

คำนำ

งานวิจัยเรื่อง “ความหลากหลายชนิดพันธุ์และสายวิวัฒนาการของหอยน้ำจืดสกุล *Thiara* Röding, 1798 (Gastropoda: Thiaridae) ในประเทศไทย” เป็นงานวิจัยที่ทำการศึกษาเพื่อตรวจสอบชนิดพันธุ์ของหอยน้ำจืดสกุล *Thiara* Röding, 1798 ในประเทศไทย ว่ามีสายพันธุ์ อื่นใดนอกจาก *Thiara scabra* หรือไม่ โดยมีการจัดแผนผังสายวิวัฒนาการ เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลการศึกษา จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของตัวอ่อน องค์กรความรู้ที่ได้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษางานวิจัยเชิงประยุกต์ในด้านวิวัฒนาการและด้านพันธุศาสตร์ อีกทั้งยังสามารถก่อให้เกิดองค์ความรู้ต่อผู้ที่สนใจสามารถนำไปพัฒนางานด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศต่อไปในอนาคตได้เป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2559

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. ดวงเดือน ไกรลาศ
นายดุสิต บุญมีก่า

หัวหน้าโครงการวิจัย
ผู้ร่วมวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณหน่วยงานและผู้ให้การสนับสนุน การดำเนินการวิจัย ดังนี้ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ในการสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณ Museum of Natural History Berlin, Humboldt University, Berlin City, Germany สำหรับตัวอย่างหอยที่ใช้ในการศึกษาร่วมกับหอยที่สุ่มเก็บในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนการผลิตงานวิจัย ขอขอบคุณ Prof. Dr. Matthias Glaubrecht ในการให้คำปรึกษา การดูแลนักศึกษาและพัฒนา ศักยภาพของนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เพื่อสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการช่วยเหลือและให้ความสะดวกตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

บทคัดย่อ

ภาษาไทย

ชื่อรายงานวิจัย ความหลากหลายชนิดพันธุ์และสายวิวัฒนาการของหอยน้ำจืดสกุล *Thiara* Röding, 1798 (Gastropoda: Thiariidae) ในประเทศไทย

ชุดโครงการวิจัย อนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาของหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้วงศ์ Thiariidae และ Pachychilidae: ให้ความสำคัญที่หอยสกุล *Thiara* Röding, 1798, *Melanoides* Olivier, 1840 และ *Brotia* Adams, 1866 เป้าหมายเพื่อการตรวจทานชนิดพันธุ์ของประเทศไทย

ชื่อผู้วิจัย

1. รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงเดือน ไกรลาศ (หัวหน้าโครงการวิจัย)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

2. นายดุสิต บุญมีก่า (ผู้ร่วมวิจัย)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557-2558

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ 2559

ประเภทการวิจัย การวิจัยพื้นฐาน

สาขาวิชา สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา

บทคัดย่อ

หอยน้ำจืดสกุล *Thiara* Röding, 1798 ในประเทศไทยมีรายงานไว้เพียง 1 ชนิด คือ *Thiara scraba* จากรายงานของหน่วยวิจัยปรสิตวิทยาและสังขวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พบหอยที่มีรูปร่างใกล้เคียงกับหอยน้ำจืด *Thiara rudis* ที่ไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อน การศึกษาในครั้งนี้ ทำการเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของเปลือก ฟัน การพัฒนาตัวอ่อนและสายวิวัฒนาการระหว่างหอยน้ำจืด *T. rudis* จากประเทศไทยและประเทศอื่นๆ โดยศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกจากการวัดความสูงเปลือก ความกว้างเปลือก และ size index ทำการวิเคราะห์รูปร่างเปลือกโดยวิธี morphometric analysis ศึกษาพันหอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนภายในถุงฟักตัวอ่อนและตัดเนื้อเยื่อส่วนเท้าเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอเอาไว้เป็นแม่แบบในการทำปฏิกิริยาสายลูกโซ่ของยีน cytochrome C oxidase I (COI) สายวิวัฒนาการถูกสร้างด้วยอัลกอริทึม Clustalw และ Neighbor-joining (NJ) ของโปรแกรม MEGA 5.0 ผลการศึกษารูปร่างของเปลือกหอยพบความแตกต่างของผิวเปลือกและสีของเปลือก และมีความแตกต่างของขนาดและรูปร่างเปลือกเล็กน้อย ฟันของหอย *T. rudis* เป็นแบบ Taenioglossa ภายในถุงฟักตัวอ่อนของ *T. rudis* ของประเทศไทย พบตัวอ่อนมีทั้งแบบที่มีตัวอ่อนทั้งมีเปลือกและไม่มีเปลือก และแบบที่มีแต่ตัวอ่อนที่ไม่มีเปลือก สายวิวัฒนาการระหว่างหอยน้ำจืด *T. rudis* และหอยชนิดอื่นในวงศ์ไทอาริดีแสดงให้เห็นว่าหอยน้ำจืดชนิดนี้แยกตัวออกจากหอยชนิดอื่นๆ ถึงแม้ว่าหอย *T. rudis* จะแยกออกเป็นสองกลุ่มก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถรายงานการพบ *T. rudis* ในประเทศไทย

คำสำคัญ: รูปร่างเปลือกหอย, หอยน้ำจืด, วงศ์ไทอาริดี, สกุลไทเอียรา, สายวิวัฒนาการ

ภาษาอังกฤษ

Research Title Species Diversity and Phylogenetic Tree of Freshwater Snails genus *Thiara* Röding, 1798 (Gastropoda: Thiaridae) in Thailand.

Project Title Taxonomy and Ecology of Snail Intermediate Host of Trematodes in Family Thiaridae and Pachychilidae and Related Taxa: Focusing on Snails from the Genus *Thiara* Röding, 1798, *Melanooides* Olivier, 1840 and *Brotia* Adams, Aim to Verifying Genera/Species and Fauna of Thailand.

Researcher

1. Assoc. Prof. Dr. Duangduen Krailas (Project Leader)

Department of Biology, Faculty of science, Silpakorn University

2. Mr. Dusit Boonmekhum (Co-Researcher)

Department of Biology, Faculty of science, Silpakorn University

Research Grants Fiscal Year 2014-2015

Research and Development Institute, Silpakorn University

Year of completion 2016

Type of research Basic research

Subjects Agriculture and Biology

Abstract

Freshwater snails genus *Thiara* Röding, 1798 was reported one species, *Thiara scabra* in Thailand. The reports of Parasitology and Medical Malacology Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University showed some snails looked like *Thiara rudis*, that never been reported in Thailand before. This study were comparing of shell morphology, radula, ontogeny and phylogenetic relationship between *T. rudis* from Thailand and other countries. Height, width and size index were measured and analyzed by morphometric analysis. Radulae were studied under scanning electron microscope. Development of embryos and juveniles in brood pouch of female were studied. Genomic DNA were extracted from foot tissue and used for Polymerase chain reaction of cytochrome C oxidase I gene. Phylogenetic tree was constructed by Clustalw and Neighbor Joining (NJ) algorithm of MEGA 5.0 program. The results of shell morphologies showed shell ornamentations and colorations were different. But there was slightly different in biometry. Radulae of *T. rudis* was taenioglossa type. In brood pouch of Thai *T. rudis*, some contained only juvenile without shell, but some contained both shelled juvenile and juvenile without shell. Phylogenetic tree showed that *T. rudis* isolated from other Thiarids. Although they were separated into 2 clades. Here, we could concluded that *T. rudis* occurred in Thailand.

Keywords: shell morphology, freshwater snails, family Thiaridae, genus *Thiara*,

Phylogenetics

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
คณะผู้วิจัย	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาไทย	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ซ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	2
ผลการดำเนินงาน	9
วิเคราะห์ผลการศึกษา	35
สรุปผลการดำเนินงาน	36
บรรณานุกรม	37
ภาคผนวก 1	39
- คำอธิบายศัพท์เฉพาะ	
ภาคผนวก 2	41
- การเตรียมสารเคมี	
ประวัตินักวิจัย	43

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 หอยสกุล <i>Thiara</i> ที่พบในประเทศไทย	2
รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหอย	4
รูปที่ 3 การกำหนดจุดของ การวิเคราะห์เปลือกหอยโดยวิธี morphometric analysis	5
รูปที่ 4 บริเวณที่พบหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i>	9
รูปที่ 5 สระน้ำหน้าคณะอักษรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จ.นครปฐม	10
รูปที่ 6 คลองดอนโฆ อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร	11
รูปที่ 7 หอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศอินโดนีเซีย Clade 1	12
รูปที่ 8 หอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศอินโดนีเซีย Clade 2	12
รูปที่ 9 หอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara</i> spp. ประเทศต่างๆและประเทศไทย	13
รูปที่ 10 ภาพแสดง box plot ของความสูง (height) ของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i>	15
รูปที่ 11 ภาพแสดง box plot ของ size index (h/w) ของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i>	16
รูปที่ 12 ภาพแสดง scatter plot ระหว่างความสูง (h) และความกว้าง (w) ของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i>	17
รูปที่ 13 รูปแสดงผลการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเปลือกของหอยน้ำจืด <i>Thiara rudis</i>	19
รูปที่ 14 ผลการวิเคราะห์รูปร่างเปลือกหอย <i>Thiara rudis</i> จากประเทศไทยเปรียบเทียบกับ <i>T. rudis</i> จากประเทศอินโดนีเซีย	20
รูปที่ 15 ลักษณะพนักกลาง พันข้างและพมริมของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศไทย	23
รูปที่ 16 ลักษณะพนักกลาง พันข้าง พมริมของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศอินโดนีเซีย	25
รูปที่ 17 ตัวอ่อนแบบไม่มีเปลือก (juvenile without shell) ในถุงพักตัวอ่อน (brood pouch) ของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ภายใต้กล้องสเตอริโอ	27
รูปที่ 18 ตัวอ่อนแบบมีเปลือกของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศไทย	28
รูปที่ 19 ตัวอ่อนแบบมีเปลือกของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> ประเทศอินโดนีเซีย	29
รูปที่ 20 รูปแบบการสีบพันธุ์ของหอย <i>T. rudis</i> จากจุดสำรวจต่างๆ	31
รูปที่ 21 สายวิวัฒนาการของหอยน้ำจืด <i>Thiara rudis</i> สร้างจากยีน Cytochrome C oxidase I (COI)	32
รูปที่ 22 สายวิวัฒนาการของหอยน้ำจืด <i>Thiara rudis</i> สร้างจากยีน 16s ribosomal gene (16s)	33
รูปที่ 23 สายวิวัฒนาการของหอยน้ำจืด <i>Thiara rudis</i> สร้างจากยีน Cytochrome C oxidase I (COI)	34

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ขนาดเปลือกของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i> จากแต่ละจุดสำรวจ	18
ตารางที่ 2 สูตรฟันของหอยฝาเดียวชนิด <i>Thiara rudis</i>	26
ตารางที่ 3 ขนาด protoconch ของตัวอ่อนหอยน้ำจืด <i>Thiara rudis</i> (μm)	30