

คำนำ

การวิจัยเรื่อง สันฐานวิทยาของเปลือก, การพัฒนาตัวอ่อน, และพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล ของหอยน้ำจืดสกุล *Brotia* Adams, 1866 (Cerithioidea, Pachychilidae) ในประเทศไทย: เพื่อตรวจทานความหลากหลายพันธุกรรม และความเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ เป็นการศึกษเกี่ยวกับลักษณะทางสันฐานวิทยาของเปลือก (morphology) ฝาปิดปากเปลือก (operculum) กายวิภาคศาสตร์ (anatomy) และชีวโมเลกุล (molecular Biology) ในการจัดอนุกรมวิธานหอยวงศ์ Pachychilidae ขึ้นมาใหม่ในประเทศไทย ซึ่งพบการกระจายพันธุ์ของหอยสกุลนี้ในหลายพื้นที่ เช่น ภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, ภาคกลาง และภาคใต้ของประเทศไทย และยังมีในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง, แม่น้ำแควน้อย, แม่น้ำพอง, และแม่น้ำป่าสัก โดยหอยสกุลนี้เคยมีการรายงานไว้ทั้งหมด 39 ชนิดพันธุ์ และยังเป็นหอยที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ดังนั้น งานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการตรวจสอบชนิดพันธุ์หอยสกุล *Brotia* ในประเทศไทย เพื่อให้เกิดความชัดเจนของชนิดพันธุ์ ควบคู่ไปกับการตรวจสอบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ด้วย อันจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อนักสังขวิทยาและปรสิตวิทยาในประเทศต่อไป

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2559

คณะผู้วิจัย

นางสุลักษณ์ นามโชติ

รองศาสตราจารย์ ดร. ดวงเดือน ไกรลาศ

นางสาวชตพรพรช ชวนประสิทธิ์

นางสาวสุภัทรรตา ศรีทองแท้

นางสาวภาพร วงเวียน

นางสาวภินันท์รักษ์ ประทุมศรีขจร

นางสาววิภาวีน แซ่โก

นางสาวหทัยทิพย์ สัจจางค์วานิชย์

นางสาวสุวิมล ผ่องภักดิ์

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยวิจัย

ผู้ช่วยวิจัย

ผู้ช่วยวิจัย

ผู้ช่วยวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร จากงบประมาณแผ่นดินในปี พ.ศ. 2557 และ พ.ศ. 2558 คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ Museum of Natural History Berlin, Humboldt University, Berlin City, Germany สำหรับตัวอย่างหอยที่ใช้ในการศึกษาร่วมกับหอยที่สุ่มเก็บในประเทศไทย ขอขอบคุณ ผู้ให้ความช่วยเหลือในงานเทคนิคต่างๆ และการเก็บตัวอย่าง ดังต่อไปนี้ นายสมโภช สัจจธรรมวัช, นายวิฑูรย์ แซ่โจ้ว, ส.อ.สมภพ ขำเสงี่ยม, ส.ท.ปริญญา เขียวชาญ, นาย เพิ่มศักดิ์ ดวงแก้ว, นางสาวธัชพร สุขเนตร, นายธเนศ ใจสบาย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการช่วยเหลือและให้ความสะดวกตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

บทคัดย่อ

ภาษาไทย

รายงานวิจัย สัณฐานวิทยาของเปลือก, การพัฒนาตัวอ่อน, และพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลของหอยน้ำจืดสกุล *Brotia* Adams, 1866 (Cerithioidea, Pachychilidae) ในประเทศไทย: เพื่อตรวจทานความหลากหลายชนิดพันธุ์ และความเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้

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

ชื่อผู้วิจัย

- นางสุลักษณ์ นามโชติ (หัวหน้าโครงการวิจัย)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
- รองศาสตราจารย์ ดร. ดวงเดือน ไกรลาศ (ผู้ร่วมวิจัย)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
- นางสาวชตพรพร ชวนประสิทธิ์ (ผู้ร่วมวิจัย)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
- นางสาวภาพร วงเวียน (ผู้ร่วมวิจัย)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557-2558
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ 2559

ประเภทการวิจัย การวิจัยพื้นฐาน

สาขาวิชา สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา

บทคัดย่อ

การศึกษาหอยวงศ์ Pachychilidae สกุล *Brotia* Adams, 1866 ที่สามารถพบในประเทศไทย โดยได้ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก, การพัฒนาตัวอ่อน, และพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลของหอยน้ำจืดสกุล *Brotia* จาก 26 พื้นที่ในประเทศไทย เพื่อตรวจทานความหลากหลายชนิดพันธุ์ และความเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ ผู้วิจัยสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยจากทุกภาคของประเทศ สุ่มเก็บตัวอย่างด้วยวิธีใช้มือเก็บ (hand picking) และใช้กระชอนตัก (scooping) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือก วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปร่างของเปลือกหอยโดยวิธี geometric morphometric (GM) กายวิภาค แรดูลา การพัฒนาตัวอ่อน การติดเชื้อปรสิต และลำดับสายวิวัฒนาการ (16S rRNA และ COI) แล้วนำมาวิเคราะห์ร่วมกัน ผลการศึกษาพบหอยสกุล *Brotia* 15 ชนิดพันธุ์ ได้แก่ *B. armata*, *B. binodosa*, *B. citrina*, *B. costula*, *B. dautzenbergiana*, *B. henriettae*, *B. manningi*, *B. microsculpta*, *B. pagodula*, *B. paludiformis*, *B. peninsularis*, *B. pseudosulcospira*, *B. solemiana*, *B. subgloriosa* และ *B. wykoffi* สามารถศึกษาตัวอ่อนหอย 8 ชนิดพันธุ์ คือ *B. citrina*, *B. costula*, *B. dautzenbergiana*, *B.*

henriettae, *B. manningi*, *B. peninsularis*, *B. subgloriosa* และ *B. wykoffi* ซึ่งแตกต่างจากรายงานก่อนหน้านี้ว่าหอย *Brotia* มักพบเพศผู้เพียงอย่างเดียว การติดเชื่อพยาธิใบไม้ของหอยสกุล *Brotia* พบการติดเชื่อในหอยเพียงชนิดเดียว คือ *B. costula* โดยพบหอย 1 ตัว ติดเชื่อพยาธิใบไม้ *Stictodora tridactyla*

คำสำคัญ: อนุกรมวิธาน, นิเวศวิทยา, หอยน้ำจืด, โฮสต์กึ่งกลาง (โฮสต์ตัวกลาง), วงศ์พาโคคริลิดี

ภาษาอังกฤษ

Research Title Shell Morphology, Ontogeny and Molecular Genetics of Freshwater Snails Genus *Brotia* Adams 1866 (Cerithioidea, Pachychilidae), in Thailand: Aim at Verifying Species Diversity and Ability of Being Trematode Intermediated Host.

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

Researcher

1. Mrs. Suluck Namchote (Project leader)
Department of Biology, Faculty of science, Silpakorn University
2. Assoc. Prof. Dr. Duangduen Krailas (Co-Researcher)
Department of Biology, Faculty of science, Silpakorn University
3. Miss Chatapat Chuanprasit (Co-Researcher)
Department of Biology, Faculty of science, Silpakorn University
4. Miss Paporn Wongwain (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

This is a study of the snails family Pachychilidae Genus *Brotia* Adams, 1866. The research was a study of shell morphology, ontogeny, and molecular genetics of freshwater snails genus *Brotia* Adams 1866 in Thailand. The project aimed at verifying species diversity and the ability to serve as trematode intermediated host. Snail samples were investigated and

collected from 26 localities in Thailand. They were collected by hand picking and scooping. The snail samples were studied to identify their shell morphology, geometric morphometric analysis anatomy, embryo, juvenile, radulae, and phylogenetic analysis using 16S rRNA and Cytochrome C oxidase I (*COI*) gene. *Brotia* snails were categorized into 15 species: *B. armata*, *B. binodosa*, *B. citrina*, *B. costula*, *B. dautzenbergiana*, *B. henriettae*, *B. manningi*, *B. microsculpta*, *B. pagodula*, *B. paludiformis*, *B. peninsularis*, *B. pseudosulcospira*, *B. solemiana*, *B. subgloriosa*, and *B. wykoffi*. The embryos of eight species of *Brotia* were studied. The finding differed from previous studies which had reported only the male *Brotia*. Trematode infection was found in *B. costula*. The only one snail found with trematode infection was *Stictodora tridactyla*.

Key words: Taxonomy, Ecology, Freshwater snail, Intermediate host, Family Pachychilidae

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
คณะผู้วิจัย	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาไทย	จ
สารบัญ	ช
สารบัญรูป	ซ
สารบัญตาราง	ญ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	7
อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	7
ผลการศึกษา	13
วิเคราะห์ผลการศึกษา	65
สรุปผลการศึกษา	67
บรรณานุกรม	68
ภาคผนวก 1	73
- คำอธิบายศัพท์เฉพาะ	
ภาคผนวก 2	76
- การเตรียมสารเคมี	
ประวัตินักวิจัย	78

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะเปลือกหอยในวงศ์ Pachychilidae Troschel, 1867	1
รูปที่ 2 แผนผังการจัดลำดับสายวิวัฒนาการของหอยวงศ์ Pachychilidae และวงศ์ Thiaridae	3
รูปที่ 3 ลักษณะเปลือก (morphology) และฝาปิดเปลือก (operculum)	4
รูปที่ 4 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือก (Gallego, 2015)	9
รูปที่ 5 การกำหนดจุด Landmark สำหรับเปลือกหอยสกุล <i>Brotia</i> spp.	10
รูปที่ 6 สภาพแวดล้อมบริเวณที่เก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดสกุล <i>Brotia</i> ในประเทศไทย	20
รูปที่ 7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia armata</i>	23
รูปที่ 8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia binodosa</i>	24
รูปที่ 9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia citrina</i>	25
รูปที่ 10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia costula</i>	28
รูปที่ 11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia dautzenbergiana</i>	29
รูปที่ 12 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia henriettae</i>	31
รูปที่ 13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia manningi</i>	32
รูปที่ 14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia microsculpta</i>	33
รูปที่ 15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia pagodula</i>	34
รูปที่ 16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia paludiformis</i>	35
รูปที่ 17 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia peninsularis</i>	36
รูปที่ 18 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia pseudosulcospira</i>	37
รูปที่ 19 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia solemiana</i>	38
รูปที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia subgloriosa</i>	39
รูปที่ 21 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย <i>Brotia wykoffi</i>	40
รูปที่ 22 ความสูงของเปลือกของหอยสกุล <i>Brotia</i> ที่พบในประเทศไทย	44
รูปที่ 23 size index (h/w) ของเปลือกของหอยสกุล <i>Brotia</i> ที่พบในประเทศไทย	45
รูปที่ 24 ผลการวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของเปลือกโดยวิธี Geometric Morphometric (GM) ของเปลือกของหอยสกุล <i>Brotia</i> ที่พบในประเทศไทย	47
รูปที่ 25 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. armata</i>	50
รูปที่ 26 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. binodosa</i>	51
รูปที่ 27 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. citrina</i>	51
รูปที่ 28 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. costula</i>	52
รูปที่ 29 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. dautzenbergiana</i>	52
รูปที่ 30 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>Brotia henriettae</i>	53
รูปที่ 31 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>Brotia manningi</i>	53
รูปที่ 32 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. microsculpta</i>	54
รูปที่ 33 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. pagodula</i>	54
รูปที่ 34 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. paludiformis</i>	55
รูปที่ 35 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. peninsularis</i>	55

	หน้า
รูปที่ 36 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. pseudosulcospira</i>	56
รูปที่ 37 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. solemiana</i>	56
รูปที่ 38 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. subgloriosa</i>	57
รูปที่ 39 ภาพ scanning electron microscope ฟันของหอยน้ำจืด <i>B. wykoffi</i>	57
รูปที่ 40 ตัวอ่อนของหอยน้ำจืดสกุล <i>Brotia</i> spp.	58
รูปที่ 41 สายวิวัฒนาการของยีน Cytochrome C oxidase I (COI)	61
รูปที่ 42 สายวิวัฒนาการของยีน 16s ribosomal RNA (16s)	62
รูปที่ 43 ลักษณะตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย และรีเดียในหอย <i>Brotia costula</i>	64

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 รายงานการพบหอยสกุล <i>Brotia</i> จำนวน 39 ชนิดพันธุ์	6
ตารางที่ 2 หอยน้ำจืดสกุล <i>Brotia</i> จำนวน 15 ชนิดพันธุ์ ที่พบใน 26 จุดสำรวจ	22
ตารางที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของหอยน้ำจืดสกุล <i>Brotia</i> 15 ชนิดพันธุ์ ในประเทศไทย	48
ตารางที่ 4 ขนาดตัวอ่อนของหอยน้ำจืดสกุล <i>Brotia</i> spp.	60