รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การวิเคราะห์ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของหอยทากบกสกุล *Cryptozona* ในประเทศไทย

หัวหน้าโครงการ
นางสาวผ่องพรรณ ประสารกก

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์) ประจำปี 2550

บทคัดย่อภาษาไทย

หอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* เป็นหอยทากชนิดจำเพาะถิ่น พบกระจายอยู่ทั่วทุกภาคประเทศในถิ่นที่อยู่อาศัยที่หลากหลายตั้งแต่ภูเขาไปจนถึงที่ราบลุ่ม ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในเศษซากใบไม้บนพื้นดินในป่าตามแนวเทือกเขาหรือภูเขา กินอาหารได้หลายชนิดเช่น ซากพืชและต้นอ่อนของพืช มีรายงานการทำลายกล้าไม้โดยหอยทากสกุลนี้บ่อยครั้ง การศึกษาครั้งนี้ ทำการศึกษาความผันแปรทางสัณฐานวิทยา โดยเปรียบเทียบลักษณะของเปลือกจากกลุ่มตัวอย่างหอยทั้งหมด 9 บริเวณทั่วประเทศไทย ผลจากการศึกษาความผันแปรทางสัณฐานวิทยา จากการวัดวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเปลือกด้วยตัวแปร 14 ลักษณะ (shell height; shell width, aperture height, aperture width, body whorl width, spire height, body whorl height, shell height/shell width, shell height /spire height, shell height / body whorl height, shell width / aperture width, aperture height / aperture width, aperture width /spire height และ body whorl width / aperture width) วิเคราะห์ความแตกต่างของเปลือกโดยสถิติ Discriminant Analysis พบว่าลักษณะของเปลือกสามารถใช้จำแนกหอยทากสยาม จาก 19 กลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่มและ 2 กลุ่มเมื่อวิเคราะห์ด้วย principal component ผลการศึกษาความผันแปรทางสัณฐานวิทยาแสดงให้เห็นว่าอาจมีสปีชีส์ซ่อนเร้นในหอยทากสยามชนิดนี้

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Cryptozona siamensis (Pfeiffer) 1856, is a pulmonate snail in the family Ariophantidae. It is considered to be a widely distributed species in Indochina and occupies isolated areas. Snail usually lives under the leave litter. With geographically disjunct populations combined with a wide ranging distribution, *C. siamensis* is expected to represent a complex of cryptic species yet, to date, there are no data on the Morphological variation of *C. siamensis*. Thus, shell morphological variations were analysed. *Cryptozona siamensis* from 19 localities across three regions of Thailand plus an additional population from Malaysia was examined in 432 specimens. Fourteen variables of shell measurements were used to discriminate the group of snails. The results from Discriminant Analysis showing the effective variables with order by size of correlation within function were shell height; shell width, aperture height, aperture width, body whorl width, spire height, body whorl height, shell height/shell width, shell height /spire height, shell height / body whorl height, shell width / aperture width, aperture height / aperture width, aperture width /spire height, and body whorl width / aperture width. The results from Discriminant Analysis and Principal Component Analysis indicated that measurement characters of shell measurement can be divided snails into three and two groups, respectively. This suggests the presence of cryptic species under the name *C. siamensis*.

ประกาศคุณูปการ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์) ประจำปี 2550

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
ประกาศคุณูปการ	ง
สารบัญ	จ
บัญชีตาราง	ฉ
บัญชีภาพประกอบ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	16
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	24
บรรณานุกรม	25
ประวัติย่อผู้วิจัย	27

บัญชีตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง **13**

ตารางที่ 2 แสดง Eigenvector ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย principal component analysis **19**

ตารางที่ 3 แสดง Standardised Discriminant Function Coefficients ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Discriminant Analysis **20**

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Discriminant Analysis **21**

บัญชีภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 หอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* **5**

ภาพที่ 2 ลักษณะของแรดูลา **6**

ภาพที่ 3 แผนภาพระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยนกขมิ้นระหว่างกลุ่มประชากรจากภาคตะวันออก, ภาคใต้ของไทย และสิงคโปร์ ด้วยวิธี Unrooted neighbor-joining (Prasankok et al., 2007) **7**

ภาพที่ 4 สปีชีส์ซ่อนเร้นในหอยนกขมิ้น *Amphidromus atricallosus*: A-F; *Amphidromus atricallosus leucoxanthus*, G-R; *Amphidromus atricallosus atricallosus*, S-T; *Amphidromus atricallosus perakensis* **8**

ภาพที่ 5 แผนภาพระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยเดื่อระหว่างกลุ่มประชากรจาก ภาคตะวันออก, ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ด้วยวิธี UPGMA **9**

ภาพที่ 6 เปลือกและการกระจายตัวของหอยเดื่อใน ภาคตะวันออก ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Prasankok et al., 2008) **10**

ภาพที่ 7 พื้นที่เก็บตัวอย่าง; 1=ถ้ำบริจินดา จังหวัดเชียงใหม่ 2=ถ้ำจักรพรรดิ จังหวัดแพร่ 3=ถ้ำแก้วกายสิทธิ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ 4=วัดถ้ำน้ำบัง อ.เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 5=วัดถ้ำน้ำผาบิ้ง จังหวัดเลย 6=วัดถ้ำโพธิสัตว์ กิ่ง อ.หนองหิน จังหวัดเลย 7=โนนทัน จังหวัดหนองบัวลำภู 8=นาวัง จังหวัดหนองบัวลำภู 9=ภูพาน จังหวัดสกลนคร 10=เนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก 11=น้ำตกเจ็ดคต จังหวัดสระบุรี 12=ถ้ำดาวเขาแก้ว จังหวัดสระบุรี 13=เขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว 14=ถ้ำแก้วสวรรค์ จังหวัดจันทบุรี 15=ถ้ำประทุน จังหวัดชลบุรี 16=น้ำตกกะเปาะ จังหวัดระนอง 17=เขาศก จังหวัดสุราษฎร์ 18=อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่ และ 19=Chintamanis มาเลเซีย **14**

ภาพที่ 8 แสดงตำแหน่งที่วัดเปลือกหอยแต่ละเปลือก **15**

ภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง PCA 1 และ PCA 2 ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี principal component analysis **16**

ภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Function 1 และ Function 2 ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis **17**

ภาพที่ 11 แสดง Centroid ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis **18**

ภาพที่ 12 แสดงลักษณะของแรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดชลบุรี เกาะมารวิชัย **22**

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะของแรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดจันทบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ ชลบุรี อุทัยธานี **22**

บทที่ 1
บทนำ

หอยทากบกเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีบทบาทที่สำคัญมากในระบบนิเวศ เป็นทรัพยากรทางชีวภาพที่มีผลกระทบอย่างสูงต่อระบบนิเวศไปจนถึงวิถีชีวิตของมนุษยชาติ เนื่องจากเป็นตัวการที่สำคัญที่ทำให้ดินในป่ามีความอุดมสมบูรณ์ กำจัดซากพืช ซากอื่น ๆ ทั้งหลายในระบบ ให้หมุนเวียนมาเป็นแร่ธาตุที่สำคัญ เลี้ยงดูไม้ใหญ่น้อยอย่างต่อเนื่อง

หอยทากบกสกุล *Cryptozona* เป็นหอยทากชนิดจำเพาะถิ่น พบกระจายอยู่ทั่วทุกภาคประเทศในถิ่นที่อยู่อาศัยที่หลากหลายตั้งแต่ภูเขาไปจนถึงที่ราบลุ่ม ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในเศษซากใบไม้บนพื้นดินในป่าตามแนวเทือกเขาหรือภูเขา กินอาหารได้หลายชนิดเช่น ซากพืชและต้นอ่อนของพืช มีรายงานการทำลายกล้าไม้โดยหอยทากสกุลนี้บ่อยครั้ง

การศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยทากบกสกุล *Cryptozona* ในประเทศไทยมีน้อย มากจากการสำรวจเอกสารพบว่า การจัดจำแนกหอยทากบกสกุลนี้ในประเทศมีเพียงชื่อเดียวเท่านั้นคือ *Cryptozona siamensis* แต่จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า หอยชนิดนี้มีความหลากหลาย ทั้ง ขนาด รูปร่าง และสี จึงทำให้เกิดความสับสนต่อการศึกษาทางอนุกรมวิธาน เนื่องจาก อาจเป็นสปีชีส์เชิงซ้อน [species complex (Katoh and Foltz, 1994)] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ P anha (1996) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชนิดของหอยใน สกุล *Cryptozona* ในประเทศไทย โดยทำการวิเคราะห์ความผันแปรของสัณฐานวิทยา เช่น เปรียบเทียบลักษณะของเปลือกและแรดูลา ผลที่ได้จากการศึกษานอกจากทำให้งานอนุกรมวิธานสมบูรณ์แล้ว ยังสามารถนำข้อมูลจากการศึกษาไปประยุกต์ในการศึกษาวิจัยด้านอื่น เช่น การศึกษาทางชีวภูมิศาสตร์ (biogeography) และวิวัฒนาการต่อ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการจัดการในหอยสกุลนี้ต่อไปในอนาคต

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอยทากบกเป็นเป็นหอยฝาเดียวที่อาศัยอยู่บนบก ส่วนใหญ่พบในซับคลาสพัลโมนาตา (Subclass Pulmonata) ส่วนน้อยพบในซับคลาสโพรโซแบรงเคีย (Subclass Prosobranchia) ซึ่งหอยทั้งสองซับคลาสนี้มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ หอยในซับคลาสพัลโมนาตาจะมีอวัยวะแลกเปลี่ยนก๊าซที่เรียกว่าถุงลมเป็นส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลงมาจากช่องแมนเทิล มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงทำหน้าที่คล้ายปอด ส่วนหอยในซับคลาสโพรโซแบรงเคียไม่มีถุงลมแต่จะมีเหงือกใช้เป็นอวัยวะในการแลกเปลี่นก๊าซและส่วนที่สังเกตได้ง่ายสามารถเห็นได้จากภายนอกคือ หอยในซับคลาสพัลโมนาตาไม่มีอวัยวะที่เรียกว่าโอเพอร์คิวลัม (operculum) ซึ่งอยู่ด้านบนส่วนเท้าของแผ่นเท้าเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับตัวหอยขณะที่หอยหดกลับเข้าเปลือก

หอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* จัดอยู่วงศ์ Arionphantidae เป็นหอยทากบกที่หายใจด้วยปอด มีสองเพศในตัวเดียวกันแต่มักจะผสมพันธุ์ข้ามตัวดังภาพที่ 1 พบกระจายทั่วไปในประเทศไทยในหลากหลายถิ่นที่อยู่อาศัย หอยชนิดนี้อาศัยบนดิน ออกหากินเวลากลางคืนมักพบซุกซ่อนตัวอยู่ใต้กองเศษใบไม้ที่กำลังเน่าเปื่อยผุพังและตามต้นอ่อนพืช การศึกษาหอยทากบกในประเทศไทยที่ผ่านมามีการศึกษาทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย การศึกษาที่สำคัญมากคือ การจัดทำบัญชีรายชื่อของหอยทากกลุ่ม Pulmonata ของรองศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ปัญหา (Panha, 1996) พบหอยทาก 15 families, 59 genera และ 136 species ซึ่งรวมทั้งหอยในวงศ์ Arionphantidae ปัจจุบันถือว่าข้อมูลทางอนุกรมวิธานของหอยกลุ่มนี้มีน้อยมาก

แรดดูลาเป็นโครงสร้างจำเพาะในสัตว์พวกหอย มีเพียงกลุ่มหอยสองฝาเท่านั้นที่ไม่พบโครงสร้างนี้ บางครั้งเรียกโครงสร้างนี้ว่า แผ่นลิ้นหรือแผ่นฟัน มีลักษณะเป็นแผ่นที่ประกอบไปด้วยฟันที่เป็นสารไคติน อยู่ถัดปากเข้าไปก่อนถึงหลอดอาหาร เวลาหอยจะกินอาหารจะยื่นแผ่นลิ้นออกไปขูด ตัดอาหารแล้วส่งไปยังหลอดอาหาร (Baker, 2001; Cooke, 1895) แรดูลามีรูปแบบที่หลากหลายในแต่ละกลุ่ม แต่ละสกุลและแต่ละชนิด จึงสามารถนำมาใช้ประกอบการจัดจำแนกหอยเป็นกลุ่มต่าง ๆได้ นอกจากนั้นลักษณะรูปทรงต่าง ๆ ของแรดูลายังสามารถบอกได้ถึงประเภทของอาหารที่หอยกลุ่มนั้นบริโภค ซึ่งสามารถจำแนกประเภทของหอยได้ตามลักษณะการกินอาหารได้ เช่น herbivore carnivore เป็นต้น แรดูลา 1 แผ่นประกอบไปด้วยแถวฟันตามยาวหลายแถว หนึ่งแถวจะมีชนิดของฟันอยู่ 2-3 ชนิด เรียงต่อกันเป็นลักษณะสมมาตร (symmetry) โดยทั่วไปจะพบฟันกลาง (central teeth) เพียง 1 ซี่ ถัดไป ซ้ายขวา ฟันจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นลักษณะสมมาตรจากฟันข้าง (lateral teeth) ไปจนถึงขอบฟัน (marginal teeth) จำนวนฟันสามารถเขียนสูตรฟันได้ เช่น 12 8 1 8 12 แสดงว่าใน 1 แถวตามขวางมีฟัน 41 ซี่ เป็นฟันกลาง (Central tooth) 1 ซี่ ฟันข้าง (Lateral teeth) 8+8=16 ซี่ และฟันขอบ (Marginal teeth) 12+12=24 ซี่ ดังภาพที่ 2

การจัดจำแนกชนิดหอยทากบกส่วนใหญ่ที่ผ่านมาอาศัยข้อมูลด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยาเท่านั้น เช่น ลักษณะภายนอกของเปลือกที่แตกต่างกัน ลักษณะของแรดูลา และกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ แต่ในหอยทากบางกลุ่มมีลักษณะภายนอกของเปลือกที่คล้ายกันมาก ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ดังนั้น การใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียวไม่สามารถจำแนกหอยทากบกที่เป็นสปีชีส์ซ่อนเร้นได้ (Kongim et al., 2006) โดยเฉพาะหอยทากบกบางชนิดที่มีการกระจายตัวกว้าง อาศัยอยู่ในถิ่นที่อยู่อาศัยที่มีการแบ่งแยกในหลายๆ สภาพแวดล้อม ทำให้หอยทากบกมีปฏิสัมพันธ์กับลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่เกี่ยวกับถิ่นที่อยู่อาศัยของกลุ่มประชากรนั้นๆ ส่งผลให้ลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกันไปในขณะที่ลักษณะสัณฐานวิทยาคงที่ ซึ่งเรียกสิ่งมีชีวิตนี้ว่า สปีชีส์ซ่อนเร้น (Cryptic species)

สปีชีส์ซ่อนเร้น คือ สิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันแต่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมและถูกจำแนกเป็นสปีชีส์เดียว ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาสปีชีส์ซ่อนเร้นไม่สามารถจำแนกได้จากลักษณะที่มองเห็น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาโครงสร้างประชากรโดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุลมากขึ้น ทำให้การค้นพบ สปีชีส์ซ่อนเร้นเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการค้นพบสปีชีส์ซ่อนเร้นแล้ว 2,207 เรื่องในไฟลัม มอลลัสกาพบรายงาน มี 121 เรื่อง (Pfenninger and Schwenk, 2007)

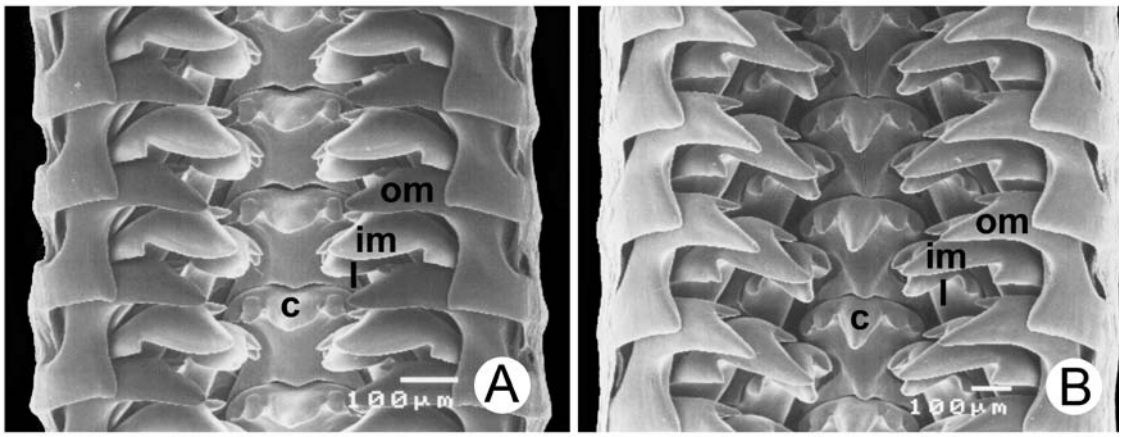
ประเทศไทยตั้งอยู่ในบริเวณที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ดังนั้นโอกาสที่จะค้นพบสปีชีส์ซ่อนเร้นในสิ่งมีชีวิตต่างๆ จึงมีความเป็นไปได้มาก สำหรับหอยทากบกในซับคลาสพัลโมนาตาที่เป็นสปีชีส์ซ่อนเร้นในประเทศไทยได้แก่ หอยต้นไม้ สปีชีส์ *A mphidromus atricallosus* หรือที่เรียกว่า หอยนกขมิ้น เป็นหอยที่มีการดำรงชีวิตอยู่บนต้นไม้ พบกระจายตัวตั้งแต่ภาคตะวันออก ภาคใต้ของไทย ภาคใต้ของพม่า มาเลเซีย และสิงคโปร์ จะเห็นว่าการกระจายตัวของหอยต้นไม้ชนิดนี้กว้างมากส่งผลให้หอยนกขมิ้นมีเปลือกที่มีความหลากหลายทั้งขนาด รูปร่าง และสี (Pilsbry, 1900, Laidlaw and Solem, 1965 ; ภาพที่ 4) จากลักษณะดังกล่าวทำให้นักอนุกรมวิธานเกิดความสับสนในการจัดจำแนก เช่น ในกลุ่มหอยต้นไม้ สปีชีส์ *Amphidromus atricallosus* ถูกจำแนกเป็น 3 ชนิดคือ *Amphidromus atricallosus*, *Amphidromus leucoxanthus* และ *Amphidromus perakensis* ต่อมา Laidlaw and Solem (1961) จำแนกหอยนกขมิ้นออกเป็น 3 subspecies คือ *Amphidromus atricallosus atricallosus*, *Amphidromus atricallosus leucoxanthus* และ *Amphidromus atricallosus perakensis* ต่อมา Solem (1965) เห็นว่า 3 subspecies นี้ควรเป็นเพียงรูปแบบหนึ่งของสีที่แตกต่างกันเท่านั้น เนื่องจากเมื่อพิจารณาจากตัวอย่างที่มากขึ้น พบว่าทุกลักษณะที่ใช้ในการจำแนก subspecies พบได้ทั่วทุกการการกระจายตัว จึงยังคงยึดเป็นสปีชีส์เดียวคือ *Amphidromus atricallosus* เช่นเดิม เมื่อไม่นานนี้ Sutcharit and Panha (2006) ได้ศึกษากายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ พบว่า ในทุกการกระจายของหอยนกขมิ้นมีลักษณะของระบบสืบพันธุ์ไม่แตกต่างกัน ต่อมา Prasankok et al. (2007) ได้วิเคราะห์ความแตกต่างของอัลลีลระหว่างกลุ่มประชากรของหอยนกขมิ้นโดยวิธี starch gel electrophoresis พบว่า สามารถแยก

กลุ่มหอยนกขมิ้นจากระยะห่างทางพันธุกรรมดังภาพที่ 1 ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย กลุ่มประชากรจากภาคตะวันออกของไทย กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยกลุ่มตัวอย่างจากภาคใต้และ กลุ่มที่ 3 ตัวอย่างจากสิงคโปร์ นอกจากนี้ระหว่างกลุ่มตัวอย่างพบว่ามีความแตกต่างกันของอัลลีล แสดงว่าไม่มีการเคลื่อนย้ายของยีนระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ทั้งนี้เนื่องจากหอยนกขมิ้นมีกิจกรรมทั้งหมดอยู่บนต้นไม้ มีความสามารถในการกระจายตัวต่ำ ดังนั้นโอกาสที่จะมีการเคลื่อนย้ายของยีนจึงต่ำไปด้วย จากผลการศึกษาการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัลลีลระหว่างกลุ่มประชากรสามารถสรุปได้ว่า การแยกตัวทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่อาจทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมของหอยนกขมิ้นมีการเปลี่ยนแปลงไป จนเกิดกลไกการแบ่งแยกทางการสืบพันธุ์ขึ้นระหว่างตัวอย่างจากภาคตะวันออก ภาคใต้ของไทยและสิงคโปร์ ดังภาพที่ 3

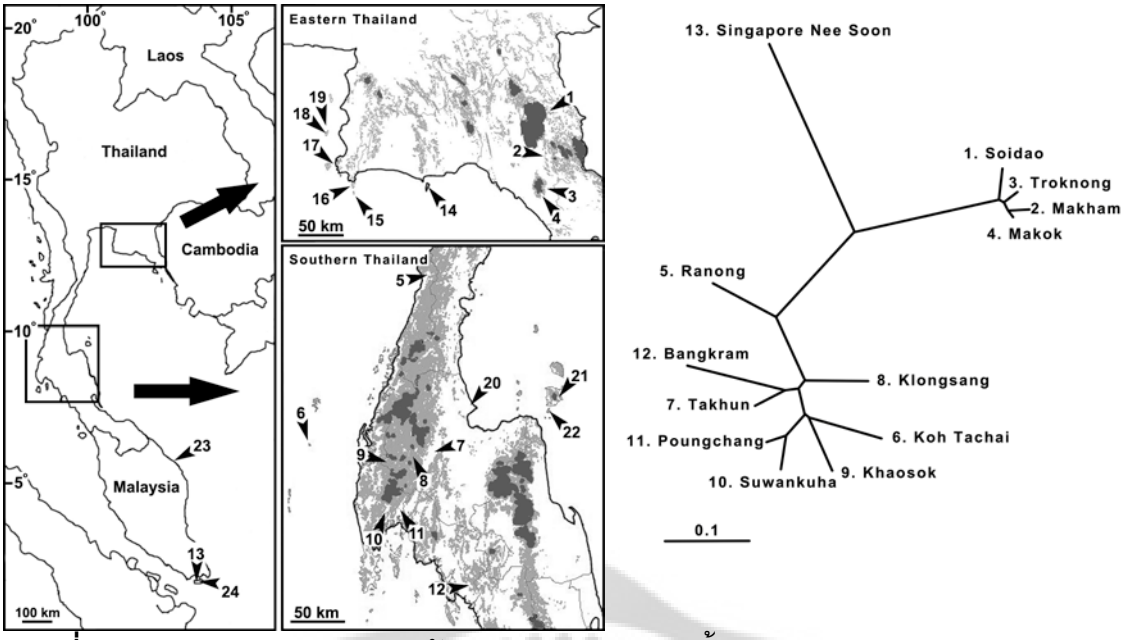
หอยทากบกในซับคลาสโพรโซแบรงเคียที่เป็นสปีชีส์ซ่อนเร้นได้แก่ หอยเดื่อ *Cyclophorus fulguratus* เป็นต้น หอยเดื่อเป็นหอยทากบกอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก (Kongim et al., 2006; Habe, 1964) มีการกระจายตัวกว้างในหลายๆ พื้นที่ของประเทศไทยยกเว้นทางภาคใต้ (ภาพที่ 6) หอยชนิดนี้มีลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัยที่ถูกแยกออกจากกันตามลักษณะการกระจายตัวของภูเขาหินปูน เมื่อทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าสามารถจัดกลุ่มหอยทากชนิดนี้ตามความแตกต่างทางพันธุกรรมออกเป็น 3 กลุ่ม ดังภาพที่ 5 จากค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง 3 กลุ่มซึ่งมีค่าสูงมากซึ่งเป็นผลมาจากความผันแปรทางภูมิศาสตร์ทำให้ถิ่นที่อยู่อาศัยมีความไม่ต่อเนื่องกันร่วมด้วยกับแรงผลักดันทางวิวัฒนาการ ทำให้ 3 กลุ่มตัวอย่างนี้ถูกแบ่งแยกออกจากกันเกิดเป็น สปีชีส์ซ่อนเร้นภายในหอยเดื่อ นอกจากการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัลลีลแล้วการวิเคราะห์ด้วยคาริโอไทป์ในหอยเดื่อยังให้ผลสอดคล้องกัน (Kongim et al., 2006)

การศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยทากบกสกุล *Cryptozona* ในประเทศไทยมีน้อยมาก จากการสำรวจเอกสาร พบว่า Panha (1996) ได้รายงานเกี่ยวกับหอยทากบก Subclass Pulmonata ในประเทศไทย พบว่า การจัดจำแนกหอยทากบกสกุลนี้ในประเทศมีเพียงชื่อเดียวเท่านั้นคือ *Cryptozona siamensis* จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่าหอยทากสยามมีความหลากหลาย ทั้ง ขนาด รูปร่าง และสี ที่ค่อนข้างจะมีนัยสำคัญ จึงทำให้เกิดความสับสนต่อการศึกษาทางอนุกรมวิธานเนื่องจากทำให้เกิดสมมุติฐานของสปีชีส์ซ่อนอยู่ในกลุ่มมากกว่าหนึ่งสปีชีส์หรือเรียกว่าสปีชีส์ซ่อนเร้น (cryptic taxonomic diversity)(Katoh and Foltz, 1994; Emberton, 1995; Hillis and Patton, 1982; Hoagland et al., 1987; Maneevong, 2000)] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ P anha (19 96) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากทางชนิดของหอยในสกุล *Cryptozona* ในประเทศไทย โดยทำการวิเคราะห์ความผันแปรของสัณฐานวิทยา เช่น เปรียบเทียบลักษณะของเปลือกและแรดูลา

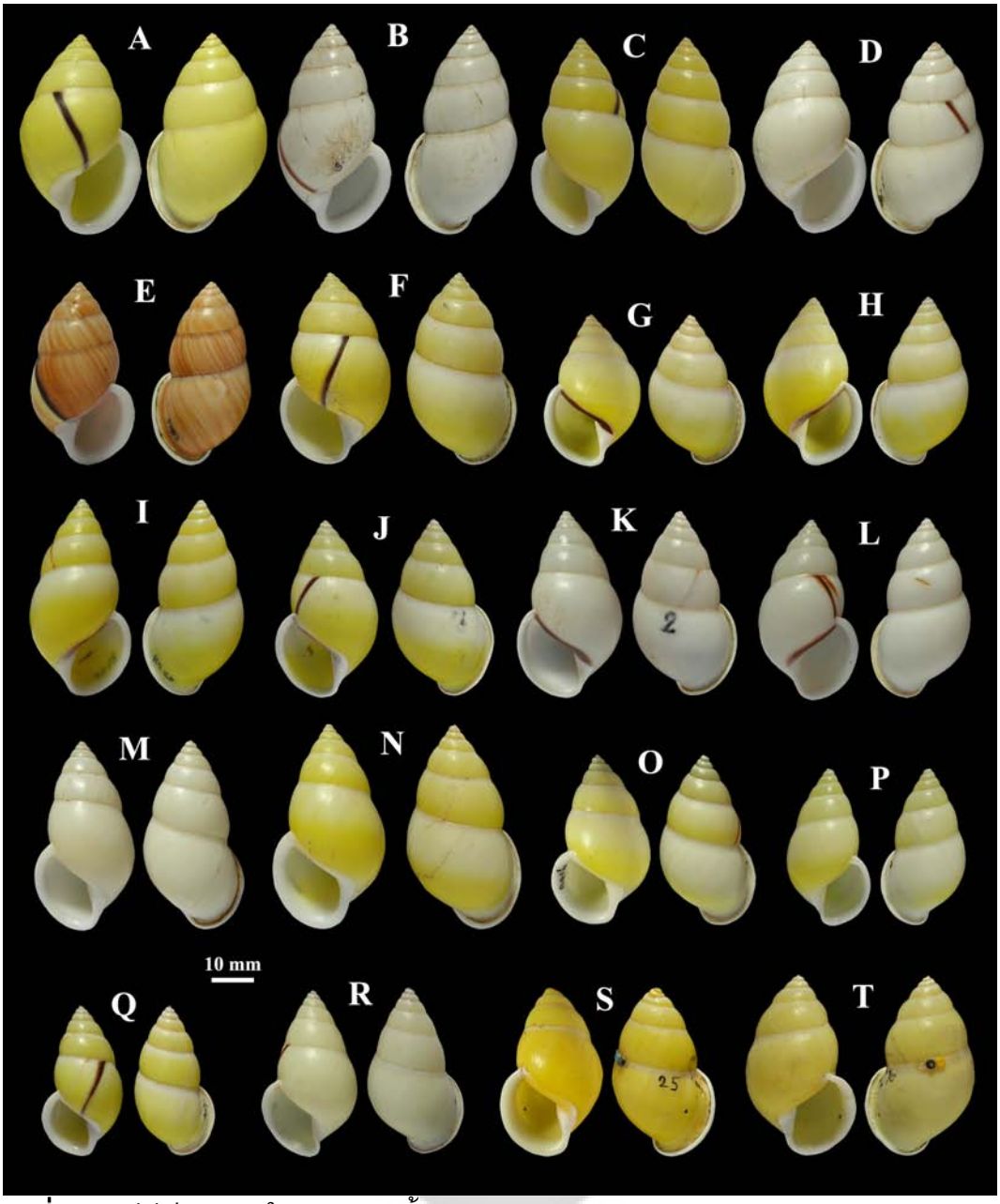
ภาพที่ 1 หอยทากสยาม *Cryptozona siamensis*



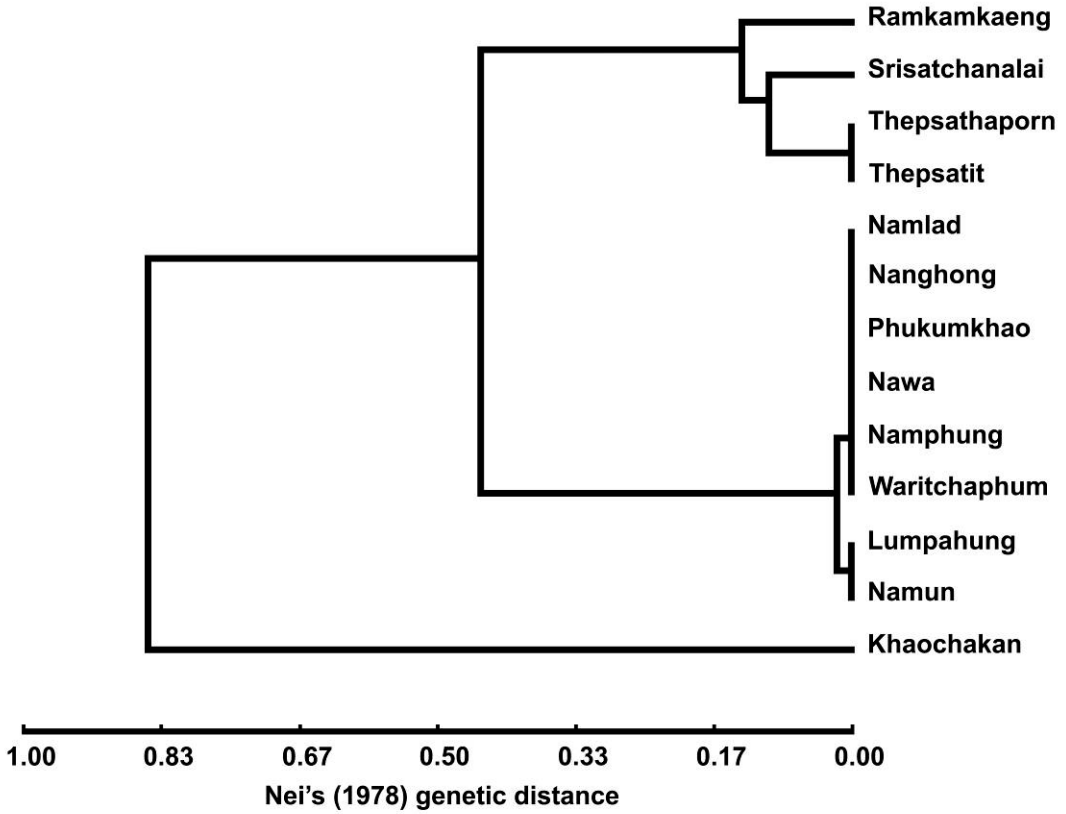
ภาพที่ 2 ลักษณะของแรดูลา



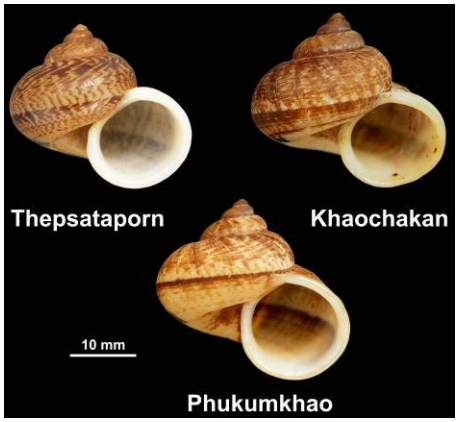
ภาพที่ 3 แผนภาพระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยนกขมิ้นระหว่างกลุ่มประชากรจาก ภาคตะวันออก, ภาคใต้ของไทย และสิงคโปร์ ด้วยวิธี Unrooted neighbor-joining (Prasankok et al., 2007)

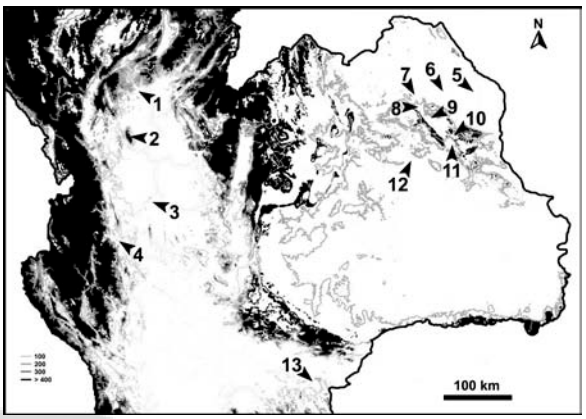


ภาพที่ 4 สปีชีส์ซ่อนเร้นในหอยนกขมิ้น *A mphidromus atricallosus* : A-F; *A mphidromus atricallosus leucoxanthus*, G-R; *Amphidromus atricallosus atricallosus*, S-T; *Amphidromus atricallosus perakensis*



ภาพที่ 5 แผนภาพระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยเดื่อระหว่างกลุ่มประชากรจาก ภาคตะวันออก, ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ด้วยวิธี UPGMA





ภาพที่ 6 เปลือกและการกระจายตัวของหอยเดื่อใน ภาคตะวันออก ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Prasankok et al., 2008)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1 การเก็บตัวอย่างและข้อมูลในภาคสนาม

1.1 ทำการเก็บตัวอย่างหอยทากบกสกุล *Cryptozona siamensis* โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วการกระจายตัวในประเทศไทย (Baversock and Moritz, 1990) ในจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ เพชรบูรณ์ หนองบัวลำภู สกลนคร พิษณุโลก สระแก้ว จันทบุรี ชลบุรี ระนอง สุราษฎร์ กระบี่ และมาเลเซีย ทั้งหมด 19 กลุ่มประชากร ดังภาพที่ 7 และ ตารางที่ 1

1.2 จดรายละเอียดของข้อมูลประกอบตัวอย่างเช่น พื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง (locality) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัย ข้อมูลทางเศรษฐกิจ เช่น การบริโภค และการจำหน่ายเป็นสินค้า ข้อมูลทางสาธารณสุข เช่น การเป็นโฮสท์ให้กับปรสิต

2 การศึกษาและเก็บข้อมูลในห้องปฏิบัติการ

2.1 ตรวจสอบชนิดของตัวอย่างหอยที่เก็บมาโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นแบบที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและจากงานวิจัยของ Panha (1996)

2.2 จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาวัดค่าสัณฐานวิทยาของเปลือกด้วยตัวแปร 14 ดังภาพที่ 8 ซึ่งมีลักษณะดังนี้ shell height, shell width, aperture height, aperture width, body whorl width, spire height, body whorl height, shell height/shell width, shell height /spire height, shell height / body whorl height, shell width / aperture width, aperture height / aperture width, aperture width /spire height และ body whorl width / aperture

2.3 การเตรียมแรดูลา โดยผ่านกระบวนการต่างๆ ดังนี้

2.3.1 ตัดอุ้งปากลงในหลอดทดลองขนาดเล็กที่มีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % ประมาณ ¼ ของหลอดต้มใน water bath จนเนื้อเยื่อถูกย่อยจนหมด

2.3.2 ตรวจหาแรดูลาด้วยกล้อง Stereo microscope หรือกล้องจุลทรรศน์จะเห็นแรดูลามีลักษณะเป็นสายหรือขดเป็นวงลอยอยู่ในสารละลาย

2.3.3 สังเกตความสะอาดของแรดูลาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ไม่ให้มีเยื้อเยื่อหรือสิ่งสกปรกติดอยู่ ถ้าไม่สะอาดต้องนำไปต้มใหม่หรือล้างออกโดยใช้พู่กันขนาดเล็กภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.3.4 ใช้ปิเปตดูดแรดูลามาใส่หลอด vial ที่มีน้ำเพื่อล้างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

2.3.5 Dehydration ในเอทิลแอลกอฮอล์ 30%, 50% และ 70%

2.3.6 เก็บแรดูลาไว้ในหลอดที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวัดความกว้างเฉลี่ยโดยแบ่งเป็น 2 วิธีการดังนี้

ก. นำแรดูลามาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาโดยผ่านกระบวนการต่างๆดังนี้

- Dehydration ในเอทิลแอลกอฮอล์ 80%, 90% และ 95%

- ย้อมด้วยสี Lactophenol blue
- ล้างสีด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% อีกครั้ง
- Dehydration ใน xyline เป็นขั้นตอนสุดท้าย
- ทำเป็นสไลด์ถาวรโดยใช้ Canada balsum เป็นตัวเม้าท์
- นำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาแล้วถ่ายรูปเพื่อศึกษารายละเอียด นับจำนวน และวัดความกว้างเฉลี่ยของแผ่นแรดูลา

ข. ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM) ดังนี้

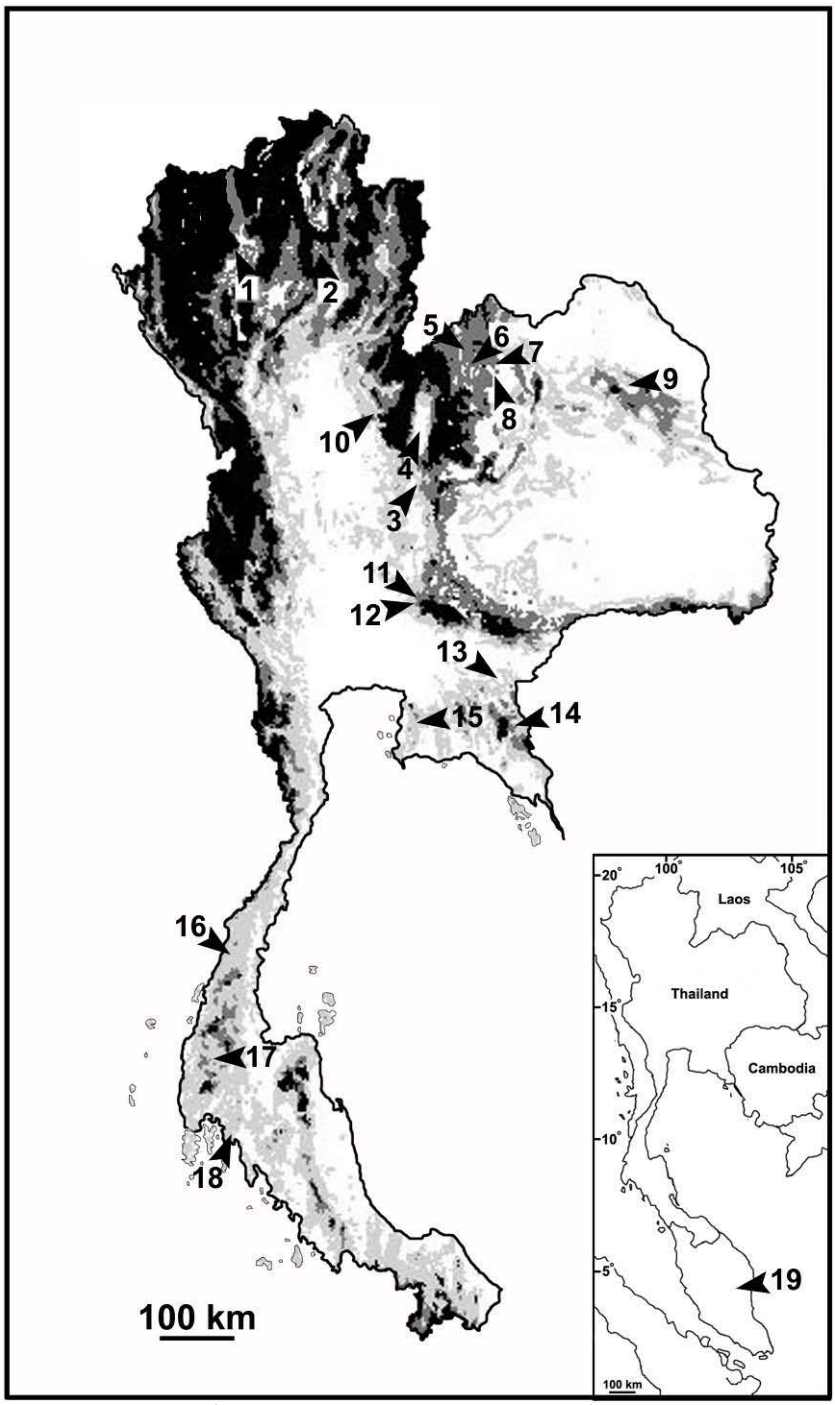
- ศึกษารายละเอียดและนับจำนวน
- หาสูตรฟัน (ฟันริม: ฟันข้าง: ฟันกลาง: ฟันข้าง: ฟันริม)
- วัดความกว้างเฉลี่ยของแผ่นแรดูลา

3 การวิเคราะห์ข้อมูล

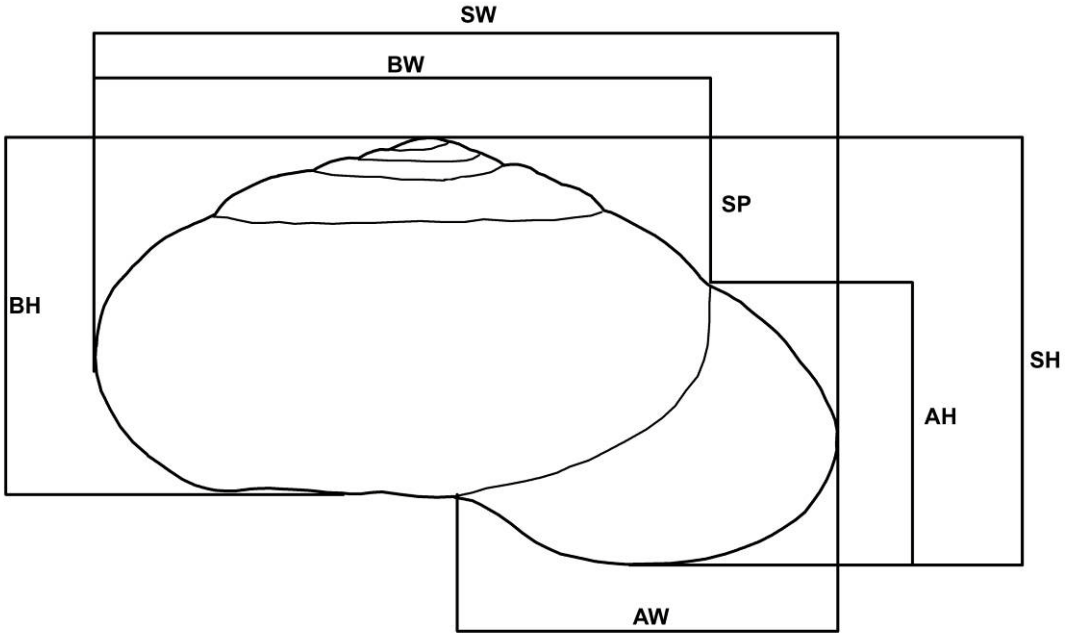
วิเคราะห์ความแตกต่างของเปลือกโดยนำค่าที่ได้มาทำเป็นค่าสัดส่วน วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Discriminant Analysis และ Principal component analysis

ตารางที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง

ลำดับที่	พื้นที่เก็บตัวอย่าง	จำนวน	พิกัด
1	ถ้ำบริจินดา จังหวัดเชียงใหม่	8	98° 40′ 20.1″ E, 18° 29′ 97.3″ N
2	ถ้ำจักรพรรดิ จังหวัดแพร่	27	99° 59’ 06.15” E, 18° 09’ 16.03” N
3	ถ้ำแก้วกายสิทธิ์ จังหวัดเพชรบูรณ์	29	101° 01′ 49.2″ E, 15° 44′ 21.5″ N
4	วัดถ้ำน้ำบัง อ.เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์	25	101° 8′ 57″ E, 16° 26′ 35″ N
5	วัดถ้ำน้ำผาบิ้ง จังหวัดเลย	39	101° 44′ 3.5″ E, 17° 18′ 1.3″ N
6	วัดถ้ำโพธิสัตว์ กิ่ง อ.หนองหิน จังหวัดเลย	26	101° 42′ 37.9″ E, 17° 34′ 43.2″ N
7	โนนทัน จังหวัดหนองบัวลำภู	70	102° 31′ 11.8″ E, 17° 14′ 38.2″ N
8	นาวัง จังหวัดหนองบัวลำภู	20	102° 4′ 21″E, 17° 19′ 22″ N
9	ภูพาน จังหวัดสกลนคร	12	103° 57’ 58.52” E, 17° 00’ 13.83”N
10	เนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก	7	100° 40′ 41.80″ E, 16° 41′ 40.40″ N
11	น้ำตกเจ็ดคต จังหวัดสระบุรี	38	101° 09’ 29.0” E, 14° 28’ 20.7” N
12	ถ้ำดาวเขาแก้ว จังหวัดสระบุรี	5	101° 11′ 54″ E, 14° 39′ 20″ N
13	เขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว	3	102° 05’ 49.2” E, 13° 39’ 63.3” N
14	ถ้ำแก้วสวรรค์ จังหวัดจันทบุรี	12	102° 23’ 93.6” E, 13° 06’ 49.6” N
15	ถ้ำประทุน จังหวัดชลบุรี	17	101° 01’ 11.44” E, 12° 57’ 43.24” N
16	น้ำตกกะเปาะ จังหวัดระนอง	7	99° 12′ 43.99″ E, 10° 44′ 36.65″ N
17	เขาศก จังหวัดสุราษฎร์	6	98° 51′ 08.30″ E, 8° 59′ 39.37″ N
18	อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่	14	98° 52’ 57.13” E, 8° 09’ 54.38” N
19	Chintamanis มาเลเซีย	21	102° 00’ 98.7” E, 3° 26’ 79.8” N



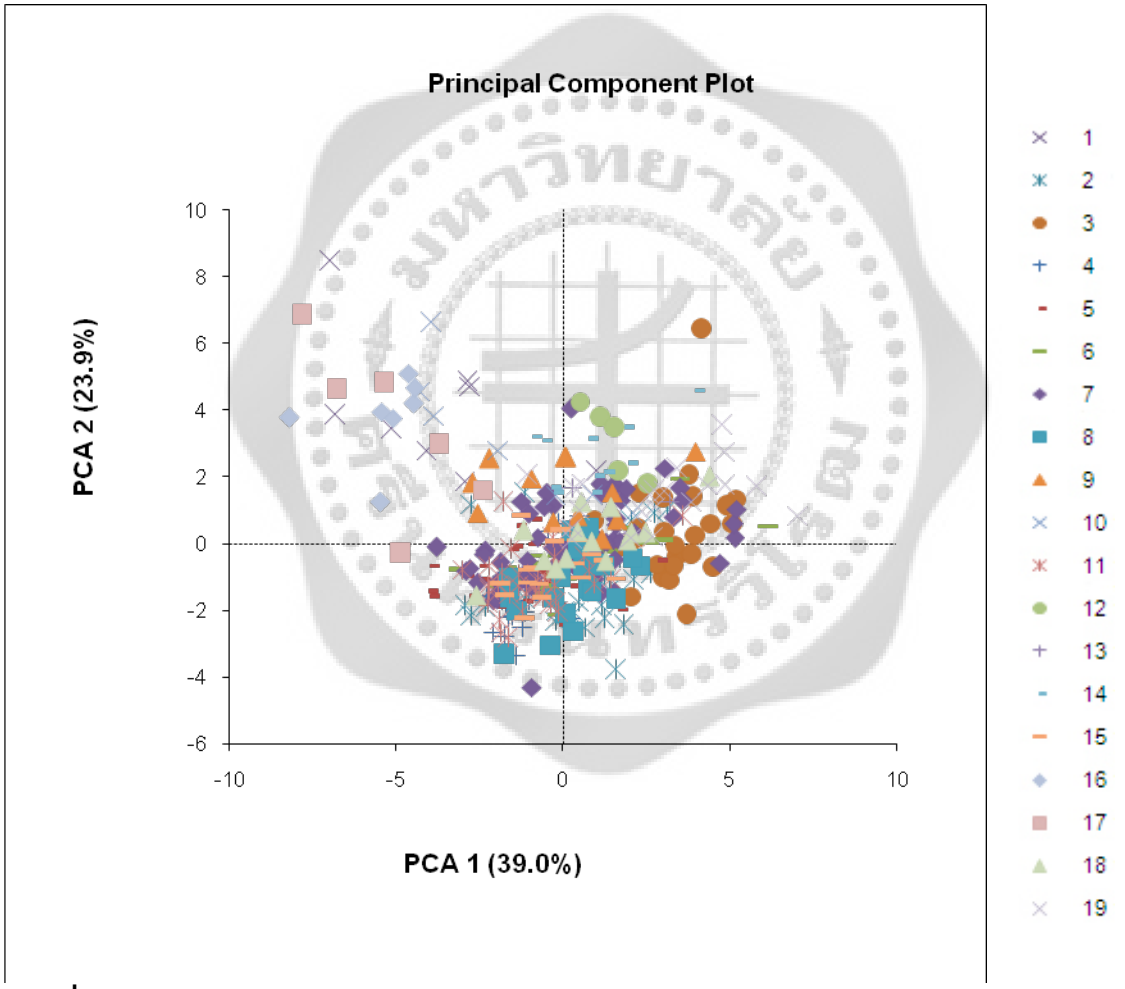
ภาพที่ 7 พื้นที่เก็บตัวอย่าง; 1=ถ้ำบริจินดา จังหวัดเชียงใหม่ 2=ถ้ำจักรพรรดิ จังหวัดแพร่ 3=ถ้ำแก้วกายสิทธิ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ 4=วัดถ้ำน้ำบัง อ.เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 5=วัดถ้ำน้ำผาบิ้ง จังหวัดเลย 6=วัดถ้ำโพธิสัตว์ กิ่ง อ.หนองหิน จังหวัดเลย 7=โนนทัน จังหวัดหนองบัวลำภู 8=นาวัง จังหวัดหนองบัวลำภู 9=ภูพาน จังหวัดสกลนคร 10=เนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก 11=น้ำตกเจ็ดคต จังหวัดสระบุรี 12=ถ้ำดาวเขาแก้ว จังหวัดสระบุรี 13=เขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว 14=ถ้ำแก้วสวรรค์ จังหวัดจันทบุรี 15=ถ้ำประทุน จังหวัดชลบุรี 16=น้ำตกกะเปาะ จังหวัดระนอง 17=เขาศก จังหวัดสุราษฎร์ 18=อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่ และ 19=Chintamanis มาเลเซีย



ภาพที่ 8 แสดงตำแหน่งที่วัดเปลือกหอยแต่ละเปลือก

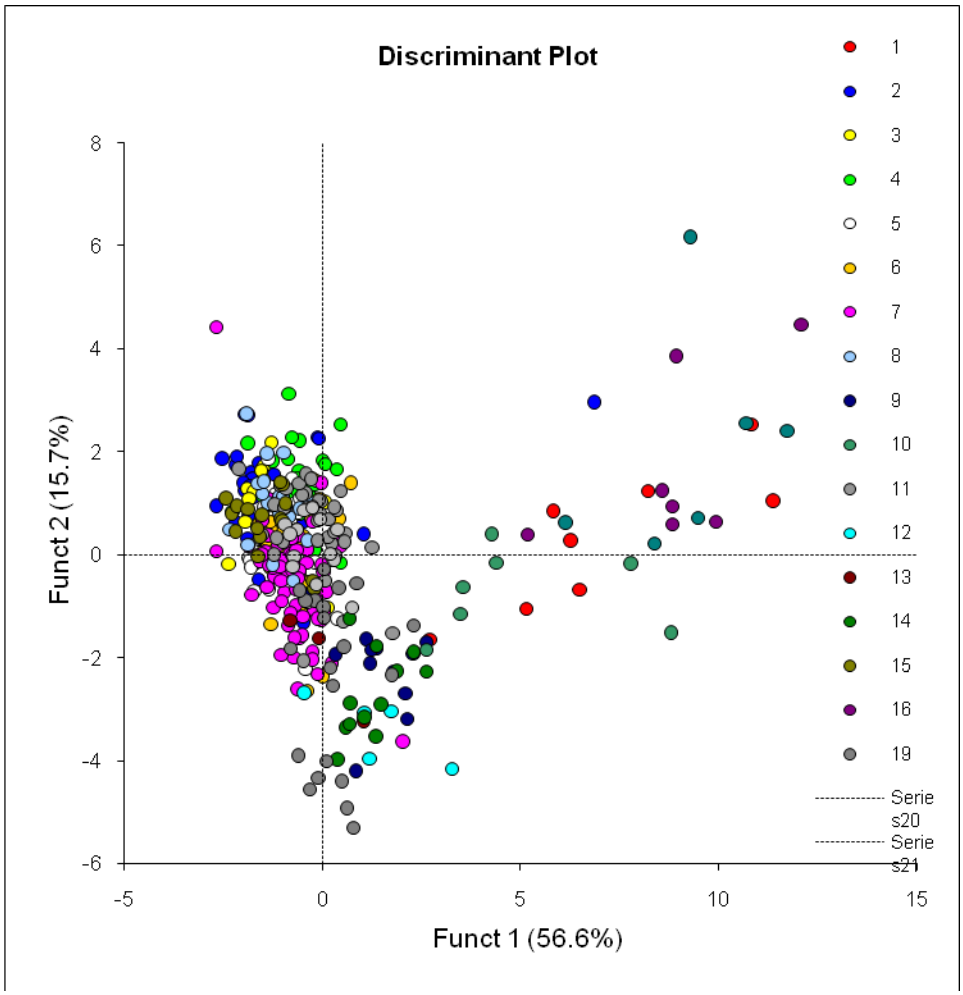
บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากผลการศึกษามอร์โฟเมตริก จำนวน 14 ลักษณะดังนี้ SH, SW, AW, AH, SP, BH, BW, SH/SW, SH/SP, SH/BH, SW/AW, AH/AW, AW/SP และ BW/AW ของเปลือกหอยทากสยาม 19 พื้นที่ โดยวิธี principal component analysis พบว่า แต่ละลักษณะมีค่า Eigenvectors ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งมีค่า % of Variance 38.984, 23.864, 13.173, 9.657 และ 7.332 ที่ PC 1-5 ตามลำดับและเมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง PCA 1 และ PCA 2 สามารถแยกกลุ่มหอยทากสยามได้ 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ประชากรที่ 1, 10, 16 และ 17 และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยประชากรที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 18 และ 19 ดังภาพที่ 9

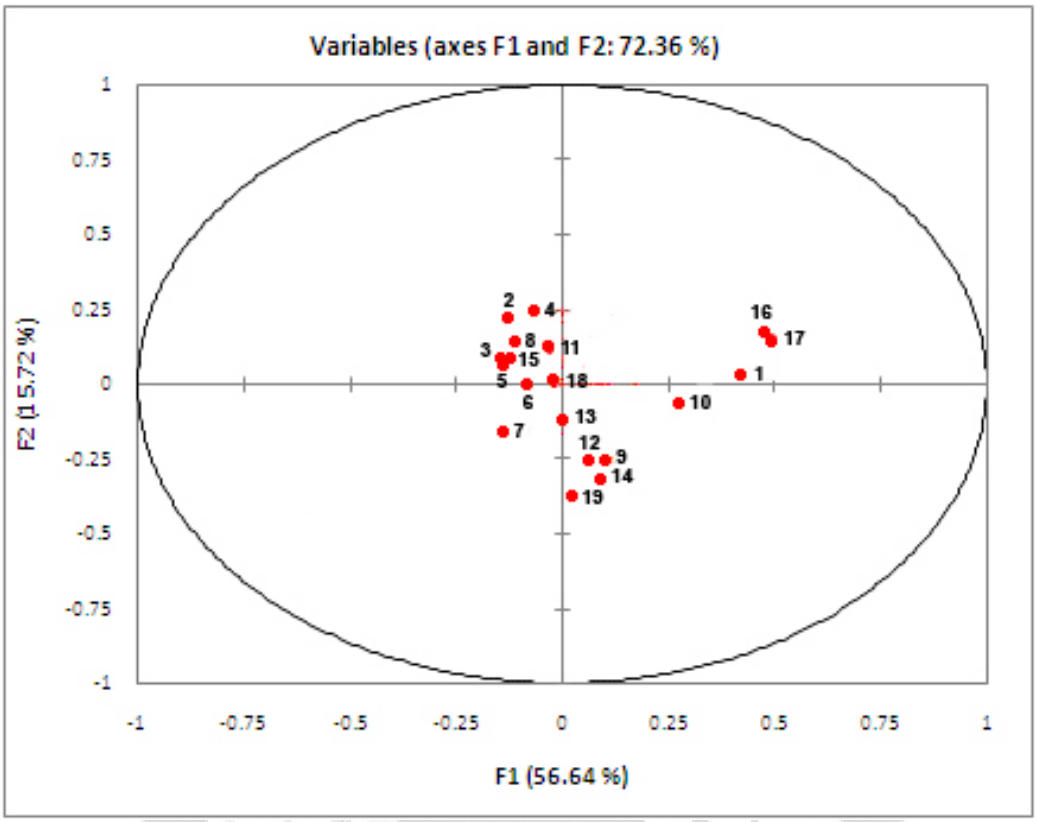


ภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง PCA 1 และ PCA 2 ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี principal component analysis

เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis พบว่า แต่ละลักษณะ % of Variance และ Eigenvalue มีค่า Function 1-14 ดังแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะในแต่ละประชากรและเมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง Function 1 และ Function 2 สามารถแยกกลุ่มหอยทากสยามได้ 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ประชากรที่ 1, 10, 16 และ 17 และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยประชากรที่ 7, 9, 12,13,14 และ 19 และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 2, 3, 4, 5, 6, 8, 11, 15 และ 18 ดังภาพที่ 10 และภาพที่ 11



ภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Function 1 และ Function 2 ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis



ภาพที่ 11 แสดง Centroid ของแต่ละประชากรจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis

ตารางที่ 2 แสดง Eigenvector ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย principal component analysis

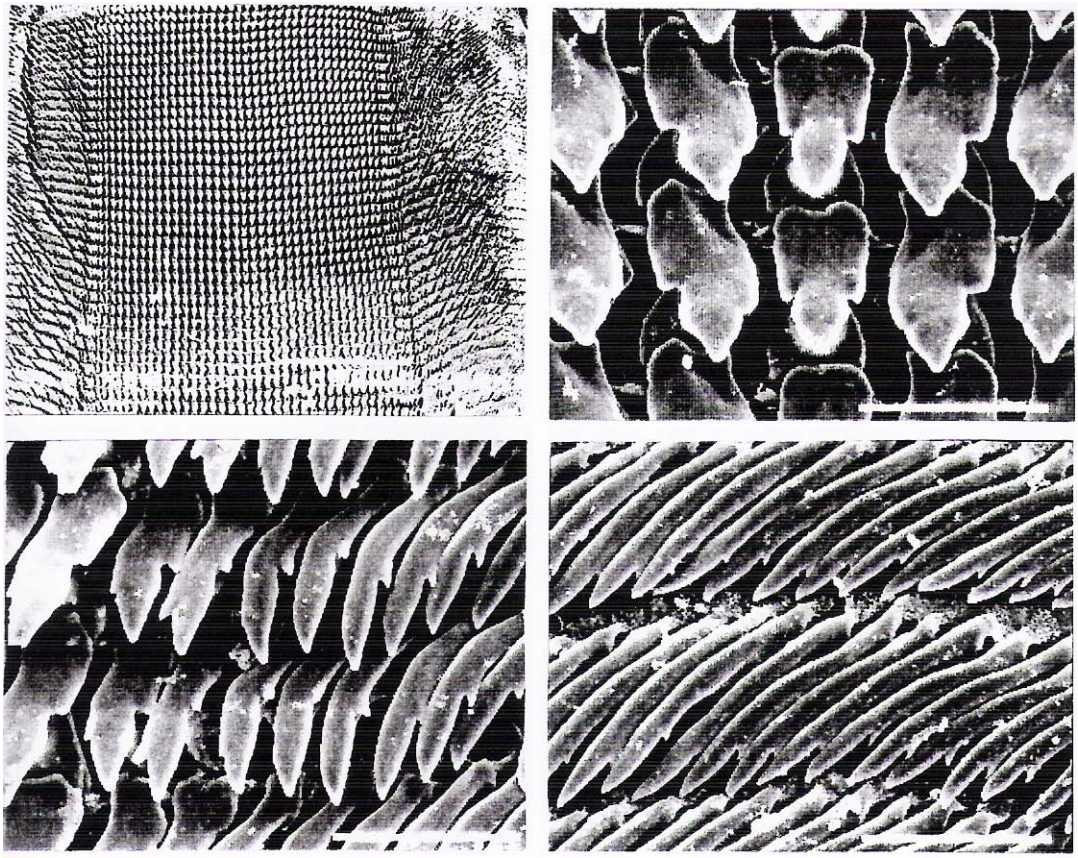
Variable	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5
SW	0.405	0.090	0.041	0.182	-0.045
SH	0.379	0.082	0.223	-0.229	-0.102
AW	0.392	0.176	-0.121	0.074	-0.134
AH	0.331	0.187	0.280	0.122	-0.158
SP	0.299	-0.312	-0.115	-0.210	0.176
BH	0.309	0.253	0.167	-0.151	0.399
BW	0.382	-0.069	0.042	0.256	-0.154
SH/SW	-0.016	0.004	0.335	-0.736	-0.098
SH/SP	-0.181	0.441	0.213	0.072	-0.188
SH/BH	0.013	-0.323	0.020	-0.096	-0.761
SW/AW	-0.052	-0.278	0.470	0.266	0.257
AH/AW	-0.184	-0.022	0.602	0.042	0.001
AW/SP	-0.162	0.466	0.064	0.201	-0.202
BW/AW	0.040	-0.400	0.258	0.304	-0.029
Eigenvalue	5.458	3.341	1.844	1.352	1.026
% of Variance	38.984	23.864	13.173	9.657	7.332

ตารางที่ 3 แสดง Standardised Discriminant Function Coefficients ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Discriminant Analysis

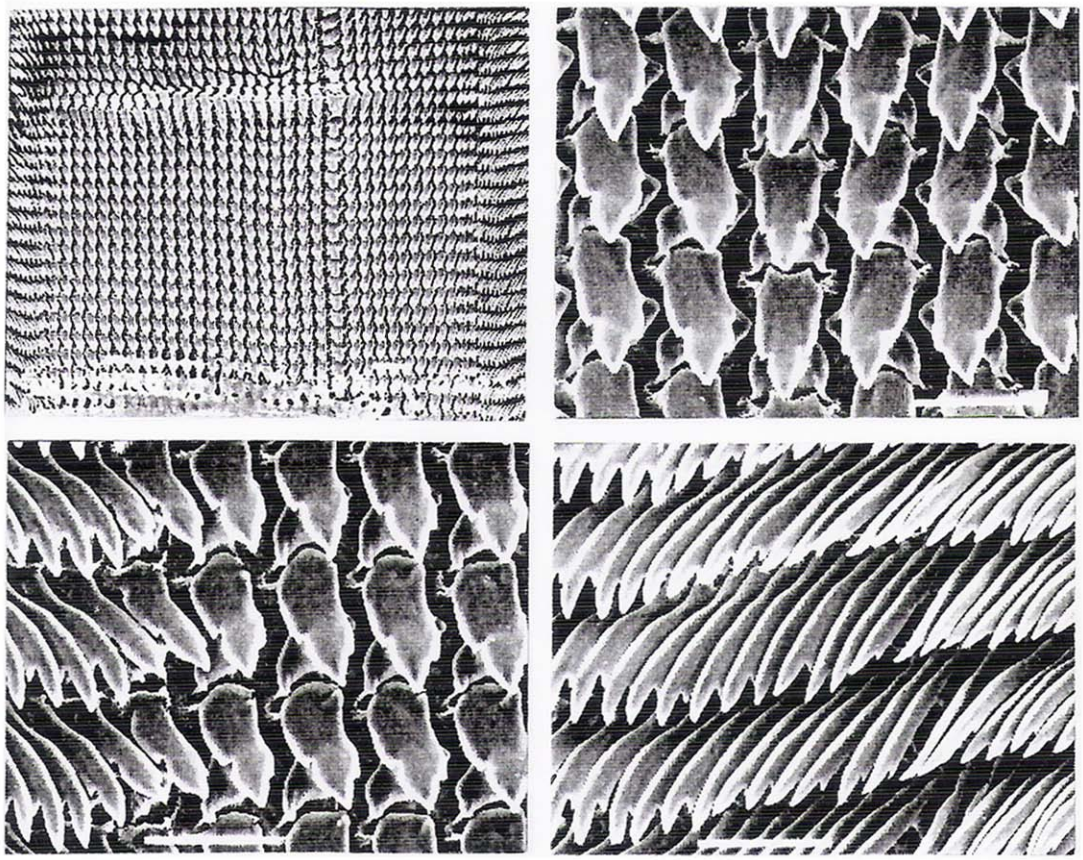
Variable	Function 1	Function 2	Function 3	Function 4	Function 5	Function 6	Function 7	Function 8	Function 9	Function 10	Function 11	Function 12	Function 13	Function 14
SW	-3.584	-1.177	8.590	3.253	-0.989	13.375	-6.577	12.269	3.644	-7.849	8.523	-13.764	-5.672	3.221
SH	-2.679	-2.868	2.822	-1.159	0.279	8.900	1.382	-12.188	-4.781	0.503	2.815	1.366	7.312	-0.312
AW	0.023	2.842	-0.406	4.367	-1.150	-6.975	-2.914	1.990	-7.374	5.980	-3.557	15.301	2.493	-3.739
AH	1.176	-4.740	-8.845	2.528	1.198	-9.169	-0.651	-1.436	-1.060	0.477	-1.797	-2.182	-4.558	-2.167
SP	0.299	0.753	0.082	0.405	-0.309	-1.620	0.119	0.443	-1.443	0.553	0.167	-0.929	-0.182	0.360
BH	-1.264	1.047	-0.201	-2.664	-0.482	-0.753	1.899	0.230	1.951	2.046	-2.906	0.652	-1.330	3.446
BW	6.022	4.869	-1.155	-8.314	1.168	-5.260	9.007	-2.729	8.626	-0.114	-4.921	1.202	3.442	0.163
SH/SW	1.828	1.472	-1.657	3.112	-0.363	-4.257	-2.449	6.410	4.701	-1.132	-0.958	-1.178	-1.446	-0.489
SH/SP	2.930	-1.097	0.482	-1.300	0.663	-0.723	3.171	1.863	-7.708	0.601	1.365	-0.124	-7.246	-3.139
SH/BH	-1.259	0.525	-0.049	-1.959	-1.002	-0.559	0.912	0.253	1.073	1.340	-1.784	0.121	-0.865	1.613
SW/AW	3.384	2.011	-5.105	0.203	0.825	-10.664	1.219	-2.004	1.458	2.834	-6.138	6.087	1.841	-2.623
AH/AW	-0.898	3.233	6.968	-2.410	-1.489	7.662	0.764	1.607	0.546	-1.157	1.716	1.868	4.186	2.300
AW/SP	-2.462	1.382	-0.421	1.755	-0.878	-0.299	-3.858	-1.556	7.465	0.485	-1.622	-0.808	8.002	3.739
BW/AW	-4.878	-3.340	0.417	5.664	-0.376	3.950	-5.745	2.564	-5.879	0.747	3.462	-1.005	-2.266	0.156
Eigenvalue	5.267	1.462	1.033	0.444	0.393	0.223	0.176	0.160	0.059	0.037	0.031	0.011	0.002	0.001
% of Var.	56.643	15.721	11.106	4.772	4.230	2.401	1.891	1.724	0.630	0.397	0.330	0.116	0.024	0.014

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Discriminant Analysis

Class \ Variable	SW	SH	AW	AH	SP	BH	BW	SH/SW	SH/SP	SH/BH	SW/AW	AH/AW	AW/SP	BW/AW
1	23.125	14.223	12.508	10.651	3.571	12.437	16.871	0.615	4.267	1.141	1.854	0.856	3.781	1.354
2	26.757	15.152	13.816	11.130	6.988	12.007	22.702	0.566	2.199	1.273	1.940	0.809	2.006	1.645
3	30.116	17.651	15.919	12.128	7.682	13.869	24.058	0.586	2.318	1.290	1.895	0.764	2.097	1.515
4	24.569	14.970	12.909	10.596	6.933	11.444	20.693	0.610	2.174	1.311	1.909	0.823	1.878	1.608
5	24.923	14.484	13.041	10.935	5.855	10.807	20.969	0.581	2.510	1.342	1.913	0.840	2.264	1.610
6	26.464	15.632	13.924	11.547	6.609	12.069	22.418	0.590	2.369	1.297	1.903	0.831	2.112	1.611
7	26.975	15.885	14.283	11.840	6.210	11.950	22.628	0.589	2.628	1.335	1.892	0.832	2.370	1.587
8	25.997	15.654	13.751	11.097	7.242	11.924	22.266	0.602	2.180	1.314	1.895	0.810	1.916	1.624
9	27.008	16.245	14.206	12.413	5.073	13.048	22.458	0.600	3.266	1.245	1.902	0.876	2.867	1.581
10	25.367	15.904	13.386	11.337	4.567	13.621	18.674	0.626	3.687	1.165	1.892	0.846	3.187	1.392
11	24.942	15.464	12.869	10.988	6.334	12.022	21.407	0.620	2.467	1.289	1.940	0.855	2.053	1.665
12	29.416	17.080	15.760	13.292	4.896	13.848	23.932	0.582	3.551	1.235	1.866	0.844	3.288	1.518
13	28.223	17.427	15.397	12.853	6.290	13.247	24.157	0.620	2.836	1.316	1.832	0.837	2.507	1.570
14	28.556	16.430	15.229	12.874	5.009	13.618	23.033	0.576	3.300	1.207	1.877	0.847	3.061	1.514
15	26.457	14.315	13.709	10.922	6.108	11.686	22.949	0.541	2.372	1.230	1.931	0.798	2.273	1.674
16	21.103	13.200	11.447	10.084	3.116	11.642	15.379	0.628	4.325	1.134	1.846	0.884	3.771	1.346
17	21.483	13.710	11.245	10.375	3.335	12.043	15.861	0.638	4.433	1.137	1.910	0.924	3.734	1.410
18	27.277	16.107	14.305	11.387	6.201	13.216	23.484	0.590	2.613	1.224	1.909	0.798	2.323	1.643
19	29.613	17.968	15.849	13.152	6.521	14.390	24.733	0.607	2.792	1.251	1.869	0.829	2.464	1.561



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะของแรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดชลบุรี เกาะมารวิชัย



ภาพที่ 13 แสดงลักษณะของแรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดจันทบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ ชลบุรี อุทัยธานี

จากศึกษาแรดูลาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM) พบว่า แรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดจันทบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ ชลบุรี อุทัยธานี มีสูตรฟันเป็น (20-25: 17: 1: 17: 20-25) ดังภาพที่ และ แรดูลาของหอยทากสยามที่เก็บได้จากจังหวัดชลบุรีมีสูตรฟันเป็น (20-25: 15-18: 1: 15-18: 20-25) ดังภาพที่

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผล

จากผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของหอยทากสยามชนิด *Cryptozona siamensis* ซึ่งเป็นชนิดที่มีการการะจายกว้างมากที่สุดในประเทศไทย พบว่าจากลักษณะของเปลือกสามารถแบ่งหอยทากสยาม ออกได้เป็น 2 และ 3 กลุ่ม ตามภาพที่ 9 และ 10 โดยเฉพาะในกลุ่มที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย ประชากรที่ 1 10 16 และ 17 แสดงผลการศึกษาเหมือนกันจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี principal component analysis และ Discriminant Analysis ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในหอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* อาจจะมีสปีชีส์ซ่อนเร้น (cryptic species) เช่นเดียวกับหอยทากบกชนิดอื่นๆ เช่น หอยนกขมิ้น *Amphidromus atricallosus* (Prasankok et al., 2007) หอยหอม *Cyclophorus fulguratus* (Prasankok et al., 2008) และหอยงวงท่อ *Rhiostoma housei* (Prasankok et al., inpress) เป็นต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความผันแปรทางภูมิศาสตร์ทำให้ลักษณะของถิ่นที่อยู่อาศัยมีทั้งความคล้ายกันและแตกต่างกัน เมื่อรวมเข้ากับแรงกดดันทางธรรมชาติด้านอื่นๆ อาทิ อุณหภูมิ ความชื้น สัตว์ผู้ล่า กลายเป็นแรงผลักดันทางวิวัฒนาการ ทำให้ หอยทากสยามถูกแบ่งแยกออกจากกัน เกิดเป็นสปีชีส์ซ่อนเร้นขึ้น อย่างไรก็ตามยังคงไม่สามารถมองเห็นความแตกต่างของสปีชีส์ที่ชัดเจนได้ด้วยตาเปล่า ถึงแม้จะมีความผันแปรของสูตรฟันบ้างเล็กน้อย

จากการศึกษานี้อาจเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนักอนุกรมวิธานที่ใช้เพียงลักษณะสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนก เพื่อนำไปสู่การยืนยันข้อมูลที่ค้นพบครั้งนี้อาจต้องมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมในระดับโมเลกุล เพื่อช่วยยืนยันในเรื่องของสปีชีส์ซ่อนเร้นได้หอยทากสยามชนิดนี้ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ในระดับโมเลกุล เพื่อพิสูจน์ในเรื่องของสปีชีส์ซ่อนเร้นดังกล่าวข้างต้นนั้น ปัญหาพื้นฐานที่สำคัญคือการจำแนกทางอนุกรมวิธานของตัวอย่างที่ได้มาทั้งหมด ต้องสามารถยืนยันลักษณะของสปีชีส์ทางสัณฐานวิทยาได้อย่างแม่นยำ และยืนยันได้ด้วยเอกสารและหลักฐานทางอนุกรมวิธานให้ได้มากที่สุด จึงจะได้รับการยอมรับ อย่างไรก็ตามเรื่องดังกล่าวไม่สามารถทำได้ 100% แต่เราสามารถนำผลของทั้งสองอย่างมาปรับแต่งให้กับการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตเป็นไปตามธรรมชาติได้มากที่สุด

บรรณานุกรม

Baker, G. M. (2001). **The biology of terrestrial molluscs**. Cromwell Press, UK, 1-513

Baversock, P. R. & Moritz, C. (1990). **Sampling design**. In: Hillis, D. M. and Moritz, C., editors. *Molecular systematics*. Sunderland: Sinauer Associates: 13-41

Cooke, A.H. (1895). **Mollusca**. In Harmer, S.F. and Shipley, A.E. (Editors) The Cambridge Natural History. 1-459

Emberton, K. C. (1995). Cryptic, genetically extremely divergent, polytypic, convergent, and polymorphic taxa in Madagascan *Tropidophora* (Gastropoda: Pomatiasidae). **Biological Journal of Linnean Society** 55: 183-208

Habe, T., 1964. Operculated land molluscs from Southeast Asia. **Fauna and Flora Research Society Kyoto** 4: 111-127

Hillis, D. M., & Patton, J. C. (1982). Morphological and electrophoretic evidence for two species of *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in North America. **American Midland Naturalist** 108: 74-80

Hoagland, K. E., & Davis, G. M. (1987). The succineid snail fauna of Chittenango falls, New York: taxonomic status with comparisons to other relevant taxa. **Proceedings of Academy of Natural Science of Philadelphia** 139: 465-526

Katoh, M., & Foltz, D. W. (1994). Genetic subdivision and morphological variation in a freshwater snail species complex formerly referred to as *Viviparus georgianus* (Lea). **Biological Journal of Linnean Society** 53: 73-90

Kongim, B., Naggs, F., & Panha, S., (2006). Karyotype of operculate land snails of the genus *Cyclophorus* (Prosobranchia: Cyclophoridae) in Thailand. Invertebrate Reproductive Development 49: 1-8

Laidlaw, F. F., Solem, A. (1961). **The land snail genus *Amphidromus,* a synoptic catalogue.** Chicago: Chicago Natural History Museum Press.

Panha, S. (1996). A checklist and classification of the terrestrial pulmonate snail of Thailand. **Walkerana** 8: 31-40

Pfenninger, M, & Schwenk, K. (2007). Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. **BMC Evolutionary Biology** 7: 121-126

Pilsbry, H.A. (1900). Manual of Conchology, structural and systematic with illustrations of the species, Series 2, Vol. 13. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia

Prasankok, P., Ota, H., Toda, M., & Panha, S. (2007). Allozyme variation in the camaenid tree snails, *Amphidromus atricallosus* (Gould, 1843) and *A. inversus* (Müller, 1774). **Zoological Science** 24: 189-197

Prasankok, P., Sutcharit, C., Tongkerd, P., & Panha, S. (2008). Biochemical assessment of the taxonomic diversity of the operculate land snail, *Cyclophorus fulguratus* (Gastropoda: Cyclophoridae), from Thailand. **Biochemical Systematics and Ecology** 36: 900-906

Solem, A. (1965). Land snails of the genus *Amphidromus* from Thailand (Mollusca: Pulmonata: Camaenidae). **Proceeding of the United States National Museum** 117: 615-627

Sutcharit, C., Panha, S. (2006). Taxonomic review of the tree snail *Amphidromus* Albers, 1850 (Pulmonata: Camaenidae) in Thailand and adjacent areas: Subgenus *Amphidromus*. **Journal of Molluscan Studies** 72: 1-30

ประวัติย่อผู้วิจัย

1.ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย): นางสาวผ่องพรรณ ประสารกก

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ): Ms. Pongpun Prasankok

2.เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน: 3-2504-01071-96-3

3.ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์

4. หน่วยงาน

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนน สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กทม 10110

โทรศัพท์ 66-2-664-1000 ต่อ 8108

โทรสาร: 66-2-260-0127

E-mail: Prasankok@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชา ชีววิทยา สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จ 2542

ปริญญาโท สาขาวิชา สัตววิทยา สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จ 2545

ปริญญาเอก สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จ 2550