



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่ง
ทะเลจังหวัดตราดโดยใช้ข้อมูลทางสัญญาณวิทยาและพันธุกรรม

ทรรศิน ปณิธานะรักษ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

รหัสโครงการ 222864
สัญญาเลขที่ 9/2559

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่ง
ทะเลจังหวัดตราดโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรม

ทรรศิน ปณิธานะรักษ์

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 9/2559

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของแมงกะพรุนหลากสีร่วมกับการวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมบริเวณยีน mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) เพื่อช่วยแก้ไขปัญหาค่าความสับสนในการจำแนกชนิดแมงกะพรุน อันเกิดจากความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวด จากการศึกษาตัวอย่างแมงกะพรุน 21 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนของแมงกะพรุน 7 กลุ่ม (morphotypes) โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณที่เกิดการสะพรั่งของแมงกะพรุนในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 บริเวณหาดคลองสน ต. แหลมกลัด อ. เมือง จ. ตรัง พบว่าแมงกะพรุนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัวเฉลี่ย 8.53 ± 0.99 เซนติเมตร มีน้ำหนักเปียกเฉลี่ย 174.31 ± 47.56 กรัม จากการศึกษาสัณฐานวิทยาพบว่าแมงกะพรุนทั้ง 7 กลุ่ม มีลักษณะสัณฐานวิทยาค้ำค้ำคล้ายคลึงกัน จัดอยู่ในสกุล *Catostylus* ชนิด *Catostylus townsendi* สำหรับการศึกษาค่าความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI พบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมในแมงกะพรุนหลากสีมีค่าน้อยมาก ค่า pairwise genetic distance อยู่ระหว่าง 0-0.59% ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสีเป็นชนิดเดียวกันทั้งหมด

Abstract

The aims of this study were to examine morphological characters integrated with sequence variation of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI). This can help correctly identify jellyfish species distinguished by color variation in bells and oral arms. Twenty-one jellyfish samples which represent 7 morphotypes collected from jellyfish-bloom area in October 2016 at Klong Son Beach, Laem Klad, Amphoe Muang, Trat Province were examined. A mean bell diameter was 8.53 ± 0.99 cm and a mean wet weight was 174.31 ± 47.56 g. Morphological results showed that the 7 morphotypes were morphologically similar and were identified to the genus *Catostylus* and the species *Catostylus townsendi*. In addition, sequence variation revealed that levels of genetic differentiation at the COI gene were quite low with pairwise genetic distances ranging from 0-0.59%. As a result, all samples should be classified to a single species.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ	iii
สารบัญเรื่อง	v
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	vii
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ix
บทนำ	10
วิธีดำเนินการวิจัย	13
ผลและอภิปรายผลการวิจัย	17
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	25
ผลผลิต	26
รายงานสรุปการเงิน	27
บรรณานุกรม	28
ภาคผนวก	32
ประวัตินักวิจัยและคณะ	62

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะสัณฐานวิทยาของแมงกะพรุนหลากสีสกุล <i>Catostylus</i>	20
2	ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสี	22
ก	ข้อมูลตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสี	33

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนที่แสดงบริเวณที่พบการสระพังของแมงกะพรุนหลากสี	13
2	แมงกะพรุนหลากสีสระพังบริเวณหาดคลองสน	14
3	การเก็บตัวอย่างแมงกะพรุนเพื่อนำไปศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ	15
4	ความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวดที่พบในแมงกะพรุนหลากสี 7 กลุ่ม	17
5	ลักษณะผิวหนังด้านนอกของร่ม	18
6	ริ้วขอบร่ม	18
7	ลักษณะของ anastomosing canals	19
8	ตำแหน่งความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรม	21
9	แมงกะพรุนชนิด <i>Catostylus mosaicus</i>	23
10	ผลการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสี	24
ก	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 1	34
ข	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 2	35
ค	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 3	36
ง	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 4	37
จ	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 5	38
ฉ	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 6	39
ช	แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 7	40
ซ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A1	41
ฅ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A2	42
ญ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A3	43
ณ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง B2	44
ด	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง B3	45
ต	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C1	46
ถ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C2	47
ท	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C3	48
ธ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง D1	49
น	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง D2	50
บ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง E1	51
ป	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง E2	52
ผ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F1	53
ฝ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F2	54
พ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F3	55
ฟ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G1	56
ภ	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G2	57
ม	ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G3	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
ย	ตัวอย่างไฟล์ในรูปแบบ fasta	59
ร	โปรแกรม CAP3	60
ล	ตัวอย่างการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม CAP3	61

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

COI	แทน บริเวณยีน cytochrome c oxidase subunit I ในไมโทคอนเดรีย
μ l	แทน ไมโครลิตร
mM	แทน มิลลิโมล
dNTP	แทน deoxynucleotide triphosphate
PCR	แทน ปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction
nmol	แทน นาโนโมล
ng	แทน นาโนกรัม
bp	แทน base pair หรือ คู่เบส

บทนำ

พื้นที่บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด ตั้งอยู่ทางทิศตะวันตกติดทะเลด้านอ่าวไทย เป็นพื้นที่ที่ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ทำให้มีฝนตกตลอดปี สามารถพบแมงกะพรุนได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในช่วงพ้นจากฤดูฝนเข้าสู่ฤดูหนาว คือ ประมาณเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายนของทุกปี จะพบปรากฏการณ์การรวมตัวของแมงกะพรุนหลากสี สกุล *Catostylus* เป็นจำนวนมากเหนือผิวน้ำ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติในช่วงการผสมพันธุ์ของแมงกะพรุน เรียกว่า jellyfish bloom หรือการสะพรั่งของแมงกะพรุน โดยพบตั้งแต่บริเวณหาดราษการุณย์ อ. เมือง ไปถึงบริเวณอ่าวไม้รูด อ. คลองใหญ่ จ. ตราด (ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก 2556) แต่ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 เป็นต้นมา การสะพรั่งของแมงกะพรุนหลากสีมีมากขึ้นกว่าที่ผ่านมา พบมากในบริเวณหาดราษการุณย์และปากอ่าวไม้รูด จากคู่มือการศึกษาความหลากหลายของแมงกะพรุนในน่านน้ำไทย โดยสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (2558) ได้จำแนกแมงกะพรุนหลากสีเป็นชนิด *Catostylus townsendi* (Phylum Cnidaria, Class Scyphozoa, Family Catostylidae) มีลำตัวนิ่มใส ลักษณะคล้ายร่ม มีหนวดทรงกรวยแปดหนวดอยู่ด้านล่างของลำตัว มีเข็มพิษบริเวณหนวดใช้สำหรับป้องกันตัวและจับเหยื่อ พิษมีความรุนแรงไม่มากนักและไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ แมงกะพรุนชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปบริเวณกลุ่มเกาะมลายูและคาบสมุทรมอินโดจีน ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบบริเวณทะเลอันดามัน โดยพบแพร่กระจายในพื้นที่จังหวัดภูเก็ต ส่วนอ่าวไทยพบในพื้นที่จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร สมุทรปราการ สมุทรสงคราม ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และสงขลา (สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน 2558) มีสีสันแตกต่างกัน ตั้งแต่ขาว เหลืองนวล น้ำตาล ฟ้า ม่วง น้ำเงิน

เป็นที่น่าสนใจว่าในประเทศไทยการสะพรั่งของแมงกะพรุนหลากสีได้รับความสนใจจากนักท่องเที่ยวเพื่อมาเที่ยวชมปรากฏการณ์เป็นจำนวนมาก ต่างจากผลกระทบทางด้านลบต่อการท่องเที่ยวที่พบจากรายงานการศึกษาในต่างประเทศ การสะพรั่งของแมงกะพรุนเกิดบ่อยขึ้นและมากขึ้นจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมา (Graham et al. 2001; Mills 2001; Link and Ford 2006; Lynam et al. 2006) ปรากฏการณ์นี้ส่งผลกระทบต่อทางด้านลบต่อการประมงชายฝั่ง อุตสาหกรรม และการท่องเที่ยว ยกตัวอย่างเช่น การลดจำนวนของแหล่งท่องเที่ยวเนื่องจากการปิดชายหาด ไปจนถึงการเสียชีวิตของนักท่องเที่ยวที่สัมผัสโดนตัวแมงกะพรุนซึ่งมีพิษรุนแรง (Purcell et al. 2007) การรบกวนประมงชายฝั่ง โดยการลอยไปติดกับเครื่องมือจับปลา เช่น อวนหรือตาข่ายดักปลา (Lynam et al. 2006) การตายของปลาที่เลี้ยงในกระชังหรือฟาร์ม (Mills 2001) เพราะพิษจากแมงกะพรุน การจับปลาเศรษฐกิจลดจำนวนลง เนื่องมาจากการแก่งแย่งอาหารของปลากับแมงกะพรุน ร่วมกับการเป็นผู้ล่าของแมงกะพรุน (Lynam et al. 2006) นอกจากนี้แล้ว แมงกะพรุนบางชนิดยังอาจเป็นพาหะของพาราไซต์หลายชนิด ซึ่งก่อให้เกิดโรคในปลา (Hay 2006) ดังนั้น จึงมีการตรวจติดตามความชุกชุมและการแพร่กระจายของแมงกะพรุนด้วยวิธีการต่าง ๆ เพื่อหาสาเหตุของการเกิดปรากฏการณ์นี้ เช่น การใช้ตาข่ายดัก (Lynam et al. 2011) การสำรวจโดยวิธี Continuous Plankton Recorder (Gibbons and Richardson 2009) การสำรวจโดยใช้เครื่องบิน (Houghton et al. 2006) การนับจำนวนแมงกะพรุนจากการสำรวจโดยใช้เรือและการสำรวจตามแนวชายฝั่ง (Doyle et al. 2007) รวมถึงการหาความสัมพันธ์ระหว่างความชุกชุมของแมงกะพรุนกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและชีวภาพ จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การจับปลาที่มากเกินไป การทิ้งขยะและของเสียจากชุมชนลงสู่น้ำลำคลอง การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ การนำเข้าหรือส่งออกสัตว์น้ำต่างถิ่น และการเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัย ล้วนแล้วแต่เป็นสาเหตุที่ทำให้การสะพรั่งของแมงกะพรุน เกิดบ่อยครั้งและมีจำนวนมากขึ้น (Richardson et al. 2009)

แมงกะพรุน เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จัดอยู่ในไฟลัม Cnidaria ไฟลัมย่อย Medusozoa ซึ่งประกอบด้วย 3 ชั้น (class) ได้แก่ Hydrozoa, Cubozoa และ Scyphozoa (Daly et al. 2007) ในแต่ละชั้นมีรูปร่างและสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน ทั้งในระยะ planula และตัวเต็มวัย แมงกะพรุนเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีขนาดใหญ่ กินแพลงก์ตอนสัตว์ ลูกปลา และสัตว์อื่นๆ เป็นอาหาร มีลักษณะลำตัวใสและนิ่ม ลำตัวด้านบนมีรูปร่างคล้ายร่ม มีหนวดซึ่งประกอบด้วยเข็มพิษสำหรับป้องกันตัวและจับเหยื่อ ร่างกายส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยส่วนของวุ้น โดยทั่วไปจะเรียกสัตว์ในกลุ่มนี้ว่า “jellyfish” มีการดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอน วัยน้ำหรือเคลื่อนไหวโดยการหดตัวของกล้ามเนื้อหรือลำตัว ด้วยการปัมน้ำออกจากช่องลำตัว (Conway et al. 2003) พบแพร่กระจายในมหาสมุทรทั่วโลก ตั้งแต่บริเวณผิวน้ำไปจนถึงทะเลลึก มีบางชนิดที่อาศัยในน้ำจืด แมงกะพรุนเกือบทุกชนิดในชั้น Scyphozoa ซึ่งรวมถึงแมงกะพรุนที่มีขนาดใหญ่และหลากหลายสีสันพบเห็นได้ทั่วไปตามชายหาด อาศัยอยู่บนผิวน้ำ แต่พบมากในบริเวณใกล้ชายฝั่ง

สัตว์ในไฟลัมย่อย Medusozoa มีรูปร่างที่หลากหลาย ประกอบด้วยระยะที่อาศัยเกาะติดอยู่บนพื้นและลอยบนผิวน้ำ มี medusozoans หลายชนิดที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทั้งสองระยะในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิต การบ่งชี้ชนิดของ medusozoans มีความยุ่งยากซับซ้อน เนื่องจากสัตว์ในกลุ่มนี้มีความแปรปรวนและถูกทำลายได้ง่ายในระหว่างการเก็บตัวอย่างโดยทั่วไปด้วยการใช้ตาข่ายดักจับ เพราะในเนื้อเยื่อมีน้ำเป็นส่วนประกอบหลัก ด้วยเหตุนี้การบ่งชี้ตัวอย่างให้ถึงระดับชนิด ซึ่งต้องอาศัยการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาอย่างละเอียดจึงไม่สามารถทำได้ นอกจากนี้แล้วความผันแปรทางสัณฐานวิทยา (phenotypic plasticity) ได้แก่ ขนาดและรูปร่าง (Willcox et al. 2008) ความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาซึ่งเกี่ยวข้องกับระยะห่างระหว่างประชากร (geographical distance) (Bolton and Graham 2004) ล้วนแล้วแต่เป็นสาเหตุให้การจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความไม่แน่นอน ปัญหาการจำแนกชนิดแมงกะพรุนโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว ยังพบในการบ่งชี้ชนิดตัวอย่างที่อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น planula, actinula, polyp และ ehyra เนื่องจากตัวอ่อนในระยะดังกล่าวมาข้างต้นไม่ค่อยเป็นที่รู้จักมากนัก เช่นเดียวกับปัญหาที่พบในการจัดจำแนก cryptic species (มีสัณฐานวิทยาคลายคลึงกัน แต่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการ) โดยวิธือนุกรมวิธาน ซึ่งปัญหาและอุปสรรคในการจัดจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์ (Holland et al. 2004)

เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาสัตว์ในชั้น (class) Scyphozoa ซึ่งประกอบด้วยแมงกะพรุนเป็นส่วนใหญ่ โดยเน้นการศึกษาด้านวิวัฒนาการ (phylogeny, Bayha et al. 2010) การจัดจำแนกชนิด (species discrimination, Bayha and Dawson 2010; Galil et al. 2010; Ortman et al. 2010) และการศึกษาภูมิศาสตร์เชิงวิวัฒนาการ (phylogeography, Stopar et al. 2010; Lee et al. 2013) จากรายงานการศึกษาการจัดจำแนกชนิดสัตว์ในกลุ่มนี้โดยใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์พบว่าความผันแปรทางพันธุกรรมบริเวณ mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I หรือ COI อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการจัดจำแนกชนิดสัตว์ในชั้น Scyphozoa ในสกุล *Aurelia* (Dawson and Jacobs 2001) *Cassiopea* (Holland et al. 2004) *Cyanea* (Dawson 2005) และ *Drymonema* (Bayha and Dawson 2010) เป็นต้น นอกจากนี้แล้วยังสามารถประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ลำดับทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI ร่วมกับการศึกษาอณูกรรมวิธานเพื่อแก้ปัญหาความสับสนในการจัดจำแนกชนิดแมงกะพรุน *Cyanea capillata* และ *C. lamarckii* ซึ่งมีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน และพบมีการผสมพันธุ์ในเวลาใกล้เคียงกันบริเวณทะเลทางตอนเหนือของทวีปยุโรป (Holst and Laakmann 2013)

เครื่องหมายทางพันธุกรรม COI สามารถใช้เป็น DNA barcode (ลำดับทางพันธุกรรมสายสั้น ๆ ที่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิต คล้ายกับบาร์โคดของสินค้า) ในการจัดจำแนกชนิดประชากรแมงกะพรุนที่พบแพร่กระจายโดยทั่วไป และมีความหลากหลายของลักษณะรูปร่างภายนอก (phenotypic plasticity) จนทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกโดยใช้วิธีอนุกรมวิธาน (Ortman et al. 2010) แมงกะพรุนที่เราไม่ทราบชนิด (unknown species) สามารถนำมาจำแนกได้ถึงระดับชนิดอย่างถูกต้องและแม่นยำโดยการวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับบาร์โคดมาตรฐาน นั่นคือ ลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ COI ถ้าหากข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างแมงกะพรุนชนิดนั้นมีอยู่แล้วในฐานข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมระดับสากล เช่น ฐานข้อมูล GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) ก็จะสามารถทราบชนิดของแมงกะพรุนชนิดนั้นได้ในทันที แต่หากไม่มีตัวอย่างของลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนชนิดนั้นในฐานข้อมูล ก็จะได้เพียงข้อมูลชนิดของแมงกะพรุนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแมงกะพรุนที่เราไม่ทราบชนิดเท่านั้น

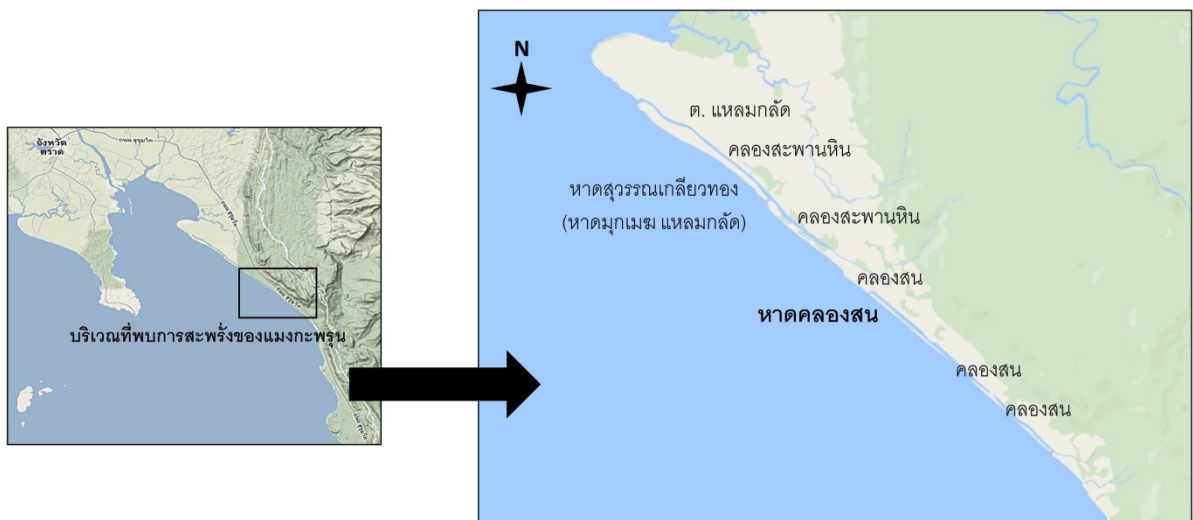
จากการทบทวนรายงานการศึกษาแมงกะพรุนทะเลที่พบในประเทศไทยในช่วงปี ค.ศ. 2001-2010 (พ.ศ. 2544-2553) (Satapoomin et al. 2012) พบว่า การศึกษาแมงกะพรุนที่พบบริเวณอ่าวไทยมีน้อยมาก ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาความหลากหลายและความชุกชุมของแมงกะพรุนในกลุ่ม hydrozoan plankton บริเวณอ่าวไทยตอนบน พบแมงกะพรุนทั้งหมด 63 ชนิด จาก 6 อันดับ (order) ของแมงกะพรุนในชั้น (class) hydrozoa (Wutticharoenmongkol and Wongrat 2004) ก่อนหน้านั้น Tandavanitj (2001) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของชนิดและความชุกชุมของแมงกะพรุนในอันดับ Rhizostomeae บริเวณชายฝั่งทะเลของจังหวัดชลบุรีและเพชรบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่จับแมงกะพรุนที่สำคัญ โดยมีการเก็บตัวอย่างทุกเดือนระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2542 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 จากการศึกษาพบแมงกะพรุนทั้งหมด 6 ชนิด โดยมี 2 ชนิดเป็นสัตว์เศรษฐกิจ (แมงกะพรุนหนัง *Rhopilema hispidum* Vanhoffen 1888 และแมงกะพรุนลอดช่อง *Lobonema smithii* Mayer 1910) ส่วนอีก 4 ชนิดไม่ใช่สัตว์เศรษฐกิจ ได้แก่ *Cassiopea andromeda* (Forsk. 1775) แมงกะพรุนหางขน *Acromitus flagellatus* (Maas 1903) *Acromitus hardenbergii* Stiasny 1934 และแมงกะพรุนขี้ไก่ *Catostylus townsendi* Mayer 1915 แมงกะพรุนหนังพบได้บ่อยในจังหวัดชลบุรีเมื่อเทียบกับจังหวัดเพชรบุรี ในขณะที่แมงกะพรุนลอดช่องพบเฉพาะในจังหวัดเพชรบุรี จังหวัดชลบุรีตรวจพบแมงกะพรุนมากที่สุดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2542 ส่วนจังหวัดเพชรบุรีพบแมงกะพรุนมากที่สุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2542 แมงกะพรุนหางขน *Acromitus flagellatus* เป็นชนิดเด่นที่พบในทั้งสองจังหวัด

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับลักษณะทางพันธุกรรมบริเวณ COI เพื่อช่วยแก้ไขปัญหาความสับสนในการจัดจำแนกชนิดแมงกะพรุนอันเกิดจากความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวด รวมไปถึงศึกษาความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีที่พบในบริเวณพื้นที่ศึกษา ข้อมูลจากการศึกษานี้เป็นความรู้พื้นฐานที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการตรวจติดตามความชุกชุมและการแพร่กระจายของแมงกะพรุน รวมไปถึงการหาสาเหตุของการสะพรั่งของแมงกะพรุนอันจะนำไปสู่การช่วยป้องกันและบรรเทาผลกระทบของการสะพรั่งของแมงกะพรุน ต่อการประมงชายฝั่ง อุตสาหกรรม และการท่องเที่ยว

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างแมงกะพรุนโดยใช้สวิงขนาดเล็กต่กบนเรือตามวิธีการของ Browne and Kingsford (2005) จากบริเวณที่พบแมงกะพรุนหลากสีสะพรั่งในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 โดยสำรวจพบบริเวณหาดคลองสน ต. แหลมกลัด อ. เมือง จ. ตราด (ภาพที่ 1-ภาพที่ 3) เก็บตัวอย่างแมงกะพรุน 3 ตัวอย่าง ต่อกลุ่ม ตามลักษณะสัณฐานวิทยา (morphotypes, แบ่งตามความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวด) เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม นำตัวอย่างแมงกะพรุนทั้งหมดมาชั่งน้ำหนักเปียก (wet weight, กรัม) วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (bell diameter, เซนติเมตร) บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก เช่น สีของลำตัวและหนวด ตัวอย่างที่จะนำไปศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก เป็นตัวอย่างแมงกะพรุนทั้งตัว รักษาสภาพตัวอย่างด้วยฟอร์มาลิน 10% เพื่อนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ส่วนที่สอง คือ ตัวอย่างเนื้อเยื่อเพื่อการศึกษาวีเคราะห์ทางพันธุกรรม ได้จากการตัดชิ้นส่วนของแมงกะพรุนบริเวณขอบร่มหรือหนวด ความยาวประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร แล้วนำไปเก็บรักษาใน absolute ethanol



ภาพที่ 1 แผนที่แสดงบริเวณที่พบการสะพรั่งของแมงกะพรุนหลากสี (ภาพถ่าย, แผนที่ตัดแปลงมาจาก ทรรคิน ปณิธานะรักษ์ และคณะ (2559)) บริเวณหาดคลองสน ต. แหลมกลัด อ. เมือง จ. ตราด (ภาพขวา, แผนที่ตัดแปลงมาจาก แผนที่ จ. ตราด โดย www.earthviewmaps.com)



ภาพที่ 2 แมงกะพรุนหลากสีสะพรั่งบริเวณหาดคลองสน ต. แหลมกลัด อ. เมือง จ. ตราด



ภาพที่ 3 การเก็บตัวอย่างแมงกะพรุนเพื่อนำไปศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาโดยใช้เอกสารจัดจำแนกชนิดของ Mianzan and Cornelius (1999)

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

1. การสกัด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการหาลำดับทางพันธุกรรม

นำตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เก็บรักษาไว้ใน absolute ethanol มาสกัดดีเอ็นเอ เริ่มจากการตัดชิ้นของเนื้อเยื่อเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปสกัดดีเอ็นเอ โดยการใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ DNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany) ที่ออกแบบมาเพื่อสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อสัตว์ และปฏิบัติตามขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอดังที่แนบไว้ในชุดสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นจึงเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน COI ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เหมาะสมต่อการจัดจำแนกและระบุชนิดของแมงกะพรุน (Holst and Laakmann 2013) โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรม (universal primers) HCO2198 และ LCO1490 (Folmer et al. 1994) การขยายปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ COI ดัดแปลงมาจากวิธีการใน Holst and Laakmann (2013) โดยในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งมีปริมาตรรวม 25 μ L ประกอบด้วย 0.2 mM dNTP, 1xPCR buffer, 400 nmol/ μ L each primer, 3 mM $MgCl_2$, 1.25 unit platinum *Taq* DNA polymerase และ 0.1-1.0 ng/ μ L template DNA

ขั้นตอนในปฏิกิริยา PCR อ้างอิงจาก Holst and Laakmann (2013) โดยเริ่มจากการแยกสายดีเอ็นเอในช่วงเริ่มต้น (initial denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วย 38 รอบของการแยกสายดีเอ็นเอ (denaturation) ที่ 94 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 45 วินาที การจับคู่ระหว่างเครื่องหมายพันธุกรรมกับดีเอ็นเอสายเดี่ยว (annealing) ที่ 42 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 45 วินาที และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (extension) ที่ 72 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 1 นาที 20 วินาที ปิดท้ายขั้นตอนด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ 72 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 7 นาที

ทำผลผลิตดีเอ็นเอ (PCR product) ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดทำผลผลิตดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ QIAquick PCR purification kit (Qiagen) จากนั้นนำ purified PCR product ไปวิเคราะห์เพื่อหาลำดับทางพันธุกรรมด้วยเครื่อง automated sequencer รุ่น ABI 3730 XL ของหน่วยบริการวิเคราะห์หาลำดับทางพันธุกรรมบริษัท Macrogen Inc. กรุงโซล ประเทศเกาหลี

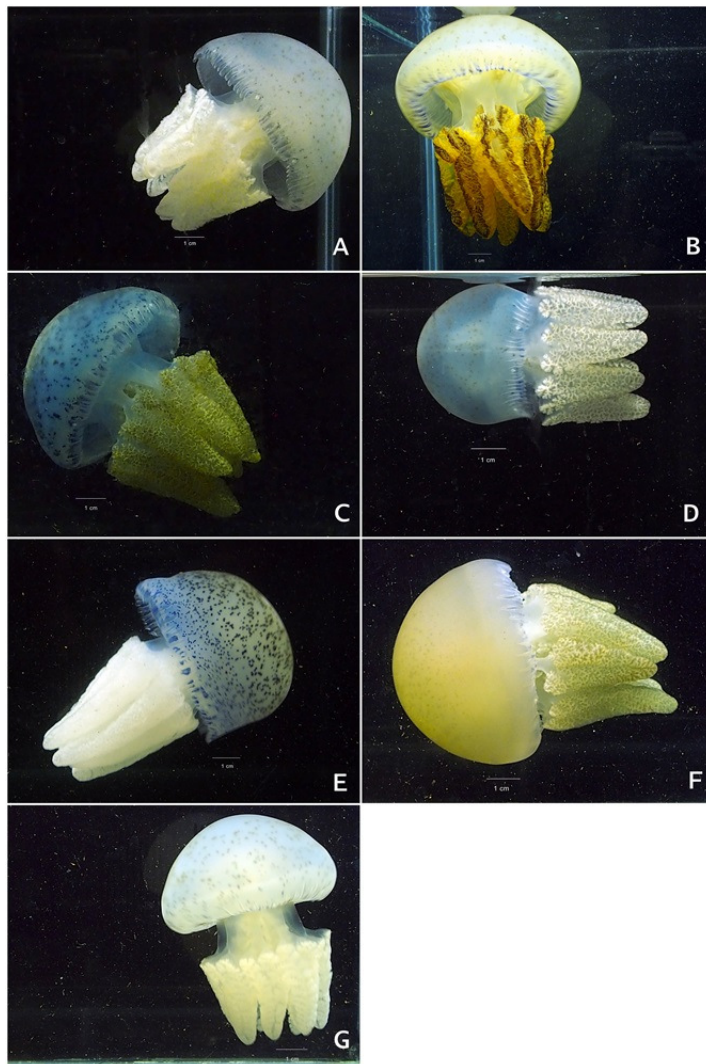
2. การวิเคราะห์ข้อมูล

ตรวจสอบลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างเพื่อยืนยันความถูกต้องของการอ่านค่า นำผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของแต่ละตัวอย่างจาก forward และ reverse primers มาเปรียบเทียบและรวมกันเป็นเส้นเดี่ยว (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม CAP3 (Huang and Madan 1999, โปรแกรม CAP3 ออนไลน์ เข้าถึงได้จาก <http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php>) จากนั้นจึงเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม Clustal X (Thompson et al. 1997) คำนวณค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของตัวอย่าง (pairwise genetic distance, distance measure = Uncorrected ("p")) โดยใช้โปรแกรม PAUP* 4.0 beta 10 (Swofford 2002) และเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนบริเวณ COI จากการศึกษาครั้งนี้กับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

ความผันแปรของลักษณะสัณฐานวิทยา

จากการสำรวจบริเวณที่พบการสะสมของแมงกะพรุนหลากสี พบแมงกะพรุนหลากสี 7 กลุ่ม แบ่งตามความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวด ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีขาว (แทนชื่อตัวอย่างด้วย A1-A3) กลุ่มที่ 2 ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีม่วง (B1-B3) กลุ่มที่ 3 ลำตัวสีฟ้า มีจุดสีฟ้า หนวดเข้ม (C1-C3) กลุ่มที่ 4 ลำตัวสีฟ้า หนวดสีเข้ม (D1-D3) กลุ่มที่ 5 ลำตัวสีขาว มีจุดสีน้ำเงิน หนวดสีขาว (E1-E3) กลุ่มที่ 6 ลำตัวสีขาว หนวดสีเข้ม (F1-F3) และกลุ่มที่ 7 ลำตัวสีขาว หนวดสีขาว (G1-G3) ความผันแปรของสีที่พบในแมงกะพรุนทั้ง 7 กลุ่ม แสดงในภาพที่ 4

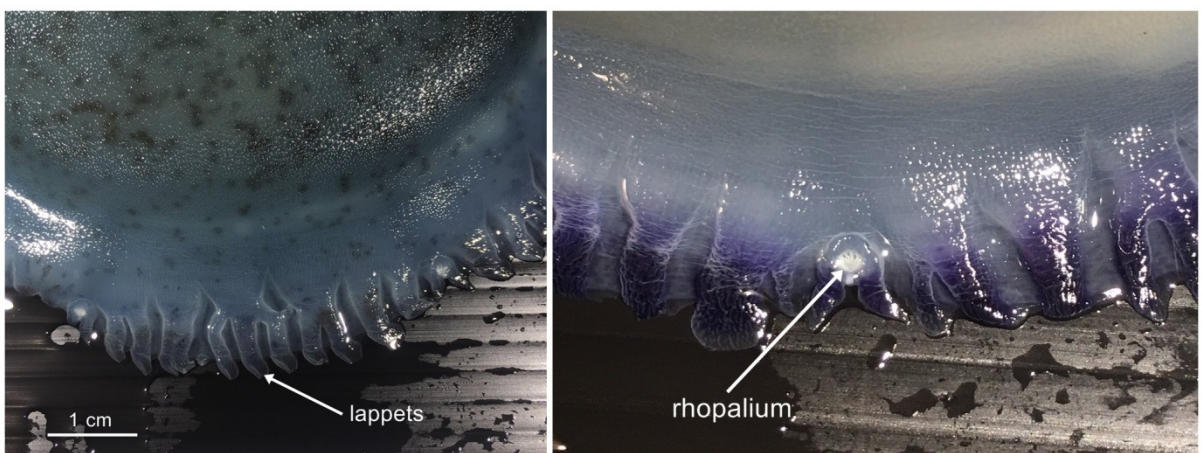


ภาพที่ 4 ความผันแปรของสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวดที่พบในแมงกะพรุนหลากสี 7 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีขาว (A) กลุ่มที่ 2 ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีม่วง (B) กลุ่มที่ 3 ลำตัวสีฟ้า มีจุดสีฟ้า หนวดเข้ม (C) กลุ่มที่ 4 ลำตัวสีฟ้า หนวดสีเข้ม (D) กลุ่มที่ 5 ลำตัวสีขาว มีจุดสีน้ำเงิน หนวดสีขาว (E) กลุ่มที่ 6 ลำตัวสีขาว หนวดสีเข้ม (F) และกลุ่มที่ 7 ลำตัวสีขาว หนวดสีขาว (G)

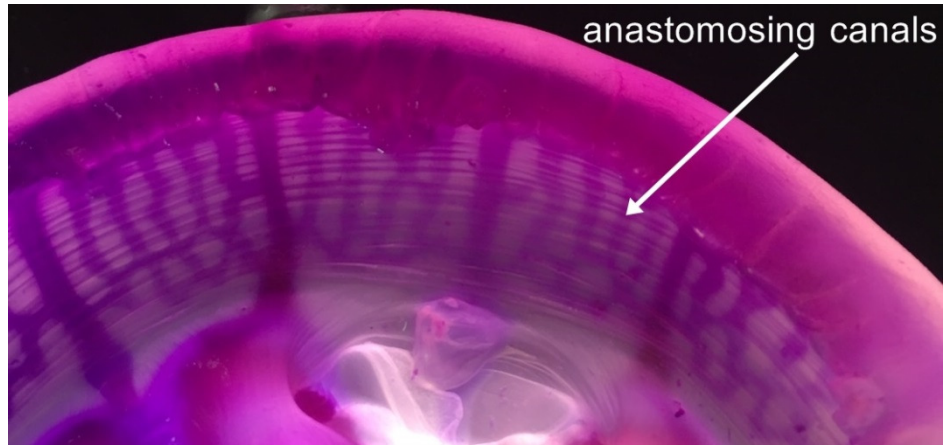
จากการวัดขนาดและชั่งน้ำหนักแมงกะพรุนหลากสี จำนวน 21 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างแมงกะพรุนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัวตั้งแต่ 5.5-9.8 เซนติเมตร ขนาดเฉลี่ย 8.53 ± 0.99 เซนติเมตร มีน้ำหนักเปียกตั้งแต่ 50.82-232.67 กรัม น้ำหนักเฉลี่ย 174.31 ± 47.56 กรัม การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นใช้เอกสารจัดจำแนกชนิดของ Mianzan and Cornelius (1999) พบว่าแมงกะพรุนทั้ง 7 กลุ่ม มีลักษณะสัณฐานวิทยาค้ำยคลึงกัน จัดอยู่ในลำดับ Rhizostomeae ลำดับย่อย Dactylophorae กลุ่มวงศ์ Inscapulatae วงศ์ Catostylidae สกุล *Catostylus* ลักษณะลำตัว ผิวด้านนอกของร่ม (umbrella) เรียบไม่มีปุ่ม (granular) สีของร่มมีสีขาวและสีฟ้า มีเม็ดสี (pigment) กระจายอยู่ทั่วไป (ภาพที่ 5) ขอบร่มเป็นริ้ว (lappets) ไม่มีหนวดที่ขอบร่ม (marginal tentacle) มีจำนวนริ้วขอบร่ม 7-11 lappets ในแต่ละ octant (จาก Rhopalium หนึ่งไปยังอีก Rhopalium หนึ่ง) (ภาพที่ 6) ด้านล่างของร่มมีหนวด (oral arm) ลักษณะเหมือนรยางค์ที่ยื่นออกมาจากตรงกลางของ subumbrella มีทั้งหมด 8 เส้น ไม่มี scapulets บนหนวด แต่มีช่องเปิดให้น้ำเข้าขนาดเล็ก (mouthlets) เรียงบนหนวดซึ่งมีสีสันทกต่างกัน ตั้งแต่สีขาว สีม่วง และสีเข้มเกือบดำ radial canal 16 ช่องออกมาจาก primary ring canal และขยายไปถึงขอบของร่ม ระหว่างแต่ละ canal ประกอบด้วย anastomosing canals ที่ประสานกันเป็นเครือข่าย (ร่างแห) อยู่ภายในขอบของร่มซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสกุล *Catostylus* (Mianzan and Cornelius 1999) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 5 ลักษณะผิวด้านนอกของร่ม ผิวด้านนอกเรียบไม่มีปุ่ม สีของร่มมีสีขาวและสีฟ้า มีเม็ดสีกระจายอยู่ทั่วไป



ภาพที่ 6 ริ้วขอบร่ม ภาพซ้ายแสดงลักษณะขอบร่มเป็นริ้ว (lappets) ไม่มีหนวดที่ขอบร่ม ภาพขวาแสดงลักษณะรูปร่างของ rhopalium



ภาพที่ 7 ลักษณะของ anastomosing canals ที่ประสานกันเป็นเครือข่าย (ร่างแห) อยู่ภายในขอบของรุ่ม

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานที่จำเป็นต่อการจัดจำแนกในระดับชนิด ได้แก่ ความยาวของหนวกรอบปาก จำนวนและขนาดของริวขอบรุ่ม และลักษณะรูปร่างของ rhopalium พบว่าแมงกะพรุนหลากหลายมีความยาวของหนวกรอบปาก 2 ใน 3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว ริวขอบรุ่มมีจำนวนไม่แน่นอน rhopalium มีรูปทรงรี ค่อนข้างกลม และจากการฉีดยาสีพบการเชื่อมต่อของ anastomosing canals เป็นร่างแห เชื่อมต่อโดยตรงกับ rhophar canal และ ring canal ขนาดของช่องที่มีการเชื่อมต่อบริเวณ intercircular มีรูปร่างคล้ายร่างแห มีขนาดใหญ่กว่าบริเวณ extracircular ซึ่งมีลักษณะช่องตาข่ายขนาดเล็กและละเอียด ลักษณะการเชื่อมต่อของ anastomosing canals ที่พบในแมงกะพรุนหลากหลายเป็นลักษณะเฉพาะของแมงกะพรุนชนิด *Catostylus townsendi* โดยภาพรวมจากการศึกษาลักษณะสัณฐานที่จำเป็นต่อการจัดจำแนกแมงกะพรุนในระดับชนิด พบว่าแมงกะพรุนหลากหลายเป็นชนิด *C. townsendi*

แมงกะพรุนหลากหลายในการศึกษานี้มีขนาดเล็กกว่าแมงกะพรุนบางชนิดในสกุล *Catostylus* เช่น *C. mosaicus* ที่มีขนาด 25-35 เซนติเมตร และ *C. cruciatus* ที่มีขนาด 12-15 เซนติเมตร (สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน 2558) แต่มีขนาดใกล้เคียงกับแมงกะพรุนหลากหลายที่พบแพร่กระจายบริเวณทะเลอันดามันในพื้นที่จังหวัดภูเก็ต และบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทย ซึ่งสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (2558) ได้จำแนกกว่าเป็นชนิด *C. townsendi* เช่นเดียวกัน โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว (ความกว้างของรุ่ม) 10 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) นอกจากนี้แล้วยังมีขนาดใกล้เคียงกับการศึกษาสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของแมงกะพรุนหลากหลายบริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราดโดย ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ และสุพัตรา ตะเหลบ (2560) ซึ่งพบว่ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัวตั้งแต่ 6.60-10.55 เซนติเมตร ขนาดเฉลี่ย 8.09 ± 0.91 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาในการศึกษานี้กับการศึกษาโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (2558) ซึ่งศึกษาสัณฐานวิทยาของแมงกะพรุนโดยใช้คู่มือของ Kramp (1961) (ตารางที่ 1) พบว่าการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาในการจำแนกชนิด ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว ลักษณะผิวด้านนอกของรุ่ม ริวขอบรุ่ม และลักษณะหนวกรอบปาก ให้ผลการศึกษาสอดคล้องกันดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแมงกะพรุนหลากสีสกุล *Catostylus* เปรียบเทียบระหว่างการศึกษานี้และการศึกษาโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (สวพ.) (2558)

ลักษณะสัณฐานวิทยา	สวพ. (2558)	การศึกษานี้
เส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว	ขนาด 10 เซนติเมตร	ขนาดเฉลี่ย 8.09 ± 0.91 เซนติเมตร
ลักษณะผิวหนังนอกของร่ม	ผิวหนังนอกมีเม็ดละเอียด สีของร่มมีสีส้มแตกต่างกันตั้งแต่ขาว เหลืองนวล น้ำตาล ฟ้าม่วง น้ำเงิน	ผิวหนังนอกเรียบไม่มีปุ่ม สีของร่มมีสีขาวและสีฟ้า มีเม็ดสีกระจายอยู่ทั่วไป
ริ้วขอบร่ม	ริ้วระหว่างตายาวมากกว่าความกว้าง 2 เท่า ริ้วใต้ตารูปวงรี มีขนาดเล็ก มีจำนวนไม่แน่นอน	มีริ้วขอบร่ม 7-11 ริ้วในแต่ละ octant จำนวนริ้วขอบร่มไม่แน่นอน ไม่มีหมวดที่ขอบร่ม ริ้วใต้ตามีขนาดเล็ก รูปวงรีค่อนข้างกลม
ลักษณะหนวกรอบปาก	หนวกรอบปากยาวเป็น 2/3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของร่ม รูปทรงกรวย ปลายแหลม	หนวกรอบปากลักษณะเหมือนรยางค์ที่ยื่นออกมาจากตรงกลางของ subumbrella หนวดยาว 2/3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของร่ม รูปทรงกรวย ปลายแหลม มีทั้งหมด 8 เส้น ไม่มี scapulets บนหนวด แต่มีช่องเปิดให้น้ำเข้าขนาดเล็กเรียงบนหนวดซึ่งมีสีส้มแตกต่างกัน ตั้งแต่สีขาว สีม่วง และสีเข้มเกือบดำ

ความผันแปรของลักษณะทางพันธุกรรม

จากการสกัดและเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอของแมงกะพรุนหลากสีบริเวณยีน COI จำนวน 21 ตัวอย่าง มีตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จและนำไปวิเคราะห์ลำดับทางพันธุกรรมได้จำนวน 18 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ไม่ได้นำไปวิเคราะห์ลำดับทางพันธุกรรม ได้แก่ ตัวอย่าง B1 D3 และ E3) จากการวิเคราะห์ลำดับทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI ซึ่งมีขนาด 688 bp ในแมงกะพรุนหลากสีจำนวน 18 ตัวอย่าง จำแนกลำดับทางพันธุกรรมได้ 8 รูปแบบ (8 haplotype) แทนด้วย Hap1 ถึง Hap8 haplotype ที่พบมากที่สุด คือ Hap4 พบในแมงกะพรุน 8 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง B3 C2 D2 F1 F3 G1 G2 และ G3 haplotype ที่พบรองลงมา คือ Hap1 พบใน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง A2 B2 C3 และ F2 สำหรับ haplotype Hap2 Hap3 และ Hap5 ถึง Hap8 พบในแมงกะพรุน 1 ตัวอย่าง/haplotype เมื่อเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมใน 8 haplotype พบว่ามีความแตกต่างกันน้อย มีนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความแตกต่างกัน 8 ตำแหน่ง (ภาพที่ 8) ซึ่งเกิดจากการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์แบบ transition ความแตกต่างระหว่างคู่ของ haplotype มีค่าน้อยเช่นเดียวกัน โดยแสดงความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์เพียง 1-3 ตำแหน่ง

	00012236
	29984636
	40960706
Hap1	CAACTTTC
Hap2	TG.....
Hap3	.G...C.T
Hap4	.G.....
Hap5	TG..C...
Hap6	.GG.....
Hap7	.G.T..C.
Hap8	...T.....

ภาพที่ 8 ตำแหน่งความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรม (polymorphic sites) บริเวณ mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) จำนวน 8 ตำแหน่ง เปรียบเทียบระหว่าง haplotype ของแมงกะพรุนหลากสี (Hap1 ถึง Hap8) ตัวเลขบนลำดับทางพันธุกรรมแสดงตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ (ขนาด 688 bp) เครื่องหมาย . แสดงนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกันกับ Hap1

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของตัวอย่างแมงกะพรุน พบว่าค่า pairwise genetic distance (distance measure = Uncorrected ("p")) มีค่าน้อยมาก โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0-0.59% (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (pairwise genetic distance) ระหว่างคู่ของตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสีโดยแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 A2	-																	
2 B2	0	-																
3 C1	0.29	0.30	-															
4 E2	0.44	0.45	0.44	-														
5 B3	0.15	0.15	0.15	0.29	-													
6 F1	0.15	0.15	0.15	0.29	0	-												
7 F3	0.15	0.15	0.15	0.30	0	0	-											
8 G1	0.15	0.15	0.15	0.30	0	0	0	-										
9 D2	0.15	0.15	0.15	0.30	0	0	0	0	-									
10 G2	0.15	0.15	0.15	0.30	0	0	0	0	0	-								
11 A1	0.44	0.45	0.15	0.59	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	-							
12 C2	0.15	0.15	0.15	0.29	0	0	0	0	0	0	0.29	-						
13 F2	0	0	0.29	0.44	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.44	0.15	-					
14 G3	0.15	0.15	0.15	0.30	0	0	0	0	0	0	0.30	0	0.15	-				
15 D1	0.29	0.30	0.29	0.44	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.44	0.15	0.29	0.15	-			
16 E1	0.44	0.45	0.44	0.59	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.59	0.29	0.44	0.30	0.44	-		
17 C3	0	0	0.30	0.44	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.44	0.15	0	0.15	0.30	0.44	-	
18 A3	0.15	0.15	0.44	0.59	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	0.59	0.29	0.15	0.30	0.44	0.29	0.15	-

จากการวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมบางส่วนของยีน COI ในไมโทคอนเดรีย เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างแมงกะพรุนทั้งหมด 18 ตัวอย่าง พบว่าความแตกต่างของลำดับทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI มีค่าน้อยมาก โดยแสดงความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์เพียง 1-3 ตำแหน่ง จากตำแหน่งที่ทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบทั้งหมด 688 ตำแหน่ง ผลการศึกษาระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ได้จากการคำนวณความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของตัวอย่างแมงกะพรุนหรือค่า pairwise genetic distance มีค่าน้อยเช่นเดียวกัน โดยพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0-0.59% ระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมที่พบในแมงกะพรุนหลากสีจากการศึกษานี้ใกล้เคียงกับค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีจากการศึกษาเบื้องต้นโดย ทรริศิน ปณิธานะรักษ์ และสุพิศรดา ทะเหลบ (2560) ซึ่งมีค่า pairwise genetic distance อยู่ระหว่าง 0-0.75% นอกจากนี้แล้ว ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมในการศึกษานี้ยังมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับระดับความแตกต่างภายในชนิดของแมงกะพรุนชนิดอื่นที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ เช่น แมงกะพรุนชนิด *Cyanea lamarckii* และ *C. capillata* ซึ่งมีค่า pairwise genetic distance ระหว่าง 0-0.3% และ 0-1.5% ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างแมงกะพรุนทั้งสองชนิด มีค่า 15.5-17.0% (Holst and Laakmann 2013) การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งชี้ให้เห็นว่า ความผันแปรทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI มีความหลากหลายในระดับที่เหมาะสมต่อการจัดจำแนกชนิดสัตว์ในชั้น Scyphozoa (Dawson and Jacobs 2001; Holland et al. 2004; Dawson 2005; Bayha and Dawson 2010) ซึ่งประกอบด้วยแมงกะพรุนเป็นส่วนใหญ่

การศึกษาเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด กับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนบริเวณยีน COI ในฐานข้อมูล GenBank โดย ทรริศิน ปณิธานะรักษ์ และคณะ (2559) พบว่าแมงกะพรุนหลากสีมีลำดับทางพันธุกรรมคล้ายกันกับแมงกะพรุนชนิด *Catostylus mosaicus* มากที่สุด (ภาพที่ 9) มีค่าความคล้ายคลึงของลำดับทางพันธุกรรม 85% (ภาพที่ 10) ซึ่งมีค่าไม่มากพอที่จะระบุว่าแมงกะพรุนหลากสีคือแมงกะพรุนชนิด *C. mosaicus* สอดคล้องกับการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น ที่พบว่าแมงกะพรุน *C. mosaicus* มีขนาดแตกต่างจาก

แมงกะพรุนหลากสีค่อนข้างมาก โดย *C. mosaicus* มีขนาดลำตัวประมาณ 25-35 เซนติเมตร ในขณะที่แมงกะพรุนหลากสีจากการศึกษานี้มีขนาดตั้งแต่ 5.5-9.8 เซนติเมตร ขนาดเฉลี่ย 8.53 ± 0.99 เซนติเมตร การเปรียบเทียบข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมในการศึกษานี้กับข้อมูลจากฐานข้อมูล GenBank ไม่สามารถจำแนกแมงกะพรุนหลากสีได้ถึงระดับชนิด เนื่องจากไม่พบข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนชนิดอื่นในสกุล *Catostylus* เลย นอกจากแมงกะพรุน *C. mosaicus*



Catostylus mosaicus UNREVIEWED

 Fred Hsu (Wikipedia:User:Fredhsu on en.wikipedia)

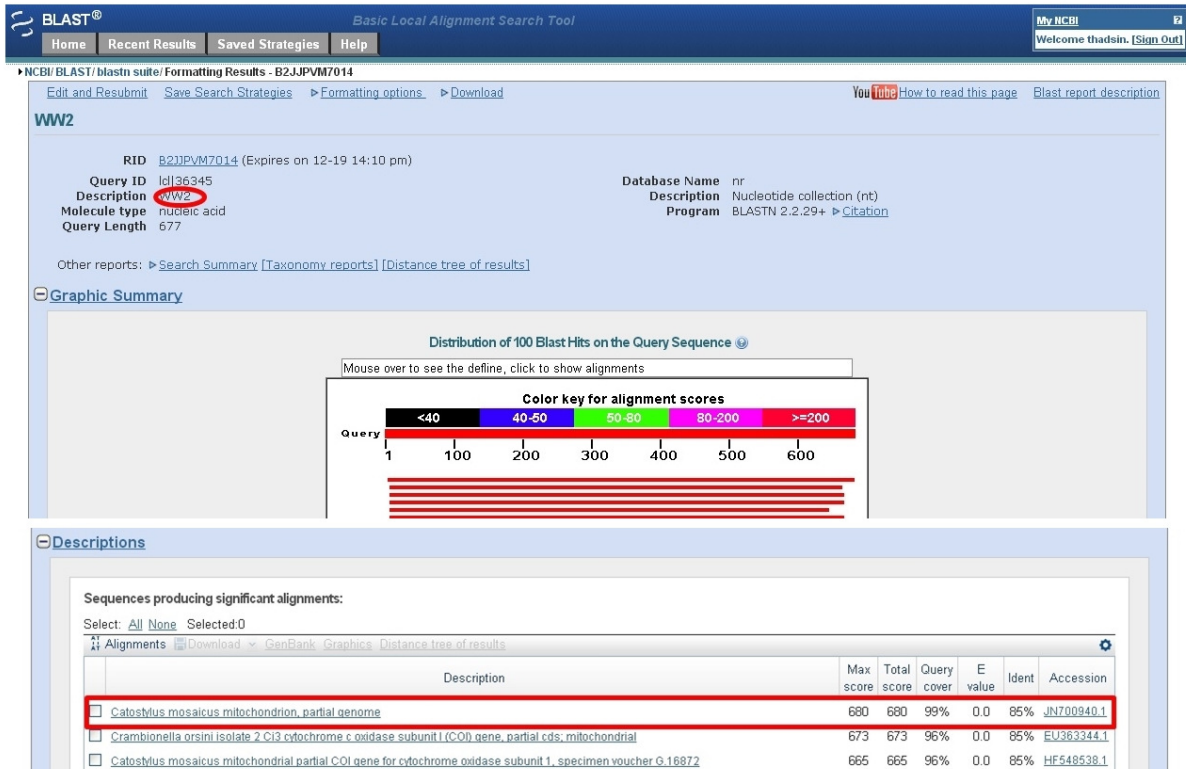
Source: [Wikimedia Commons](#)



[see all media](#)

[see all maps](#)

ภาพที่ 9 แมงกะพรุนชนิด *Catostylus mosaicus* มีลำดับทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI ในฐานข้อมูล GenBank ใกล้เคียงกับแมงกะพรุนหลากสีมากที่สุด ภาพจาก Wikimedia Commons



ภาพที่ 10 ผลการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีกับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนบริเวณเย็น COI ในฐานข้อมูล GenBank โดย ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ และคณะ (2559) พบว่าแมงกะพรุนหลากสีมีลำดับทางพันธุกรรมคล้ายกันกับแมงกะพรุนชนิด *Catostylus mosaicus* มากที่สุด โดยมีความคล้ายคลึงของลำดับทางพันธุกรรม 85%

ผลการศึกษาสันฐานวิธานเบื้องต้นและความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมในตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสีมีความสอดคล้องกัน นั่นคือ แมงกะพรุนหลากสี 18 ตัวอย่าง มีลักษณะสันฐานวิธานภายนอกคล้ายคลึงกัน จัดอยู่ในสกุล *Catostylus* ชนิด *C. townsendi* และจากข้อมูลความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมบริเวณเย็น COI พบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมในตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสีมีค่าน้อย โดยมีความอยู่ในช่วงเดียวกับระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในชนิดของแมงกะพรุน นั่นคือ แมงกะพรุนหลากสีทั้งหมดจัดเป็นชนิดเดียวกันตามลักษณะสันฐานวิธานและยืนยันการจัดจำแนกชนิดได้จากข้อมูลความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรม ความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหนวดของแมงกะพรุน ไม่ได้แสดงถึงความแตกต่างระหว่างชนิด แต่แสดงถึงความหลากหลายของลักษณะสันฐานวิธานที่ปรากฏในแมงกะพรุนชนิดเดียวกัน ความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีบริเวณเย็น COI ไม่สอดคล้องกับสีที่ปรากฏบนลำตัวและหนวดของแมงกะพรุน ความหลากหลายของสีน่าจะเกิดจากเม็ดสี (pigment) ที่ผลิตจากตัวแมงกะพรุนเอง เช่นในกรณีแมงกะพรุน *C. mosaicus* (Richmond 1997) หรือเกิดจากเม็ดสีของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก (micro-organisms) ซึ่งอาศัยภายในตัวของแมงกะพรุนและมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis relationship) ตัวอย่างเช่น สาหร่าย zooxanthellae ที่อาศัยอยู่ร่วมกับแมงกะพรุน *Mastigias papua* (Sasaki et al. 2002)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาสัณฐานวิทยา ร่วมกับการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI ในไมโทคอนเดรียของแมงกะพรุนหลากสีที่พบมีการสะสมพันธุ์เป็นประจำทุกปี บริเวณชายฝั่งทะเล จ. ตราด ในครั้งนี้ช่วยแก้ไข ปัญหาความสับสนในการจัดจำแนกชนิดแมงกะพรุนอันเกิดจากความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหมวด จากการสำรวจในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 พบแมงกะพรุนหลากสีสะสมพันธุ์บริเวณหาดคลองสน ต. แหลมกลัด อ. เมือง จ. ตราด การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบแมงกะพรุนหลากสี 7 กลุ่มซึ่งแบ่งตามความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหมวด แมงกะพรุนหลากสีทั้ง 7 กลุ่มมีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันและจัดอยู่ในสกุล *Catostylus* ชนิด *C. townsendi* สอดคล้องกับการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมบริเวณยีน COI ซึ่งพบว่าแมงกะพรุนหลากสีทั้ง 7 กลุ่มมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยมาก และคาดว่าจะจะเป็นชนิดเดียวกันทั้งหมด

ความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหมวดของแมงกะพรุนหลากสี ไม่ได้แสดงถึงความแตกต่างระหว่างชนิดของแมงกะพรุน แต่แสดงถึงความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาที่ปรากฏในแมงกะพรุนชนิดเดียวกัน ความหลากหลายของสีที่พบน่าจะเกิดจากเม็ดสี (pigment) ที่ผลิตจากตัวแมงกะพรุนเอง เช่นในกรณีแมงกะพรุน *Catostylus mosaicus* (Richmond 1997) หรือเกิดจากเม็ดสีของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก (micro-organisms) ซึ่งอาศัยภายในตัวของแมงกะพรุนและมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis relationship) ตัวอย่างเช่น สาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae) ที่อาศัยอยู่ร่วมกับแมงกะพรุน *Mastigias papua* (Sasaki et al. 2002) สำหรับแมงกะพรุนหลากสี *C. townsendi* นั้นยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงสาเหตุที่พบความผันแปรของสีบริเวณลำตัวและหมวด จึงควรมีการศึกษาในลำดับต่อไปว่าความผันแปรของสีที่พบในแมงกะพรุนชนิดนี้เกิดจากเม็ดสีที่ผลิตจากตัวแมงกะพรุนเอง หรือเกิดจากเม็ดสีของสาหร่ายซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ร่วมกับแมงกะพรุน

ผลผลิต

ผลงานตีพิมพ์ในรายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 8

ทรศิน ปณิธานะรักษ์ และสุพัตรา ตะเหลบ. (2560). สันฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด. ใน รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 8, วันที่ 27-28 มีนาคม พ.ศ. 2560 ณ อาคารปฏิบัติการพื้นฐานและศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี, หน้า 153-163.

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก) 2559A10803025 สัญญาเลขที่ 9/2559

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล

(งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราดโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรม

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ดร. ทรรศิน ปณิธานะรักษ์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึงวันที่ 9 สิงหาคม พ.ศ. 2560

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 11 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2558

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) 233,200 บาท เมื่อ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2558

งวดที่ 2 (40%) 186,560 บาท เมื่อ 2 สิงหาคม พ.ศ. 2559

งวดที่ 3 (10%) 46,640 บาท เมื่อ.....

รวม 466,400 บาท

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	41,976	41,976	-
2. ค่าจ้าง	-	-	-
3. ค่าวัสดุ	179,400	233,888.08	-54,488.08
4. ค่าใช้สอย	193,384	140,435	52,949
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ			
6.1 ค่าธรรมเนียมการอุดหนุนมหาวิทยาลัยและส่วนงาน	46,640	46,640	-
6.2 ค่าสาธารณูปโภค	5,000	-	5,000
รวม	466,400	462,939.08	3,460.92

(.....)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

บรรณานุกรม

- ทรนศิน ปณิธานะรักษ์ ญัฐวุฒิ เหลืองอ่อน อาวุธ หมั่นหาผล สุพัตรา ตะเหลบ และวิรัช เจริญดี. (2559). การจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราดโดยใช้เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์. ใน *ประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 4, วันที่ 10-12 มิถุนายน 2557 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์*, หน้า 287-296.
- ทรนศิน ปณิธานะรักษ์ และสุพัตรา ตะเหลบ. (2560). สันฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีที่พบบริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด. ใน *ประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการสาทร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 8, วันที่ 27-28 มีนาคม 2560 ณ อาคารปฏิบัติการพื้นฐานและศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี*, หน้า 153-163.
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก. (2556). การสะพรั่งของแมงกะพรุนถ้วย. เข้าถึงได้จาก <http://www.emcor.go.th/การสะพรั่งของแมงกะพรุน>
- สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน. (2558). คู่มือการศึกษาความหลากหลายของแมงกะพรุนในน่านน้ำไทย. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 133 หน้า.
- Bayha, K. M. and Dawson, M. N. (2010). New family of allomorphic jellyfishes, Drymonematidae (Scyphozoa, Discomedusae), emphasizes evolution in the functional morphology and trophic ecology of gelatinous zooplankton. *Biological Bulletin*, 219, 249-267.
- Bayha, K. M., Dawson, M. N., Collins, A. G., Barbeitos, M. S. and Haddock, S. H. D. (2010). Evolutionary relationship among scyphozoan jellyfish families based on complete taxon sampling and phylogenetic analyses of 18S and 28S ribosomal DNA. *Integrative and Comparative Biology*, 50, 436-455.
- Bolton, T. F. and Graham, M. W. (2004). Morphological variation among populations of an invasive jellyfish. *Marine Ecology Progress Series*, 278, 125-139.
- Browne, J. G. and Kingsford, M. J. (2005). A commensal relationship between the scyphozoan medusae *Catostylus mosaicus* and the copepod *Paramacrochiron maximum*. *Marine Biology*, 146, 1157-1168.
- Conway, D. V. P., White, R. G., Hugues, D. C. J., Gallienne, C. P. and Robins, D. B. (2003). *Guide to the Coastal and Surface Zooplankton of the South-Western Indian Ocean*. DEFA Darwin Initiative Zooplankton Programme Version 1 June 2003. Marine Biological Association of the United Kingdom Occasional Publication No 15, p 389.
- Daly, M., Brugler, M. R., Cartwright, P., Collins, A. G., Dawson, M. N., Fautin, D. G., France, S. C., McFadden, C. S., Opresko, D. M., Rodriguez, E., Romano, S. L. and Stake, J. L. (2007). The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. *Zootaxa*, 1668, 127-182.
- Dawson, M. N. (2005). *Cyanea capillata* is not a cosmopolitan jellyfish, morphological and molecular evidence for *C. annaskala* and *C. rosea* (Scyphozoa: Semaestomeae: Cyaneidae) in south-eastern Australia. *Invertebrate Systematics*, 19, 361-370.

- Dawson, M. N. and Jacobs, D. K. (2001). Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). *Biological Bulletin*, 200, 92-96.
- Doyle, T. K., Houghton, J. D. R., Buckley, S. M., Hays, G. C. and Davenport, J. (2007). The broadscale distribution of five jellyfish species across a temperature coastal environment. *Hydrobiologia*, 579, 29-39.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294-299.
- Galil, B. S., Gershwin, L.-A., Douek, J. and Rinkevich, B. (2010). *Marivagia stellata* gen. et sp. No. (Scyphozoa: Rhizostomeae: Cepheidae) another alien jellyfish from the Mediterranean coast of Israel. *Aquatic Invasions*, 5, 331-340.
- Gibbons, M. J. and Richardson, A. J. (2009). Patterns of jellyfish abundance in the North Atlantic. *Hydrobiologia*, 616, 51-65.
- Graham, W. M., Pagès, F. and Hamner, W. M. (2001). A physical context for gelatinous zooplankton aggregations: a review. *Hydrobiologia*, 451, 199-212.
- Hay, S. (2006). Marine ecology: gelatinous bells may ring change in marine ecosystems. *Current Biology*, 16, R679-R682.
- Holland, B. S., Dawson, M. N., Crow, G. L. and Hofmann, D. K. (2004). Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of Hawaiian Islands. *Marine Biology*, 145, 1119-1128.
- Holst, S. and Laakmann, S. (2013). Morphological and molecular discrimination of two closely related jellyfish species, *Cyanea capillata* and *C. lamarckii* (Cnidaria, Scyphozoa), from the northeast Atlantic. *Journal of Plankton Research*, 0(0), 1-16. doi 10.1093/plankt/fbt093.
- Houghton, J. D. R., Doyle, T. K., Davenport, J. and Hays, G. C. (2006). Developing a simple, rapid method for identifying and monitoring jellyfish aggregations from the air. *Marine Ecology Progress Series*, 314, 159-170.
- Huang, X. and Madan, A. (1999). CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Research*, 9, 868-877.
- Kramp, P.L. (1961). Synopsis of the medusae of the world. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 40, 1-469.
- Lee, P. L. M., Dawson, M. N., Neill, S. P., Robins, P. E., Houghton, J. D. R., Doyle, T. K. and Hays, G. C. (2013). Identification of genetically and oceanographically distinct blooms of jellyfish. *Journal of the Royal Society Interface*, 10. doi 10:20120920.
- Link, J. S. and Ford, M. D. (2006). Widespread and persistent increase of Ctenophora in the continental shelf ecosystem off NE USE. *Marine Ecology Progress Series*, 320, 153-159.

- Lynam, C. P., Gibbons, J., Axelsen, B. E., Sparks, C. A. J., Coetzee, J., Heywood, B. G. and Brierley, A. S. (2006). Jellyfish overtake fish in a heavily fished ecosystem. *Current Biology*, 16, R492-R493.
- Lynam, C. P., Lilley, M. K. S., Bastian, T., Doyle, T. K., Beggs, S. E. and Hays, G. C. (2011). Have jellyfish in the Irish Sea benefited from climate change and overfishing? *Global Change Biology*, 17, 767-782.
- Mianzan, H. W. and Cornelius, P. (1999). Cubomedusae and Scyphomedusae. In D. Boltovskoy (Ed.), *South Atlantic zooplankton, Volume 1*. (pp. 513-559). Leiden, Netherlands: Leiden, Backhuys.
- Mills, C. E. (2001). Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions? *Hydrobiologia*, 451, 55-68.
- Ortman, B. D., Bucklin, A., Pages, F. and Youngbluth, M. (2010). DNA Barcoding the Medusozoa using mtCOI. *Deep-Sea Research II*, 57, 2148-2156.
- Purcell, J. E. et al. (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*, 350, 153-174.
- Richardson, A. J., Bakun, A., Hays, G. C. and Gibbons, M. J. (2009). The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(6), 312-322.
- Richmond, M. (1997). *A guide to the seashores of Eastern Africa and the Western Indian Ocean islands*. Stockholm, Sweden: Sida/Department for Research Cooperation, SAREC. ISBN 91-630-4594-X: 448 pp.
- Sasaki, M., Dawson, M., Wagatsuma, A. and Hanzawa, N. (2002). Endemic speciation of jellyfishes inhabiting in a marine lake, Palau: Morphological differentiation between *Mastigias* sp. and *Mastigias papua*. *Zoological Science (Tokyo)*, 19(12), 1425.
- Satapoomin, S., Sirnui, K. and Piumsomboon, A. (2012). Marine zooplankton studies in Thailand during 2001-2010. *Coastal Marine Science*, 35(1), 214-220.
- Stopar, K., Ramšak, A., Trontelj, P. and Malej, A. (2010). Lack of genetic structure in the jellyfish *Pelagia noctiluca* (Cnidaria: Scyphozoa: Semaestomeae) across European seas. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 57, 417-428.
- Swofford, D. L. (2002). *PAUP*-phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Version 4.0b10*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tandavanitj, N. (2001). *Species diversity and abundance of rhizostome scyphozoans (Phylum Cnidaria) along the coasts of Chonburi and Phetchaburi Provinces*. M. Sc. Thesis, Graduate School, Chulalongkorn University, 112 pp.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24, 4876-4882.

- Willcox, S., Moltschaniwsky, N. A. and Crawford, C. M. (2008). Population dynamics of natural colonies of *Aurelia* sp. Scyphistomae in Tasmania, Australia. *Marine Biology*, 154, 661-670.
- Wutticharoenmongkol, N. and Wongrat, L. (2004). Diversity and abundance of planktonic Hydrozoan, Class Hydrozoa, in the Upper Gulf of Thailand. *Journal of Scientific Research, Chulalongkorn University, Special Publication No. 1*, 28-44.

ภาคผนวก

ตาราง ก ข้อมูลตัวอย่างแมงกะพรุนหลากสี ได้แก่ ชื่อตัวอย่าง สีที่ปรากฏบนลำตัวและหมวด เส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว (เซนติเมตร) น้ำหนักเปียก (กรัม) และ haplotype จากการวิเคราะห์ด้วยยีน COI

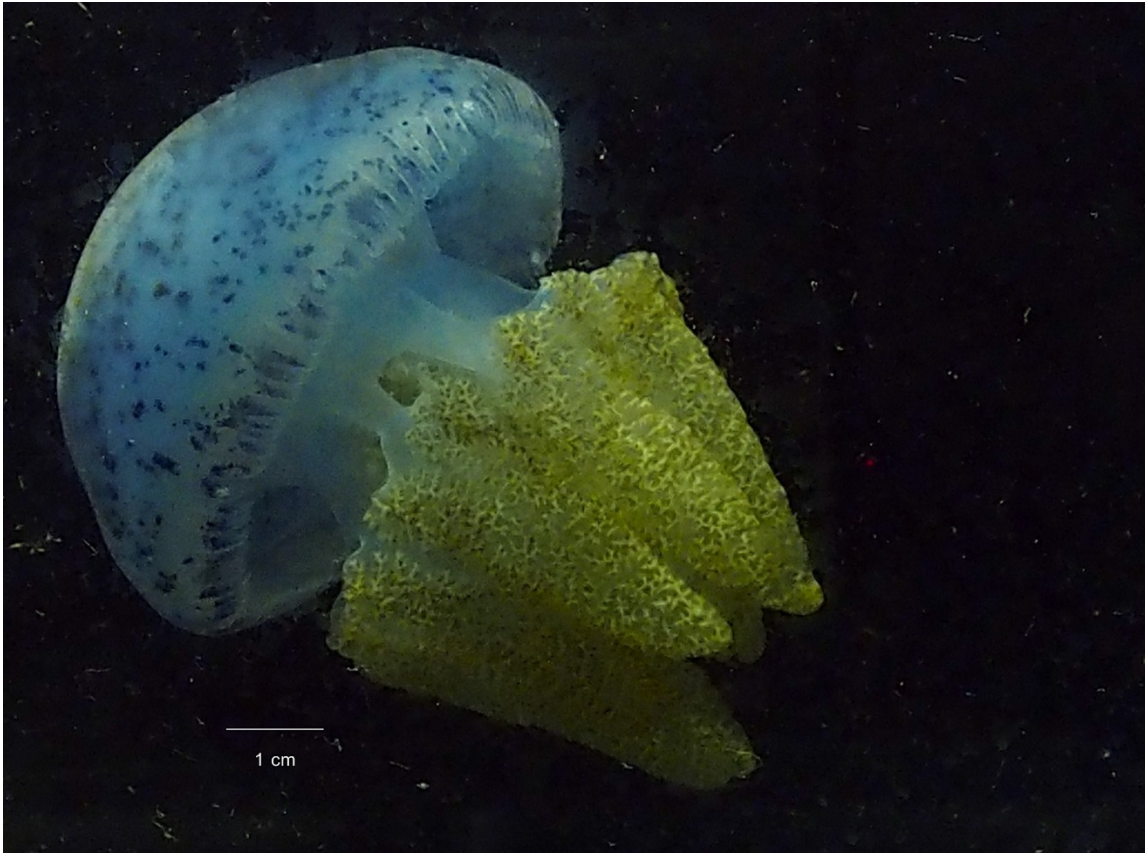
ชื่อตัวอย่าง	สีบนลำตัว/หมวด	เส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว (เซนติเมตร)	น้ำหนักเปียก (กรัม)	haplotype
A1	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ขาว	7.0	74.88	Hap5
A2	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ขาว	9.0	182.95	Hap1
A3	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ขาว	8.5	168.92	Hap8
B1	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ม่วง	8.8	173.77	-
B2	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ม่วง	5.5	50.82	Hap1
B3	ขาว ขอบร่มสีม่วง/ม่วง	8.2	162.48	Hap4
C1	ฟ้า มีจุดสีฟ้า/เข้ม	9.8	232.67	Hap2
C2	ฟ้า มีจุดสีฟ้า/เข้ม	9.0	188.53	Hap4
C3	ฟ้า มีจุดสีฟ้า/เข้ม	8.8	193.18	Hap1
D1	ฟ้า/เข้ม	9.7	225.32	Hap6
D2	ฟ้า/เข้ม	9.3	201.13	Hap4
D3	ฟ้า/เข้ม	9.1	197.02	-
E1	ขาว มีจุดสีน้ำเงิน/ขาว	7.9	103.56	Hap7
E2	ขาว มีจุดสีน้ำเงิน/ขาว	8.4	183.32	Hap3
E3	ขาว มีจุดสีน้ำเงิน/ขาว	7.4	138.26	-
F1	ขาว/เข้ม	9.4	225.67	Hap4
F2	ขาว/เข้ม	8.3	183.48	Hap1
F3	ขาว/เข้ม	8.1	161.20	Hap4
G1	ขาว/ขาว	9.0	204.95	Hap4
G2	ขาว/ขาว	9.3	209.48	Hap4
G3	ขาว/ขาว	8.6	198.89	Hap4



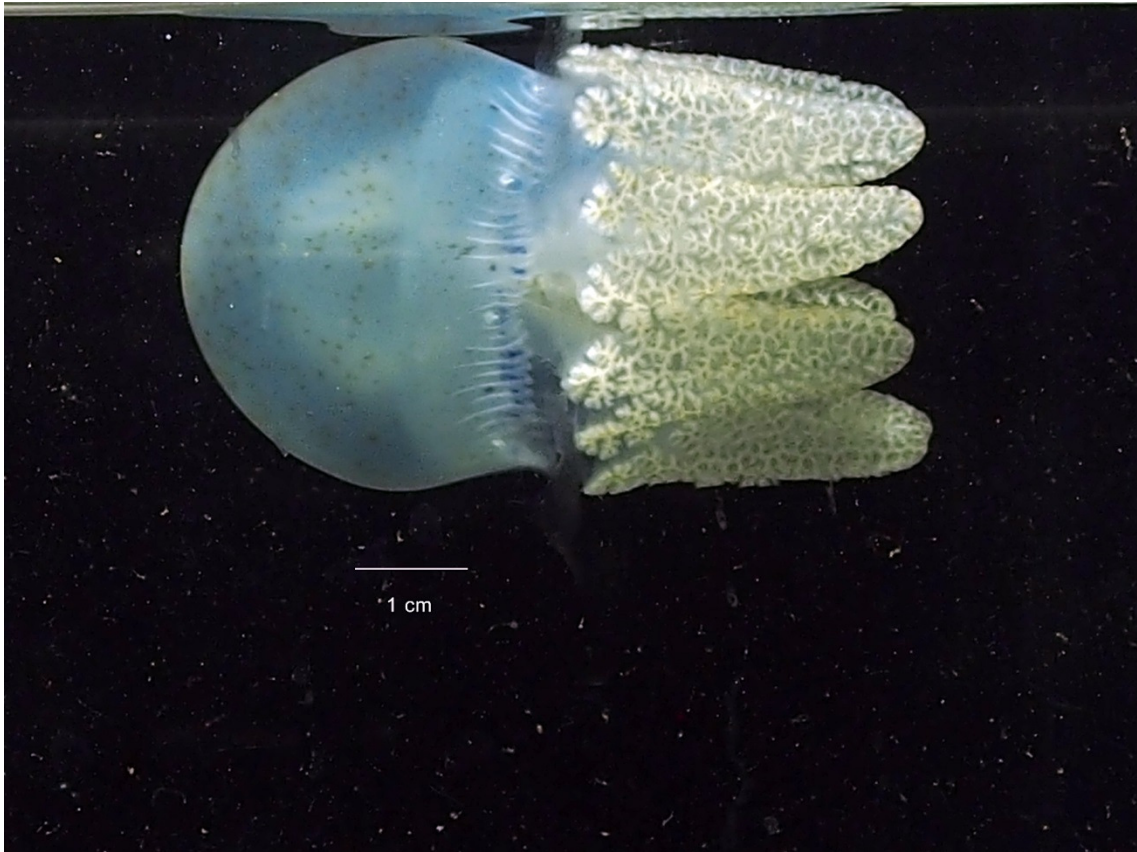
ภาพ ก แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 1 (ตัวอย่าง A1-A3) ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีขาว



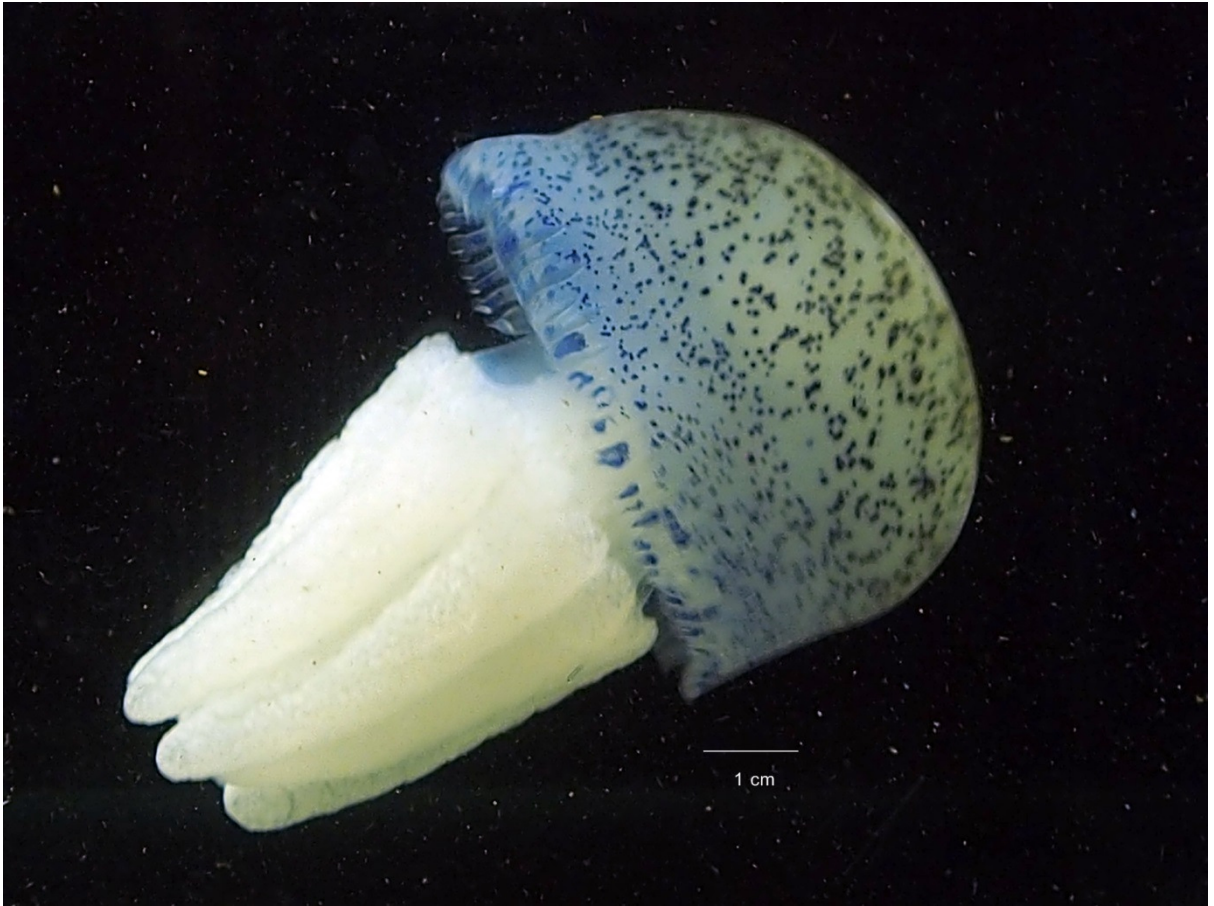
ภาพ ข แมงกะพรุนหลากหลายสีกลุ่มที่ 2 (ตัวอย่าง B1-B3) ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีม่วง



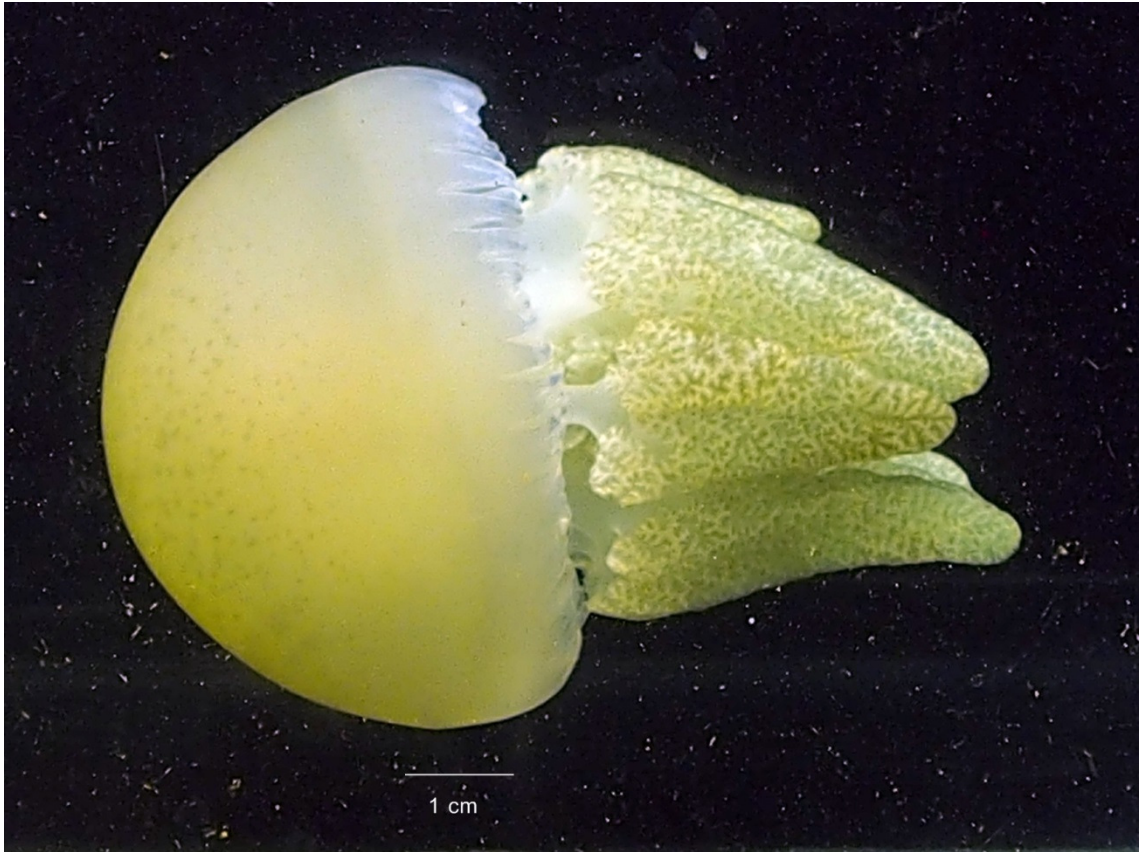
ภาพ ค แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 3 (ตัวอย่าง C1-C3) ลำตัวสีฟ้า มีจุดสีฟ้า หนวดเข็ม



ภาพ ง แมงกะพรุนหลากหลายสีกลุ่มที่ 4 (ตัวอย่าง D1-D3) ลำตัวสีฟ้า หนวดสีเขียวเข้ม



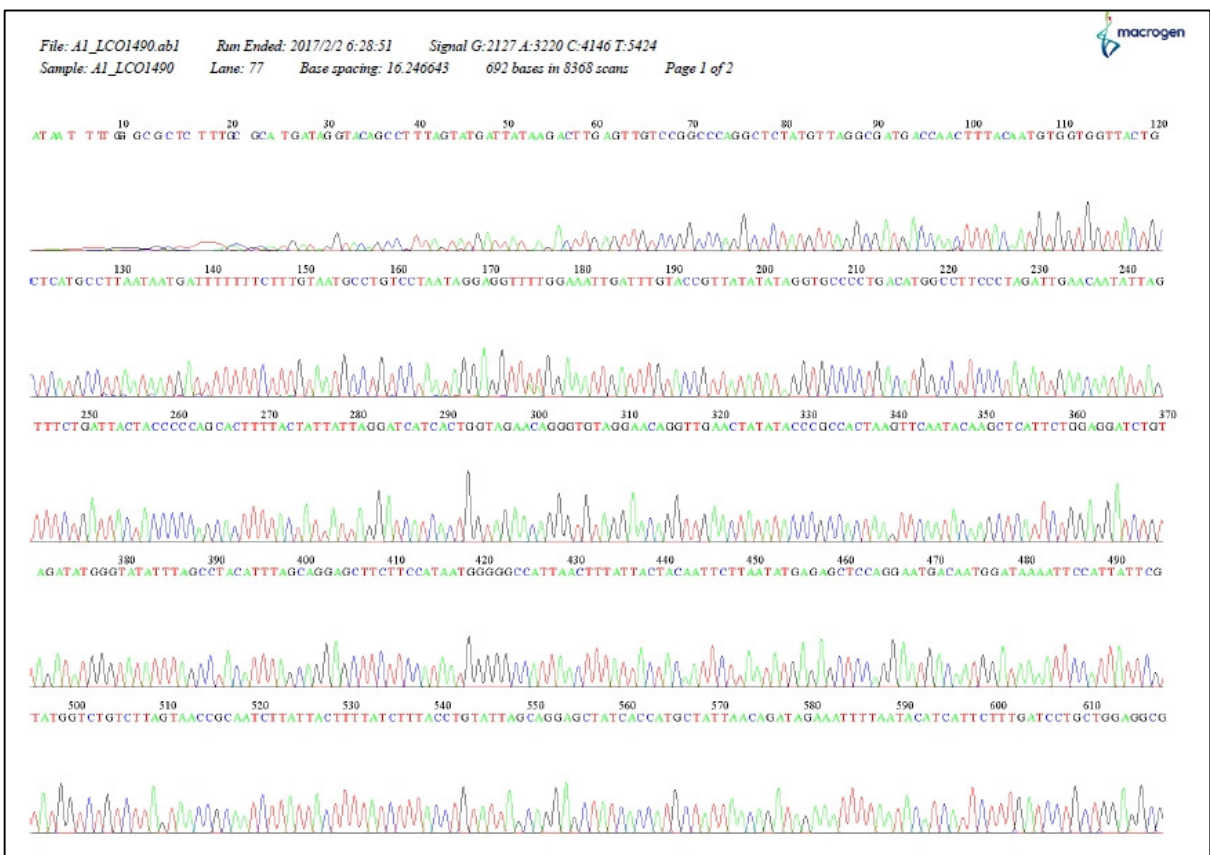
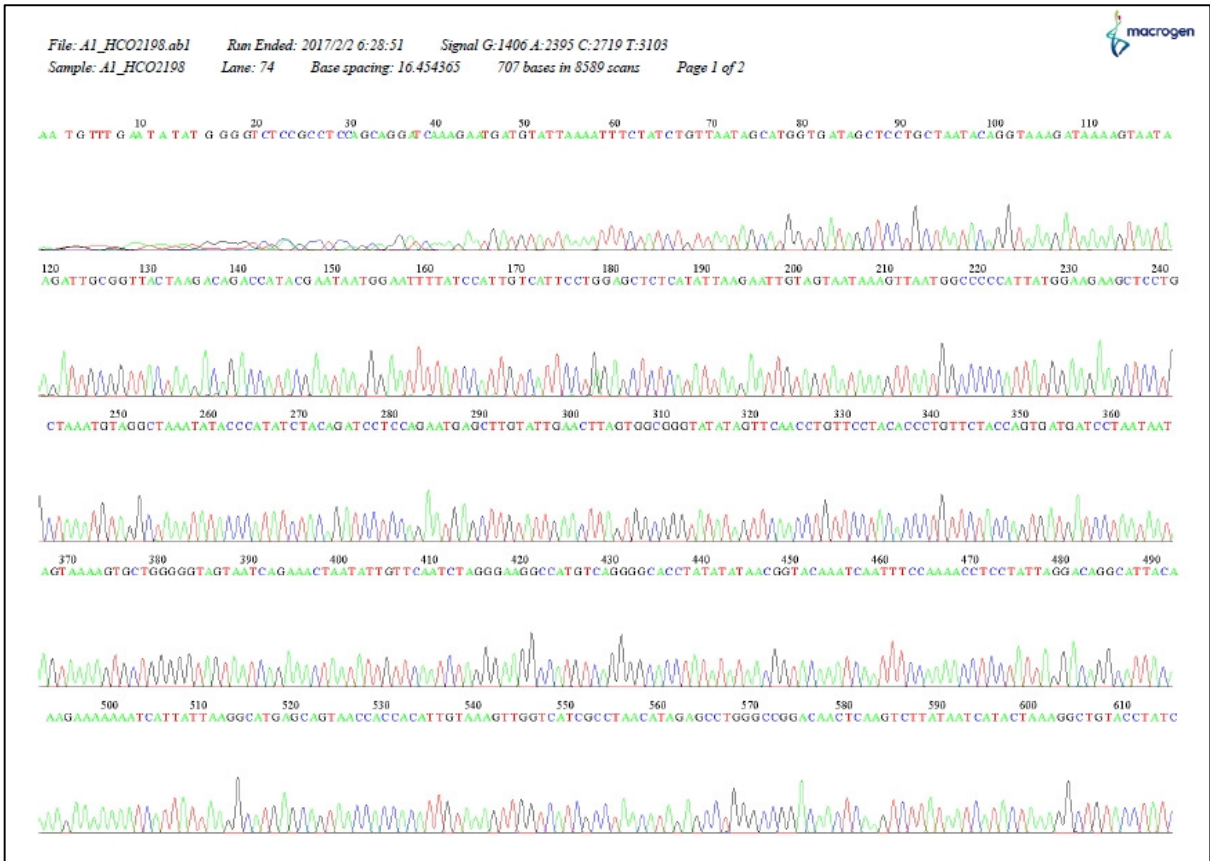
ภาพ จ แมงกะพรุนหลากสีกลุ่มที่ 5 (ตัวอย่าง E1-E3) ลำตัวสีขาว มีจุดสีน้ำเงิน หนวดสีขาว



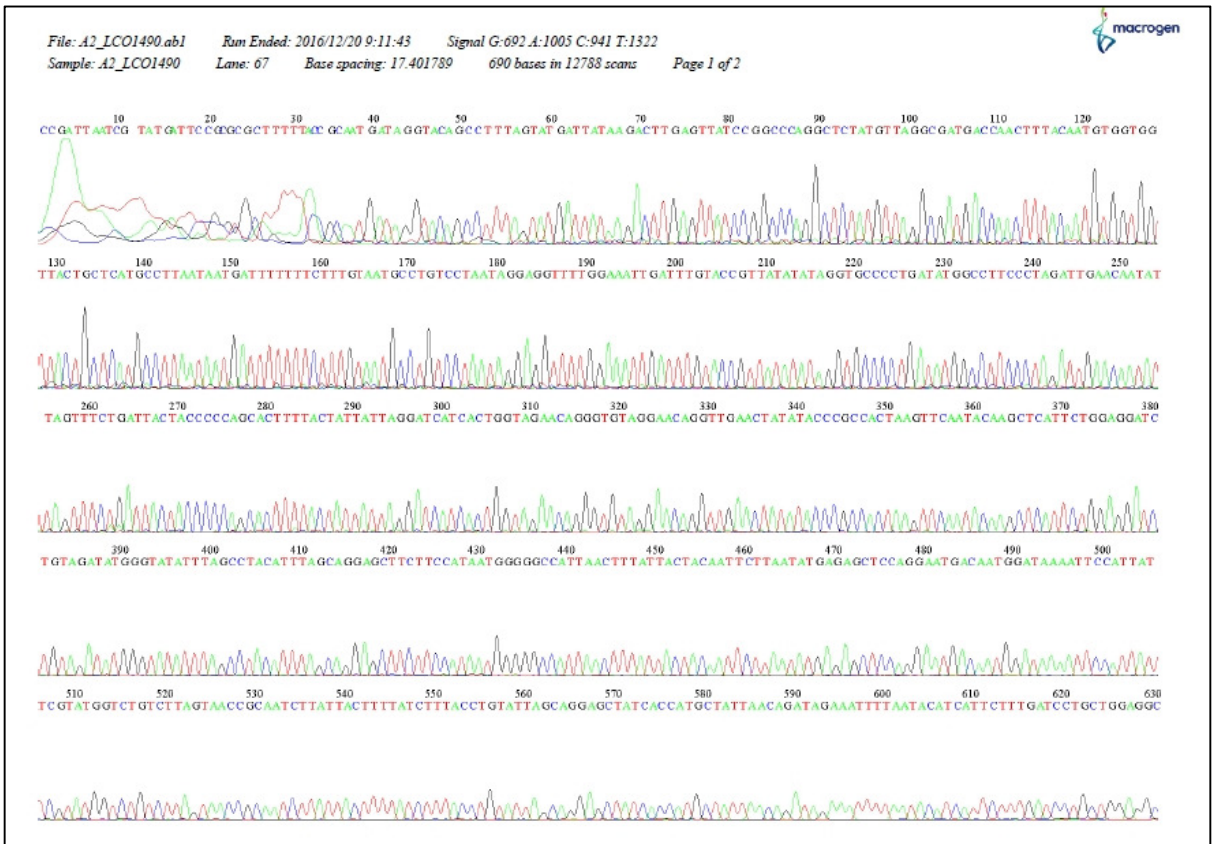
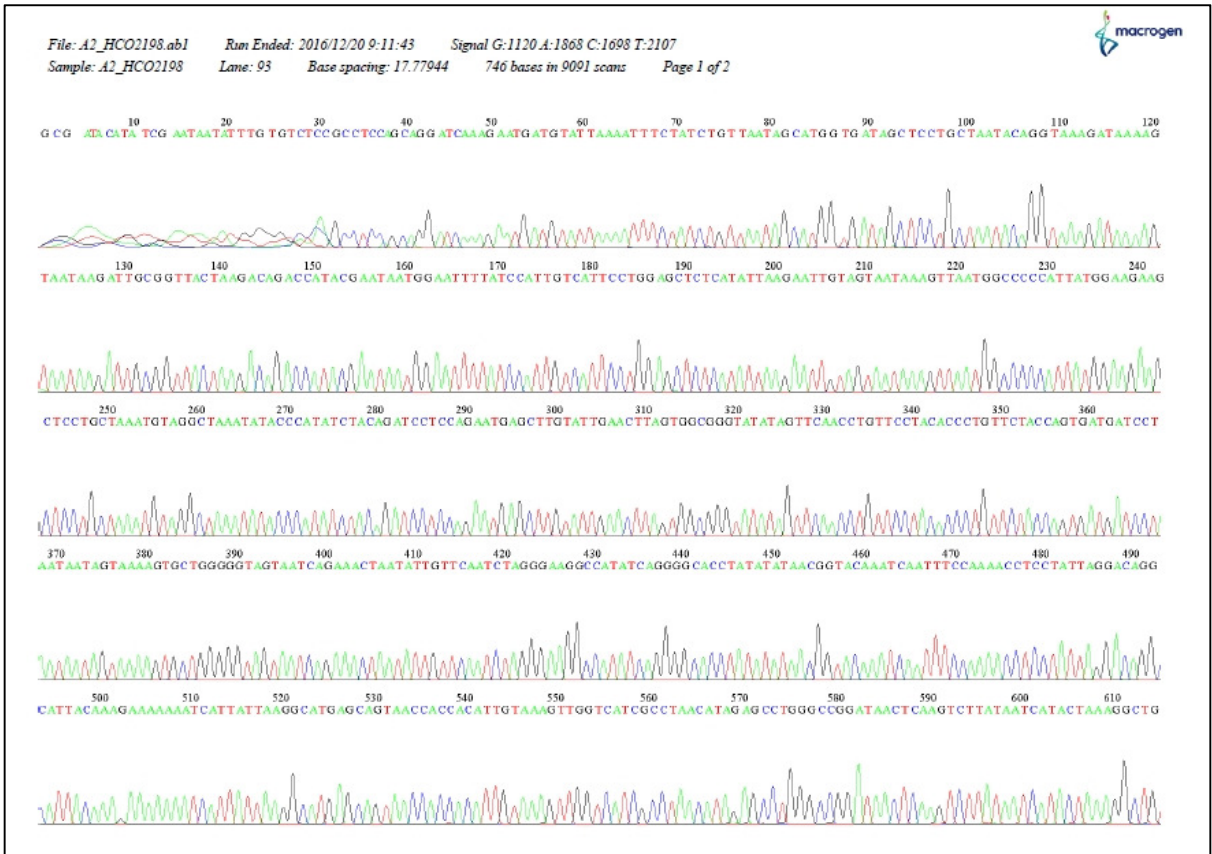
ภาพ ฉ แมงกะพรุนหลากหลายสีกลุ่มที่ 6 (ตัวอย่าง F1-F3) ลำตัวสีขาว หนวดสีเขียว



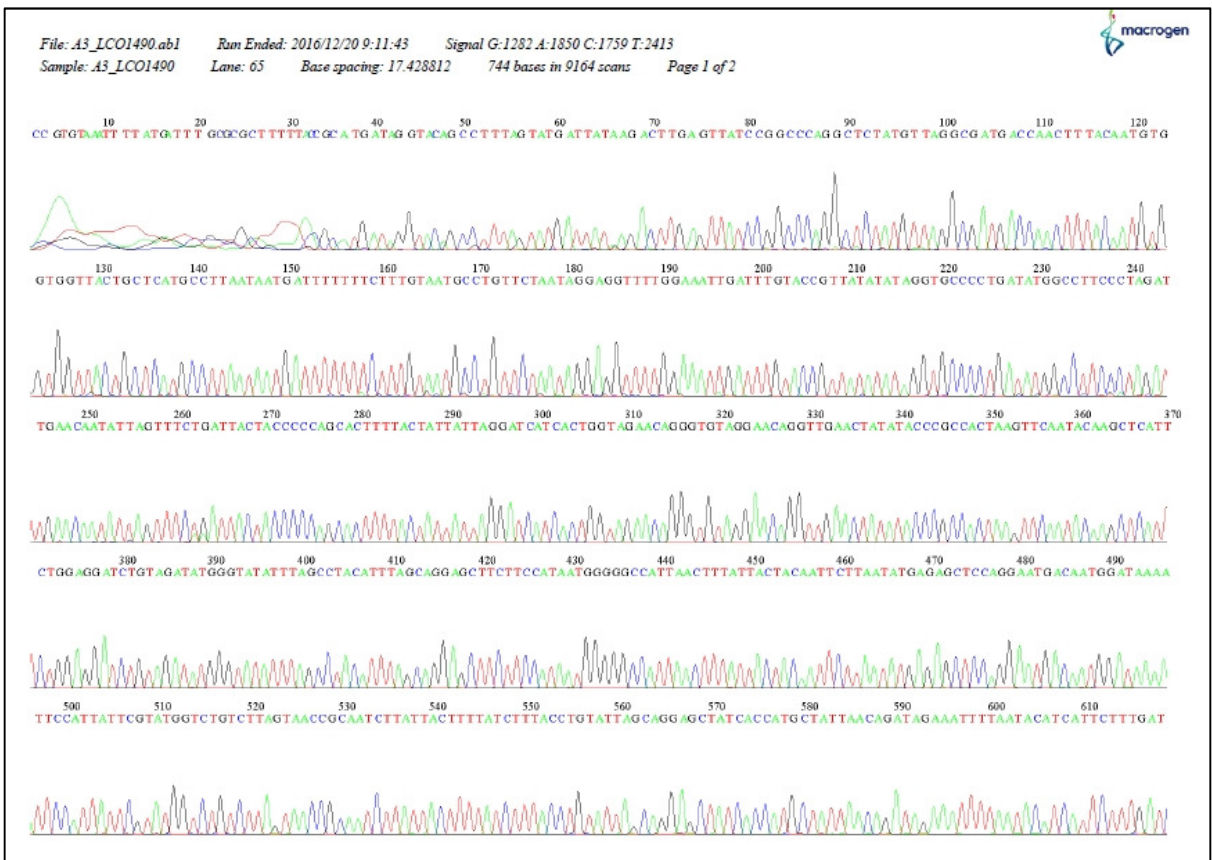
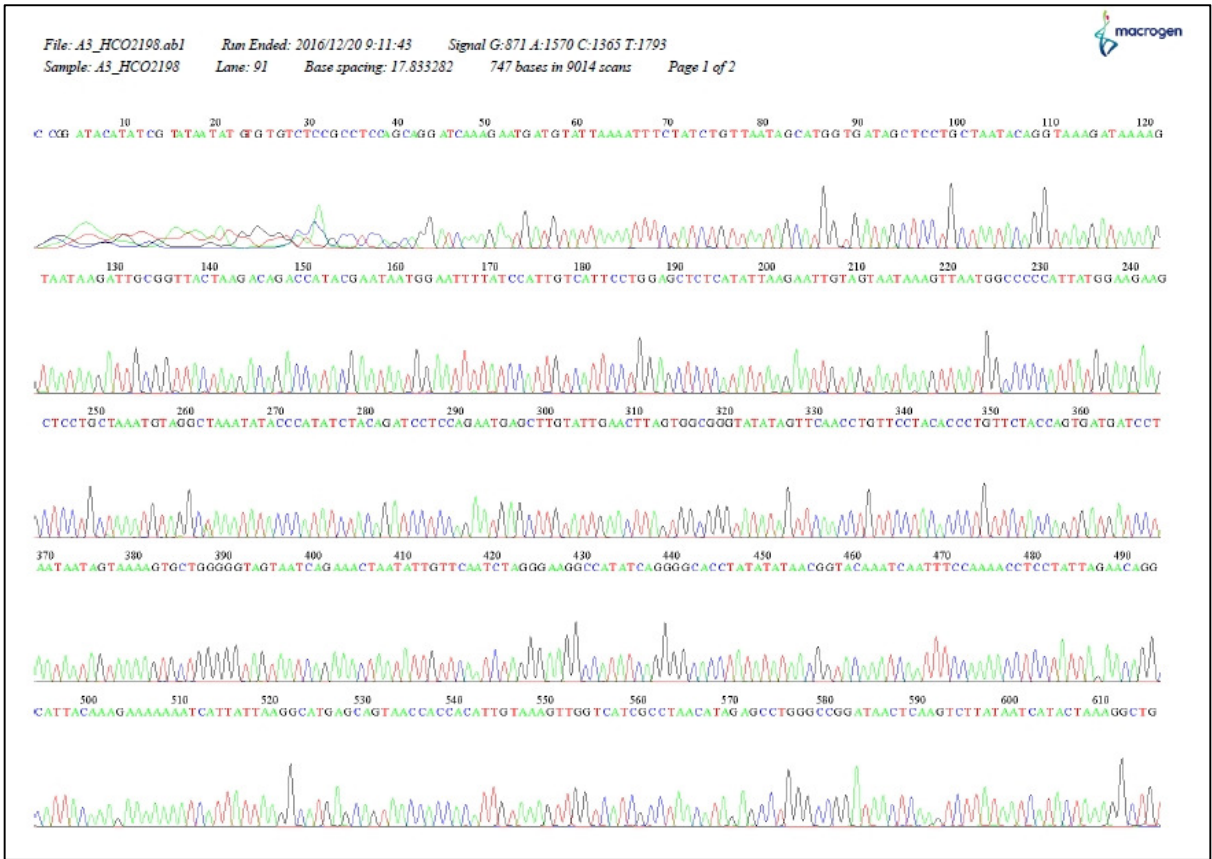
ภาพ ข แมงกะพรุนหลากหลายสีกลุ่มที่ 7 (ตัวอย่าง G1-G3) ลำตัวสีขาว หนวดสีขาว



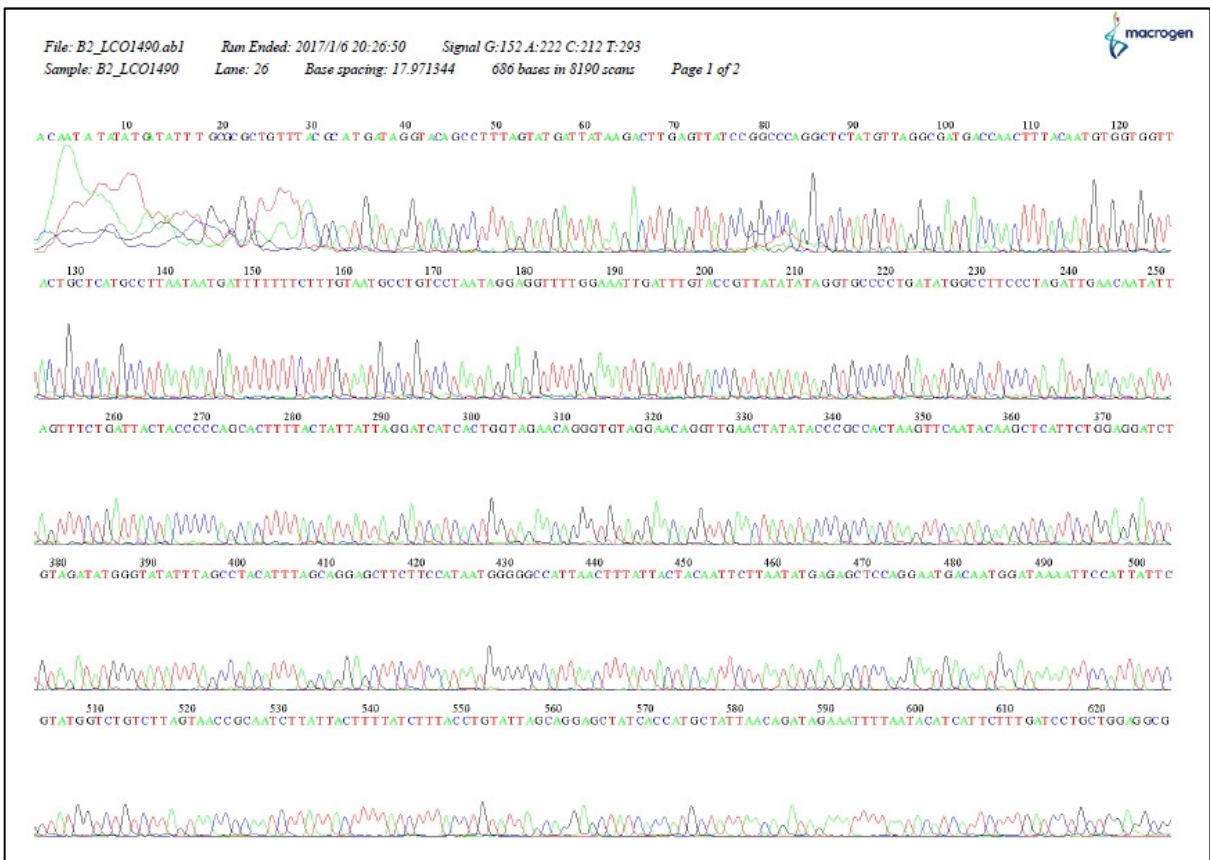
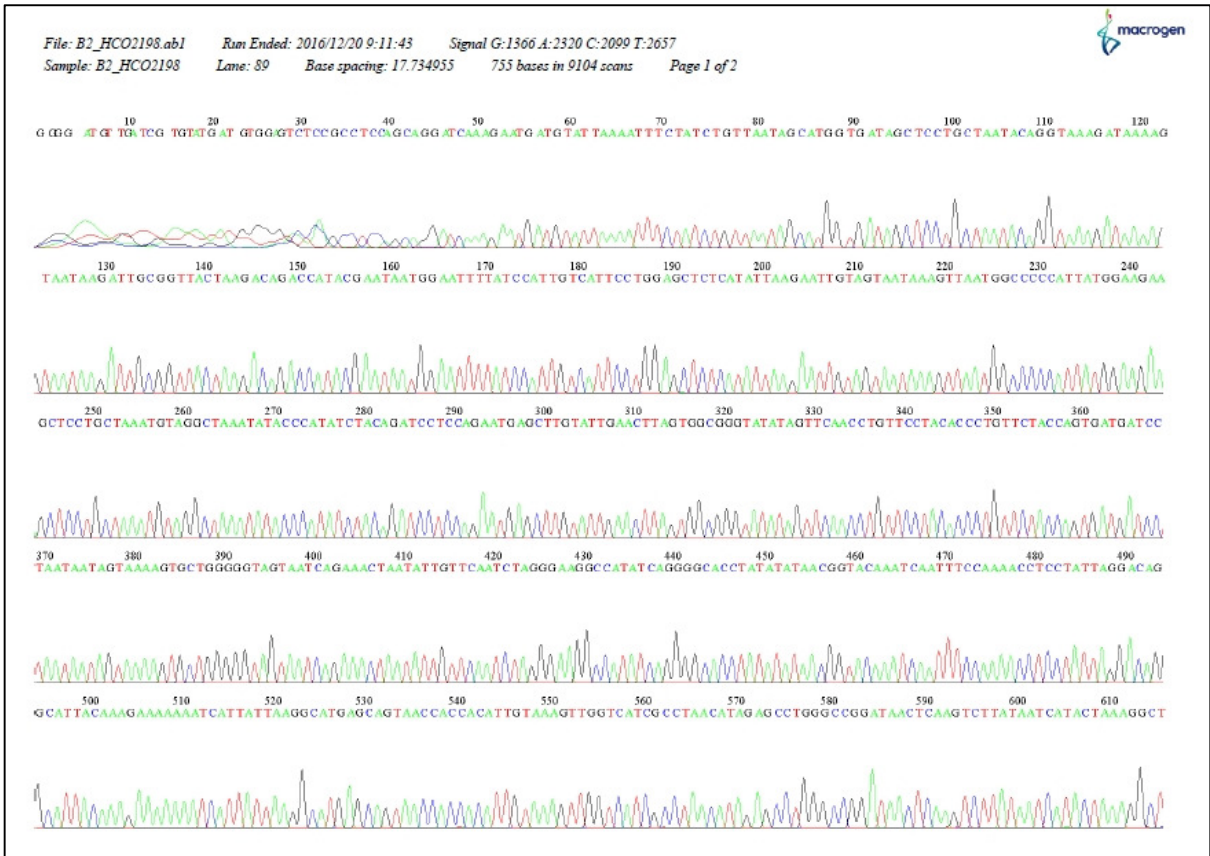
ภาพ ข ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



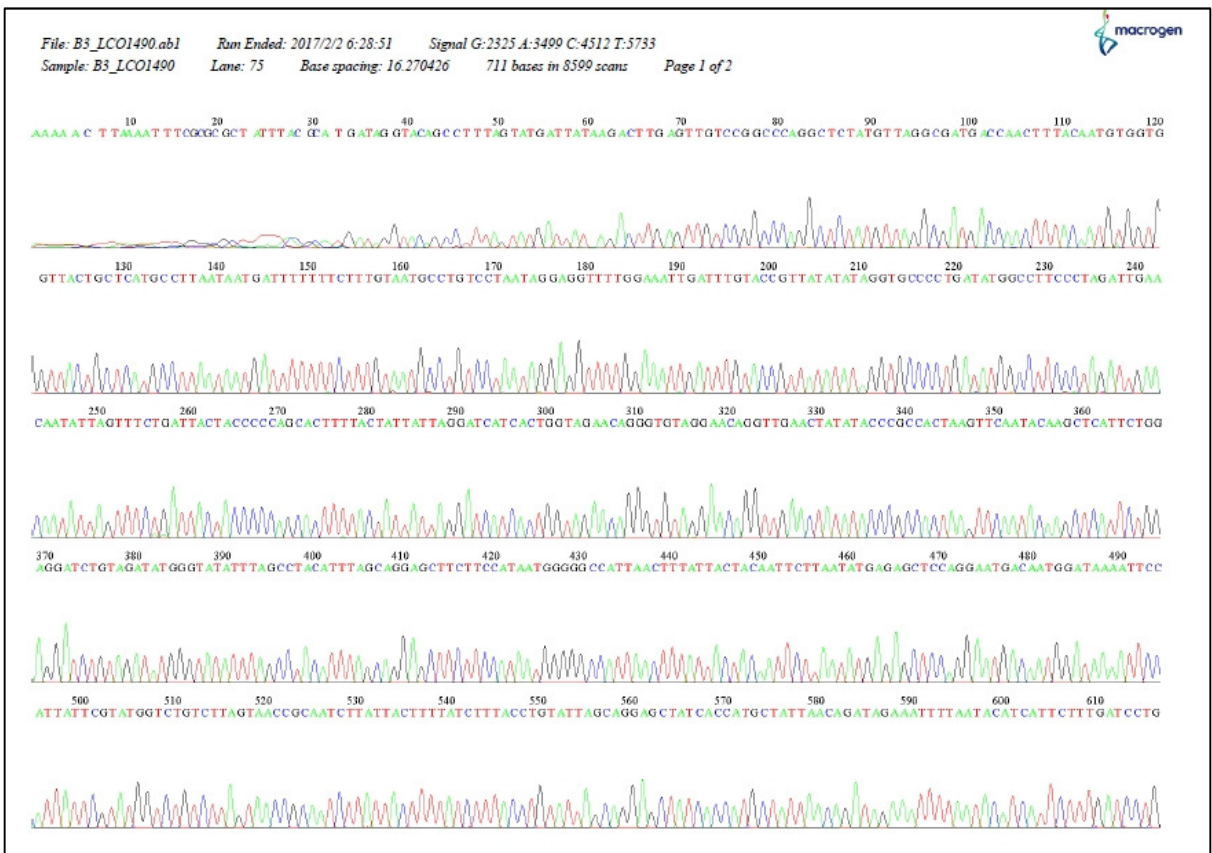
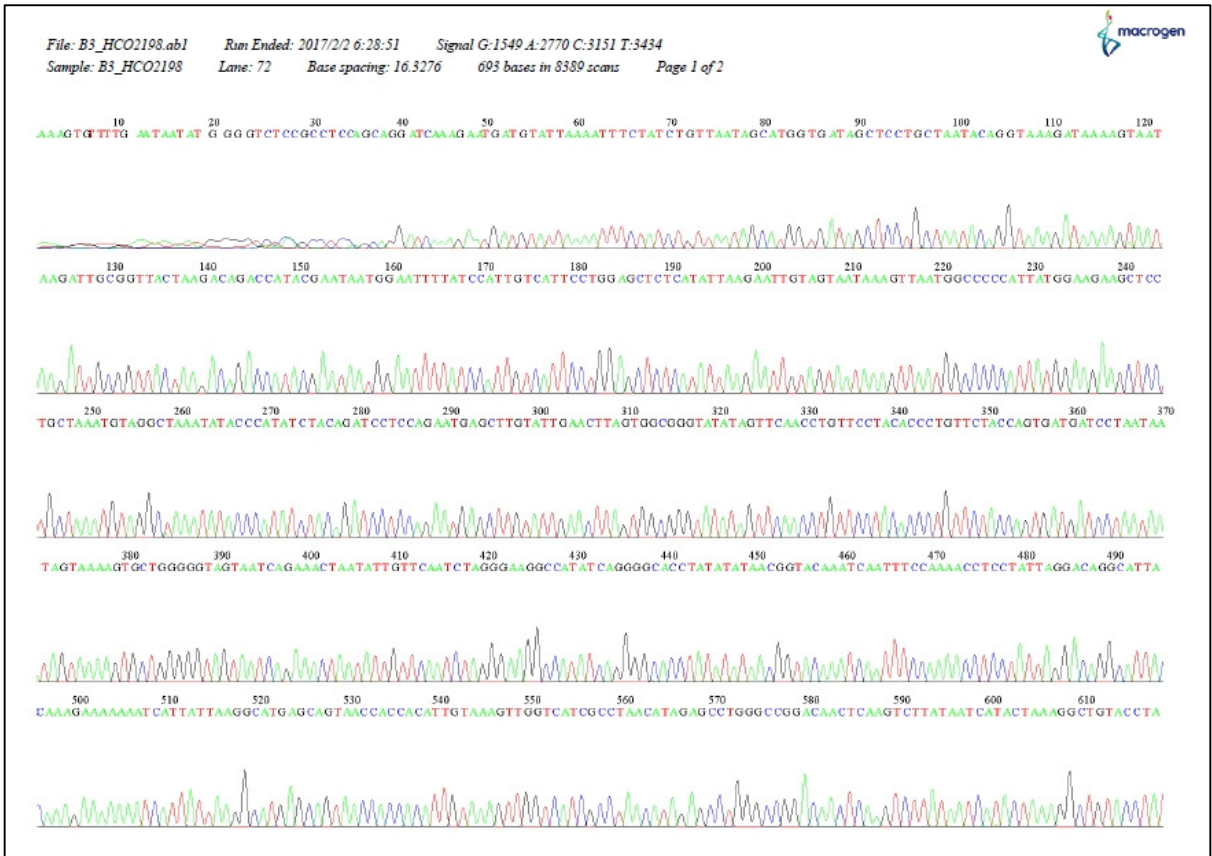
ภาพ ณ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



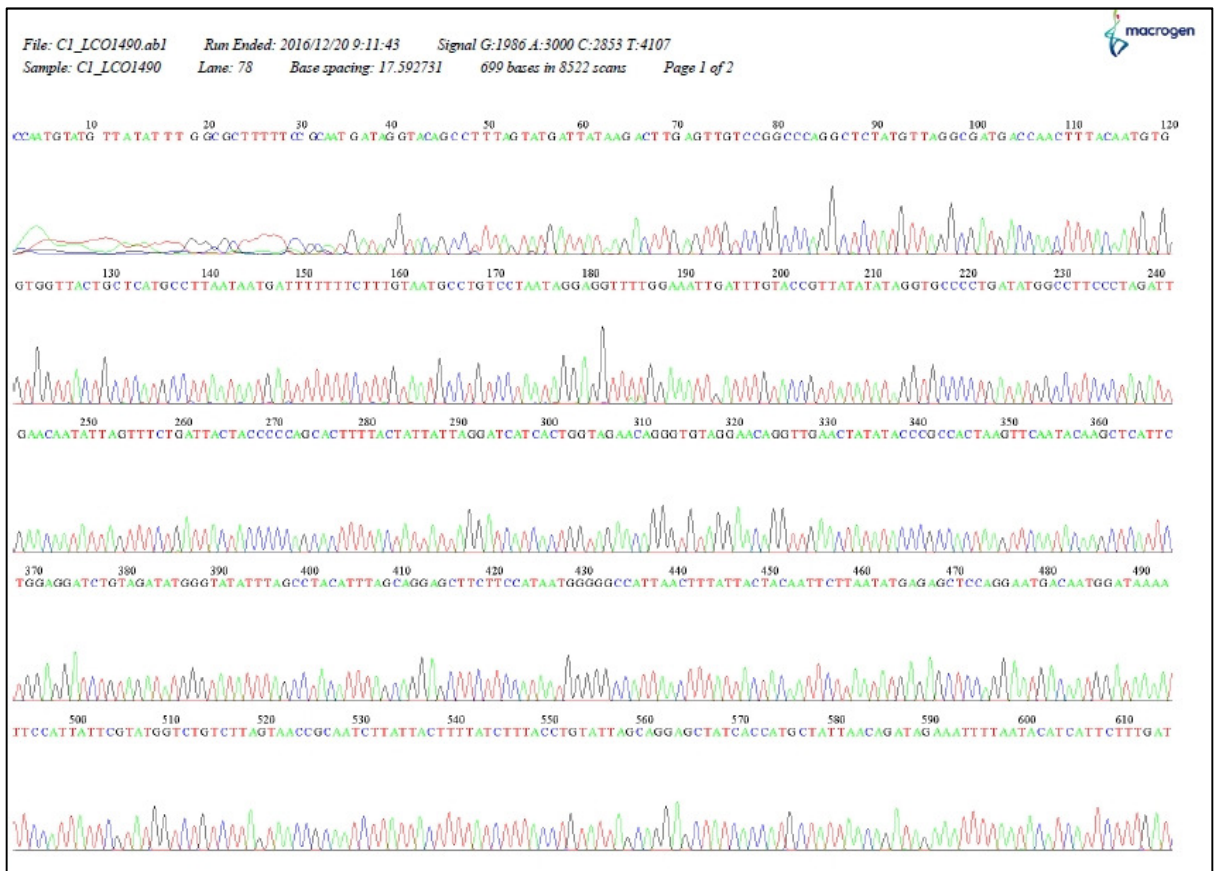
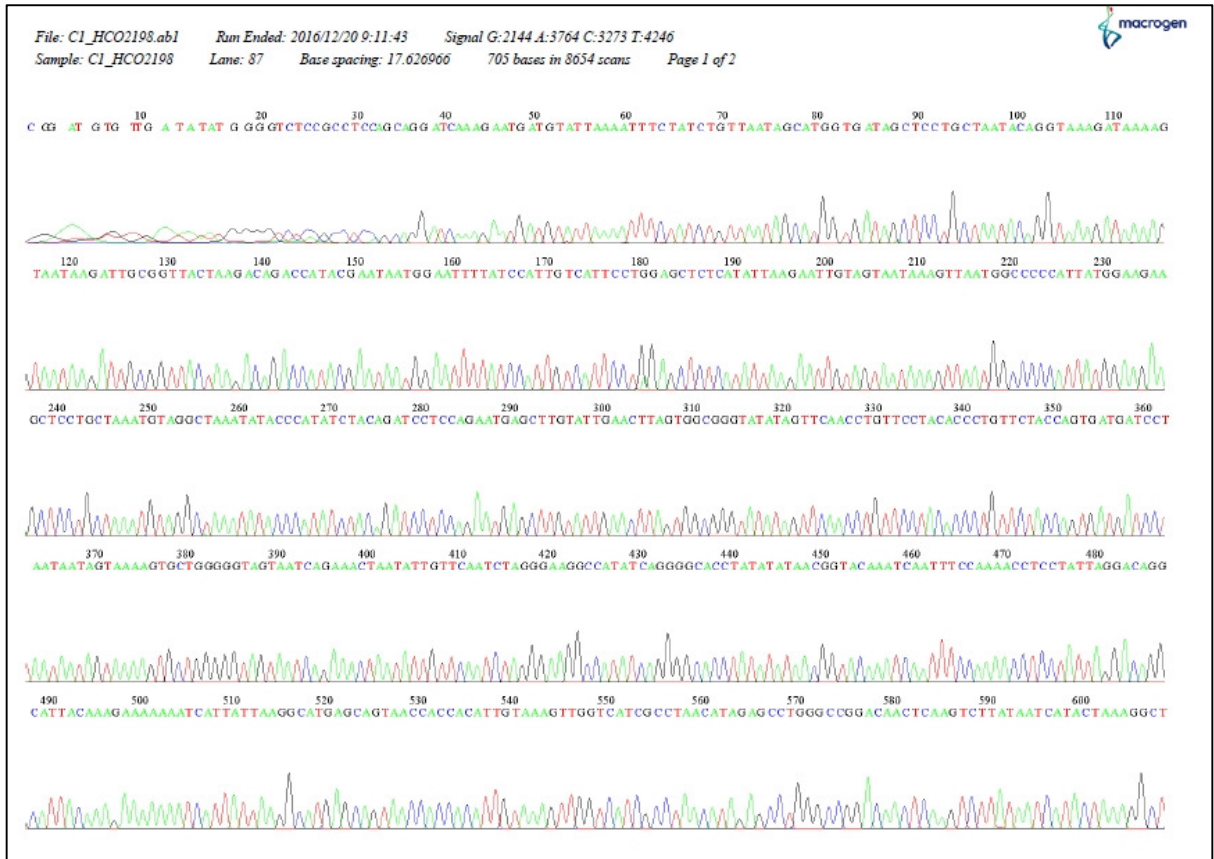
ภาพ ๓ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A3 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



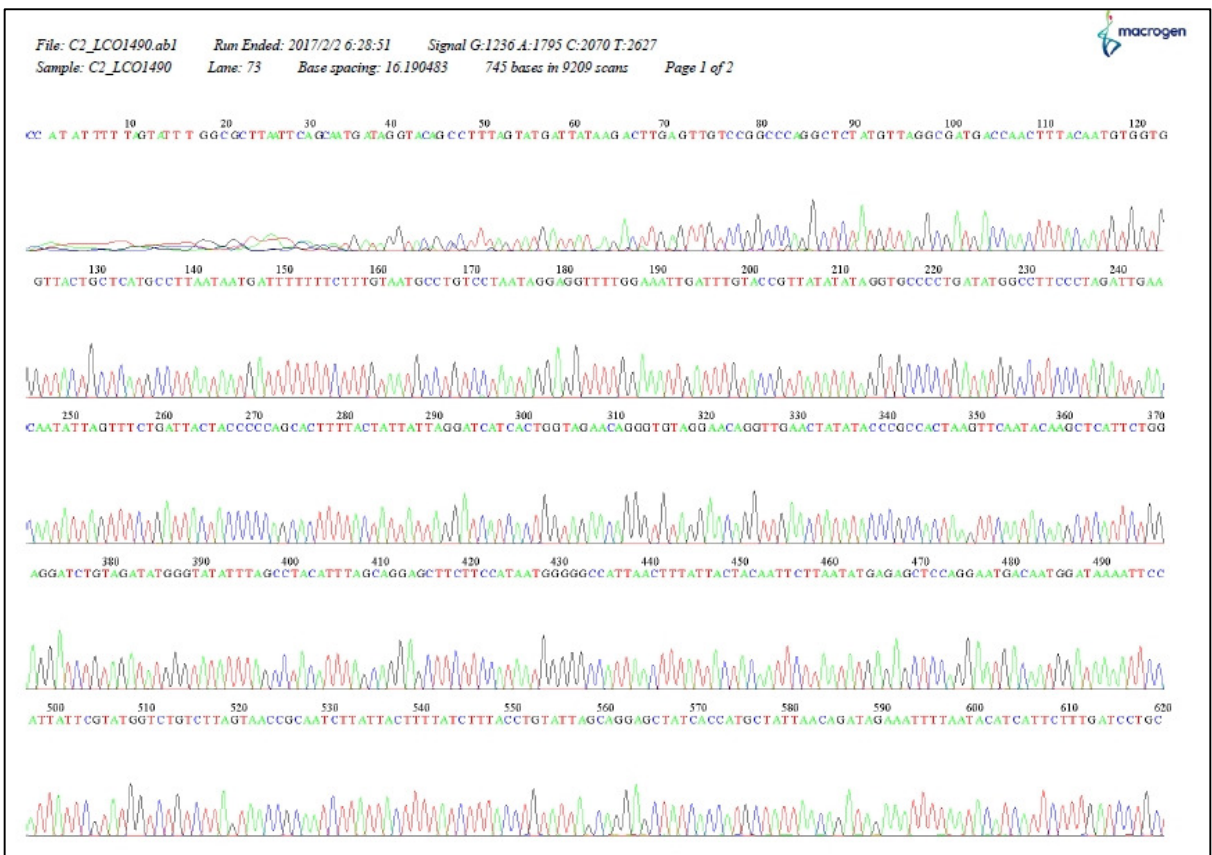
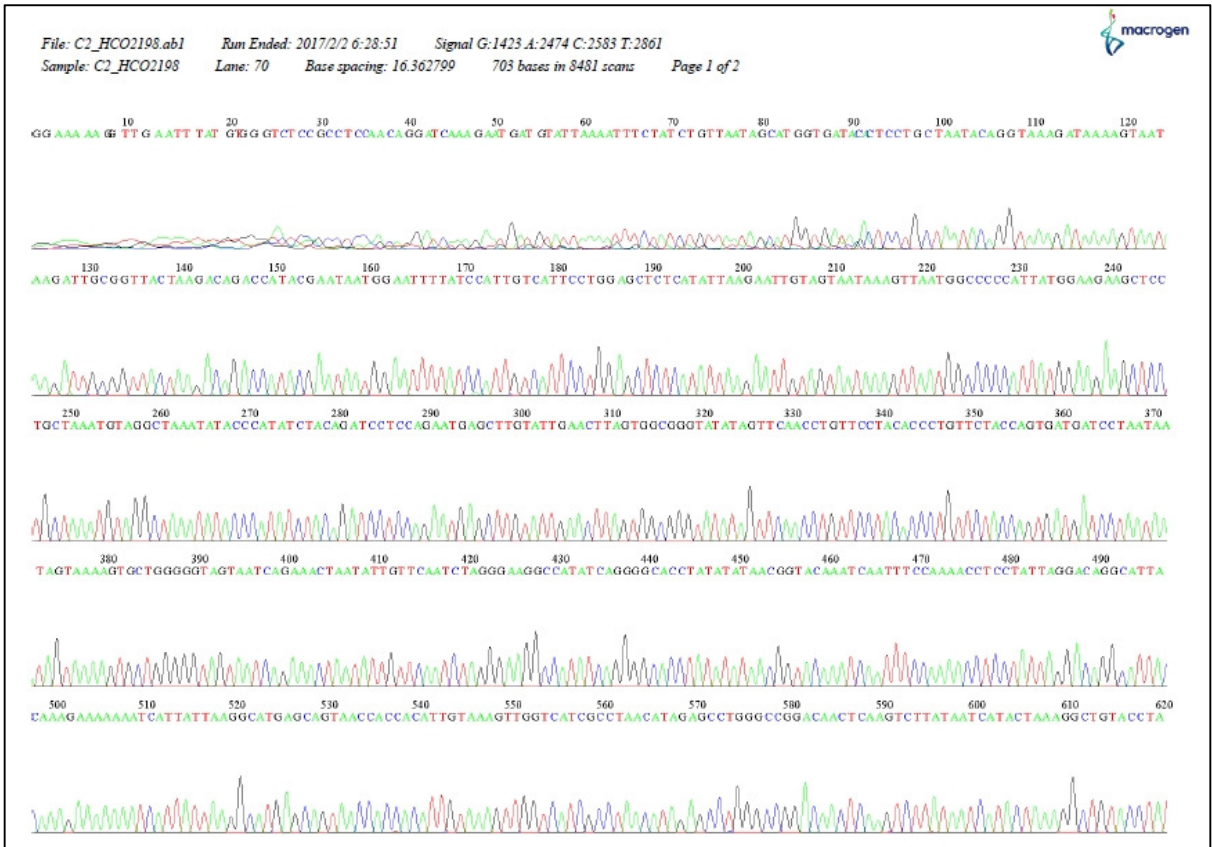
ภาพ ณ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง B2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



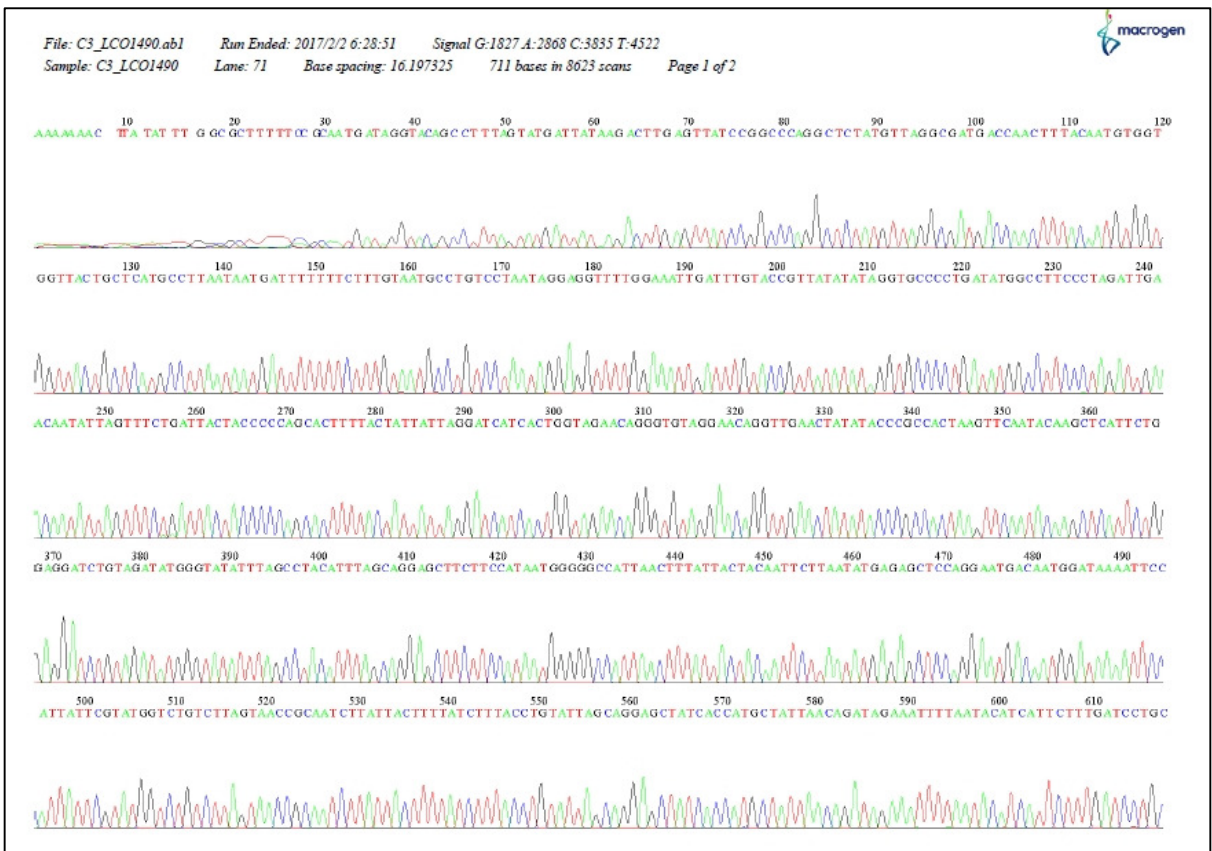
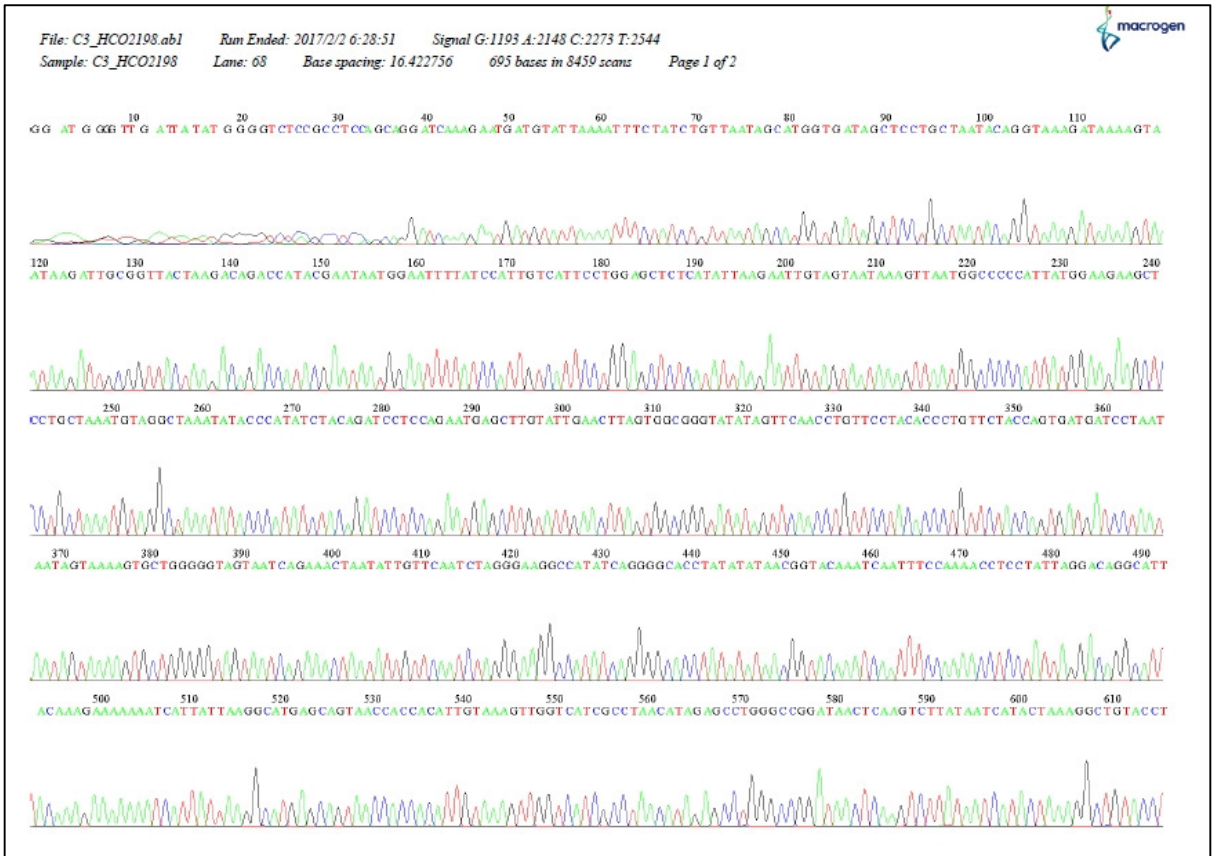
ภาพ ด ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง B3 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



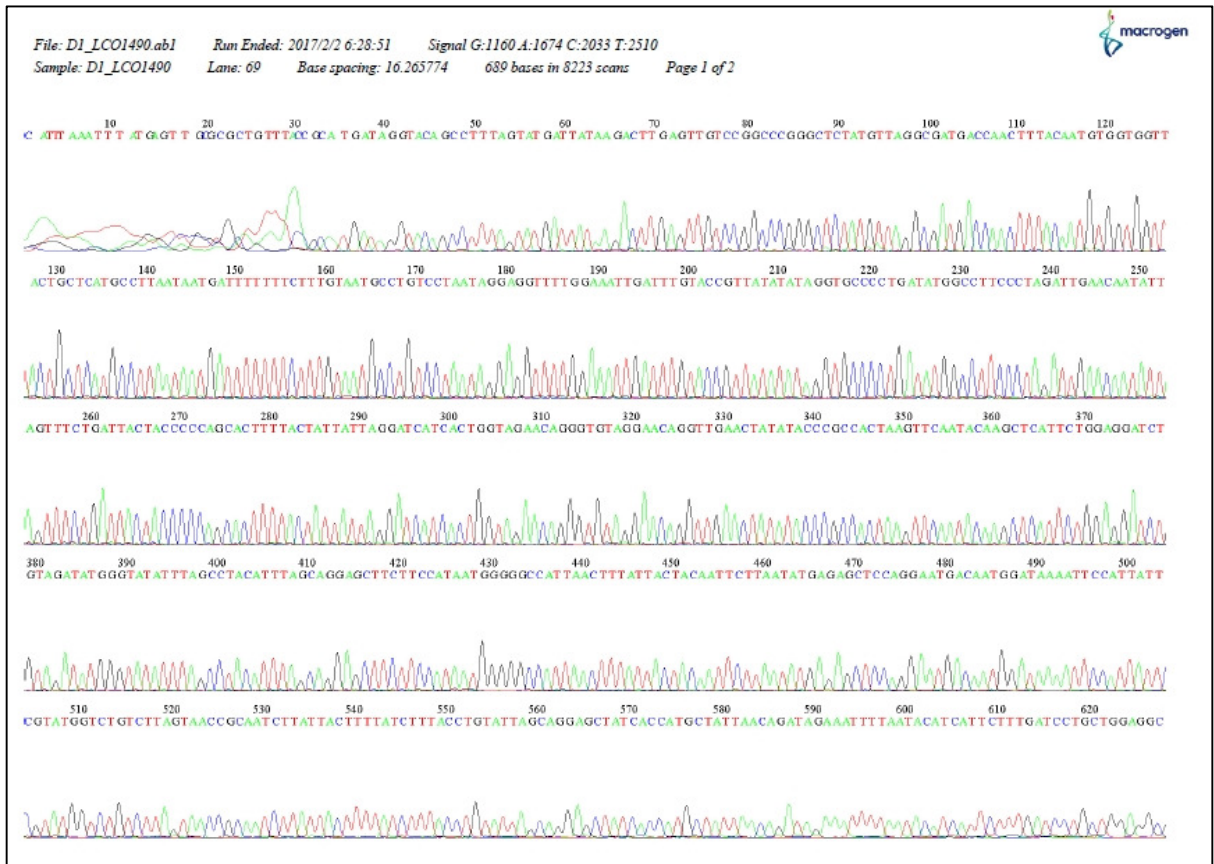
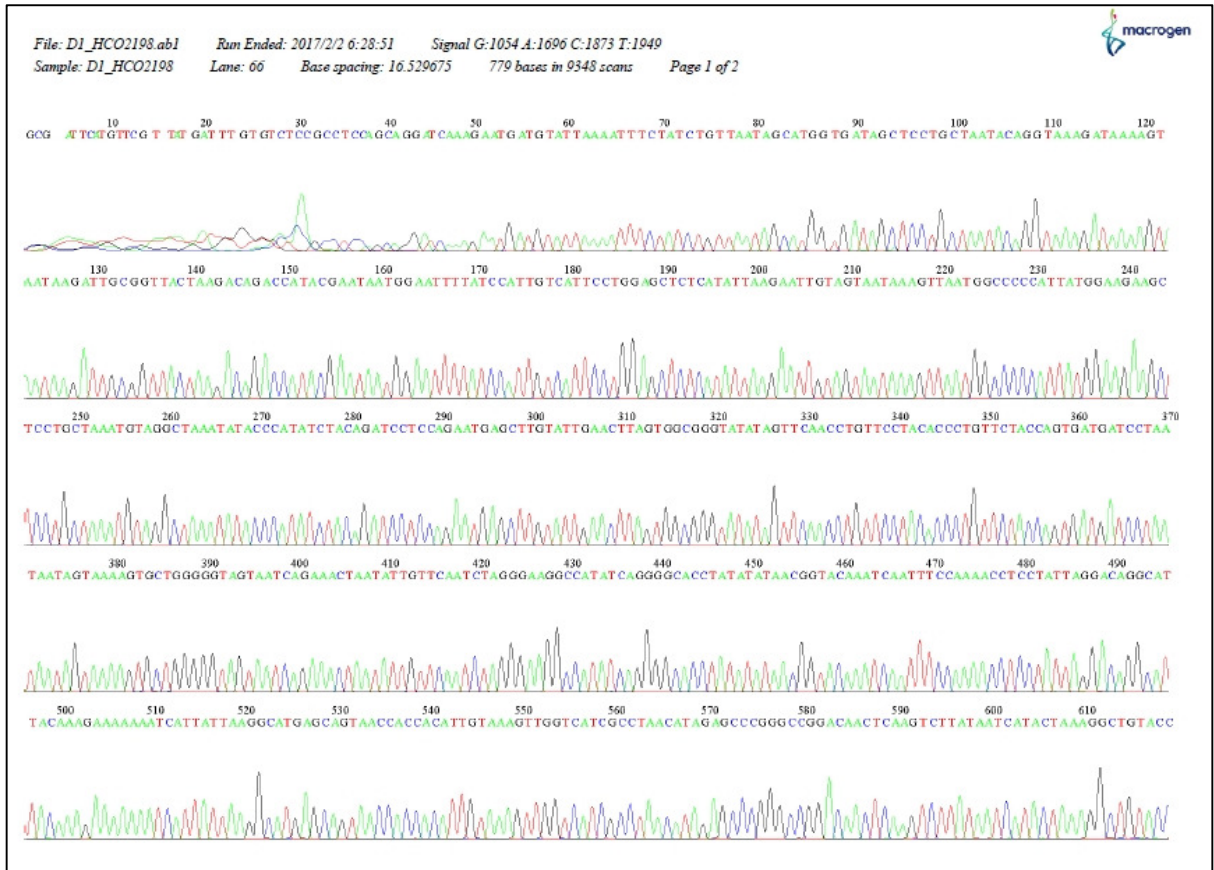
ภาพ ต ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



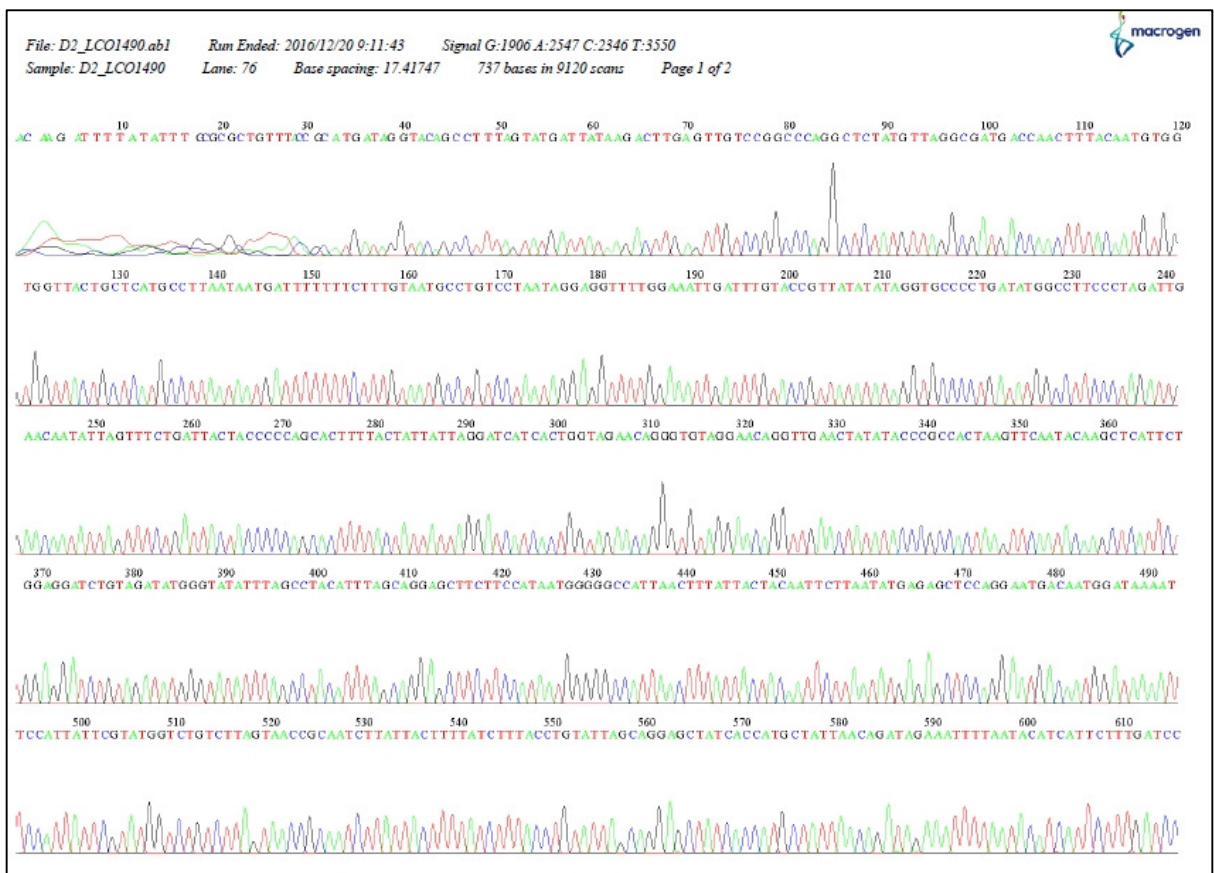
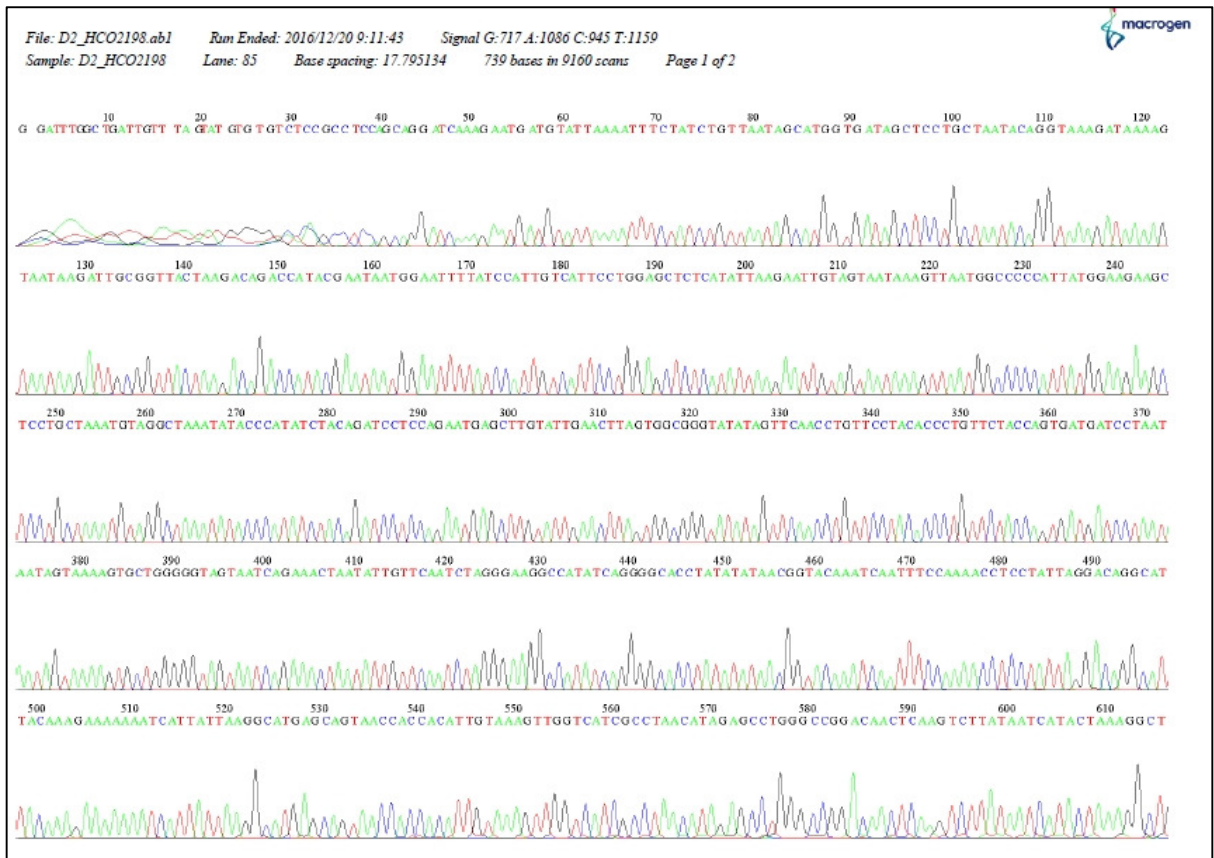
ภาพ ๓ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



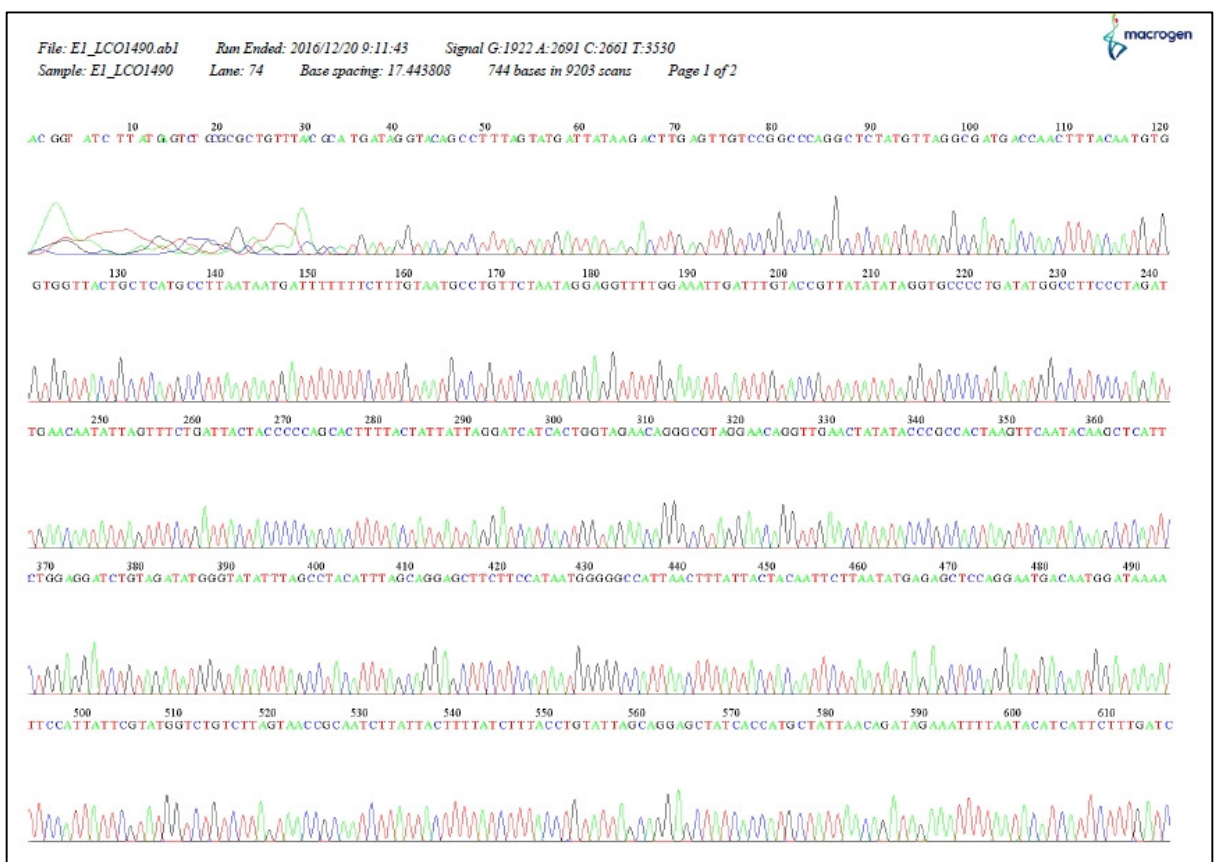
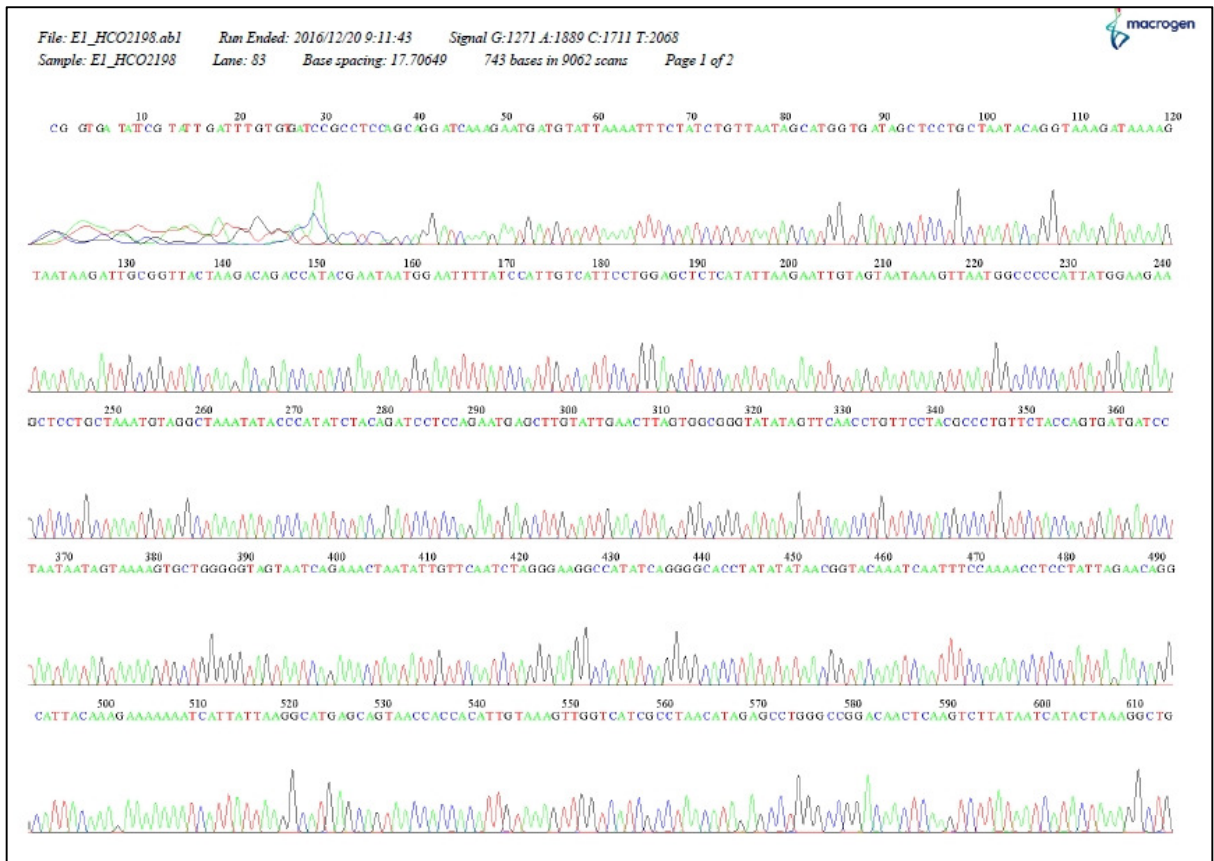
ภาพ ท ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง C3 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



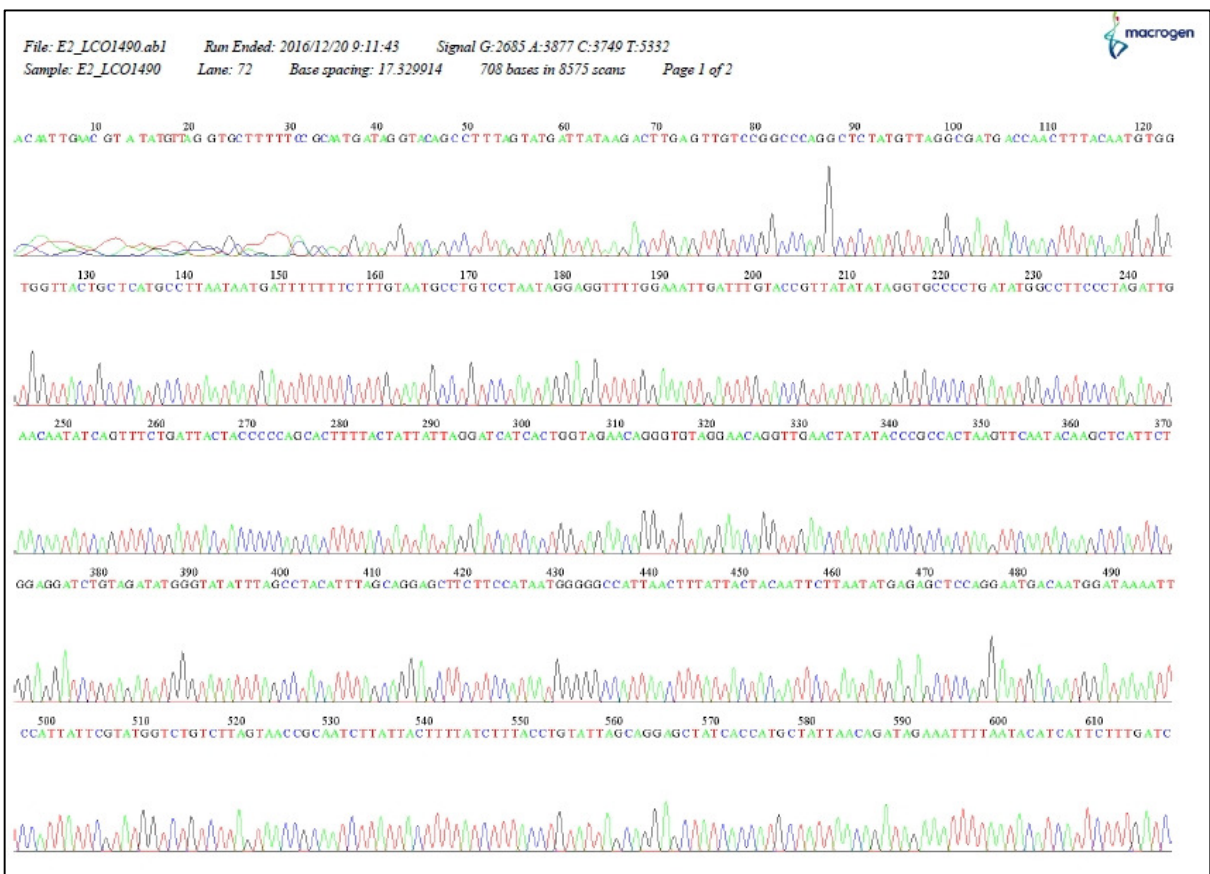
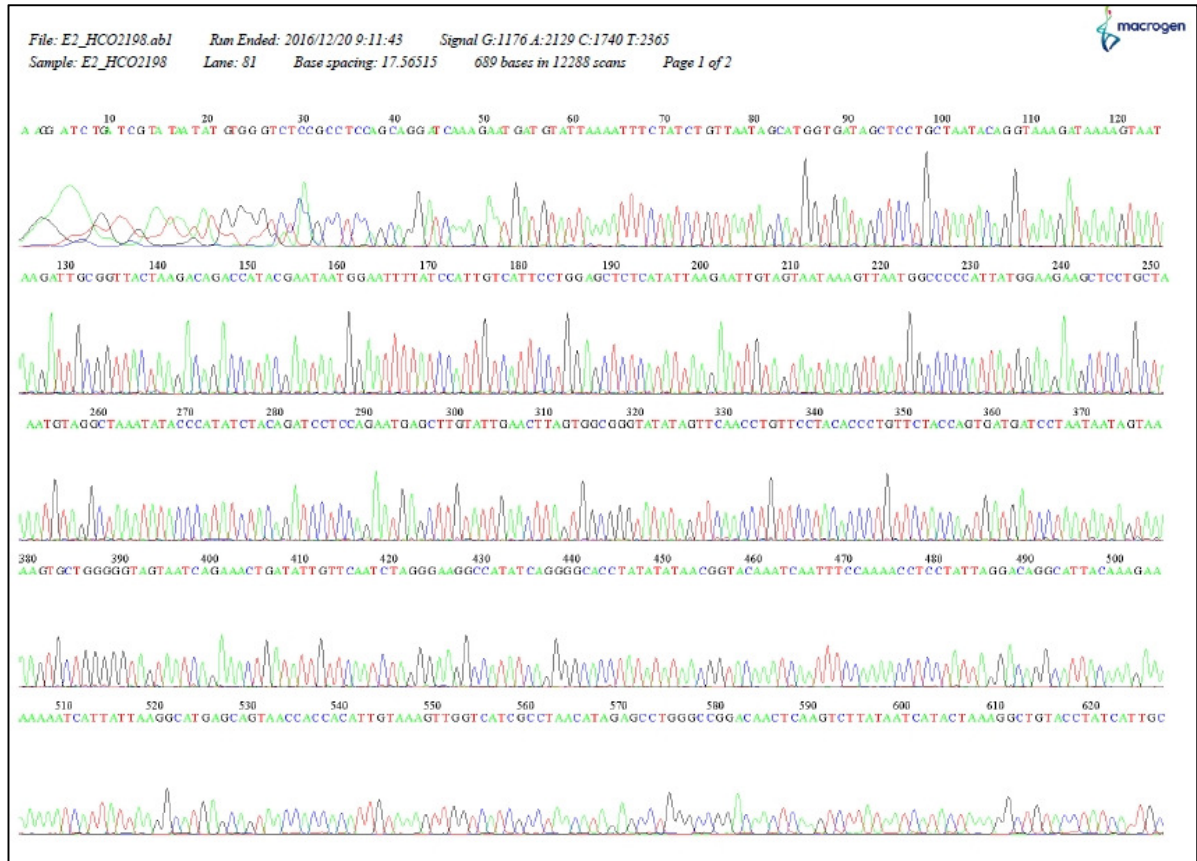
ภาพ ๕ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง D1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



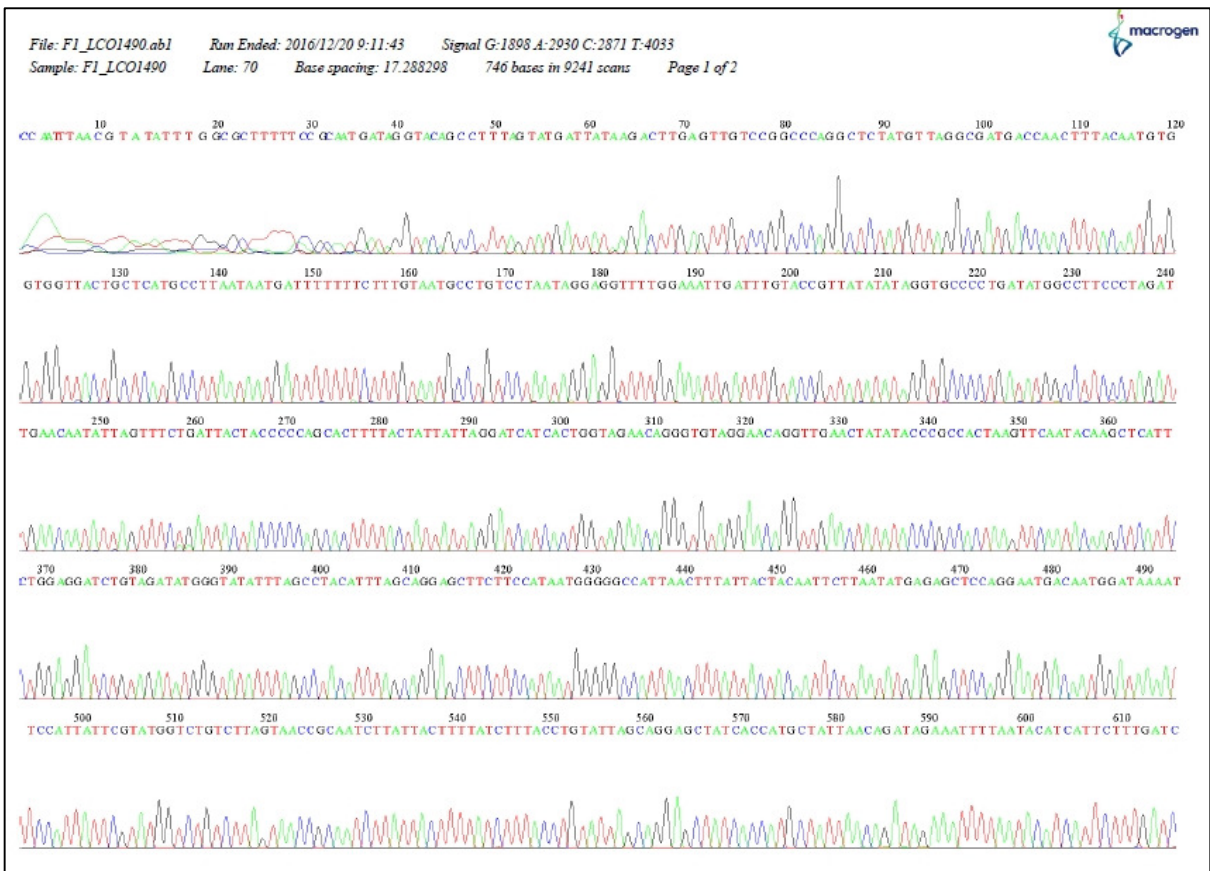
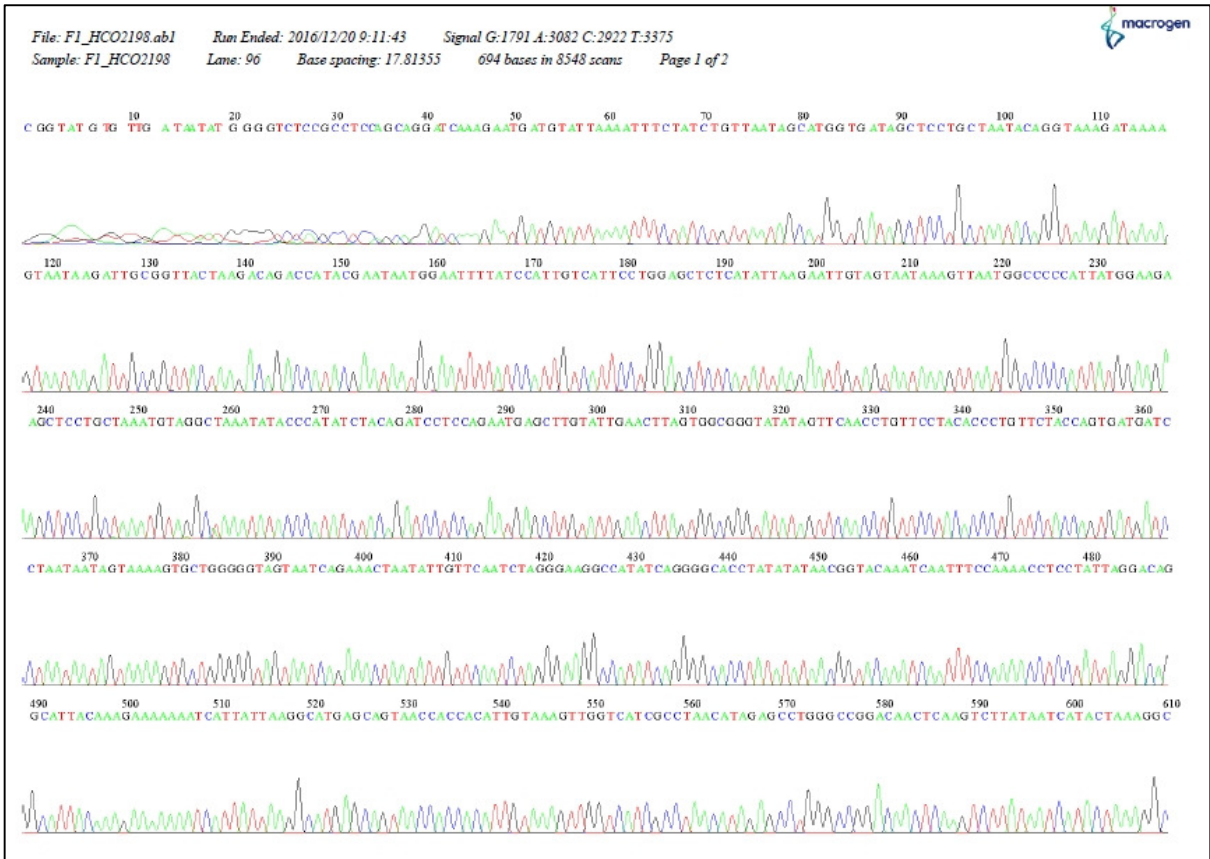
ภาพ น ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง D2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



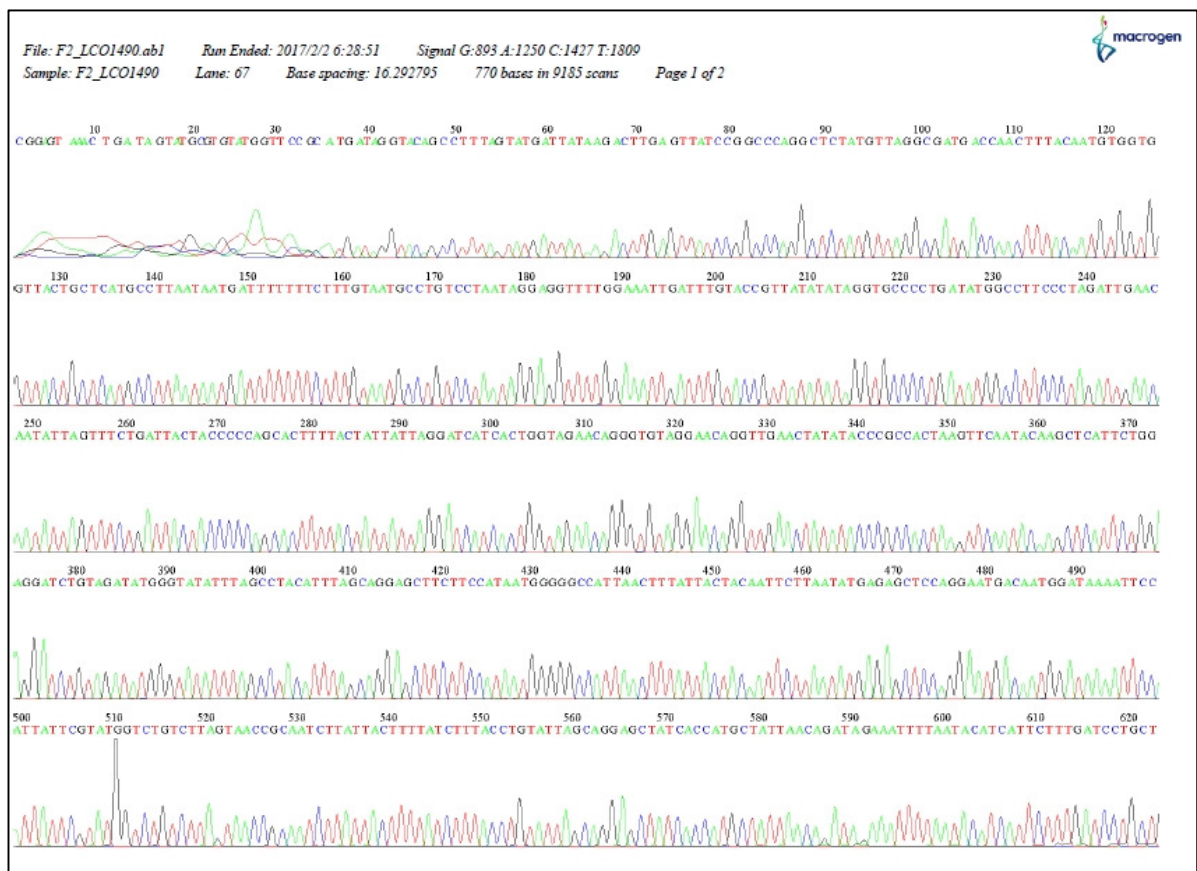
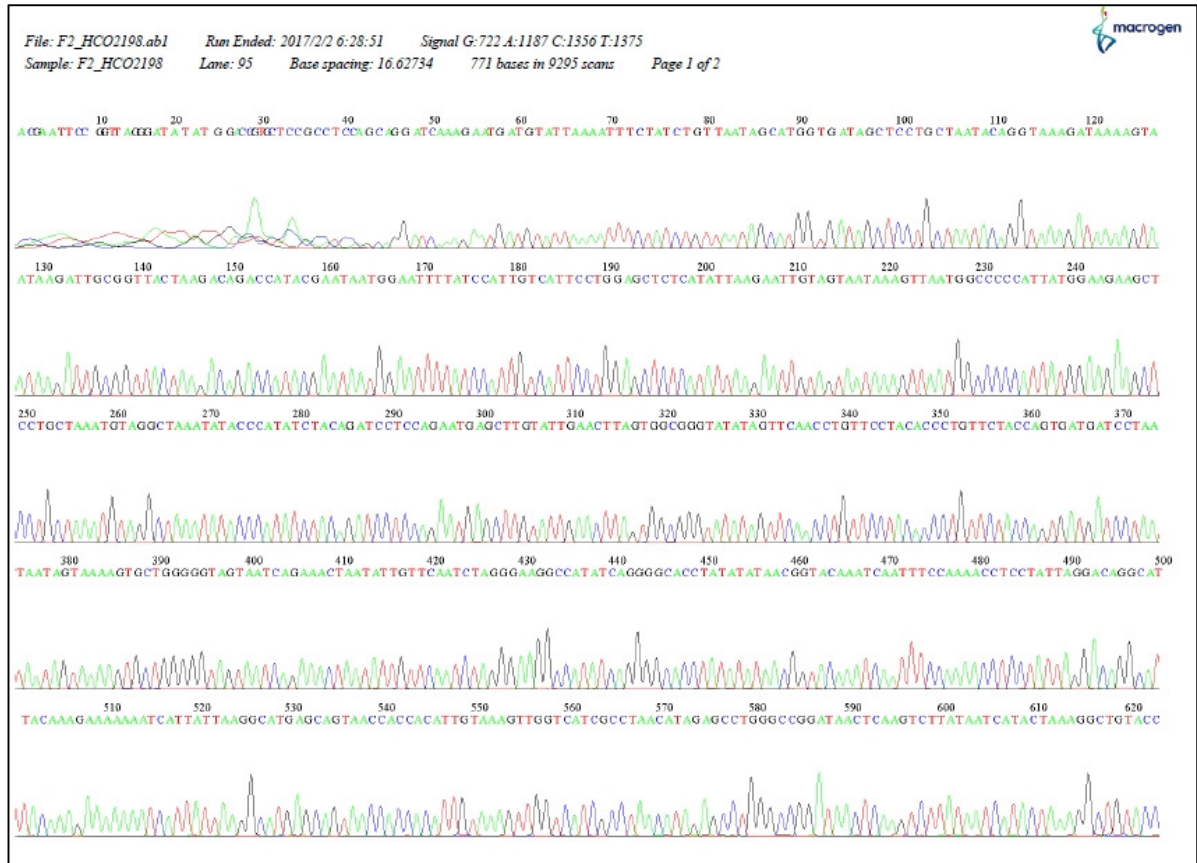
ภาพ บ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง E1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



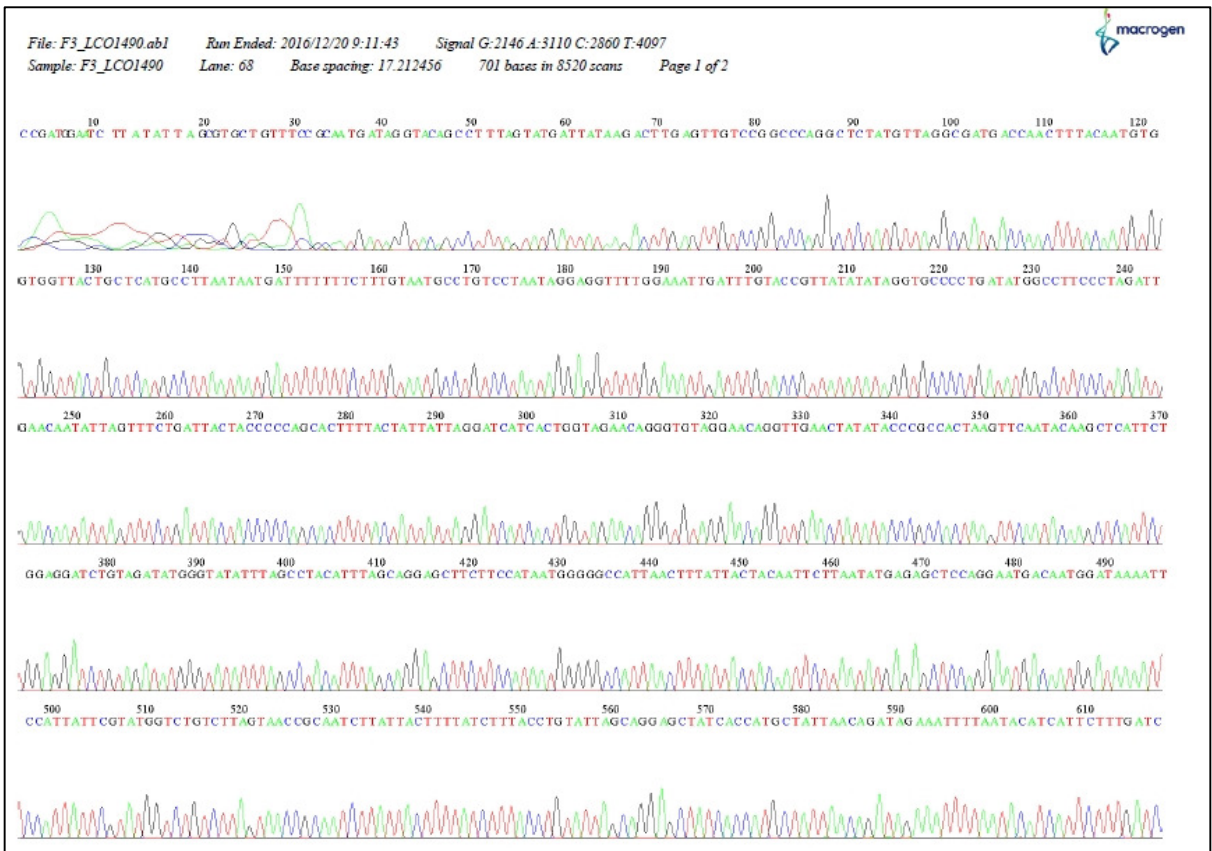
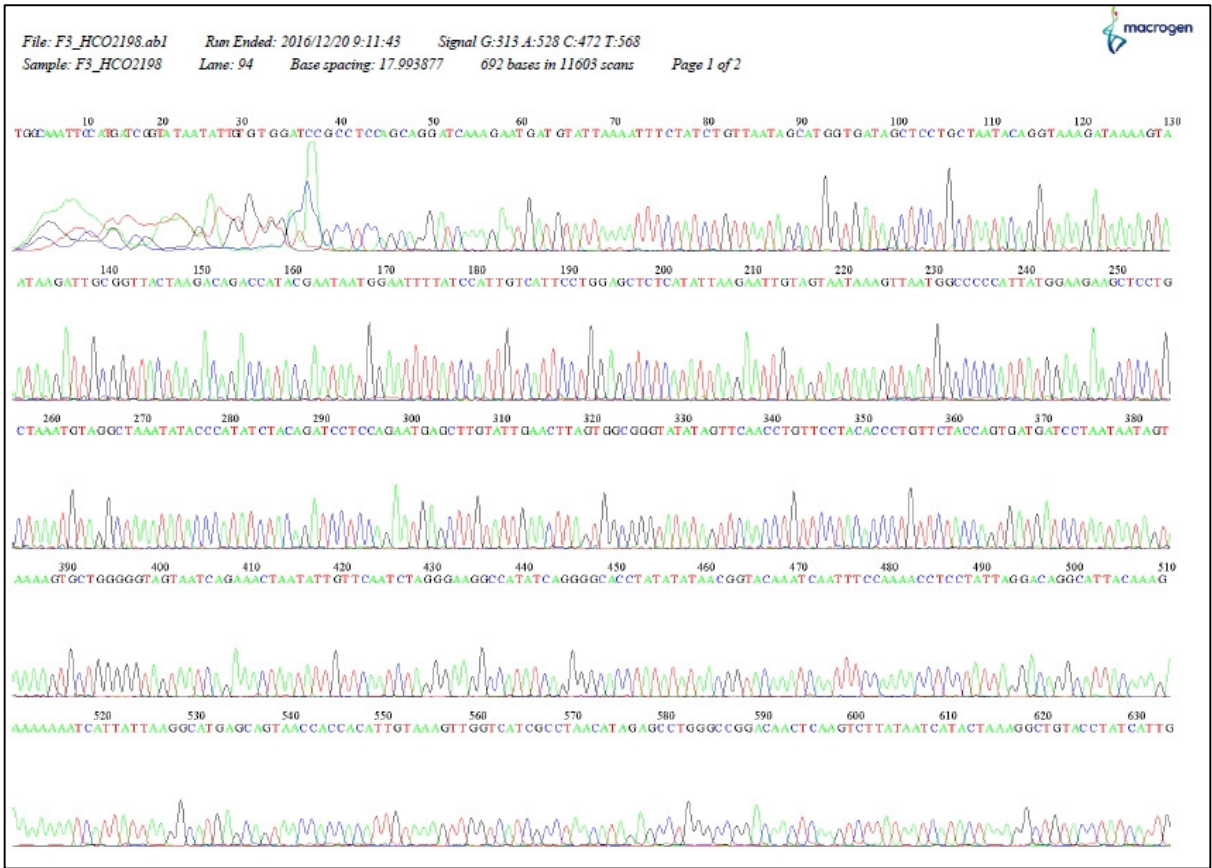
ภาพ ป ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง E2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



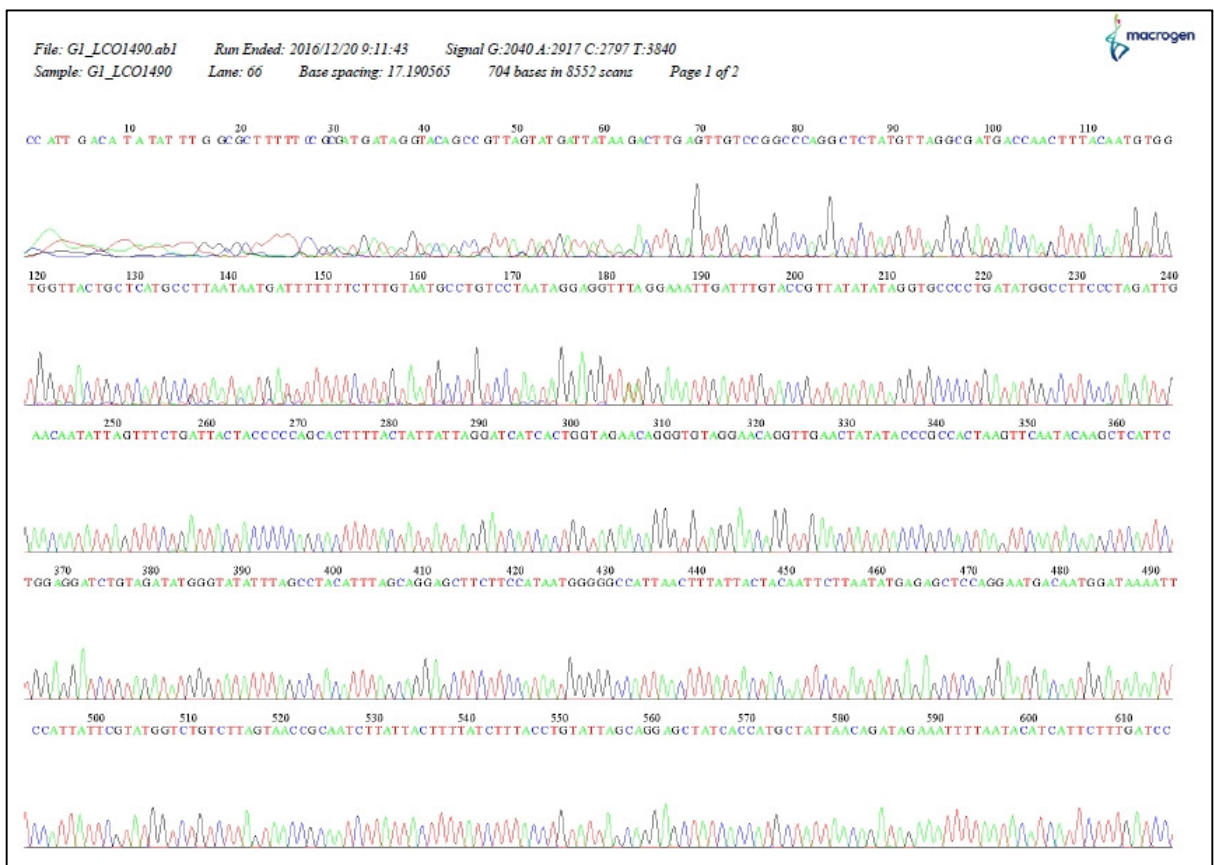
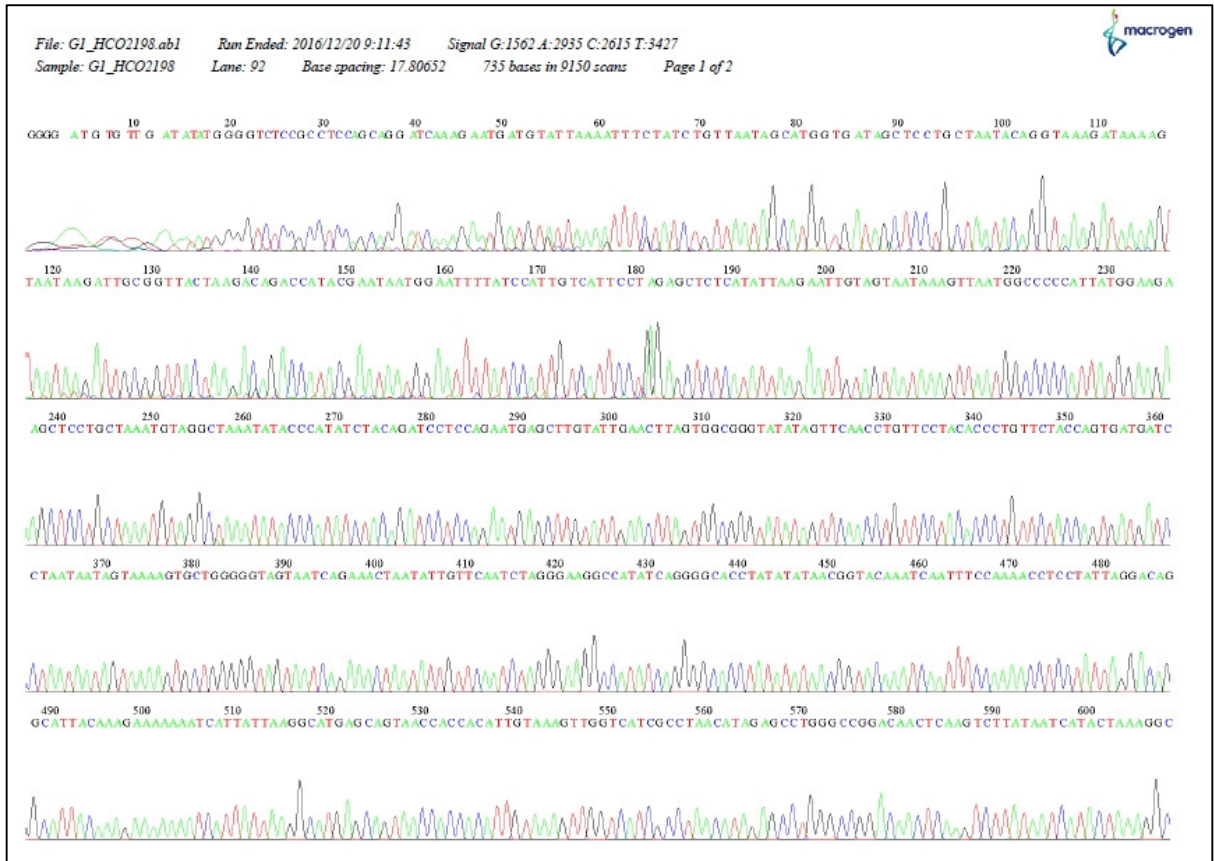
ภาพ ผ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



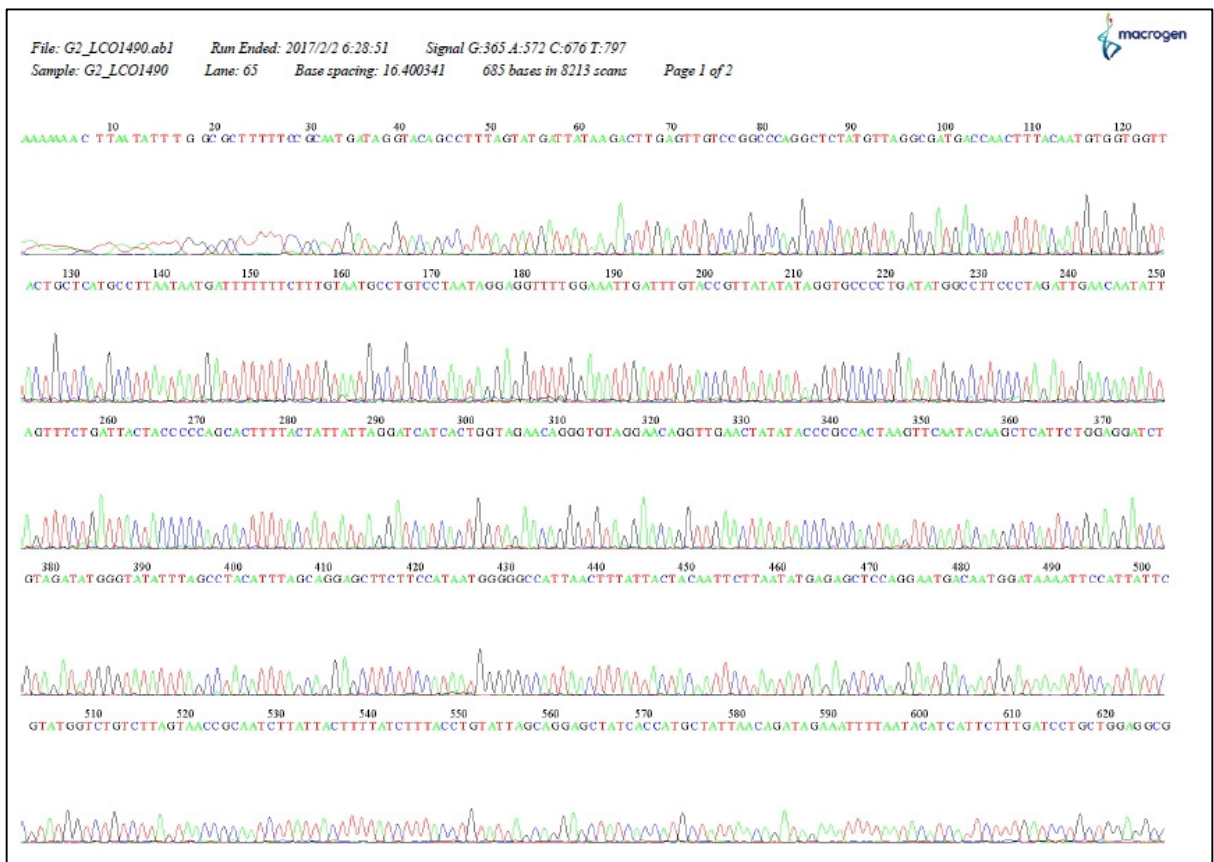
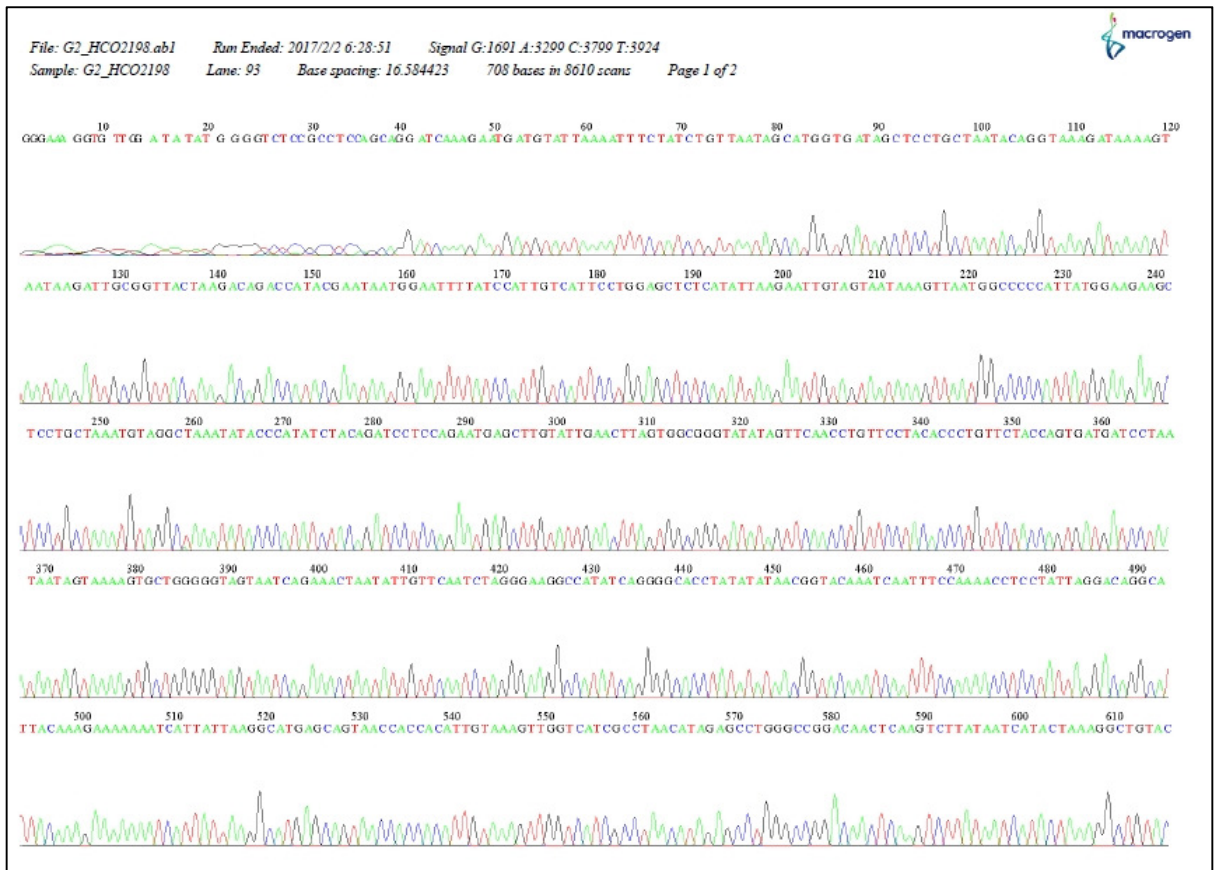
ภาพ ๗ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



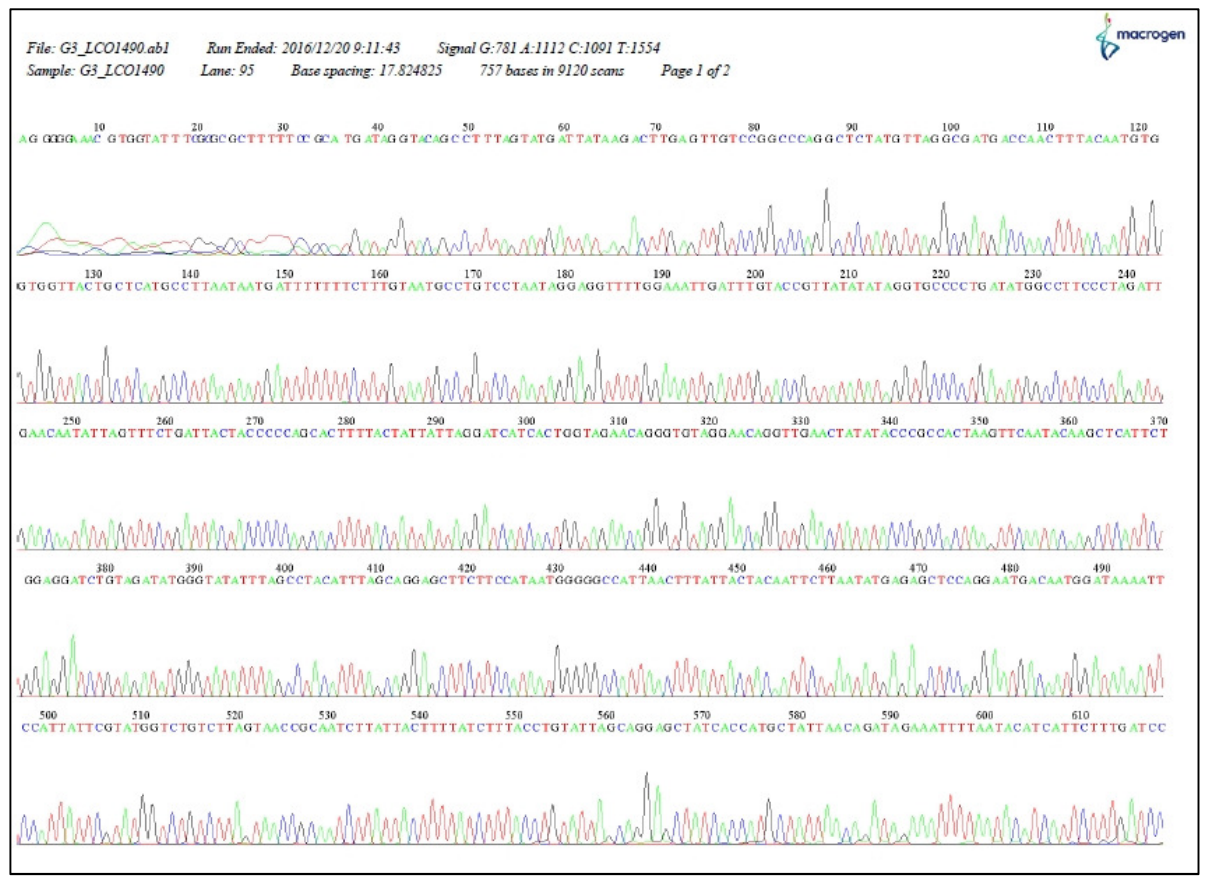
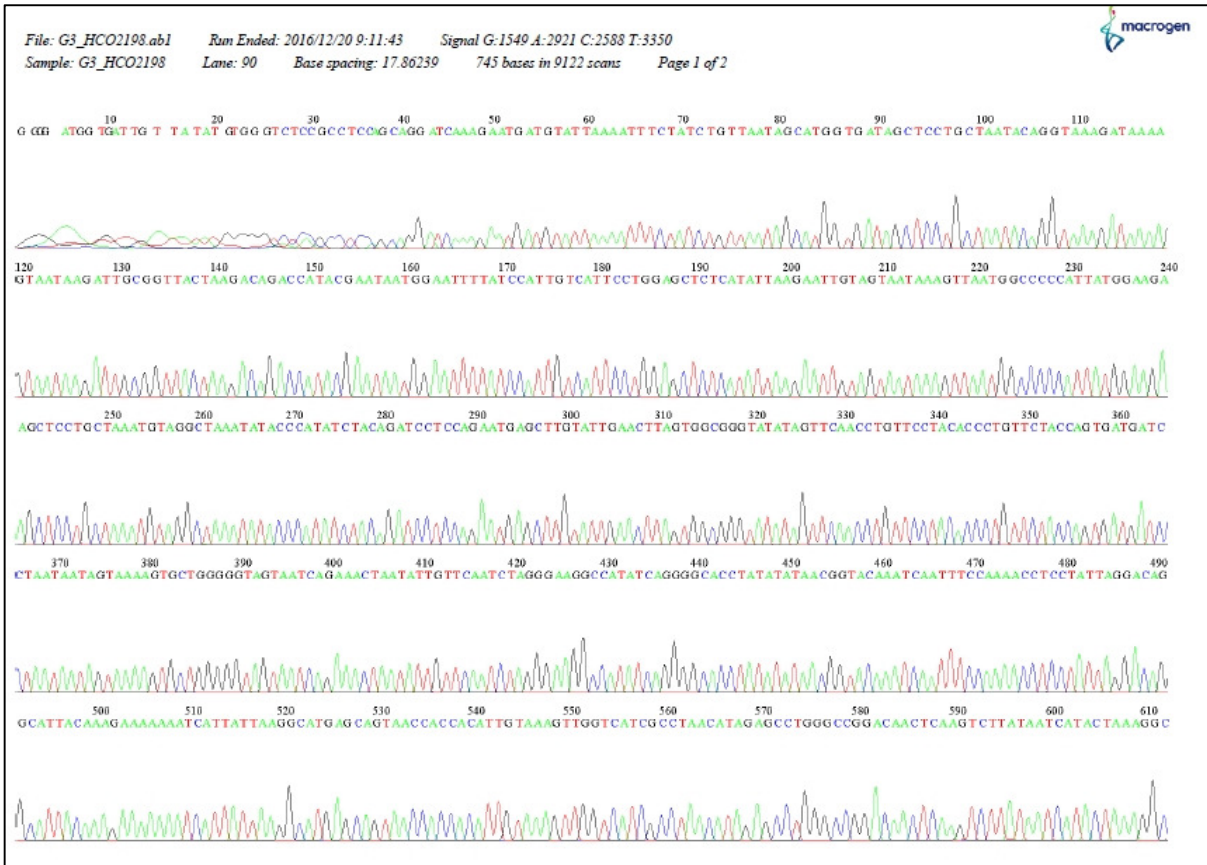
ภาพ พ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง F3 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



ภาพ ฟ ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G1 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)



ภาพ ก ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G2 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)




ภาพ ม ผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง G3 จาก forward (บน) และ reverse primers (ล่าง)

```
>A2_HCO2198
GCCTCCGCAGGATCAAAG
AATGATGTATTAATAATTTCTATCTGTTAATAGCATGGTGATAGCTCCTGC
TAATACAGGTAAAGATAAAAAGTAATAAGATTGCGGTTACTAAGACAGACC
ATACGAATAATGGAATTTTATCCATTGTCATTCTGGAGCTCTCATATTA
AGAATTGTAGTAATAAAGTTAATGGCCCCATTATGGAAGAAGCTCCTGC
TAAATGTAGGCTAAATATAACCCATATCTACAGATCCTCCAGAATGAGCTT
GTATTGAACTTAGTGGCGGGTATATAGTTCAACCTGTTCTACACCCTGT
TCTACCAGTGATGATCCTAATAATAGTAAAAGTGCTGGGGGTAGTAATCA
GAAACTAATATTGTTCAATCTAGGGAAGGCCATATCAGGGGCACCTATAT
ATAACGGTACAAATCAATTTCCAAAACCTCCTATTAGGACAGGCATTACA
AAGAAAAAATCATTATTAAGGCATGAGCAGTAACCACCACATTGTAAAG
TTGGTCATCGCCTAACATAGAGCCTGGGCCGGATAACTCAAGTCTTATAA
TCATACTAAAGGCTGTACCTATCATTGCGGAAAAAGCGCCAAATATTAAG
TATAAAGTTCCAATATCTTTA
```

```
>A2_LCO1490
TGATAGGTACAG
CCTTTAGTATGATTATAAAGACTTGAGTTATCCGGCCCAGGCTCTATGTTA
GGCGATGACCAACTTTACAATGTGGTGGTACTGCTCATGCCTTAATAAT
GATTTTTTTCTTTGTAATGCCTGTCCTAATAGGAGGTTTTGGAAATTGAT
TTGTACCGTTATATATAGGTGCCCTGATATGGCCTTCCCTAGATTGAAC
AATATTAGTTTCTGATTACTACCCCCAGCACTTTTACTATTATTAGGATC
ATCACTGGTAGAACAGGGTGTAGGAACAGGTTGAACTATATACCCGCCAC
TAAGTTCAATACAAGCTCATTCTGGAGGATCTGTAGATATGGGTATATTT
AGCCTACATTTAGCAGGAGCTTCTTCCATAATGGGGGCCATTAACCTTTAT
TACTACAATTCTTAATATGAGAGCTCCAGGAATGACAATGGATAAAAATTC
CATTATTCGATGGTCTGTCTTAGTAACCGCAATCTTATTACTTTTATCT
TTACCTGTATTAGCAGGAGCTATCACCATGCTATTAACAGATAGAAATTT
TAATACATCATTCTTTGATCCTGCTGGAGGCGGAGACCCCATATTATTTT
AACACTTATTCTGATTTTTTTGGTCA
```

ภาพ ย ตัวอย่างไฟล์ในรูปแบบ fasta แสดงลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง A2 จาก reverse primer HCO2198 และ forward primer LCO1490 บรรทัดแรกแสดงชื่อของตัวอย่างและ primer ที่ใช้ บรรทัดที่สองแสดงลำดับทางพันธุกรรม



PRABI-Doua
Pôle Rhône-Alpes de Bioinformatique Site Doua

Presentation

Online Services

Databases

Software and packages

Miscellaneous

Legacy

Partners


CAP3 Sequence Assembly Program

Enter your sequences in [FASTA](#) format (no more than 50 kb):





```
>A2_HC02198
GCCCTCCGCAAGGATCAAAG
AATGATGTAT TAAAATTTCTATCTGTTAATAGCATGGTGATAGCTCCTGC
TAATACAGGTAAGATAAAAAGTAATAAGATTGCGTTACTAAGACAGACC
ATACGAATAATGGAAATTTTATCCATTGTCTTCCCTGGAGCTCTCATATTA
AGAAATTGTAGTAATAAAGTTAATGGCCCCATTATGGAAGAAGCTCCTGC
```

This form allows you to assemble a set of contiguous sequences (contigs) with the [CAP3](#) program.

If you use CAP3 in any published work, please cite the following reference:
Huang, X. and Madan, A. (1999) CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Res.*, **9**, 868-877.
For a more advanced usage of CAP3, it is recommended to install the original software on your local computers.



Last modification on Jan 2014



PRABI-Doua
Pôle Rhône-Alpes de Bioinformatique Site Doua

Presentation

Online Services

Databases

Software and packages

Miscellaneous

Legacy

Partners

CAP3 assembly:

Running ... done.
Results:

Contigs

Single sequences

Assembly details

Your sequence file



Last modification on Jan 2014






ภาพ ร โปรแกรม CAP3 ใช้สำหรับการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมในรูปแบบ fasta (ภาพบน) ของแต่ละตัวอย่างจาก forward และ reverse primers เพื่อรวมลำดับทางพันธุกรรมเป็นเส้นเดียว (sequence assembly) (ภาพล่าง)

Number of segment pairs = 2; number of pairwise comparisons = 1
 '+' means given segment; '-' means reverse complement

Overlaps Containments No. of Constraints Supporting Overlap

***** Contig 1 *****

A2_LC01490-
 A2_HCO2198+

DETAILED DISPLAY OF CONTIGS

***** Contig 1 *****

```

      .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :
A2_LC01490-   TGACCAAAAAATCAGAATAAGTGTTGAAATAAATATGGGGTCTCCGCCTCCAGCAGGATCA
A2_HCO2198+                                     GCAGGATCA
  
```

```

consensus     TGACCAAAAAATCAGAATAAGTGTTGAAATAAATATGGGGTCTCCGCCTCCAGCAGGATCA
  
```

```

      .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :
A2_LC01490-   AAGAATGATGTATTAATAATTCTATCTGTTAATAGCATGGTGATAGCTCCTGCTAATACA
A2_HCO2198+   AAGAATGATGTATTAATAATTCTATCTGTTAATAGCATGGTGATAGCTCCTGCTAATACA
  
```

```

consensus     AAGAATGATGTATTAATAATTCTATCTGTTAATAGCATGGTGATAGCTCCTGCTAATACA
  
```

```

      .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :
A2_LC01490-   GGTAAAGATAAAAGTAATAAGATTGCGGTTACTAAGACAGACCATACGAATAATGGAATT
A2_HCO2198+   GGTAAAGATAAAAGTAATAAGATTGCGGTTACTAAGACAGACCATACGAATAATGGAATT
  
```

```

consensus     GGTAAAGATAAAAGTAATAAGATTGCGGTTACTAAGACAGACCATACGAATAATGGAATT
  
```

```

      .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :
A2_LC01490-   TTATCCATTGTCATTCTGGAGCTCTCATATTAAGAATTGTAGTAATAAAGTTAATGGCC
A2_HCO2198+   TTATCCATTGTCATTCTGGAGCTCTCATATTAAGAATTGTAGTAATAAAGTTAATGGCC
  
```

```

consensus     TTATCCATTGTCATTCTGGAGCTCTCATATTAAGAATTGTAGTAATAAAGTTAATGGCC
  
```

```

      .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :   .   :
A2_LC01490-   CCCATTATGGAAGAAGCTCCTGCTAAATGTAGGCTAAATATACCCATATCTACAGATCCT
A2_HCO2198+   CCCATTATGGAAGAAGCTCCTGCTAAATGTAGGCTAAATATACCCATATCTACAGATCCT
  
```

```

consensus     CCCATTATGGAAGAAGCTCCTGCTAAATGTAGGCTAAATATACCCATATCTACAGATCCT
  
```

ภาพ ล ตัวอย่างการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมจาก forward (LC01490) และ reverse primers (HCO1498) ของตัวอย่างแมงกะพรุน A2 และนำมารวมกันเป็นเส้นเดียว (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม CAP3