

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกบหู (*Limnonyctes blythii*) ในบางพื้นที่ของจังหวัดแม่ฮ่องสอนโดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอและไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ

ผู้เขียน

ว่าที่ร้อยตรี นัศตรมงคล สุวรรณภูมิ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช

ประธานกรรมการ

ผศ. ดร. วีระ วงศ์คำ

กรรมการ

ผศ. ดร. ชิตชล ผลารักษ์

กรรมการ

อ. ดร. ทัดพร คุณประดิษฐ์

กรรมการ

บทคัดย่อ

กบหูหรือเขียดแลว (*Limnonyctes blythii*) เป็นกบที่มีขนาดใหญ่ อาศัยอยู่ในป่าสมบรูณ์ ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 450 - 1,100 เมตร และวางไข่ในน้ำสะอาดเท่านั้น ซึ่งในปัจจุบันกบหูได้ถูกจัดให้เป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง การลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องของกบหูในประเทศไทยนั้นส่งผลให้โอกาสในการสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมของกบหูเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ลักษณะโครงสร้าง และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรกบหู ในจังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยทำการศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ 7 ตำแหน่ง และดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย 2 ตำแหน่ง ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความเหมาะสมสำหรับการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเก็บตัวอย่างกบหูทั้งหมด 164 ตัวอย่าง จาก 4 แหล่ง ได้แก่ บริเวณชายแดนไทย-ประเทศเมียนมาร์ (TMM) บริเวณสถานีประมง จังหวัดแม่ฮ่องสอน (PMM) บริเวณฝั่งประเทศเมียนมาร์ (MM) และปางอุ๋ง (PAM) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าประชากรกบหู ทั้ง 4 แหล่ง มีความหลากหลายทางพันธุกรรมอยู่ในระดับปานกลาง โดยมีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่งระหว่าง 3.0000 ถึง 3.4286 และมีค่าเฉลี่ย H_0 จากทุกตำแหน่งระหว่าง 0.3963 ถึง 0.7702

ความถี่จีโนไทป์ในทุกประชากร ยกเว้นปางอุ้ง มีค่าเบี่ยงเบนจากสมมูลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์ก ความแตกต่างระหว่างประชากรทั้ง 4 แหล่งแบ่งเป็นประชากรย่อยจริง ที่อยู่ในระดับต่ำ ซึ่งแสดงด้วยค่า F_{ST} เฉลี่ยเท่ากับ 0.0463 โดยสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดแม่ฮ่องสอนมีความหลากหลายสูงที่สุด รองลงมาคือฝั่งเมียนมาร์ ชายแดนไทย – เมียนมาร์ และปางอุ้งตามลำดับ พบว่าประชากรทั้ง 4 แหล่งแบ่งเป็นประชากรย่อยที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก ได้แก่ สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแม่ฮ่องสอน ประเทศเมียนมาร์ ชายแดนไทย-ประเทศเมียนมาร์ กลุ่มที่ 2 คือ ปางอุ้ง ยังทำการตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรกบทุก 32 ตัวอย่าง จาก 4 แหล่ง ด้วยการใช้ลำดับเบสของยีน 12S rRNA และ 16S rRNA ในไมโทคอนเดรีย พบยีน 12S rRNA และ 16S rRNA ขนาด 323 คู่เบส และ 480 คู่เบส ตามลำดับ พบรูปแบบ Haplotype ทั้งหมดเพียง 2 รูปแบบ และเมื่อวิเคราะห์หาระยะห่างทางพันธุกรรมของกบทุกตัว ที่ได้ทำการศึกษา เปรียบเทียบกับลำดับเบสของกบทุกตัวในทวีปเอเชียจากฐานข้อมูล GenBank พบว่ายีน 12S rRNA และ 16S rRNA มีค่าระหว่าง 0.000 ถึง 0.136 และ 0.000 ถึง 0.139 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากบทุกตัวมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยมาก และเมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี Neighbor joining และ Maximum parsimony ของยีน 12S rRNA และ 16S rRNA แสดงให้เห็น tree ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก การศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่า กบทุกตัว และกบในสกุล *Limnonectes* มีวิวัฒนาการแบบ Paraphyletic group และ Interior branch ระหว่างกบแต่ละชนิด โดยสายวิวัฒนาการของกบทุกตัว *L. blythii* จาก Kuala Lumpur และ Endau ในประเทศมาเลเซีย มีวิวัฒนาการมายาวนานที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกบทุกตัวจากแหล่งอื่น จากข้อมูลที่ได้ดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการจัดการอนุรักษ์ และดำรงไว้ซึ่งถิ่นที่อยู่อาศัยของกบทุกตัวต่อไป

Thesis Title	Genetic Diversity of Giant Frogs (<i>Limnonectes blythii</i>) in Some Areas of Mae Hong Son Province Using Microsatellite DNA and Mitochondrial DNA		
Author	Acting Second Lieutenant Chatmongkon Suwannapoom		
Degree	Master of Science (Biology)		
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej		Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Weerah Wongkham		Member
	Asst. Prof. Dr. Chitchol Phalaraksh		Member
	Lect. Dr. Tatporn Kunpradid		Member

ABSTRACT

The Giant frog (*Limnonectes blythii*) can live only in plentiful forest which had 450 - 1,100 m above sea level and lay eggs in fresh water which is classified to be protected animals in Thailand. Decrease of giant frog effects declining of genetic diversity. This data show the risk of the giant frog extinction because of the limitation of their habitat. Thus, this study was attempted to determine the genetic diversity, genetic structure and genetic relationship of the giant frog in Mae Hong Son province using 7 Microsatellite loci and mtDNA 12S, 16S rRNA gene which suitable for this study. 164 of tissue samples were obtained from 4 localities: Thai-Myanmar border (TMM), Mae Hong Son inland fisheries station (PMM), Myanmar (MM) and Pang Aung (PAM). The results showed that there was a moderate level of genetic diversity in *L. blythii* population. Alleles per locus ranged from 3.0000 to 3.4286 and an average observed heterozygosity (H_o) value of all positions ranged from 0.3963 to 0.7702. Genotype frequency of all populations except Pang Aung had deviated from Hardy – Weinberg value. The difference between the four populations was lower level with an average F_{ST} value of 0.0463. It was found that the Mae Hong Son Inland Fisheries station had a highest diversity; following by Myanmar,

Thai – Myanmar border, and Pang Aung, respectively. Besides, there was a clear genetic difference between the two groups: the first group is Mae Hong Son Inland Fisheries station, Myanmar, Thai–Myanmar border and another group is Pang Aung. Genetic relationship testing was conducted with 32 *L. blythii* samples from the four sources using DNA sequence analysis of partial mtDNA gene 12S rRNA and 16S rRNA. It was found two size of partial mtDNA gene (12S rRNA and 16S rRNA; 323 bp and 480 bp, respectively). For genetic distance analysis of *L. blythii* in this study, sequence comparison with *L. blythii* in Asia, using partial mtDNA gene: 12S rRNA and 16S rRNA had the ranging value of 0.000 to 3.136 and 0.000 to 3.139, respectively. This can be implied that there was little genetic difference. Furthermore, an investigation of phylogenetic relationship by the neighbor joining and maximum parsimony methods of partial mtDNA gene 12S rRNA and 16S rRNA showed the similar apparent tree. It was also found that *Limnonectes* and the other groups have an evolution in the forms of paraphyletic and interior branch which resulted in a difference of bootstrap testing results. The evolution of *L. blythii* line from Kuala Lumpur and Endau in Malaysia is the longest one when compared with *L. blythii* from the other sources. Therefore, this study will be important for conservation and preservation management of *L. blythii* existing habitat.