

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตำแหน่งตัวอย่างกุ้งในกลุ่ม Penaeidae จากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเปรียบเทียบกับยีนตำแหน่งเดียวกันในกุ้งกลุ่ม Penaeidae จากฐานข้อมูล GenBank ยืนยันได้ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ศึกษานี้เป็นบางส่วนของยีน 16S rRNA และ COI บนไมโทคอนเดรียของกุ้งกลุ่ม Penaeidae โดยเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์กับตัวอย่างของฐานข้อมูล GenBank มีค่าอยู่ในช่วง 90-100% และ 83-100% สำหรับยีน 16S rRNA และ COI ตามลำดับ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และ COI ตัวอย่างกุ้งในกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก

สายนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA และ COI ที่วิเคราะห์ในการศึกษานี้ มีขนาด 477 และ 749 คู่เบส ตามลำดับ ทั้งสองยีนมีความสามารถในการตรวจสอบความแตกต่างระหว่างชนิดกุ้ง โดยแสดงรูปแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ (Haplotype) ที่แตกต่างกันภายในชนิด 1-5 รูปแบบ (ตารางที่ 4-1 และ 4-2) ดังนั้นแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรม บ่งชี้ว่าสายนิวคลีโอไทด์ของยีน COI มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่ายีน 16S rRNA (ตารางที่ 4-1) เมื่อนำรวมสายนิวคลีโอไทด์จากภาคตะวันออกและฐานข้อมูล GenBank ทั้ง 2 ยีนยังคงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับชุดข้อมูลเดิม ยกเว้นเปอร์เซ็นต์ Informative Sites ที่มีค่าลดลง

สายนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ขนาด 477 คู่เบส มีตำแหน่งที่พบนิวคลีโอไทด์หลายรูปแบบ Polymorphic Sites จำนวน 136 ตำแหน่ง ซึ่งเป็น Informative Sites 131 ตำแหน่ง คิดเป็น 96.3% ของจำนวนตำแหน่งที่หลายรูปแบบ และสายนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน COI ขนาด 749 คู่เบส มีจำนวน Polymorphic Sites 267 ตำแหน่ง ซึ่งเป็น Informative Sites 257 ตำแหน่ง คิดเป็น 96.3% ของจำนวนตำแหน่งที่พบสายนิวคลีโอไทด์หลายรูปแบบ

ตารางที่ 4-1 ดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA และ COI ในตัวอย่างกุ้งกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และฐานข้อมูล Genbank (* เทียบกับจำนวนนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด ** เทียบกับจำนวนนิวคลีโอไทด์ที่พบหลากหลายรูปแบบ)

	16S rRNA		COI	
	ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออก+Genbank	ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออก+Genbank
จำนวนตัวอย่าง	42	63	36	44
จำนวนชนิด	9	23	7	14
จำนวนสกุล	5	10	3	7
ขนาด (คู่เบส)	477	429	749	741
ความหลากหลายนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide Diversity)	0.102	0.115	0.147	0.159
% จำนวนนิวคลีโอไทด์ (Base Composition: T, C, A, G)	31.2, 21.4, 34.6, 12.9	32.6 21.1 34.7 11.6	33.7 20.8 28.9 16.6	33.9 20.7 28.7 16.8
จำนวน Polymorphic Sites	136	174	267	292
% Polymorphic Sites	28.5*	40.6*	35.6*	39.4*
จำนวน Informative Sites	131	137	257	267
% Informative Sites	96.3**	78.7**	96.3**	91.4**
จำนวนรูปแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ (No. of Haplotype)	17	36	27	35
ความหลากหลายรูปแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ (Haplotype Diversity)	0.937	0.970	0.975	0.983

ตารางที่ 4-2 จำนวนรูปแบบ (Haplotype) ของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA และ COI ตามชนิดกุ้งครอบครัว Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และฐานข้อมูล Genbank

ตัวอย่าง	ยีน		16S rRNA		COI	
	ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคตะวันออก+GenBank	ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ+GenBank	
<i>Fenneropenaeus merguensis</i>	2		3	-	1	
<i>Fenneropenaeus indicus</i>	-		1	-	1	
<i>Fenneropenaeus chinensis</i>	-		1	-	-	
<i>Fenneropenaeus penicillatus</i>	-		-	-	1	
<i>Penaeus monodon</i>	3		4	3	3	
<i>Litopenaeus vannamei</i>	1		1	-	1	
<i>Litopenaeus setiferus</i>	-		1	-	-	
<i>Litopenaeus schmitti</i>	-		1	-	-	
<i>Litopenaeus stylirostris</i>	-		1	-	-	
<i>Parapenaeopsis hungerfordi</i>	2		3	4	4	
<i>Parapenaeopsis hardwickii</i>	-		1	-	1	
<i>Metapenaeus moyebi</i>	2		2	5	5	
<i>Metapenaeus affinis</i>	2		2	5	5	

ตารางที่ 4-2 (ต่อ)					
ตัวอย่าง	ปี	16S rRNA		COI	
		ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออก+GenBank	ภาคตะวันออก	ภาคตะวันออก+GenBank
<i>Metapenaeus ensis</i>	1		1	4	4
<i>Metapenaeus tenuipes</i>	2		2	4	4
<i>Metapenaeus brevicornis</i>	2		2	2	2
<i>Metapenaeus joyneri</i>	-		1	-	-
<i>Masupenaeus japonicus</i>	-		2	-	1
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	-		1	-	-
<i>Farfantepenaeus subtilis</i>	-		1	-	-
<i>Melicerus laticulatus</i>	-		1	-	-
<i>Melicerus longistylus</i>	-		1	-	-
<i>Metapenaeopsis barbata</i>	-		1	-	-
<i>Metapenaeopsis lamellata</i>	-		1	-	-
<i>Trachypenaeus curvirostris</i>	-		1	-	1
รวม	17		37	27	35

ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ตัวอย่างกึ่งในกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก

ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่าง (Pairwise Genetic Distance, GTR) (ตารางที่ 4-3 - 4-4) มีค่า 0.002-0.182 และ 0.001-0.266 เมื่อคำนวณจากยีน 16S rRNA และ COI ในการเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างคู่เดียวกันยีน COI แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่สูงกว่ายีน 16S rRNA

ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ภายในชนิดที่คำนวณจากยีน 16S rRNA (ตารางที่ 4-3) อยู่ในช่วง 0.002 (*Metapenaeus moyebi*, *M. brevicornis* และ *Parapenaeopsis hungerfordi*) ถึง 0.024 (*Penaeus monodon*) โดยระยะห่างทางพันธุกรรมภายในสกุล *Metapenaeus* มีค่าอยู่ในช่วง 0.018 (*M. tenuipes* - *M. brevicornis*) ถึง 0.121 (*M. moyebi* - *M. affinis*) และระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างสกุลมีค่าอยู่ในช่วง 0.065 (*Fenneropenaeus merguensis* - *P. monodon*) ถึง 0.182 (*F. merguensis* - *M. brevicornis*)

ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมภายในชนิดที่คำนวณจากยีน COI (ตารางที่ 4-4) มีค่าอยู่ในช่วง 0.001 (*Metapenaeus moyebi*, *M. tenuipes*, *M. ensis* และ *Penaeus monodon*) ถึง 0.011 (*M. ensis* และ *P. monodon*) โดยระยะห่างทางพันธุกรรมภายในสกุล *Metapenaeus* มีค่าอยู่ในช่วง 0.122 (*M. tenuipes* - *M. brevicornis*) ถึง 0.206 (*M. moyebi* - *M. affinis*) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่สกุลอยู่ในช่วง 0.201 ถึง 0.266 (*Metapenaeus brevicornis* + *M. tenuipes* - *Parapenaeopsis hungerfordi*)

ตารางที่ 4-3 ระยะห่างทางพันธุกรรม (GTR Genetic Distance) ของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. <i>F. merguensis</i> (1)																	
2. <i>F. merguensis</i> (2)	0.004																
3. <i>P. monodon</i> (1)	0.065	0.067															
4. <i>P. monodon</i> (3)	0.067	0.069	0.012														
5. <i>P. monodon</i> (2)	0.065	0.067	0.012	0.024													
6. <i>L. vannamei</i>	0.102	0.104	0.106	0.109	0.106												
7. <i>M. tenuipes</i> (1)	0.171	0.173	0.165	0.168	0.165	0.171											
8. <i>M. tenuipes</i> (2)	0.176	0.178	0.170	0.173	0.170	0.176	0.004										
9. <i>M. brevicornis</i> (1)	0.178	0.180	0.172	0.174	0.171	0.177	0.018	0.023									
10. <i>M. brevicornis</i> (2)	0.180	0.182	0.174	0.177	0.174	0.180	0.020	0.025	0.002								
11. <i>M. affinis</i> (1)	0.177	0.180	0.166	0.166	0.174	0.180	0.046	0.050	0.053	0.055							
12. <i>M. affinis</i> (2)	0.180	0.182	0.166	0.166	0.174	0.180	0.048	0.053	0.055	0.057	0.004						
13. <i>M. ensis</i>	0.179	0.182	0.169	0.168	0.177	0.167	0.048	0.052	0.044	0.046	0.043	0.048					
14. <i>M. moyebi</i> (1)	0.158	0.160	0.157	0.157	0.150	0.161	0.109	0.114	0.109	0.112	0.116	0.119	0.102				
15. <i>M. moyebi</i> (2)	0.160	0.162	0.160	0.160	0.152	0.158	0.111	0.116	0.112	0.114	0.119	0.121	0.104	0.002			
16. <i>P. hungerfordi</i> (1)	0.166	0.171	0.165	0.165	0.168	0.169	0.131	0.135	0.134	0.136	0.131	0.134	0.131	0.150	0.150		
17. <i>P. hungerfordi</i> (2)	0.168	0.173	0.168	0.168	0.171	0.172	0.133	0.133	0.136	0.139	0.134	0.136	0.133	0.153	0.153	0.002	

ตารางที่ 4-4 ระยะห่างทางพันธุกรรม (GTR Genetic Distance) ของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน COI กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบ
ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. <i>P. hungerfordi</i> (1)														
2. <i>P. hungerfordi</i> (2)	0.004													
3. <i>P. hungerfordi</i> (3)	0.004	0.002												
4. <i>P. hungerfordi</i> (4)	0.005	0.004	0.004											
5. <i>M. moyebi</i> (1)	0.212	0.210	0.210	0.207										
6. <i>M. moyebi</i> (2)	0.214	0.212	0.212	0.208	0.001									
7. <i>M. moyebi</i> (3)	0.212	0.210	0.211	0.207	0.003	0.004								
8. <i>M. moyebi</i> (4)	0.208	0.207	0.207	0.203	0.003	0.004	0.003							
9. <i>M. moyebi</i> (5)	0.212	0.210	0.210	0.207	0.003	0.004	0.005	0.005						
10. <i>M. tenuipes</i> (1)	0.205	0.205	0.205	0.203	0.160	0.162	0.162	0.158	0.160					
11. <i>M. tenuipes</i> (2)	0.203	0.203	0.203	0.202	0.159	0.160	0.160	0.157	0.159	0.001				
12. <i>M. tenuipes</i> (3)	0.201	0.201	0.201	0.203	0.158	0.160	0.160	0.157	0.158	0.003	0.001			
13. <i>M. tenuipes</i> (4)	0.205	0.205	0.205	0.203	0.157	0.158	0.158	0.155	0.157	0.003	0.001	0.003		
14. <i>M. brevicornis</i> (1)	0.209	0.208	0.208	0.209	0.177	0.179	0.180	0.176	0.177	0.129	0.128	0.126	0.130	

ตารางที่ 4-4 (ต่อ)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
15. <i>M. brevicornis</i> (2)	0.202	0.201	0.201	0.203	0.170	0.172	0.174	0.170	0.170	0.125	0.123	0.122	0.125	0.005
16. <i>M. affinis</i> (1)	0.216	0.216	0.217	0.215	0.169	0.171	0.171	0.169	0.169	0.189	0.189	0.191	0.191	0.197
17. <i>M. affinis</i> (2)	0.216	0.216	0.216	0.215	0.167	0.169	0.169	0.167	0.167	0.182	0.182	0.184	0.184	0.190
18. <i>M. affinis</i> (3)	0.213	0.213	0.213	0.211	0.164	0.166	0.166	0.164	0.164	0.182	0.182	0.184	0.184	0.193
19. <i>M. affinis</i> (4)	0.213	0.213	0.213	0.211	0.162	0.164	0.164	0.162	0.162	0.184	0.184	0.186	0.186	0.192
20. <i>M. affinis</i> (5)	0.214	0.214	0.215	0.213	0.166	0.167	0.167	0.165	0.166	0.184	0.184	0.186	0.186	0.191
21. <i>M. ensis</i> (1)	0.229	0.232	0.232	0.226	0.200	0.202	0.202	0.200	0.200	0.180	0.182	0.184	0.180	0.197
22. <i>M. ensis</i> (2)	0.228	0.229	0.229	0.223	0.201	0.203	0.203	0.201	0.201	0.178	0.180	0.182	0.178	0.194
23. <i>M. ensis</i> (3)	0.227	0.224	0.224	0.218	0.192	0.193	0.193	0.191	0.192	0.171	0.172	0.174	0.170	0.202
24. <i>M. ensis</i> (4)	0.237	0.240	0.240	0.234	0.204	0.202	0.206	0.204	0.204	0.187	0.189	0.191	0.187	0.204
25. <i>P. monodon</i> (1)	0.235	0.241	0.241	0.237	0.231	0.229	0.232	0.230	0.231	0.226	0.224	0.224	0.226	0.213
26. <i>P. monodon</i> (3)	0.237	0.243	0.243	0.239	0.228	0.226	0.228	0.226	0.228	0.222	0.221	0.221	0.223	0.214
27. <i>P. monodon</i> (2)	0.237	0.243	0.243	0.239	0.230	0.228	0.230	0.228	0.230	0.229	0.228	0.228	0.230	0.213

ตารางที่ 4-4 (ต่อ)

	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
16. <i>M. affinis</i> (1)	0.195												
17. <i>M. affinis</i> (2)	0.188	0.005											
18. <i>M. affinis</i> (3)	0.192	0.005	0.003										
19. <i>M. affinis</i> (4)	0.190	0.005	0.003	0.003									
20. <i>M. affinis</i> (5)	0.190	0.006	0.004	0.004	0.004								
21. <i>M. ensis</i> (1)	0.195	0.171	0.165	0.168	0.165	0.168							
22. <i>M. ensis</i> (2)	0.193	0.168	0.162	0.165	0.162	0.165	0.001						
23. <i>M. ensis</i> (3)	0.201	0.167	0.160	0.160	0.160	0.164	0.003	0.011					
24. <i>M. ensis</i> (4)	0.207	0.177	0.172	0.175	0.172	0.175	0.008	0.007	0.008				
25. <i>P. monodon</i> (1)	0.206	0.259	0.252	0.255	0.254	0.254	0.253	0.255	0.256	0.261			
26. <i>P. monodon</i> (3)	0.207	0.257	0.250	0.253	0.252	0.251	0.254	0.256	0.256	0.262	0.001		
27. <i>P. monodon</i> (2)	0.206	0.258	0.254	0.254	0.253	0.252	0.258	0.260	0.260	0.266	0.006	0.008	

แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic Tree) ของกุ้งทะเลกลุ่ม

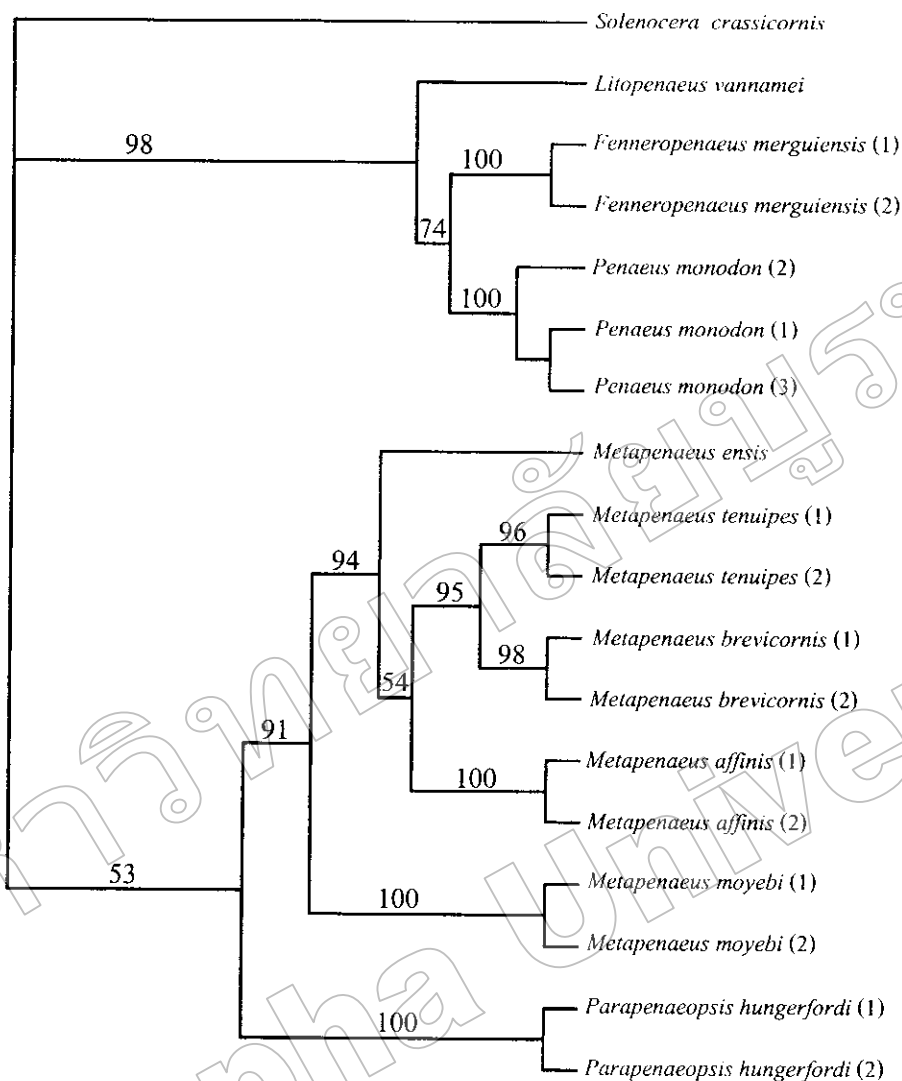
Penaeidae

Phylogenetic Tree ส่วนใหญ่ของยีน 16S rRNA และ COI แสดงการจัดกลุ่มในระดับสกุลในทิศทางเดียวกัน แต่รายละเอียดของความสัมพันธ์ภายในสกุลที่แตกต่างกันขึ้นกับสายนิวคลีโอไทด์และวิธีการสร้างแผนภูมิ (ภาพที่ 4-1 – 4-9; ตารางที่ 4-5 – 4-8) สำหรับความสัมพันธ์ภายในสกุล *Metapenaeus* ข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ไม่สามารถแสดงรูปแบบความสัมพันธ์ ระหว่าง *M. ensis* และ *M. affinis* ได้ ในขณะที่ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกุ้ง *Metapenaeus* ทุกชนิดได้เหมือนกันในทุกวิธีวิเคราะห์

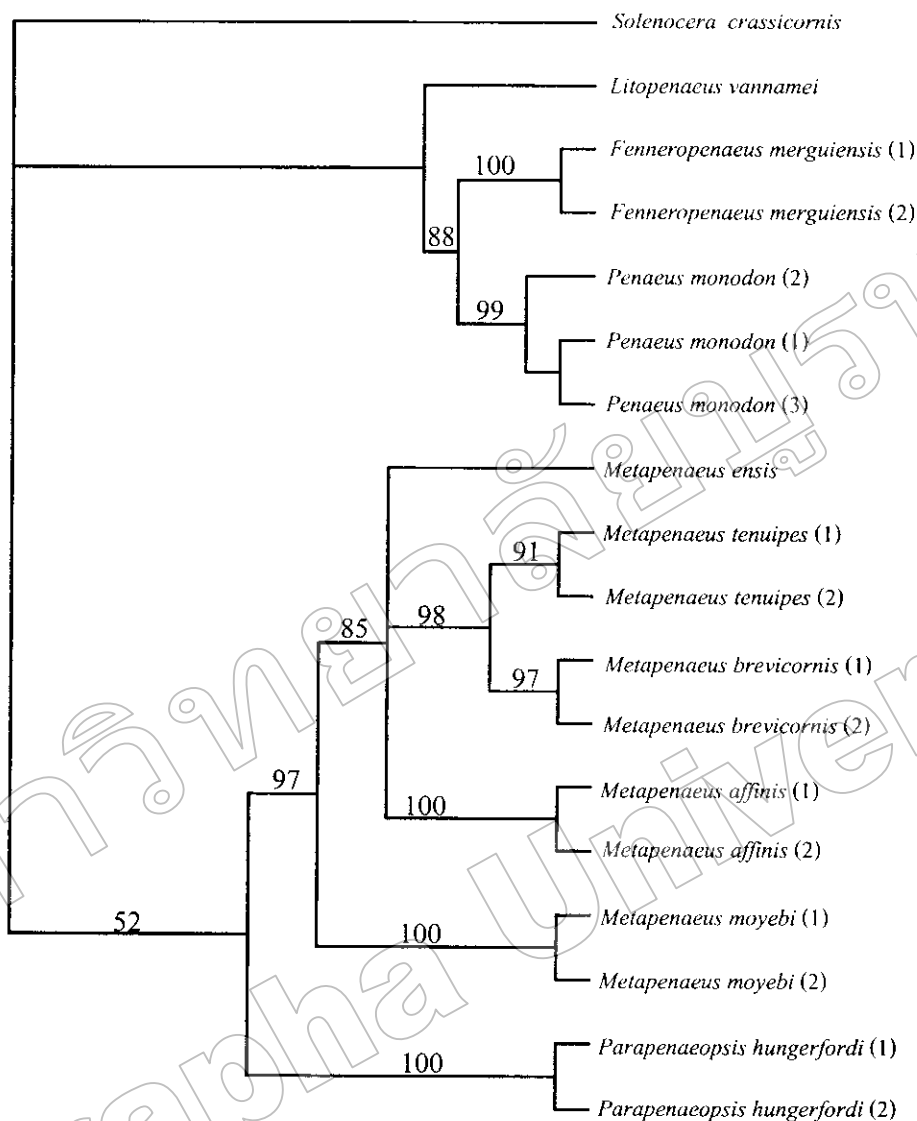
1. ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก

Phylogenetic Tree ของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลครอบครัว Penaeidae ที่สร้างด้วย 3 วิธี คือ Maximum Parsimony (MP) Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor - Joining (NJ) แสดงการจัดกลุ่มในระดับสกุลเหมือนกัน แต่แสดงความสัมพันธ์ภายในสกุล *Metapenaeus* ที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4-1 – 4-3) การจัดกลุ่มในระดับสกุลสามารถจัดได้ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ (1) ประกอบด้วยกุ้งสกุล *Penaeus Fenneropenaeus* และ *Litopenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 98, 99 และ 100% ตามลำดับ) โดย *Penaeus* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *Fenneropenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 74, 87 และ 94% ตามลำดับ) มากกว่า *Litopenaeus* และกลุ่มที่ (2) ประกอบด้วยกุ้งสกุล *Metapenaeus* และ *Parapenaeopsis* โดยการจัดกลุ่มของกุ้งในกลุ่มนี้มีค่าสนับสนุนการจัดกลุ่มในระดับต่ำ (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 53, 56 และ 60% ตามลำดับ)

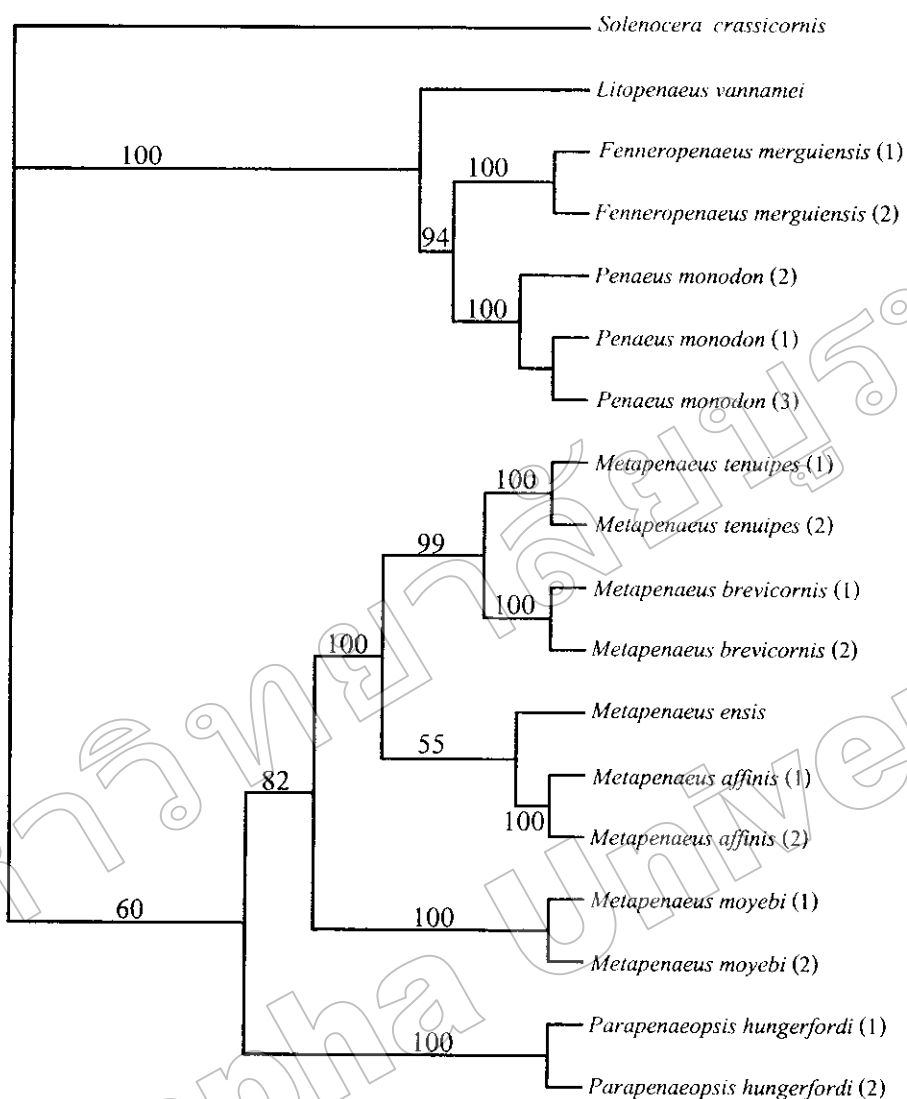
Phylogenetic Tree แสดงการจัดกลุ่มภายในสกุล *Metapenaeus* ที่สร้างโดยทั้ง 3 วิธี จัดให้ *M. brevicornis* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *M. tenuipes* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 99, 95 และ 98%) และ *M. moyebi* ถูกจัดเป็นกลุ่มแยกจาก *M. brevicornis*, *M. tenuipes*, *M. affinis* และ *M. ensis* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 100, 100 และ 100%) สลับตำแหน่งของ *M. affinis* และ *M. ensis* ใน Phylogenetic Tree ไปตามวิธีวิเคราะห์ (ค่า Bootstrap $\leq 55\%$)



ภาพที่ 4-1 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก โดยใช้วิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Parsimony (MP) หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-2 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก โดยใช้วิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Likelihood (ML) หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 100 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-3 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก โดยใช้วิธีการสร้างแผนภูมิ Neighbour-Joining (NJ) โดยใช้ GTR Genetic Distance หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จาก แผนภูมิที่สร้างจากการ สุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule

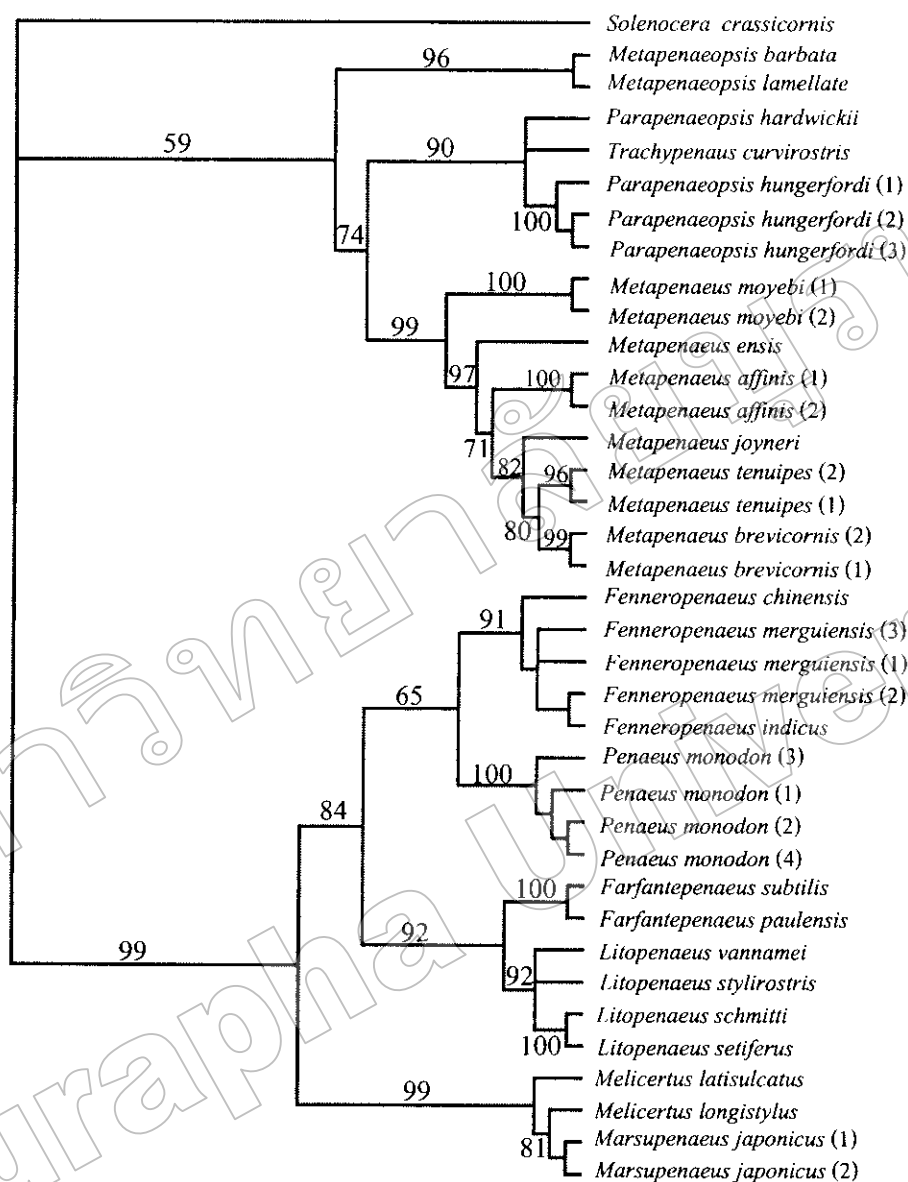
2. ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิด ที่พบบริเวณภาคตะวันออก และฐานข้อมูล GenBank

Phylogenetic Tree ที่สร้างด้วยวิธี MP ML และ NJ แสดงการจัดกลุ่มในระดับสกุลที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4-4 – 4-6) โดยวิธี MP, ML และ NJ สามารถจัดกลุ่มในระดับสกุลเป็น 2, 3 และ 4 กลุ่ม ตามลำดับ การจัดกลุ่มในระดับสกุลที่เหมือนกันทั้ง 3 วิธี คือ กลุ่มที่ (1) สกุล

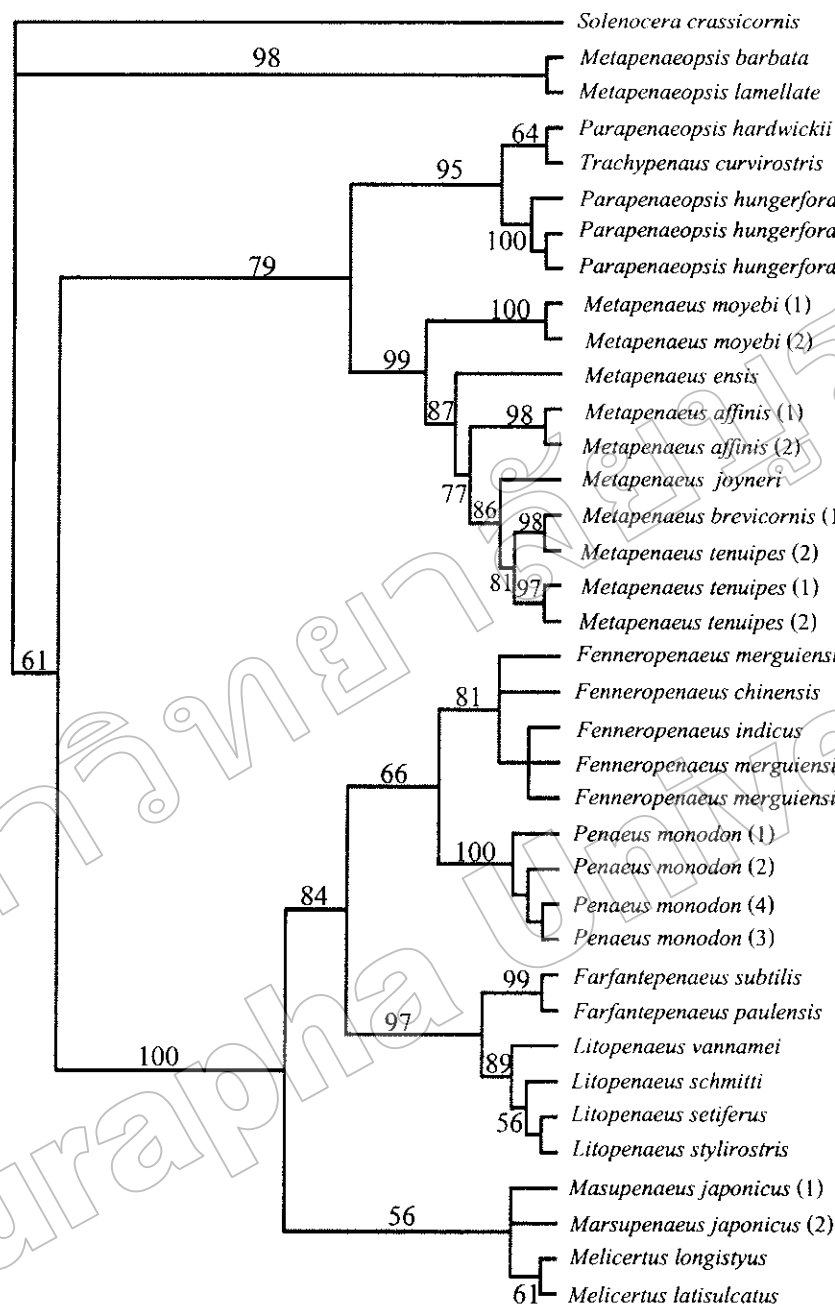
Fenneropenaeus, *Penaeus*, *Litopenaeus*, *Farfantepenaeus*, *Masupenaeus* และ *Melicertus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 99, 100 และ 100%) และกลุ่มที่ (2) สกุล *Parapenaeopsis*, *Trachypenaeus* และ *Metapenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ ML Bootstrap Support = 74 และ 79%) ส่วนสกุลที่บางครั้งแยกจากกลุ่มที่ (2) คือ *Metapenaeopsis* (ค่า Bootstrap ของ วิธี ML และ NJ = 98 และ 97%) *Parapenaeopsis* และ *Trachypenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี NJ = 77%)

การจัดกลุ่มย่อยของกุ้งในกลุ่มที่ (1) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มย่อยที่ (1) ประกอบด้วย สกุล *Fenneropenaeus*, *Penaeus*, *Litopenaeus* และ *Farfantepenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 84, 84 และ 72%) โดยสกุล *Fenneropenaeus* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *Penaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 65, 66 และ 65%) และสกุล *Litopenaeus* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *Farfantepenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 92, 97 และ 86%) และกลุ่มย่อยที่ (2) ประกอบด้วยสกุล *Masupenaeus* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *Melicertus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 99, 56 และ 98%)

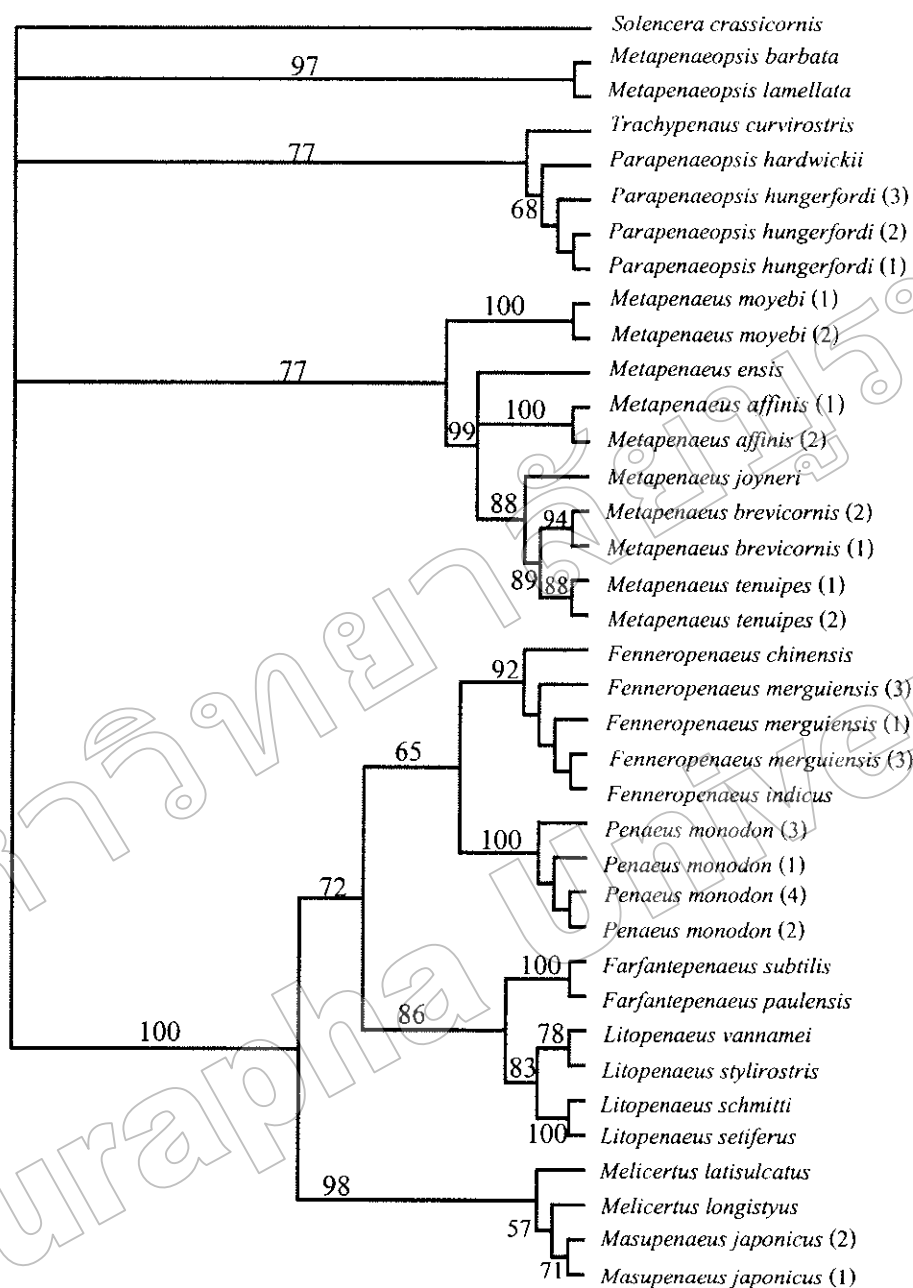
รูปแบบความสัมพันธ์ภายในสกุล *Metapenaeus* สามารถแสดงได้ (ภาพที่ 4-4 – 4-5) ดังนี้ *M. brevicornis* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *M. tenuipes* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ ML = 80 และ 81%) มากกว่ากุ้งชนิดอื่นในสกุล ส่วน *M. joyneri* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ ML = 82 และ 86%) ใกล้ชิดกับ *M. brevicornis* + *M. tenuipes* เป็นลำดับถัดมา ในขณะที่ *M. moyebi* มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากกุ้งชนิดอื่นในสกุล *Metapenaeus* มากที่สุด



ภาพที่ 4-4 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาค ตะวันออก และ ฐานข้อมูล GenBank โดยวิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Parsimony (MP) หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่มแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จาก แผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-5 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และ ฐานข้อมูล GenBank โดยวิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Likelihood (ML) หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 100 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-6 Phylogenetic Tree ของยีน 16S rRNA ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และฐานข้อมูล GenBank โดยวิธีการสร้างแผนภูมิ Neighbor-Joining (NJ) โดยใช้ HKY Genetic Distance หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule

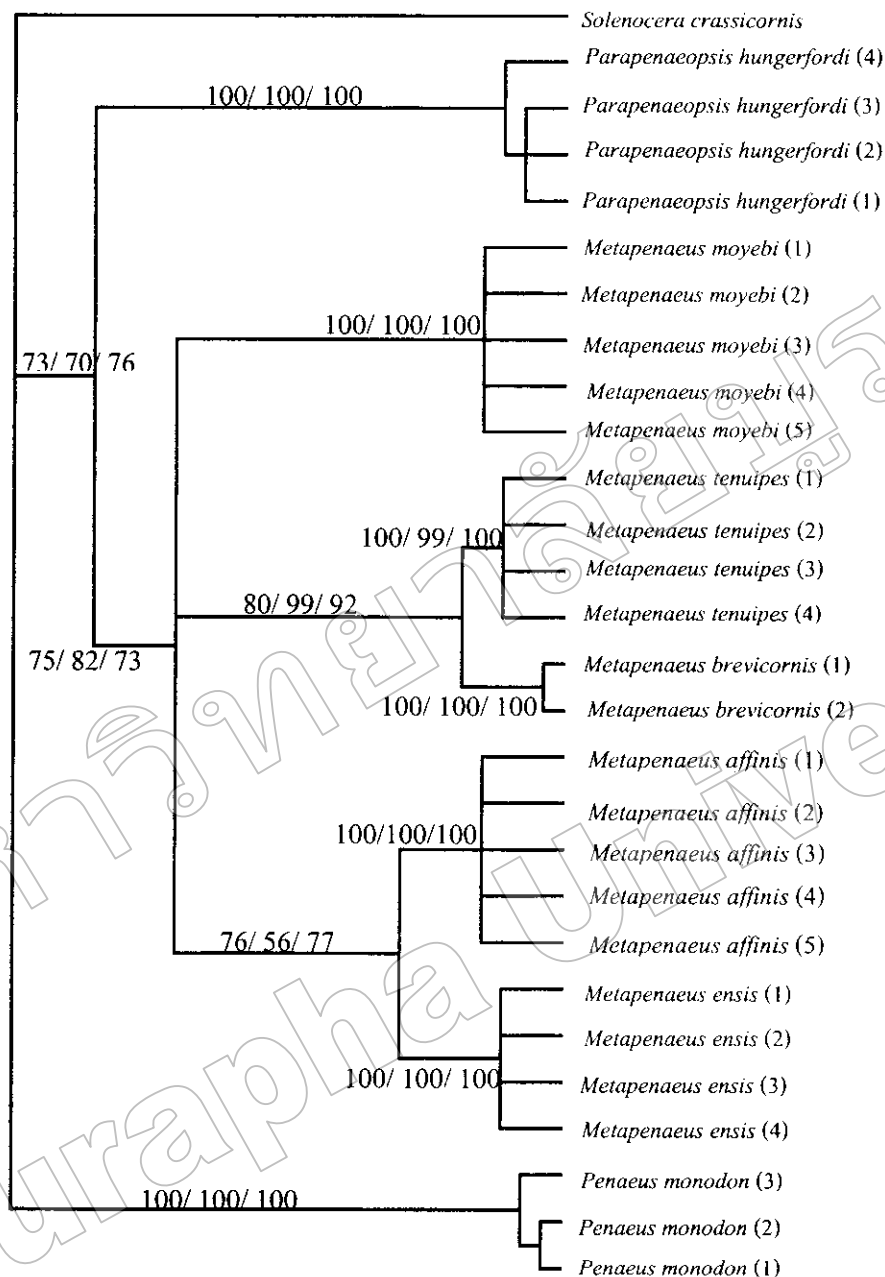
3. ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน COI กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก

Phylogenetic Tree ที่สร้างด้วยวิธี MP, ML และ NJ แสดงการจัดกลุ่มในระดับสกุล และรูปแบบความสัมพันธ์ภายในสกุล *Metapenaeus* เหมือนกัน (ภาพที่ 4-7) โดยแสดงจัดกลุ่มในระดับสกุลเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ (1) กุ้งสกุล *Penaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 100, 100 และ 100% ตามลำดับ) และกลุ่มที่ (2) ประกอบด้วยกุ้งสกุล *Metapenaeus* และ *Parapenaeopsis* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 73, 70 และ 76% ตามลำดับ)

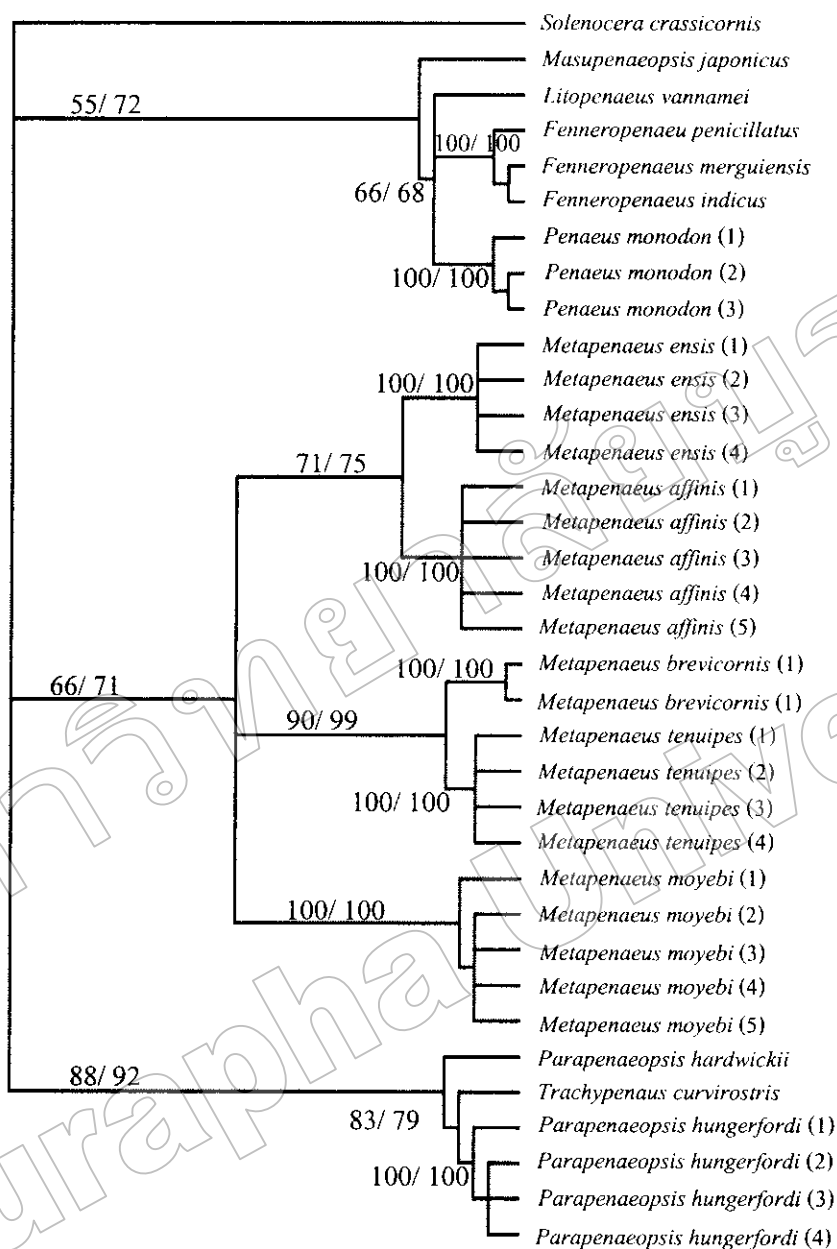
ส่วนการจัดกลุ่มภายในสกุล *Metapenaeus* Phylogenetic Tree ที่สร้างโดยทั้ง 3 วิธี จัดให้ *M. brevicornis* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *M. tenuipes* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 80, 99 และ 92%) และ *M. affinis* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ *M. ensis* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 76, 56 และ 77%) และ *M. moyebi* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมห่างจากกุ้งสกุล *Metapenaeus* ชนิดอื่นมากที่สุด (ค่า Bootstrap ของวิธี MP, ML และ NJ = 100, 100 และ 100% ตามลำดับ)

4. ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน COI กุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางบริเวณภาคตะวันออก และฐานข้อมูล Genbank

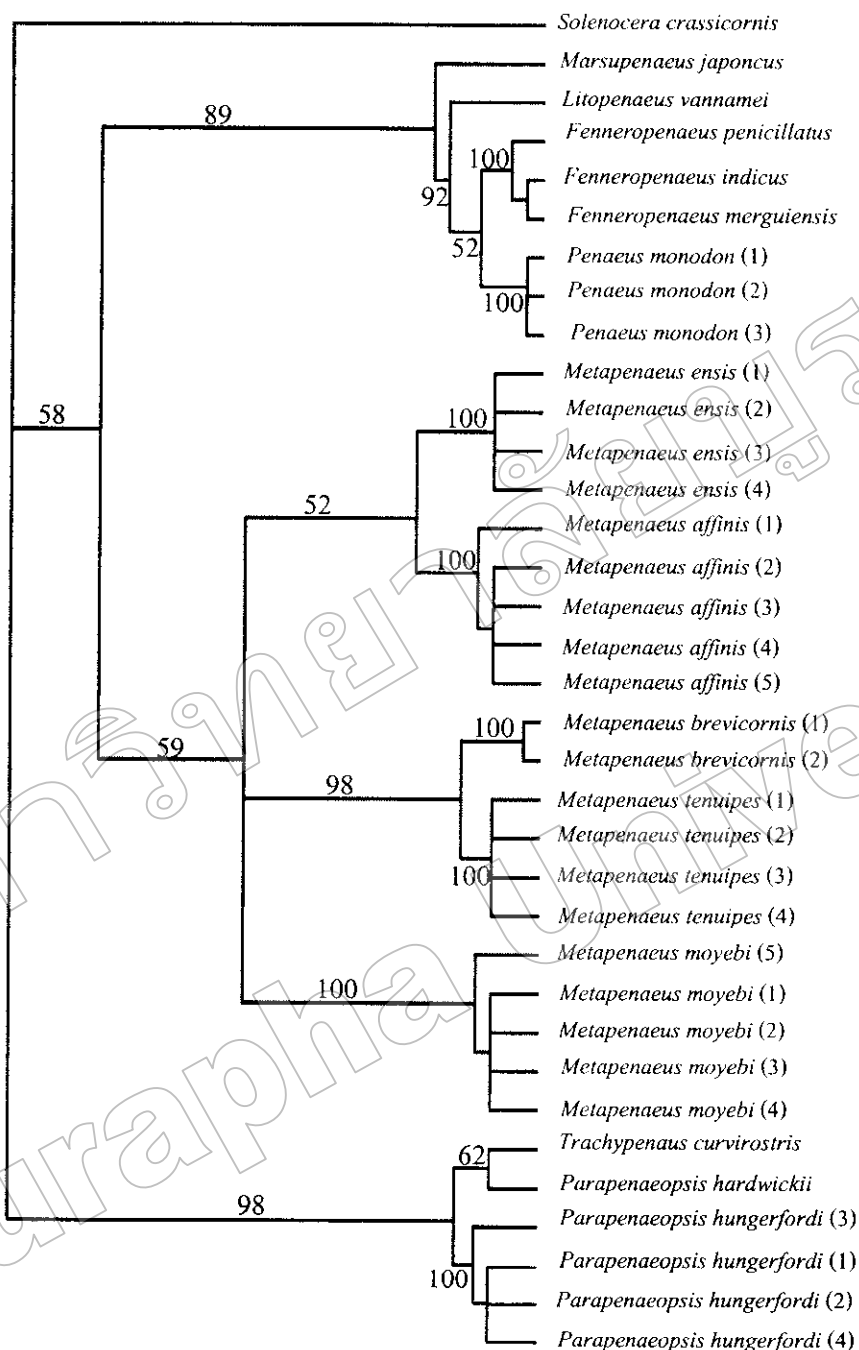
Phylogenetic Tree ที่สร้างด้วยวิธี MP และ NJ แสดงการจัดกลุ่มในระดับสกุลและรูปแบบความสัมพันธ์ภายในสกุลแบบเดียวกัน (ภาพที่ 4-8) ซึ่งวิธี NJ ให้ค่าสนับสนุนการจัดกลุ่มสูงกว่าและสอดคล้องกับการจัดกลุ่มของชุดข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน COI ของตัวอย่างกุ้งที่พบทางภาคตะวันออก โดยจัดกลุ่มในระดับสกุลออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ (1) ประกอบด้วยกุ้งสกุล *Penaeus*, *Fenneropenaeus*, *Litopenaeus* และ *Masupenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ NJ = 55 และ 72%) โดยกุ้งสกุล *Penaeus*, *Fenneropenaeus* และ *Litopenaeus* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากกว่าสกุล *Masupenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ NJ = 66 และ 68%) และกลุ่มที่ (2) กุ้งสกุล *Metapenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ NJ = 66 และ 71%) และกลุ่มที่ (3) ประกอบด้วยกุ้งสกุล *Parapenaeopsis* และ *Trachypenaeus* (ค่า Bootstrap ของวิธี MP และ NJ = 88 และ 92% ตามลำดับ) ส่วนวิธี ML (ภาพที่ 4-9) ให้ Phylogenetic Tree จัดกลุ่มที่ (1) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับกลุ่มที่ (2) มากกว่ากลุ่มที่ (3) (ค่า Bootstrap ของวิธี ML = 58%)



ภาพที่ 4-7 Phylogenetic Tree ของยีน COI ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาค ตะวันออก โดยวิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Parsimony (MP) Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor-Joining (NJ) โดยใช้ GTR Genetic Distance หมายเลขประจำ แต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง ด้วยวิธี MP/ML/NJ ตามลำดับ และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-8 Phylogenetic Tree ของยีน COI ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และฐานข้อมูล GenBank โดยวิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Parsimony (MP) และ Neighbor-Joining (NJ) โดยใช้ GTR Genetic Distance หมายเลขประจำตำแหน่งของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำด้วยวิธี Bootstrap 1,000 ครั้ง ด้วยวิธี MP/NJ และเลือก Consensus Tree แบบ Majority Rule



ภาพที่ 4-9 Phylogenetic Tree ของยีน COI ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและฐานข้อมูล GenBank โดยใช้วิธีการสร้างแผนภูมิ Maximum Likelihood (ML) หมายเลขประจำแต่ละปมของการจัดกลุ่ม แสดงเปอร์เซ็นต์ของแผนภูมิที่สนับสนุนการจัดกลุ่มนั้น ๆ จากแผนภูมิที่สร้างจากการสุ่มซ้ำ ด้วยวิธี Bootstrap 100 ครั้ง และเลือกหาแผนภูมิสอดคล้อง (Consensus Tree) แบบ Majority Rule

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของกุ้งกรอบครัว Penaeidae โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และ COI ในการศึกษาครั้งนี้ สรุปการจัดกลุ่มในระดับสกุลได้ดังตารางที่ 4-5 – 4-8

ตารางที่ 4-5 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับสกุลของกุ้งในกรอบครัว Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ด้วยวิธี Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor-Joining (NJ)

Gr.	Maximum Parsimony	Gr.	Maximum Likelihood	Gr.	Neighbor – Joining
1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>
	<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>
	<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>
2.	<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>
	<i>Parapenaeopsis</i>		<i>Parapenaeopsis</i>		<i>Parapenaeopsis</i>

ตารางที่ 4-6 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับสกุลของกุ้งในกรอบครัว Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และฐานข้อมูล GenBank โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ด้วยวิธี Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor-Joining (NJ)

Gr.	Maximum Parsimony	Gr.	Maximum Likelihood	Gr.	Neighbor – Joining
1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>
	<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>
	<i>Farfantepenaeus</i>		<i>Farfantepenaeus</i>		<i>Farfantepenaeus</i>
	<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>
	<i>Masupenaeus</i>		<i>Masupenaeus</i>		<i>Masupenaeus</i>
	<i>Melicertus</i>		<i>Melicertus</i>		<i>Melicertus</i>
2.	<i>Metapenaeus</i>		<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>

ตารางที่ 4-6 (ต่อ)

Gr.	Maximum Parsimony	Gr.	Maximum Likelihood	Gr.	Neighbor – Joining
	<i>Parapenaeopsis</i>		<i>Parapenaeopsis</i>	3.	<i>Parapenaeopsis</i>
	<i>Trachypenaeus</i>		<i>Trachypenaeus</i>		<i>Trachypenaeus</i>
	<i>Metapenaeopsis</i>	2.	<i>Metapenaeopsis</i>	4.	<i>Metapenaeopsis</i>

ตารางที่ 4-7 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับสกุลของกุ้งในครอบครัว Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ด้วยวิธี Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor-Joining (NJ)

Gr.	Maximum Parsimony	Gr.	Maximum Likelihood	Gr.	Neighbor – Joining
1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>
2.	<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>
	<i>Parapenaeopsis</i>		<i>Parapenaeopsis</i>		<i>Parapenaeopsis</i>

ตารางที่ 4-8 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับสกุลของกุ้งในครอบครัว Penaeidae โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ของกุ้งทะเลกลุ่ม Penaeidae บางชนิดที่พบทางภาคตะวันออก และฐานข้อมูล GenBank โดยวิธี Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) และ Neighbor-Joining (NJ)

Gr.	Maximum Parsimony	Gr.	Maximum Likelihood	Gr.	Neighbor – Joining
1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>	1.	<i>Penaeus</i>
	<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>		<i>Fenneropenaeus</i>
	<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>		<i>Litopenaeus</i>
	<i>Masupenaeus</i>		<i>Masupenaeus</i>		<i>Masupenaeus</i>
2.	<i>Metapenaeus</i>		<i>Metapenaeus</i>	2.	<i>Metapenaeus</i>
3.	<i>Parapenaeopsis</i>	2.	<i>Parapenaeopsis</i>	3.	<i>Parapenaeopsis</i>
	<i>Trachypenaeus</i>		<i>Trachypenaeus</i>		<i>Trachypenaeus</i>