

การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปูนา 2 ชนิด Somanniathelphusa germaini
(Rathbun, 1902) กับ Somanniathelphusa bangkokensis Naiyanetr, 1982
ในภาคกลางของประเทศไทยโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

ปริญญาโท

ของ

ศรมน โพธิ์ทอง

- 5 เม.ย. 2537

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

กันยายน 2536

188145

คณะกรรมการควบคุม และคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นเป็นการสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการ

..... ประธาน
(ดร.อนันต์ พุทธิยาสาพร)
..... กรรมการ
(รศ.ดร.สมณฑา พรหมบุญ)
..... กรรมการ
(ศ.ไพบลีย์ นัยเนตร)
..... กรรมการ
(ผศ.พันธุ์สิน เกตุทัต)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน
(ดร.อนันต์ พุทธิยาสาพร)
..... กรรมการ
(รศ.ดร.สมณฑา พรหมบุญ)
..... กรรมการ
(ศ.ไพบลีย์ นัยเนตร)
..... กรรมการ
(ผศ.พันธุ์สิน เกตุทัต)
..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รศ.ดร.วราภรณ์ กิจวิริยะ)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศ.ดร.สมพร บัวทอง)

วันที่ 24 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2536

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้เพราะ ดร.อนันต์ พุทธิศาสนภาพ รศ.ดร.สมณฑา พรหมบุญ รศ.ดร.วรารมณ์ กิจวิริยะ ศ.ไพบุลย์ นัยเนตร และผศ.พันธุ์สิน เกตุทัต ให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ในการทดลองเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การจำแนกตัวอย่างและอำนวยความสะดวกในการทำ ปริญญานิพนธ์ตามลำดับ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณคุณศุภสรรัฐ สุนิมพ์ คุณมานะ ขาวเมฆ และเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้ กำลังใจในการทำปริญญานิพนธ์ ผู้วิจัยขอโน้มรำลึกถึงคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาตลอดมา

ศรมน โพธิ์ทอง

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	4
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	5
นิยามศัพท์เฉพาะ	6
2 วิธีการวิจัย	7
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	7
วิธีดำเนินการทดลอง	8
3 ผลการวิจัย	14
4 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	55
อภิปรายผล	55
ข้อเสนอแนะ	59
บรรณานุกรม	60
ภาคผนวก	64
ภาคผนวก ก	65
ภาคผนวก ข	93
ภาคผนวก ค	103
ประวัติผู้วิจัย	116

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	เปรียบเทียบความแตกต่างของปูนา <u>S. bangkokensis</u> Naiyanetr, 1982 กับ <u>S. germaini</u> (Rathbun, 1902)	9
2	ชนิดของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ปริมาณกระแสไฟฟ้า และเวลาที่ใช้ในการแยกเอนไซม์	11
3	ความถี่ของอัลลีล (allele frequency)	17
4	เฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (observed heterozygosity) ของประชากร <u>S. germaini</u>	41
5	เฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (observed heterozygosity) ของประชากร <u>S. bangkokensis</u>	43
6	เฮเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวัง (expected heterozygosity) ของประชากร <u>S. germaini</u>	45
7	เฮเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวัง (expected heterozygosity) ของประชากร <u>S. bangkokensis</u>	47
8	ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation) ของประชากร <u>S. germaini</u>	49
9	ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation) ของประชากร <u>S. bangkokensis</u>	51
10	ค่าความคล้ายทางพันธุกรรมและระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic similarity and genetic distance)	53
11	เปรียบเทียบค่าเฮเทอโรไซโกซิตี และค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย	56

12	เปรียบเทียบค่าความคล้ายทางพันธุกรรม(I) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม(D) ของ <u>S. bangkokensis</u> กับ <u>S. germaini</u>	57
13	เปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม(G_{ST}) ค่าความคล้ายทางพันธุกรรม(I) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม(D) ในปู <u>Somanniathelphusa</u> spp.	58
14	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ACP	71
15	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ADH	73
16	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ALDOX	74
17	จีโนไทป์ของเอนไซม์ AKP	75
18	จีโนไทป์ของเอนไซม์ EST	76
19	จีโนไทป์ของเอนไซม์ G-6-PDH	77
20	จีโนไทป์ของเอนไซม์ HBDH	78
21	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ODH	79
22	จีโนไทป์ของเอนไซม์ 6-PGD	80
23	จีโนไทป์ของเอนไซม์ SOD	81
24	จีโนไทป์ของเอนไซม์ XDH	82
25	จำนวนของจีโนไทป์ (number of genotypes)	83
26	ค่าโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของประชากร <u>S. germaini</u>	86
27	ค่าโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของประชากร <u>S. bangkokensis</u>	86

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP ₁	22
2 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP ₂	23
3 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP ₃	24
4 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP ₄	25
5 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ADH	26
6 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX ₁	27
7 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX ₂	28
8 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ AKP	29
9 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ EST ₁	30
10 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ EST ₂	31
11 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ EST ₃	32
12 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ G-6-PDH	33
13 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ HBDH	34
14 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ODH	35
15 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ 6-PGD	36
16 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD ₁	37
17 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD ₂	38
18 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD ₃	39
19 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ XDH	40
20 ค่ายบนและด้านล่างของปูนา <u>Somanniathelphusa bangkokensis</u> Naiyanetr, 1982	66

21	ด้านบนและด้านล่างของปูนา <u>Somanniathelphusa germaini</u> (Rathbun, 1902)	67
22	แสดงตับ(hepatopancreas)ของปูนา <u>Somanniathelphusa germaini</u> (Rathbun, 1902)	68
23	โกโนพอดของปูนา <u>Somanniathelphusa bangkokensis</u> Naiyanetr, 1982	69
24	โกโนพอดของปูนา <u>Somanniathelphusa germaini</u> (Rathbun, 1902)	70
25	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ACP	87
26	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ADH	87
27	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ALDOX	88
28	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ AKP	88
29	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ EST	89
30	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ G-6-PDH	89
31	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ HBDH	90
32	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ODH	90
33	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ 6-PGD	91
34	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ SOD	91
35	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ XDH	92

ปูน้ำจืดเป็นสัตว์ที่จัดอยู่ใน Phylum Arthropoda, Class Crustacea, Subclass Malacostraca, Superorder Eucarida, Order Decapoda, Suborder Reptantia, Section Brachyura, Family Parathelphusidae จัดเป็นสัตว์คืบคลานที่มีขา 10 ขา มีเพศแยก และมีส่วนท้อง (abdomen) ลดรูปจนเข้าไปอยู่ใต้ส่วนทรวงอก (thorax) มีการผสมพันธุ์ภายใน ออกลูกเป็นตัว ไม่มีระยะ larva และมีการเจริญเติบโตโดยการลอกคราบเป็นระยะๆ

ปูน้ำจืดเป็นสัตว์ที่มีการกระจายอย่างกว้างขวาง พบอยู่ทั่วไปทุกภาคของประเทศ การศึกษาปูน้ำจืดในประเทศไทยได้เริ่มโดย ไมล์-เอ็ดเวิร์ด (Milne-Edward. 1862) พบปูน้ำจืด 2 ชนิดที่กรุงเทพมหานครต่อมา ไบบลีย์ นัยเนตร (2521) ได้ศึกษาการกระจายของปูน้ำจืดในประเทศไทย และได้แบ่งปูน้ำจืดออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ปูนา ปูน้ำตก ปูป่า และปูลำห้วย ปูเหล่านี้ประชาชนตามชนบทนำมาเป็นอาหาร โดยเฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปูเหล่านี้ยังเป็นพาหะของโรคต่างๆ เช่น เป็นพาหะของพยาธิใบไม้ปอด (*Paragonimus* spp.) ในปูนา *Somanniathelphusa germaini* พบเมตาเซอคาเรียของ *P. siamensis* (สกุลรัฐ สุนิมพ์. 2532) ภาคกลางซึ่งเป็นภาคที่มีพื้นที่ในการทำนามากแห่งหนึ่ง มีการกระจายของปูนาจำนวนมาก ปูนาที่มีการกระจายมากที่สุดในภาคกลางเป็นชนิด *Somanniathelphusa bangkokensis* และลำดับสองคือ *Somanniathelphusa germaini* (ถวิล ประมวล. 2533) *S. bangkokensi* พบในจังหวัด กรุงเทพฯ ปทุมธานี นนทบุรี อยุธยา ชัยนาท สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สมุทรปราการ อ่างทอง ลพบุรี นครนายก นครปฐม นครสวรรค์ สุพรรณบุรี สิงห์บุรี สระบุรี ราชบุรี ส่วน *S. germaini* พบในจังหวัด ลพบุรี นครนายก สุพรรณบุรี ชัยนาท นครสวรรค์ และพิษณุโลก

การศึกษาการกระจายของปูน้ำจืดในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาลักษณะการกระจายตามภูมิศาสตร์ นิเวศวิทยาร่วมกับการจัดจำแนกตามลักษณะรูปร่างและลักษณะภายนอก โดยที่มีการศึกษาไม่มากนักเกี่ยวกับชีววิทยาในระดับโมเลกุลของปูน้ำจืดในประเทศไทย ซึ่งการศึกษาไอโซไซม์ (isozymes) ในประชากรปูโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ทำให้ทราบถึงกลไกของระบบยีน-เอนไซม์ (gene-enzyme system) ของประชากรปู ซึ่งทำให้ทราบถึงระดับความแปรผันทางพันธุกรรมของเอนไซม์ และทำให้ทราบความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการ

ศึกษาวิวัฒนาการของปูน้ำจืดในประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพของปูน้ำจืดในประเทศไทย สำหรับการศึกษาในครั้งนี้มุ่งการศึกษาการเปรียบเทียบของปูนา *S. bangkokensis* กับ *S. germaini* ซึ่งเป็นประชากรส่วนใหญ่ที่พบในภาคกลางของประเทศไทย โดยศึกษาความแตกต่างของแถบแอดคิวิตัสเตนของเอนไซม์บางชนิด ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความแปรผันทางพันธุกรรมโดยใช้วิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส เพื่อที่ศึกษาว่าปูนาต่างชนิดกันในแหล่งที่อยู่เดียวกันจะมีความแปรผันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด

การศึกษาคความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมกับสภาพนิเวศวิทยาของสิ่งมีชีวิต จะศึกษาจากแถบแอดคิวิตัสเตนของเอนไซม์โดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ซึ่งการศึกษาถึงพันธุกรรมในระดับโมเลกุลนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ทางเศรษฐกิจ การแพทย์ และการเกษตร ซึ่งมีงานวิจัยที่ศึกษากันมากในสิ่งมีชีวิตดังนี้

จากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของแมลงหวี่ 2 ชนิด *Drosophila simulans* และ *D. immigrans* จาก อววาย พบว่า *D. simulans* จากอววายมีความแปรผันทางพันธุกรรมน้อยกว่า *D. simulans* จากเท็กซัสมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.073 และ 0.162 ตามลำดับ แสดงว่า *D. simulans* จากเท็กซัสการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีกว่า ส่วน *D. immigrans* จากอววาย มีความแปรผันทางพันธุกรรมคล้ายกับ *D. immigrans* จากเกาหลีมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย 0.92 และ 0.93 ตามลำดับ แสดงว่า *D. immigrans* มีการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและมีการแพร่กระจายได้ไม่แตกต่างกัน (Steiner and others. 1976)

ยุงก้นปล่อง *Anopheles balabacensis* เป็นพาหะนำโรคมาเลเรีย และโรคเท้าช้างมาสู่คน จากการศึกษาการแปรผันของเอนไซม์ 6 ชนิดในไข่ของยุงก้นปล่อง *An. balabacensis* ในซาบา มาเลเชียได้ พบว่าเอนไซม์ esterase, hexokinase, isocitrate dehydrogenase, malic enzyme เป็นโมโนเมอร์ฟิค และพบว่าเอนไซม์ phosphoglucumutase และ glucose phosphate isomerase เป็นโพลีเมอร์ฟิค ซึ่งทั้ง 2 เอนไซม์มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยต่ำกว่า 4% (Young and others. 1985)

ในการศึกษาคความแปรผันทางพันธุกรรมและเปรียบเทียบวิวัฒนาการของกุ้ง 2 กลุ่ม คือกลุ่ม *Metapenaeus* spp. จำนวน 6 ชนิด และกลุ่ม *Penaeus* spp. จำนวน 7 ชนิด พบว่ามีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีของกุ้งทั้ง 2 กลุ่มอยู่ในช่วง 0.6-3.3 เปอร์เซ็นต์ และค่าโพลีมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 14 เปอร์เซ็นต์ ค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (genetic similarity) ของประชากรกุ้งทั้ง 2 กลุ่ม

มีค่าเท่ากับ 0.39 - 0.08 ค่าความคล้ายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งกลุ่ม Metapenaeus spp. มีค่าเท่ากับ 0.69 - 0.08 และในกลุ่ม Penaeus spp. มีค่าความคล้ายทางพันธุกรรมของประชากรกึ่งเท่ากับ 0.65 - 0.08 จากการศึกษาพบว่ากึ่ง M. ensis และ M. insolitus ซึ่งเป็นกึ่งอยู่ในกลุ่ม Metapenaeus spp. มีระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) มากที่สุดคือเท่ากับ 0.52 - 0.14 จากการศึกษาทั้งในกลุ่ม Penaeus spp. พบว่า P. monodon กับ P. longistylus มีระยะห่างพันธุกรรมมากที่สุดคือเท่ากับ 0.66 - 0.16 (Mully and Lather. 1980)

จากการจำแนกชนิดของหอยทราয়ในสกุล Corbicula จากแม่น้ำลำคลองในประเทศไทย 40 แห่ง (วรารณ กิจวิริยะ. 1990) สามารถจำแนกหอยทราয়ได้ 23 ชนิด โดยเปรียบเทียบรูปลักษณะของเปลือก ลักษณะภายใน และศึกษาความหลากหลายของเอนไซม์ 13 ชนิด 24 โลคัส พบว่ามีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.011 ค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย 4.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่าลักษณะของเปลือก ลักษณะภายใน และข้อมูลทางพันธุกรรมแสดงลักษณะสอดคล้องกัน จึงได้สรุป และเสนอว่าหอยทราয়สกุล Corbicula ที่พบและศึกษาในประเทศไทยควรจัดเป็นชนิดเดียวกัน

จากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปูนาสกุล Somanniathelphusa dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย 4 จังหวัด คือ สกลนคร ขอนแก่น ชัยภูมิ อุดรธานี (สุธี อันเจ็ก. 2534) และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย 4 จังหวัด คือ บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี (มานะ ขาวเมฆ. 2536) โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส จากการศึกษาพบว่าปูนาสกุล S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.404 และ 0.223 ตามลำดับ ส่วนปูนาสกุล S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.280 และ 0.146 จะเห็นได้ว่าปูนาสกุล S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนมีความแปรผันทางพันธุกรรมมากกว่ากลุ่มปูนา S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างในการศึกษาความคล้ายกันทางพันธุกรรม และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมพบว่าปูนาสกุล S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีค่าอยู่ในช่วง 0.971-0.994 และ 0.006-0.029 ตามลำดับ ส่วนปูนาสกุล S. dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มีค่าความคล้ายทางพันธุกรรม และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.9890-0.9976 และ 0.0024-0.0111 จากค่าที่ได้แสดงว่าปูนาสกุล S. dugasti มีความคล้ายกันทางพันธุกรรมมาก ซึ่งไม่สอดคล้องกับความแตกต่างภายนอก

ในการจำแนกปูนากลุ่ม S. dugasti (ถวิล ประมวล. 2533) ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่ากลุ่มปู S. dugasti เป็นปูที่มีสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันมาก แต่อยู่ในสภาพแวดล้อมต่างๆ กันทำให้ปูในกลุ่มนี้มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมเพื่อการดำรงชีวิต จึงทำให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรมขึ้น ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของปูโดยการคัดเลือกตามธรรมชาติ

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เปรียบเทียบองค์ประกอบแถบแอดติวิตีสเทนของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ว่ามีองค์ประกอบอย่างไร เพื่อศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของ S. bangkokensis จากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานี กับ S. germaini จากจังหวัด นครสวรรค์ และนครนายก
2. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางกายวิภาค กับความแปรผันทางพันธุกรรมของปูนา 2 ชนิดนี้
3. เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาถึงวิวัฒนาการของปูน้ำจืด อันเนื่องมาจากความแปรผันทางพันธุกรรม และสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ตัวอย่างปูนา S. bangkokensis จาก อ.เมือง จ.นครปฐม และอ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี แห่งละ 20 ตัว
ตัวอย่างปูนา S. germaini จาก อ.เมือง จ.นครนายก และอ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ แห่งละ 20 ตัว
2. การศึกษาใช้ตับ (hepatopancreas) จากปูนา S. bangkokensis และ S. germaini ที่มีความกว้างของขอบกระดอง 3-5 เซนติเมตร
3. ใช้วิธีการอิมมูโนเคมีศึกษาเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH ; E.C.# 3.1.3.2), acid phosphatase (ACP ; E.C.# 3.1.3.2), alkaline phosphatase (AKP ; E.C.# 3.1.3.1), aldehyde oxidase (ALDOX ; E.C.# 1.2.3.1), esterase (EST ; E.C.# 3.1.1.1), p-hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH ; E.C.# 1.1.1.30), octanol dehydrogenase (ODH ; E.C.# 1.1.1.37), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD ; E.C.# 1.1.1.49),

6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD ; E.C.# 1.1.1.44), superoxide dismutase (SOD ; E.C.# 1.15.1.1), และ xanthine dehydrogenase (XDH ; E.C.# 1.2.1.37) โดยใช้สตาร์ชเจล

(starch gel) เป็นตัวกลางในการเคลื่อนที่

4. นำแถบที่ได้จากแอกติวิตีสเตน (activity stain) ของเอนไซม์ในข้อ 3 มาเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ค่านวค่าโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) เฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) เพื่อนำมาเปรียบเทียบหาค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (genetic similarity) ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST} ; genetic differentiation)

ความสำคัญของการศึกษา

1. เป็นข้อมูลพื้นฐานการศึกษาด้านชีววิทยาโดยเฉพาะอนุกรมวิธาน รวมทั้งการศึกษาวิวัฒนาการและการแพร่กระจายของปูนาในประเทศไทย
2. เป็นข้อมูลพื้นฐานในแนวทางของการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพของปูน้ำจืดในประเทศไทย
3. ความรู้ทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ทางเศรษฐกิจ และการแพทย์ในอนาคต

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ปูนา หมายถึงปูน้ำจืดที่อาศัยอยู่ในบริเวณน้ำขุ่นหรือแหล่งน้ำจืดใกล้เคียง
2. ตับ (hepatopancreas) หมายถึงส่วนที่มีสีเหลืองคล้ำที่อยู่ในกระดองบริเวณทรวงอกปูหรือเรียกกันโดยทั่วไปว่าม้ามปู
3. โกโนพอด (gonopod) หมายถึงอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้ของปูนาอยู่ใต้ส่วนท้องอยู่ติดกับหน้าอก โกโนพอดเป็นอวัยวะหลักอย่างหนึ่งในการแยกชนิดของปูนา
4. โอมมาติเดียม (ommatidium) หมายถึงส่วนหนึ่งของตาปูนา มีจำนวนเป็นพันถึงหมื่นหน่วย
5. อิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นการเคลื่อนที่ของอออนในสนามไฟฟ้าเนื่องจากความแตกต่างในปริมาณประจุสุทธิ และความแตกต่างในอัตราส่วนของประจุต่อมวล ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญที่ทำให้อออนต่างๆ เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าด้วยความเร็วไม่เท่ากัน
6. โลคัส (locus) หมายถึงตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม
7. เฮเทอโรไซกัส (heterozygous) หมายถึงคู่ยีนที่ประกอบด้วยอัลลีลที่แตกต่างกัน
8. เฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) หมายถึงอัตราส่วนของตัวอย่างที่เป็นเฮเทอโรไซโกตต่อจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา
9. โพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) หมายถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะภายนอก หรือความแปรผันของอัลลีลในแต่ละโลคัส
10. ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance : D) หมายถึงค่าเฉลี่ยของจำนวนอัลลีลที่แตกต่างกันระหว่างประชากร X และ Y
11. ความคล้ายกันทางพันธุกรรม (genetic similarity : I) หมายถึงค่าเฉลี่ยของจำนวนอัลลีลที่เหมือนกันระหว่างประชากร X และ Y
12. ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation : G_{ST}) หมายถึงสัดส่วนของความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากร

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างปฏ
อุปกรณ์

1. ข้อง
2. ถังพลาสติก

2. การเตรียมตัวอย่าง
อุปกรณ์

1. หลอดสำหรับปั่นตัวอย่าง
2. กระจกน้ำแข็ง
3. เครื่องบดทำให้เนื้อเยื่อเซลล์แตก (homogenizer)
4. คีมคีบ
5. หลอดหยด
6. เครื่องชั่ง
7. ปิเปต (pipet)
8. เครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำ (refrigerated centrifuge)
9. หลอดเก็บตัวอย่าง (micro centrifuge)

สารเคมี

1. น้ำแข็ง
2. ทริส-ไฮโดรคลอริก (tris-HCl) 0.1 โมล/ลิตร pH 7.0

3. การศึกษาเอนไซม์โดยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิส

อุปกรณ์

1. ตู้เย็น
2. อุปกรณ์ถ่ายรูปเจล
3. ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)

4. ไมโครปิเปต (micropipette)
5. เครื่องมือตัดเจลให้เป็นแผ่น
6. ขวดรูปกรวยมีแขน (suction flask)
7. เครื่องจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง (power supply)
8. เครื่องให้ความร้อนพร้อมกวนสาร (hot plate stirrer)
9. ชุดเครื่องมืออิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoretic apparatus)
10. กล่องสำหรับใส่น้ำย่าย้อมสี (staining box)

สารเคมี

1. ทริส-ซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate) pH 8.0 , 8.1
2. ลิเทียมไฮดรอกไซด์-โบริกบัฟเฟอร์ (Lithium hydroxide-Boric buffer)
3. สารละลายฟีนอลเรด 0.01 เปอร์เซ็นต์
4. น้ำย่าย้อมสีแอกติวิตีของเอนไซม์ (enzyme activity staining)
5. สตาร์ชเจล (starch gel)
6. กรดอะซิติก
7. เมทานอล
8. น้ำกลั่น 2 ครั้ง
9. กระดาษกรองเบอร์ 1 , 3

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างปู

ตัวอย่างปูที่ใช้ศึกษามี 2 ชนิดคือ S. bangkokensis กับ S. germaini โดยเก็บปู S. bangkokensis จาก อ.เมือง จ.นครปฐม และ อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี เก็บปู S. germaini จาก อ.เมือง จ.นครนายก และ อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ จังหวัดละ 20 ตัว ตัวอย่างที่ใช้จะเก็บในช่วงเดือน มิถุนายน-ตุลาคม 2535 ใส่ช่องแล้วนำมาเลี้ยงในอ่างพลาสติกที่ห้องปฏิบัติการทดลองภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เลี้ยงโดยให้ปลา อาหารเลี้ยงกุ้ง อาหารเลี้ยงปลา

ลักษณะปู S. bangkokensis Naiyanetr, 1982 คือกระดองจะโค้งนูนมีลิ่มวงคล้าย ขอบกระดองมีฟัน 4 ซี่ รวมเข้าตา สันขอบเข้าตาตอนท้ายจะยาว เกือบตรงไปถึงขอบฟันซี่สุดท้ายทางด้านข้าง H-groove เห็นเด่นชัด ด้านข้างมี 7 ปล้อง ปล้องที่ 6 จะยาวกว่าปล้องสุดท้ายเล็กน้อย และค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยม ขอบรอยต่อระหว่างปล้องที่ 6 และปล้องสุดท้ายค่อนข้างตรง ปล้องที่ 5 จะเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู อวัยวะเพศผู้คู่ที่ 1 ส่วนฐานจะกว้าง ส่วนปลายจะแหลมตรง (รูปภาคผนวก ก)

ลักษณะปู S. germaini (Rathbun, 1902) คือกระดองจะโค้งนูน และตกกระทั่วไป ขอบกระดองมีฟัน 4 ซี่ รวมเข้าตา สันขอบเข้าตาตอนท้ายจะยาวไปถึงขอบฟันซี่สุดท้ายทางด้านข้าง และเว้ามาก ด้านท้องมีปล้อง 7 ปล้อง ปล้องสุดท้ายจะยาวกว่าปล้องที่ 6 เล็กน้อย ขอบรอยต่อระหว่างปล้องสุดท้าย และปล้องที่ 6 จะตรง ขอบด้านหน้าของปล้องที่ 4 จะโค้ง อวัยวะเพศผู้คู่ที่ 1 ส่วนฐานจะกว้าง ส่วนปลายจะโค้งงอเล็กน้อย (รูป 21 ภาคผนวก ก)

ตาราง 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของปูนา S. bangkokensis Naiyanetr, 1982 กับ S. germaini (Rathbun, 1902)

<u>S. bangkokensis</u> Naiyanetr, 1982	<u>S. germaini</u> (Rathbun, 1902)
1. กระดองจะโค้งนูน มีลิ่มวงคล้าย 2. ปล้องที่ 6 จะยาวกว่าปล้องสุดท้ายเล็กน้อย และค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยม ปล้องที่ 5 จะเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู 3. อวัยวะเพศผู้คู่ที่ 1 ส่วนฐานจะกว้าง ส่วนปลายจะแหลมตรง	1. กระดองจะโค้งนูน ขา และกระดองจะตกกระทั่วไป 2. ขอบรอยต่อระหว่างปล้องสุดท้าย และปล้องที่ 6 จะตรง ขอบด้านหน้าของปล้องที่ 4 จะโค้ง 3. อวัยวะเพศผู้คู่ที่ 1 ส่วนฐานจะกว้าง ส่วนปลายจะโค้งงอเล็กน้อย

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 นำตัวอย่างขนาดกระดองกว้าง 3-5 เซนติเมตรแช่ในน้ำแข็งประมาณ 5

นาที

2.2 แกะกระดองปูออก นำตับ (hepatopancreas) ปูมาตัวละ 1 กรัมใส่ในหลอดปั่น หลอดละตัว หยดสารละลายทริส-ไฮโดรคลอริก 0.1 โมล/ลิตร pH 7.0 ลงไปหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร บดตับปูให้ละเอียด

2.3 นำของผสมไปปั่นด้วยความเร็ว 10,000 รอบ/วินาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที

2.4 คัดสารละลายใส (supernatant) ใส่ในหลอดขนาดเล็กและเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะใช้ (ไม่เกิน 3 เดือน)

3. การศึกษาเอนไซม์โดยอิเล็กโตรโฟรีซิส

3.1 การเตรียมเจลและอิเล็กโตรโฟรีซิส

3.1.1 เตรียมถาดที่จะใส่เจลขนาด 15 x 17 เซนติเมตร สูง 4 ชั้น uly 0.2 เซนติเมตร

3.1.2 เตรียมสารละลายสตาร์ชเจล (potato starch gel: Sigma) โดยใช้สตาร์ชเจล 22 กรัมใส่ในสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเตรียมเจลปริมาตร 240 มิลลิลิตร (ตาราง 2) ให้ความร้อนพร้อมกวนบน hot plate stirrer ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 20 นาที เจลจะเปลี่ยนจากขุ่นเป็นใส จากนั้นนำมาคุดอากาศออก ด้วยปั๊มสุญญากาศเป็นเวลา 30 วินาที ที่ความดัน 600 มิลลิเมตรปรอท

3.1.3 เทสตาร์ชเจลในถาดที่เตรียมไว้ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ในตู้เย็นเป็นเวลา 30 นาที เพื่อปรับอุณหภูมิของสตาร์ชเจลให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสารตัวอย่าง

3.1.4 เอาสารตัวอย่างที่แช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ออกจากตู้เย็นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ให้ละลาย

3.1.5 นำสตาร์ชเจลออกจากตู้เย็นทำเครื่องหมายในสตาร์ชเจลให้เป็นช่องห่างจากขอบด้านหนึ่งประมาณ 3 เซนติเมตร

3.1.6 นำกระดาษกรองมาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.7 x 1.5 เซนติเมตร ชุบน้ำตัวอย่าง ที่นำออกจากช่องแช่แข็งของตู้เย็นแล้วเสียบลงในช่องสตาร์ชเจลโดยมีฟีนอลเรด เป็นตัวบอกระยะการเคลื่อนที่

3.1.7 นำถาดสตาร์ชเจลไปวางบนถาดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับขั้ว

ไฟฟ้า 2 ข้าง โดยมีสารละลายบัฟเฟอร์ข้างละ 80 มิลลิลิตร ใช้ผ้าขาวชุบสารละลายบัฟเฟอร์วางพาดบนสตาร์ชเจล กับสารละลายบัฟเฟอร์ เพื่อเป็นสะพานอออนโดยให้จุดเริ่มต้นเอนไซม์อยู่ทางขั้วลบ

3.1.8 ต่อขั้วไฟฟ้าจากกล่องสารละลายบัฟเฟอร์ เข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้ากระแส (ตาราง 2) จนสีของฟีนอลเรดเคลื่อนที่จากจุดเริ่มต้นไปได้ระยะทางอย่างน้อย 10 เซนติเมตร

3.1.9 ปิดกระแสไฟฟ้านำเจลมาตัดเป็น 3 แผ่น แล้วนำแต่ละแผ่นไปย้อมสีซึ่งแสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ต้องการศึกษา

3.2 การย้อมแอกติวิตีของเอนไซม์ (enzyme activity staining)

3.2.1 นำแผ่นเจลไปย้อมสีแอกติวิตีสแตนท์ของเอนไซม์แต่ละชนิด (ภาคผนวก ข) เอนไซม์ที่จะศึกษาและนำแอกติวิตีมาย้อมสีมี 11 ชนิด คือ acid phosphatase, alcohol dehydrogenase, alkaline phosphatase, aldehyde oxidase, esterase p-hydroxybutyrate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, octanol dehydrogenase, superoxide dismutase, xanthine dehydrogenase

ตาราง 2 ชนิดของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ปริมาณกระแสไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการแยกเอนไซม์

ระบบบัฟเฟอร์	เอนไซม์ที่ใช้บัฟเฟอร์แยก	ปริมาณกระแสไฟฟ้าและความต่างศักย์ไฟฟ้า	ระยะเวลาในการจ่ายกระแสไฟฟ้า
CA-7	G-6-PD	กระแสคงที่ 40 มิลลิแอมป์	5 ชั่วโมง
TBE. 8.6	ADH	กระแสคงที่ 40 มิลลิแอมป์	5 ชั่วโมง
T.C. 8.0	ACP AKP EST	กระแสคงที่ 60 มิลลิแอมป์	7 ชั่วโมง
	XDH 6-PGD	กระแสคงที่ 60 มิลลิแอมป์	8 ชั่วโมง
	HBDH ODH	กระแสคงที่ 60 มิลลิแอมป์	10 ชั่วโมง
LiOH-Boric	ALDOX SOD	กระแสคงที่ 60 มิลลิแอมป์	10 ชั่วโมง

หมายเหตุ วิธีการเตรียมบัฟเฟอร์อยู่ในภาคผนวก ข

3.2.2 นำแผ่นเจลที่ย้อมสีแอกติวิตีของเอนไซม์แล้ว มาวิเคราะห์ และ บันทึกพร้อมถ่ายรูปแถบแอกติวิตีสแตนด์แล้วเก็บแผ่นเจลในตู้เย็น สำหรับใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบภายหลัง ข้อมูลของแถบแอกติวิตีสแตนด์ของเอนไซม์ นำมาคำนวณหาค่าทางพันธุกรรม

3.3 การคำนวณค่าทางพันธุกรรม

3.3.1 คำนวณค่าความถี่ของอัลลีล (allele frequency) จากสูตร

$$\text{ความถี่ของอัลลีล} = \frac{\text{จำนวนอัลลีลที่พบในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง}}{\text{จำนวนอัลลีลทั้งหมดที่พบในกลุ่มตัวอย่าง}}$$

3.3.2 ค่าโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) จากสูตร

$$\text{ค่าโพลิมอร์ฟิซึม} = \frac{\text{จำนวนโพลิมอร์ฟิกโลคัส}}{\text{จำนวนโลคัสทั้งหมด}}$$

(โพลิมอร์ฟิกโลคัสหมายถึง โลคัสที่ไม่มีอัลลีลใดมีความถี่เกิน 0.98 เปอร์เซ็นต์)

3.3.3 คำนวณค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากการสังเกต (observed heterozygosity) จากสูตร

$$\text{ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต} = \frac{\text{จำนวนตัวอย่างที่เป็นเฮเทอโรไซโกต}}{\text{จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา}}$$

3.3.4 คำนวณค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่ได้จากความคาดหวัง (expected heterozygosity) จากหลักของ ฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Principle)

$$\text{ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวัง} = 1 - (A_1^2 + A_2^2)$$

$$\text{โดย } A_1 = \text{ความถี่ของอัลลีล } A_1$$

$$A_2 = \text{ความถี่ของอัลลีล } A_2$$

3.3.5 คำนวณค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST} : genetic differentiation) (Nei, 1975)

$$G_{ST} = \frac{H_T - \bar{H}_S}{H_T}$$

H_T = อัตราส่วนของเฮเทอโรไซโกซิตีในประชากรรวมทุกกลุ่ม

H_S = อัตราส่วนของเฮเทอโรไซโกซิตีในประชากรย่อยแต่ละกลุ่ม

$\bar{H}_S$ = ค่าเฉลี่ยของ H_S ของทุกกลุ่ม

3.3.6 คำนวณค่าความคล้ายทางพันธุกรรมของประชากร X และ Y

(genetic similarity : I) (Nei. 1975)

$$I = J_{xy} / \sqrt{J_x J_y}$$

โดย

$$j_x = \sum x_i^2$$

$$j_y = \sum y_i^2$$

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

$$J_x = \text{ค่าเฉลี่ยของ } j_x \text{ ทุกโลคัส}$$

$$J_y = \text{ค่าเฉลี่ยของ } j_y \text{ ทุกโลคัส}$$

$$J_{xy} = \text{ค่าเฉลี่ยของ } j_{xy} \text{ ทุกโลคัส}$$

$$X_i = \text{ความถี่ของยีนที่โลคัส } i \text{ ในประชากร X}$$

$$Y_i = \text{ความถี่ของยีนที่โลคัส } i \text{ ในประชากร Y}$$

3.3.7 คำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance : D)

$$D = -\log_e I$$

จากการศึกษาแถบแอกติวิตีสเตนของเอนไซม์ 11 ชนิด จากตับของปูนา 2 ชนิดคือ S. bangkokensis เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานี กับ S. germaini เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายก จังหวัดละ 20 ตัว ซึ่งพบว่าควบคุมโดยยีนจำนวน 19 โลไโซปรากฏผลดังนี้

1. ลักษณะแถบเอนไซม์แอกติวิตีสเตน (รูปภาคผนวก ก)

1.1 แอซิดฟอสฟาเตส (acid phosphatase , ACP)

แถบเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเตสมี 4 โลไโซในปู S. bangkokensis และ S. germaini คือตำแหน่งที่เป็น ACP₁, ACP₂, ACP₃ และ ACP₄ ตำแหน่ง ACP₂, ACP₃ และ ACP₄ ในปูนาทั้ง 2 ชนิด เป็นแบบโมโนมอร์ฟิก (monomorphic) คือมีแถบแอกติวิตีสเตนเพียงแถบเดียว ส่วน ACP₁ ในปูนา S. bangkokensis ทั้ง 2 จังหวัด และปูนา S. germaini จังหวัดนครสวรรค์ มีแถบแอกติวิตีสเตนเป็นโพลีมอร์ฟิก (polymorphic) แบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ริก (heterozygote monomeric) คือมีแถบแอกติวิตีสเตน 2 แถบ ส่วนจังหวัดนครนายก มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนมอร์ฟิก

1.2 แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase, ADH)

แถบเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสมี 1 โลคัส มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนมอร์ฟิก ในปูนาทั้ง 2 ชนิด คือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.3 อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase, AKP)

แถบเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมี 1 โลคัส มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนมอร์ฟิกในปูนาทั้ง 2 ชนิดคือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.4 อัลดีไฮด์ออกซิเดส (aldehyde oxidase, ALDOX)

แถบเอนไซม์อัลดีไฮด์ออกซิเดสมี 2 โลไโซ คือ ALDOX₁ และ ALDOX₂ ตำแหน่ง ALDOX₁ มีแถบแอกติวิตีสเตนสองแถบ เป็นโพลีมอร์ฟิกแบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ริก ส่วน ALDOX₂ มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนมอร์ฟิกในปูนาทั้ง 2 ชนิดคือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.5 เอสเทอร์เลส (esterase, EST)

แถบเอนไซม์เอสเทอร์เลสมี 4 โลโซ แต่สามารถตรวจนับได้ชัดเจน 3 โลโซ คือ EST_1 , EST_2 และ EST_3 EST_1 ในปูนา S. bangkokensis และ S. germaini มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิคทั้ง 4 จังหวัด EST_2 มีแถบแอกติวิตีสเตนเป็นโมโนเมอร์ฟิคคือมีแถบเดียว ในปูนาทั้ง 2 ชนิด คือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด EST_3 มีแถบแอกติวิตีสเตนสองแถบ เป็นโพลีเมอร์ฟิคแบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ฟิค ในปูนา S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.6 ออกทานอลดีไฮโดรจีเนส (octanol dehydrogenase, ODH)

แถบเอนไซม์ออกทานอลดีไฮโดรจีเนสมี 1 โลคัส มีแถบแอกติวิตีสเตนสองแถบเป็นโพลีเมอร์ฟิคแบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ฟิคทั้งในปูนา S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.7 กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD)

แถบเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนสมี 1 โลคัส มีแถบแอกติวิตีสเตนเป็นโพลีเมอร์ฟิคแบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ฟิค มีแถบแอกติวิตีสเตนสองแถบ ในปูนาทั้ง 2 ชนิดคือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.8 6-ฟอสโฟกลูโคเนตดีไฮโดรจีเนส (6-phosphogluconate dehydrogenase, 6-PGD)

แถบเอนไซม์ 6-ฟอสโฟกลูโคเนตดีไฮโดรจีเนสมี 1 โลคัส มีแถบแอกติวิตีสเตนแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิคในปูนาทั้ง 2 ชนิดคือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้งใน 4 จังหวัด

1.9 ไฮดรอกซีบิวทาเรตดีไฮโดรจีเนส (hydroxybutyrate dehydrogenase, HBDH)

แถบเอนไซม์ไฮดรอกซีบิวทาเรตดีไฮโดรจีเนส ในปูนาชนิด S. bangkokensis กับ S. germaini พบว่ามี 1 โลคัส แถบแอกติวิตีสเตนมีแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิค ทั้ง 4 จังหวัด

1.10 ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD)

แถบเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสมี 3 ไอโซคือ SOD_1 , SOD_2 และ SOD_3 ในปูนาชนิด S. bangkokensis และ S. germaini จะมีแถบแอกทีวิตีสเทนเหมือนกันทุกจังหวัด โดย SOD_1 จะมีแถบแอกทีวิตีสเทนแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิค SOD_2 จะมีแถบแอกทีวิตีสเทนสองแถบ เป็นโพลีเมอร์ฟิคแบบเฮเทอโรไซโกตโมโนเมอร์ฟิค และ SOD_3 มีแถบแอกทีวิตีสเทนแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิคในปูนาทั้ง 2 ชนิด คือ S. bangkokensis และ S. germaini ทั้ง 4 จังหวัด

1.11 แชนทีนดีไฮโดรจีเนส (xanthine dehydrogenase, XDH)

แถบเอนไซม์แชนทีนดีไฮโดรจีเนสมี 1 ไอโซ มีแถบแอกทีวิตีสเทนแถบเดียว เป็นโมโนเมอร์ฟิค เหมือนกันทุกจังหวัดทั้งในปูนาชนิด S. bangkokensis กับ S. germaini

2. จากแถบแอกติวิตีสเทของเอนไซม์ที่ได้ นำมาหาค่าต่างๆดังนี้

2.1 ความถี่ของอัลลีล (allele frequency)

ตาราง 3 ความถี่ของอัลลีล

ตำแหน่ง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
ACP ₁				
(N)	20	20	19	19
A ₁	0.600	1.000	0.578	0.605
A ₂	0.400	0	0.421	0.394
ACP ₂				
(N)	20	19	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
ACP ₃				
(N)	20	20	19	19
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
ACP ₄				
(N)	18	19	18	17
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
ADH				
(N)	20	20	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000

ตาราง 3 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
ALDOX ₁				
(N)	20	20	20	20
A ₁	0.600	0.700	0.675	0.650
A ₂	0.400	0.300	0.325	0.350
ALDOX ₂				
(N)	20	20	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
AKP				
(N)	20	20	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
EST ₁				
(N)	20	20	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
EST ₂				
(N)	20	20	17	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
A ₂	0	0	0	0
EST ₃				
(N)	20	20	20	20
A ₁	0.625	0.650	0.450	0.525
A ₂	0.375	0.350	0.550	0.475

ตาราง 3 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
G-6-PDH				
(N)	20	20	20	20
A ₁	0.600	0.550	0.550	0.575
A ₂	0.400	0.450	0.450	0.425
HBDH				
(N)	20	20	20	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
ODH				
(N)	20	20	20	20
A ₁	0.600	0.650	0.625	0.700
A ₂	0.400	0.350	0.375	0.300
6-PGD				
(N)	18	20	19	20
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
SOD ₁				
(N)	16	16	15	17
A ₁	1.000	1.000	1.000	1.000
SOD ₂				
(N)	20	20	20	20
A ₁	0.550	0.600	0.550	0.575
A ₂	0.450	0.400	0.450	0.425

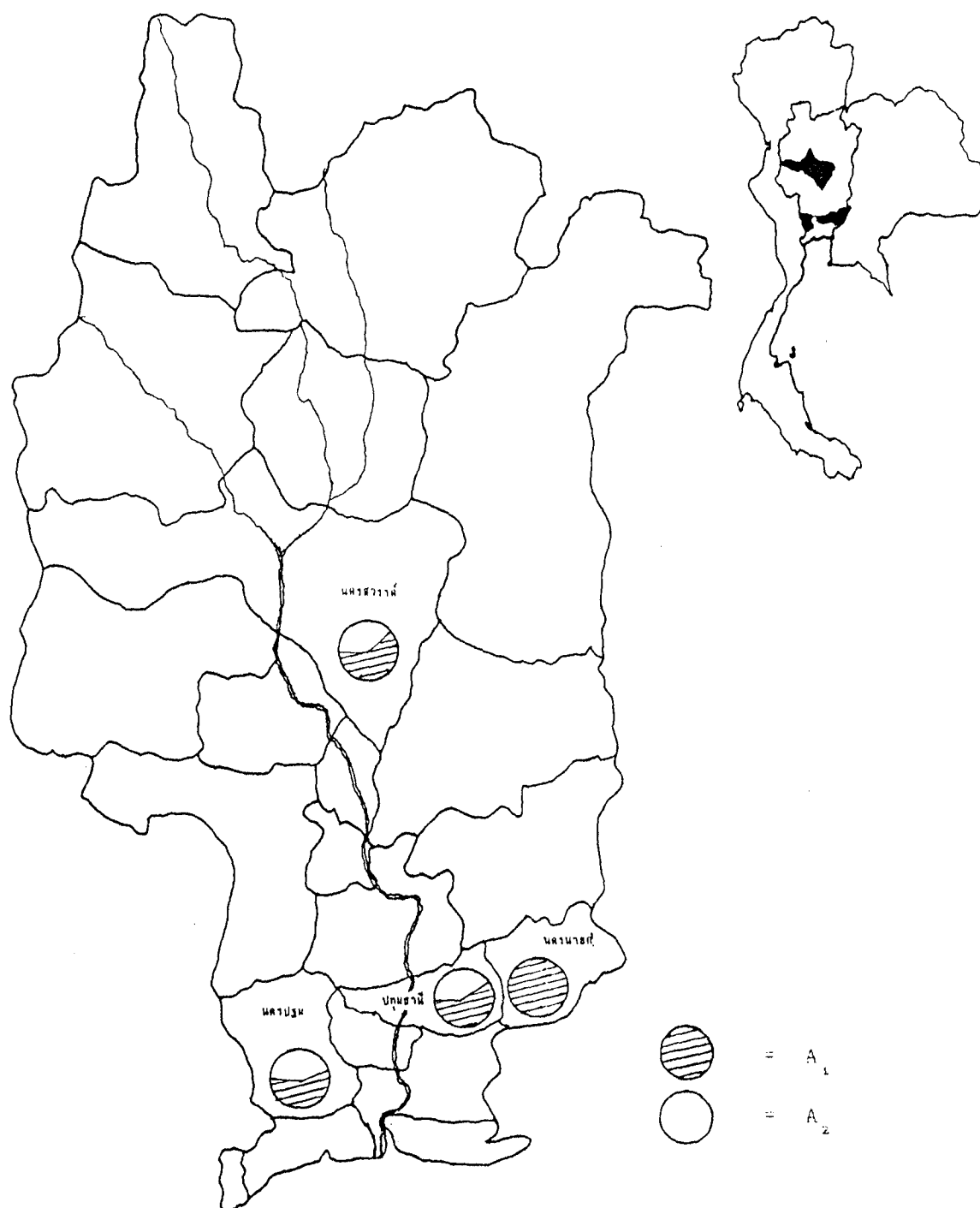
ตาราง 3 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
SOD _a				
(N)	20	20	19	19
A _L	1,000	1,000	1,000	1,000
XDH				
(N)	19	20	20	20
A _L	1,000	1,000	1,000	1,000

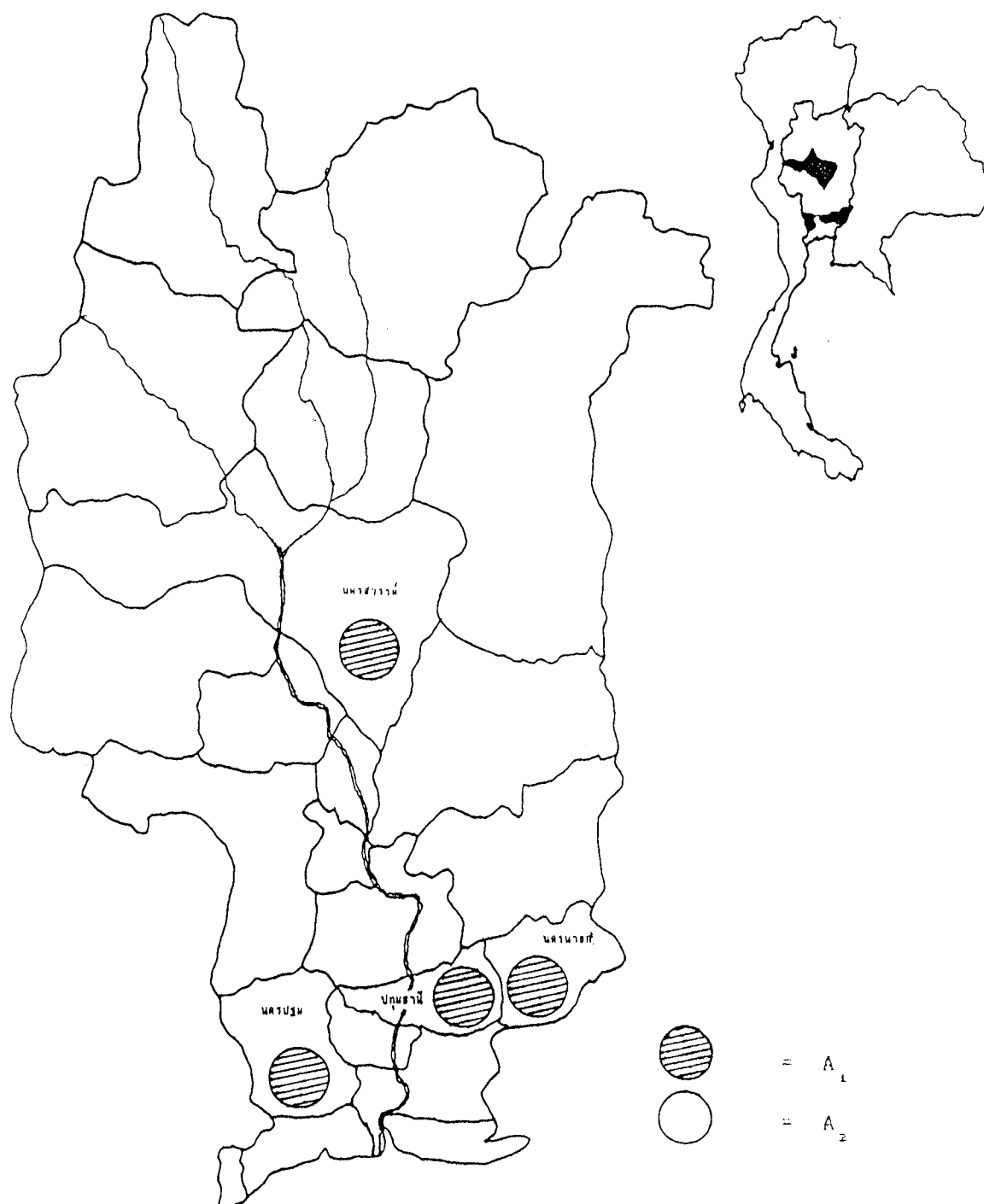
จากตารางความถี่ของอัลลีล พบว่าในการศึกษาแถบแอดตีฟัสเตนของเอนไซม์ 11 ชนิด ซึ่งควบคุมโดยยีน 19 โลไซ พบว่ายีนที่อัลลีลเป็นโมโนเมอร์พิดมี 5 โลไซ ได้แก่ ADH, AKP, HBDH, 6-PGD และ XDH พบในปูนาทั้ง 2 ชนิด

ใน *S. germaini* จากจังหวัดนครสวรรค์มียีนที่อัลลีลเป็นโพลีเมอร์พิดแบบ เอเทอไรโซโกดโมโนเมอร์พิด 5 โลไซ ได้แก่ ACP_1 , $ALDOX_1$, EST_3 , G-6-PDH, ODH และ SOD_2 และมีอัลลีลเป็นโมโนเมอร์พิด 13 โลไซ ได้แก่ ACP_2 , ACP_3 , ACP_4 , ADH, $ALDOX_2$, AKP, EST_1 , EST_2 , HBDH, 6-PGD, SOD_1 , SOD_2 และ XDH ส่วนในจังหวัดนครนายกมียีนที่อัลลีลเป็น โพลีเมอร์พิดแบบเอเทอไรโซโกดโมโนเมอร์พิด 5 โลไซ ได้แก่ $ALDOX_1$, EST_3 , G-6-PDH, ODH และ SOD_2 และมียีนที่อัลลีลเป็นโมโนเมอร์พิด 14 โลไซ ได้แก่ ACP_1 , ACP_2 , ACP_3 , ACP_4 , ADH, $ALDOX_2$, AKP, EST_1 , EST_2 , HBDH, 6-PGD, SOD_1 , SOD_2 และ XDH ใน *S. germaini* ทั้ง 2 จังหวัดพบว่ายีน ACP_1 ปูนาจากจังหวัดนครนายกไม่มีความแปรผันทางพันธุกรรม ซึ่งต่างจาก ปูนาจังหวัดนครสวรรค์ที่มีความแปรผันทางพันธุกรรม

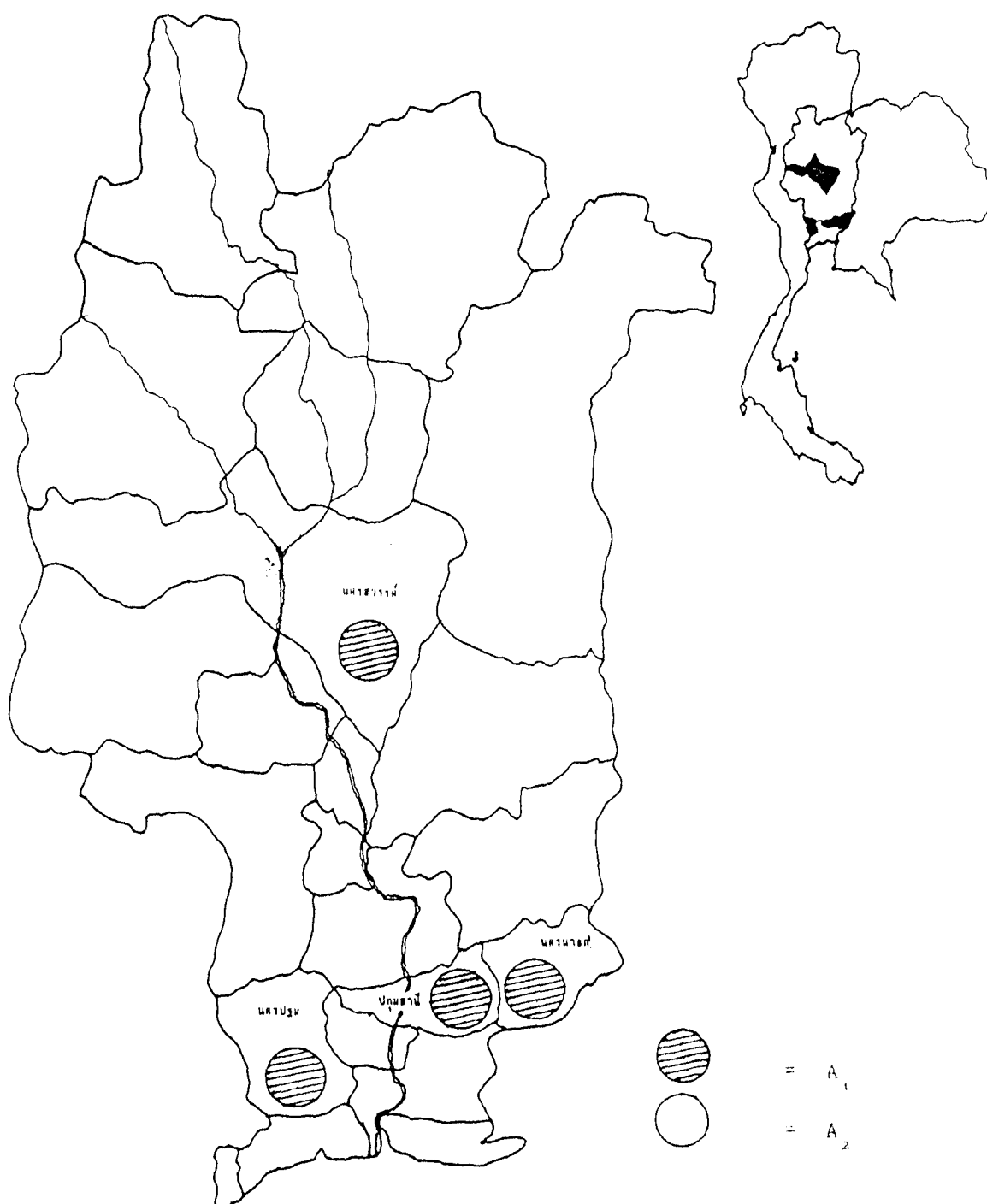
ใน *S. bangkokensis* จากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานี พบว่ายีนมีอัลลีลเป็นโพลีเมอร์พิด แบบโอโมโซโกดโมโนเมอร์พิด 6 โลไซ ได้แก่ ACP_1 , $ALDOX_1$, EST_3 , ODH, G-6-PDH และ SOD_2 และมีอัลลีลเป็นโมโนเมอร์พิด 13 โลไซ ได้แก่ ACP_2 , ACP_3 , ACP_4 , ADH, $ALDOX_2$, AKP, EST_1 , EST_2 , HBDH, 6-PGD, SOD_1 , SOD_3 และ XDH



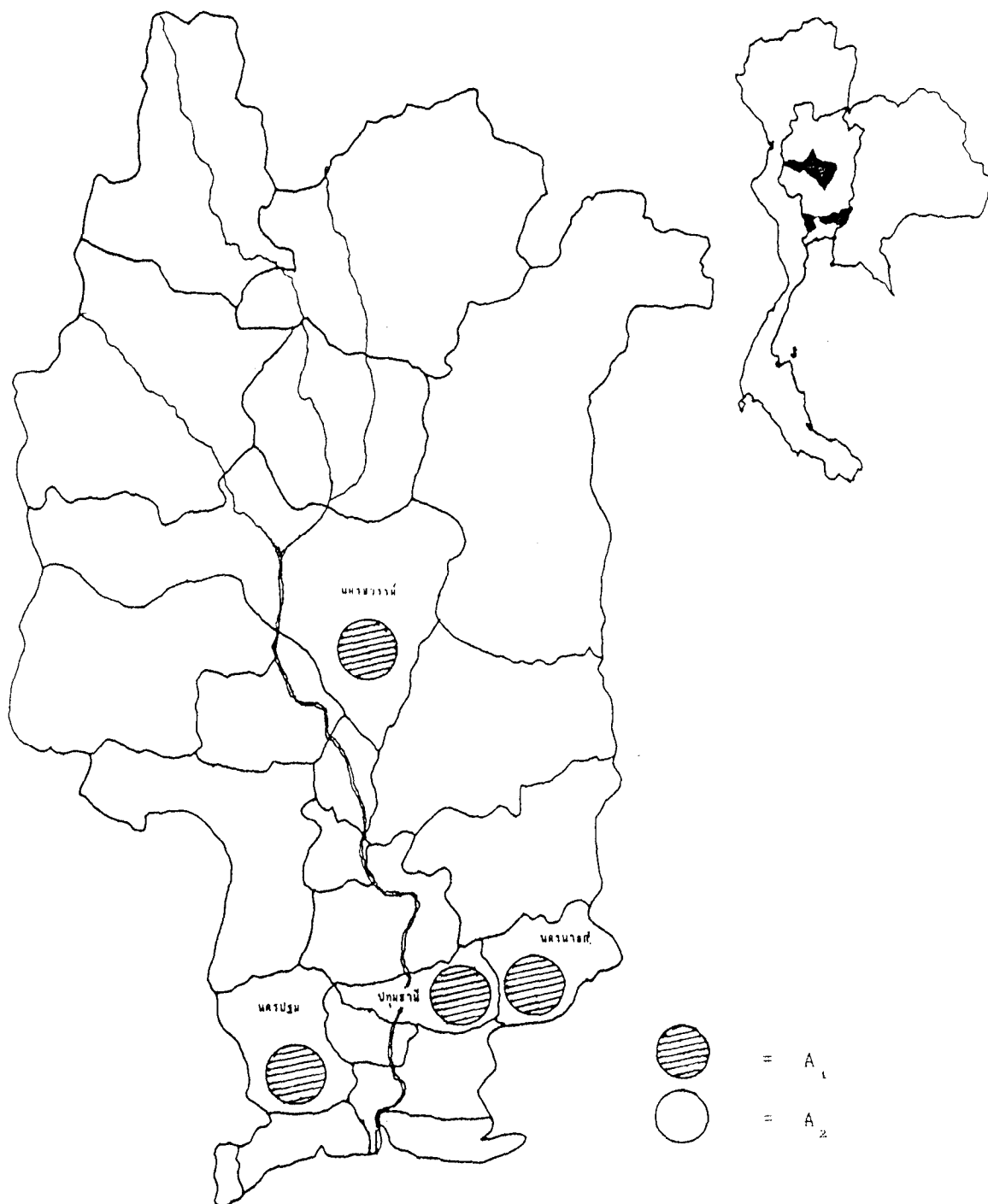
ภาพประกอบ 1 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP₁



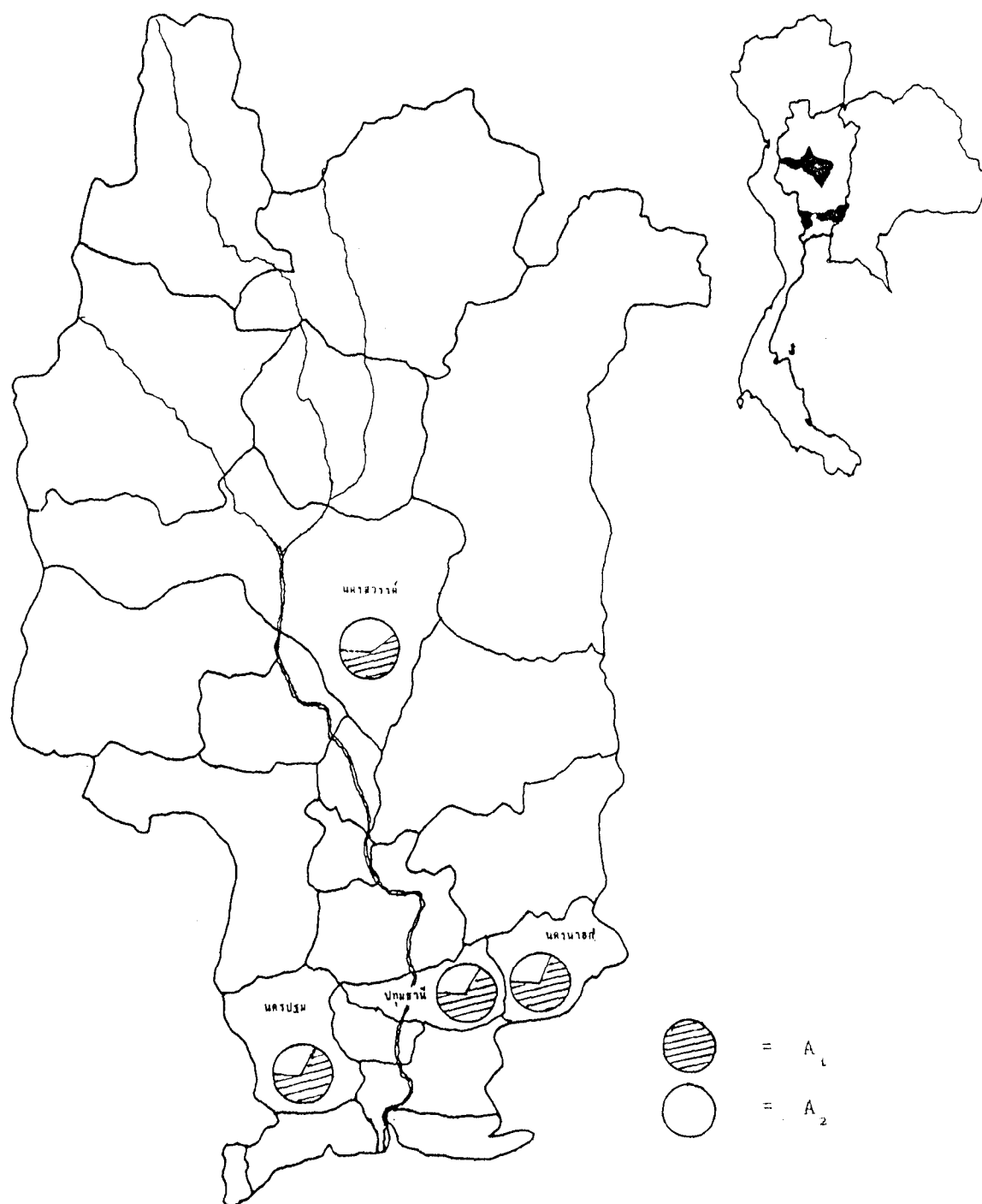
ภาพประกอบ 2 แสดงความถี่ของอัลลีลของแอนไซม์ ACP₂



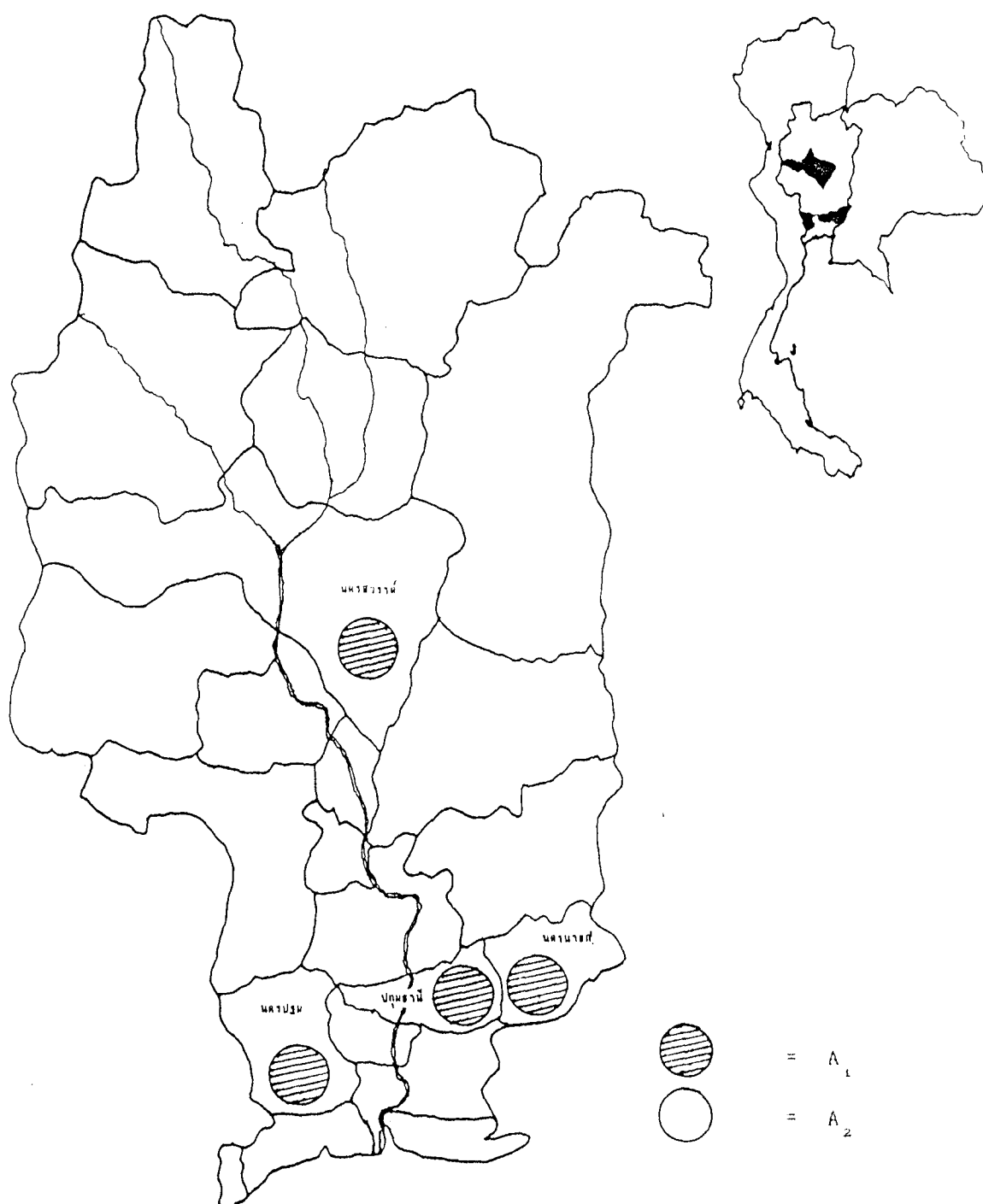
ภาพประกอบ 4 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ACP_4



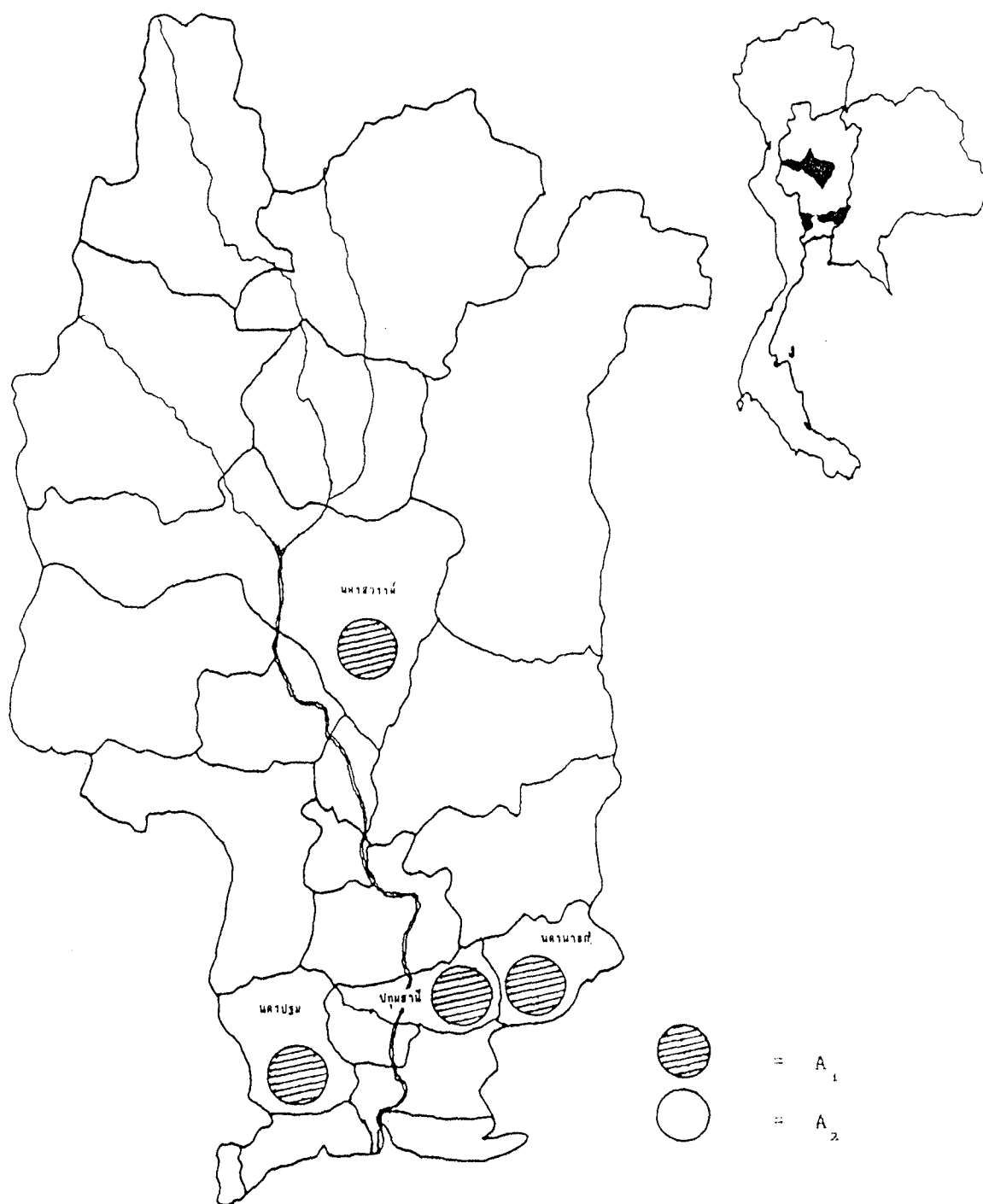
ภาพประกอบ 5 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ADH



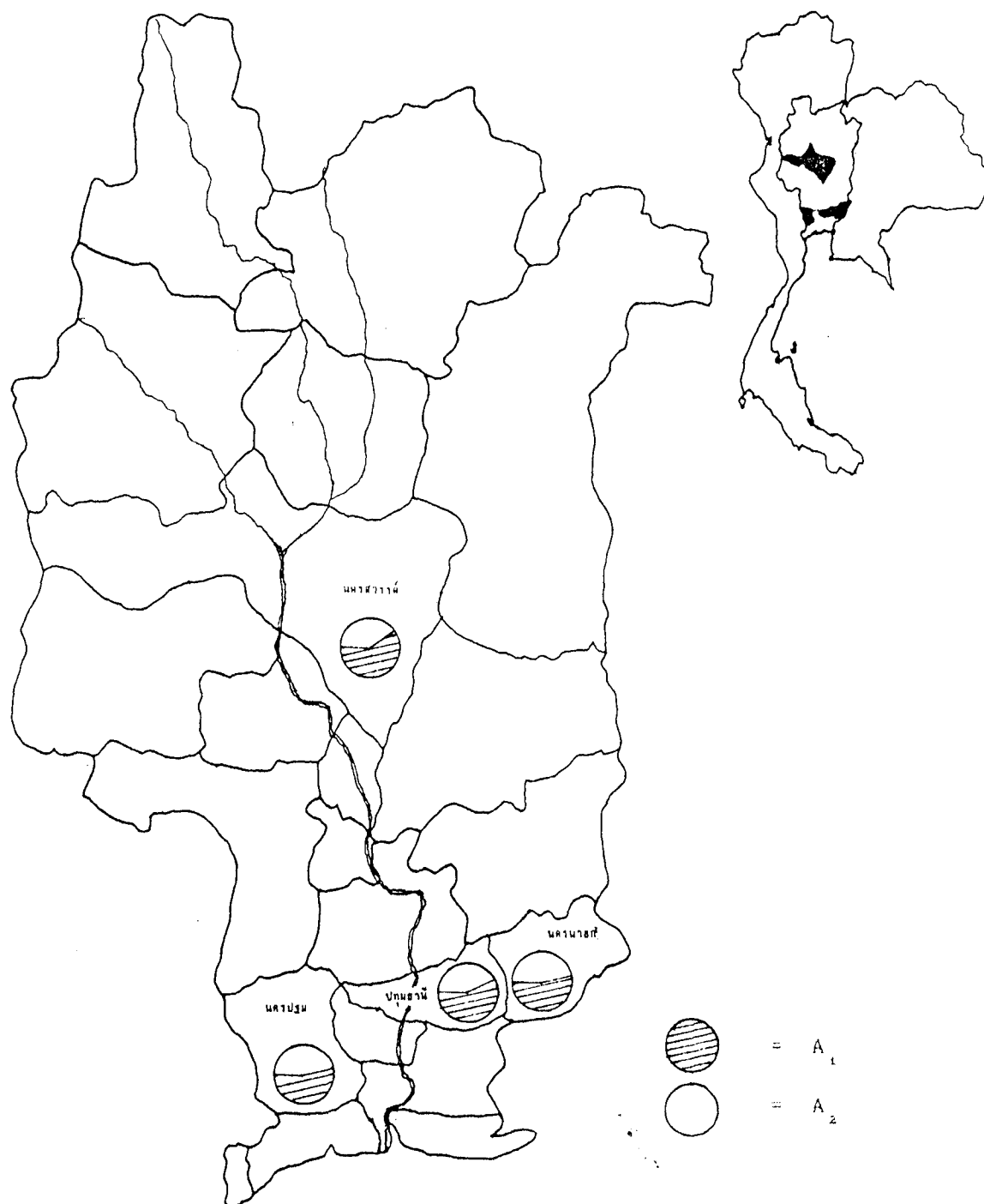
ภาพประกอบ ๕ แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX₁



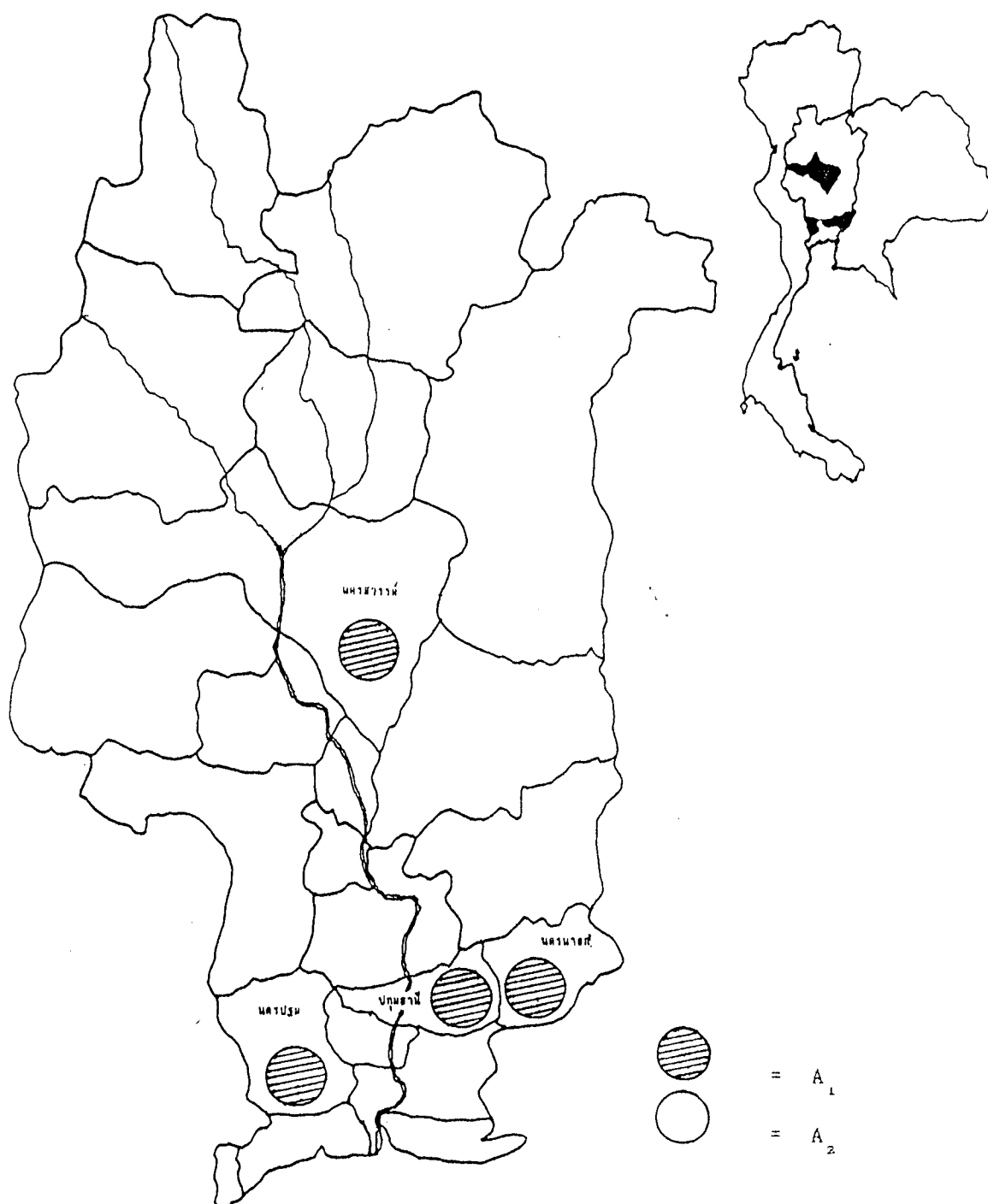
ภาพประกอบ 7 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX₂



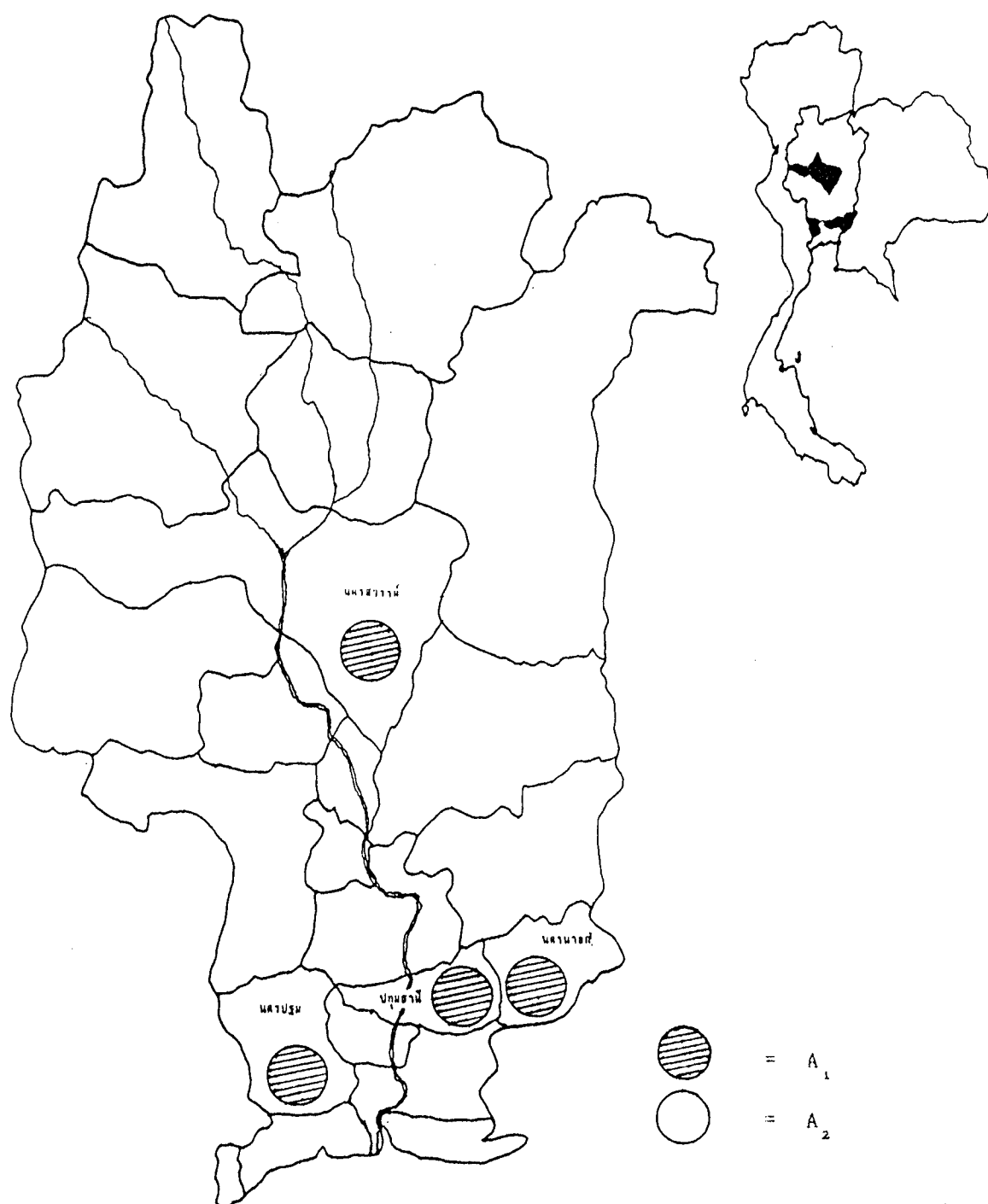
ภาพประกอบ ๑ แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ EST₁



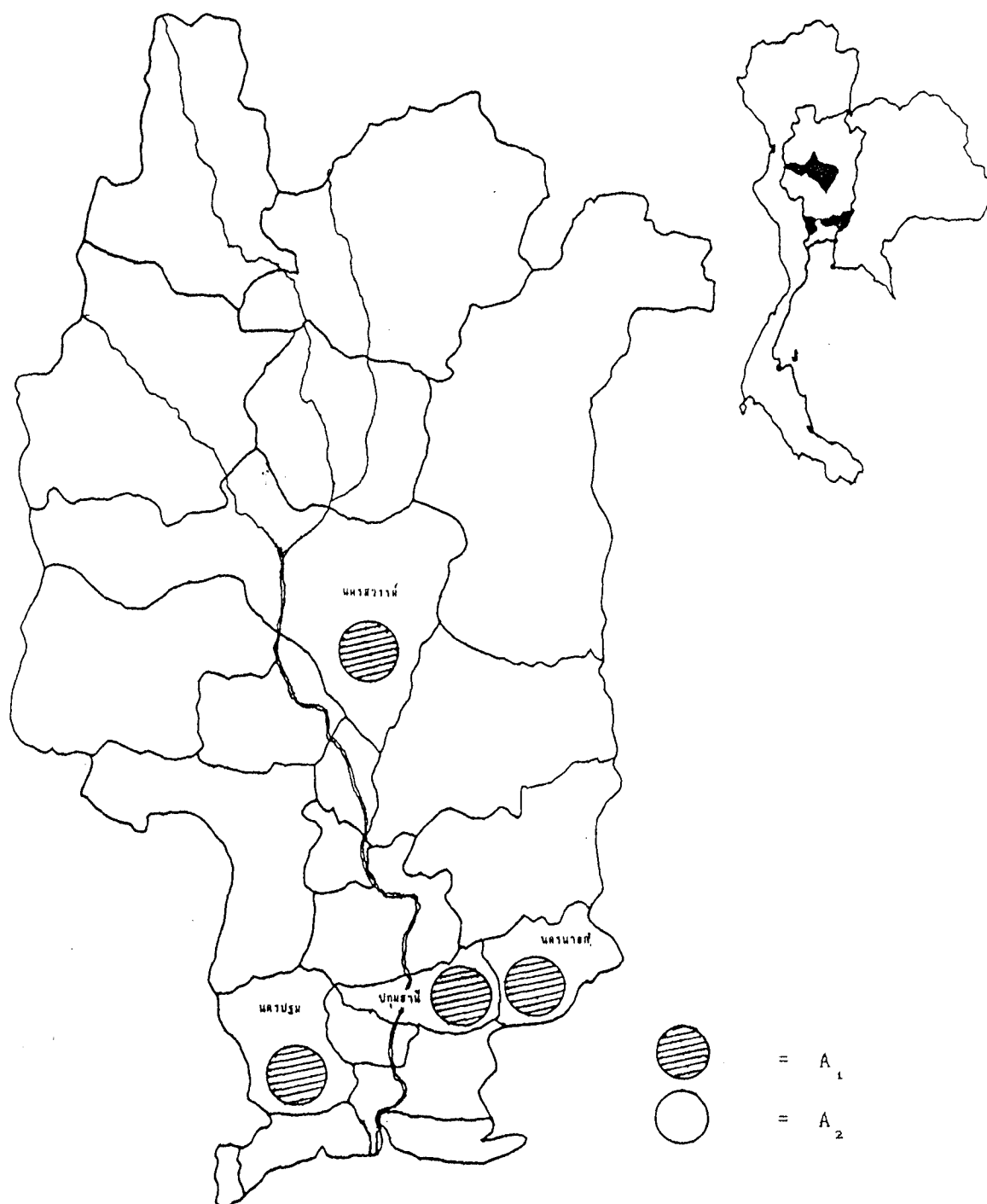
ภาพประกอบ 12 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ G 6-PDH



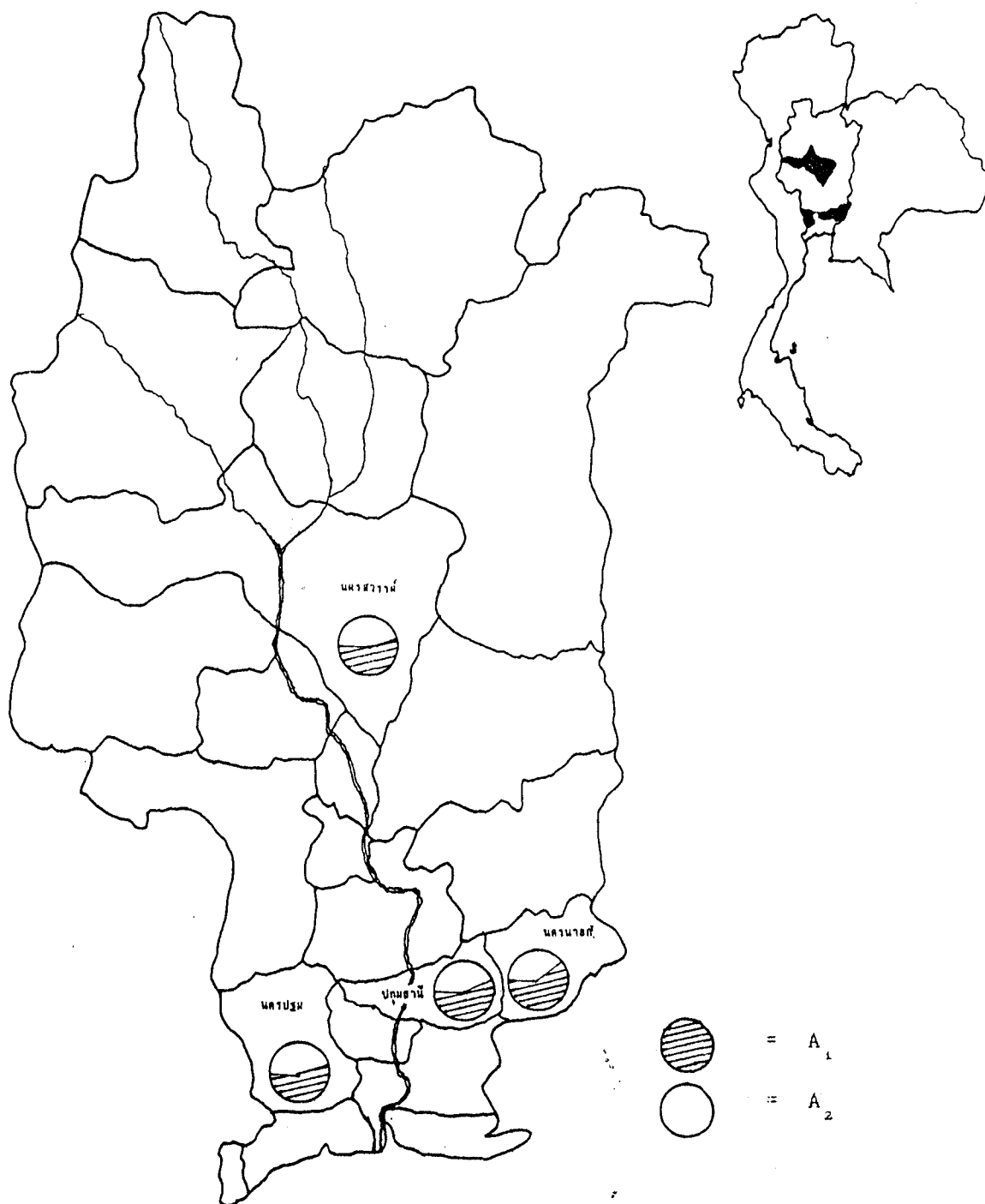
ภาพประกอบ 13 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ HBVH



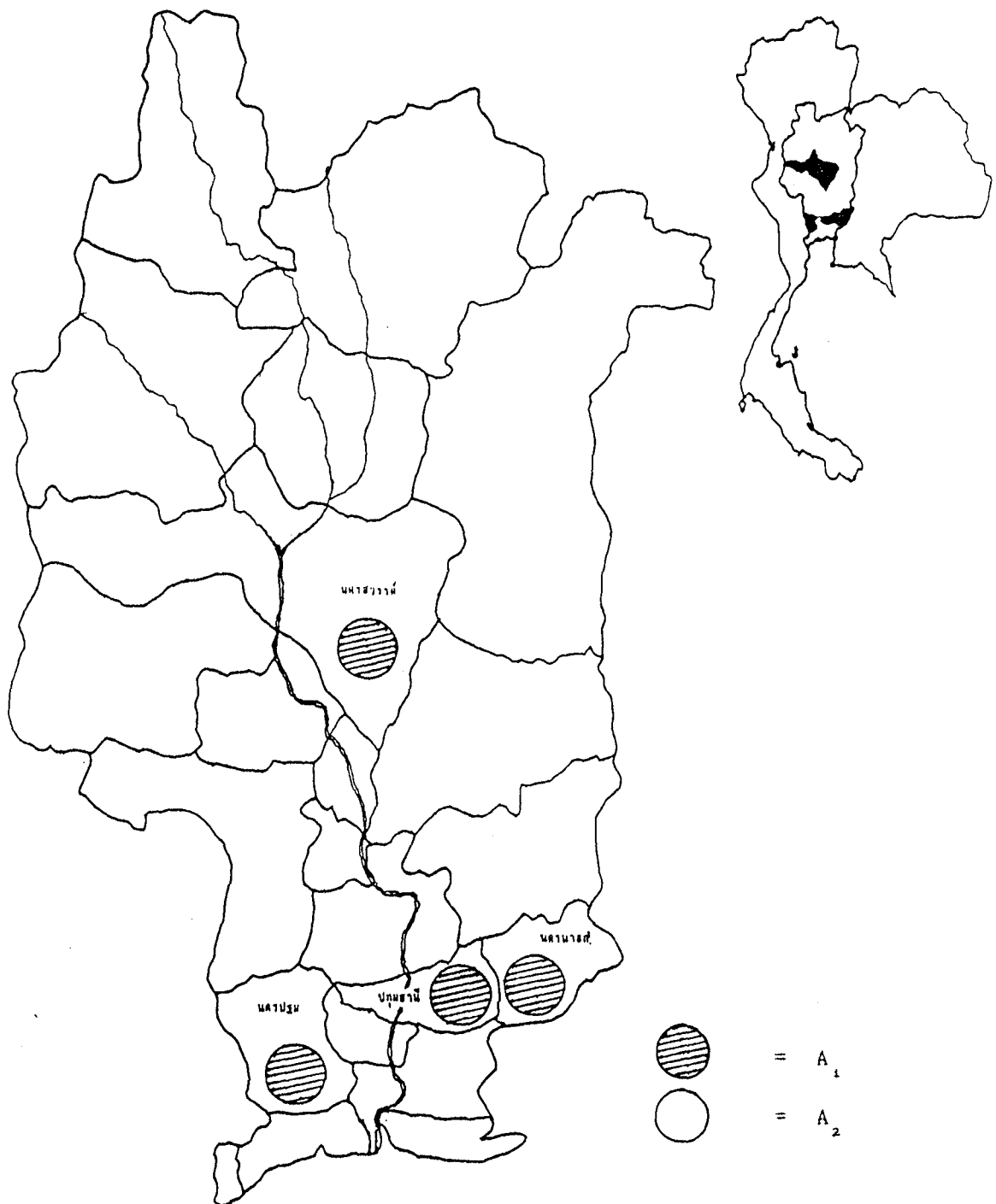
ภาพประกอบ 15 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ 5-PGD



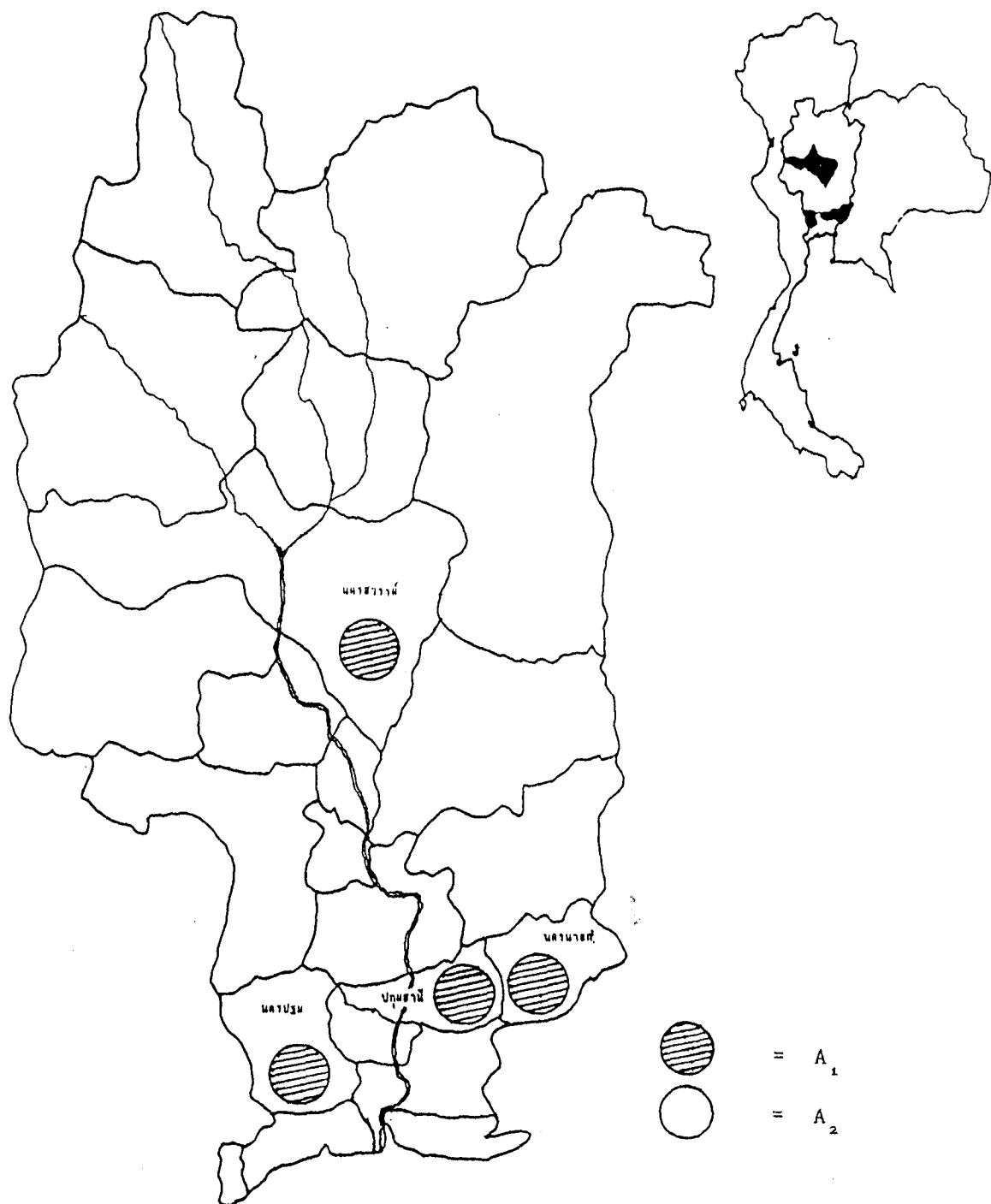
ภาพประกอบ 16 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ 500,



ภาพประกอบ 17 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD_2



ภาพประกอบ 18 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD₃



ภาพประกอบ 19 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ XDH

2.2 เอเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (observed heterozygosity)

ตาราง 4 เอเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตของประชากร *S. germaini*

จังหวัด โลคัส	นครสวรรค์	นครนายก	ค่าเฉลี่ย 2 จังหวัด
ACP ₁	0.700	0	0.350
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.400	0.300	0.350
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.450	0.700	0.575
HBDH	0	0	0
G-6-PDH	0.600	0.700	0.650
ODH	0.400	0.500	0.450
6-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.400	0.600	0.500
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่าเฉลี่ย/โลคัส	0.155	0.147	
ค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย			0.151

จากตาราง 4 พบว่ายีน ACP_1 ใน *S. germaini* จากจังหวัดนครสวรรค์ มีความแปรผันทางพันธุกรรม คือมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเท่ากับ 0.700 ในขณะที่ยีน ACP_1 จากปูนาชนิดเดียวกันในจังหวัดนครนายกไม่มีความแปรผันทางพันธุกรรม คือมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเท่ากับ 0 และจากค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตต่อโลคัส จากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายกมีค่า 0.155 และ 0.147 ตามลำดับ และมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยเท่ากับ 0.151

ตาราง 5 เอเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกตของประชากร *S. bangkokensis*

จังหวัด โรค	นครปฐม	ปทุมธานี	ค่าเฉลี่ย 2 จังหวัด
ACP ₁	0.631	0.789	0.710
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.350	0.400	0.375
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.700	0.850	0.775
HBDH	0	0	0
G-6-PDH	0.900	0.850	0.8750
ODH	0.400	0.500	0.625
G-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.300	0.250	0.275
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่าเฉลี่ย/โรค	0.172	0.191	
ค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย	0.181		

จากตาราง 5 ยีน G-6-PDH ของปูนา S. bangkokensis ในจังหวัดนครปฐม และ
ปทุมธานี มีค่าเอนโทรปีไอโกซิดีมากกว่ายีนในโลโซอื่น ๆ มีค่า 0.900 และ 0.850 ตามลำดับ และ
จากค่าเอนโทรปีไอโกซิดีเฉลี่ยต่อโลคัส พบว่าจังหวัดนครปฐม และปทุมธานีมีค่าเท่ากับ 0.172 และ
0.191 ตามลำดับ และมีค่าเอนโทรปีไอโกซิดีเฉลี่ยเท่ากับ 0.181

ตาราง 6 เอเพอโรไซโกซีตีจากความคาดหวังของประชากร S. germaini

จังหวัด โลคัส	นครสวรรค์	นครนายก	ค่าเฉลี่ย ($\bar{H}_g$)
ACP ₁	0.480	0	0.240
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.480	0.420	0.450
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.468	0.455	0.461
HBDH	0	0	0
G-6-PDH	0.480	0.495	0.487
ODH	0.480	0.455	0.467
6-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.495	0.480	0.487
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่าเฉลี่ย/โลคัส	0.151	0.121	
ค่าเอเพอโรไซโกซีตีเฉลี่ย			0.136

จากการศึกษาค่าเอเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวังของประชากรปูนา S. germaini ในชั้น 19 โลโซ พบว่าชั้น G-G-PDH ในจังหวัดนครนายกมีค่าสูงสุด และ SOD_2 ในจังหวัด นครสวรรค์ มีค่าสูงสุด และจากค่าเอเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวังเฉลี่ยต่อโลคัส ในปูนา จังหวัดนครสวรรค์มีค่า 0.151 และจังหวัดนครนายกมีค่าเท่ากับ 0.121 และค่าเอเทอโรไซโกซิตี เฉลี่ยจากการคาดหวังมีค่า 0.136

ตาราง 7 เอเพอโรไซโกซิติ์จากความคาดหวังของประชากร S. bangkokensis

จังหวัด โลคัส	นครปฐม	ปทุมธานี	ค่าเฉลี่ย (H _u)
ACP ₁	0.488	0.478	0.483
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.483	0.455	0.446
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.495	0.498	0.496
HBDH	0	0	0
G-6-PDH	0.495	0.488	0.491
ODH	0.468	0.420	0.444
6-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.495	0.488	0.491
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่าเฉลี่ย/โลคัส	0.153	0.148	
ค่าเอเพอโรไซโกซิติ์เฉลี่ย			0.150

จากการศึกษาค่าเอเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวังของประชากร S. bangkokensis ในยีน 19 โลไซ พบว่ายีน EST₉ ในปูนา S. bangkokensis จังหวัดนครปฐม และปทุมธานีมีค่าสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.495 และ 0.498 ตามลำดับ และค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยต่อโลคัส จังหวัดนครปฐม และปทุมธานีมีค่า 0.153 และ 0.148 ตามลำดับ ค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ยจากการคาดหวังมีค่า 0.150

2.3 ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation ; G_{ST})ตาราง 8 ความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร (G_{ST}) *S. germaini*

โลคัส	H_T	$\bar{H}_S$	G_{ST}
ACP ₁	0.320	0.240	0.2500
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.455	0.450	0.0109
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.462	0.461	0.0021
HRDH	0	0	0
G-6-PDH	0.488	0.487	0.0020
ODH	0.468	0.467	0.0021
6-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.488	0.487	0.0020
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่า G_{ST} เฉลี่ย			0.0141

จากค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร S. germaini จากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายก พบว่าอิน ACP₁ มีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดในอิน 19 โลไซ มีค่าเท่ากับ 0.250 และค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร S. germaini เฉลี่ยเท่ากับ 0.0141 หมายความว่ากลุ่มตัวอย่างจากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายก มีความแตกต่างของประชากรปูในระหว่างจังหวัดมีค่าเท่ากับ 1.410 เปอร์เซ็นต์ และอีก 98.59 เปอร์เซ็นต์เป็นความแตกต่างภายในแต่ละจังหวัด

ตาราง 9 ความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร (G_{ST}) *S. bangkokensis*

โลคัส	H_T	$\bar{H}_S$	G_{ST}
ACP ₁	0.484	0.483	0.0020
ACP ₂	0	0	0
ACP ₃	0	0	0
ACP ₄	0	0	0
ADH	0	0	0
ALDOX ₁	0.447	0.446	0.0022
ALDOX ₂	0	0	0
AKP	0	0	0
EST ₁	0	0	0
EST ₂	0	0	0
EST ₃	0.499	0.496	0.0060
HBDH	0	0	0
G-6-PDH	0.492	0.491	0.0020
ODH	0.447	0.444	0.0067
6-PGD	0	0	0
SOD ₁	0	0	0
SOD ₂	0.497	0.491	0.0120
SOD ₃	0	0	0
XDH	0	0	0
ค่า G_{ST} เฉลี่ย			0.0016

จากค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร S. bangkokensis จากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานี พบว่ายีน sod_2 มีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุดในยีน 19 โลไซ มีค่าเท่ากับ 0.0120 และค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมเฉลี่ยของยีนทั้งหมดมีค่า 0.0016 หมายถึงกลุ่มปูนาตัว อย่างจังหวัดนครปฐม และปทุมธานีมีความแตกต่างของประชากรปูในระหว่างจังหวัดมีค่าเท่ากับ 0.16 เปอร์เซ็นต์ และอีก 99.84 เปอร์เซ็นต์เป็นความแตกต่างของประชากรปูในแต่ละจังหวัด

2.4 ความคล้ายทางพันธุกรรม (genetic similarity, I)

ค่า I สามารถหาได้จากวิธีของเนอี (Nei, M. 1975) ได้ดังตาราง 10

2.5 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance, D)

จากค่า I สามารถนำมาหาค่า D ได้ดังตาราง 10

ตาราง 10 ค่าความคล้ายทางพันธุกรรมและระยะห่างทางพันธุกรรม

I \ D		<u>S. germaini</u>		<u>S. bangkokensis</u>	
		นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
<u>S. germaini</u>	นครสวรรค์	-	0.9892	0.9978	0.9995
	นครนายก	0.0107	-	0.9866	0.9893
<u>S. bangkokensis</u>	นครปฐม	0.0021	0.0134	-	0.9976
	ปทุมธานี	0.0004	0.0107	0.0023	-

2.4 ความคล้ายทางพันธุกรรม (genetic similarity, I)

ค่า I สามารถหาได้จากวิธีของเนอี (Nei, M. 1975) ได้ดังตาราง 10

2.5 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance, D)

จากค่า I สามารถนำมาหาค่า D ได้ดังตาราง 10

ตาราง 10 ค่าความคล้ายทางพันธุกรรมและระยะห่างทางพันธุกรรม

I	D	S. germaini		S. bangkokensis	
		นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
S. germaini	นครสวรรค์	-	0.9892	0.9978	0.9995
	นครนายก	0.0107	-	0.9866	0.9893
S. bangkokensis	นครปฐม	0.0021	0.0134	-	0.9976
	ปทุมธานี	0.0004	0.0107	0.0023	-

จากตารางค่าความคล้ายทางพันธุกรรม และระยะห่างทางพันธุกรรม พบว่า S. germaini จากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายกมีค่าความคล้ายทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.9892 S. bangkokensis จากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานีมีค่าความคล้ายทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.9976 ซึ่งจะพบว่าปูนาทั้ง 2 ชนิดคือ S. germaini กับ S. bangkokensis มีค่าความคล้ายที่ต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละจังหวัด S. germaini จังหวัดนครสวรรค์มีความคล้ายทางพันธุกรรมกับ S. bangkokensis จังหวัดปทุมธานี และนครปฐมมีค่าเท่ากับ 0.9995 และ 0.9978 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความคล้ายทางพันธุกรรมมากกว่า S. germaini จากจังหวัดนครนายก

ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) S. germaini มีระยะห่างทางพันธุกรรมมากกว่า S. bangkokensis คือมีค่าเท่ากับ 0.0107 โดยที่ S. bangkokensis มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.0028 เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละจังหวัด พบว่า S. germaini จังหวัดนครสวรรค์มีระยะห่างทางพันธุกรรมกับ S. bangkokensis จังหวัดปทุมธานี และนครปฐม มีค่าเท่ากับ 0.0004 และ 0.0021 ตามลำดับ ซึ่งมีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยกว่า S. germaini จากจังหวัดนครนายก

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาแถบแอสคิวติสของเอนไซม์ 11 ชนิดจากส่วนตับ (hepatopancreas) ของปูนา 2 ชนิดคือ S. germaini ที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครสวรรค์ และนครนายก กับ S. bangkokensis ที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม และปทุมธานี พบว่าเอนไซม์ที่ศึกษาควบคุมโดย ยีน 19 โลไซ

จากการศึกษาค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกในปูนา 2 ชนิดพบว่า ค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกของปูนา จังหวัดปทุมธานี นครปฐม นครสวรรค์ และนครนายก มีค่าเท่ากับ 0.191, 0.172, 0.155 และ 0.147 ตามลำดับ นอกจากนี้ S. bangkokensis มีค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกจากการสังเกตเฉลี่ย และค่าโพลีเมอร์พีมเฉลี่ยมีค่า 0.181 และ 0.315 ตามลำดับ และ S. germaini มีค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกจากการสังเกตเฉลี่ย และค่าโพลีเมอร์พีมเฉลี่ยเท่ากับ 0.151 และ 0.289 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า S. bangkokensis มีค่าความแปรผันทางพันธุกรรมสูงกว่า S. germaini

S. bangkokensis และ S. germaini ที่ศึกษานี้มีค่าความแปรผันทางพันธุกรรมสูงกว่า S. dugasti จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย 4 จังหวัดคือ บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี ซึ่งมานะ ขาวเมฆ (2536) ได้รายงานค่าโพลีเมอร์พีมเฉลี่ย และค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกเฉลี่ยดังตาราง 11 แต่ S. bangkokensis และ S. germaini มีค่าความแปรผันทางพันธุกรรมน้อยกว่า S. dugasti จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย 4 จังหวัดคือ สกลนคร ขอนแก่น ชัยภูมิ และอุดรธานี ซึ่งสุธี อ้นแจ็ก (2534) ได้รายงานค่าโพลีเมอร์พีมเฉลี่ย และค่าเอนโทรปีไฮโดรโฟบิกเฉลี่ยดังตาราง 11

ตาราง 11 เปรียบเทียบค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย และค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย

ชนิดของปูนา	ค่าเอเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย	ค่าโพลิมอร์ฟิซึมเฉลี่ย
* <u>S. bangkokensis</u>	0.181	0.315
* <u>S. germaini</u>	0.151	0.289
** <u>S. dugasti</u> จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง (มานะ ขาวเมฆ. 2536)	0.146	0.280
** <u>S. dugasti</u> จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน (สุธี อันเจ็ก. 2535)	0.223	0.404

* ข้อมูลจากประชากรปูจำนวน 2 จังหวัด

** ข้อมูลจากประชากรปูจำนวน 4 จังหวัด

เมื่อเปรียบเทียบค่าเอเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต กับค่าเอเทอโรไซโกซิตีจากความคาดหวัง พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันโดย S. bangkokensis มีค่าเท่ากับ 0.181 และ 0.150 ใน S. germaini มีค่าเท่ากับ 0.151 และ 0.136 ตามลำดับ จึงน่าจะเป็นประชากรที่เป็นไปตามหลักการของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

ตาราง 12 เปรียบเทียบค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (I) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม

(D) ของ S. bangkokensis และ S. germaini

จังหวัด	ค่าความคล้ายทางพันธุกรรม(I)	ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม(D)
นครปฐม ¹ - ปทุมธานี ¹	0.9976	0.0023
นครสวรรค์ ² - นครนายก ²	0.9892	0.0107
นครสวรรค์ ² - ปทุมธานี ¹	0.9995	0.0004
นครสวรรค์ ² - นครปฐม ¹	0.9978	0.0021
นครนายก ² - ปทุมธานี ¹	0.9893	0.0107
นครนายก ² - นครปฐม ¹	0.9866	0.0134

1 = S. bangkokensis2 = S. germaini

S. bangkokensis จากจังหวัดนครปฐมกับปทุมธานี มีค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (I) และระยะห่างทางพันธุกรรม (D) สูงกว่า S. germaini โดยมีค่าเท่ากับ 0.9976 และ 0.0023 ตามลำดับ และพบว่า S. germaini จังหวัดนครสวรรค์กับ S. bangkokensis จังหวัดปทุมธานี มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุด ส่วน S. germaini จังหวัดนครนายกกับ S. bangkokensis จังหวัดนครปฐม มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมากที่สุด

ตาราง 13 เปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) ค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (I) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) ในปู Somanniathelphusa spp.

ชนิดของปูนา	G_{ST}	I	D
* <u>S. bangkokensis</u>	0.0016	0.9976	0.0023
* <u>S. germaini</u>	0.0141	0.9892	0.0107
** <u>S. dugasti</u> จากภาคตะวันออก เฉียงเหนือตอนล่าง (มานะ ขาวเมฆ . 2536)	0.0067	0.9890 - 0.9976	0.0024 - 0.0111
** <u>S. dugasti</u> จากภาคตะวันออก เฉียงเหนือตอนบน (สุธี อ้นแจ็ก . 2535)	0.1344	0.9710 - 0.9940	0.0060 - 0.0290

* ข้อมูลจากประชากรปู 2 จังหวัด

** ข้อมูลจากประชากรปู 4 จังหวัด

ผลของการศึกษาพบว่า S. germaini มีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) สูงกว่า S. bangkokensis โดยมีค่าเท่ากับ 0.0141 และเมื่อมาเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ศึกษามาแล้ว พบว่า S. dugasti จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนมีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงกว่า S. germaini ที่ศึกษาโดยมีค่าเท่ากับ 0.1344

การจัดจำแนกชนิดของปูโดยศึกษาความแตกต่างของลักษณะภายนอกสามารถแยกได้เด่นชัด แต่การจำแนกโดยดูความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับเอนไซม์กลับไม่สามารถแยกได้ อาจจะเป็นไปได้ว่าข้อมูลที่ศึกษาได้ยังน้อยเกินไป จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มชนิดของเอนไซม์ ตลอดจนกลุ่มตัวอย่าง

ข้อเสนอแนะ

หลักการของการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมจากแถบแอดคิวิตีสแทนของเอนไซม์ โดยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิสขึ้นอยู่กับจำนวนโลคัส ที่ศึกษาควรให้มีปริมาณมาก จำนวนตัวอย่างที่ศึกษาควรมีขนาดใหญ่ไม่ควรต่ำกว่า 20 ตัวอย่าง ควรเก็บหลายๆ บริเวณเพื่อจะได้เป็นการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มเพื่อการวิเคราะห์ผลการทดลองที่เชื่อถือได้ ดังนั้นควรที่จะมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมโดยการศึกษายูต่างชนิดกันหลายๆ ชนิดเพื่อเป็นข้อมูลที่แม่นยำสำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปูนาในประเทศไทย และข้อมูลพื้นฐานที่ถูกต้องแม่นยำนี้สามารถนำไปเป็นแนวทางของการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อมนุษย์เองในภายภาคหน้า

မိမိတို့အတွက်

บรรณานุกรม

- ถวิล ประมวล. อนุกรมวิธานของปูนาและลักษณะของโกโนพอด, โอมมาติเดียมโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533. ดายเอกสาร.
- ปราณี อานประื่อง. เอนไซม์ในอาหาร ตอนที่ 1. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533.
- ไพฑูริย์ นัยเนตร. "ปูน้ำจืดที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ในปอด และการกระจายในประเทศไทย," วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 3 : 219-240 ; พฤษภาคม 2521.
- สกุศลรัฐ สุ่มพิ. การศึกษานิคมของพยาธิใบไม้ในปอดในเขตตำบลหินตั้ง อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก. วิทยานิพนธ์ กศ.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, 2532. อัดสำเนา.
- มานะ ขาวเมฆ. การศึกษากวามแปรผันทางพันธุกรรมของปูนาสกุล *Somanniathelphusa dugasti* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทยโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, 2536. ดายเอกสาร.
- สุธี อันเจก. การศึกษากวามแปรผันทางพันธุกรรมของปูน้ำจืดชนิด *Somanniathelphusa dugasti* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, 2534. ดายเอกสาร.
- สุนันทา วิษุรักษ์. ปฏิบัติการชีวเคมี 1. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2527.
- Aust, S.D., D.L. Roering and T.C. Pederson. "Evidence for Superoxide, Generation by NADH-Cytochrome C Reductase of Rat Liver Microsomes," Biochemical and Biophysical Research Communications. 47(5) : 1133-1137 ; 1972.
- Bijlsma, R. and van der Meulen-Bruijns. "Polymorphism at the G6pd and 6PgD Loci in *Drosophila melanogaster*. III. Developmental and Biochemical Aspects," Biochemical Genetics. 17 : 1131-1143 ; April 18, 1979.
- Horecker, B.L. and P.E. Symoniotis. "Phosphogluconic Acid Dehydrogenase From Yeast," Journal of Biological Chemistry. 193 : 371-381 ; 1951.

- Kijviriya, V. "The Studies of the Asiatic Clams (Corbicula, MUHLFED, 1811) in Thailand : Electrophoretic Estimates of Enzyme Variation and the Use of Anatomy as a Species Indicator," Ph.D. Thesis, Mahidol University, 1990.
- Lyerla, T.A. and P.C. Fournier. "Xanthine Dehydrogenase Activity in the Clawed Frog, Xenopus Laevis," Communication of Biological and Physiology. 75 : 497-502 ; 1983.
- Milne-Edwards, A. "Revision Du Genre Thelphuse Et Description De Quelques escapes nouvelles, Faisant Parties De La Collection De Musee," Nouv. Arch. Mus. Nat. 5 : 161-191 ; 1869.
- Mulley, J.C. and B.D.H. Latter. "Genetic Variation and Evolution Relationships within a Group of Thirteen Species of Panaeid Prawns," Evolution. 34(5) : 904-916 ; 1980.
- Naiyanetr, P. "Somanniathelphusa bangkokensis," Fish Sect. 20 : 3 ; 1982.
- Nakagawa, A., T. Tsujita and H. Okuda. "Purification and Some Properties of Intracellular Esterase from Pseudomonas Fluorescens," Journal of Biochemistry. 95 : 1047-1054 ; 1984.
- Nei, M. Molecular Population Genetics and Evolutions. Amsterdam : North-Holland American Elsevier, 1975.
- Pasteur, H. and others. Practical Isozyme Genetics. English Edition Horwood limited, 215 ; 1988.
- Rathbun, M. "Les Crabes'd Eau Douce (Potamonidae)," Nouv. Arch. Mus.'d Hist. Nat.. 7(4) : 159-191 ; 1902.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstock and M. Adams. Allozyme Electrophoresis : A Handbook for Animal Systematics and Population Studies, Academic Press, 1986
- Romeo, J. and others. "Absence of Coenzyme Q₁₀ as An Intrinsic Component of Aldehyde Oxidase," Biochemical and Biophysical Research Communications. 59 (4) : 1286-1291 ; 1974.
- Sampsell, B. and E. Steward. "Alcohol Dehydrogenase Thermostability Variants in Drosophila melanogaster : Comparison of Activity Ratios and Enzyme Levels," 21 : 1071-1087 ; May 18, 1983.
- Shaw, R.C. and D.J. Prasad. "Starch Gel Electrophoresis of Enzyme-A Compilation of Recipes," Biochemical Genetics. 4 : 297-320 ; 1979.
- Sieber, F., D.J. Fox and H. Ursprung. "Properties of Octanol Dehydrogenas From Drosophila," FEBS LETTERS. 26(1) : 274-276 ; October, 1972.

- Sovcek, D.A. and J.C. Vary. "Some Properties of Acid and Alkaline Phosphatase from Boar Sperm Plasm Membranes," Biology of Reproductions. 31 : 687-693 ; 1984.
- Steiner, W.W.M. and D.J. Oslin. "Electrophoretic Techniques Use for the Genetic Study of Mosquitoes," Mosquito News. 39 : 35-52 ; 1979.
- Steiner, W.W.M., Ki Chang Sung and Y.K. Paik. "Electrophoretic Variability in Island Populations of Drosophila simulans and Drosophila immigrans," Biochemical Genetics. 14 : 495-505 ; December 1, 1975.
- Tobler, Jack E. and Ellsworth H. Grell. "Genetic and Physiological Expression of B-Hydroxy Acid Dehydrogenase in Drosophila," Biochemical Genetic. 16 : 333-341 ; October 7, 1977.
- Young, H.S. and others. "Phosphoglucomutase and Glucose Phosphate Isomerase Polymorphism in the Mosquito Vector Anopheles balabacensis from Sabah, Malaysia," Tropical Biomedicine. 2 : 185-186 ; 1985.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก



ด้านบน



ด้านล่าง

ภาพประกอบ 20 ด้านบน และด้านล่างของปูนา Somannaithelphusa bangkokensis
 Naiyanetr, 1982



ด้านบน



ด้านล่าง

ภาพประกอบ 21 ด้านบน และด้านล่างของปูนา Somanniathelphusa germaini
(Rathbun, 1902)



ภาพประกอบ 22 แสดงตับ (hepatopancreas) ของปูนา Somanniathelphusa germaini
(Rathbun, 1902)



ภาพประกอบ 23 โกโนพอดของปูนา Somnathelphusa bangkokensis
Naiyanetr, 1982



ภาพประกอบ 24 โกลิฟอดของปูนา Somanniathelphusa germaini (Rathbun, 1902)

ตาราง 14 จีโนไทป์ของเอนไซม์ acid phosphate (ACP)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>				ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>			
	นครสวรรค์		นครนายก		นครปฐม		ปทุมธานี	
	ACP ₁	ACP ₂	ACP ₁	ACP ₂	ACP ₁	ACP ₂	ACP ₁	ACP ₂
1	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
A ₁	24	40	40	38	22	40	23	40
A ₂	16	-	-	-	16	-	15	-

ตาราง 14 (ต่อ)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>				ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>			
	นครสวรรค์ ACP ₃ ACP ₄		นครนายก ACP ₃ ACP ₄		นครปฐม ACP ₃ ACP ₄		ปทุมธานี ACP ₃ ACP ₄	
1	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	-
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	40	36	40	38	38	36	38	34
A ₂	-	-	-	-	-	-	-	-

ตาราง 15 จีโนไทป์ของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์ ADH	นครนายก ADH	นครปฐม ADH	ปทุมธานี ADH
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	40	40	40	40
A ₂	-	-	-	-

ตาราง 16 จีโนไทป์ของเอนไซม์ aldehyde oxidase(ALDOX)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>				ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>			
	นครสวรรค์		นครนายก		นครปฐม		ปทุมธานี	
	ALDOX ₁	ALDOX ₂	ALDOX ₁	ALDOX ₂	ALDOX ₁	ALDOX ₂	ALDOX ₁	ALDOX ₂
1	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
3	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
17	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
A ₁	24	40	28	40	27	40	26	40
A ₂	16	-	12	-	13	-	14	-

ตาราง 17 จีโนไทป์ของเอนไซม์ alkaline phosphatase (AKP)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์ AKP	นครนายก AKP	นครปฐม AKP	ปทุมธานี AKP
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	40	40	40	40
A ₂	-	-	-	-

ตาราง 18 จีโนไทป์ของเอนไซม์ esterase (EST)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>						ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>					
	นครสวรรค์			นครนายก			นครปฐม			ปทุมธานี		
	EST ₁	EST ₂	EST ₃	EST ₁	EST ₂	EST ₃	EST ₁	EST ₂	EST ₃	EST ₁	EST ₂	EST ₃
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
A ₁	40	40	25	40	40	26	40	34	18	40	40	21
A ₂	-	-	15	-	-	14	-	-	22	-	-	19

ตาราง 19 จีโนไทป์ของเอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-pdh)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์ G-6-pdh	นครนายก G-6-pdh	นครปฐม G-6-pdh	ปทุมธานี G-6-pdh
1	$A_1 A_2$	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
2	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_1$
3	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
4	$A_1 A_2$	$A_2 A_2$	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$
5	$A_1 A_2$	$A_1 A_1$	$A_1 A_1$	$A_1 A_1$
6	$A_1 A_2$	$A_2 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
7	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
8	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
9	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
10	$A_1 A_2$	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
11	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
12	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
13	$A_1 A_1$	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
14	$A_2 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
15	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
16	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
17	$A_2 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
18	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_1$
19	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
20	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$	$A_1 A_2$
A_1	24	22	22	23
A_2	16	18	18	17

ตาราง 20 จีโนไทป์ของเอนไซม์ hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์ HBDH	นครนายก HBDH	นครปฐม HBDH	ปทุมธานี HBDH
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	40	40	40	40
A ₂	-	-	-	-

ตาราง 21 จีโนไทป์ของเอนไซม์ octanol dehydrogenase (ODH)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์ ODH	นครนายก ODH	นครปฐม ODH	ปทุมธานี ODH
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
3	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
7	A ₁ A ₂	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
8	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
9	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
10	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
12	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
15	A ₂ A ₂	A ₂ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
17	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
18	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
A ₁	24	26	25	28
A ₂	16	14	15	12

ตาราง 22 จีโนไทป์ของเอนไซม์ 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์ 6-PGD	นครนายก 6-PGD	นครปฐม 6-PGD	ปทุมธานี 6-PGD
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
4	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁
8	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	36	40	38	40
A ₂	-	-	-	-

ตาราง 23 จีโนไทป์ของเอนไซม์ superoxide dismutase(SOD)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>						ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>					
	นครสวรรค์			นครนายก			นครปฐม			ปทุมธานี		
	SOD ₁	SOD ₂	SOD ₃	SOD ₁	SOD ₂	SOD ₃	SOD ₁	SOD ₂	SOD ₃	SOD ₁	SOD ₂	SOD ₃
1	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
5	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
7	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-
17	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	-	-	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
A ₁	32	22	40	32	24	40	30	22	38	34	23	38
A ₂	-	18	-	-	16	-	-	18	-	-	17	-

ตาราง 24 จีโนไทป์ของเอนไซม์ xanthine dehydrogenase (XDH)

สถานที่ ตัวอย่าง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์ XDH	นครนายก XDH	นครปฐม XDH	ปทุมธานี XDH
1	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
2	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
3	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
4	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
7	-	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
8	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
9	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
10	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
11	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
12	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
13	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
15	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
16	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
18	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
A ₁	38	40	40	40
A ₂	-	-	-	-

จำนวนของจีโนไทป์ (number of genotype)

ตาราง 25 จำนวนของจีโนไทป์

ตำแหน่ง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
ACP ₁				
(N)	20	20	19	19
A ₁ A ₁	5	20	5	4
A ₁ A ₂	14	0	12	15
A ₂ A ₂	1	0	2	0
ACP ₂				
(N)	20	19	20	20
A ₁ A ₁	20	19	20	20
ACP ₃				
(N)	20	20	19	19
A ₁ A ₁	20	20	19	19
ACP ₄				
(N)	18	19	18	17
A ₁ A ₁	18	19	18	17
ADH				
(N)	20	20	20	20
A ₁ A ₁	20	20	20	20
ALDOX ₁				
(N)	20	20	20	20
A ₁ A ₁	8	11	10	9
A ₁ A ₂	8	6	7	8
A ₂ A ₂	4	3	3	3
ALDOX ₂				
(N)	20	20	20	20
A ₁ A ₁	20	20	20	20

ตาราง 25 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากรของ <u>S. germaini</u>		ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
AKP				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	20	20	20	20
EST ₁				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	20	20	20	20
EST ₂				
(N)	20	20	17	20
$A_1 A_1$	20	20	17	20
EST ₃				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	8	6	2	2
$A_1 A_2$	9	14	14	17
$A_2 A_2$	3	0	4	1
HBDH				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	20	20	20	20
G-6-PD				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	6	4	2	3
$A_1 A_2$	12	14	18	17
$A_2 A_2$	2	2	0	0

ตาราง 25 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากรของ <i>S. germaini</i>		ประชากรของ <i>S. bangkokensis</i>	
	นครสวรรค์	นครนายก	นครปฐม	ปทุมธานี
ODH				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	8	8	6	8
$A_1 A_2$	8	10	13	12
$A_2 A_2$	4	2	1	0
6-PGD				
(N)	18	20	19	20
$A_1 A_1$	18	20	19	20
SOD ₁				
(N)	16	16	15	17
$A_1 A_1$	16	16	15	17
SOD ₂				
(N)	20	20	20	20
$A_1 A_1$	7	6	8	9
$A_1 A_2$	8	12	6	5
$A_2 A_2$	5	2	6	6
SOD ₃				
(N)	20	20	19	19
$A_1 A_1$	20	20	19	19
XDH				
(N)	19	20	20	20
$A_1 A_1$	19	20	20	20

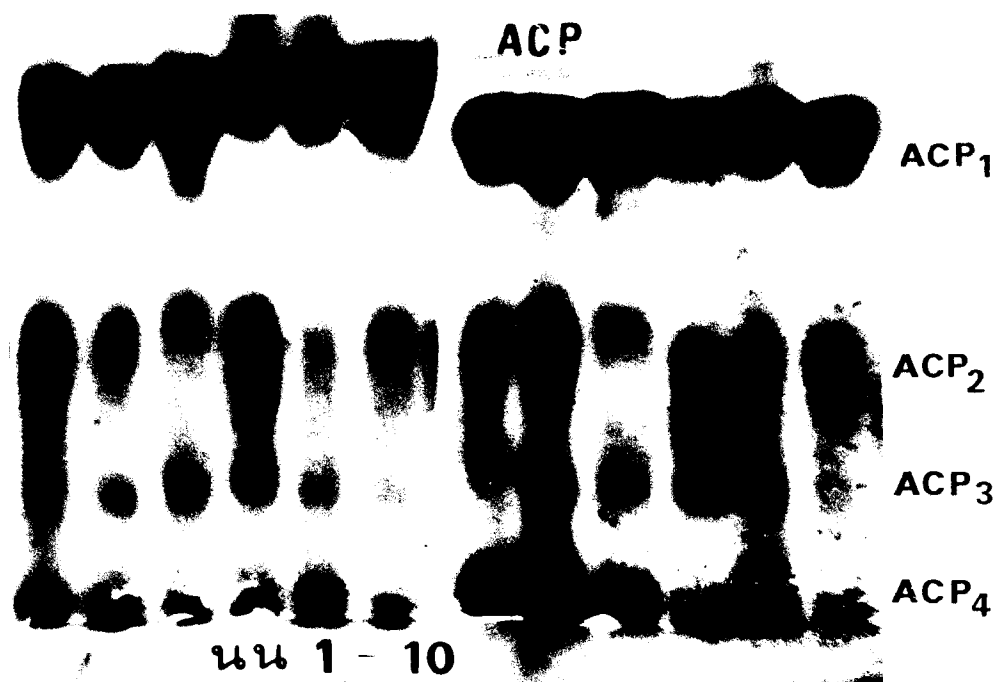
ค่าโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphism)

ตาราง 26 ค่าโพลีมอร์ฟิซึมของประชากร S. germaini

ประชากรของ <u>S. germaini</u>	จำนวนโพลีมอร์ฟิซึม	จำนวนโลคัส ทั้งหมด	ค่าโพลีมอร์ฟิซึม ต่อโลคัส
นครสวรรค์	6	19	0.315
นครนายก	5	19	0.263
ค่าโพลีมอร์ฟิซึมเฉลี่ย			0.289

ตาราง 27 ค่าโพลีมอร์ฟิซึมของประชากร S. bangkokensis

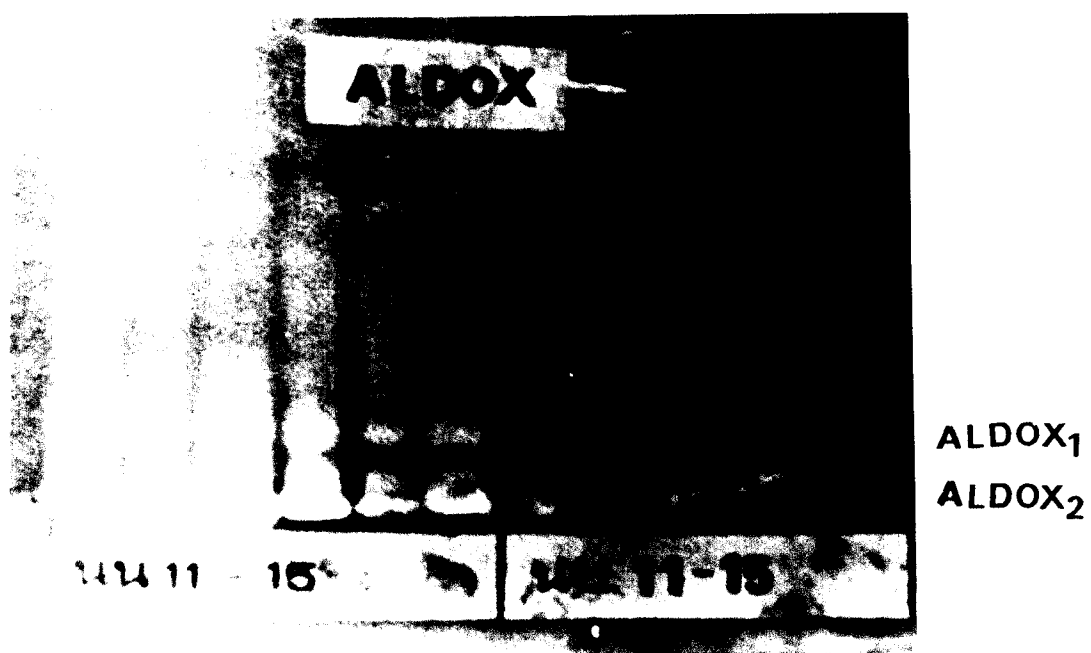
ประชากรของ <u>S. bangkokensis</u>	จำนวนโพลีมอร์ฟิซึม	จำนวนโลคัส ทั้งหมด	ค่าโพลีมอร์ฟิซึม ต่อโลคัส
นครปฐม	6	19	0.315
ปทุมธานี	6	19	0.315
ค่าโพลีมอร์ฟิซึมเฉลี่ย			0.315



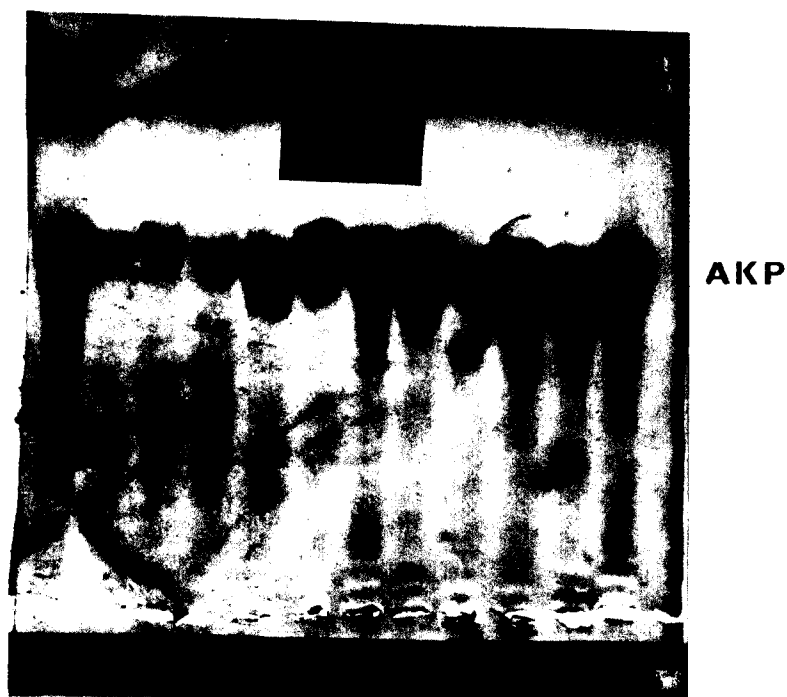
ภาพประกอบ 25 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ACP



ภาพประกอบ 26 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ADH



ภาพประกอบ 27 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ALDOX



ภาพประกอบ 28 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ AKP



ภาพประกอบ 29 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ EST



ภาพประกอบ 30 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ G-6-PDH



HBDH

ภาพประกอบ 31 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ HBDH



ODH

ภาพประกอบ 32 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ ODH



6PGD

ภาพประกอบ 33 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ 6-PGD



SOD₁
SOD₂
SOD₃

ภาพประกอบ 34 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ SOD



XDH

ภาพประกอบ 35 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบเอนไซม์ XDH

Figure 1

ภาคผนวก ข

1. สารละลายบัฟเฟอร์

1.1 ระบบบัฟเฟอร์ทริส-ซีเตรต pH 8.0 (T.C. 8.0)

1.1.1 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเจล

ทริสมาเบส	2.7697	กรัม
กรดซิตริก	1.1186	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH จนได้ 8.0		

1.1.2 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็กโตรด

ทริสมาเบส	82.038	กรัม
กรดซิตริก	43.1145	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH จนได้ 8.0		

1.2 ระบบบัฟเฟอร์ลิเทียมไฮดรอกไซด์-โบริก (LiOH-Boric)

1.2.1 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเจล

สารละลาย A : ลิเทียม	0.72	กรัม
กรดโบริก	11.90	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH จนได้ 8.1		
สารละลาย B : ทริสมาเบส	6.05	กรัม
กรดซิตริก	1.7143	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH จนได้ 8.4		
ใช้สารละลาย A 10% และ B 90%		

1.2.2 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็กโทรด

ใช้สารละลาย A

1.3 ระบบบัฟเฟอร์ทริส-โบเรต-อีดีทีเอ pH 8.60

1.3.1 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเจล

ทริสมาเบส	109	กรัม
กรดโบริก	30.9	กรัม
อีดีทีเอ (ethylenediamine tetraacetic acid)		
	7.6	กรัม
เติมน้ำจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH จนได้ 8.60		

ใช้สารละลายโดยเจือจาง 1/39

1.3.2 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็กโทรด

ใช้สารละลายโดยเจือจาง 1/4

1.4 ระบบบัฟเฟอร์ซีเอ-7 (CA-7)

1.4.1 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเจล

ทริสมาเบส	1.10	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
กรดซิตริก	0.63	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 7.10		

1.4.2 สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็กโทรด

ทริสมาเบส	16.35	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
กรดอะซิติก	8.40	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

น้ำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 6.90

1.5 สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0

ทริสมาเบส	24.2	กรัม
เติมน้ำจนได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้ได้ pH 8.0		

1.6 สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.1 โมล/ลิตร pH 7.0

ทริสมาเบส	12.2	กรัม
เติมน้ำจนได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้ได้ pH 7.0		

1.7 สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.5 โมล/ลิตร pH 7.1

ทริสมาเบส	60.5	กรัม
เติมน้ำให้ได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้ได้ pH 7.1		

1.8 สารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ 0.06 โมล/ลิตร pH 5.0

โซเดียมอะซีเตต	6.8	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมล/ลิตร	14.8	กรัม
เติมน้ำให้ได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้ 5.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 โมล/ลิตร		

2. สารละลายที่ใช้ย้อมสีเอนไซม์แอคติวิตีสเทน

2.1 สารละลายเบอร์ 1

แอลฟา-แนพทิลอะซีเตต (α -naphthyl acetate)	1.0	กรัม
เบตา-แนพทิลอะซีเตต (β -naphthyl acetate)	1.0	กรัม
อะซีโตน	50.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

2.2 สารละลายเบอร์ 2

เอ็นบีที (Nitro blue tetrazolium)	1.0	กรัม
-----------------------------------	-----	------

	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.3	สารละลายเบอร์ 3		
	เอ็มทีที (MTT tetrazolium)	1.0	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.4	สารละลายเบอร์ 4		
	ไตรฟอสโฟไพริดีน นิวคลีโอไทด์ (Triphosphopyridine nucleotide)		
		1.0	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.5	สารละลายเบอร์ 5		
	ไดฟอสโฟไพริดีน นิวคลีโอไทด์ (Diphosphopyridine nucleotide)		
		1.0	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.6	สารละลายเบอร์ 6		
	แมกนีเซียมคลอไรด์	2.03	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.7	สารละลายเบอร์ 7		
	แมกนีเซียมคลอไรด์	10.15	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
2.8	สารละลายเบอร์ 8		
	ฟีนาซีน เมทอซัลเฟต (Phenazine methosulfate)	1.0	กรัม
	น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร
	สารละลายเบอร์ 9		
	กลีเซอรีน	5	ส่วน
	แอลกอฮอล์	4	ส่วน
	น้ำกลั่น	1	ส่วน

3. สีย้อมเอนไซม์แอคติวิตีสเทน

3.1 สีย้อมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนแอซิดฟอสฟาเตส (ACP)

อะซีเตรคบัฟเฟอร์ pH 5.0 100.0 มิลลิลิตร

แช่แผ่นเจลไว้ 30 นาที

เติมโซเดียม-แอลฟา-แนพทิลแอซิดฟอสเฟต (Na- α -naphthyl acid phosphate)

150.0 มิลลิกรัม

ฟาสท์ บลู อาร์อาร์ ซอลท์ (Fast blue RR salt) 100.0 มิลลิกรัม

ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้ง เติม

สารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสีย้อมทิ้ง (Steiner and Joslyn, 1979)

3.2 สีย้อมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนอัลคาไรด์ฟอสฟาเตส (AKP)

โซเดียม-แอลฟา-แนพทิลแอซิดฟอสเฟต (Na- α -naphthyl acid phosphate)

100.0 มิลลิกรัม

ฟาสท์ บลู อาร์อาร์ ซอลท์ 100.0 มิลลิกรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต 123.0 มิลลิกรัม

น้ำกลั่น 100.0 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันเทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้ง

เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Shaw and Prasad, 1970)

3.3 สีย้อมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนอัลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (ADH)

สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0

70.0 มิลลิลิตร

2-โพรพานอล (2-propanol) 1.0 มิลลิลิตร

สารละลายเบอร์ 3 2.0 มิลลิลิตร

สารละลายเบอร์ 5 2.0 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันเทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เติม

สารละลายเบอร์ 8 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Steiner and Joslyn, 1979)

3.4 สีย้อมเอนไซม์แอคทีวิตีสเทนอัลดีไฮด์ออกซิเดส (ALDOX)

สารละลายทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0	100.0	มิลลิลิตร
เบนซอลดีไฮด์ (Benzaldehyde)	2.5	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 2	2.5	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันเพื่อให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

เติมสารละลายเบอร์ 8	1.5	มิลลิลิตร
---------------------	-----	-----------

ทิ้งไว้จนแถบปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้ง

เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Pasateur and others, 1988)

3.5 สีย้อมเอนไซม์แอคทีวิตีสเทนเอสเทอร์เลส (EST)

สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.5 โมล/ลิตร pH 7.1

	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	87.0	มิลลิลิตร
ฟาสท์ บลู อาร์อาร์	100.0	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 1	3.0	มิลลิลิตร

ทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เทสีย้อมทิ้ง

เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Shaw and Prasad, 1970)

3.6 สีย้อมเอนไซม์แอคทีวิตีสเทนกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (G-6-PDH)

สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0

	100.0	มิลลิลิตร
กลูโคส-6-ฟอสเฟต (Glucose-6-phosphate)	1.6	กรัม
สารละลายเบอร์ 2	2.0	มิลลิลิตร

สารละลายเบอร์ 3	2.0	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 5	2.0	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 6	2.0	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากันเพื่อให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
เติมสารละลายเบอร์ 8	1.0	มิลลิลิตร
ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีย้อมทิ้ง		
เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที เทสารละลายทิ้ง		
3.7 ลีซอมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนไฮดรอกซีบิวไทเรตดีไฮโดรจีเนส (HBDH)		
สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร	100.0	มิลลิลิตร
เบต้า-ไฮดรอกซีบิวไทริก (β -Hydroxybutyric)	300.0	มิลลิกรัม
โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	300.0	มิลลิกรัม
สารละลายเบอร์ 5	2.0	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 3	1.0	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 6	2.5	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 2	2.0	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากันเพื่อให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
เติมสารละลายเบอร์ 8	1.0	มิลลิลิตร
ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีย้อมทิ้ง		
เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Steiner and Joslyn, 1979)		
3.8 ลีซอมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนออกทานอลดีไฮโดรจีเนส (ODH)		
สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0	80.0	มิลลิลิตร
สารละลายออกทานอล (Octanol)	2.5	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 2	2.5	มิลลิลิตร

- | | | |
|--|-----|-----------|
| สารละลายเบอร์ 5 | 2.5 | มิลลิลิตร |
| ผสมให้เข้ากันเทให้ท่วมแผ่นเจลทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที | | |
| เติมสารละลายเบอร์ 8 | 1.5 | มิลลิลิตร |
| ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้ง | | |
| เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Pasteur and others. 1988) | | |
- 3.9 ลีซอมเอนไซม์แอคติวิตีสเทน6-ฟอสโฟกลูโคเนตดีไฮโดรจีเนส (6-PGD)
- | | | |
|--|-------|-----------|
| สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0 | 100.0 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 7 | 12.0 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 4 | 0.8 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 2 | 1.6 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 3 | 1.6 | มิลลิลิตร |
| 6-ฟอสโฟกลูโคนิก แอซิด (6-phosphogluconic acid) 160.0 | | มิลลิกรัม |
| ผสมให้เข้ากันเทให้ท่วมแผ่นเจลทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที | | |
| เติมสารละลายเบอร์ 8 | 0.8 | มิลลิลิตร |
| ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้ง | | |
| เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Pasteur and others. 1988) | | |
- 3.10 ลีซอมเอนไซม์แอคติวิตีสเทนซูเปอร์ออกไซด์ดีสมัลเตส (SOD)
- | | | |
|--|-------|-----------|
| สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0 | 100.0 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 7 | 0.5 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 5 | 2.5 | มิลลิลิตร |
| สารละลายเบอร์ 2 | 2.5 | มิลลิลิตร |

ผสมให้เข้ากันเพื่อให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

เติมสารละลายเบอร์ 8	1.5	มิลลิลิตร
---------------------	-----	-----------

ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีย้อมทิ้ง

เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง (Pasteur and others, 1988)

3.11 ลีซอมเอนไซม์แอกติวิตัสเตนแซนทีนดีไฮโดรจีเนส (XDH)

สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอริก 0.2 โมล/ลิตร pH 8.0

100.0	มิลลิลิตร
-------	-----------

ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine)	300.0	มิลลิกรัม
---------------------------	-------	-----------

ให้ความร้อนจนไฮโปแซนทีนละลายหมด ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

เติมสารละลายเบอร์ 2	2.5	มิลลิลิตร
---------------------	-----	-----------

สารละลายเบอร์ 5	2.5	มิลลิลิตร
-----------------	-----	-----------

ผสมให้เข้ากันเพื่อให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

เติมสารละลายเบอร์ 8	1.5	มิลลิลิตร
---------------------	-----	-----------

ทิ้งไว้จนแบนด์ปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีย้อมทิ้ง

เติมสารละลายเบอร์ 9 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง

ภาคผนวก ค

ภาคผนวก ค

เอนไซม์เป็น globulin protein ซึ่งมีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาเคมีหรือเรียกว่าเป็นตัวเร่งชีวภาพ (biological catalyst) โดยมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือมีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูงมาก สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นั้นขึ้นอยู่กับสับสเตรท โคเอนไซม์ ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิดนั้นจะแตกต่างกันไป

เอนไซม์แบ่งออกเป็น 6 ประเภท โดยอาศัยหลักปฏิกิริยาได้ดังนี้

1. ออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase) เร่งปฏิกิริยาการออกซิไดส์สับสเตรทหนึ่งและรีดิวส์อีกสับสเตรทหนึ่ง

1.1 กลุ่มอัลกอฮอล์ (CH-OH group) เป็นตัวให้อิเลคตรอน

1.1.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.1.2 cytochrome เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.1.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.1.99 ใช้ตัวรับอิเลคตรอนอื่นๆ

1.2 กลุ่มอัลดีไฮด์ ($\text{R}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{H}$ group) หรือกลุ่มคีโตน ($\text{R}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{R}$ group) เป็นตัวให้อิเลคตรอน

1.2.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.2.2 cytochrome เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.2.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.2.4 lipoate เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.2.99 ใช้ตัวรับอิเลคตรอนอื่นๆ

1.3 กลุ่มอัลคีน ($\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$) เป็นตัวให้อิเลคตรอน

1.3.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.3.2 cytochrome เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.3.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.3.99 ใช้ตัวรับอิเลคตรอน

- 1.4 กลุ่มไพมารีอะมิโน (CH-NH_2) เป็นตัวให้อิเลคตรอน
 - 1.4.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.4.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน
- 1.5 กลุ่มเซกกันดารีอะมิโน (CH-NH) เป็นตัวให้อิเลคตรอน
 - 1.5.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.5.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน
- 1.6 NAD หรือ NADP เป็นตัวรีดิวซ์ (เป็นตัวให้อิเลคตรอน)
 - 1.6.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.6.2 cytochrome เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.6.4 สารประกอบไดซัลไฟด์เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.6.5 สารประกอบควินโอนหรืออนุพันธ์เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.6.6 สารประกอบไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.6.99 ใช้ตัวรับอิเลคตรอนอื่นๆ
- 1.7 สารประกอบไนโตรเจนเป็นตัวให้อิเลคตรอน
 - 1.7.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.7.99 ใช้ตัวรับอิเลคตรอนอื่นๆ
- 1.8 กลุ่มซัลเฟอร์เป็นตัวให้อิเลคตรอน
 - 1.8.1 NAD หรือ NADP เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.8.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.8.4 สารประกอบไดซัลไฟด์เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.8.5 สารประกอบควินโอนหรืออนุพันธ์เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.8.6 สารประกอบไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน
- 1.9 กลุ่มฮีม (heme group) เป็นตัวให้อิเลคตรอน
 - 1.9.3 O_2 เป็นตัวรับอิเลคตรอน
 - 1.9.6 สารประกอบไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน

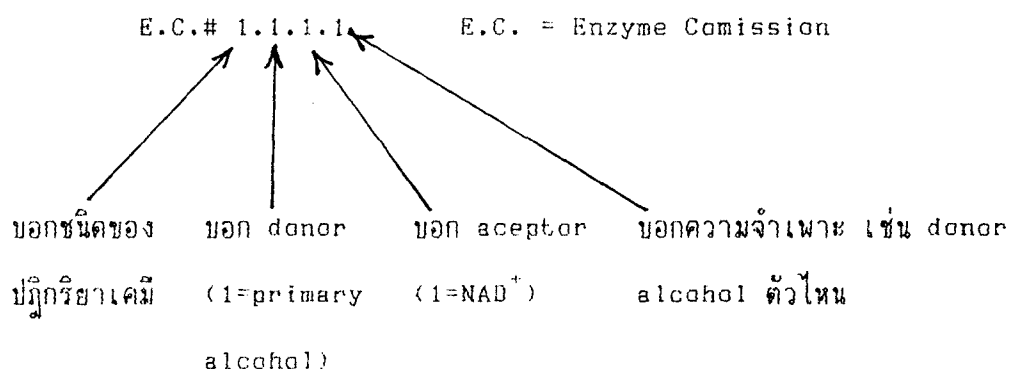
- 3.2 สลายพันธะสารประกอบไกลโคไซด์ ($C_6H_{12}O_5-O-R$)
 - 3.2.1 สลายพันธะไกลโคไซด์
 - 3.2.2 สลายพันธะสารประกอบไนโตรเจนกับไกลโคไซด์
 - 3.2.3 สลายพันธะสารประกอบซัลเฟอร์กับไกลโคไซด์
- 3.3 สลายพันธะอีเทอร์ ($R-O-R$)
 - 3.3.1 สลายพันธะไธโออีเทอร์ ($R-S-R$)
- 3.4 สลายพันธะเปปไทด์ ($-CO-NH-$)
 - 3.4.1 สลายพันธะแอลฟา-อะมิโน-เอซิล-เปปไทด์
 - 3.4.2 สลายพันธะเปปติล-อะมิโน-แอซิด
 - 3.4.4 สลายพันธะเปปติล-เปปไทด์
- 3.5 สลายพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน
 - 3.5.1 สลายพันธะลิเนียร์ เอมีน (linear amides)
 - 3.5.2 สลายพันธะวงของเอมีน (cyclic amides)
 - 3.5.3 สลายพันธะลิเนียร์ เอมีดิน (linear amidines)
 - 3.5.4 สลายพันธะวงของเอมีดิน (cyclic amidines)
 - 3.5.5 สลายพันธะไซยาไนด์ (cyanides)
 - 3.5.99 สลายพันธะในสารประกอบอื่นๆ
- 3.6 สลายพันธะ แอซิด แอนไฮไดรต์ ($=C-O=C-$)
 - 3.6.1 สลายพันธะฟอสไฟริลแอนไฮไดรต์
- 3.7 สลายพันธะของคาร์บอนกับคาร์บอน ($C-C$)
 - 3.7.1 สลายพันธะสารประกอบคีโตน
- 3.8 สลายพันธะเฮไลด์ ($R-X$)
 - 3.8.1 สลายพันธะคาร์บอนกับเฮไลด์ ($C-halide$)
 - 3.8.2 สลายพันธะฟอสฟอรัลกับเฮไลด์ ($P-halide$)
- 3.9 สลายพันธะฟอสฟอรัลกับไนโตรเจน

4. โลเอส (Lyases) ปฏิกริยาการสลายพันธะคู่
 - 4.1 สลายพันธะคู่ในอัลคีน ($C=C$)
 - 4.1.1 สลายพันธะคู่ของคาร์บอนกับคาร์บอนในคาร์บอกซิล
 - 4.1.2 สลายพันธะคู่ของคาร์บอนกับคาร์บอนในอัลดีไฮด์
 - 4.1.3 สลายพันธะคู่ของคาร์บอนกับคาร์บอนในคีโตน
 - 4.2 สลายพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับออกซิเจน ($C=O$)
 - 4.2.1 สลายพันธะคู่ใน H_2O
 - 4.2.2 สลายพันธะคู่ในสารอื่นๆ
 - 4.3 สลายพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน ($C=N$)
 - 4.3.1 สลายพันธะคู่ในแอมโมเนีย (NH_3)
 - 4.3.2 สลายพันธะคู่ในนเอมิติน
 - 4.4 สลายพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับกำมะถัน ($C=S$)
 - 4.5 สลายพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับเฮไลด์
 - 4.99 สลายพันธะคู่กับสารอื่นๆ
5. ไอโซเมอเรส (Isomerases) เร่งปฏิกริยาการเปลี่ยนไอโซเมอร์
 - 5.1 เปลี่ยนจาก L-isomer $\rightleftharpoons$ D-isomer
 - 5.1.1 เปลี่ยนกรดอะมิโนและอนุพันธ์
 - 5.1.2 เปลี่ยนไฮดรอกซีแอซิดและอนุพันธ์
 - 5.1.3 เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์
 - 5.1.99 เปลี่ยนสารประกอบตัวอื่นๆ
 - 5.2 เปลี่ยนจาก cis เป็น trans ไอโซเมอร์
 - 5.3 ให้และรับอิเล็กตรอนระหว่างโมเลกุล
 - 5.3.1 เปลี่ยนภายในอัลคิลและคีโตน
 - 5.3.2 เปลี่ยนจากกลุ่มคีโตนและอินอล
 - 5.3.3 เปลี่ยนที่ตำแหน่งพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอน

- 5.4 เปลี่ยนระหว่างโมเลกุล
 - 5.4.1 เปลี่ยนกลุ่มเอซิด
 - 5.4.2 เปลี่ยนกลุ่มฟอสโฟริล
 - 5.4.99 เปลี่ยนกลุ่มอื่นๆ
- 5.5 เปลี่ยนพันธะคู่ระหว่างโมเลกุล
- 5.99 เปลี่ยนไอโซเมอร์ในสารอื่นๆ
- 6. ไลเกส (Ligases) เร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะระหว่างสาร 2 ชนิดโดยใช้ ATP
 - 6.1 สร้างพันธะระหว่างคาร์บอนกับออกซิเจน
 - 6.1.1 อะมิโน-แอซิด อาร์เอนเอไลเกส (C-O)
 - 6.2 สร้างพันธะระหว่างคาร์บอนกับซัลเฟอร์
 - 6.2.1 อะมิโน-ไฮโดรไลเกส (C-S)
 - 6.3 สร้างพันธะระหว่างคาร์บอนกับไฮโดรเจน
 - 6.3.1 สร้างพันธะแอซิดกับแอมโมเนียเกิดเป็นเอไมด์
 - 6.3.2 สร้างพันธะแอซิดกับอะมิโนเกิดเป็นเปปไทด์
 - 6.3.3 สร้างสารเกิดเป็นวง (cyclo-ligases)
 - 6.3.4 สร้างพันธะของคาร์บอนกับไนโตรเจนกับสารอื่นๆ
 - 6.4 สร้างพันธะระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอน

(สุนันทา วิทยารัตน์. 2527)

การเรียกชื่อตามระบบตัวเลขนี้ตัวเลขแต่ละตัวมีความหมายดังนี้

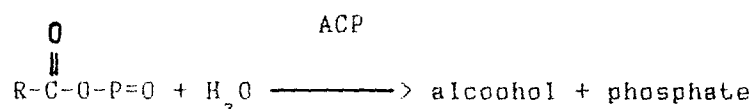


(ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533)

เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีหน้าที่แตกต่างกันไปดังนี้

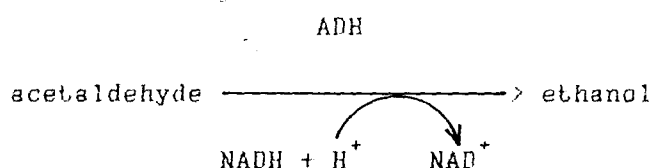
1. เอนไซม์แอซิดฟอสฟาเตส (ACP)

เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำ เพื่อสลายฟอสโฟริกโมโนเอสเทอร์ให้เป็นแอลกอฮอล์กับฟอสเฟตในสภาวะกรด



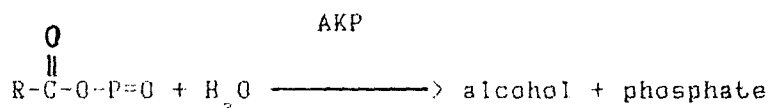
2. เอนไซม์อัลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส (ADH)

เป็นเอนไซม์ในวิถีไกลโคลิซิส (glycolysis pathway) มีหน้าที่เปลี่ยน อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ให้เป็นเอทานอล (ethanol)



3. เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (AKP)

เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำ เพื่อสลายฟอสโฟริกโมโนเอสเทอร์ให้เป็นแอลกอฮอล์กับฟอสเฟตในสภาวะด่าง



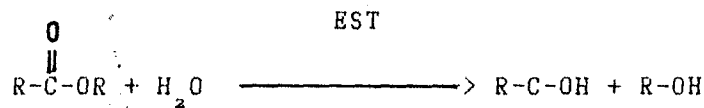
4. เอนไซม์อัลดีไฮด์ออกซิเดส (ALDOX)

เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการออกซิโดสสารประกอบอัลดีไฮด์ให้เป็นกรด



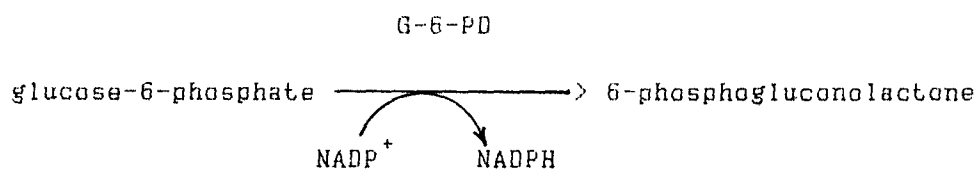
5. เอนไซม์เอสเทอร์เลส (EST)

เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เพื่อสลายเอสเทอร์ให้เป็นอัลกอฮอล์และกรด



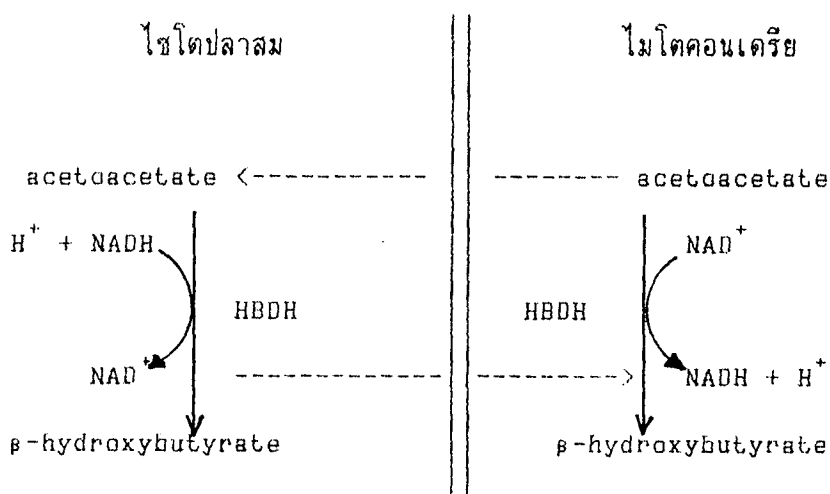
6. เอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (G-6-PD)

เป็นเอนไซม์ในวิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) มีหน้าที่ออกซิไดซ์ กลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) ให้เป็น 6-ฟอสโฟกลูโคนแลกโตน (6-phosphogluconolactone)



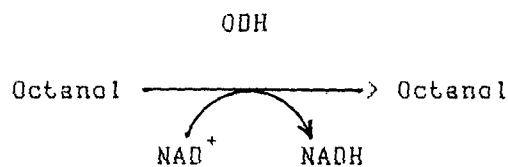
7. เอนไซม์ไฮดรอกซีบิวไทเรตดีไฮโดรจีเนส (HBDH)

เป็นเอนไซม์ที่ช่วยลำเลียง NADH จากไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ผ่านผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) เพื่อเปลี่ยนเป็น ATP



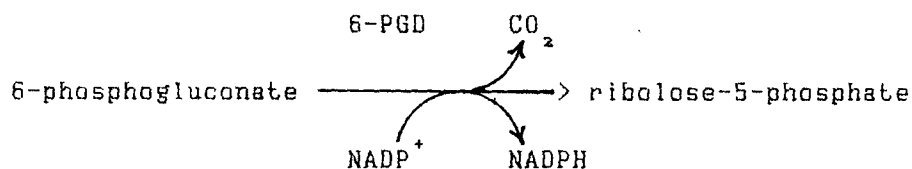
8. เอนไซม์ออกทานอลดีไฮโดรจีเนส (ODH)

เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการออกซิไดส์แอลกอฮอล์ให้เป็นอัลดีไฮด์



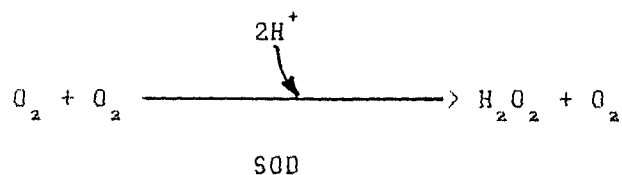
9. เอนไซม์ 6-ฟอสโฟกลูโคเนตดีไฮโดรจีเนส (6-PGD)

เป็นเอนไซม์ในวิถีเพนโทสฟอสเฟต มีหน้าที่ออกซิไดส์ 6-ฟอสโฟกลูโคเนต เป็นไรโบโรส-5-ฟอสเฟต



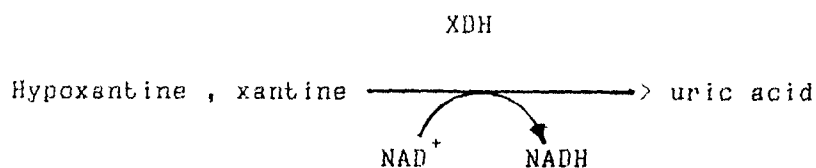
10. เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมัลเทส (SOD)

เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากขบวนการออกซิเดชันโดยการเติมไฮโดรเจนไอออนให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และก๊าซออกซิเจน



11. เอนไซม์แซนทีนดีไฮโดรจีเนส (XDH)

เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นขบวนการออกซิเดชันของ purine , hypoxanthine , xantine ให้กลายเป็น uric acid



คุณสมบัติของเอนไซม์แต่ละชนิดและสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง

เอนไซม์	แหล่งเอนไซม์	ค่าสเปซิฟิคแอคทิวิตี	ความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ	อ้างอิง
ACP	สเปิร์มจากหมี ป่า	0.005	5.1	37 C	Soucek, D.A. and J.C.Vary 1984.
ADH	แมลงหวี่	0.001	8.6	25 C	Sampsell,B. & Evelene,S. 1983.
AKP	สเปิร์มจากหมี ป่า	0.060	9.9	37 C	Soucek, D.A. and J.C.Vary 1984.
ALDOX	ตับกระต่าย	0.110	7.8	25 C	Romeo, J. & others.1974.
G-6PD	แมลงหวี่	0.570	8.6	35 C	Bijlsma R.& C. van der Meulen- Bruijus 1979.
HBDH	แมลงหวี่	0.058	8.2	26 C	Tobler, E.J. & Ellsworth

สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ (ต่อ)

เอนไซม์	แหล่งเอนไซม์	ค่าสเปซิฟิคแอกติวิตี	ความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ	อ้างอิง
EST	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.327	8.0	37 C	H. Grell 1977. Nakagawa, A. & others. 1984.
ODH	แมลงหวี่	0.08	10.2	25 C	Seiber, F. & others. 1972.
6-PGD	ยีสต์	0.300	7.5	25 C	Horecker, B.L. 1951.
SOD	โครโมโซมของ ตั๊กแตน	0.070	8.5	22 C	Aust, S.D. & others. 1972.
XDH	ตั๊กแตน	0.011	8.5	25 C	Lyerla, T.A. & Fournier P.C. 1983.

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล

นางสาวศรมน โพธิ์ทอง

วันเดือนปีเกิด

30 ตุลาคม 2510

สถานที่เกิด

อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช

สถานที่อยู่ปัจจุบัน

บ้านเลขที่ 173 หมู่ 2 ซอยประจักษ์พัฒนา ตำบลหาดขาม

อำเภออุบลบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77150

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2529

เตรียมอุดมศึกษา(แผนกวิทยาศาสตร์)จากโรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี

พ.ศ. 2533

กศ.บ.(วิชาเอกชีววิทยา)จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประสานมิตร

พ.ศ. 2536

วท.ม.(วิชาเอกเคมีชีวภาพ)จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประสานมิตร

การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปูนา 2 ชนิด Somanniathelphusa germaini
(Rathbun, 1902) กับ Somanniathelphusa bangkokensis Naiyanetr, 1982

ในภาคกลางของประเทศไทยโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

บทคัดย่อ

ของ

ศรมน โพธิ์ทอง

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

กันยายน 2536

การศึกษาแถบแอกติวิตีสเทนของเอนไซม์ 11 ชนิดคือ ACP, ADH, ALDOX, AKP, EST, G-6-PDH, HBDH, ODH, 6-PGD, SOD และ XDH ของปูนา 2 ชนิดในภาคกลางของประเทศไทย คือ Somaniathelphusa bangkokensis จากจังหวัดนครปฐม และจังหวัดปทุมธานี กับ Somaniathelphusa germaini จากจังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดนครนายก จังหวัดละ 20 ตัว อย่าง เพื่อหาความแปรผันทางพันธุกรรม พบว่า S. bangkokensis มีค่าความแปรผันทางพันธุกรรม สูงกว่า S. germaini คือมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย และค่าโพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 0.181 และ 0.315 ในขณะที่ S. germaini มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย และค่าโพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 0.151 และ 0.289 ตามลำดับ และค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (G_{ST}) ของ S. bangkokensis ระหว่างจังหวัดนครปฐม กับจังหวัดปทุมธานี มีค่าเท่ากับ 0.0016 โดยที่ค่าความแตกต่างทาง พันธุกรรมของ S. germaini จากจังหวัดนครสวรรค์ กับจังหวัดนครนายก มีค่าเท่ากับ 0.0141

ส่วนค่าความคล้ายทางพันธุกรรม (I) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) พบว่า S. bangkokensis มีค่าเท่ากับ 0.9976 และ 0.0023 ซึ่งใน S. germaini มีค่าเท่ากับ 0.9892 และ 0.0107 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า S. bangkokensis จากจังหวัดปทุมธานี มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ S. germaini จากจังหวัดนครสวรรค์มากที่สุด คือมีค่า I เท่ากับ 0.9995 และ D เท่ากับ 0.0004

A STUDY ON GENETIC VARIATION OF TWO SPECIES OF RICE - FIELD CRAB,
Somanniathephusa germaini (Rathbun, 1902) AND Somanniathelphusa
bangkokensis Naiyanetr, 1982 IN THE CENTRAL PART OF THAILAND
USING ELECTROPHORETIC TECHNIQUE

AN ABSTRACT

BY

SORAMON POTHONG

Presented in partial fulfillment of the requirements for the
Master of Science degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University
September 1993

Freshwater crabs, Somanniathelphusa bangkokensis, collected from Nakornphatom and Phatumthanee and Somanniathelphusa germaini collected from Nakornsawan and Nakornnayok, 20 samples from each location, were studied. Their eleven metabolic enzymes (ACP, ADH, ALDOX, AKP, EST, G-6-PDH, HBDH, ODH, 6-PGD, SOD and XDH) were analyzed by starch-gel electrophoretic technique. Genetic variation between the two species from the four localities was inferred from the variations of those enzymes, and it was found that the average proportions of observed heterozygosity and polymorphic loci of S. bangkokensis were 0.181 and 0.315, and those of S. germaini were 0.151 and 0.289, respectively, whereas the average genetic differentiation (G_{ST}) value of S. bangkokensis was 0.0016 and S. germaini was 0.0141

The calculated genetic similarity (I) and the genetic distance (D) of S. bangkokensis were 0.9976 and 0.0023, and those of S. germaini were 0.9892 and 0.0107, respectively. Also the interspecific relationship between S. bangkokensis and S. germaini was shown by the values of I and D.

The calculated genetic similarity and genetic distance values showed that S. bangkokensis from Phatumthanee was genetically most similar to S. germaini from Nakornsawan (I= 0.9995, D= 0.0004).