

595.3

628.01

628.01

การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปูน้ำจืดชนิด Somanniathelphusa dugasti
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิส

ปริญญาพนธ์

ของ

สุธี อันเจ็ก

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

ตุลาคม 2534

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณะกรรมการควบคุม และคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตวิชาเอกเคมีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการควบคุม

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

คณะกรรมการสอบ

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

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศ.ดร.สมพร บัวทอง)

วันที่...๕...เดือน...พฤษภาคม... พ.ศ. ๒๕๓๕.....

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้เพราะ รศ.ดร. วราภรณ์ กิจวิริยะ รศ.ดร. สุมณฑา นรทมนุญ ศ.ไพบุลย์ นัยเนตรและผศ.พันธุ์สิน เกตุทัต ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทดลอง เก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การจำแนกตัวอย่างและอำนวยความสะดวกในการทำปริญญานิพนธ์ตามลำดับ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำปริญญานิพนธ์ ผู้วิจัยขอโน้มรำลึกถึงคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุนการศึกษาตลอดมา

สุธิ์ อันเจ็ก

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ความมุ่งหมายและขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	5
นิยามศัพท์เฉพาะ	5
2 วิธีการวิจัย	7
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	7
วิธีดำเนินการทดลอง	8
3 ผลการวิจัย	13
4 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	34
อภิปรายผล	34
ข้อเสนอแนะ	35
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	40
ภาคผนวก ก	41
ภาคผนวก ข	64
ภาคผนวก ค	72
ประวัติของผู้วิจัย	77

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	ชนิดของบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการเตรียมเจลและเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ใช้กับ เอนไซม์แต่ละชนิด	9
2	ลักษณะแถบโปรตีนที่ได้	13
3	ความถี่ของอัลลีล (allele frequency)	16
4	อัตราส่วนของโพลิมอร์ฟิซึม	31
5	เอทเทอโรไซโกตที่ได้จากการสังเกต	31
6	เอทเทอโรไซโกตที่ได้จากความคาดหวัง	32
7	I และ D ที่ได้จากการคำนวณ	33
8	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ADH	44
9	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ALDOX	45
10	จีโนไทป์ของเอนไซม์ G-6-PD	46
11	จีโนไทป์ของเอนไซม์ HBDH	47
12	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ME	48
13	จีโนไทป์ของเอนไซม์ ODH	49
14	จีโนไทป์ของเอนไซม์ PGM	50
15	จีโนไทป์ของเอนไซม์ POD	51
16	จีโนไทป์ของเอนไซม์ 6-PGDH	52
17	จีโนไทป์ของเอนไซม์ SOD	53

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ADH	18
2 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX-1	19
3 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ALDOX-2	20
4 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ G-6-PD	21
5 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ HBDH	22
6 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ME	23
7 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ODH-1	24
8 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ODH-2	25
9 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ POD	26
10 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ PGM	27
11 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ 6-PGDH	28
12 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD-1	29
13 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD-2	30
14 แสดงตัวอย่างปฏิกิริยา <u>Somanniasthelphusa dugasti</u> เพศผู้ด้านบน	41
15 แสดงตัวอย่างปฏิกิริยา <u>Somanniasthelphusa dugasti</u> เพศผู้ด้านท้อง	42
16 แสดงเฮปาโตแพนแครียส (hepatopancreas)	43
17 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ADH	54
18 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ALDOX	55
19 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ G-6-PD	56
20 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ HBDH	57
21 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ME	58

ภาพประกอบ

หน้า

22	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ODH	59
23	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ PGD	60
24	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ PGM	61
25	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ 6-PGDH	62
26	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ SOD	63

บทที่ 1

บทนำ

ปูน้ำจืดเป็นสัตว์ที่อยู่ใน Phylum Arthropoda , Class Crustacea , Order Decapoda , Sub-order Reptantia และ Section Brachyura จัดเป็นสัตว์คืบคลานที่มีขา 10 ขา มีเพศแยกและมีส่วนท้อง (Abdomen) ลดรูปงอพับไปอยู่ใต้ส่วนทรวงอก (Thorax) มีการผสมพันธุ์ภายในออกลูกเป็นตัวไม่มีระยะ Larva และมีการเจริญเติบโตโดยการลอกคราบเป็นระยะ ๆ

ปูน้ำจืดเป็นสัตว์น้ำที่มีการกระจายอย่างกว้างขวาง พบอยู่ทั่วไปทุกภาคของประเทศ ที่พบในประเทศไทย แบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ ปูนา ปลาดุ้ย ปูน้ำตก และปูปลา ซึ่งการกระจายของแต่ละกลุ่มขึ้นอยู่กับลักษณะถิ่นอาศัยของแต่ละชนิดเป็นหลัก ปัจจุบันนี้ปูน้ำจืดนับเป็นสัตว์น้ำที่คนทั่วไปนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร ซึ่งถ้าหากนำมาบริโภคโดยไม่ทำให้สุกก็จะได้รับอันตรายจากการเป็นโรคพยาธิใบไม้ในปอด เพราะปูน้ำจืดบางชนิดเป็นพาหะของพยาธิใบไม้ปอดที่เข้าสู่คนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด ซึ่งกินปูที่มีพยาธิเข้าไป

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นภาคที่มีพื้นที่มาก แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าปูนาส่วนใหญ่เป็นชนิด Somaniathelphusa dugastii , (Rathbun, 1902) ทำให้เกิดแนวคิดที่ว่า เมื่อปูชนิดนี้มีการกระจายมาก ในพื้นที่ต่าง ๆ ที่มีปูชนิดนี้อยู่จะมีรูปร่างลักษณะภายนอกเหมือนกันแต่ลักษณะทางพันธุกรรมจะแตกต่างกันหรือไม่นั้น ยังไม่มีการศึกษามาก่อน การศึกษาในครั้งนี้มุ่งศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมเพื่อจะรู้ว่าปูชนิดเดียวกัน ในพื้นที่ต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมเพียงไร ซึ่งถ้าพบว่ามีความแตกต่างกันมาก ก็น่าจะใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมเข้าร่วมจัดจำแนกชนิดของปูนาด้วย

การศึกษาการกระจายของปูน้ำจืดในประเทศไทยเท่าที่มีการศึกษามาเป็นการศึกษาการกระจายตามสภาพภูมิศาสตร์ นิเวศน์วิทยารวมกับการจำแนกตามลักษณะรูปร่าง และลักษณะภายนอก ยังไม่มีการศึกษาในระดับชีวเคมี สำหรับการศึกษาในครั้งนี้มุ่งศึกษาการกระจายของปูชนิด Somaniathelphusa dugastii ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้วิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสซึ่งสามารถจำแนกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นการสนับสนุนของการศึกษาจากรูปร่างลักษณะภายนอก โดยศึกษาแผนองค์ประกอบของเอนไซม์ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมเพื่อที่จะศึกษาว่าปูชนิดเดียวกันในแหล่งที่อยู่ต่างกันจะมีความแตกต่างกันในทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด ข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิวัฒนาการของปูน้ำจืดในประเทศไทย

การศึกษาปูน้ำจืดในประเทศไทยนี้ได้เริ่มตั้งแต่ปี ค.ศ. 1962 โดยไมล์-เอดเวิร์ด (Milne-Edward) ต่อมาไมล์ นัยเนตรได้ศึกษาการกระจายของปูน้ำจืดในประเทศไทยและได้แบ่งปูน้ำจืดออกเป็น 4 กลุ่มคือ ปูนา ปล้ำห้วย ปูป่า และปูน้ำตก (ไมล์ นัยเนตร, 2521)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสภาพทางนิเวศวิทยาของสัตว์ ความแปรผันทางพันธุกรรม มีการศึกษากันมากทั้งสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง เช่น

เซลซาโรนและคณะ (Cesaroni and other) ได้ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและความแตกต่างระหว่างประชากรของแมงมุมชนิดหนึ่ง (Nesticus) ในอิตาลี การศึกษาใช้ตัวอย่าง 3 ชนิดคือ N. eremita, N. menozzi และ N. sordoni ซึ่งแมงมุมแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งการดำรงชีวิต การแพร่กระจายปริมาณและพื้นที่อาศัย จากการศึกษาพบว่า N. eremita มีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง คือ มีค่าเฮเทอโรไซโกต 0.05-0.15 ส่วน N. menozzi และ N. sordoni มีความแปรผันทางพันธุกรรมต่ำ คือมีค่าเฮเทอโรไซโกต 0.081 และ 0.106 ตามลำดับ ค่าการแปรผันทางพันธุกรรมของ N. eremita มีค่าสูงแสดงว่าสามารถจะอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลายจึงมีการแพร่กระจายได้มาก (Cesaroni, D and others, 1981)

มัลลีย์ (Mully) และแลทเธอร์ (Lather) ได้ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและเปรียบเทียบวิวัฒนาการของกุ้ง 2 กลุ่มคือ Metapenaeus จำนวน 6 ชนิด และ Penaeus จำนวน 7 ชนิด ซึ่งกุ้งบางชนิดมีแหล่งที่อยู่อาศัยต่างกัน พบว่าความเหมือน (genetic identity) ของประชากรระหว่างกลุ่มมีค่า 0.39+0.08 ความเหมือนของประชากรในกลุ่ม Metapenaeus มีค่า 0.69+0.08 และ 0.65+0.08 ในกลุ่ม Penaeus ความแตกต่างทางพันธุกรรมของทั้งสองกลุ่มมีค่า 14% ในกลุ่มของ Metapenaeus พบว่า M. ensis กับ M. macleayi มีระยะห่างระหว่างพันธุ์ (genetic distance) มากที่สุด ส่วนในกลุ่ม Penaeus พบว่า P. latissulcatus กับ P. merguensis มีระยะห่างระหว่างพันธุ์มากที่สุด (Mully, J.C. and Lather, B.D.H., 1980)

ลาเวอรี (Lavery) และสแตปเปิล (Staples) ได้จัดจำแนกตัวอ่อนของกุ้ง 2 ชนิดคือ Penaeus esculentus และ P. semisulcatus จากอ่าว Carpentaria โดยใช้ตัวอ่อนที่มีการเจริญเติบโตต่างกัน 3 ระยะ โดยใช้วิธีอิเล็กโตรโฟเรซิสศึกษาเอนไซม์พบว่ามีความแตกต่างกัน 39 โลคัส (locus) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่า กุ้งทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม (Lavery, S. and Staples, D. 1990)

เวิร์ด (Ward) แมคแอนดรูว์ (McAndrew) และวอลลิส (Wallis) ได้ศึกษาความแปรผันของเอนไซม์ในปลาแลมเพรชชนิด Lampetra planeri พบว่าความแปรผันที่ตรวจพบได้จาก วิธีอิเล็กโตรโฟเรซิสของยีน 30 โลคัส ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของ เฮเทอโรไซโกต 0.076 +0.031 ต่อโลคัส ค่านี้เป็นเครื่องชี้ว่าปลาแลมเพรชมีความแปรผันทางพันธุกรรมอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ (Ward, R.F., McAndrew, B.J. and Wallis, G.T., 1981)

กูโยมาร์ด (Guyonard) และเกร็ก (Krieg) ได้ศึกษาความแปรผันของเอนไซม์ในปลาเทราต์น้ำจืดชนิด Salmo trutta โดยใช้ตัวอย่าง 6 กลุ่ม จากประเทศต่าง ๆ คือ อิตาลี เดนมาร์ก ฝรั่งเศส ฝรั่งเศสตอนใต้ โปแลนด์และบริทานี พบว่าความแปรผันของเอนไซม์มีสูงถึง 25% และมีค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกต 9% ในส่วนของระยะห่างระหว่างพันธุ พบว่า Salmo trutta จากบริทานีมีความห่างจากแหล่งอื่นมากกว่า Salmo trutta อีก 5 แหล่ง มีระยะห่างระหว่างพันธุสั้น (Guyonard, R. and Krieg, F., 1983)

ซาบาธ (Sabath) ได้ศึกษาเอนไซม์ซอร์บิทอลดีไฮโดรจีเนส (sorbital dehydrogenase) ของคางคกทะเลชนิด Bufo marinus ในประเทศออสเตรเลีย พบว่าคางคกทะเลชนิด Bufo marinus ในทางตอนเหนือและตอนใต้มีเอนไซม์ซอร์บิทอลดีไฮโดรจีเนส (sorbital dehydrogenase) ต่างกันในส่วนที่เป็นไอโซไซโกต จากผลของการศึกษาสรุปได้ว่าสภาพทางภูมิศาสตร์และนิเวศวิทยาทำให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรมในคางคกทะเลชนิดนี้ (Sabath, D., 1981)

ปูน้ำจืด Somaniathelpusa dugasti (Rathbun, 1902) โครงสร้างมีลักษณะเด่น คือ กระดองโค้งนูน ขอบกระดองมีฟัน 4 ซี่ (รวมเขี้ยว) สันขอบเขี้ยวตอนท้าย (Post-orbital crest) จะยาวไปถึงขอบฟันซี่สุดท้ายทางด้านข้าง (epibranchial teeth) และเว้าเล็กน้อย H-groove เห็นเด่นชัด Abdomen ปล้องสุดท้ายจะยาวกว่าปล้องที่ 5 เล็กน้อย ขอบรอยต่อระหว่างปล้องสุดท้ายกับปล้องที่ 5 จะมีรอยหยักตรงกลาง และขอบด้านหน้าของปล้องที่ 3 จะยาวเกือบเป็นเส้นตรง อวัยวะเพศผู้ (Go-1) ส่วนปลายมีลักษณะคล้ายหัวเป็ด

มีการกระจายใน 41 จังหวัด แบ่งเป็นภาคต่าง ๆ ดังนี้ คือ

ภาคกลาง 10 จังหวัด : ปทุมธานี สุพรรณบุรี ลพบุรี สระบุรี นครนายก
ชัยนาท อ่างทอง เพชรบูรณ์ กำแพงเพชรและนครสวรรค์
ภาคตะวันออก 3 จังหวัด : ตาก เพชรบุรีและประจวบคีรีขันธ์
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 จังหวัด : ฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยอง

ภาคเหนือ 9 จังหวัด : เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำพูน ลำปาง
พะเยา แพร่ น่านและอุตรดิตถ์

ภาคใต้ 1 จังหวัด : ชุมพร

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 16 จังหวัด : นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์
ศรีสะเกษ ชัยภูมิ อุดรธานี นครพนมหนองคาย เลย ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขัยภูมิ
ขอนแก่น กาฬสินธุ์ สกลนครและอุตรธานี (ไพบูลย์ นัยเนตร .2521)

ดังนั้นการศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะโครงสร้าง ความแตกต่างทางนิเวศวิทยา
ระบบอิน-เอนไซม์ของ Somanniathelphusa dugasti จะเป็นข้อมูลสนับสนุนหลักก่อนการวิจัย
ของการศึกษาระดับโครงสร้างกับระดับโมเลกุลของ ว่า สอดคล้องกันมากน้อยเพียงใด

ความมุ่งหมายและขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อศึกษาแบบแผนองค์ประกอบของโปรตีนของเอนไซม์ของชนิด
Somanniathelphusa dugasti ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 จังหวัดคือขอนแก่น
อุตรธานี สกลนครและชัยภูมิ ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเก็บจาก ต.หนองโก อ.กระนวน
จ.ขอนแก่น , ต.จำปี อ.ศรีธาตุ จ.อุตรธานี , อ.เมือง จ.สกลนครและ ต.แก้งคร้อ
อ.แก้งคร้อ จ.ชัยภูมิ แหล่งละ 20 ตัวอย่าง และใช้ตัวอย่างที่มีขนาดความกว้างของ
กระดอง 3-6 เซนติเมตร
2. จากเนื้อเยื่อเฮปาโตแพนแครส (hepatopancreas) ศึกษาเอนไซม์
อัลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase, ADH)
อัลดีไฮด์ ออกซิเดส (aldehyde oxidase, ALDOX)
กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (glucose-6-phosphate
dehydrogenase, G-6-PD)
ไฮดรอกซีบิวทีเรต ดีไฮโดรจีเนส (hydroxybutyrate
dehydrogenase, HBDH)
มาลิกเอนไซม์ (malice enzyme, ME)
ฟอสโฟกลูโคมิวเตส (phosphoglucomutase, PGM)
6-ฟอสเฟตกลูโคเนต ดีไฮโดรจีเนส (6-phosphogluconate
dehydrogenase, 6-PGDH)

เปอออกซิเดส (PEROXIDASE, POD)

ออกทานอล ดีไฮโดรจีเนส (octanol dehydrogenase, ODH)

ซูเปอร์ออกไซด์ ไดมิวเตส (superoxide dimutase, SOD)

3. ศึกษาโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ความเหมือน (genetic identity) และระยะห่างระหว่างพันธุ์ (genetic distance) โดยใช้แบบแผนแถบโปรตีนของเอนไซม์ในข้อ 2 เป็นดัชนี

4. ศึกษาคันทัวในห้องปฏิบัติการ ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

ความสำคัญของการศึกษาคันทัว

1. ทำให้ทราบระดับความแปรผันทางพันธุกรรมของเอนไซม์ของปูชนิด *Somanniathelphusa dugasti* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 จังหวัด คือ ขอนแก่น อุดรธานี สกลนครและชัยภูมิ
2. ข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานสำหรับการศึกษาคันทัวด้านชีววิทยาโดยเฉพาะอนุกรมวิธานของปูน้ำจืดในระดับโมเลกุล
3. เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาวิวัฒนาการและ/หรือการแพร่กระจายของปูน้ำจืดในประเทศไทย

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ปูน้ำจืด หมายถึงปูที่อาศัยอยู่ในหรือใกล้กับแหล่งน้ำที่เป็นน้ำจืด
2. ปูนา หมายถึงปูน้ำจืดที่อาศัยอยู่ในบริเวณนาข้าวหรือแหล่งน้ำจืดใกล้เคียง
3. เฮปาโตแพนแครียส (hepatopancreas) หมายถึงส่วนที่เป็นสีเหลืองที่อยู่ในกระดองและอกปูหรือที่เรียกกันโดยทั่วไปว่าม้ามปู
4. อิเล็กโตรโฟเรซิส (electrophoresis) เป็นการเคลื่อนที่ของอออนในสนามไฟฟ้า เนื่องจากความแตกต่างในปริมาณประจุสุทธิ และความแตกต่างในอัตราส่วนของประจุต่อมวล ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญที่ทำให้อออนต่าง ๆ เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าด้วยความเร็วไม่เท่ากัน
5. อิเล็กโตรโฟเรซิสแบบแบง (strach gel electrophoresis) เป็นอิเล็กโตรโฟเรซิสชนิดหนึ่งที่ใช้น้ำเป็นตัวกลางค้ำจุ (supportor) ให้อออนเคลื่อนที่

6. หวี (comb) เป็นพลาสติกที่มีซี่ฟันคล้ายหวี เพื่อใช้เสียบเจลให้เบ็ดรูกที่จะใส่สารตัวอย่างลงไปได้

7. ถาดใส่เจล (plate) เป็นแผ่นพลาสติกสีเหลืองมีฟัน ที่มันพลาสติกเส้นมาติดขอบเป็นชั้น ๆ เพื่อใส่เจลในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

8. เฮเทอโรไซโกต (heterozygote) หมายถึงยีนต่างชนิดกันมาจับคู่กัน

9. โฮโมไซโกต (homozygote) หมายถึงยีนชนิดเดียวกันมาจับคู่กัน

10. โลคัส (locus) หมายถึงตำแหน่งของยีนที่ควบคุมเอนไซม์

11. โพลีมอร์ฟิซึม (polymorphism) หมายถึงอัตราส่วนของโลคัสที่มียีนเป็นเฮเทอโรไซโกตต่อโลคัสทั้งหมด

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

อุปกรณ์

1. ข้อง
2. ถังพลาสติก

2. การเตรียมตัวอย่าง

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาดใหญ่
2. กระตักน้ำแข็ง
3. กรรไกร
4. คีมคีบ
5. หลอดหยด
6. เครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำ (refrigerated centrifuge)
7. เครื่องชั่ง

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85

3. การทำอิเล็กโตรโฟเรซิสแบบแบ่ง

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือในการทำอิเล็กโตรโฟเรซิสแบบแบ่ง
2. ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)
3. แผ่นความร้อนพร้อมเครื่องกวนสาร (hot plate stirrer)
4. ขวดรูปชมพู่ที่มีแขน (suction flask)
5. เครื่องมือสำหรับตัดแผ่นเจลให้เป็นชิ้นๆ
6. ที่หยดสารละลายขนาดเล็ก (micropipette)
7. กล่องสำหรับใส่น้ำยาส้อมลิออนโซม (staining box)
8. อุปกรณ์ถ่ายภาพเจล

สารเคมี

1. ทริสซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate buffer) pH 6.90, pH 7.10, pH 8.10 และ pH 8.49 (ภาคผนวก ข.)
2. ลิเทียมไฮดรอกไซด์ บัฟเฟอร์ (lithiumhydroxide buffer) pH 8.25 (ภาคผนวก ข.)
3. สารละลายบรอมฟีนอลบลู (bromphenolblue solution)
4. น้ำยาย้อมสีเอนไซม์ (ภาคผนวก ข.)

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเป็นปูน้ำจืดชนิด *Somanniathelphusa dugasti* จาก ต.หนองโก อ.กระนวน จ.ขอนแก่น, ต.จำปี อ.ศรีธาตุ จ.อุดรธานี, ต.แก้งคร้อ อ.แก้งคร้อ จ.ชัยภูมิ และอ.เมือง จ.สกลนคร ตัวอย่างที่ใช้จะเก็บในช่วงเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2533 ใส่ช่องแล้วนำมาเลี้ยงในอ่างพลาสติกที่ห้องปฏิบัติการทดลองภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร โดยให้อาหารเป็นผักบุ้ง ผักกาดขาว หรือ อาหารสำหรับเลี้ยงกุ้ง

2. การเตรียมตัวอย่าง

- 2.1 นำตัวอย่าง แช่ในช่องเย็นของตู้เย็น ประมาณ 5 นาที แล้วแกะกระดองปู
- 2.2 นำส่วนเฮปาโตแพนแครี (hepatopancreas) ของปู (ภาพประกอบ 16) ใส่ในหลอดทดลอง หยดน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ลงไปเล็กน้อย และตัดชิ้นเนื้อให้ละเอียด
- 2.3 นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที
- 2.4 คัดส่วนใส (supernatant) ใส่หลอดทดลอง microcentrifuge และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะใช้

3. การเตรียมเจล

- 3.1 เตรียมถาดที่จะใส่เจลขนาด 15x17 เซนติเมตร สูง 3 มิลลิเมตร 0.25 เซนติเมตร

3.2 เตรียมสารละลายแป้ง (potato starch : Sigma) โดยใช้แป้ง 20 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์สำหรับเตรียมเจลจำนวน 180 มิลลิลิตร (ตาราง 1) ทำให้แป้งไล่เข้ากันด้วยเครื่องให้ความร้อนที่มีแม่เหล็กสำหรับกวนสาร (hot plate stirrer) ที่อุณหภูมิ 60-80 °C ประมาณ 20 นาที จากนั้นนำมาดูดอากาศออกให้หมด (degas) ด้วยปั๊มสุญญากาศเป็นเวลา 5 นาที

3.3 เทเจลในถาดที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำเข้าตู้เย็นประมาณ 30 นาที เพื่อเป็นการปรับอุณหภูมิของเจลให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของตัวอย่าง

ตาราง 1 ชนิดของบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการเตรียมเจลและเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ใช้กับเอนไซม์แต่ละชนิด

เจลบัฟเฟอร์	อิเล็กโทรดบัฟเฟอร์	ชนิดของเอนไซม์
ลิเทียมไฮดรอกไซด์ pH 8.45	ลิเทียมไฮดรอกไซด์ pH 8.25	ADH
		ALDOX
		ME
		ODH
		PGM
		SOD
ทริสซีเทรต pH 8.45	ทริสซีเทรต pH 8.10	HBDH
ทริสซีเทรต pH 7.10	ทริสซีเทรต pH 6.90	G-6-PD
		6-PGDH
ทริสโบเรต pH 8.60	ทริสโบเรต pH 8.60	POD

หมายเหตุ วิธีการเตรียมบัฟเฟอร์อยู่ในภาคผนวก ข

4. การทำอิเล็กโทรโฟเรซิส

ในการทำอิเล็กโทรโฟเรซิสจะทำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °C เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเสียสภาพ

4.1 ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นตัวนำไฟฟ้า ลงในกล่องที่มีหลอดหลอดเป็นขั้วไฟฟ้ากล่องละ 30 มิลลิเมตร (ตาราง 1)

4.2 ต่อสายไฟจากกล่องขั้วไฟฟ้า เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรง (D.C power supply)

4.3 เอาตัวอย่างออกจากช่องเย็น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ตัวอย่างละลาย

4.4 เอาเจลออกจากตู้เย็น ใช้มีดกรีดเจลให้เป็นช่วง เพื่อกำหนดให้เป็นระยะเริ่มต้น โดยให้ระยะเริ่มต้นนี้ ห่างจากขอบด้านหนึ่งประมาณ 5 เซนติเมตร

4.5 ใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆชุบตัวอย่างเสียบในเจลที่ใช้มีดกรีดไว้โดยใช้กระดาษกรองอีก 1 ชิ้นขุบบรรณพินอลบลูวางไว้ด้วยเพื่อเป็นเครื่องหมายให้รู้ว่าตัวอย่างเคลื่อนที่ไปถึงไหน

4.6 นำกรดเจลไปวางบนขอบกล่องขั้วไฟฟ้า ให้ผ้าขาวบางชุบสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นตัวนำไฟฟ้าวางหาคระหว่างเจลกับสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อเป็นสะพานไฟฟ้า

4.7 เปิดกระแสไฟฟ้าประมาณ 15 แอมแปร์ ให้กระแสไฟฟ้าเคลื่อนที่นำตัวอย่างจนสีของบรอนพินอลบลูห่างจากจุดตั้งต้นเป็นระยะประมาณ 10 เซนติเมตร

4.8 ปิดกระแสไฟฟ้า นำกรดเจลมาตัดแผ่นเจลเป็นชั้นๆ 3 ชั้น แล้วนำแผ่นเจลไปย้อมสีเอนไซม์ตามชนิดที่ต้องการจะศึกษา

5. การย้อมสีเอนไซม์

เมื่อตัดเจลเป็นชั้น ๆ แล้วนำแผ่นเจลไปย้อมสีเอนไซม์ (ภาคผนวก ข.)

เอนไซม์ที่จะทดสอบมี 10 ชนิด คือ ADH ,ALDOX, G-6-PD, HBDH, ME, ODH, PGM, POD, 6-PGDH และ SOD

เมื่อย้อมสีแล้ว อ่านและบันทึกแบบแผนของเอนไซม์ เก็บเจลไว้ในตู้เย็นสำหรับใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับภายหลังในการตีค่าเป็น

6. การแปรผลจากแถบโปรตีน

ศึกษาค่าของ

6.1 คำนวณหาความถี่ของอัลลีล (allele frequency) จากสูตร

$$\text{ความถี่ของอัลลีล} = \frac{\text{จำนวนอินทิเกรตในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง}}{\text{จำนวนอินทิเกรตทั้งหมดที่พบในกลุ่มตัวอย่าง}}$$

6.2 คำนวณค่าอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิกโลคัส (polymorphic locus ratio)

จากสูตร

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

6.3 คำนวณค่าเฮเทอโรไซโกตที่ได้จากการสังเกต (observed heterozygosity) จากสูตร

$$\text{ค่าเฮเทอโรไซโกตที่ได้จากการสังเกต} = \frac{\text{จำนวนเฮเทอโรไซโกต}}{\text{จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา}}$$

6.4 คำนวณค่าเฮเทอโรไซโกตที่ได้จากความคาดหวัง (expected heterozygosity) จากหลักของ ฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Principle)

ถ้า

A = ความถี่ของยีน A

B = ความถี่ของยีน A₁

$$\text{เฮเทอโรไซโกตจากความคาดหวัง} = 1 - (A^2 + B^2)$$

6.5 คำนวณค่าความเหมือนของประชากร (genetic identity, I) จากวิธีของเนอี (Nei's Method)

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

เมื่อ

I = ความเหมือนของประชากร

$J_x = \sum X_i^2$ ในประชากร X

$J_y = \sum Y_i^2$ ในประชากร Y

$J_{xy} = \sum X_i Y_i$

X_i = ความถี่ของยีนที่โลคัส i ในประชากร X

Y_i = ความถี่ของยีนที่โลคัส i ในประชากร Y

J_x = ค่าเฉลี่ยของ J_x ต่อ 1 โลคัส

J_y = ค่าเฉลี่ยของ J_y ต่อ 1 โลคัส

J_{xy} = ค่าเฉลี่ยของ J_{xy}

6.6 คำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance, D) จากสูตร

$$D = -\log_e I$$

6.7 คำนวณค่า G_{ST} (Nei, 1975) จากสูตร

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

H_T = อัตราส่วนของเฮเทอโรไซโกตของประชากรทั้ง 4 กลุ่มรวมกัน

H_S = ค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนเฮเทอโรไซโกตของประชากร 4 กลุ่ม

บทที่ 3
ผลการวิจัย

จากการตรวจสอบโครงสร้างโปรตีนของเอนไซม์ 10 ชนิดจากส่วนเฮปาโตพลาสม่าเซลล์
ของปูนา *Somoniathelphusa dugesi* จากจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนครและชัยภูมิ
จำนวน 20 ตัวอย่าง ปรากฏผลดังนี้

1. ลักษณะแถบโปรตีนที่ได้ (ภาคผนวก ก.)

ตาราง 2 แสดงลักษณะแถบโปรตีนที่ได้

เอนไซม์	ประชากร				หมายเหตุ
	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ	
ADH	มีแถบโปรตีนแถบเดียว โครงสร้างเป็นแบบไดเมอร์ (monomeric)	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่นแต่ตรวจสอบพบ ADH เพียง 19 ตัวอย่าง	เหมือนจังหวัดขอนแก่นแต่ตรวจสอบพบ ADH เพียง 18 ตัวอย่าง	
ALDOX	มีแถบโปรตีน 2 ไลค์ส ให้เป็น ALDOX-1 และ ALDOX-2 และทั้งคู่มีโครงสร้างเป็นแบบโมโนเมอร์ (monomeric)	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	มี sub-band อยู่ข้างล่าง ALDOX-2
G-6-PD	มีแถบโปรตีนแถบเดียว โครงสร้างเป็นแบบโมโนเมอร์	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	
HBDH	ตรวจสอบพบ HBDH เพียง 19 ตัวอย่าง	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	

ตาราง 2 (ต่อ)

เอนไซม์	ประชากร				หมายเหตุ
	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ	
ME	มีแถบโปรตีน แถบเดียวโครงสร้างเป็นแบบโมโนเมอร์	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ HBODH เพียง 19 ตัวอย่าง	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ HBODH เพียง 16 ตัวอย่าง	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ HBODH ทั้ง 20 ตัวอย่าง	
	มีแถบโปรตีนแถบเดียว โครงสร้างเป็นแบบโมโนเมอร์	เหมือนจังหวัดขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ ME เพียง 17 ตัวอย่าง	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ ME เพียง 19 ตัวอย่าง	
	มีแถบโปรตีน 2 ตำแหน่ง แต่สามารถอ่านผลได้ตำแหน่งเดียวคือ POD-1 ซึ่งมีโครงสร้างแบบโมโนเมอร์	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	เหมือนจังหวัดขอนแก่น	
	ตรวจสอบพบ PGM ใน 19 ตัวอย่าง	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	
PGM	มีแถบโปรตีน แถบเดียวโครงสร้างเป็นแบบโมโนเมอร์	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ PGM เพียง 18 ตัวอย่าง	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ PGM เพียง 17 ตัวอย่าง	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ PGM ทั้ง 20 ตัวอย่าง	
	ตรวจสอบพบ 6-PGDH ใน 18 ตัวอย่าง	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	
	มีแถบโปรตีน แถบเดียวโครงสร้างเป็น	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ	ขอนแก่น แต่ตรวจสอบพบ	
	ตรวจสอบพบ 6-PGDH ใน 18 ตัวอย่าง	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	โครงสร้างเหมือนจังหวัดขอนแก่น	

ตาราง 2 (ต่อ)

เอนไซม์	ประชากร				หมายเหตุ
	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ	
ODH	แบบโมโนเมอร์	6-PGDH ทั้ง 20 ตัวอย่าง	6-PGDH เพียง 18 ตัวอย่าง	6-PGDH ทั้ง 20 ตัวอย่าง	
	มีแถบโปรตีน 2 ไลค์ส ให้เป็น ODH-1 และ ODH-2 , ODH-1 มีโครงสร้าง แบบไดเมอร์ ส่วน ODH-2 มีแถบ โปรตีนแถบเดี่ยว มี โครงสร้างเป็นแบบ โมโนเมอร์	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	
SOD	มีแถบโปรตีน 2 ตำแหน่ง ให้เป็น SOD-1 และ SOD-2 ทั้ง SOD-1 และ SOD-2 มีโครงสร้างเป็นแบบ ไดเมอร์	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	เหมือนจังหวัด ขอนแก่น	

หมายเหตุ 1 เอนไซม์ HBDH เฉพาะขอนแก่นพบการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนมี 2 แบบ
 2 เอนไซม์ทุกชนิดจะเคลื่อนที่ไปทางขั้วบวก ยกเว้น POD ที่เคลื่อนที่ไปทั้ง
 ทางขั้วบวกและขั้วลบ

2. จากแถบโปรตีนที่ได้นำมาประมวลผลและคำนวณหาค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

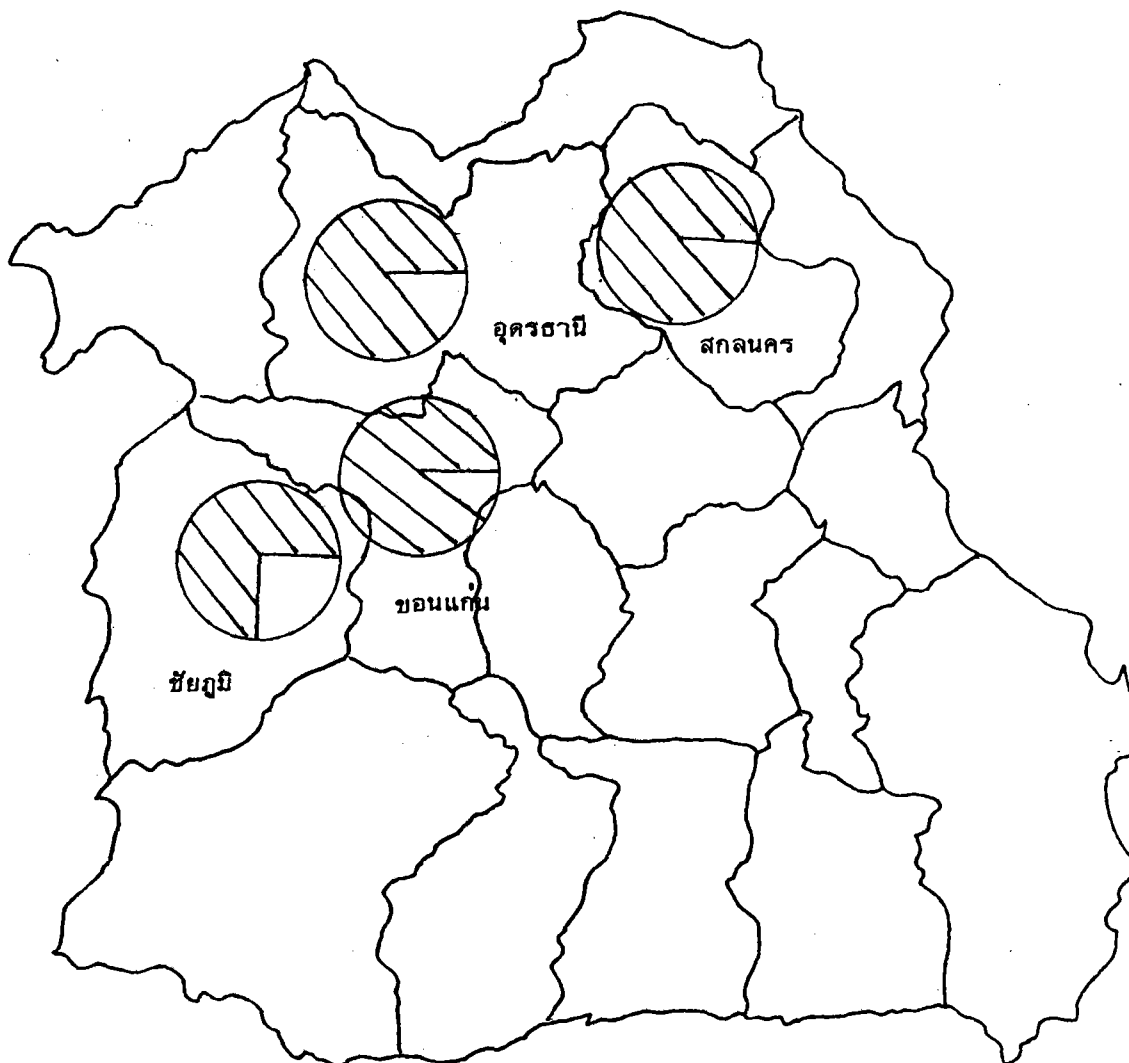
2.1 ความถี่ของอัลลีล (allele frequency)

ตาราง 3 ความถี่ของอัลลีล

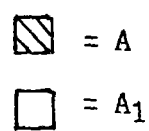
ตำแหน่ง	ประชากร			
	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
ADH				
(N)	20	20	19	18
A	0.875	0.825	0.800	0.750
A _i	0.125	0.175	0.200	0.250
ALDOX-1				
(N)	20	20	20	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
ALDOX-2				
(N)	20	20	20	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
G-6-PD				
(N)	20	20	20	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
HBDH				
(N)	19	19	16	20
A	0.947	1.000	1.000	1.000
A _i	0.053	0.000	0.000	0.000
ME				
(N)	20	17	20	19
A	1.000	1.000	1.000	1.000

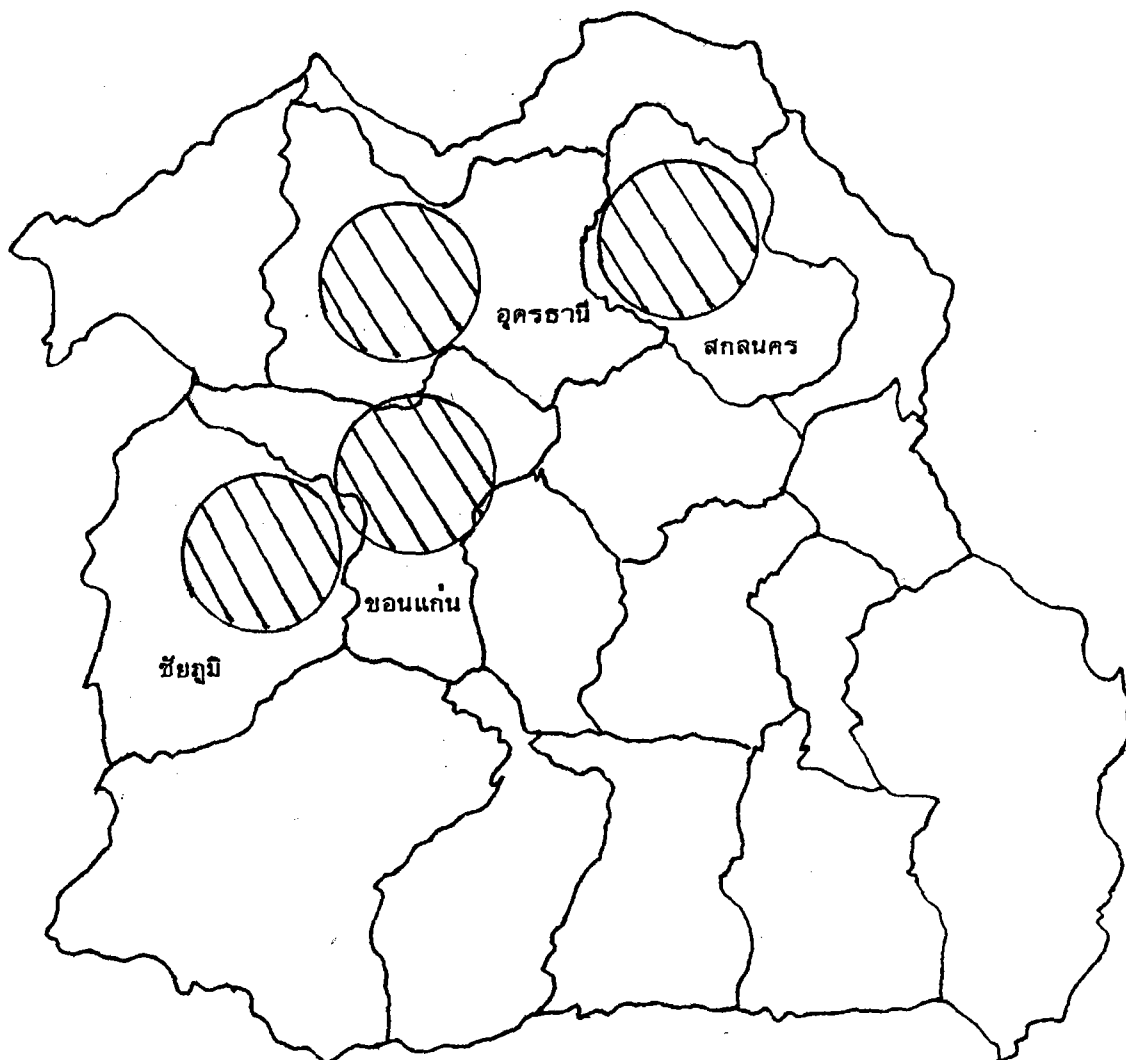
ตาราง 3 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ประชากร			
	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
ODH-1				
(N)	20	20	20	20
A	0.475	0.525	0.475	0.475
A ₁	0.525	0.475	0.525	0.525
ODH-2				
(N)	20	20	20	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
POD				
(N)	20	20	20	20
A	0.175	0.475	0.175	0.325
A ₁	0.325	0.525	0.825	0.675
PGM				
(N)	19	18	17	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
6-PGD				
(N)	18	20	18	20
A	1.000	1.000	1.000	1.000
SOD-1				
(N)	20	20	20	20
A	0.550	0.675	0.525	0.425
A ₁	0.450	0.325	0.475	0.475
SOD-2				
(N)	20	20	20	20
A	0.500	0.550	0.600	0.425
A ₁	0.500	0.450	0.400	0.575



ภาพประกอบ 1 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนาไซม์ ADH

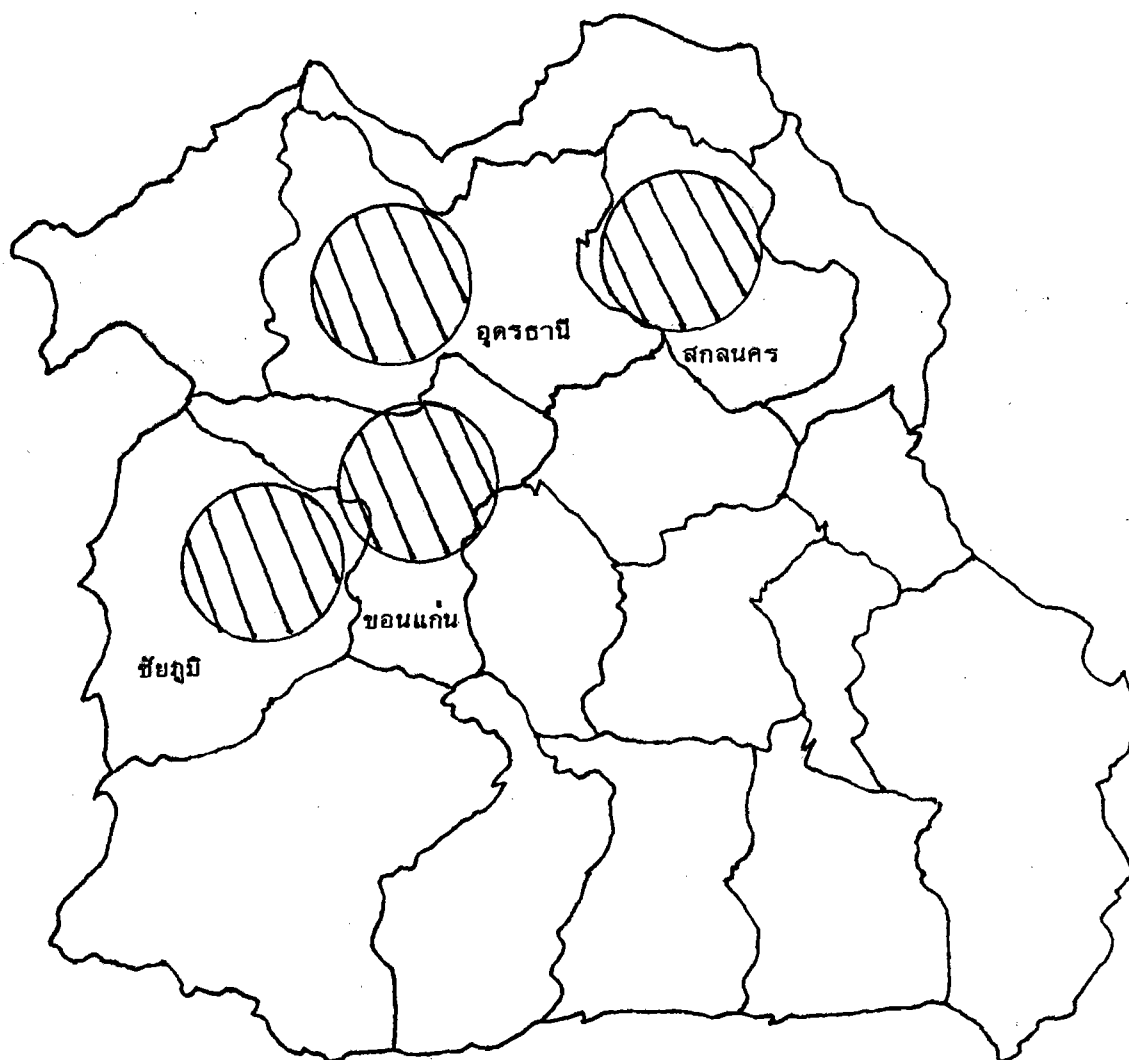




ภาพประกอบ 2 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอ็นไซม์ ALDOX-1

▨ = A

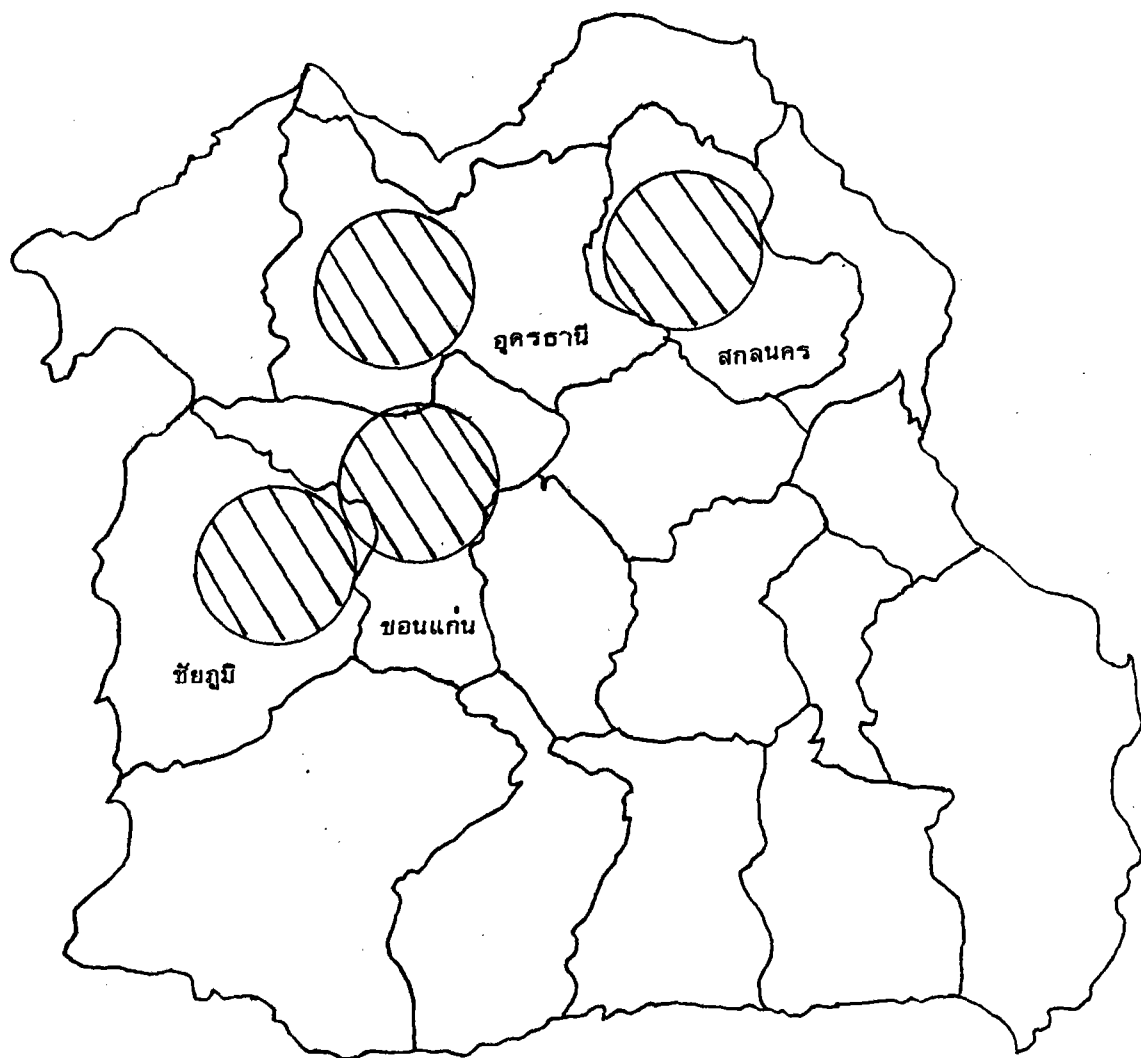
□ = A₁



ภาพประกอบ 3 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนไซม์ ALDOX-2

▨ = A

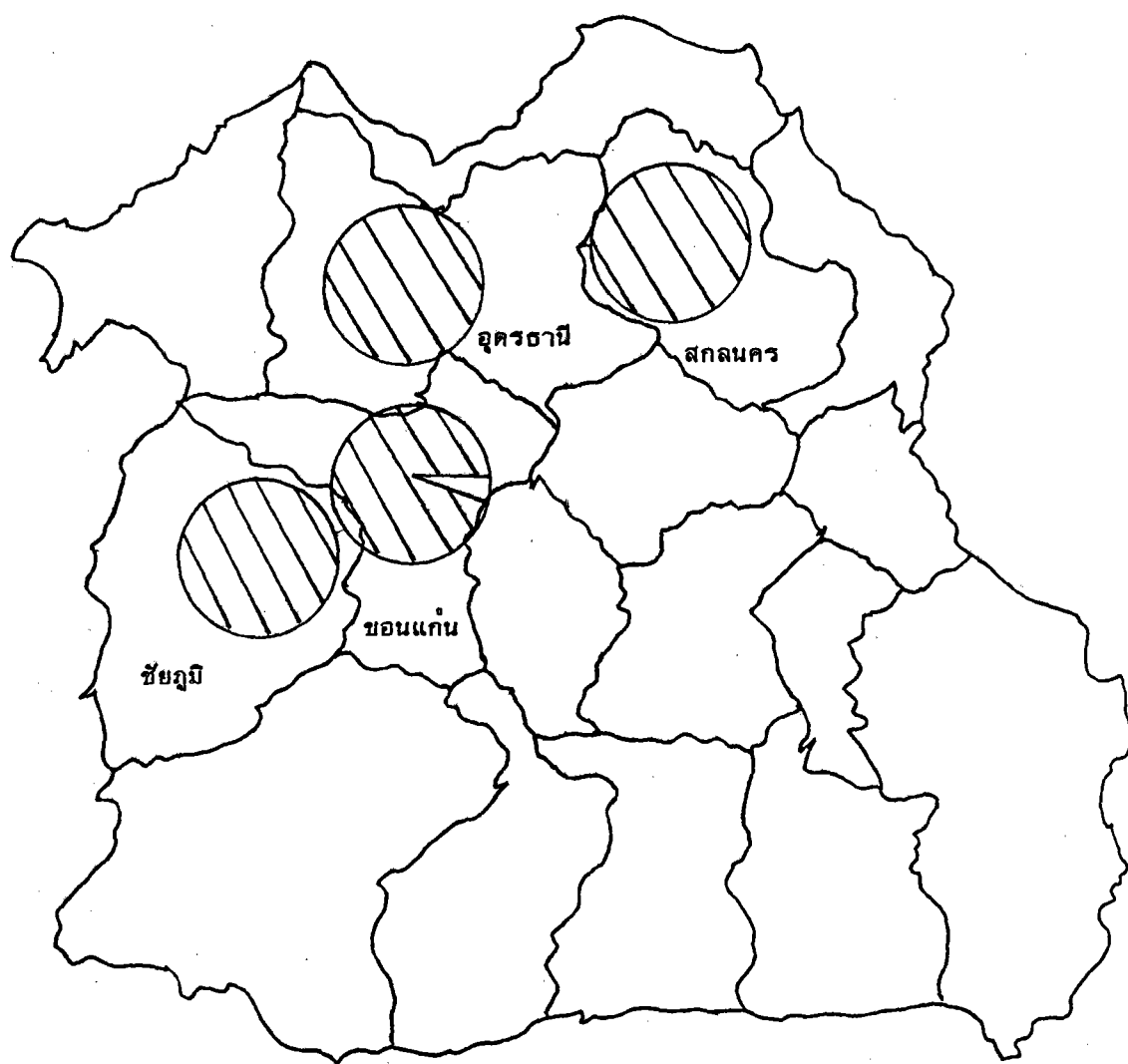
□ = A₁



ภาพประกอบ 4 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนไซม์ G-6-PD

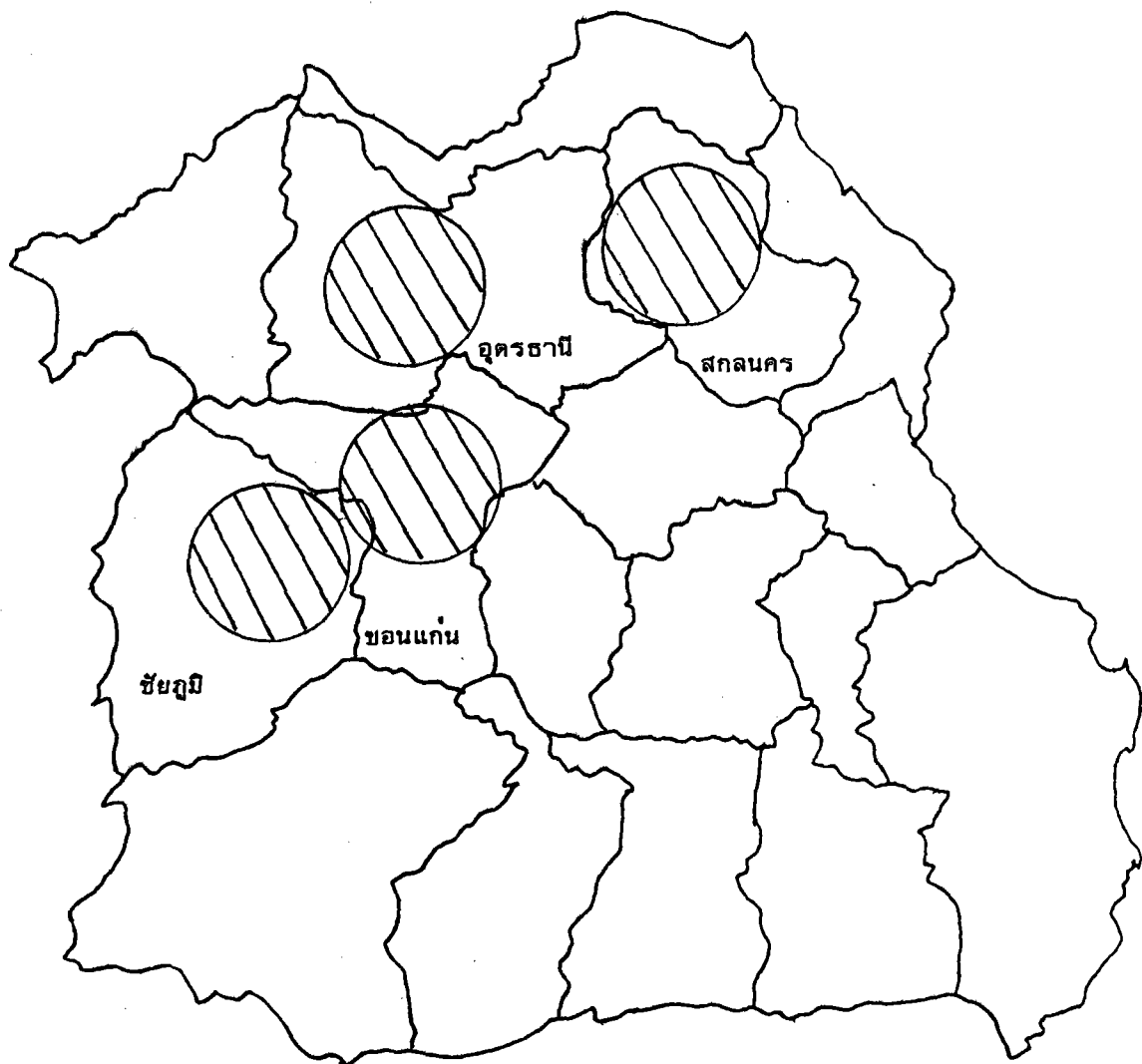
▨ = A

□ = A₁



ภาพประกอบ 5 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ HBDH

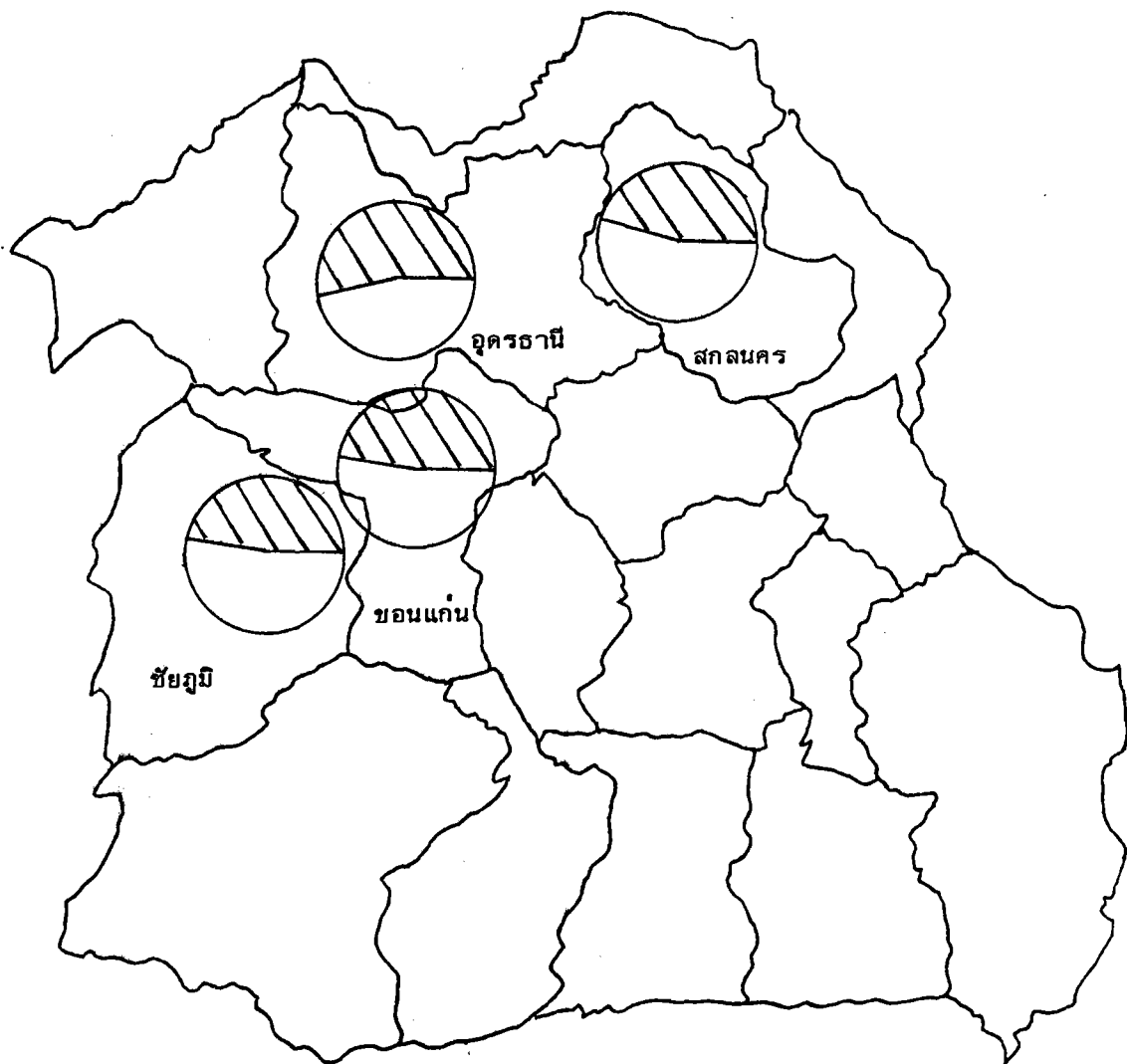
 = A
 = A₁



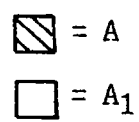
ภาพประกอบ 6 แสดงความถี่ของผลลัพธ์ของเอนไซม์ ME

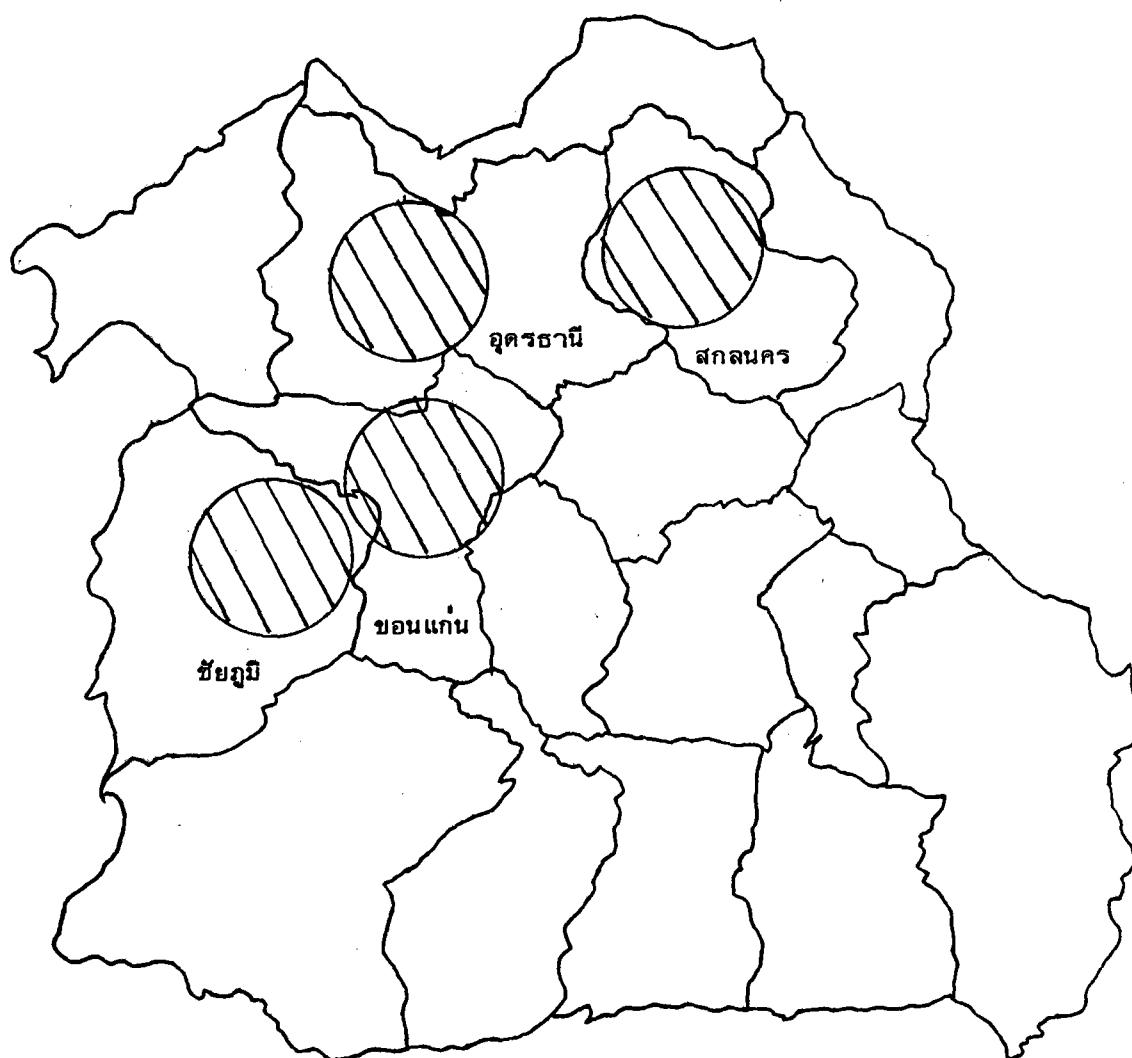
▨ = A

□ = A₁



ภาพประกอบ 7 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนไซม์ ODH-1

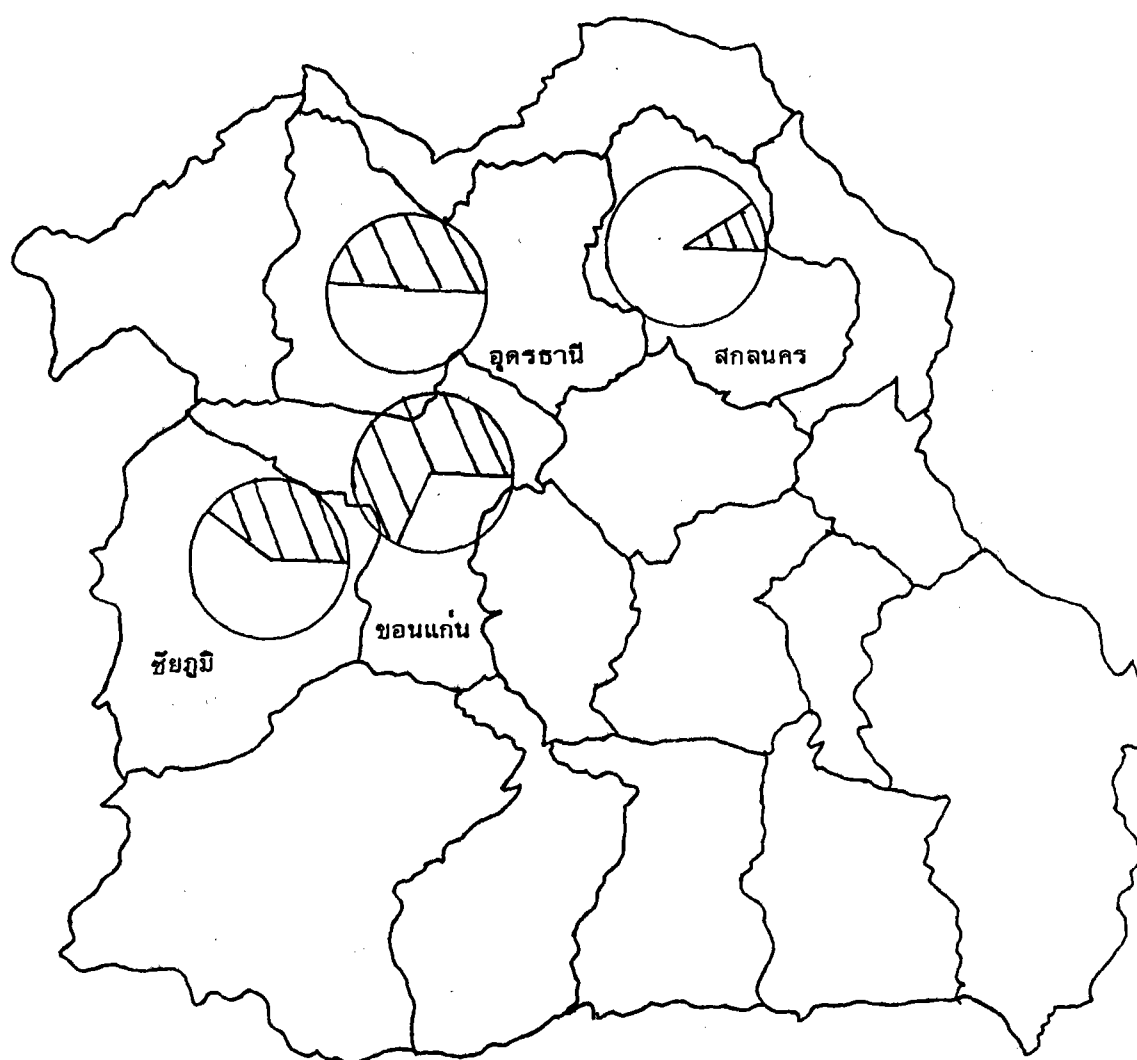




ภาพประกอบ 8 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ ODH-2

▨ = A

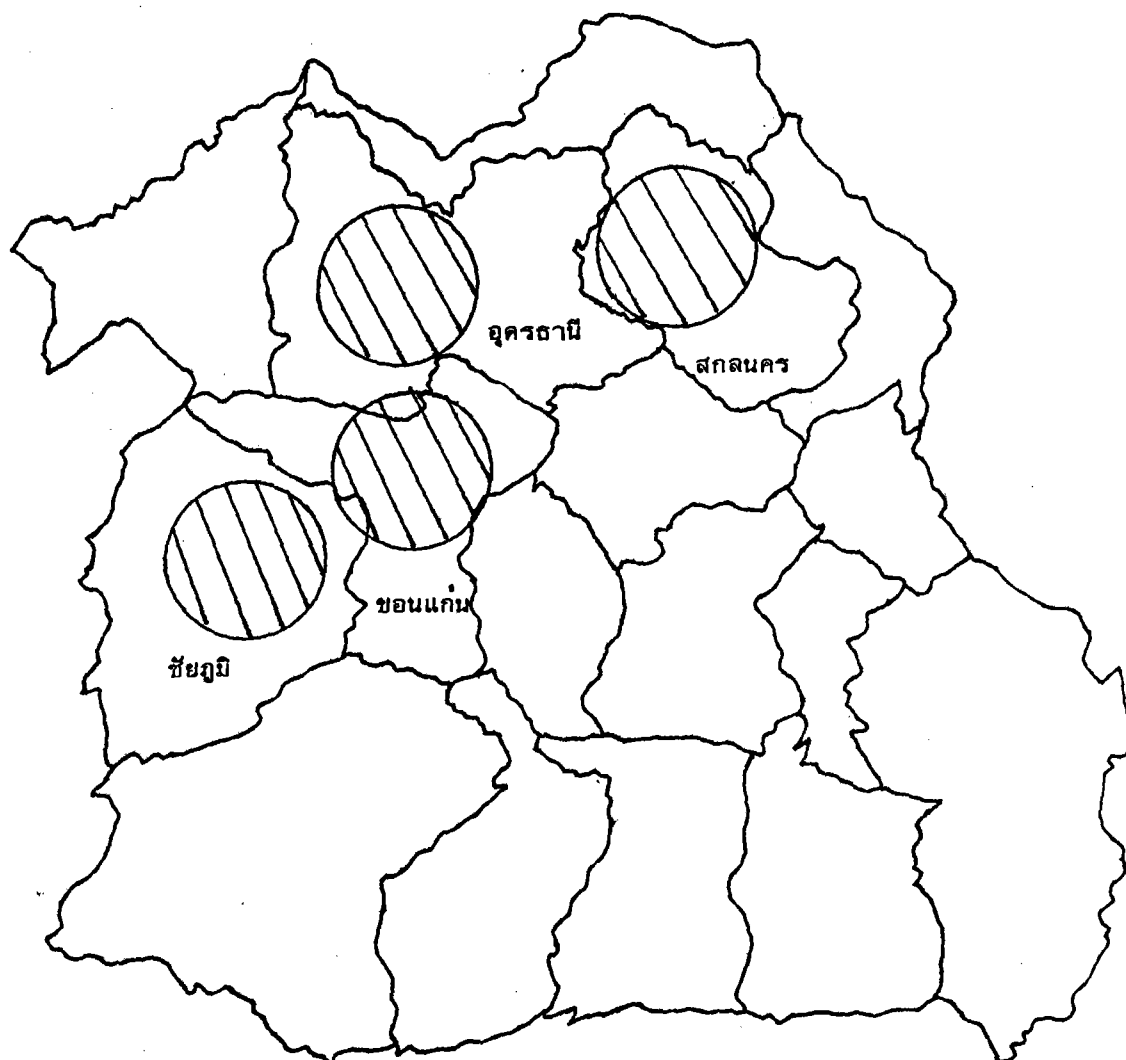
□ = A₁



ภาพประกอบ 9 แสดงความถี่ของยีสของแอนาโรบ POD

▨ = A

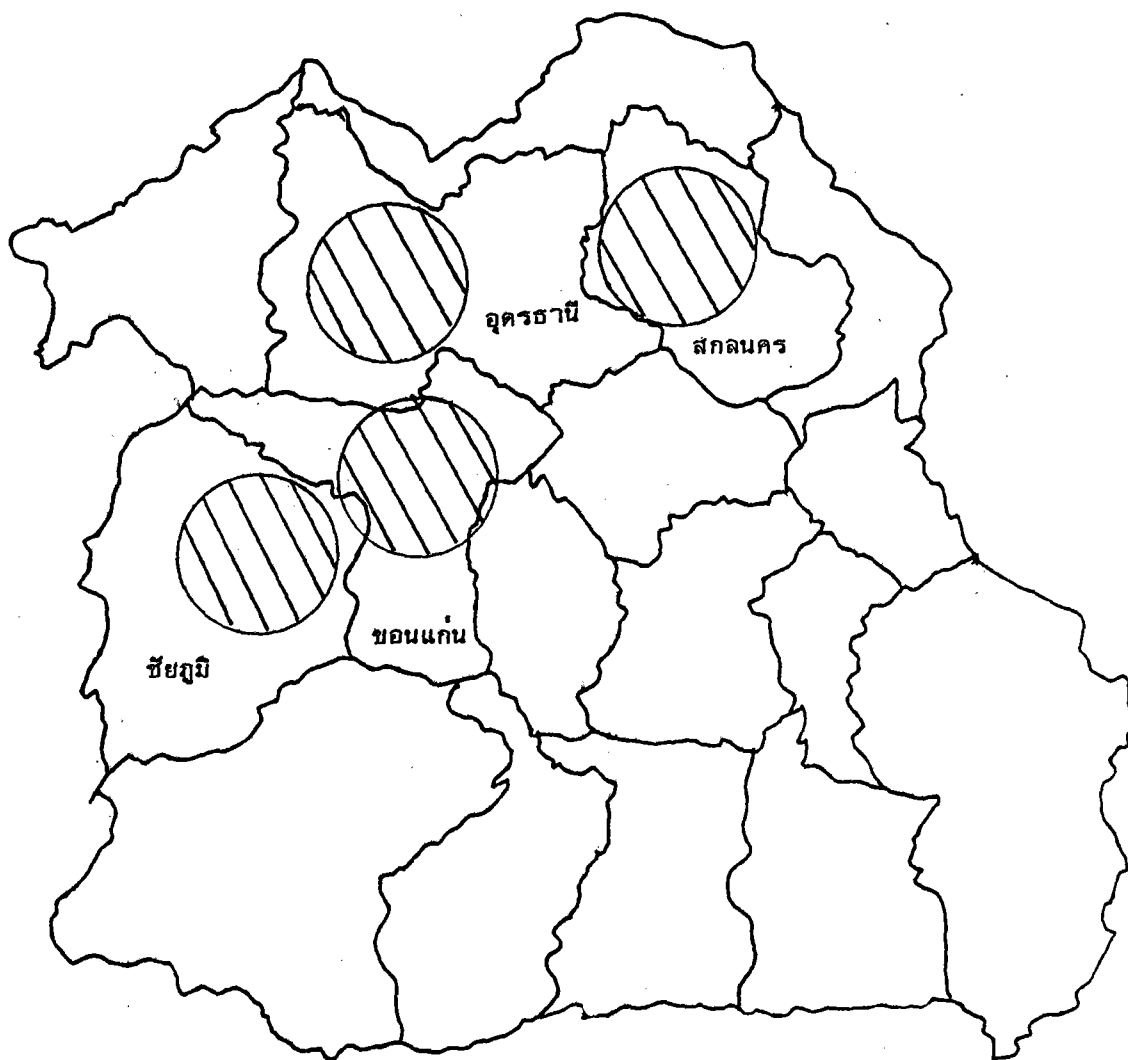
□ = A₁



ภาพประกอบ 10 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ PGM

 = A

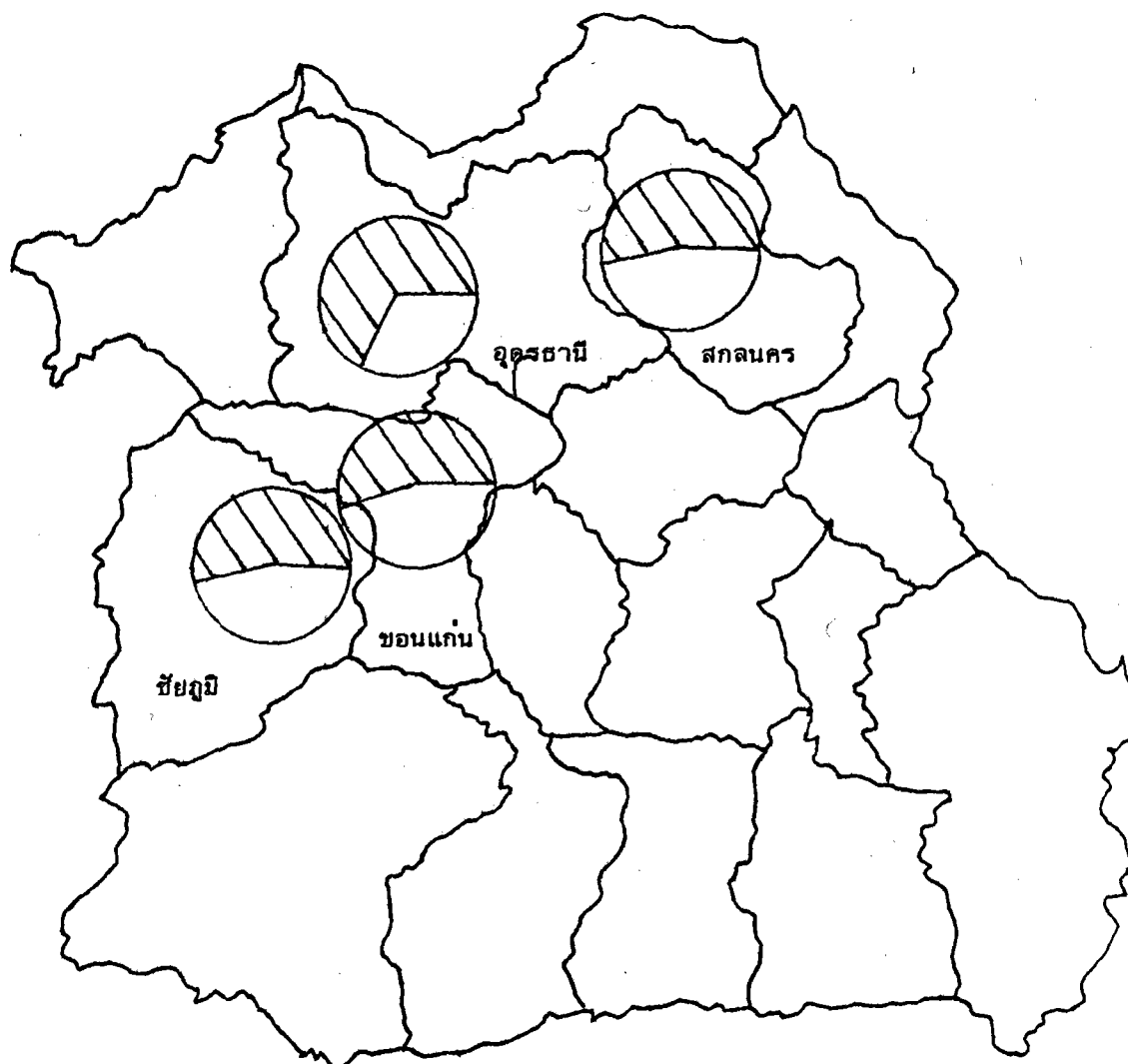
 = A₁



ภาพประกอบ 11 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนไซม์ 6-PGDH

▨ = A

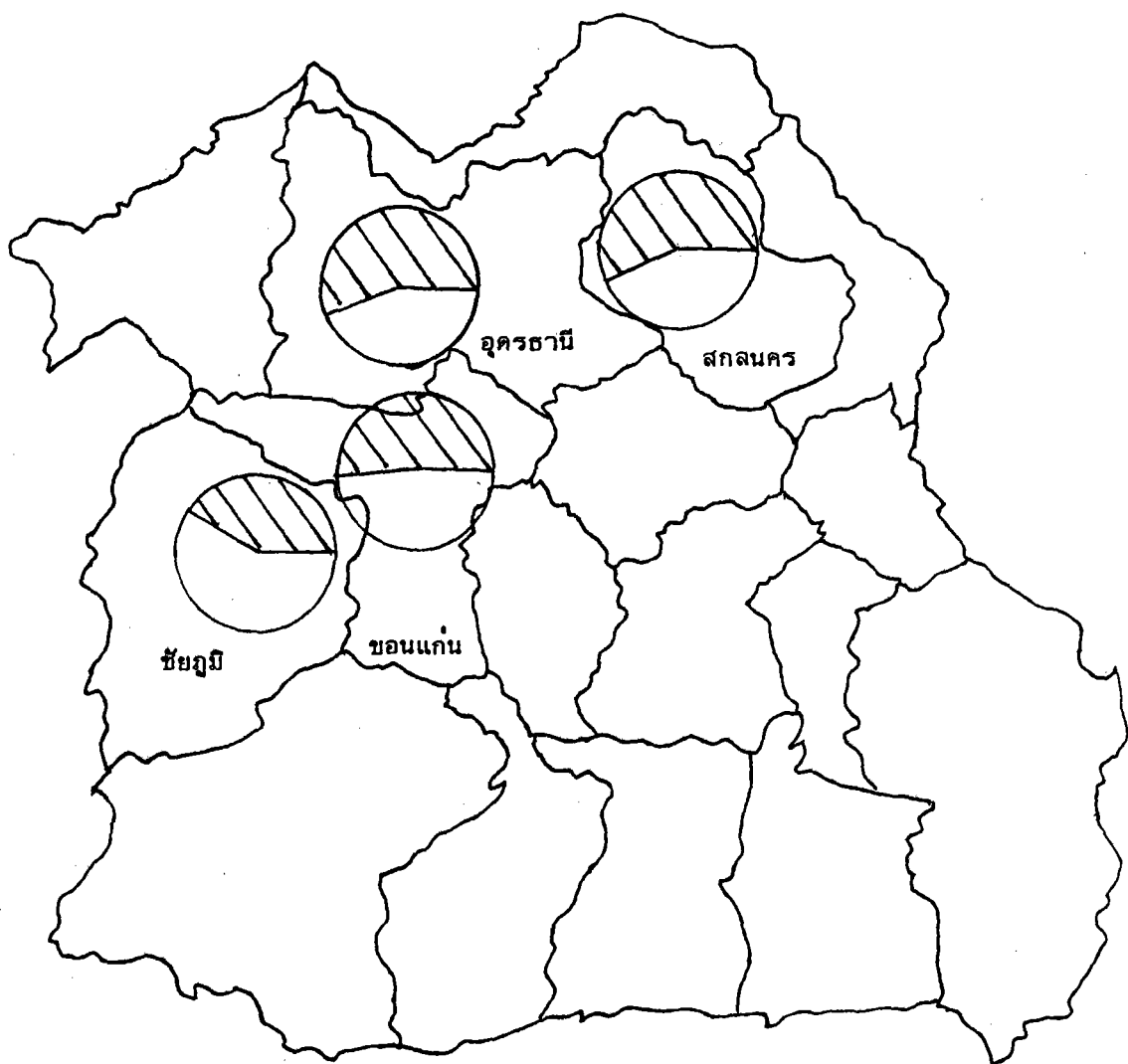
□ = A₁



ภาพประกอบ 12 แสดงความถี่ของอัลลีลของเอนไซม์ SOD-1

▨ = A

□ = A₁



ภาพประกอบ 13 แสดงความถี่ของอัลลีลของ เอนไซม์ SOD-2

▨ = A

□ = A₁

2.4 เฮเทอโรไซโกตที่ได้จากความคาดหวัง (expected heterozygosity)
จากหลักของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg Principle)

$A =$ ความถี่ของยีน A

$B =$ ความถี่ของยีน A₂

เฮเทอโรไซโกตจากความคาดหวัง $= 1 - (A^2 + B^2)$

ตาราง 6 เฮเทอโรไซโกตที่ได้จากความคาดหวัง

ตำแหน่งยีน	จำนวนเฮเทอโรไซโกต													เฉลี่ย/ได้
ประชากร	ADH	ALDOX-1	ALDOX-2	G-6-PD	HBDH	ME	ODH-1	ODH-2	POD	6-PGDH	PGM	SOD-1	SOD-2	
ขอนแก่น	0.218	0	0	0	0.100	0	0.498	0	0.438	0	0	0.494	0.500	0.173
อุดรธานี	0.288	0	0	0	0	0	0.498	0	0.498	0	0	0.438	0.494	0.170
สกลนคร	0.320	0	0	0	0	0	0.498	0	0.288	0	0	0.249	0.480	0.141
ร้อยเอ็ด	0.374	0	0	0	0	0	0.498	0	0.438	0	0	0.249	0.488	0.157
												เฉลี่ย		0.161

2.5 ความเหมือนของประชากร (genetic identity, I)

ค่า I สามารถหาได้จากวิธีของเนอี (Nei's Method) ได้ผลดังตาราง 7

2.6 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance, D)

$$D = -\log_2 I$$

จาก I สามารถนำมาหาค่า D ได้ดังตาราง

ตาราง 7 I และ D ที่ได้จากการคำนวณ

$\begin{matrix} I \\ D \end{matrix}$	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
ขอนแก่น	-	0.971	0.976	0.987
อุดรธานี	0.029	-	0.988	0.992
สกลนคร	0.024	0.021	-	0.994
ชัยภูมิ	0.013	0.008	0.006	-

2.7 ค่า G_{ST} คำนวณได้เท่ากับ 0.1344 ซึ่งหมายถึง กลุ่มตัวอย่าง 4 กลุ่มนี้ มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มเท่ากับ 13.44 % ส่วนอีก 86.56 % เป็นความหลากหลายภายในกลุ่ม

บทที่ 4

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

ในการศึกษาเอนไซม์ 10 ชนิด พบว่าเอนไซม์ที่ศึกษาควบคุมโดยยีน 13 โลคัส และมีเอนไซม์ 5 ชนิดที่ไม่มี ความแปรผันเลยได้แก่เอนไซม์ ALDOX, G-6-PDH, ME, 6-PGD และ PGM ในจำนวนนี้มีโลคัสที่ไม่มี ความแปรผันเลยได้แก่ ALDOX-1, ALDOX-2, G-6-PD, ME, ODH-2, 6-PGDH และ PGM

นอกจากนี้ จากการศึกษเอนไซม์แต่ละชนิดพบว่าเอนไซม์ที่มีความแปรผันทางพันธุกรรม แตกต่างกันอย่างสุดในระหว่าง 4 จังหวัดที่ศึกษาได้แก่ เอนไซม์ POD ซึ่งมีความถี่ของยีน POD เท่ากับ 0.675, 0.475, 0.175 และ 0.325 ในจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนครและชัยภูมิ ตามลำดับ

ค่าเฮเทอโรไซโกตที่ได้จากการสังเกตมีค่าเฉลี่ยค่อนข้างสูงคือมีค่าเท่ากับ 0.223 แสดงว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมในประชากรที่ศึกษาเกิดขึ้นมากกว่าความแปรผันทางพันธุกรรม ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ๆ หลายชนิดจากการศึกษาสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง 361-371 ชนิด พบว่ามีค่าค่อนข้างต่ำ คือมีค่าเฮเทอโรไซโกตเฉลี่ยเพียง 0.10 (Kijviriya, 1990) และในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของแมงมุมถ้ำชนิด *Nesticus* ก็พบว่ามีค่าเฮเทอโรไซโกตเพียง 0.066 (Cessaroni and others, 1981)

อย่างไรก็ตาม ถ้าสมมติว่าประชากรที่ศึกษา มีการผสมพันธุ์แบบสุ่ม (random mating) มีประชากรขนาดใหญ่ และไม่มีการคัดเลือกพันธุ์ตามธรรมชาติหรือมิวเตชัน หรือ การย้ายถิ่นเข้าออก ประชากรจะเป็นไปตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก แต่จากการศึกษา ค่าอัตรา เฮเทอโรไซโกตที่คาดหวังตามทฤษฎีเท่ากับ 0.161 ซึ่งน้อยกว่าค่าเฮเทอโรไซโกตที่สังเกตได้ การที่ค่าเฮเทอโรไซโกตที่สังเกตได้มากกว่าค่าเฮเทอโรไซโกตตามทฤษฎีฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก อาจจะเนื่องจาก

1. มีการผสมข้ามสายพันธุ์มากกว่าที่จะผสมในสายพันธุ์เดียวกัน
2. ปุ๋ยที่นำมาศึกษามีจำนวนน้อยเกินไป
3. มีการคัดเลือกพันธุ์ตามธรรมชาติโดยคัดเลือกโฮโมไซโกตออกมากกว่าเฮเทอโรไซโกต
4. มีการย้ายถิ่นระหว่างประชากร

ในการศึกษาความเหมือนกันทางพันธุกรรมและระยะห่างทางพันธุกรรมของปูใน 4 จังหวัด พบว่าปูทั้ง 4 จังหวัดมีความแตกต่างกันค่อนข้างน้อยทั้งนี้เนื่องจาก เป็นปูชนิดเดียวกัน หรืออาจจะ เป็นเพราะศึกษาจำนวนเอนไซม์น้อยเกินไป อย่างไรก็ตามมีข้อน่าสังเกตว่าปูในจังหวัดขอนแก่น จะแตกต่างจากปูในจังหวัดอื่นมากที่สุดซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เนื่องจากจังหวัดขอนแก่นเป็นศูนย์กลาง การค้าขายที่สำคัญแห่งหนึ่งจึงอาจได้รับปูจากแหล่งต่างๆ จากระยะไกลๆได้มากที่สุด

ข้อเสนอแนะ

หลักการของการตรวจความแปรผันของเอนไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิสเพื่อหาความ-แปรผันทางพันธุกรรมนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการทดสอบเอนไซม์ให้ได้หลายชนิดและให้มีกลุ่ม ตัวอย่างขนาดใหญ่พอสมควร ยิ่งศึกษาเอนไซม์หลายชนิด และกลุ่มตัวอย่างมากเท่าไร ข้อมูล ที่ได้จะทำให้การวิเคราะห์ผลการทดลอง ถูกต้องยิ่งขึ้น สมควรที่จะมีการทำการวิจัยเพิ่มเติมต่อ ไปอีก โดยศึกษาจำนวนเอนไซม์จำนวนกลุ่มตัวอย่างและสถานที่ ที่มีสภาพภูมิศาสตร์แตกต่างกัน อีกทั้งการศึกษารูปร่างต่างชนิดด้วย เพื่อเป็นข้อมูล สำหรับการศึกษาวิวัฒนาการของปู

עזרא ונחמיה

บรรณานุกรม

ไพบูลย์ นัยเนตร. " น้ำจืดที่เป็นพาหะพยาธิใบไม้ในปอด และการกระจายในประเทศไทย " วิทยาศาสตร์การเกษตร, 3, กรุงเทพ, 219-236; 2521.

อัจฉรา องค์ศิริวิทยา. การศึกษาเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในน้ำตกในเขตจังหวัดสระบุรี และจันทบุรี วิทยานิพนธ์ กศ.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร , 2532. (อัครสำเนา)

Agatsuma, T. and S. Habe "Genetic Variability and Differentiation of Natural in Three Japanese Lung Flukes Paragonimus ohiri, P. loktsunensis and P. sadoensis (Digenea: Troglotrematidae)", Journal of Parasit. 72(3):417-433; 1986.

Allegrucci, G. and others. "Genetic Variability and Divergence between Population and Species of Nesticus cave Spiders", Genetica. 56:81-92; 1981.

Anderson, L.W. "Electrophoretic Differentiation among Local Population of the Long-finned Pilot Whale, Globicephala melaena, at the Faroe Islands", Canadian Journal of Zoology. 66; 1988.

Cesaroni, D. and others. "Genetic Variation and Divergence between Population and Species of Nesticus cave Spiders", Genetica. 56; 1988.

Choudhary, M. and R.S. Singh. "A Comprehensive Study of Genic Variation in Natural Population of Drosophila melanogaster. III. Variation in Genetic Structure and Their Causes Between Drosophila melanogaster and Its Sibling Species Drosophila simalam", 117: 679-710; 1987.

Ferris, S.D. and G.S. Whitt. "Genetic and Molecular Analysis of nonrandom. Dimer Assembly of the Creatine Kinase Isozyme of Fishes", Biochemical Genetics. 16; 1978.

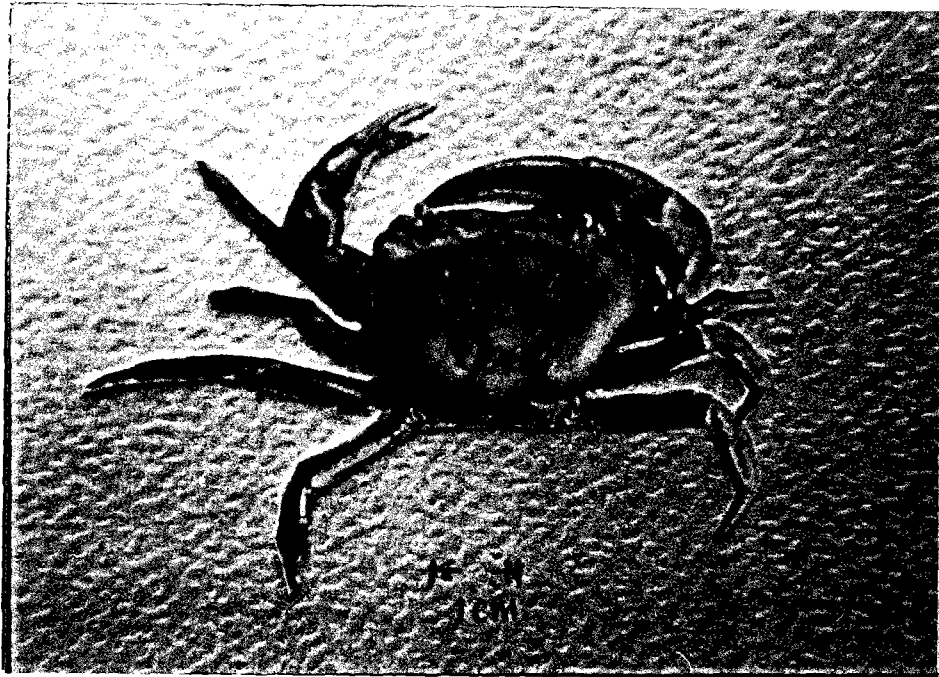
Gugomard, G. and F. Krieg. "Electrophoretic Variation in Six Population of Brown Trout (Salmo trutta L.)", Canadian Journal of Genetics and Cytology. 25; 1983.

- Hoagland, K.E. "Genetic Relationship between One British and Several North American Population of *Crepidula fornicata* Based on Allozyme Studies (Gastropoda: Calyptraeidae)", *Journal of Molluscan*. 51 : 177-182 ; 1985
- ". " Genetic Variation in Seven Wood-Boring teredinid and Pheladid Bivalves with Different Pattern of Life History and Dispersal ", *Journal of Malacologia*. 27 : 323-339 ; 1986.
- Inger, R.F., H.K. Voris and H.H. Voris. " Genetic Variation and Population Ecology of Some Southeast Asian Frogs of the Genera *Bufo* and *Rana* ", *Biochemical*. 12 ; 1974.
- Kijviriya, V. " The Studies of the Asiatic Clams (*Corvecula*, MUHLFELD, 1811) in Thailand : Electrophoretic Estimates of Enzyme Variation and the Use of Anatomy as a Species Indicator. " Ph.D. Thesis, Mahidol University ; 1990.
- Lavery, S. and D. Staples. " Use of Allozyme Electrophoresis for Identifying two Species of Penaeid Prawn Postlarvae ", *Australia Journal of Marine Freshwater Research*. 41 : 259-266 ; 1990
- Mulley, J.C. and B.D.H. Latter. " Genetic Variation and Evolutionary Relationships Within a Group of Thirteen Species of Penaeid Prawns. ", *Evolution*. 5 : 904-916 ; 1980.
- Nei, M. " A new Measure of Genetic Distance ", *Genetic Distance*, ed. J.F. Crown, New York, 1972.
- ". " The Theory and Estimation of Genetic Distance ", *Population Genetics Monographs*. 3 ; 1973.
- ". " Human Evolution at the Molecular Level ", *Population Genetics and Molecular Evolution*. 1985.
- Quiros, C.F. and N. McHale. " Genetic Analysis of Isozyme Variations in Kiploid and Tetraploid Potatoes ", *Genetics*. 111 : 131-145 ; 1985.
- Richardson, B.J. " Allozyme Electrophoresis " Academic Press Inc. 1986.
- Sabath, D. " Geographical Pattern of Genetic Variability in Introduced Australian Population of The Marine Toad, *Bufo marinus* : Sorbital dehydrogenase, Sdh ", *Biochemical Genetics*. 19 : 347-354 ; 1981.
- Shaw, C.R. and R. Prasad. " Starch gel Electrophoresis of Enzymes- A compilation of recipes ", *Biochemical Genetics*. 4 ; 1970.
- Steiner, W.W.M. and D.J. Joslyn. " Electrophoretic Techniques use for The Genetic Study of Mosquitoes ", *Mosquito News*. 39 ; 1979.

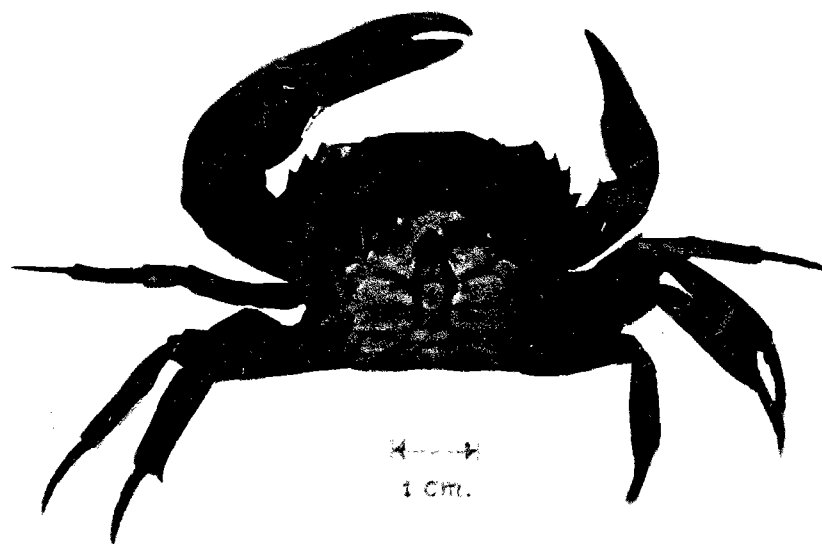
- Stoneking, M., B. May and J.E. Wright. " Genetic Variation, Inheritance, and Quaternary Structure of Malic Enzyme in Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) ", Biochemical Genetics. 17 ; 1979.
- Tan, S.G. and others. " Genetics of Esterase and 6-Phosphogluconate dehydrogenase in the *Anopheles maculatus* complex ", Acta Tropica. 43 : 113-121 ; 1986.
- Ward, R.F. , B.J. McAndrew and G.P. Wallis. " Enzyme Variation in The Brook Lamprey, *Lampetra planeri* (Block), a Member of the Vertebrate Group Agnatha ", Genetica. 53 : 67-74 ; 1981.
- Yong, H.S. and others. " Genetics of Glucosphosphate Isomerase in *Aedes togoi* (Diptera : Culicidae) ", Biochemical Genetics. 18 ; 1986.

ภาคผนวก ก.

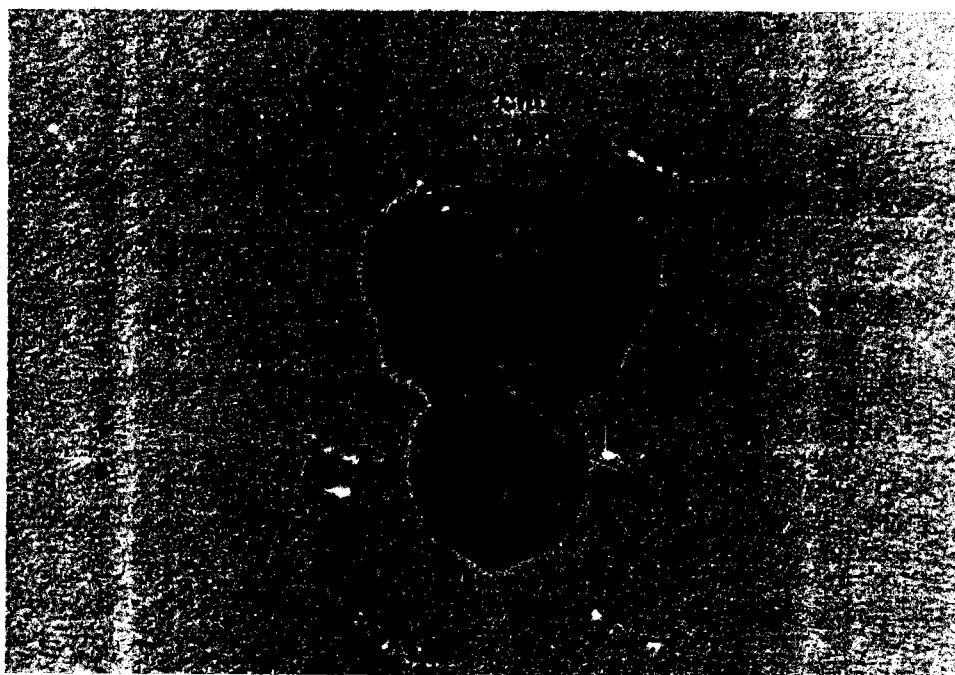
ภาคผนวก ก



ภาพประกอบ 14 แสดงตัวอย่างปูชนิด Somanniathelphusa dugaasti เพศผู้ด้านบน



ภาพประกอบ 15 แสดงตัวอย่างปูชนิด Somanniathelphusa dugaasti เพศผู้ด้านท้อง



ภาพประกอบ 16 แสดงเฮปาโตแพนเคติส (hepatopancreas)

ตาราง 8 จีโนไทป์ของเอนไซม์ ADH

สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA	AA ₁	AA	AA ₁
2	AA	AA	AA	AA
3	AA ₁	AA	AA ₁	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA ₁	-	AA
6	AA	AA ₁	AA	AA ₁
7	AA	AA	AA	AA ₁
8	AA	AA	AA	AA
9	AA ₁	AA	AA	-
10	AA	AA	AA	-
11	AA ₁	AA	AA	AA
12	AA	AA ₁	AA ₁	AA
13	AA	AA	AA	AA
14	AA	AA	AA	AA ₁
15	AA	AA ₁	AA ₁	AA
16	AA	AA	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA ₁
18	AA	AA	AA	AA
19	AA	AA ₁	AA	AA
20	AA ₁	AA	AA ₁	AA
A	35	33	32	30
A ₁	5	7	6	6

ตาราง 10 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ G-6-PD

สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA	AA	AA	AA
2	AA	AA	AA	AA
3	AA	AA	AA	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA	AA	AA
6	AA	AA	AA	AA
7	AA	AA	AA	AA
8	AA	AA	AA	AA
9	AA	AA	AA	AA
10	AA	AA	AA	AA
11	AA	AA	AA	AA
12	AA	AA	AA	AA
13	AA	AA	AA	AA
14	AA	AA	AA	AA
15	AA	AA	AA	AA
16	AA	AA	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA
18	AA	AA	AA	AA
19	AA	AA	AA	AA
20	AA	AA	AA	AA
A	40	40	40	40
A _t	-	-	-	-

ตาราง 11 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ HBDH

สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA ₁	AA	AA	AA
2	AA	AA	AA	AA
3	AA	AA	AA	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA	AA	AA
6	AA	AA	AA	AA
7	AA	AA	AA	AA
8	AA	AA	AA	AA
9	AA	AA	-	AA
10	AA	AA	-	AA
11	AA	AA	AA	AA
12	AA	AA	AA	AA
13	AA	AA	AA	AA
14	AA	AA	AA	AA
15	AA	AA	AA	AA
16	AA	AA	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA
18	AA	AA	AA	AA
19	AA	-	-	AA
20	-	AA	-	AA
A	36	38	32	40
A ₁	2	-	-	-

ตาราง 12 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ ME

สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA	AA	AA	AA
2	AA	AA	AA	AA
3	AA	AA	AA	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA	AA	AA
6	AA	AA	AA	AA
7	AA	AA	AA	AA
8	AA	AA	AA	AA
9	AA	AA	AA	AA
10	AA	AA	AA	AA
11	AA	AA	AA	AA
12	AA	AA	AA	AA
13	AA	-	AA	AA
14	AA	-	AA	AA
15	AA	AA	AA	AA
16	AA	-	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA
18	AA	AA	AA	AA
19	AA	AA	AA	AA
20	AA	AA	AA	AA
A	40	34	40	40
A ₁	-	-	-	-

ตาราง 13 จีโนไทป์ของเอนไซม์ ODH

ตัวอย่าง	สถานที่		ขอนแก่น		อุดรธานี		สกลนคร		ชัยภูมิ	
	ODH-1	ODH-2	ODH-1	ODH-2	ODH-1	ODH-2	ODH-1	ODH-2	ODH-1	ODH-2
1	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
2	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
3	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
4	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
5	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
6	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
7	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
8	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
9	AA ₁	AA	AA	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
10	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA	AA	AA	AA	AA ₁	AA
11	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA	AA	AA	AA	AA ₁	AA
12	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
13	AA	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
14	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
15	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
16	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
17	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
18	AA ₁	AA	AA	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
19	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA
20	AA ₁	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA ₁	AA
A	19	40	21	40	19	40	19	40	19	40
A ₁	21	-	19	-	21	-	21	-	21	-

ตาราง 14 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ PGM

สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA	AA	AA	AA
2	AA	AA	-	AA
3	AA	AA	AA	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA	AA	AA
6	AA	AA	AA	AA
7	-	AA	AA	AA
8	AA	AA	-	AA
9	AA	AA	AA	AA
10	AA	AA	AA	AA
11	AA	-	AA	AA
12	AA	-	-	AA
13	AA	AA	AA	AA
14	AA	AA	AA	AA
15	AA	AA	AA	AA
16	AA	AA	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA
18	AA	AA	AA	AA
19	AA	AA	AA	AA
20	AA	AA	AA	AA
A	38	36	34	40
A ₁	-	-	-	-

ตาราง 15 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ POD

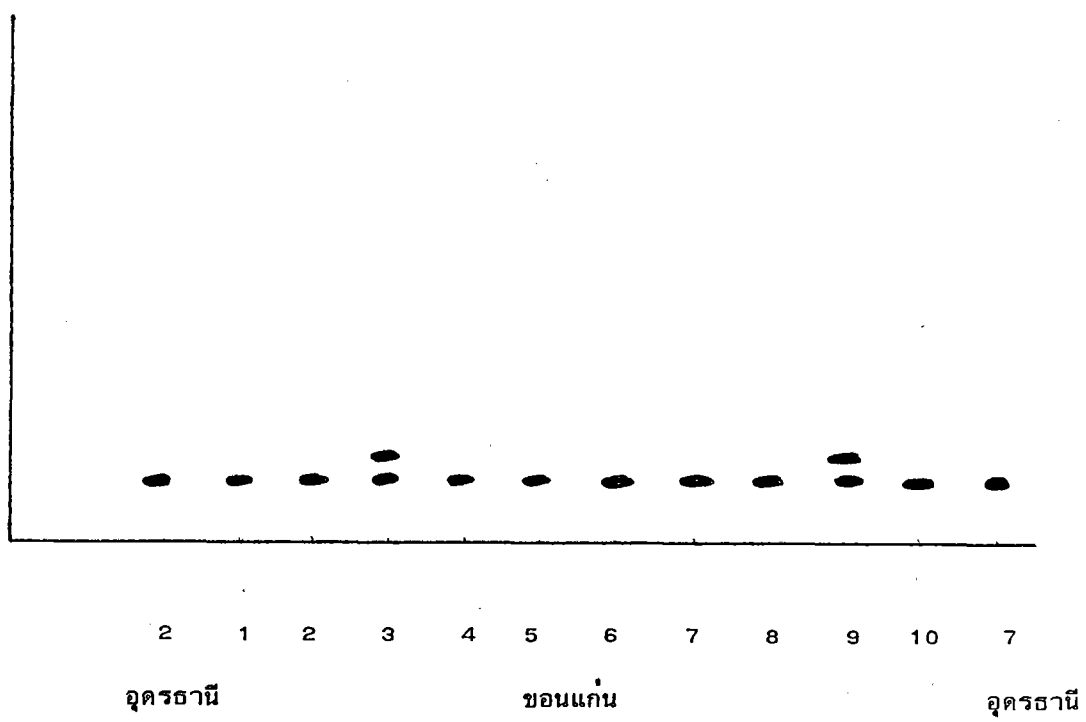
สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA ₁	AA ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
2	A ₁ A ₁	AA ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
3	A ₁ A ₁	AA ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
4	AA ₁	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
5	AA ₁	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
6	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
7	A ₁ A ₁	AA	A ₁ A ₁	AA ₁
8	AA ₁	AA	AA	A ₁ A ₁
9	AA ₁	AA ₁	AA ₁	A ₁ A ₁
10	AA	AA ₁	AA ₁	A ₁ A ₁
11	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁
12	AA	A ₁ A ₁	AA ₁	A ₁ A ₁
13	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
14	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
15	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	AA
16	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
17	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	AA ₁
18	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
19	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
20	AA	AA ₁	A ₁ A ₁	AA
A	27	19	7	13
A ₁	13	21	33	27

ตาราง 16 จีโนไทป์ของเอ็นไซม์ 6-PGDH

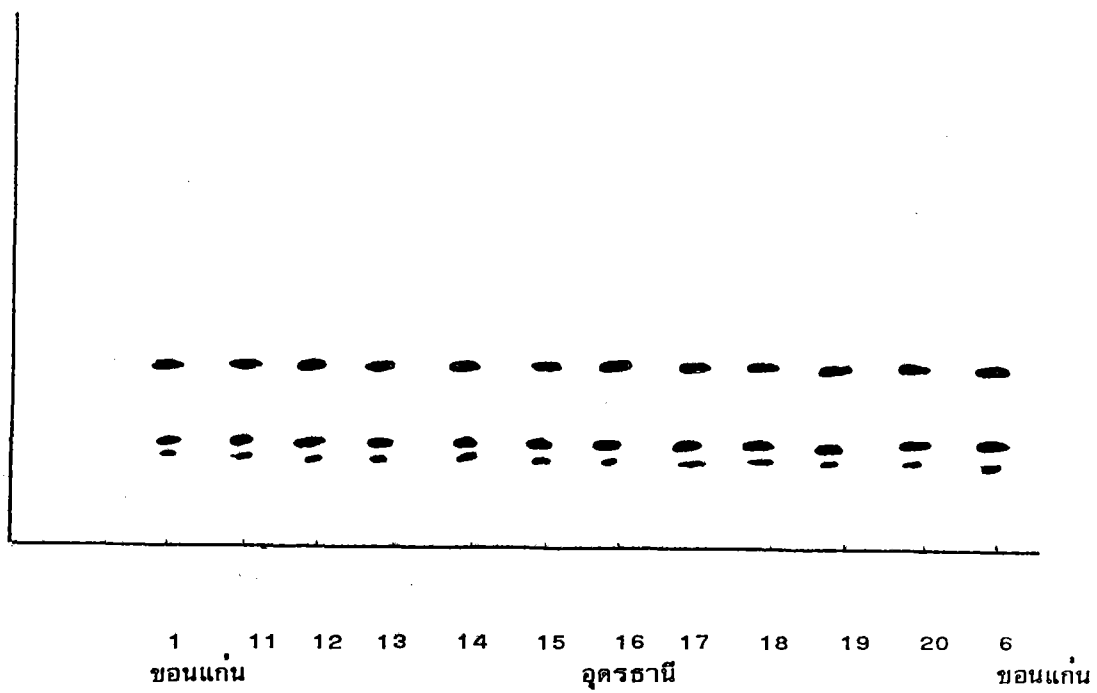
สถานที่ ตัวอย่าง	ขอนแก่น	อุดรธานี	สกลนคร	ชัยภูมิ
1	AA	AA	AA	AA
2	AA	AA	AA	AA
3	AA	AA	AA	AA
4	AA	AA	AA	AA
5	AA	AA	-	AA
6	AA	AA	-	AA
7	AA	AA	AA	AA
8	AA	AA	AA	AA
9	AA	AA	AA	AA
10	AA	AA	AA	AA
11	AA	AA	AA	AA
12	AA	AA	AA	AA
13	AA	AA	AA	AA
14	AA	AA	AA	AA
15	AA	AA	AA	AA
16	AA	AA	AA	AA
17	AA	AA	AA	AA
18	AA	AA	AA	AA
19	-	AA	AA	AA
20	-	AA	AA	AA
A	36	40	36	40
A ₁	-	-	-	-

ตาราง 17 จีโนไทป์ของเอนไซม์ SOD

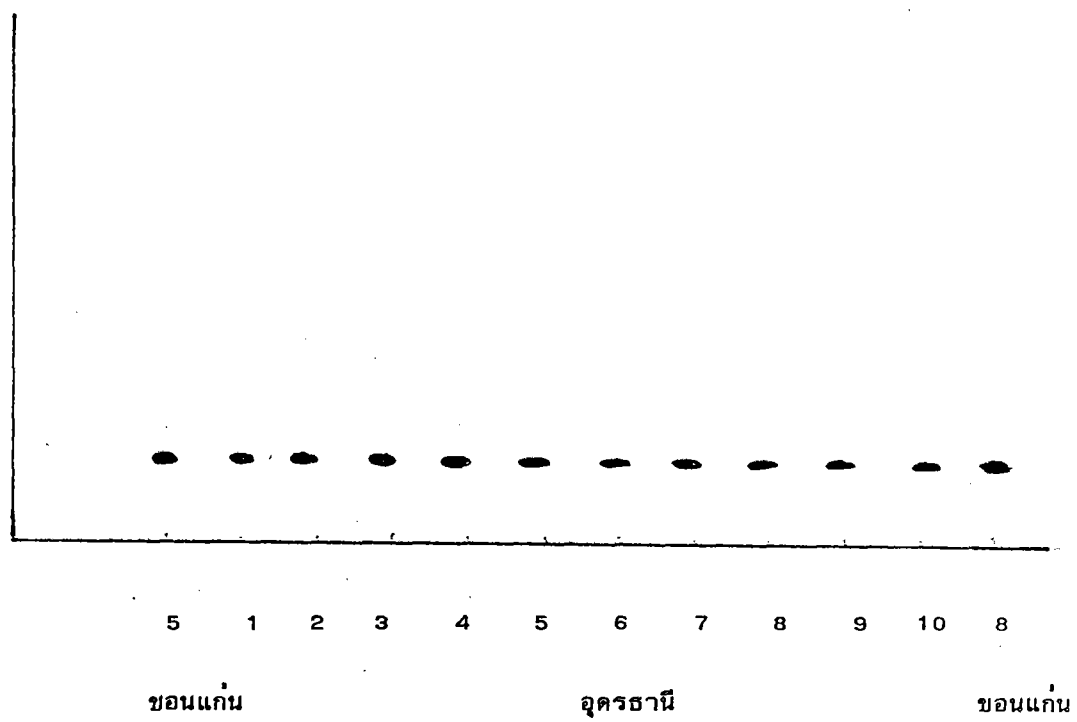
ตัวอย่าง	สถานที่	ขอนแก่น		อุดรธานี		สกลนคร		ชัยภูมิ	
		SOD-1	SOD-2	SOD-1	SOD-2	SOD-1	SOD-2	SOD-1	SOD-2
1		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁
2		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
3		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA	AA	AA ₁
4		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁
5		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁
6		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
7		AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
8		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
9		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
10		AA ₁	AA ₁	AA	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
11		AA	AA ₁	AA	AA	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁
12		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
13		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA	AA ₁
14		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
15		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA
16		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
17		AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
18		AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁
19		AA ₁	AA	AA ₁	AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁
20		AA	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA ₁	AA	AA ₁
A		22	20	27	22	21	24	21	17
A ₁		18	20	13	18	19	16	19	23



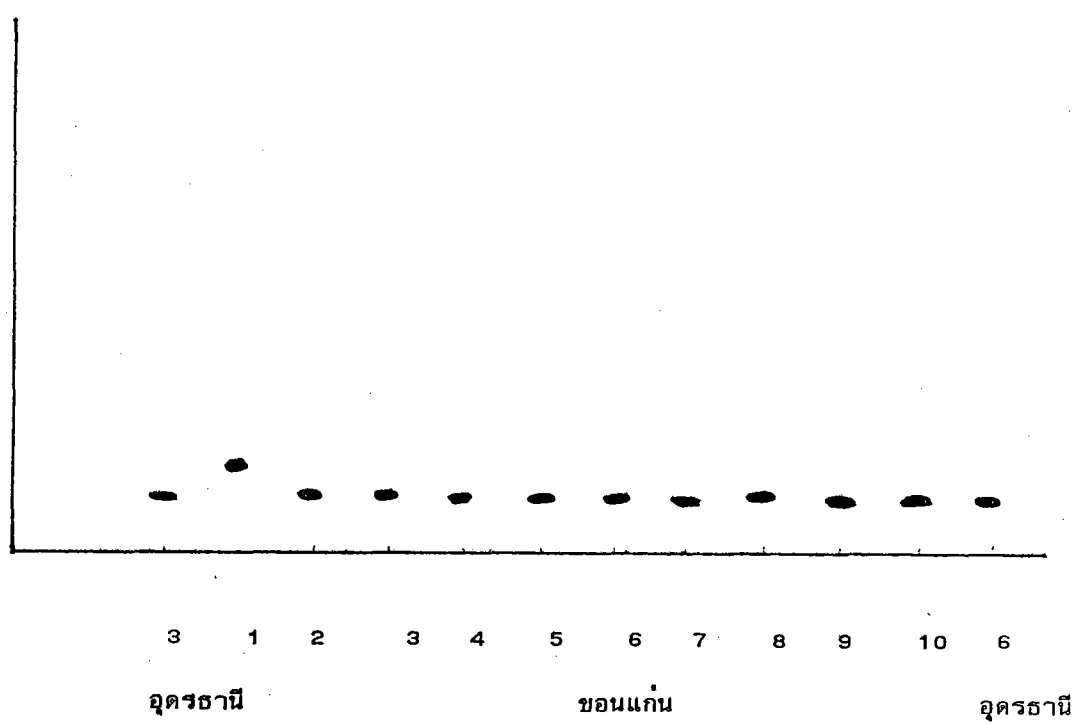
ภาพประกอบ 17 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ADH



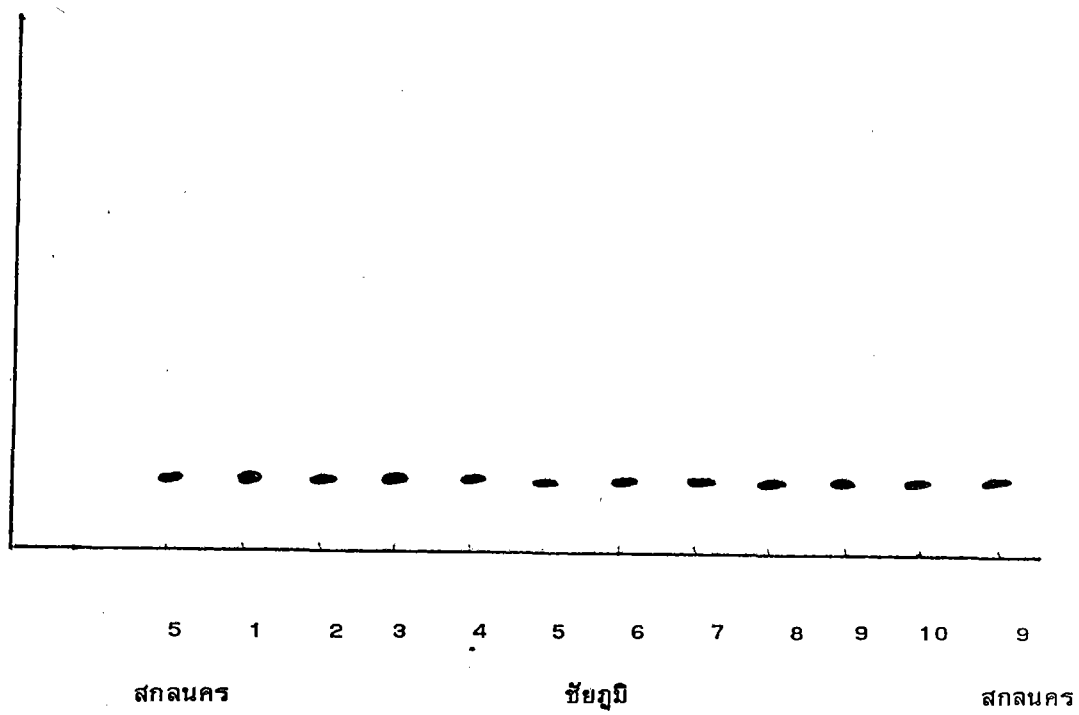
ภาพประกอบ 18 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ALDOX



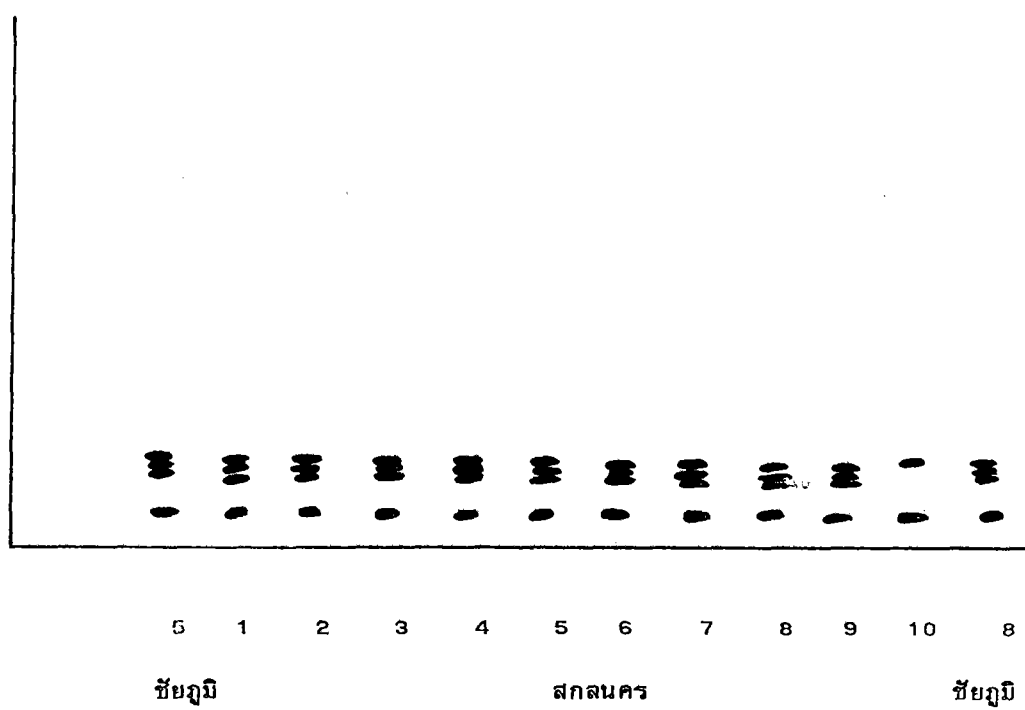
ภาพประกอบ 19 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ G-6-PD



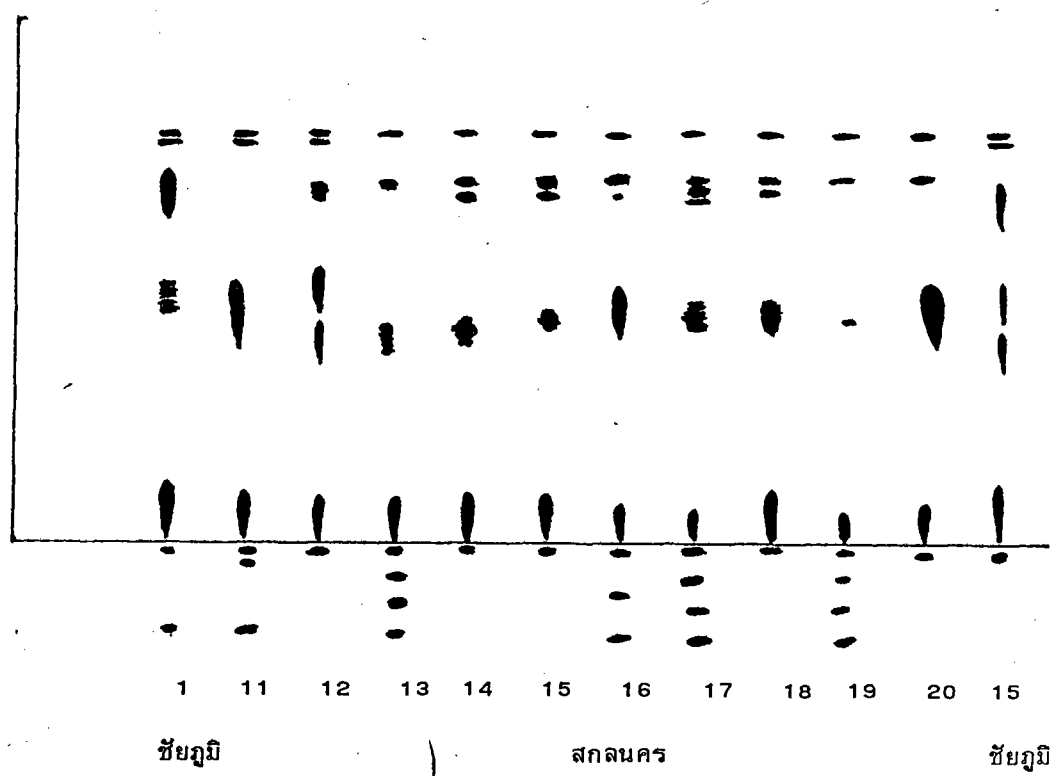
ภาพประกอบ 20 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ HBDH



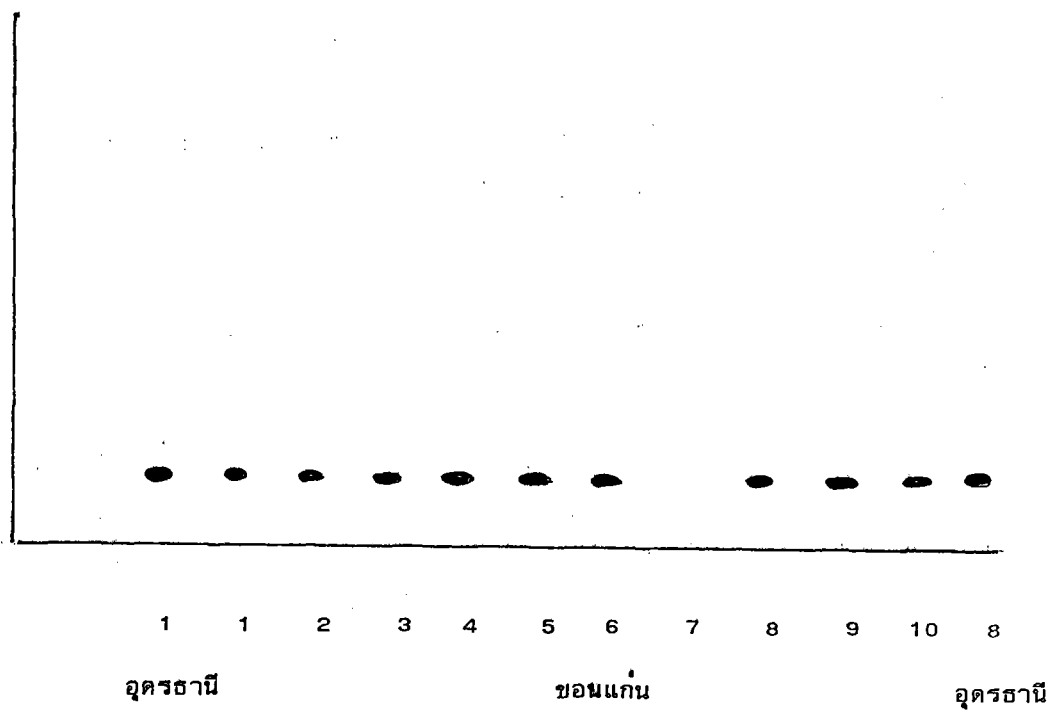
ภาพประกอบ 21 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ME



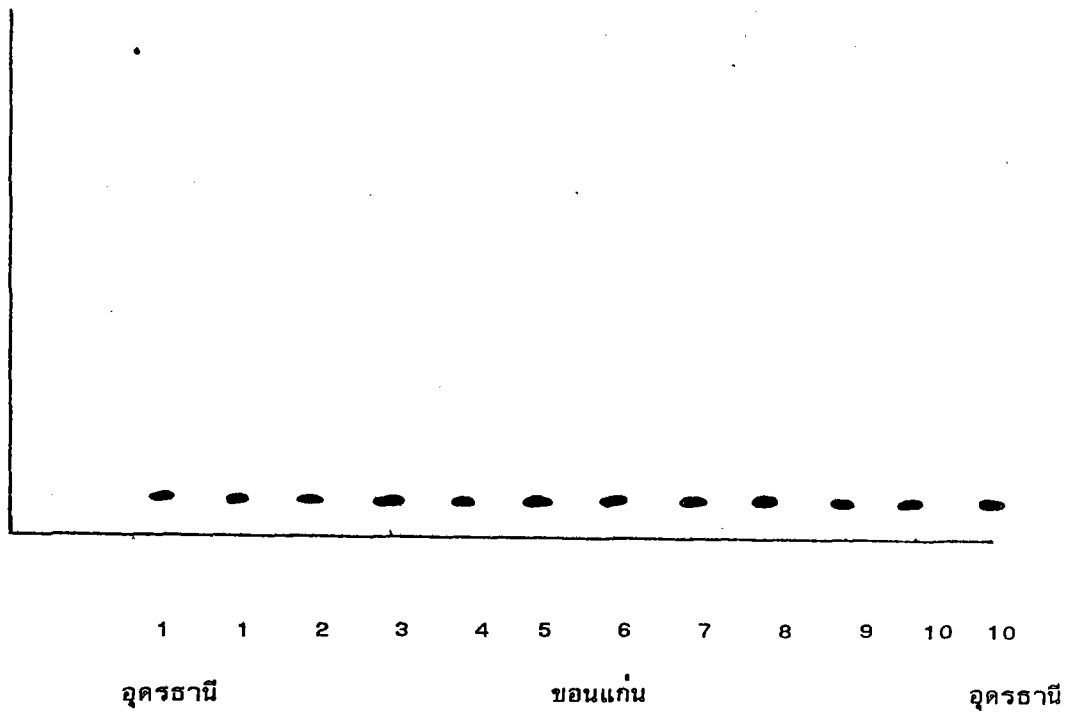
ภาพประกอบ 22 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ ODH



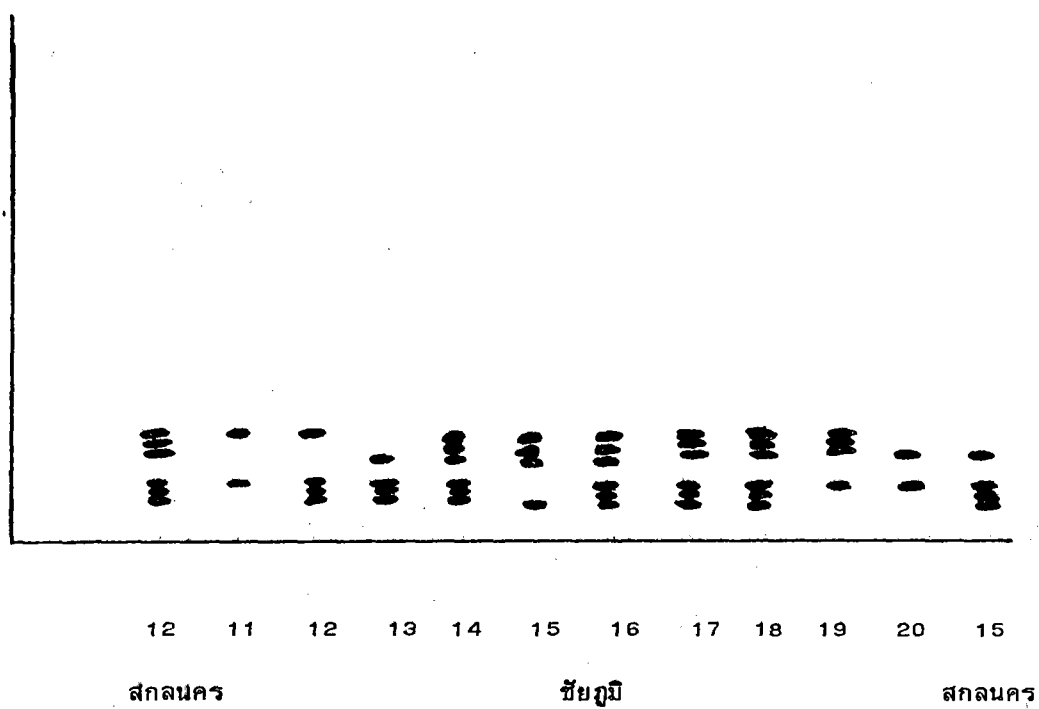
ภาพประกอบ 23 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ POD



ภาพประกอบ 24 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ PGM



ภาพประกอบ 25 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ 6-PGDH



ภาพประกอบ 26 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนของเอนไซม์ SOD

๒. ความหมาย.

ภาคผนวก ข

1. สารละลายบัฟเฟอร์

1.1 อะซิติก บัฟเฟอร์ (acetic buffer) pH 4.70			
ทริสมา เบล	3.78	กรัม	
กรดอะซิติก	4.05	มิลลิลิตร	
ปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มอล จนได้ pH 4.7			
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	2,500	มิลลิลิตร	
1.2 ทริสซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate buffer) pH 6.90			
ทริสมา เบล	16.35	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
กรดอะซิติก	8.40	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 6.90			
1.3 ทริสซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate buffer) pH 7.10			
ทริสมา เบล	1.10	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
กรดอะซิติก	0.63	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 7.10			
1.4 ทริสซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate buffer) pH 8.10			
ทริสมา เบล	166.40	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
กรดอะซิติก	66.00	กรัม	
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร	
นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 8.10			

1.5 ทริสซิเตรต บัฟเฟอร์ (tris-citrate buffer) pH 8.45

ทริสมา เบส	9.00	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
กรดซิตริก	1.90	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 8.45

1.6 ลิเทียมไฮดรอกไซด์ บัฟเฟอร์ (lithium hydroxide buffer) pH 8.25

ลิเทียมไฮดรอกไซด์	1.50	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
กรดโบริก	12.00	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

นำสารละลายทั้ง 2 ชนิดมาผสมกันจนได้ pH 8.25

1.7 ทริสโบเรต บัฟเฟอร์ (tris-borate buffer) pH 8.60

ทริสมา เบส	109.10	กรัม
อิตีทิกแอซิด (ethylenediamine tetraacetic acid)	5.85	กรัม
กรดโบริก	31.05	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

2. สารละลายที่ใช้ในการย้อมสีเอ็นไซม์

2.1 สารละลายเบอร์ 1

ทริสมา เบส	24.20	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	11.80	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

2.2 สารละลายเบอร์ 2

ทริสมา เบส	12.10	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	7.50	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร

2.3 สารละลายเบอร์ 3

แมกนีเซียมคลอไรด์	2.03	กรัม
-------------------	------	------

	เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	100	มิลลิลิตร
2.4	สารละลายเบอร์ 4		
	แมกนีเซียมคลอไรด์	4.90	กรัม
	เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	100	มิลลิลิตร
2.5	สารละลายเบอร์ 5		
	เมทธานอล	6	ส่วน
	กรดอะซิติกเข้มข้น	1	ส่วน
	น้ำกลั่น	5	ส่วน
2.6	สารละลายเบอร์ 6		
	พินาซีน เมทโซซัลเฟต (phenazine methosulfate)	1.00	กรัม
	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.7	สารละลายเบอร์ 7		
	เอ็มทีที เทตร้าโซเลียม (MTT tetrazolium)	1.00	กรัม
	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.8	สารละลายเบอร์ 8		
	ไตรฟอสโฟไพริดีน นิวคลีโอไทด์ (triphosphopyridine- nucleotide)	1.00	กรัม
	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.9	สารละลายเบอร์ 9		
	ไดฟอสโฟไพริดีน นิวคลีโอไทด์ (diphosphopyridine- nucleotide)	1.00	กรัม
	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.10	สารละลายเบอร์ 10		
	กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glucose-6- phosphatedehydrogenase)	1,000	ยูนิต
	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.11	สารละลายเบอร์ 11		
	มาเลต (DL-malate)	268.20	กรัม

โซเดียมไฮดรอกไซด์	150.00	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม	1,000	มิลลิลิตร
2.12 สารละลายเบอร์ 12		
กลูโคส-1,6-ไดฟอสเฟต (glucose-1,6-diphosphate)	0.022	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.13 สารละลายเบอร์ 13		
กลูโคส-1-ฟอสเฟต (glucose-1-phosphate)	1.70	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.14 สารละลายผสมคาร์บาโซล		
3-อะมิโน-9-เอทิลคาบาโซล (3-amino-9-ethyl-carbazol)	0.420	กรัม
แนพทอล (naphthol)	0.290	กรัม
อะซิโตน	200	มิลลิลิตร
3. <u>ลีส้อมเอนไซม์</u>		
3.1 ลีส้อมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD)		
อะซิติก บัฟเฟอร์ pH 4.7	80.00	มิลลิลิตร
สารละลายผสมคาร์บาโซล	20.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น : ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อัตราส่วน 9:1	1.00	มิลลิลิตร
3.2 ลีส้อมเอนไซม์อัลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (ADH)		
สารละลายเบอร์ 1	35.00	มิลลิลิตร
2-โพรพานอล (2-propanol)	0.50	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 9	2.00	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจลทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
เติมน้ำกลั่นเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้งเดิม		
สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง		
3.3 ลีส้อมเอนไซม์อัลดีไฮด์ ออกซิเดส (ALDOX)		

3.4	สารละลายเบอร์ 2	35.00	มิลลิลิตร
	เบนซอลดีไฮด์ (benzaldehyde)	0.20	มิลลิลิตร
	สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
	ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที		
	เติมสารละลายเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
	ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้งเติม		
	สารละลายเบอร์ 5	ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง	
	3.4 สีย้อมเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (G-6-PD)		
	สารละลายเบอร์ 1	35.00	มิลลิลิตร
	กลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate)	0.05	กรัม
3.5	สารละลายเบอร์ 8	1.00	มิลลิลิตร
	สารละลายเบอร์ 9	1.00	มิลลิลิตร
	ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
	เติมสารละลายเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
	ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้งเติม		
	สารละลายเบอร์ 5	ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง	
	3.5 สีย้อมเอนไซม์ไฮดรอกซีบิวไทเรต ดีไฮโดรจีเนส (HBDH)		
	สารละลายเบอร์ 1	35.00	มิลลิลิตร
	โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)	0.10	กรัม
	เบต้า ไฮดรอกซีบิวไทริก (-hydroxybutyric)	0.10	กรัม
	สารละลายเบอร์ 3	0.20	มิลลิลิตร
	สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
	สารละลายเบอร์ 9	2.00	มิลลิลิตร
	ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
	เติมสารละลายเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
	ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้งเติม		
	สารละลายเบอร์ 5	ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง	

3.6 สีย้อมมาลิกเอนโซม (ME)

สารละลายเบอร์ 2	35.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 8	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 11	0.50	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
เติมสารละลายเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้งเติม		
สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง		

3.7 สีย้อมเอนโซมออกทานอล ดีไอโครจีเนส (ODH)

สารละลายเบอร์ 1	35.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 9	2.00	มิลลิลิตร
ออกทานอล (octanol)	2.00	มิลลิลิตร
เอทานอล : เมทานอล อัตราส่วน 1:1	2.00	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		
เติมสารละลายเบอร์ 6	0.50	มิลลิลิตร
ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทสีย้อมทิ้งเติม		
สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง		

3.8 สีย้อมเอนโซมฟอสโฟลโคมิวเตส (PGM)

สารละลายเบอร์ 2	35.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 3	4.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 7	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 8	1.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 10	2.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 12	2.00	มิลลิลิตร
สารละลายเบอร์ 13	2.00	มิลลิลิตร
ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที		

- เติมสารละลายเบอร์ 6 0.50 มิลลิลิตร
 ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้งเติม
 สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที เทสารละลายทิ้ง
- 3.9 ลีส้อมเอนไซม์ 6-ฟอสโฟกลูโคเนต ดีไฮโดรจีเนส (6-GPD)
 สารละลายเบอร์ 2 35.00 มิลลิลิตร
 สารละลายเบอร์ 7 1.00 มิลลิลิตร
 สารละลายเบอร์ 8 1.00 มิลลิลิตร
 กรด 6-ฟอสโฟกลูโคนิก (6-phosphogluconic acid) 0.05 กรัม
 ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
 เติมสารละลายเบอร์ 6 0.50 มิลลิลิตร
 ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้งเติม
 สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที เทสารละลายทิ้ง
- 3.10 ลีส้อมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ไดมิวเตส (SOD)
 สารละลายเบอร์ 1 35.00 มิลลิลิตร
 สารละลายเบอร์ 3 1.00 มิลลิลิตร
 สารละลายเบอร์ 7 1.00 มิลลิลิตร
 ออกทานอล 1.00 มิลลิลิตร
 ผสมให้เข้ากัน เทให้ท่วมแผ่นเจล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
 เติมสารละลายเบอร์ 6 0.50 มิลลิลิตร
 ทิ้งไว้จนสีปรากฏบนแผ่นเจลชัด เทลีส้อมทิ้งเติม
 สารละลายเบอร์ 5 ทิ้งไว้ 15 นาที เทสารละลายทิ้ง

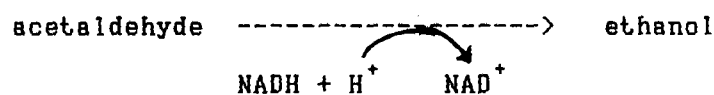
ภาคผนวก ค

ภาคผนวก ค

เอนไซม์เป็น globular protein ที่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาเคมี มีความเฉพาะเจาะจงต่อปฏิกิริยา เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีหน้าที่แตกต่างกันไปดังนี้

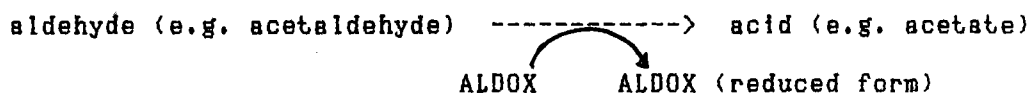
1. เอนไซม์ ADH

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



2. เอนไซม์ ALDOX

เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการออกซิโดรีดัสการประกอบอัลดีไฮด์ (aldehyde) ให้เป็นกรด



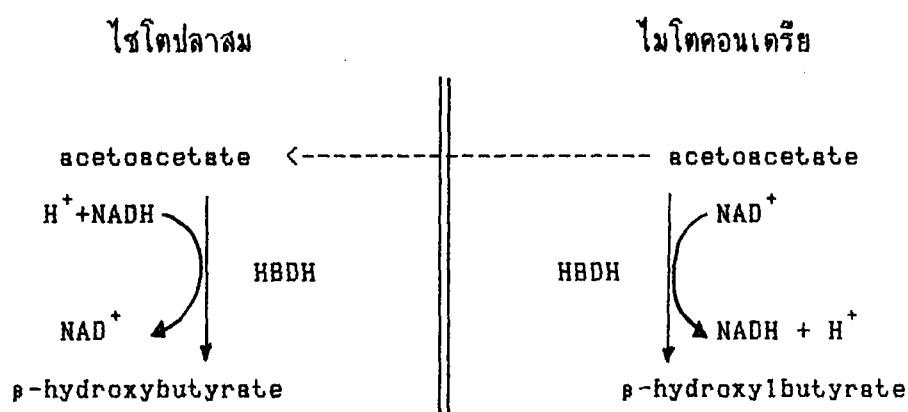
3. เอนไซม์ G-6-PD

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



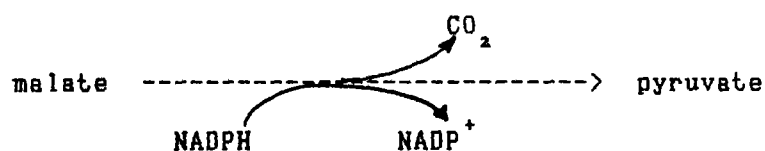
4. เอนไซม์ HBDH

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



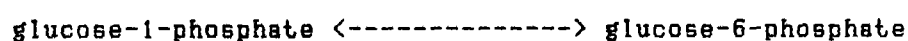
5. **ເອນໄຊ້ມ໌ ME**

เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่นำ acetyl Co A ออกจากไมโทคอนเดรีย คือ เปลี่ยน มาเลต (malate) ให้เป็นไพรูเวต (pyruvate)



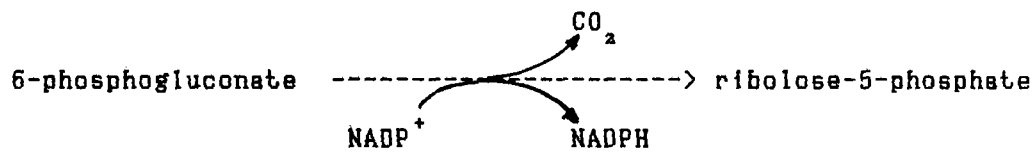
6. เอนไซม์ PGM

เป็นเอนไซม์ ที่มีหน้าที่ในการสลายแป้ง คือ เปลี่ยนกลูโคส-1-ฟอสเฟต (glucose-1-phosphate) ให้เป็น กลูโคส-6-ฟอสเฟต



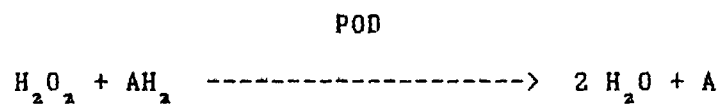
7. เอนไซม์ 6-PGDH

เป็นเอนไซม์ในวิถีเพนโทสฟอสเฟต มีหน้าที่ออกซิไดซ์ 6-ฟอสโฟกลูโคเนต (6-phosphogluconate) เป็นไรโบโลส-5-ฟอสเฟต (ribulose-5-phosphate)



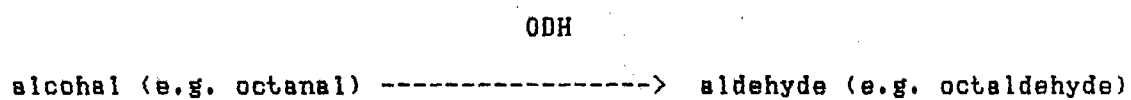
8. เอนไซม์ POD

เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการรีดิวซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำ



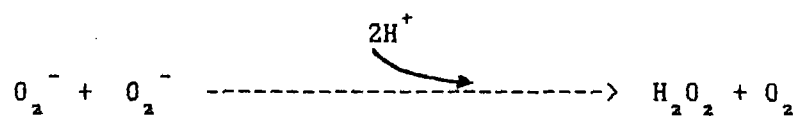
9. เอนไซม์ ODH

เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่เปลี่ยนสารพวกลกอฮอล์ให้เป็นสารพวกลัลดีไฮด์



10. เอนไซม์ sod

เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion - free-radical) ที่ได้จากกระบวนการออกซิเดชัน โดยการเติมไฮโดรเจนอิออนให้เป็นไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์และก๊าซออกซิเจน



ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ นายสุธี อันเจ็ก

วัน เดือน ปีเกิด 20 มีนาคม 2506

สถานที่เกิด อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี

ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีการศึกษาที่จบ
มศ. 5	โรงเรียนนอทรดิตถ์	2524
กศ.บ เกียรตินิยมอันดับ2	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิบังโลก	2528
(วิชาเอกวิทยาศาสตร์-เคมี)		
วท.ม (เคมีชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร	2534

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน อ.1 ระดับ 3 โรงเรียนศรีกระนวนวิทยาคม

อ. กระนวน จ.ขอนแก่น 40170 โทร (043) 251350

การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของปูน้ำจืดชนิด Somanniathelphusa dugasti
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิส

บทคัดย่อ
ของ
ลลิตี อ้นเจ็ก

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

ตุลาคม 2534

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาเอนไซม์ 10 ชนิดคือ ADH, ALDOX, G-6-PD, HBDH, ME, ODH, PGM, POD, 6-PGDH และSOD โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบแบ่ง เพื่อหาความแปรผันทางพันธุกรรมของปลาน้ำจืดชนิด Somanniathelipusa dugasti ในภาคตะวันออก-เฉียงเหนือ 4 จังหวัดคือขอนแก่น อุดรธานี สกลนครและชัยภูมิ จังหวัดละ 20 ตัวอย่าง พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมสูงพอสมควรคือมีค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกต 0.223 ในส่วนของความเหมือนและระยะห่างระหว่างพันธุ์พบว่าประชากรในที่ศึกษามีความเหมือนทางพันธุกรรมสูง และมีระยะห่างระหว่างพันธุ์ต่ำคือ มีค่าความเหมือนระหว่างพันธุ์อยู่ในช่วง 0.971-0.994 และระยะห่างระหว่างพันธุ์อยู่ในช่วง 0.006-0.029

A STUDY ON GENETIC VARIATION OF FRESH WATER CRAB,
Somanniathelphusa dugasti , IN NORTHEASTERN
THAILAND USING ELECTROPHORETIC TECHNIQUE

AN ABTRACT
BY
SUTHEE OUNJECK

Presented in partial fulfillment of the requirements for the Master of
Sciences degree in Biological Chemistry
at Srinakarinwirot University
October 1991

Abstract

Ten metabolic enzymes of Somanniathelphusa dugesi collected from four provinces in Northeastern Thailand: Khonkean, Sakolnakorn, Udonnathani and Chaiyaphume, 20 samples each, were studied using starch-gel eletrophoresis. Genetic variation among crabs from the four localities was inferred from the variation of those enzyme. The average heterozygosity found in this study was 0.223 . The calculated genetic identities ranged from 0.971 to 0.994, which are very high. Thus the genetic distances among the four populations were very low, ranging from 0.006 to 0.029 .