

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.เมืองชุม อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)
ในบริเวณอ่าวไทย

สุภาพร สอนแก้ว

23 พ.ค. 2554

287000

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

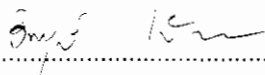
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

เมษายน 2554

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

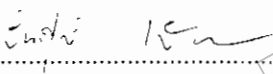
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ สุภาพร สอนแก้ว ฉบับนี้แล้ว เห็นควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

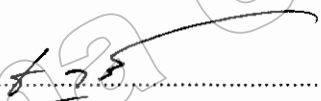
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

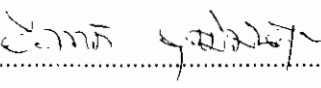

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร.วันสุกร์ เสนานาญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

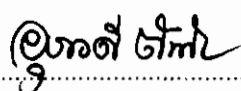

.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาวดี พุ่มพาง)


.....กรรมการ
(ดร.วันสุกร์ เสนานาญ)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตตา บุญภักดี)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา


.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)
วันที่ 20 เดือน เมษายน พ.ศ. 2554

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากเมธีวิจัยอาวุโส สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร) ปี พ.ศ. 2550

ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์/คุณิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2553 คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

และทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีภาคฤดูร้อน

ปีการศึกษา 2553 มหาวิทยาลัยบูรพา

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.วันสุกร์ เสนานาญ ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางที่ถูกต้องตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและคอยเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาวดี พุ่มพวง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชูตา บุญภักดี และ ดร.ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณผู้มีส่วนสนับสนุนการเก็บตัวอย่าง ซึ่ง ได้แก่ ฟาร์มทะเลทอง จ.ชลบุรี, ผู้อำนวยการและเจ้าหน้าที่ ศพข.จ.นครศรีธรรมราช, ผู้อำนวยการและคุณนิพนธ์ เสนอินทร์ จาก ศพข. จ.ระยอง รวมถึงผู้รวบรวมตัวอย่างและชาวประมง จ.นครศรีธรรมราช, จ.จันทบุรี และ จ.ตราด

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยสนับสนุนและให้คำปรึกษารวมทั้งเป็นกำลังใจในการศึกษาเสมอมา

ขอขอบพระคุณ คุณไพโรจน์ น้อยเพ็ง คุณเขาวลัย ใจสุข คุณ SYARIF HIDAYAT คุณ YUSMANSYAH และคุณลฎาภา พรหมเหลา ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกในทุก ๆ ด้าน และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ ตลอดจนสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากเมธีวิจัยอาวุโส สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร) ปี พ.ศ. 2550 ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์/คุณนิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2553 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา และทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีภาคฤดูร้อน ปีการศึกษา 2553 มหาวิทยาลัยบูรพา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบนานเท่านานนี้

สุภาพร สอนแก้ว

50910392: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: ปลากระพงขาว/ ความหลากหลายทางพันธุกรรม/ ไมโครแซเทลไลต์

สุภาพร สอนแก้ว: ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) ในบริเวณอ่าวไทย (GENETIC DIVERSITY OF LATES CALCARIFER BLOCH POPULATION IN THE GULF OF THAILAND) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วันศุกร์ เสนานานู, Ph.D. 89 หน้า. ปี พ.ศ. 2554.

ประเทศไทยมีการเพาะขยายพันธุ์ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) ในโรงเพาะฟักมานานกว่า 30 ปี โดยไม่มีการนำข้อมูลทางพันธุศาสตร์ไปใช้ในการจัดการพ่อแม่พันธุ์ ทำให้เกษตรกรผู้เพาะพันธุ์ปลากระพงขาวเริ่มเป็นห่วงเกี่ยวกับระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์เหล่านี้ การศึกษานี้จึงวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์กระพงขาวจากโรงเพาะฟัก 4 แห่ง ได้แก่ โรงเพาะฟักเอกชน จ.ชลบุรี (TT-H), ประชากรดั้งเดิมของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง จ.ระยอง (ศพข. จ.ระยอง; รุ่นพ่อแม่) (RA-H), ปลาที่มีการคัดพันธุ์ของ ศพข.จ.ระยอง (รุ่นลูก; F1) (RF-H) และประชากรของ ศพข. จ.นครศรีธรรมราช (NK-H) และจากธรรมชาติ 3 แห่ง ได้แก่ จ.ันทบุรี (CH-W), จ.ตราด (TR-W) และ จ.นครศรีธรรมราช (PN-W) ด้วยไมโครแซเทลไลต์ดีเอ็นเอ 7 ตำแหน่ง ผลการศึกษาพบว่ามีความอัลลีลทั้งหมด 63 อัลลีล ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มตัวอย่างโรงเพาะฟัก ($A = 5.86-7.43$, $A_r = 5.70-7.27$, $H_o = 0.68-0.78$, $H_e = 0.65-0.75$) มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มประชากรธรรมชาติ ($A = 7.71-8.43$, $A_r = 6.97-7.64$, $H_o = 0.72-0.79$, $H_e = 0.71-0.75$) อย่างไรก็ตาม RF-H มีแนวโน้มสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าตัวอย่างอื่น ๆ

กลุ่มตัวอย่างปลากระพงขาวที่ใช้ในการศึกษานี้มีความแตกต่างทางพันธุกรรม (Global $F_{st} = 0.025$, $p < 0.001$) โดยกลุ่มตัวอย่างจากอ่าวไทยตอนบน (TR-W กับ CH-W) แตกต่างทางพันธุกรรมกับตัวอย่างจากอ่าวไทยตอนล่าง (PN-W) ส่วนในกลุ่มตัวอย่างจากโรงเพาะฟักพบว่ามี ความแตกต่างกันทุกคู่ประชากรยกเว้น NK-H กับ TT-H และตัวอย่างจากโรงเพาะฟัก RA-F และ RA-H มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากตัวอย่างอื่น ๆ มากที่สุด ความแตกต่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างจากอ่าวไทยตอนบนกับอ่าวไทยตอนล่างน่าจะสัมพันธ์กับระยะทางระหว่างประชากรทั้งสองกลุ่ม ส่วนความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างจากโรงเพาะฟักน่าจะสะท้อนระดับการใช้พ่อแม่พันธุ์ที่มีแหล่งกำเนิดร่วมกันระหว่างโรงเพาะฟัก นอกจากนี้ การขาดหายทางพันธุกรรมระหว่างการเพาะพันธุ์ยังมีบทบาทในการลดความหลากหลายภายในกลุ่มพ่อแม่พันธุ์ที่ถูกคัดเลือก และทำให้เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมจากกลุ่มตัวอย่างอื่น

50910392: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS : SEA BASS/ GENETIC DIVERSITY/ MICROSATELLITE

SUPAPORN SONKAEW : GENETIC DIVERSITY OF LATES CALCARIFER

BLOCH POPULATION IN THE GULF OF THAILAND. ADVISORY COMMITTEE:

WANSUK SENANAN, Ph.D. 89 P. 2011.

For the past 30 years, the hatchery production of seabass seeds (*Lates calcarifer* Bloch) in Thailand has not used genetic data for broodstock management. Hatcheries operators, therefore, has raised concerns over the declining genetic diversity of available broodstock. Using seven microsatellite DNA loci, I analyzed genetic diversity of four hatchery samples, a stock from a private hatcheries in Chonburi (TT-H), two stocks from a government hatchery at the Rayong Coastal Fisheries Research and Development center (founding stock; RA-H and selected individuals from an F1 generation; RF-H) and a stock from a hatchery of the Nakhon Si Thammarat Coastal Fisheries Research and Development Center. (NK-H) and three wild Sample, Chantaburi (CH-W), Trat (TR-W) and Nakhon Si Thammarat (PN-W). We detected 63 alleles in all samples. The genetic diversity observed in hatchery samples ($A = 5.86-7.43$, $A_r = 5.70-7.27$, $H_n = 0.68-0.78$, $H_e = 0.65-0.75$) did not differ from that observed in the wild samples ($A = 7.71-8.43$, $A_r = 6.97-7.64$, $H_n = 0.72-0.79$, $H_e = 0.71-0.75$). However, RF-H tended to lose genetic diversity faster than other samples.

Samples from different locations were genetically different (Global $F_{st} = 0.025$, $p < 0.001$). In the wild samples, the two samples from the Upper Gulf of Thailand (TR-W and CH-W) were genetically different from the sample from the Lower Gulf of Thailand (PN-W). The hatchery samples were also genetically distinct in most sample pairs, except for the NK-H and TT-H pair. The samples RA-F and RA-H were most distantly related to other hatchery samples. The natural populations in the Gulf of Thailand might have been genetically separated by the long distance between the Upper and Lower Gulf of Thailand. The level of genetic differences among hatchery samples may reflect the levels of shared breeders among hatcheries. Furthermore, genetic drift during hatchery production could play a major role in reducing genetic diversity and enhancing genetic divergence of a selectively bred population.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ลักษณะทั่วไปและการชีววิทยาบางประการของปลากะพงขาว.....	5
การเรียกชื่อและอนุกรมวิธานของปลากะพงขาว.....	5
การแพร่กระจายของปลากะพงขาว.....	5
วงจรชีวิตของปลากะพงขาว.....	6
ความหลากหลายทางพันธุกรรม.....	7
ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร.....	7
ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร.....	8
ประชากรในทางทฤษฎี (Ideal population) และสมดูลฮาร์ดีไวน์เบิร์ก.....	9
กระบวนการสำคัญที่ทำให้โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรเปลี่ยนแปลง.....	9
เครื่องหมายพันธุกรรมเพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม.....	11
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลากะพงขาว และสัตว์ทะเลบางชนิด.....	18
การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส.....	25
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
การรวบรวมตัวอย่าง.....	27

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ.....	31
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	34
สถานที่ทำการทดลอง.....	35
4 ผลการวิจัย.....	36
ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร.....	36
ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร.....	37
5 อภิปรายและสรุปผล.....	44
ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร.....	44
ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร.....	54
สรุปผลการวิจัย.....	56
ข้อเสนอแนะ.....	56
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	68
ภาคผนวก ก ข้อมูลน้ำหนักและความยาวของปลากะพงขาว.....	69
ภาคผนวก ข ความถี่อัลลีลที่ไมโครแซทเทลไลท์ 7 ตำแหน่ง.....	73
ภาคผนวก ค ภาพจีโนมไทป์ของปลากะพงขาว.....	77
ภาคผนวก ง วิธีการทดลอง.....	82
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	89

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 ประเภทของเครื่องหมายพันธุกรรมระดับโมเลกุล ลักษณะ และการประยุกต์ใช้.....	12
2-2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากร โรงเพาะฟักกับประชากรธรรมชาติ ของสัตว์น้ำบางชนิด.....	21
3-1 จำนวนและแหล่งตัวอย่างของประชากรปลากะพงขาว ที่ใช้ในการศึกษานี้.....	29
3-2 ปริมาณความเข้มของดีเอ็นเอมาตรฐาน.....	31
3-3 ลำดับเบสของไพรเมอร์และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพีซีอาร์ของไมโครแซทเทล ไลท์ 7 ตำแหน่ง.....	32
4-1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลท์ 7 ตำแหน่ง ในกลุ่มตัวอย่าง ปลากะพงขาวจากโรงเพาะฟักและธรรมชาติในบริเวณอ่าวไทย.....	38
4-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (Analysis of molecular Variance; AMOVA) ภายในและระหว่างประชากรปลากะพงขาวจากแหล่งน้ำธรรมชาติและโรง เพาะฟักบริเวณอ่าวไทย.....	41
4-3 ค่าความน่าจะเป็น (<i>P</i> -value) ของการทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากร โดย Exact tests.....	41
5-1 ค่าเฉลี่ยความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่ใช้ใน การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลากะพงขาว.....	48
5-2 ขนาดของประชากรที่มีศักยภาพทางพันธุกรรม (Effective population Size; <i>N_e</i>) ของ ประชากรปลากะพงขาว.....	53
ภาคผนวกที่ ก-1 ข้อมูลน้ำหนักและความยาวของปลากะพงขาวปลารุ่นพ่อแม่ (RA-H) และ รุ่นลูก (RF-H) ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง จ.ระยอง.....	71
ภาคผนวกที่ ข-1 ความถี่อัลลีลที่ไมโครแซทเทลไลท์ 7 ตำแหน่ง ในกลุ่มตัวอย่างประชากร ปลากะพง ขาวจากโรงเพาะฟักและประชากรจากธรรมชาติบริเวณอ่าวไทย...	74

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 การแพร่กระจายของปลากะพงขาว.....	6
2-2 วงจรชีวิตของปลากะพงขาว.....	7
3-1 แผนผังการเก็บตัวอย่างปลากะพงขาวในบริเวณอ่าวไทยที่ใช้ในการศึกษา.....	29
3-2 จุลรวบรวมตัวอย่างปลากะพงขาวบริเวณอ่าวไทยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้.....	30
4-1 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่สร้างจากค่า Cavalli-Sforza and Edward's distance โดยวิธี UPGMA ของกลุ่มตัวอย่างปลากะพงขาว 7 กลุ่ม.....	42
4-2 แผนภาพ MDS ที่สร้างจากค่า Cavalli-Sforza and Edward's distance.....	42
4-3 แผนภาพ MDS ที่สร้างจากค่า F_{ST} ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง.....	43
5-1 ปริมาณการจับปลากะพงขาวในทะเลอ่าวไทย ในปี พ.ศ. 2545-2551.....	47
5-2 การกระจายและความถี่อัลลีลที่เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซเทลโลท 7 ตำแหน่งของตัวอย่าง RA-H กับ RF-H.....	52
ภาคผนวกที่ ค-1 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>LcaM21F</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	78
ภาคผนวกที่ ค-2 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>LcaM32</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	78
ภาคผนวกที่ ค-3 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>LcaM08F</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	79
ภาคผนวกที่ ค-4 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>Lca60</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	79
ภาคผนวกที่ ค-5 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>Lca64</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	80
ภาคผนวกที่ ค-6 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>Lc-m05</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	80
ภาคผนวกที่ ค-7 จีโนไทป์ของปลากะพงขาวที่ตำแหน่งไมโครแซเทลโลท <i>Lca74</i> เทียบกับลำดับเบส pGEM-3Zf(+) Vector.....	81