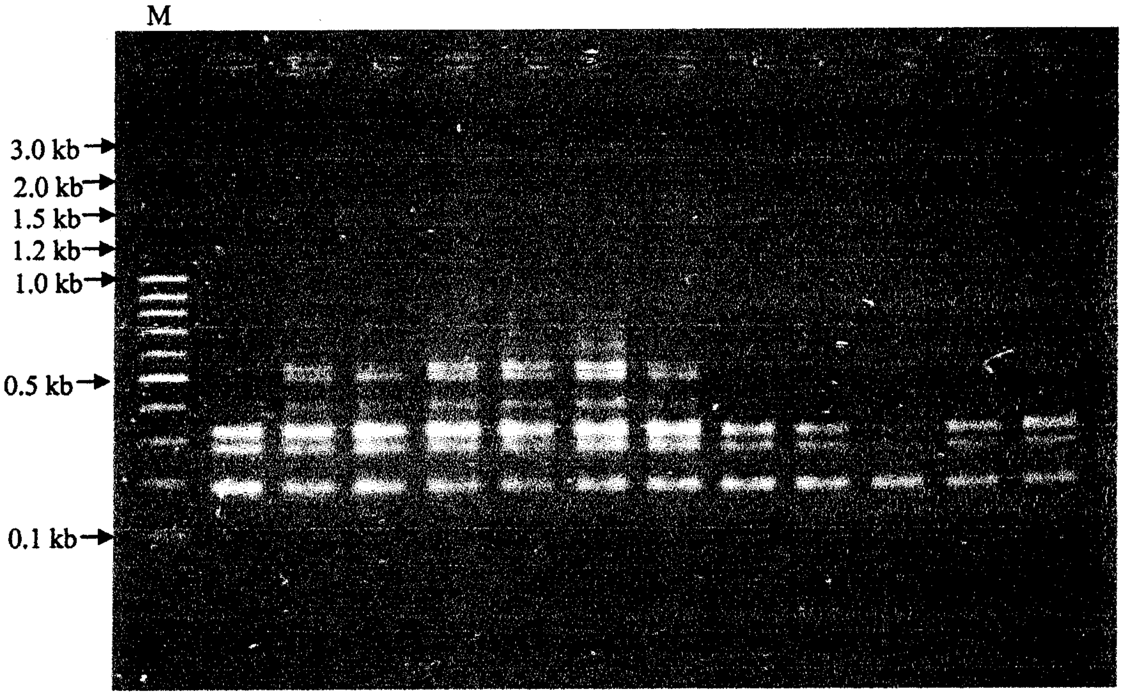
ภาพผนวกที่ ง19 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 25-36



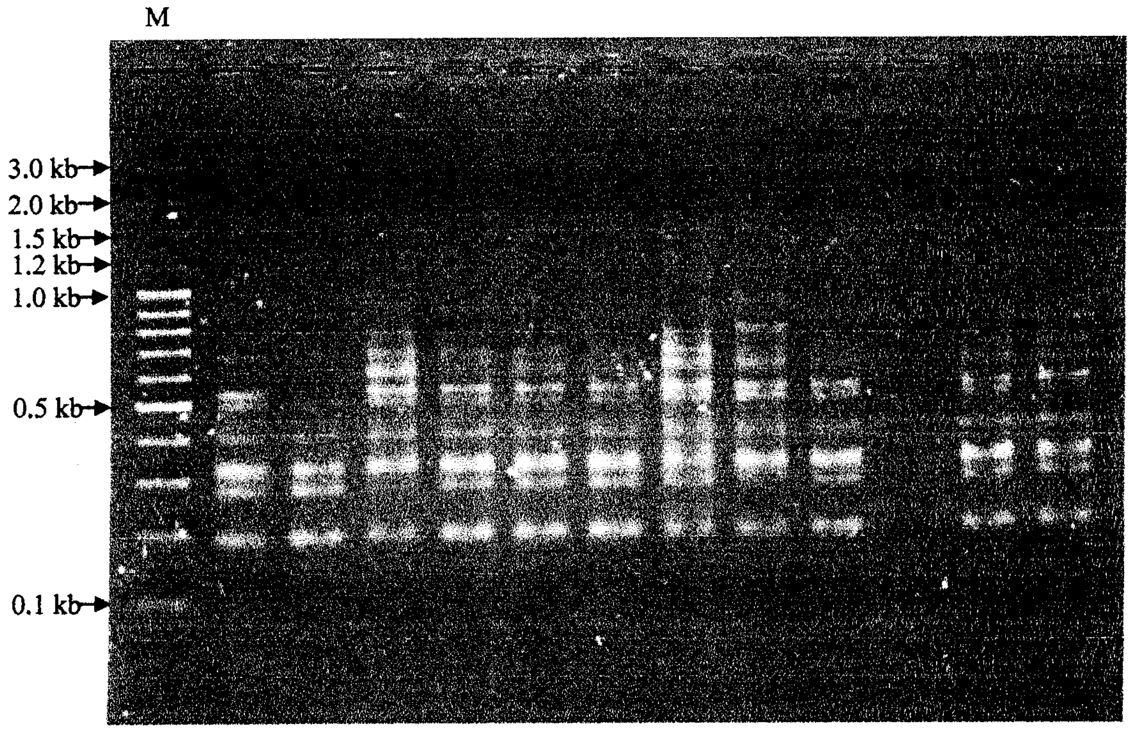
ภาพผนวกที่ ง20 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 37-48



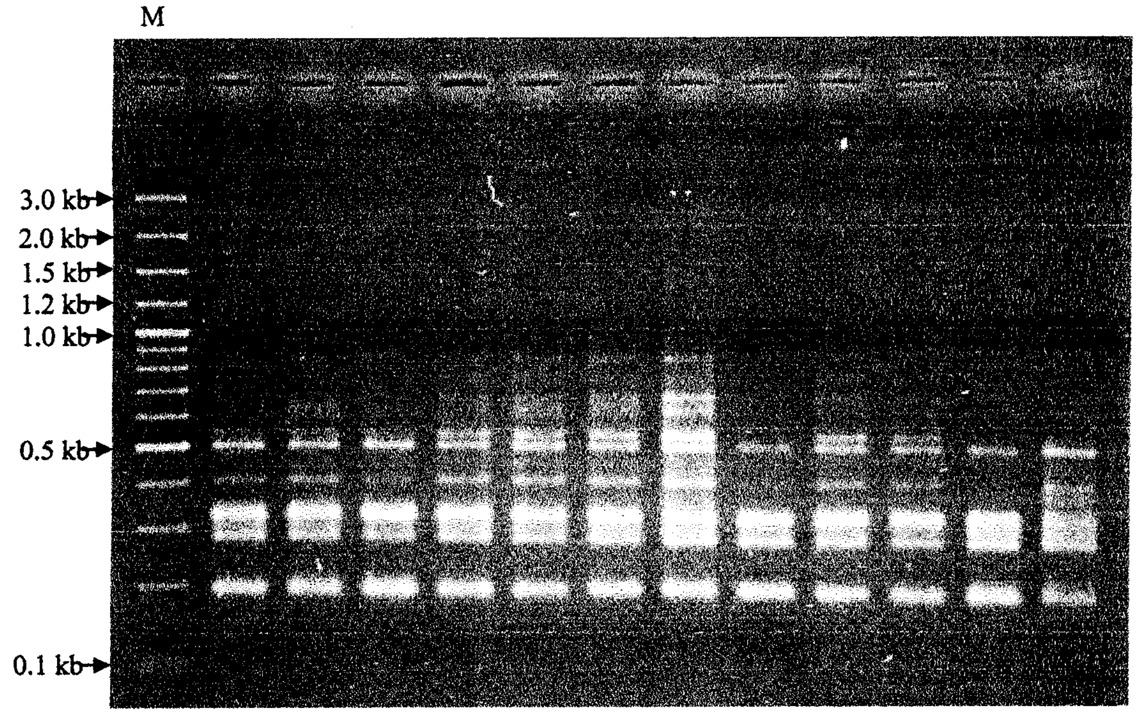
ภาพผนวกที่ ง21 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 49-60



ภาพผนวกที่ ง22 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 61-72



ภาพผนวกที่ ง23 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 73-84



ภาพผนวกที่ ง24 แถบอัลลิลของไพรเมอร์ Primer ISSR 9 (SP) 84-96

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายปฏิพล คลรุ้ง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	6 กันยายน 2525
สถานที่เกิด	อำเภอ ขุขันธ์ จังหวัด ศรีสะเกษ
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต(วิทยาศาสตร์ทางทะเล) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขต ตรัง
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ประวัติการทำงาน	สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีพ.ศ. 2548-2549
ผลงานเผยแพร่ทางวิชาการ	Donrung, P., Tunkijjanukij, S., Jarayabhand, P., and S. Poompuang. 2009. Genetic Diversity of Surf Clam (*Paphia undulata*) Stocks from the Gulf of Thailand and the Andaman Sea Coast, P. 239. *In* **The 10th International Symposium on Genetics in Aquaculture 22-26 June 2009 Bangkok Convention Centre & Sofitel Centara Grand Hotel Bangkok, Thailand.**
	ปฏิพล คลรุ้ง สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ สุภาวดี พุ่มพวง และ เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์. 2552. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยลาย (*Paphia undulata*) บริเวณแหล่งประมงในอ่าวไทยตอนบนและตอนล่าง, 1-6. **การประชุมเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 14 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วันที่ 10-11 กันยายน 2552.**
	-

ทุนการศึกษาที่ได้รับ	โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีการศึกษาประมาณ 2551