



การกระจายตัวและซิสเทมาติกส์ของหอยนักล่า *Oophana mouhoti*
ในจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

DISTRIBUTION AND SYSTEMATICS OF CARNIVOROUS
TERRESTRIAL SNAIL *Oophana mouhoti* IN PHETCHABURI
AND PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCES

สิทธิชัย ชูณหะวัณ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2565

การกระจายตัวและชีสเทมาติกส์ของหอยนักล้า *Oophana mouhoti*

ในจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DISTRIBUTION AND SYSTEMATICS OF CARNIVOROUS
TERRESTRIAL SNAIL *Oophana mouhoti* IN PHETCHABURI
AND PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCES



SITTICHAJ CHUNKHAJORN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Biology)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2022

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การกระจายตัวและชีสเทมาติกส์ของหอยนัคล่า *Oophana mouhoti*

ในจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ของ

สิทธิชัย ชูณหะวัณ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.ธนิศ ศิริบุญ)

ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิรศักดิ์ สุจริต)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพามาภรณ์ แสงงาม)

ชื่อเรื่อง	การกระจายตัวและซิสเทมาติกส์ของหอยนักล่า <i>Oophana mouhoti</i> ในจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์
ผู้วิจัย	สิทธิชัย ชุมณห์ขจร
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ธนิต ศิริบุญ

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้ได้ตอบคำถามด้านอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ของหอยนักล่า *Oophana mouhoti* ในจังหวัดเพชรบุรีและจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ก่อนการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการกระจายตัวของหอยชนิดนี้ในประเทศไทยมีอยู่ค่อนข้างจำกัด และการศึกษาทางอนุกรมวิธานในอดีตที่ผ่านมาพบเพียงการรายงานถึงการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกเป็นหลัก ผลจากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ในครั้งนี้ พบว่าหอยนักล่าชนิดนี้มีความแตกต่างจากหอยนักล่าชนิดอื่น ๆ ในสกุลเดียวกันโดยมีรูปทรงของเปลือกเป็นรูปกระบอกที่มีเปลือกวงสุดท้ายบิดไปจากแนวแกนกลางเล็กน้อย มีฟันเปลือก 4 ตำแหน่ง ประกอบด้วย ด้วยฟันพาไรทัลฟัน ฟันอัปเปอร์พาลาทัส ฟันพาลาทัส และฟันเบซัล มีหนามที่มีความหนาแน่นในบริเวณด้านล่างและด้านบนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบการกระจายตัวของหอยนักล่า *O. mouhoti* ที่มีจำนวนเพิ่มขึ้น ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ได้ทำการศึกษาจากยีนไมโทคอนเดรีย *COI* และ *16S rRNA* โดยสร้างแผนภูมิทางวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inference (BI) จากผลการศึกษาพบว่าสายวิวัฒนาการของหอยนักล่า *O. mouhoti* เป็นรูปแบบโมโนไฟเลติก สามารถแบ่งสายวิวัฒนาการได้เป็น 2 เคลดหลัก และ 3 เคลดย่อย ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์โมรโฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตของเปลือก กายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการยังแสดงให้เห็นว่าบรรพบุรุษร่วมของหอยนักล่าชนิดนี้อาจจะมีถิ่นกำเนิดอยู่ในบริเวณอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรีของประเทศไทย หลังจากนั้นได้มีการแพร่กระจายลงมาทางตอนใต้ในอำเภอกุยบุรีและอำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

คำสำคัญ : หอยนักล่า, หอยวงศ์ Streptaxidae, ซิสเทมาติกส์

Title	DISTRIBUTION AND SYSTEMATICS OF CARNIVOROUS TERRESTRIAL SNAIL <i>Oophana mouhoti</i> IN PHETCHABURI AND PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCES
Author	SITTICHAJ CHUNKHAJORN
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2022
Thesis Advisor	Dr. Thanit Siriboon

This thesis addresses the taxonomy and systematic of the carnivorous snail *Oophana mouhoti* in Phetchaburi and Prachuap Khiri Khan Provinces. Prior to our investigations, there were few records of this species in Thailand and the taxonomic studies on this species have mainly been based on shell characters. Currently, we investigated the morphology and anatomy of the genitalia of this snail and revealed distinguishing characters. *O. mouhoti* have an oblique-cylindrical shell with four apertural dentitions, which are one strong parietal, one weak upper palatal, one weak palatal, and one weak basal lamellae. Penial hooks are less distributed on lower penial surface than upper penial surface, and none of these characteristics occur in other *Oophana*. Moreover, the distribution ranges of this snail are expanded from the previous study. The phylogenetic relationship reconstructed from *COI* and *16S* rRNA mitochondrial DNA genes with Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) methods revealed monophyletic relationship of *O. mouhoti* with two main clades and three subclades, concordant with traditional classification based on shell morphometric, genitalia, and biogeography. Furthermore, the phylogenetic analysis suggested that the common ancestors of *O. mouhoti* were probably restricted to the Ban Lat District in Phetchaburi province. Then, they dispersed southward to Kui Buri and Mueang District, Prachuap Khiri Khan Province.

Keyword : carnivorous snail, Streptaxidae, systematics

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และพิพิธภัณฑสถานสัตววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนสถานที่ และอุปกรณ์ในการดำเนินวิทยานิพนธ์ และความช่วยเหลืออย่างยิ่งจากอาจารย์ ดร.ธนิต ศิริบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.จิรศักดิ์ สุขจิตต์ ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชุมาภรณ์ แสงงาม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาแนะนำปรับปรุงเนื้อหาในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ครบถ้วน และขอบคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนไม่ว่าจะเป็นครอบครัว คณาจารย์ มิตรสหาย รวมไปถึงพี่-น้องนิสิตในภาควิชาชีววิทยา ที่ช่วยเหลือและประสานงานในด้านต่าง ๆ จนกระทั่งการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าคาดหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสร้างประโยชน์ต่อการวิทยาศาสตร์ในภายภาคหน้าสืบไป

สิทธิชัย ชุณหะวัณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
ขอบเขตการศึกษา.....	3
สมมติฐานงานวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
1. ข้อมูลทั่วไปของหอยนักล้า.....	4
การศึกษาความหลากหลายของหอยนักล้าในวงศ์ Streptaxidae ในอดีต	6
หอยนักล้าในสกุล <i>Oophana</i> Ancey, 1884	10
ถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยนักล้า	12
ความสำคัญของหอยนักล้าในระบบนิเวศ	12
2. ลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาคของนักล้าในวงศ์ Streptaxidae	12
ระบบทางเดินอาหาร	14
ระบบสืบพันธุ์.....	15

3. การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis)	17
การวิเคราะห์หัตถ์รูปเมตริกส์เชิงเรขาคณิต (geometric morphometric analysis).....	18
4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (molecular phylogenetic analysis).....	22
วิธีสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree).....	22
รูปแบบการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์	23
การเลือกบริเวณยีน (gene regions) ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	27
อุปกรณ์และสารเคมี	27
1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	27
2. สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยทางอณูชีววิทยา	27
วิธีดำเนินการทดลอง	28
1. การศึกษาและรวบรวมตัวอย่าง	28
2. การศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง	28
3. การวิเคราะห์หัตถ์รูปเมตริกส์เชิงเรขาคณิต	29
4. การศึกษาด้านกายวิภาคศาสตร์ของวิทยาของระบบสืบพันธุ์และแผ่นฟัน	30
5. การสกัดสารพันธุกรรมตัวอย่าง (DNA extraction)	31
6. การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR)	31
7. การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree).....	33
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	34
1. การกระจายตัวของหอยนักล้า <i>Oophana mouhoti</i>	34
2. ชีสเทมาติกส์ของหอยนักล้า <i>Oophana mouhoti</i>	38
3. การวิเคราะห์หัตถ์รูปเมตริกส์เชิงเรขาคณิตของหอยนักล้า <i>Oophana mouhoti</i>	57

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ <i>Oophana mouhoti</i>	58
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา	60
บรรณานุกรม	63
ประวัติผู้เขียน.....	69



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ข้อมูลไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน <i>COI</i> และ <i>16S rRNA</i> ที่ใช้ในการศึกษานี้	32
ตาราง 2 แสดงปริมาณสารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR ที่ใช้ในการศึกษา	33
ตาราง 3 พื้นที่การกระจายตัว จำนวน ขนาดของเปลือก และจำนวนวงเปลือก	35
ตาราง 4 ค่า mahalanobis distance ระหว่าง 3 เกล็ด	58



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 รูปร่างของเปลือกหอยนักล้า <i>O. mouhoti</i>	11
ภาพประกอบ 2 โครงสร้างต่าง ๆ ของเปลือกหอยนักล้า <i>O. mouhoti</i>	13
ภาพประกอบ 3 ตำแหน่งของฟันเปลือก	14
ภาพประกอบ 4 ลักษณะของแผ่นฟัน (radula) ในหอยนักล้า <i>D. discus</i>	15
ภาพประกอบ 5 ระบบสืบพันธุ์ของหอยนักล้า <i>O. mouhoti</i>	16
ภาพประกอบ 6 ตำแหน่งยีนที่พบในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ	25
ภาพประกอบ 7 แสดงจุดกำหนดบนเปลือกของ <i>O. mouhoti</i>	30
ภาพประกอบ 8 พื้นที่การกระจายตัวของหอยนักล้า <i>Oophana mouhoti</i>	34
ภาพประกอบ 9 ตัวอย่างเปลือกของ <i>Oophana mouhoti</i> A) syntype จากประเทศพม่า ที่ถูกเก็บ อยู่ในพิพิธภัณฑ์ NHUMK B) CUMZ 6137 เปลือกจากถ้ำรงค์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี C) CUMZ 3688 เปลือกจากอำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี	41
ภาพประกอบ 10 ตัวอย่างเปลือกของ <i>Oophana mouhoti</i> A) CUMZ 6139 เปลือกจากเขา กะโหลก อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ B) CUMZ 8006 เปลือกจากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ C) CUMZ 4229 เปลือกจากเขาล้อมหมวก อำเภอมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	42
ภาพประกอบ 11 การแทรกของท่อ นำส่งสเปิร์มในเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ p; penis, ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle, vd; vas deferens	44
ภาพประกอบ 12 อวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 6135) จากถ้ำเขารงค์ อำเภอ บ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี	45
ภาพประกอบ 13 อวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3684) จากน้ำตกป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี	46
ภาพประกอบ 14 อวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 6139) จากเขากะโหลก อำเภอ ปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	47

ภาพประกอบ 15 อวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 8006) จากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.....	48
ภาพประกอบ 16 อวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3767) จากอำเภอมะนาว อำเภ เมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.....	49
ภาพประกอบ 17 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 6135) จากถ้ำ เขารัง อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะ เพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนล่างด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์ เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย.....	50
ภาพประกอบ 18 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3684) จาก น้ำตกป่าละอู อำเภอกำแพงแสน จังหวัดเพชรบุรี (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และ อวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนล่างด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์ เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย.....	51
ภาพประกอบ 19 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 6139) จากเขา ทะลุ อำเภอบางแพ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และ อวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนล่างด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์ เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย.....	52
ภาพประกอบ 20 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 8006) จาก อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศ เมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนล่าง ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย.....	53
ภาพประกอบ 21 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3767) จากอำ เภอมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และ อวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook	

ส่วนล่างด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย.....	54
ภาพประกอบ 22 ภาพของแผ่นพื้นจาก SEM (A-B) แผ่นพื้นของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 6135) จากถ้ำเขาวงศ์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (C-D) แผ่นพื้นของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3684) จากน้ำตกป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี	55
ภาพประกอบ 23 ภาพของแผ่นพื้นจาก SEM (A-B) แผ่นพื้นของ <i>Oophana mouhoti</i> จาก CUMZ 6139 จากเขากะโหลก อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (C-D) แผ่นพื้นของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 8006) จากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (E-F) แผ่นพื้นของ <i>Oophana mouhoti</i> (CUMZ 3767) จากอำวมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	56
ภาพประกอบ 24 ผล CVA (Canonical Variate Analysis) ของเปลือก <i>Oophana mouhoti</i> ที่ใช้ในการศึกษา โดยสัญลักษณ์สามเหลี่ยมสีแดง แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่บริเวณอำวมะนาว จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สี่เหลี่ยมสีเขียว แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่บริเวณอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี วงกลมสีน้ำเงิน แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.....	57
ภาพประกอบ 25 แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของหอยนักล้า <i>O. mouhoti</i> ที่ใช้ในการศึกษาโดยใช้วิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI)	58
ภาพประกอบ 26 แสดงผลความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของหอยนักล้าในวงศ์ Streptaxidae ที่ใช้ในการศึกษาโดยใช้วิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI).....	59

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

หอยนักล่าเปลือกเบี้ยวเป็นหอยทากบกฝาเดียวในชั้น Gastropoda Cuvier, 1795 และอยู่ในชั้นย่อย Pulmonata ซึ่งเป็นกลุ่มของหอยทากบกมีปอด หอยนักล่าสามารถพบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นทวีปอเมริกาใต้ แอฟริกา และเอเชีย ดำรงชีวิตเป็นผู้ล่า โดยล่าหอยขนาดเล็กชนิดอื่น ตัวอ่อนของแมลง ไข่เดือนดิน และบางครั้งก็สามารถล่าหอยชนิดเดียวกันที่อ่อนแอเป็นอาหาร ปัจจุบันหอยนักล่าแบ่งได้เป็นสองวงศ์ คือวงศ์ Streptaxidae Gray, 1860 ที่พบได้ทั่วโลก และวงศ์ Diapheridae Panha & Naggs, 2010 ที่พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เท่านั้น (Siriboon et al., 2014a) หอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae มีเปลือกหลายรูปแบบ ได้แก่ ทรงกรวยยาว ทรงโดม เปลือกแบนหรือยอดเปลือกมีการยุบลงไป โดยมากเรียกว่า หอยเปลือกเบี้ยว เนื่องจากวงเปลือก (whorl) วงสุดท้ายจะเบี้ยวออกมาจากแนวแกนกลาง ลักษณะโดยทั่วไป คือ มีเปลือกขนาดเล็ก เปลือกมีความสูงประมาณ 5-50 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 5-20 มิลลิเมตร เปลือกมีสีขาวนวลหรือบางใส ผิวเป็นมัน มีริ้วถี่ หรือมีริ้วขนาดใหญ่ เมื่อโตเต็มวัย ปากเปลือกจะหนาขึ้นและบานออก มีฟันบริเวณปากเปลือก ลำตัวมีสีส้ม สีเหลืองอ่อน ไปจนถึงสีแดง บางชนิดมีลำตัวมีสีเขียว ส่วนท้ายลำตัวสั้นกว่าส่วนหน้า บริเวณหัวมีหนวดสองคู่ มีตาอยู่บริเวณปลายหนวดคู่บน (จิรศักดิ์ สุจริต, ปิโยรส ทองเกิด, และ สมศักดิ์ ปัญญา, 2561) ในปัจจุบันพบหอยนักล่าทั่วโลกประมาณ 1,000 ชนิด โดยมีการรายงานในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อยู่สิบสกุล โดยในประเทศไทยพบจำนวน 7 สกุล ได้แก่ *Oophana* (Ancey, 1884), *Discartemon* (Pfeiffer, 1856), *Gulella* (Pfeiffer, 1856), *Haploptychius* (Kobelt, 1905), *Perrottetia* (Kobelt, 1905), *Indoartemon* (Forcart, 1946) และ *Carinartemis* Siriboon & Panha, 2014 (จิรศักดิ์ สุจริต et al., 2561)

หอยนักล่าในสกุล *Oophana* มีฟันบริเวณปากเปลือกตั้งแต่สามถึงเจ็ดฟัน โดยสามารถพบฟันพาไรทาลเพียงฟันเดียว มีขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจน มีฟันพาลาทาลจำนวนหนึ่งถึงสองฟัน บางครั้งพบเป็นเพียงตุ่มขนาดเล็ก ฟันเบซัลมักพบเพียงหนึ่งฟันและมีขนาดเล็กใกล้เคียงกับฟันพาลาทาล และฟันคอลลัมเมลาที่มักมีเพียงหนึ่งฟันขนาดใหญ่รองมาจากฟันพาลาทาล ในบางชนิดฟันที่ตำแหน่งนี้จะหายไปหรือปรากฏขึ้นมาเป็น 2 ฟัน โดยมักมีขนาดเล็กและอยู่เหนือฟันคอลลัมเมลา (Ancey, 1884) ปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานหอยนักล่าสกุล *Oophana* จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *O. mouhoti* (Pfeiffer, 1863) พบที่จังหวัดเพชรบุรี *O. strangulatus* (Möllendorff, 1894)

พบที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และสุราษฎร์ธานี *O. siamensis* (Pfeiffer, 1862) ในหลายจังหวัดในเขตภาคกลาง *O. subglobosus* พบที่จังหวัดสระบุรีและ *O. subbulbulus* (Möllendorff, 1902) พบได้ในหลายจังหวัดของภาคกลางตอนบน เช่น พิษณุโลก และนครสวรรค์ *O. depressa* (Möllendorff, 1894) พบที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช และ *O. expansilabris* (Möllendorff, 1902) พบที่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลการสำรวจหอยนักล่าที่ผ่านมามีความหลากหลายชนิดของหอยนักล่าในสกุล *Oophana* อยู่ในประเทศไทยอีกจำนวนมาก (Siriboon et al., 2020)

หอยนักล่า *O. mouhoti* เป็นชนิดหนึ่งที่ยังไม่มีการศึกษาอย่างแน่ชัด จึงทำให้ขาดข้อมูลที่จะนำมาใช้ในการต่อยอดความรู้ทางด้านความหลากหลายของหอยกลุ่มนี้ หอยชนิดดังกล่าวมีลักษณะสำคัญคือ รูปทรงเปลือกเป็นทรงกระบอกค่อนไปทางกลมรี (oblique-heliciform) เปลือกมีสีขาวไล่ไปจนถึงขาวขุ่น มีวงเปลือก 6 – 7 วง มีลวดลายของเปลือก สะดือเปลือกแคบ ปากเปลือกมีลักษณะคล้ายวงกลม มีฟันเปลือกจำนวน 4 ฟัน ประกอบด้วยฟันพาไรทาล 1 ฟัน, ฟันพาลาทาล 2 ฟัน และฟันเบซัล 1 ฟัน ตามลำดับ ความสูงของเปลือกประมาณ 10 – 13 มม. ความกว้างของเปลือกประมาณ 8 – 10 มม. การศึกษา *O. mouhoti* ส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือก (พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา และคนอื่น ๆ, 2562) แต่ยังคงมีข้อจำกัดในการระบุชนิดเนื่องจากเปลือกของหอยนักล่าในสกุล *Oophana* มีความแปรผันค่อนข้างสูง ทั้งขนาดและรูปทรงการบิดเบี้ยวของเปลือก ซึ่งอาจมีการเกิดชนิดแฝง (cryptic species) จึงจำเป็นที่จะต้องนำลักษณะกายวิภาคและวิธีวิเคราะห์ห่อหุ้มฟอสซิลเชิงเรขาคณิตของเปลือกมาช่วยในการจัดจำแนก (พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา et al., 2562)

การศึกษาหอยนักล่านิยมใช้ลักษณะของเปลือกในการระบุชนิดเป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตาม มีการรายงานว่าสามารถใช้ลักษณะทางกายวิภาคของของระบบสืบพันธุ์ในการจัดจำแนกได้อีกด้วย (Siriboon et al., 2013; Siriboon et al., 2014a, 2014b) สำหรับหอยนักล่าในสกุล *Oophana* มีเพียงการบรรยายลักษณะของระบบสืบพันธุ์ในชนิด *O. bulbulus* (Morelet, 1862) เท่านั้น และยังไม่มีการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางกายวิภาคของระบบดังกล่าว สำหรับการวิเคราะห์ห่อหุ้มฟอสซิลเชิงเรขาคณิตนั้นเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์และอธิบายความแปรผันของรูปร่าง ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการจัดจำแนกในระดับชนิดและการเกิดชนิดแฝงในมอลลัสอย่างแพร่หลาย (Albarrán-Mélzer et al., 2020; Miranda, 2020) แต่ยังไม่มีการใช้วิธีการดังกล่าวในกลุ่มหอยนักล่า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัว การระบุชนิดของ *O. mouhoti* โดยใช้การศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ และความแปรผันของรูปทรง

เปลือกด้วยการวิเคราะห์หมีอร์โฟเมทริกส์เชิงเรขาคณิต อีกทั้งยังศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ *O. mouhoti* โดยใช้ยีน mitochondrial DNA ซึ่งผลการศึกษานี้จะนำไปสู่ความชัดเจนด้านซิสเทมาติกส์ของหอยนักล้าชนิดนี้กับหอยนักล้าชนิดอื่นในสกุล *Oophana* และเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้าความหลากหลายของหอยนักล้าในประเทศไทยต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการกระจายตัวของ *O. mouhoti* ในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์
2. เพื่อศึกษาซิสเทมาติกส์ของ *O. mouhoti* โดยใช้การวิเคราะห์หมีอร์โฟเมทริกส์เชิงเรขาคณิตของความแปรผันทางรูปร่างเปลือก กายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ แผ่นฟัน และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ *O. mouhoti* ในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์

ขอบเขตการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างหอยนักล้า *O. mouhoti* จากพื้นที่เขาหินปูนในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จากนั้นนำเปลือกมาวิเคราะห์หมีอร์โฟเมทริกส์เชิงเรขาคณิต เพื่อศึกษาความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของเปลือก ถ่ายรูปหอยตัวเป็นและนำมาศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ แผ่นฟัน และนำชิ้นส่วนของหอยตัวเป็นมาสกัดสารพันธุกรรมเพื่อใช้ในการวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภายในชนิดของหอยนักล้าชนิดนี้

สมมติฐานงานวิจัย

การวิเคราะห์หมีอร์โฟเมทริกส์เชิงเรขาคณิต การศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ แผ่นฟันและการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของหอยนักล้า *O. mouhoti* ได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถจัดจำแนกและระบุชนิดของหอยนักล้า *O. mouhoti* ด้วยวิธีวิเคราะห์หมีอร์โฟเมทริกส์เชิงเรขาคณิต การศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ แผ่นฟัน และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ซึ่งวิธีการเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาซิสเทมาติกส์ของหอยนักล้าสกุลอื่น ๆ ได้

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรม

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยประกอบด้วยหัวข้อต่อไปนี้

1. ข้อมูลทั่วไปของหอยนัคล่า
2. ลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาคของหอยนัคล่าในวงศ์ Streptaxidae
3. การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis)
4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในระดับโมเลกุล (molecular phylogenetics analysis)

1. ข้อมูลทั่วไปของหอยนัคล่า

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน มีการประมาณจำนวนชนิดของมอลลัสก์อยู่ราว 145,000 ถึง 185,000 ชนิด โดยมีมอลลัสก์ที่ทราบชนิดทั้งบนบกและในทะเลทั่วโลกมีประมาณ 80,000 ชนิด (Rosenberg, 2014) หอยทากบกมีปอดเป็นมอลลัสก์กลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อชีวิตและความ เป็นอยู่ของมนุษย์ ในประเทศไทยพบหอยทากบกมีปอดอยู่ถึง 16 วงศ์ ซึ่งได้รับการจัดจำแนก ตรวจสอบ และระบุชนิดแล้วประมาณ 600 ชนิด (จิรศักดิ์ สุจริต และคนอื่น ๆ, 2561)

หอยทากบกมีปอดสามารถแบ่งออกเป็น 3 อันดับ คือ Systellomatophora Plisbry, 1948, Ellobiida (Pfeiffer, 1822) และ Stylomatophora Schmidt, 1855 มีลักษณะเป็นหอยฝาเดียวที่มีการหายใจและแลกเปลี่ยนแก๊สด้วยปอด มีลักษณะเปลือกทั้งแบบขดวน และไม่ขดวน เปลือกกลดรูป จนถึงไม่มีเปลือก มักไม่มีฝาปิดเปลือก มีช่องว่างแมนเทิลที่ไม่มีเหงือก มีช่องหายใจ ซึ่งเป็นช่องขนาดเล็กเข้าสู่แมนเทิลที่สามารถเปิดปิดได้ สำหรับเป็นทางผ่านเข้าออกของอากาศ มีปอดสำหรับแลกเปลี่ยนแก๊สอยู่ในส่วนบนของช่องว่างแมนเทิล ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงจำนวนมาก มีแผ่นฟันที่บริเวณกระเปาะของช่องปากเพื่อใช้ในการกินอาหาร โดยแผ่นฟันจะมีลักษณะแตกต่างกันตามประเภทของหอยและลักษณะของอาหาร มีปมประสาท 5 ปม เชื่อมต่อกันเป็นวง ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบสองเพศในตัวเดียวกัน มีการปฏิสนธิภายในและวางไข่ที่มีเปลือกนิ่มจนถึงเปลือกแข็ง (จิรศักดิ์ สุจริต et al., 2561)

หอยนักล่าเปลือกเบี้ยว เป็นหอยทากบกมีปอดในวงศ์ Streptaxidae ปัจจุบันสามารถจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum Mollusca Cuvier, 1795

Class Gastropoda Cuvier, 1795

Subclass Heterobranchia Burmeister, 1837

Superorder Eupulmonata Haszprunar & Huber, 1990

Order Stylommatophora Schmidt, 1855

Suborder Achatinina Swainson, 1840

Superfamily Streptaxoidea Gray, 1860

Family Streptaxidae Gray, 1860

หอยนักล่าเปลือกเบี้ยวอยู่ใน Superfamily Streptaxoidea ซึ่งในปัจจุบันสามารถจัดจำแนกแบ่งออกเป็นวงศ์ คือวงศ์ Streptaxidae และวงศ์ Diapheridae Panha & Naggs, 2010 จากการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการพบว่าหอยในสกุลดังกล่าว มีต้นกำเนิดและการกระจายตัวบนแผ่นทวีปออสเตรเลีย ในช่วงมหายุคมีโซโซอิก (Rowson et al., 2011) มีการดำรงชีวิตและวิวัฒนาการจนมีลักษณะของเปลือกที่จำเพาะ โดยมีรูปร่างเปลือกตั้งแต่ทรงแบน ทรงโดมเตี้ย ทรงกระบอกไปจนถึงทรงกระสวย โดยส่วนใหญ่จะมีลักษณะที่มีเปลือกวงสุดท้ายปิดไปจากแกนกลางของเปลือก เช่น หอยนักล่าในสกุล Discartemon, Indoartemon, Carinartemis และ Perrottetia (Siriboon et al., 2013, 2014a, 2014b) เป็นต้น ลำตัวมีสีสันสดใส สีเหลือง สีส้มไปจนถึงสีแดง มีส่วนด้านหน้าลำตัว (anterior) ยาวกว่าส่วนท้าย (posterior) มีแผ่นฟัน (radula) ที่แหลมคม คล้ายใบหอกใช้ในการขูดกินเนื้อเยื่อของเหยื่อ ดำรงชีวิตเป็นผู้ล่า โดยจะล่าสัตว์ขนาดเล็กตามหน้าดิน เช่น หอยทากชนิดอื่นที่มีขนาดเล็กกว่าหรือมีขนาดใกล้เคียงกัน รวมไปถึงตัวอ่อนของแมลง สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดต่าง ๆ และอาจจะล่าหอยนักล่าด้วยกันเองเป็นอาหาร (Berry, 1963; Blanford & Godwin-Austen, 1908; Jutting, 1954) แลกเปลี่ยนแก๊สโดยใช้ปอด มีสองเพศในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) มีการปฏิสนธิข้ามตัว (reciprocal mating) และออกลูกเป็นไข่ในตัว (ovoviviparous) ซึ่งแตกต่างจากหอยทากบกส่วนใหญ่ที่จะออกลูกเป็นไข่

หอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae มีการกระจายในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้น พบมากที่สุดในแอฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชีย ปัจจุบันมีการค้นพบและจัดจำแนกหอยวงศ์นี้ออกเป็น 60 สกุล 1,000 ชนิด โดยพบว่าในทวีปแอฟริกามีรายงานความหลากหลายชนิดมากที่สุด (Siriboon et al.,

2014a) และในเอเชียมีการรายงานเป็นอันดับ 2 รองมาจากทวีปตะวันออกเฉียงใต้ โดยมีการประมาณความหลากหลายชนิดถึง 140 ชนิด ใน 15 สกุล ในประเทศไทยมีจำนวนหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae ทั้งหมด 7 สกุล ได้แก่ Oophana (Ancey, 1884), Discartemon (Pfeiffer, 1856), Gulella (Pfeiffer, 1856), Haploptychius (Kobelt, 1905), Perrottetia (Kobelt, 1905), Indoartemon (Forcart, 1946) และ Carinartemis Siriboon & Panha, 2014 (Blanford & Godwin-Austen, 1908; Jutting, 1954; Richardson, 1988; Schileyko, 2000; Siriboon et al., 2020; Siriboon et al., 2013; Siriboon et al., 2014a)

การจัดจำแนกหอยนักล่าในวงศ์นี้ นิยมใช้ลักษณะสัณฐานของเปลือก และการจัดเรียงตัวของฟันบริเวณปากเปลือก (apertural dentition) ในการจัดจำแนก แต่ในบางครั้งการจัดจำแนกในระดับสกุล หรือระดับชนิด โดยใช้ลักษณะของเปลือกเพียงอย่างเดียวอาจทำได้ยาก เนื่องจากเปลือกของหอยนักล่าในกลุ่มนี้มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน ในปัจจุบันจึงมีการใช้ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ เช่น แผ่นฟัน (radula) หรือลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ และการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเข้ามาใช้ในการวิเคราะห์เพื่อจัดจำแนกเพิ่มเติม (Inkhavilay et al., 2016; Siriboon et al., 2013; Siriboon et al., 2014a)

การศึกษาความหลากหลายของหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae ในอดีต

ในอดีตที่ผ่านมา มีการรายงานหอยนักล่าในประเทศไทยมีอยู่อย่างจำกัด ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาทางการเดินทางของมิชชันนารีที่เข้ามาเผยแพร่ศาสนาในช่วงปี ค.ศ. 1850 เป็นต้นมา มีนักธรรมชาติวิทยาชาวเยอรมันเช่น Louis Pfeiffer และ Paul Georg von Möllendorff ได้ทำการศึกษาหอยทากบกมีเปลือกหลายชนิดและได้จัดจำแนกหอยนักล่าไว้จำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ *D. discus* (Pfeiffer, 1851), *H. mirificus* (Möllendorff, 1902), *H. porrectus* (Pfeiffer, 1862), *I. eburneus* (Pfeiffer, 1861), *O. depressa* (Möllendorff, 1902), *O. mouhoti* (Pfeiffer, 1863) *O. siamensis* (Pfeiffer, 1862), *O. siamensis expansilabris* (Möllendorff, 1902), *O. siamensis subglobosa* (Möllendorff, 1902), *O. strangulatus* (Möllendorff, 1902), *O. subbulbulus* (Möllendorff, 1902) และ *O. subglobosus* (Möllendorff, 1902) (Möllendorff, 1894, 1902; Pfeiffer, 1859, 1861, 1862) หลังจากนั้นการศึกษหอยนักล่าในประเทศไทยก็ยังมีข้อมูลอยู่จำกัด มีเพียงการรายงานการค้นพบหอยนักล่าจากประเทศข้างเคียงเช่น มาเลเซีย ลาว และ เวียดนาม เป็นต้น

การศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยนักล่าในทศวรรษที่ผ่านมาในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เริ่มมาจากในปี 2006 Reuben Clements ได้ค้นพบหอยนักล่าในสกุล *Oophana* ชนิดใหม่ *O. tiomanesis* Clements, 2006 จากเกาะ Pulau Tioman บริเวณคาบสมุทรมลายูเซีย โดยใช้ลักษณะของสัณฐานวิทยาของเปลือก เช่น ฟันเปลือกในการจัดจำแนก โดยพบว่าหอยชนิดดังกล่าว ฟันพาไรทัล (parietal teeth) ที่ยื่นเข้าไปในปากเปลือกประมาณสี่ 4 – 5 มิลลิเมตร 1 ฟันและฟันพาลาทัต, เบซัล และคอลัมเมลา (palatal, basal, columellar) อย่างละ 1 ฟัน แยกกันตามลำดับ เมื่อทำการเทียบกับชนิดที่มีการอธิบายมาก่อนหน้านี้ทั้งสองชนิดได้แก่ *O. elisa* Gould, 1856 นั้นแตกต่างจากชนิดใหม่ที่ค้นพบเนื่องจากบริเวณวงเปลือกทรงสุดท้าย (penultimate whorl) มีสัน (carinate) ทางด้านซ้าย และ *O. bulbulus* (Morelet, 1862) มีขนาดเปลือกใหญ่กว่า โดยมีความสูงของเปลือกอยู่ที่ 15 มิลลิเมตร และมีความเบี่ยงน้อยกว่า การค้นพบชนิดใหม่นี้ เป็นชนิดแรกของหอยนักล่าในสกุล *Oophana* ที่มีการรายงานในคาบสมุทรมลายูเซีย (Clements, 2006) ต่อมาในปี 2013 ธนิต ศิริบุญ และคณะ ได้ทำการบรรยายหอยนักล่าชนิดใหม่สามชนิดจากสกุล *Perrottetia* โดยทำการเก็บตัวอย่างจากทั่วประเทศไทย และทำการบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือก เช่น รูปร่าง ความกว้างของเปลือก ความยาวของเปลือก มุมการปิดจากแกนกลางเปลือก และลักษณะทางกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ และลักษณะของแผ่นฟันโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) โดยพบหอยนักล่าใหม่ 3 ชนิด และสามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยารวมไปถึงระบบกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์มาใช้ในการระบุชนิดได้คือ *P. aquilonaria* Siriboon & Panha, 2013, *P. dermapyrrhosa* Siriboon & Panha, 2013 และ *P. phuphamanensis* Siriboon & Panha, 2013 (Siriboon et al., 2013) ต่อมาในปี 2014 ธนิต ศิริบุญ และคณะ ได้รายงานการสำรวจหอยนักล่าในสกุล *Discartemon* จากบริเวณตอนใต้ของประเทศไทย และบริเวณตะวันตกของประเทศมาเลเซีย โดยทำการผ่าและศึกษาอวัยวะสืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (stereoscopic microscope) ส่วนของ penial hook และ vaginal hooks จากนั้นทำการศึกษาแผ่นฟัน (radula) และถ่ายภาพภายใต้กล้อง SEM โดยผลการศึกษาพบว่าการจัดจำแนก หอยนักล่าในสกุล *Discartemon* มีความแตกต่างจากหอยนักล่าในสกุลอื่นเนื่องจาก ลักษณะของเปลือกที่แบน หรืออาจเป็นทรงโดม (subglobose-heliciform) รวมทั้งวงเปลือกทรงสุดท้ายจะไม่ปิดออกจากแนวแกนกลาง โดยการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะทางด้านกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์นั้นยังมีความขัดแย้งกัน โดยมีเพียง *D. stenostomus* เท่านั้นที่ถูกศึกษาโดย Berry, 1965 ระบุไว้ว่า *D. stenostomus* van Benthem Jutting, 1954 มี

ส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penis) ที่สั้น บริเวณปลายหุ้ม และมีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial sheath) หุ้มตลอดความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ผลการศึกษาครั้งนี้พบหอยนักล่าชนิดใหม่ในสกุล *Discartemon* ทั้งหมด 12 ชนิด โดยพบในบริเวณทางตอนใต้ของไทยทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ *D. afthonodontia* Siriboon & Panha, 2014, *D. circulus* Siriboon & Panha, 2014, *D. deprima* Siriboon & Panha, 2014, *D. discadentus* Siriboon & Panha, 2014, *D. discamaximus* Siriboon & Panha, 2014, *D. expandus* Siriboon & Panha, 2014, *D. flavacandida* Siriboon & Panha, 2014, *D. kotanensis* Siriboon & Panha, 2014 และ *D. megalostraka* Siriboon & Panha, 2014 และบริเวณแถบตะวันตกของมาเลเซียพบ 3 ชนิด คือ *D. conicus* Siriboon & Panha, 2014, *D. epipedis* Siriboon & Panha, 2014 และ *D. triancus* Siriboon & Panha, 2014 โดยมีรายงานว่า หอยนักล่าในสกุล *Discartemon* มีการค้นพบและรายงานประมาณ 15 ชนิด โดยกระจายอยู่ตั้งแต่บริเวณคอคออดกระลงไปถึงคาบสมุทรมลายูเซีย เกาะสุมาตรา เกาะสุลาเวสี และคาบสมุทรมลายูอินโดจีน โดยส่วนใหญ่มีการกระจายตัวอยู่ในวงแคบ (Siriboon et al., 2014a) ในปีเดียวกันนี้ ธนิต ศิริบุญ และคณะ ได้ทำการทบทวนอนุกรมวิธานของของหอยนักล่าสกุล *Indoartemon* และบรรยายหอยนักล่าสกุลใหม่ *Carinartemis* โดยเก็บตัวอย่างจากภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และบรรยายลักษณะทางสัณฐานของเปลือก ได้แก่ รูปร่าง ความกว้างของเปลือก ความยาวของเปลือก การแผ่อกของปากเปลือก และลักษณะทางกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ และแผ่นฟัน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าลักษณะทางสัณฐานของเปลือกของหอยนักล่าในสกุล *Indoartemon* มีความคล้ายคลึงกับเปลือกหอยนักล่าสกุล *Oophana* ซึ่งแตกต่างกันที่บริเวณของฟันเปลือกเท่านั้น โดยสกุล *Indoartemon* จะมีการพบฟันเปลือก 2-3 ฟัน คือ ฟันพาไรทาล, ฟันพาลาทาล ยกเว้น *I. cingalensis* (Benson, 1853) และ *I. layardianus* (Benson, 1853) ที่พบฟัน basal และ columellar เพิ่มขึ้นตามลำดับ ในขณะที่ สกุล *Oophana* จะพบฟันเปลือกจำนวนมากกว่าสี่ฟัน โดยประกอบด้วยฟันเปลือกหลักคือ พาไรทาล พาลาทาล เบซัล และ คอลัมเมลลา ใน *O. strangulatus* และ *O. diplodon* (Möllendorff, 1900) จะมีฟันอัปเปอร์พาลาทาล (upper palatal) และซูปราคอลัมเมลลา (supracolumellar) เพิ่มขึ้นมา ส่วนลักษณะทางกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ของสกุล *Indoartemon* จะมีลักษณะที่จำเพาะ คือ มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่ยาวด้านในมี hook (penial hook) ด้านนอกมีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้บาง ๆ ที่ยาวเพียงครึ่งหนึ่งของถุงเก็บสเปิร์มตัวเอง ท่อนำส่งสเปิร์ม (vas deferens) ไม่ได้สอดผ่านเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ความยาวถุงเก็บสเปิร์มตัวเอง (seminal vesicle) ยาว

เป็นกว่าระยะทางจาก talon ไปถึงเก็สเปิร์มตัวเองครึ่งหนึ่ง ในสกุล *Carinartemis* ที่ได้บรรยายลักษณะเป็นสกุลใหม่นั้น มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกที่เห็นได้ชัดคือบริเวณวงเปลือกรองสุดท้าย จะมีลักษณะเป็นสันด้านข้างตลอดแนว และมีการปรากฏของฟันพาไรทัล หรือในบางชนิดไม่ปรากฏ ระบบสืบพันธุ์ประกอบไปด้วยอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่ยาวมี hook สีนํ้าตาลอยู่บริเวณผนังด้านใน มีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้บางจนไปถึงหนา อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียสันขนาดถึงเก็สเปิร์มตัวเองยาวเท่ากับระยะทางจาก talon ไปถึงเก็สเปิร์มตัวเอง ผนังด้านในของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย มีลักษณะของพับเป็นแนวขนาน (parallel vaginal fold) หรือแนวโค้งเอียง (oblique) โดยในงานวิจัยนี้พบชนิดใหม่จากสกุลนี้ 2 ชนิดได้แก่ *C. vesperus* Siriboon & Panha, 2014 และ *C. striatus* Siriboon & Panha, 2014 จากการศึกษพบว่าสกุล *Indoartemon* มีการกระจายตัวอยู่ในบริเวณหมู่เกาะศรีลังกา พม่า ทางตอนใต้ของจีน ไปจนถึงเวียดนาม ในขณะที่สกุล *Carinartemis* พบการกระจายตัวอยู่ในบริเวณภาคตะวันตกของไทยเท่านั้น (Siriboon et al., 2014b)

ในปี 2016 Khamla Inkhavilay และคณะ รายงานการค้นพบหอยนักล่าวงศ์ Streptaxidae ทั้งหมด 12 ชนิดจาก 4 สกุล ได้แก่ *Discartemon*, *Perrottetia*, *Haploptychius* และ *Indoartemon* ในประเทศลาว โดยมี 3 ชนิดเป็นชนิดใหม่ ได้แก่ *P. unidentata* Inkhavilay & Panha, 2016, *P. megadentata* Inkhavilay & Panha, 2016 และ *I. diodontia* Inkhavilay & Panha, 2016 โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างจากป่าดิบทางเหนือ เขาหินปูนและป่าจากทางใต้ของประเทศลาว และบรรยายลักษณะภายนอกของเปลือก เช่น รูปร่าง ความกว้างของเปลือก ความยาวของเปลือก การแผ่อกของปากเปลือก และลักษณะทางกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ และลักษณะของ radula โดยใช้กล้อง SEM หอยนักล่าในกลุ่มนี้พบทั้งในบริเวณภูเขาหินปูน และบริเวณที่ไม่ใช่ภูเขาหินปูนของประเทศลาว แต่โดยรวมแล้วพบว่ายังมีความหลากหลายน้อยกว่าเมื่อเทียบกับประเทศไทยและเวียดนาม เนื่องจากสภาพพื้นที่บริเวณตอนกลาง และตอนใต้ของประเทศลาวมีการเปลี่ยนแปลงทางภูมิศาสตร์ไป ทำให้ความหลากหลายของหอยนักล่าต่ำลง ตัวอย่างเช่น *I. tridens* (Möllerndorff, 1902) ซึ่งเป็นหนึ่งในชนิดของหอยนักล่าที่เคยพบที่ประเทศลาวเมื่อปี 1898 แต่เมื่อกลับมาสำรวจอีกครั้งกลับไม่พบหอยชนิดนี้แล้ว แสดงให้เห็นว่าสภาพพื้นที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ความหลากหลายของหอยนักล่าลดลง การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ มีการจัดจำแนกหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae ในระดับชนิด โดยใช้การกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ ลักษณะสัณฐานของเปลือก และลักษณะทางกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น การจำแนกชนิดในสกุล *Haploptychius* ได้แก่ *H. pellucens* (Pfeiffer, 1863) และ *H. porrectus* (Pfeiffer,

1863) ที่ถูกเก็บตัวอย่างมาจาก 9 สถานที่ จาก 6 จังหวัดในประเทศไทย เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่าหอยนักล่าทั้งสองชนิด มีความแตกต่างกันที่ขนาด และรูปร่างของเปลือก รวมทั้งลักษณะทางกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ ลักษณะของ hook ภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้, เนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และลักษณะของผนังอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย หรือการจำแนกชนิด ในสกุล *Perrottetia* ได้แก่ *P. unidentata* Inkhavilay & Panha, 2016 และ *P. megadentata* Inkhavilay & Panha, 2016 สามารถจำแนกได้จากการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ที่ทั้ง 2 ชนิดอาศัยอยู่ โดย *P. unidentata* มีถิ่นอาศัยอยู่บริเวณทางตอนเหนือ ส่วน *P. megadentata* มีถิ่นอาศัยอยู่บริเวณทางตอนใต้ของประเทศไทย (Inkhavilay et al., 2016)

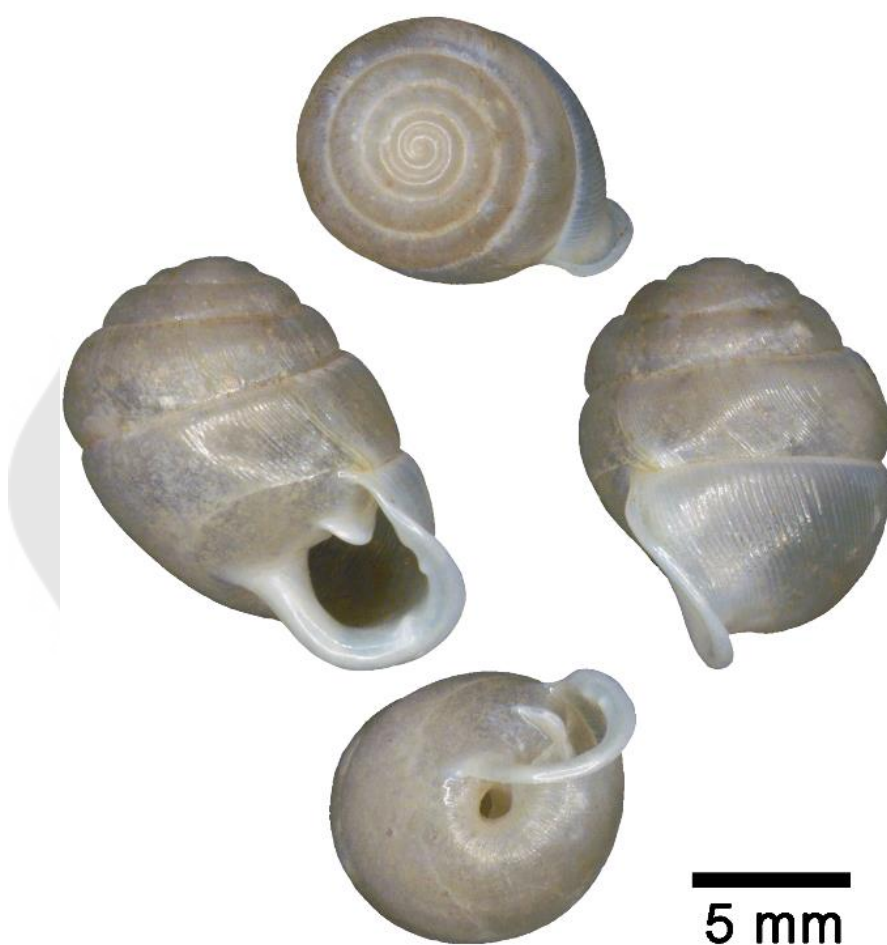
หอยนักล่าในสกุล *Oophana* Ancey, 1884

Oophana Ancey, 1884: 508; Tryon, 1885: 58; Kobelt, 1906: 101; Thiele, 1931: 730; Bentham Jutting, 1954: 95; Zilch, 1960: 562.

ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของหอยนักล่าในสกุลนี้ (type species) คือ *O. bulbulus* (Morelet, 1862) ลักษณะที่อธิบายหอยในสกุลนี้ Richardson (1988) ได้ทำการสร้างไคโคโตมัสคีย์ (dichotomous key) ในการระบุชนิดของ หอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae โดยสกุล *Oophana* มีลักษณะเปลือกสีขาวอมเหลือง เปลือกวงสุดท้ายเบี้ยวไปจากแกนกลางของเปลือก โดยมีความแตกต่างจากสกุลอื่นเนื่องจากมีฟันพาไรทัล 1 ฟัน และฟันที่ตำแหน่งอื่น 3-4 ฟัน ซึ่งต่างจากหอยนักล่าสกุล *Haploptychius* ที่มีฟันพาไรทัล เพียง 1 ฟันเท่านั้น ในประเทศไทยมีรายงานหอยนักล่าสกุล *Oophana* จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *O. mouhoti* (Pfeiffer, 1863) พบที่จังหวัดเพชรบุรี *O. strangulatus* (Möllerndorff, 1894) พบที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และสุราษฎร์ธานี *O. siamensis* (Pfeiffer, 1862) ในหลายจังหวัดในเขตภาคกลาง *O. subglobosus* พบที่จังหวัดสระบุรีและ *O. subbulbulus* (Möllerndorff, 1902) พบได้ในหลายจังหวัดของภาคกลางตอนบน เช่น พิษณุโลก และนครสวรรค์ *O. depressa* (Möllerndorff, 1894) พบที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช และ *O. expansilabris* (Möllerndorff, 1902) พบที่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลการสำรวจหอยนักล่าที่ผ่านมาพบว่าน่าจะยังมีความหลากหลายชนิดของหอยนักล่าในสกุล *Oophana* อยู่ในประเทศไทยอีกจำนวนมาก (Siriboon et al., 2020)

Oophana mouhoti เป็นหอยทากนักล่าที่พบในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์โดยพบว่าอาศัยอยู่ในพื้นที่ภูเขาหินปูนเท่านั้น โดยมีวงเปลือก 6-7 วง รูปทรงเป็นทรงกระบอกเอียง (oblique-heliciform) โดยวงสุดท้าย (body whorl) จะเอียงไปจากแกนกลาง (columellar axis)

ไปทางขวา ระหว่างแต่ละวงมีร่อง (suture) ตื้น ในแต่ละวงมีสันเป็นแนวตั้ง (transverse rib) อยู่ตลอดทั้งเปลือก ยกเว้นบริเวณ protoconch ที่ไม่มีสันอยู่ บริเวณปากเปลือกมีการยื่นออกมา เรียกว่า peristome และมีฟันพาไรทาล 1 ฟัน ฟันเบซัล 1 ฟัน และฟันพาลาทาล 2 ฟัน ความสูงของเปลือกประมาณ 10-13 มิลลิเมตร ความกว้างของเปลือกประมาณ 8-10 มิลลิเมตร สะดือเปลือก (umbilicus) กว้างประมาณสองมิลลิเมตร เปลือกมีสีขาวหรือขาวอมเหลือง



ภาพประกอบ 1 รูปร่างของเปลือกหอยนักล้า *O. mouhoti*

ที่มา: Siriboon, et al. (2020)

ในปี 2562 พงศ์พิสิทธิ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา ได้ศึกษาความหลากหลายชนิดของหอยทากบกใน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยทำการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วจังหวัดและนำมาคำนวณค่า ดัชนีความหลากหลาย (Shannon's Weiner index) และสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Sorensen's similarity coefficient) โดยพบหอยทากบก 22 ชนิด และพบว่ามียักษ์นักล่าอยู่สอง ชนิดได้แก่ *O. mouhoti* และ *O. strangulatus* โดยชนิดหลังเป็นชนิดเฉพาะถิ่น (endemic specie) ที่พบในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์เท่านั้น ซึ่งการศึกษานี้มีข้อมูลเพิ่มเติมทำให้ทราบว่า *O. mouhoti* มีการกระจายตัวในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จากในอดีตที่พบในจังหวัดเพชรบุรีเท่านั้น (พงศ์พิสิทธิ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา และคนอื่น ๆ, 2562) (พงศ์พิสิทธิ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา et al., 2562)

ถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยนักล่า

หอยนักล่ามักจะพบว่าอาศัยอยู่ตามพื้นที่ชื้น บริเวณที่มีเศษซากใบไม้ทับถมเน่าเปื่อย ตามใต้ใบไม้ ซอกหิน และบริเวณที่มีหอยทากบกชนิดอื่นที่หอยทากนักล่าเป็นอาหารอาศัยอยู่ เช่น บริเวณภูเขา โดยเฉพาะภูเขาหินปูน เนื่องจากคุณสมบัติทางเคมีของดินที่มีความเป็นด่าง และมีปริมาณธาตุแคลเซียมอันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่พบได้ในเปลือกของหอยทากอยู่มาก จึงเหมาะสมกับรูปแบบดำรงชีวิตของหอยทากบก ดังนั้นในบริเวณพื้นที่เขาหินปูนจึงพบหอยทาก ที่มีชีวิต และเปลือกหอยในปริมาณที่มาก ซึ่งในประเทศไทยมีสภาพลักษณะพื้นที่ภูเขาหินปูนพบ กระจายตั้งแต่ภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ (จิรศักดิ์ สุจริต และ สมศักดิ์ ปัญญา, 2551) (จิรศักดิ์ สุจริต & สมศักดิ์ ปัญญา, 2551)

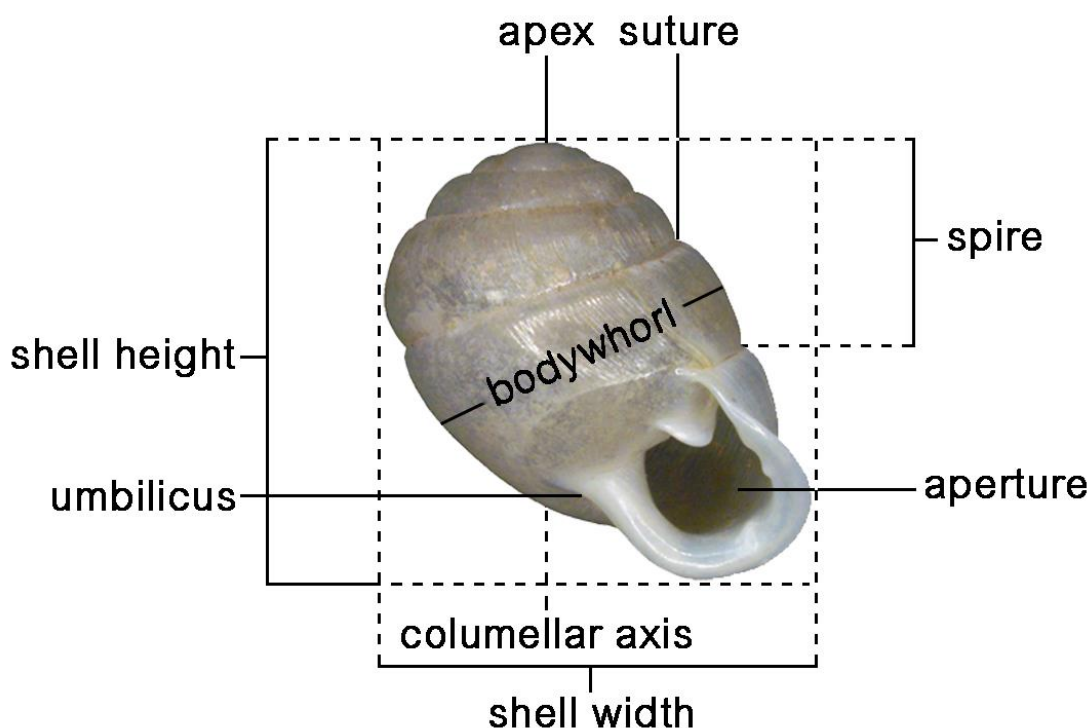
ความสำคัญของหอยนักล่าในระบบนิเวศ

หอยนักล่ามีความสำคัญต่อระบบนิเวศ มีบทบาทในการควบคุมประชากรหอยทากบกในระบบนิเวศนั้น ๆ ไม่ให้มีมากเกินไป เนื่องจากหอยทากบกสามารถการกระจายพันธุ์อย่างรวดเร็ว การดำรงชีวิตเป็นผู้ล่า ที่จะล่าหอยทากบกชนิดอื่นเป็นอาหาร จึงสามารถควบคุมประชากรของ หอยทากบกได้ นอกจากนี้ หอยนักล่ายังช่วยควบคุมสมดุลของสายใยอาหารในระบบนิเวศนั้น ๆ โดยหอยนักล่าจะดำรงชีวิตเป็นทั้งผู้บริโภค และเป็นอาหารให้กับผู้บริโภคในลำดับที่สูงกว่า (Siriboon et al., 2014a)

2. ลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาคของนักล่าในวงศ์ Streptaxidae

ลักษณะโดยทั่วไปของเปลือกหอยนักล่าจะคล้ายกับหอยทากบกทั่วไป คือเป็นทรงกรวย มียอดแหลมปิดตันซึ่งมีขนาดเล็กที่สุด และเป็นส่วนยอดของเปลือก เมื่อเปรียบเทียบกับปากกรวย

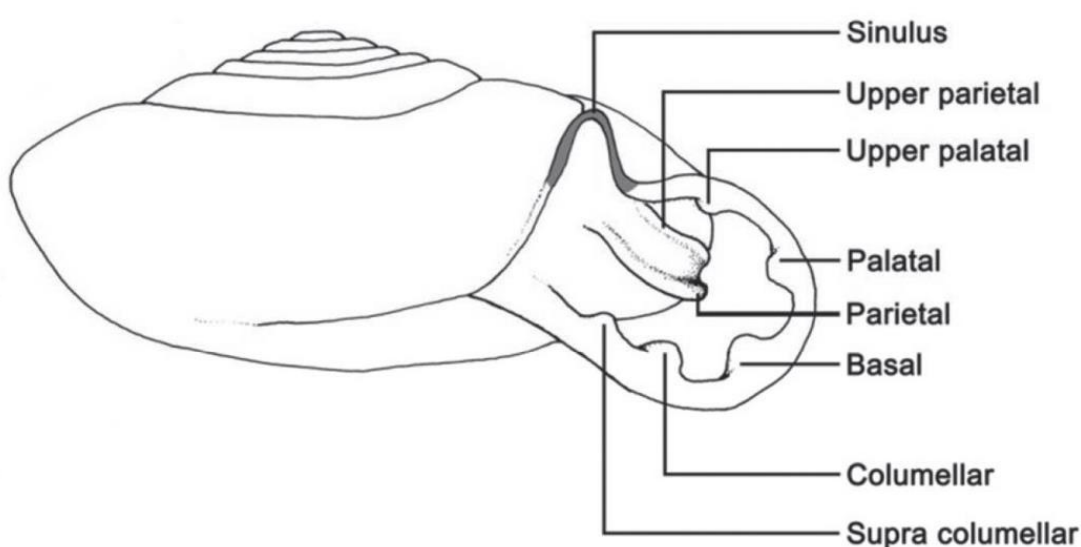
ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะการขดวนของเปลือกหอยจะเริ่มจากส่วนยอดเปลือก (apex) และวนเป็นชั้น ๆ เรียกว่าวงเปลือก (whorl) เป็นเกลียวรอบแนวแกน (axial) ซึ่งถือเป็นแนวสมมุติบริเวณกึ่งกลางเปลือก ผลของการขดวนรอบแนวสมมุติของเปลือกหอยทำให้ผนังด้านในของเปลือกหอยด้านที่ติดกับแนวแกนสมมุติมีลักษณะเป็นแท่งเรียกว่า คอลัมเมลา (collumella) เรียกส่วนของยอดเปลือกจนถึงวงเปลือกรองสุดท้ายว่า สไปร์ (spire) และวงสุดท้ายของเปลือกหอยเรียกว่า บอดี้เวิร์ล (body whorl) บริเวณที่แต่ละวงเปลือกมาแตะกันเรียกว่า ซูเจอร์ (suture) ในส่วนบริเวณปลายสุดของบอดี้เวิร์ลจะเป็นช่องหรือรูเปิดซึ่งเป็นทางออกให้ตัวหอยเรียกว่า ปากเปลือก (aperture) รอบ ๆ ปากเปลือกของหอยที่โตเต็มวัยแล้ว จะมีการสะสมของแคลเซียมที่บริเวณขอบเรียกว่า ขอบปากเปลือก (peristome) และที่ส่วนปลายด้านล่างคอลัมเมลามีรูที่เรียกว่า สะดือเปลือก หรืออัมบิลิคัส (umbilicus) ดังที่แสดงในภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 โครงสร้างต่าง ๆ ของเปลือกหอยนักล่า *O. mouhoti*

ความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานของเปลือกที่เห็นได้ชัดระหว่างหอยนักล่ากับหอยทากบกชนิดอื่น นั่นก็คือการปรากฏของฟันบริเวณปากเปลือก (apertural lamellae) ที่บริเวณปาก

เปลือก โดยในหอยนักล่าแต่ละชนิดก็จะมีจำนวน และตำแหน่งการปรากฏของฟันที่แตกต่างกันไป โดยวิธีการเรียกชื่อฟันเปลือกนั้น จะเรียกจากตำแหน่งปากเปลือกที่ฟันเปลือกปรากฏ เช่น ฟันเปลือกที่อยู่บริเวณฐานของปากเปลือก จะเรียกว่าฟันเบซัล (basal lamella) ฟันเปลือกที่อยู่ด้านขวาของปากเปลือก จะเรียกว่าฟันพาลาทัต (palatal lamella) ฟันเปลือกที่อยู่ด้านซ้ายของปากเปลือก จะเรียกว่าฟันคอลลัมเมลลา (columellar lamella) และฟันเปลือกที่ยื่นมาจากวงเปลือก สุดท้ายจะเรียกว่าฟันพาไรทัต (parietal lamella) ดังที่แสดงในภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 ตำแหน่งของฟันเปลือก

ที่มา: Siriboon et al. (2014a)

ระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารเริ่มจากช่องปากที่มีกล้ามเนื้อ (retractor muscle) ที่แข็งแรง ภายในมีแผ่นฟัน (radula) เพื่อใช้ในการขูดกินอาหาร ถัดจากปากเข้าไปเป็นโพรงปาก หลอดอาหาร ผนังมีต่อมน้ำลายอยู่โดยรอบ ถัดไปเป็นกระเพาะ ต่อมผลิตน้ำลาย ลำไส้ใหญ่ และ ทวารหนักเปิดออกทางด้านหลังของช่องหายใจ แผ่นฟัน (radula) เป็นอวัยวะที่ใช้ในการขูดกินอาหารของหอยฝาเดียวเช่นเดียวกับฟันในสัตว์ชั้นสูง โดยทำหน้าที่ขูดหรือครูดอาหาร ปิดอาหาร ตัดอาหาร จับอาหาร ถูกสร้างมาจากถุงแรดูลา (radula sac) ที่อยู่ในช่องปาก มีลักษณะเป็นแถบ ยาวหรือเป็นแผ่น ประกอบด้วยสารพวกไคติน (chitin) มีแผ่นกระดูกอ่อนที่เรียกว่าไอดอนโทเฟอร์ (odontophore) เป็นที่ยึดแผ่นฟัน โดยทั่วไปในหนึ่งแถวตามขวางของแผ่นฟันจะประกอบด้วยฟัน

3 ชนิด คือ ฟันกลาง (central teeth) ฟันข้าง (lateral teeth) และ ฟันขอบ (marginal teeth) ซึ่งจะมีรูปร่างและจำนวนที่แตกต่างกันไปในหอยแต่ละชนิดตามลักษณะของอาหาร (จิรศักดิ์ สุจริต และคนอื่น ๆ, 2561) ในบางครั้งลักษณะการจัดเรียงของแผ่นฟันสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกในระดับวงศ์ หรือสกุลของหอยได้ โดยในกลุ่มหอยนักล่าที่เป็นสัตว์กินเนื้อ (carnivore) จะมีแผ่นฟันเป็นทรงแหลมคล้ายหอก (lanceolate) เนื่องจากต้องใช้ในการชูดกินเนื้อ ดังที่แสดงในภาพประกอบ 4 (จิรศักดิ์ สุจริต et al., 2561)



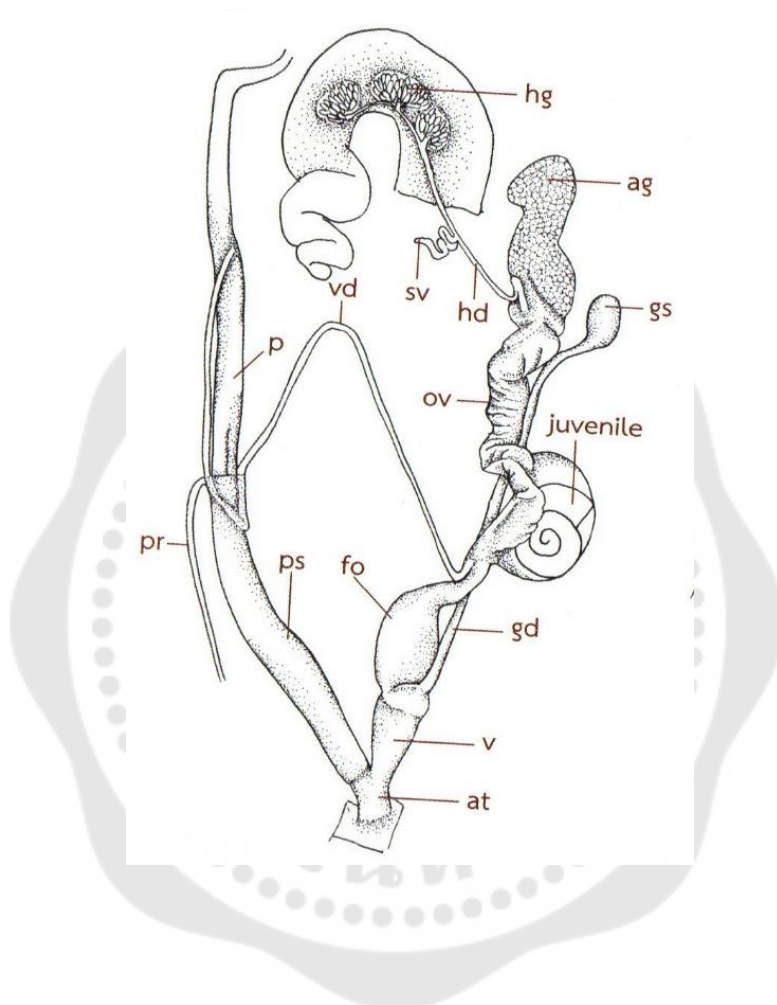
ภาพประกอบ 4 ลักษณะของแผ่นฟัน (radula) ในหอยนักล่า *D. discus*

ที่มา: Siriboon et al. (2014a)

ระบบสืบพันธุ์

ระบบสืบพันธุ์ของ *O. mouhoti* เป็นแบบสองเพศในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) โดยมีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียแยกกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 5 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้มีปลอกหุ้ม Penis (penial sheath) ห่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penis) แต่เมื่อเกิดการผสมพันธุ์ จะต้องเกิดการปฏิสนธิข้ามตัว (cross fertilization) แบบที่หอยทั้งคู่ต้องแสดงการทำหน้าที่ทั้งสองเพศในระหว่างผสมพันธุ์ (reciprocal copulation) การปฏิสนธิจะเกิดขึ้นภายในตัว

(internal fertilization) และออกลูกเป็นแบบไข่ในตัว (ovoviviparous) บริเวณท่อนำไข่ (oviduct) ของหอยพ่อแม่



ภาพประกอบ 5 ระบบสืบพันธุ์ของหอยนักล่า *O. mouhoti*

(hg) hermaphroditic gland; (sv) seminal vesicle; (hd) hermaphroditic duct; (ag) albumin gland; (gs) gametolytic sac; (ov) oviduct; (gd) gametolytic duct; free oviduct; (v) vagina; (at) atrium; (ps) penial sheath; penis retractor muscle; (p) penis; (vd) vas deferens

ที่มา: จิรศักดิ์ สุจริต และคนอื่น ๆ (2561) จิรศักดิ์ สุจริต et al. (2561)

การศึกษากายวิภาคระบบสืบพันธุ์ของหอยนักล่าในประเทศไทยเพื่อนำมาใช้เป็นลักษณะในการจำแนกทางอนุกรมวิธาน เริ่มจากในปี 2010 จิรศักดิ์ สุจริต และคณะ ได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ของหอยนักล่าในสกุล *Diaphera* Albers, 1850 ในประเทศไทยและพบว่ามีความแตกต่างไปจาก หอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae สกุลอื่นแต่มีความคล้ายคลึงกับสกุล *Sinoennea* Kobelt, 1904, *Careoradula* Gerlach & van Bruggen, 1999, *Discartemon*, *Augustula* Thiele, 1931, และ *Imperturbatia* von Martens, 1898 หลังจากนั้นจึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในกลุ่มเหล่านี้ โดยใช้โปรแกรม ITS-2 และ LSU:28S โดยใช้วิธี neighbor-joining (NJ), Maximum Likelihood (ML), และ Bayesian Inference (BI) เพื่อวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยนักล่าในสกุล *Diaphera* กับ หอยนักล่ากลุ่มอื่น ๆ พบว่าหอยนักล่าที่มีเปลือกทรงสูง 2 สกุล (*Diaphera* และ *Sinoennea*) ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันในฐานะ sister เคลด ของหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae sensu stricto และการแยกสายของหอยทาก 2 สกุลนี้ออกมาจากวงศ์ Streptaxidae โดยมีหลักฐานทางอณูชีววิทยา กายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ที่ไม่มีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และหลักฐานของเปลือกทำให้เกิดการตั้งวงศ์ของหอยนักล่าใหม่ชื่อว่า Diapheridae ภายใต้วงศ์ใหญ่ Streptaxoidea ในปัจจุบันหอยนักล่าในสกุล *Diaphera* มีอยู่ประมาณ 39 ชนิด กระจายตัวในแถบประเทศพม่า ไทย กัมพูชา ฟิลิปปินส์ ไปจนถึงหมู่เกาะกาลิมาตันในประเทศอินโดนีเซีย (Sutcharit et al., 2010)

3. การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis)

มอร์โฟเมตริกส์ หมายถึงการวัดค่ารูปแบบของสิ่งต่าง ๆ ในเชิงวิทยาศาสตร์ ถ้านำมาประยุกต์ใช้กับทางชีววิทยาแล้ว จะหมายถึงการศึกษาเกี่ยวกับความแตกต่าง การแปรผัน และการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาในสิ่งมีชีวิตทั้งด้านขนาด และรูปร่าง โดยใช้หลักการทางสถิติขั้นสูงมาช่วยอธิบายเปรียบเทียบความแตกต่าง (พรพิมล เจียรนัยปริเปรม, 2557)

การวิเคราะห์ทางมอร์โฟเมตริกส์เพื่อช่วยในการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาในสิ่งมีชีวิต โดยมีหลักการคือ สิ่งมีชีวิตแต่ละตัว จำพบลักษณะความแปรผันทางด้านการเจริญส่งผลทำให้เกิดรูปแบบความแปรผันและความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาภายในชนิด โดยอาจเกิดจากอิทธิพลทางพันธุกรรม สิ่งแวดล้อม และการคัดเลือกโดยธรรมชาติ โดยสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวย่อมมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เฉพาะตัว ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาโดยมีสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยที่มีผลด้วย ได้แก่ ความแตกต่างด้านขนาดและรูปร่าง ที่สิ่งมีชีวิตจะตอบสนองต่อแรงกดดัน

ของการคัดเลือกโดยธรรมชาติ สิ่งมีชีวิตตัวใดที่มีลักษณะที่เหมาะสมกับสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลานั้น จะสามารถมีชีวิตรอดและสืบพันธุ์เพื่อส่งต่อรูปแบบพันธุกรรมให้กับสิ่งมีชีวิตรุ่นต่อไป (พรพิมล เจริญชัยปรีเปรม, 2557)

การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต (geometric morphometric analysis)

มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต เป็นการศึกษาความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยอาศัยหลักการทางเรขาคณิต โดยเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงรูปร่าง ซึ่งมีรูปแบบข้อมูลเป็น หลายมิติ ไม่มีหน่วย และมีการกำจัดตัวแปรที่ไม่เกี่ยวข้องเช่น ขนาด การหมุนรูปร่าง และการ เคลื่อนที่ ไม่ให้ส่งผลต่อการแปรผันของข้อมูล โดยการนำเข้าข้อมูลมี 2 วิธี ได้แก่

1. ข้อมูลเชิงจุดกำหนด (landmark-based data) เป็นข้อมูลจุดพิกัดในระนาบสอง หรือ สามมิติ ลงบนจุดที่เป็นโครงสร้างของตัวอย่างที่เป็น homologous structure ที่เป็นจุดเดียวกันใน ตัวอย่างทั้งหมดที่ศึกษา สามารถแบ่งรูปแบบจุดกำหนดได้สามแบบ ดังนี้

1.1 จุดกำหนดเชิงกายวิภาค (anatomical landmark) เป็นการเลือกจุดกำหนดโดย อาศัยความสอดคล้องเชิงโครงสร้าง เช่น ยอดเปลือก สะดือเปลือก

1.2 จุดกำหนดเชิงคณิต (mathematical landmark) เป็นการเลือกจุดกำหนดโดย อาศัยคุณสมบัติทางเรขาคณิต เช่น ความกว้าง ความยาว และจุดที่อยู่สูงที่สุด

1.3 จุดกำหนดเทียม (pseudo landmark) เป็นการเลือกจุดโดนอ้างอิงจากจุด กำหนดประเภทอื่น เช่น จุดกึ่งกลางระหว่างจุดกำหนดเชิงกายวิภาคสองจุด

2. ข้อมูลเชิงโครงร่าง (outline-based data) เป็นข้อมูลของเส้นรอบภาพประกอบแสดง เค้าโครงร่างของตัวอย่าง ในรูปแบบชุดข้อมูลที่เรียงตัวในระยะห่างที่เท่ากัน เรียกว่า พิกัดกึ่งจุด กำหนด (semi-landmark) การใช้ข้อมูลชนิดนี้จะช่วยแก้ปัญหาที่บางครั้งไม่สามารถหาจุดกำหนด ที่เป็น homologous structure ได้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติในการศึกษามอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต ใช้การวิเคราะห์สถิติ หลายตัวแปร (multivariate analysis) ซึ่งวิธีที่ง่ายและนิยมใช้มีดังนี้

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) เป็นวิธีที่ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร โดยที่ไม่ทราบการเป็นสมาชิกกลุ่มตัวอย่างมาก่อน ใช้เพื่อ ตรวจสอบโครงร่างของชุดตัวแปรที่มีผลต่อความผันแปรของตัวอย่าง และจัดกลุ่มตัวแปรที่มี ความสัมพันธ์กันไว้ในกลุ่มเดียวกัน ตัวแปรที่อยู่ในปัจจัยเดียวกันจะมีความสัมพันธ์กันมาก อาจ เป็นในทิศทางบวก (ความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน) หรือทิศทางลบ (ความสัมพันธ์ไปในทิศทาง

ตรงกันข้าม) ในขณะที่ตัวแปรที่อยู่ในกลุ่มปัจจัยต่างกัน จะไม่มีความสัมพันธ์กันหรือมีความสัมพันธ์น้อย

2. การวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม (discriminant analysis; DA) เป็นวิธีที่ใช้แยกตัวอย่างที่รู้กลุ่มอยู่แล้ว ใช้เพื่อจัดจำแนกตัวอย่างในกลุ่มเดิมมาวิเคราะห์ใหม่ ว่าควรจะอยู่ในกลุ่มใดแบ่งเป็น 2 ประเภทได้แก่

2.1 การแบ่งกลุ่มที่เหมาะสมของตัวอย่างโดยใช้ฟังก์ชันจำแนก (discriminant function) เพื่อให้แยกกลุ่มตัวอย่างที่กำหนดไว้ก่อนหน้าออกจากกันได้มากที่สุด

2.2 การจำแนกกลุ่ม เพื่อตัดสินใจว่าตัวอย่างนั้นควรจะใกล้เคียง หรืออยู่ในกลุ่มใด โดยใช้วิธีวัดระยะห่างระหว่างตัวอย่างกับกลุ่มของมาฮาลานอบิส (mahalanobis distance)

การนำการวิเคราะห์หัตถ์พิมพ์เมทริกซ์เชิงเรขาคณิตมาประยุกต์ใช้กับการหาความแปรผันของเปลือกหอย เริ่มจากในปี 2014 ณัฐวดี นันตรัตน์ และคณะ ได้ทำการศึกษาความแปรผันทั้งทางพันธุศาสตร์และทางสัณฐานวิทยาของเปลือกภายในชนิดของหอยทากบก *Cyclophorus fulguratus* (Pfeiffer, 1854) โดยใช้วิธีศึกษาแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ยีน 18S, 28S, 16S และ COI ในการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการทางวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML), Bayesian Inferences (BI) และ Neighbor joining (NJ) กำหนดขอบเขตชนิดด้วย Bayesian species delimitation และวิเคราะห์หัตถ์พิมพ์เมทริกซ์เชิงเรขาคณิตด้วยวิธีวิเคราะห์ตัวแปรคาโนนิคัล (canonical variate analysis; CVA) โดยสร้างจุดกำหนดจำนวน 13 จุด ผลการศึกษาพบว่า การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแสดงให้เห็นสายวิวัฒนาการของหอยชนิดนี้แบ่งออกเป็น 3 สายตามพื้นที่การกระจายตัวในประเทศไทย โดยผลของ Maximum Likelihood (ML) แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของกลุ่มนี้ไม่เป็นแบบ monophyletic group ผลของ Bayesian species delimitation แสดงให้เห็นว่าเกิดการแยกสายวิวัฒนาการออกเป็น 3 สาย ผลการวิเคราะห์หัตถ์พิมพ์เมทริกซ์เชิงเรขาคณิตแสดงให้เห็นว่า ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเปลือกตามสายวิวัฒนาการที่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีการแสดงถึงลักษณะสัณฐานซ่อนเร้น (cryptic morphologically) ผู้วิจัยได้ให้ข้อสรุปว่า *C. fulguratus* s. l. นี้ประกอบไปด้วย 3 ชนิดที่แยกกันสมบูรณ์ได้แก่ *C. fulguratus* s. s., *C. rangunensis* Kobelt, 1908 และ *C. abditus* Nantararat & Panha, 2014 ซึ่งเป็นชนิดใหม่ที่ค้นพบในการศึกษา (Nantararat et al., 2014) ต่อมาในปี 2016 Jonathan P. Miller ได้ทำการศึกษา

ความแปรผันของเปลือกหอย *Cerion mumia* Bruguière, 1792 species complex โดยใช้การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตโดยเลือกจุดกำหนดทั้ง 18 จุด ที่เป็น homologous structure นำไปผ่านกระบวนการ procrustes superposition เพื่อกำจัดผลกระทบของขนาด และการหมุนของภาพตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์ principal component analysis (PCA) เพื่อให้เห็นผลออกมาเป็น PC score ต่อมาสร้าง matrix ของมอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตของตัวอย่าง โดยกำหนดเป็นตัวเลขของแต่ละลักษณะ เช่น จำนวนวงเปลือก การปรากฏของสันเปลือก การมีพื้นผิวไรท์ การมีพื้นคอลัมเมลลา ความหนาของปากเปลือก สีของปากเปลือก สีของเปลือก สถานที่เก็บตัวอย่าง ตั้งแต่ 0–3 แล้วนำไปสร้างด้วยวิธี neighbor joining (NJ) โดยใช้ *C. alberti* Clench et Aguayo, 1949 เป็น outgroup แสดงระยะห่างของสัณฐาน (morphological distance) จำนวน 5,000 ซ้ำ ทำ warp analysis จากผลที่ได้ให้แสดงผลเป็น thin-plate spline graphic บนกราฟของ PC score เพื่อแสดงการกระจายของความแปรผันของเปลือกในแต่ละ taxa งานวิจัยนี้ทำเพื่อพิสูจน์สมมติฐานการตั้งถิ่นฐานของหอยชนิดนี้ผ่านทางเชื่อมทางธรรมชาติ (land bridge) ในช่วง Eocene-Oligocene โดยพบว่า *C. mumia cuspidatum* ที่มีการกระจายตัวในทางตะวันออกมีรูปร่างทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับชนิดย่อยที่พบทางตอนเหนือของเกาะ Havana แต่ผลการวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต แสดงให้เห็นว่าเกิดการแยกเป็นชนิดใหม่ (speciation) โดยการค่อย ๆ เคลื่อนย้ายประชากรไป (dispersal) โดยเปลือกของตัวอย่างที่มาจากทางทิศตะวันตกจะมีความกลมกว่า เปลือกจากเกาะ Havana และทางทิศตะวันออกที่มีความเป็นทรงกระบอกมากกว่า โดยจากผลการวิเคราะห์ในครั้งนี้ ผู้วิจัยได้เสนอให้มีการยกระดับ *C. noriae* Aguayo et Sánchez Roig, 1953 และ *C. wrighti* Aguayo et Sánchez Roig, 1953 เป็นระดับชนิด และรวม *C. noriae hondanum* Plisbry, 1902 ให้เป็นชนิดย่อยของ *C. noriae* ที่เกิดจากการรวมตัวของ Playa Santa Fe ในช่วงปลายยุค Pleistocene อีกทั้งยังเสนอว่าการวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตนั้น มีประโยชน์ในการระบุชนิดจากตัวอย่างที่ได้มาใหม่ เมื่อเทียบกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimen) (Miller, 2016) ต่อมาในปี 2019 เอกชัย จิรัฏฐิติกุล และคณะ ได้ศึกษาหอยกาบน้ำจืดชนิด *Contradens contradens* (Lea, 1838) ในประเทศไทย ด้วยวิธีอนุกรมวิธานบูรณาการ (integrative taxonomy) โดยเครื่องมือที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ การศึกษามอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตของเปลือกโดยเลือกจุดกำหนดทั้งหมด 26 จุด วิเคราะห์ด้วย procrustes ANOVA, CVA และการระบุชนิดทางอนุกรมวิธานด้วยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI) และ species delimitation โดยใช้ยีน *COI* และ *H3* ผลการศึกษาพบว่าความแปรผันทางลักษณะรูปร่างของเปลือกอาจไม่สอดคล้องไปตามหลักการวิวัฒนาการ แต่เกิดจากความยืดหยุ่นที่เกิดจากความแปรผันได้ของฟีโนไทป์ (phenotypic plasticity) และหอยกาบชนิดนี้ถูกแบ่งออกเป็น 3 เคลด ตามระบบการไหลของน้ำจืดในประเทศไทย ได้แก่ เคลดของ *C. contradens* ที่พบในกลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา รวมไปถึงแม่น้ำอื่นที่ไหลสู่อ่าวไทย เคลดของ *C. crossei* (Deshayes, 1876) ที่พบอยู่ในกลุ่มแม่น้ำโขงเท่านั้น และเคลดของ *C. rolfbrandti* Jeratthitikul & Panha, 2019 ที่จำเพาะในห้วยหลวงทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และเป็นหอยกาบน้ำจืดชนิดใหม่ที่มีการบรรยายในการศึกษานี้ (Jeratthitikul et al., 2019) ต่อมาในปี 2020 ตวงทอง บุญมาชัย และ ณัฐวดี นันตรัตน์ ได้ศึกษาผลของสภาพที่อยู่อาศัยที่มีต่อความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของเปลือกของหอยทากสยาม *Cryptozона siamensis* (Pfeiffer, 1856) ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยตัวอย่างจากสองแหล่งที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน คือจากเขาหินปูน (504-512 m asl) และที่ราบต่ำ (303-340 m asl) โดยใช้การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตโดยเลือกจุดกำหนดทั้งหมด 9 จุด วิเคราะห์ PCA และ CVA ด้วยโปรแกรม MorphoJ แสดงผลออกมาเป็น scatter plot และ กราฟ wireframe รวมไปถึงการวิเคราะห์ DNA fingerprint ด้วยเทคนิค high annealing temperature randomly amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) โดยใช้ยีน *COI* แสดงผลเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้วิธี NJ และ ML อีกทั้งยังศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์และแรดูลาของตัวอย่างจากแต่ละพื้นที่ เพื่อระบุถึงความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยที่อยู่ในพื้นที่ต่างกัน ผลการศึกษาด้วยวิธีมอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตพบว่าพื้นที่ที่มีการกระจายตัวของตัวอย่างส่งผลต่อความแปรผันของเปลือกอย่างมีนัยสำคัญ โดยตัวอย่างที่อาศัยในเขาหินปูนจะมีความหนาของเปลือกมากกว่าที่อาศัยในที่ราบ เนื่องจากบริเวณเขาหินปูนนั้นมีแร่ธาตุ CaCO_3 ที่หอยทากใช้ในการสร้างเปลือกมากกว่า ผลทางกายวิภาคของระบบสืบพันธุ์พบว่ามีความแตกต่างกันที่ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ รูปร่างของท่อนำไข่ และ ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ซึ่งผู้วิจัยได้ให้ข้อเสนอไว้ว่าอาจเกิดการแยกชนิดใหม่จากการแยกทางภูมิศาสตร์ (allopatric speciation) ขึ้นได้ในอนาคตเนื่องจากการมีลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ที่อาจเป็นการกีดกันทางการสืบพันธุ์ (reproductive isolation) ที่เป็นหนึ่งในวิธีการกีดกันการเข้าคู่กันก่อนเกิดไซโกต (prezygotic isolation) ผลของการวิเคราะห์ HAT-RAPD แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่าง

ตัวอย่างจากเขาหินปูน และที่ราบต่ำ อย่างไรก็ตามผลความเหมือนและต่างกันในพื้นที่กึ่งกลางไม่สามารถอธิบายการแยกของสายวิวัฒนาการได้ ความเหมือนกันของพันธุกรรมในตัวอย่างจากที่ราบต่ำอาจอธิบายได้ว่าการถ่ายเทของยีนภายในกลุ่มประชากรที่อาศัยในพื้นที่เดียวกัน (Boonmachai & Nantararat, 2020)

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (molecular phylogenetic analysis)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการนั้น ถูกคิดค้นขึ้นเนื่องจากสิ่งมีชีวิตในบางกลุ่มมีความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความแปรผันและไม่แน่ชัดสูง ทำให้ต้องมีวิธีการศึกษาในระดับโมเลกุลเพิ่มเติมเพื่อความละเอียดและแม่นยำมากขึ้น โดยแบ่งวิธีการศึกษาออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ วิเคราะห์ในระดับโปรตีน และการวิเคราะห์ในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้วิธีการศึกษาในระดับดีเอ็นเอ โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (comparison of nucleotide sequence) ซึ่งมีหลักการคือ สิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้เคียงกันทางวิวัฒนาการ จะมีรูปแบบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลำดับใกล้เคียงกัน เมื่อนำข้อมูลลำดับเหล่านี้มาทำการเทียบเคียง (sequence alignment) จะสามารถสร้างเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการได้ โดยเลือกวิธีที่วิเคราะห์ลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยตรง (character-based approach) หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบค่าความเชื่อมั่นโดยใช้กระบวนการทางสถิติ เช่น การวิเคราะห์บูทสแตรป (bootstrap analysis) (ฉัจฉริยา รังษิรุจิ, 2555)

วิธีสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree)

1. วิธีที่ใช้การคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม เช่น neighbor joining (NJ) โดยทำการคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) แล้วนำมาสร้างเป็นตารางแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม จากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้มาสร้างเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยเชื่อมโยงสายวิวัฒนาการของคู่สิ่งมีชีวิตที่ระยะห่างพันธุกรรมน้อยที่สุด ตามด้วยสิ่งมีชีวิตที่ระยะห่างมากขึ้นตามลำดับ วิธีนี้ได้รับความนิยมในการจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิต แสดงผลในรูปแบบของแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบไม่มีราก (unrooted tree)

2. วิธีที่ใช้การวิเคราะห์ลักษณะของลำดับกรดอะมิโนหรือลำดับนิวคลีโอไทด์โดยตรง เช่น Maximum Likelihood (ML) มีหลักการเป็นการคำนวณความน่าจะเป็น (probability) ของข้อมูลลำดับกรดอะมิโน หรือลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่มีการแสดงออกของฟีโนไทป์ โดยทำการสมมติให้ชุดข้อมูลมีการวิวัฒนาการภายใต้แบบจำลองต่าง ๆ แผนภูมิที่ได้จากการวิเคราะห์วิธีนี้ มีความน่าจะเป็น

เป็นสูง และใช้เป็นสมมติฐานที่เกี่ยวกับวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษ หลังจากได้แผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแล้ว จะต้องทำการทดสอบความเชื่อมั่นของสายวิวัฒนาการแต่ละเคลด โดยการวิเคราะห์ค่าพหุสเตรป หลังจากที่ได้แผนภูมิที่ดีที่สุดแล้ว ค่าพหุสเตรปนี้จะแสดงในรูปของร้อยละ ต่อมา มีการประยุกต์ ทฤษฎีของ Bayes สร้างเป็นวิธีวิเคราะห์ Bayesian Inferences มีหลักการโดยคำนวณความน่าจะเป็นที่จะเกิดรูปแบบการวิวัฒนาการในแบบต่าง ๆ โดยใช้ค่าความน่าจะเป็นภายหลัง (posterior probability) เพื่อศึกษาความน่าจะเป็นในการเกิดเหตุการณ์ต่าง ๆ ซึ่งจำคำนวณในแต่ละกิ่งของแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ Markov chain Monte Carlo เพื่อประมาณค่า posterior probability และความไม่แน่นอนของ parameter โดยใช้ Markov algorithm เพื่อให้ได้การแจกแจงแบบคงที่ (stationery distribution) (อัจฉริยา รั้งศิริ, 2555)

รูปแบบการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตนั้น มีการแยกสายมาจากบรรพบุรุษร่วม และมีการกลาย (mutation) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ซึ่งผ่านการคัดเลือกโดยธรรมชาติ ซึ่งส่งผลในระดับโมเลกุลโดยทำให้เกิดการแทนที่ของเบส (base substitution) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ดังนั้นการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจึงต้องมีการตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับการแทนที่ของเบสแสดงในรูปแบบจำลองวิวัฒนาการ โดยประกอบด้วยความแตกต่างของพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น ความถี่ของเบสแต่ละชนิด (base frequency) อัตราส่วนการแทนที่ของเบส (transition/transversion) โดยสามารถเรียงลำดับแบบจำลองวิวัฒนาการที่มีความซับซ้อนจากน้อยไปมากได้ดังนี้ $JC < K2P < HKY85 < GTR$ (Sullivan & Joyce, 2005)

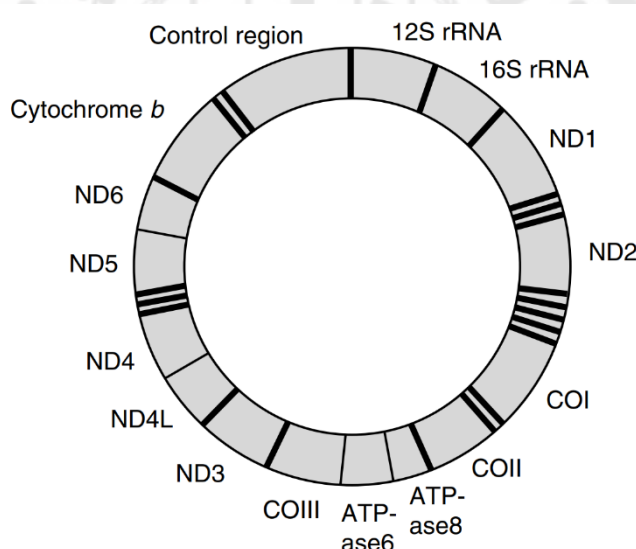
การเลือกบริเวณยีน (gene regions) ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในงานวิจัยนี้ จะใช้การวิเคราะห์ลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยตรง (character-based approach) ซึ่งจะต้องมีการเลือกยีนที่ใช้ศึกษาตามความเหมาะสมของรูปแบบงานวิจัย ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ภายในชนิดของหอยนักล่า *O. mouhoti* จึงต้องใช้อยีนที่มีความแตกต่างภายในชนิดต่ำ และมีความแตกต่างระหว่างชนิดสูง จึงเลือกใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA; mtDNA) ซึ่งมีความเหมาะสมกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (nuclear DNA) เนื่องจากไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในสัตว์มีลักษณะเป็นวงกลม (circular DNA) ดังแสดงในภาพประกอบ 6 ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์นี้มีความยาวอยู่ที่ 15,000-17,000 คู่เบส ประกอบไปด้วยยีนที่ใช้ในการถอดรหัสเพื่อสังเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้ในการ

หายไจระดับเซลล์จำนวน 13 ยีน ยีนที่แปลรหัสเพื่อสังเคราะห์เป็น tRNA จำนวน 22 tRNA และยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์ไรโบโซม 2 rRNA มีการจัดเรียงตัวของยีนที่ไม่ซับซ้อน ไม่มีส่วนที่เป็น intron มีบริเวณที่เรียกว่า control region หรือ D-loop (displacement loop) ที่เป็นจุดเริ่มต้นของการเพิ่มจำนวน (replication) และการถอดรหัส (transcription) บริเวณนี้ไม่มีการแปลรหัสเป็นโปรตีน มีอัตราการกลาย (mutation rate) สูงกว่าบริเวณอื่นในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีความอนุรักษ์ของโครงสร้าง ขนาด และการจัดเรียงของยีนสูงแต่มีอัตราการกลายสูงเช่นเดียวกัน โดยอัตราการเกิดการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอสูงกว่าในนิวเคลียสดีเอ็นเอถึง 10 เท่า ความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงเมื่อนำไปเทียบกับสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน (high interspecific variation) และมีความแปรผันต่ำภายในชนิดเดียวกัน (low intraspecific variation) เนื่องจากกลไกธรรมชาติในการควบคุมความผันแปรในลำดับเบสส่วนนี้ เพื่อให้โครงสร้างและองค์ประกอบของโปรตีนมีสามคงที่และเกิดการเสถียรภาพ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต ซึ่งคุณสมบัตินี้มีความสำคัญในการจำแนกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดออกจากกันได้ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในสัตว์ส่วนใหญ่มีการส่งต่อจากแม่สู่ลูก (maternal inheritance) ไม่มีการเกิด recombination จึงพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของลูกจะมีความคล้ายคลึงกับแม่ ต่างจากนิวเคลียสดีเอ็นเอที่จะมีการถ่ายทอดมาจากทั้งพ่อและแม่สู่ลูก และยังเกิดการ recombination ทำให้การใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอสามารถวิเคราะห์สายสัมพันธ์ภายในกลุ่มประชากรได้ เหมาะแก่การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีจำนวนซ้ำต่อเซลล์มากกว่านิวเคลียสดีเอ็นเอขึ้นอยู่กับประเภทของเซลล์นั้นๆ ในเซลล์ที่ต้องการพลังงานการใช้พลังงานที่สูงจะมีจำนวนไมโทคอนเดรียต่อหนึ่งเซลล์ในปริมาณมาก ส่งผลให้จำนวนของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอนั้นขึ้นอยู่กับวัยหรือเซลล์ว่ามีความต้องการในการใช้พลังงานมากเพียงใด นอกจากนี้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอยังมีความทนทานต่อ สภาพแวดล้อมรอบนอกมากกว่านิวเคลียสดีเอ็นเอ จึงมีคุณสมบัติในการคงสภาพได้ดีกว่าและมีอัตราในการเสื่อมสภาพที่ต่ำกว่า เนื่องด้วยของไมโทคอนเดรียมีองค์ประกอบที่เป็นเยื่อหุ้ม 2 ชั้นช่วยในปกป้องไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากการทำลายโดยสภาพแวดล้อมภายนอก เช่น แสงแดด ความร้อน หรืออนุมูลอิสระจาก เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เป็นต้น (จุฑามาศ ศุภพันธ์ และ วีระ เกียรติทรัพย์มี, 2016; จูติกา กิจพิพิธ และ ภูวดล ธนะเกียรติไกร, 2013) หลักการในการเลือกยีนในไมโทคอนเดรียเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ยีนที่เลือกจะต้องมีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์มากพอที่จะแยกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน แต่มีความแตกต่างภายในชนิดต่ำ และเป็นบริเวณอนุรักษ์ (conserve region) ที่สามารถใช้ universal primer เข้ามาจับเพื่อเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) ได้ (พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์, 2011) (จุฑามาศ ศุภพันธ์ & วีระ เกียรติทรัพย์มี, 2016; จุติกา กิจพิพิธ & ภูวดล ธนะเกียรติไกร, 2013)

ตัวอย่างยีนที่นิยมใช้ในการศึกษาในกลุ่มมอลลัสก์ เช่น ยีน *cytochrome c oxidase subunit I* (COI หรือ CoxI) ที่มีความยาวประมาณ 500-600 คู่เบส ซึ่งเป็นยีนที่มีความสำคัญในการหายใจระดับเซลล์ มีความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ในประชากรสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันต่ำ แต่มีความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดสูง และมีการกลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ต่ำ และยีน 16S rRNA ซึ่งเป็นยีนในไมโทคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูแคริโอต ที่ใช้ในการถอดรหัสเพื่อสังเคราะห์ไรโบโซมหน่วยย่อยใหญ่ (large sub unit; LSU) ซึ่งถูกใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของชนิดที่ใกล้เคียงกัน รวมไปถึงความแปรผันภายในชนิด (Hyman & Köhler, 2019; Köhler & Burghardt, 2016; Siriboon et al., 2020; Uit de Weerd & Gittenberger, 2013; Xu et al., 2009)



ภาพประกอบ 6 ตำแหน่งยีนที่พบในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ที่มา: Freeland et al. (2005)

ในปี 2020 ธนิต ศิริบุญ และคณะทำการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยการใช้ตัวอย่างที่ระบุชนิดแล้ว 24 ชนิด และยังไม่ระบุชนิด 12 ชนิด จาก 6 สกุลโดยรวบรวมมาจาก

ประเทศไทย มาเลเซียตะวันตก และประเทศลาว โดยใช้หอยจาก Achatinoid เคลด 3 ชนิดได้แก่ *Lissachatina fulica* (Bowdich, 1822), *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) และ *Allopeas* sp. (Subulininae) เป็น outgroup โดยการระบุชนิดตัวอย่างหอยนักร้องในการศึกษานี้จะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลักควบคู่กับการเทียบตัวอย่างต้นแบบในพิพิธภัณฑ์ โดยใช้สกัด genomic DNA จากเนื้อเยื่อเท้าของตัวอย่าง ทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยใช้ primer ที่เพิ่มจำนวน ยีน COI และ 16S rRNA ก่อนนำไปทำการหาลำดับเบส (sequencing) จากนั้นนำไปวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI) ด้วยโมเดลการแทนที่ของเบสแบบ Akaike information criterion (AIC) และวิธี Bayesian inference (BI) ด้วยโมเดลการแทนที่ของเบสแบบ Bayesian information criterion (BIC) ผลที่ได้พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลที่สอดคล้องกันโดยหอยนักร้องในวงศ์ Streptaxidae จากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความสัมพันธ์แบบ monophyly แบ่งออกเป็น 10 เคลดย่อย ตามพื้นที่การกระจายตัวที่แตกต่างกัน ในสกุล *Oophana* นั้นมีความสัมพันธ์แบบ polyphyletic แบ่งออกเป็น 3 เคลด หลัก เคลดแรกประกอบไปด้วยกลุ่มของ *O. mouhoti* และ *O. strangulatus* จากทางภาคตะวันตก ที่มีลักษณะร่วมกันที่แตกต่างจากชนิดอื่นในสกุลคือ รูปทรงเปลือกเป็นทรงกระบอก (cylindrical) เคลดต่อมาประกอบไปด้วยกลุ่มของ *O. subbulbulus* และ *O. siamensis* จากทางภาคกลาง ที่มีลักษณะร่วมกันคือ hook ภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ที่มีขนาดเล็ก และสั้นอยู่บริเวณโคนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และยังมีลักษณะของผนังอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่ซ้อนทับเป็นแผ่นขนานกันปรากฏ โดยเคลดของ *O. subbulbulus* สามารถแบ่งย่อยได้เป็นสามเคลดย่อย ที่มีรูปทรงและพื้นที่การกระจายตัวที่แตกต่างกัน โดยมีข้อมูลค่า bootstrap percentage (BP) และ Posterior probability (PP) สนับสนุนความเป็นไปได้ว่าอาจจะสามารถแยกเป็นชนิดใหม่ได้ในอนาคต ส่วน เคลด สุดท้ายประกอบไปด้วยกลุ่มของ *O. expansilabris*, *O. sp.1* และ *O. sp.2* จากภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงใต้ โดยมีลักษณะร่วมกันคือการมี hook ภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (vaginal hook) ที่แบนอยู่บริเวณผนังอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่ซ้อนทับเป็นแผ่นขนานกัน อย่างไรก็ตามในแต่ละเคลดหลักนี้มีลักษณะร่วมกันอยู่ ไม่ว่าจะเป็นรูปร่างของเปลือกเป็นทรง oblique-heliciform และฟันเปลือกที่มีทั้งหมดสี่ฟันเหมือนกัน อาจมีสมมติฐานได้ว่าเป็นลักษณะที่เป็น symplesiomorphic หรือ homoplasy ก็ได้ (Siriboon et al., 2020)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง
 - 1.1 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด ประกอบด้วย มีดผ่าตัด กรรไกร เข็มเย็บ ปากคีบ
 - 1.2 หลอดเก็บตัวอย่าง microcentrifuge tube ขนาด 0.2 และ 1.5 ml
 - 1.3 ขวดเก็บตัวอย่าง ขนาด 50 ml
 - 1.4 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
 - 1.5 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (thermal cycler)
 - 1.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
 - 1.7 เครื่องผสมเขย่า (vortex)
 - 1.8 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (heat box)
 - 1.9 เครื่องชั่งน้ำหนัก แบบจุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
 - 1.10 ปิเปตต์อัตโนมัติ (micropipette)
 - 1.11 ชุดอุปกรณ์อิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis)
 - 1.12 เครื่อง Gel Documentation
 - 1.13 ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Mitutoyo, Tokyo, Japan)
 - 1.14 กล้องดิจิทัล (Olympus OM-D E-M Mark III (Olympus, Tokyo, Japan)
 - 1.15 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo light microscope)
 - 1.16 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
 - 1.15 ฐานตั้งถ่ายรูปแบบปรับระดับได้พร้อมหลอดไฟ (stage)
 - 1.16 ชุดย้อมตัวอย่างถ่ายรูปเช่น ฉากหลัง, ดินน้ำมัน ไม้บรรทัด
 - 1.17 อุปกรณ์อื่น ๆ เช่น ถุงมือ ฟู่กัน แปรงสีฟัน ถุงซิปล็อก กระดาษเลเบล
 - 1.18 Tablet สำหรับสเก็ทภาพ (Apple, California, USA)
2. สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยทางอณูชีววิทยา
 - 2.1 ชุดสกัด DNA (GF-1 Tissue DNA extraction)
 - 2.2 Taq Polymerase
 - 2.3 universal primer

2.4 deoxyribonucleotide triphosphate (dNTPs)

2.5 buffer A

2.6 magnesium Chloride ($MgCl_2$)

2.7 agarose Gel

2.8 SYBR safe

2.9 absolute ethanol

2.10 deionized water

2.11 10% NaOH

2.12 95% Ethanol

2.13 70% Ethanol

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การศึกษาและรวบรวมตัวอย่าง

ทำการเลือกพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณเขาหินปูน ซึ่งเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยนักล่าชนิดนี้ ในแหล่งที่มีรายงานการกระจายตัวในอดีตของหอยนักล่า *Oophana mouhoti* ในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ (Siriboon et al., 2020; พงศ์พิสิทธิ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา และคนอื่น ๆ, 2562) โดยอ้างอิงพื้นที่เขาหินปูนจากแผนที่ทางธรณีวิทยา (กรมทรัพยากรธรณี, 2551ก, 2551ข) โดยจะใช้วิธีเก็บแบบ count per unit จำนวน 5 คนเป็นเวลา 20 นาที ให้ครอบคลุมทุกภูเขาหินปูนย่อย ที่ความสูงเฉลี่ย 0-300 asl ในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่างจะทำการบันทึกพิกัดสถานที่เก็บตัวอย่าง เพื่อหาขอบเขตการกระจายตัว รวมไปถึงข้อมูลถิ่นที่อยู่อาศัยย่อย เช่นได้ซากใบไม้ที่ทับถม ภูเขาหินปูน หรือเศษขอนไม้ผุพัง เป็นต้น (Siriboon et al., 2020; พงศ์พิสิทธิ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา et al., 2562) (กรมทรัพยากรธรณี, 2551a, 2551b)

2. การศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง

ล้างทำความสะอาดตัวอย่างเปลือก และทำการตากให้แห้ง จากนั้นนำมาวัดค่าทางสัณฐานวิทยาของเปลือก ได้แก่ ความกว้างและความสูงของเปลือก (Shell width & height; SH, SW) และปากเปลือก (apertural width & height; AW, AH) ด้วยดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Mitutoyo, Tokyo, Japan) ต่อมานำตัวอย่างหอยนักล่าที่ยังมีชีวิตมาถ่ายภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบสีสันบนลำตัว โดยถ่ายภาพให้ครอบคลุมตั้งแต่ด้านหัว (anterior) ไปจนถึงด้านท้าย (posterior) ด้วยกล้องดิจิทัล Olympus OM-D E-M Mark III (Olympus, Tokyo, Japan) ลงทะเบียนตัวอย่างใหม่ไว้ในพิพิธภัณฑ์สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ภาควิชาชีววิทยา คณะ

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และนำข้อมูลที่ได้มาจัดทำเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายของหอยนักล้า ทำการจัดจำแนกและระบุชนิดหอยนักล้า โดยอาศัยลักษณะต่าง ๆ เช่น รูปทรง (shape) ขนาด (size) ปากเปลือก (aperture) ฟันปากเปลือก (apertural lamellae) และสะดือหอย (umbilicus) ตามวิธีการจัดจำแนกของ ธนิต ศิริบุญ (Siriboon et al., 2014a) เปรียบเทียบตัวอย่างหอยทากบกกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimens) ด้วยวิธีการยืมตัวอย่างที่อยู่ในพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยาที่เป็นสถานที่หลักในการเก็บรักษาตัวอย่าง เช่น

BMNH, The Natural History Museum, London

CUMZ, Chulalongkorn University, Museum of. Zoology, Bangkok

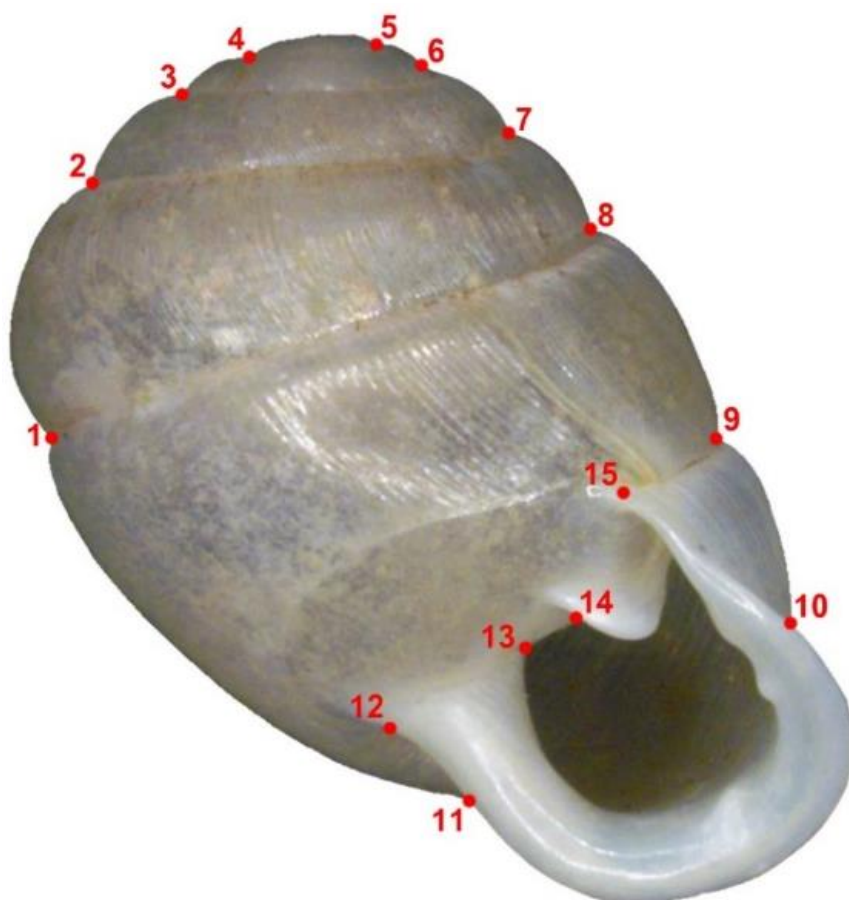
MNHN, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris

SMF, Forschungsinstitute and Nature Museum Senckenberg, Frankfurt, a.m.

ZMA: Zoological Museum of Amsterdam, The Netherland

3. การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต

ทำการเลือกจุดกำหนดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต โดยนำรูปถ่ายของเปลือกหอยมาทำการเปลี่ยนนามสกุลไฟล์ให้เป็น .TPS ด้วยโปรแกรม tpsUtil v3.2 (Rohlf, 2018) โดยแบ่งตามพื้นที่การกระจายตัวของตัวอย่าง ทำการจัดลำดับภาพตัวอย่างแบบสุ่ม ด้วยโปรแกรม tpsUtil v3.2 เลือกจุดกำหนด (landmark point) โดยใช้โปรแกรม tpsDig v2.31 (Rohlf, 2005) โดยเลือกจุดที่เป็น homologous structure และเลือกให้จำนวนของจุดกำหนดเท่ากันในทุก ๆ ตัวอย่าง เป็นจำนวน 15 จุด ดังแสดงในภาพประกอบ 8 การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตโดยใช้โปรแกรม MorphoJ 1.07a (Klingenberg, 2011) เริ่มจากการสร้างข้อมูล procrustes ของตัวอย่างในโปรแกรมด้วยคำสั่ง New Procrustes fit ต่อมาทำการสร้าง covariance matrix ที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยคำสั่ง Generate Covariance matrix กำหนด Classifier ของพื้นที่การกระจายตัวของตัวอย่างในแต่ละแนวเทือกเขาในจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ต่อมาทำการสร้างกราฟ wireframe ที่เกิดจากการเชื่อมจุดกำหนด ทำการวิเคราะห์ผลด้วยวิธีวิเคราะห์ตัวแปรคาโนนิกอล (canonical variate analysis; CVA) และทำการวัดค่าระยะห่างมาฮาลานอบิส (Mahalanobis distance) และดูค่านัยสำคัญในแต่ละตัวแปรของพื้นที่การกระจายตัวของแนวเทือกเขาทั้งสาม ในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์



ภาพประกอบ 7 แสดงจุดกำหนดบนเปลือกของ *O. mouhoti*

4. การศึกษาด้านกายวิภาคศาสตร์ของวิทยาของระบบสืบพันธุ์และแผ่นฟัน

นำตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ใน 70% ethanol มาทำการผ่าศึกษากายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ด้วยชุดอุปกรณ์ผ่าตัดและสเก็ตรูปประกอบ จากนั้นทำการผ่าในส่วนของ buccal mass ที่อยู่ตรงบริเวณปาก จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในสารละลาย 10% NaOH ทำความสะอาดแผ่นฟันและนำไปแช่ใน 95% ethanol เพื่อเตรียมนำไปศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาของฟันด้วยกล้อง SEM ต่อไป

5. การสกัดสารพันธุกรรมตัวอย่าง (DNA extraction)

นำตัวอย่างหอยนักล่าที่รักษาสภาพในอุณหภูมิ -20°C มาทำการละลายน้ำแข็ง ใช้กรรไกรปลายแหลมตัดเนื้อเยื่อของตัวอย่างบริเวณเท้า (foot) เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด $1 \times 1 \text{ cm}$ ทำการสกัดสารพันธุกรรมจากเนื้อเยื่อ ด้วยชุดสกัดสารพันธุกรรม GF-1 Tissue DNA extraction (Tissue DNA Extraction Kit-GF1, Vivantis Technologies, Malaysia) ทำการย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml ด้วยการเติม Proteinase K จำนวน $20 \mu\text{l}$ และ buffer TL จำนวน $250 \mu\text{l}$ นำไปผสมด้วยเครื่องผสมเขย่าจนเป็นเนื้อเดียวกัน เติม lysis enhancer จำนวน $12 \mu\text{l}$ นำไปบ่มที่ heat box ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลาหนึ่งถึงสามชั่วโมงจนกว่าเนื้อเยื่อจะถูกย่อยสลายไป เติม buffer TB จำนวน $560 \mu\text{l}$ ผสมด้วยเครื่องผสมเขย่า บ่มในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ ตั้งค่าที่ 65°C อีก 10 นาที เติม absolute ethanol จำนวน $200 \mu\text{l}$ ผสมด้วยเครื่องผสมเขย่า ย้ายสารลงใน collection tube $650 \mu\text{l}$ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายที่ตกไปด้านล่างของ หลอด ทำซ้ำอีกครั้งจนกว่าสารตัวอย่างจะหมด ล้าง column ด้วย wash buffer จำนวน $650 \mu\text{l}$ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำขั้นตอนเดิมอีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นนำ tube ไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ใส่ column ใน microcentrifuge tube ที่สะอาด เติม elution buffer ที่เตรียมไว้ในอุณหภูมิ 65°C จำนวน $200 \mu\text{l}$ ใส่ที่ column โดยตรง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที นำไปวัดปริมาณ DNA ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง nanodrop lite spectrophotometer เก็บสารพันธุกรรมที่สกัดแล้วในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20°C

6. การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

(polymerase chain reaction; PCR)

ทำการเพิ่มจำนวนยีน 16S rRNA และ COI จากไมโทคอนเดรีย ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ดังที่แสดงในตาราง 1 ดำเนินการเพิ่มสารพันธุกรรมตัวอย่างด้วยเครื่อง Eppendorf MastercyclerVR pro S PCR thermal cycler องค์ประกอบในหลอด PCR ทั้งหมด $50 \mu\text{l}$ แสดงในตาราง 2

ในการเพิ่มจำนวนยีน COI เริ่ม denature ที่ 94°C เป็นเวลา 57 วินาที annealing ที่ 46°C เป็นเวลา 50 วินาที และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 36 รอบ final extension ที่ 72°C เป็นเวลา 10 นาที ในการเพิ่มจำนวนยีน 16S rRNA เริ่ม denature ที่ 94°C เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 45°C เป็นเวลา 40 วินาที และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที 15 วินาที หลังจากนั้นตั้งค่า final extension ที่ 72°C เป็นเวลา 5 นาที ทำการตรวจสอบผล

ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) โดยใช้ 1% agarose gel ผสมกับ 1X TAE buffer และ SYBR SAFE stain ใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 V เป็นเวลา 30 นาที สังเกตผลและบันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel-Documentation นำ PCR product ที่ได้ไปทำหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) ด้วยวิธี direct sequencing โดยบริษัท Macrogen, Inc. (Korea)

ตาราง 1 ข้อมูลไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *COI* และ *16S rRNA* ที่ใช้ในการศึกษานี้

Gene	Primer Name	Primer Sequence	Reference	Product length (bp)
<i>COI</i>	LCO1490	GGT CAA CAA ATC	(Siriboon et al., 2020)	657 bp
		ATA AAG ATA TTG		
<i>COI</i>	HCO2198	TAA ACT TCA GGG	(Siriboon et al., 2020)	657 bp
		TGA CCA AAA AAT		
16S rRNA	16sar	CGC CTG TTT ATC	(Siriboon et al., 2020)	377 bp
		AAA AAC AT		
16S rRNA	16sbr	CCG GTC TGA ACT	(Siriboon et al., 2020)	377 bp
		CAG ATC ACG T		

ตาราง 2 แสดงปริมาณสารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR ที่ใช้ในการศึกษา

Chemical Reagent	Volume (μl)
Forward primer (LCO1490, 16sar)	1 μl
Reverse primer (HCO 2198, 16sbr)	1 μl
DNA template	1 μl
Buffer A	5 μl
MgCl ₂	1.5 μl
dNTPs	0.5 μl
Taq Polymerase	0.5 μl
Type I water	39.5 μl

7. การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree)

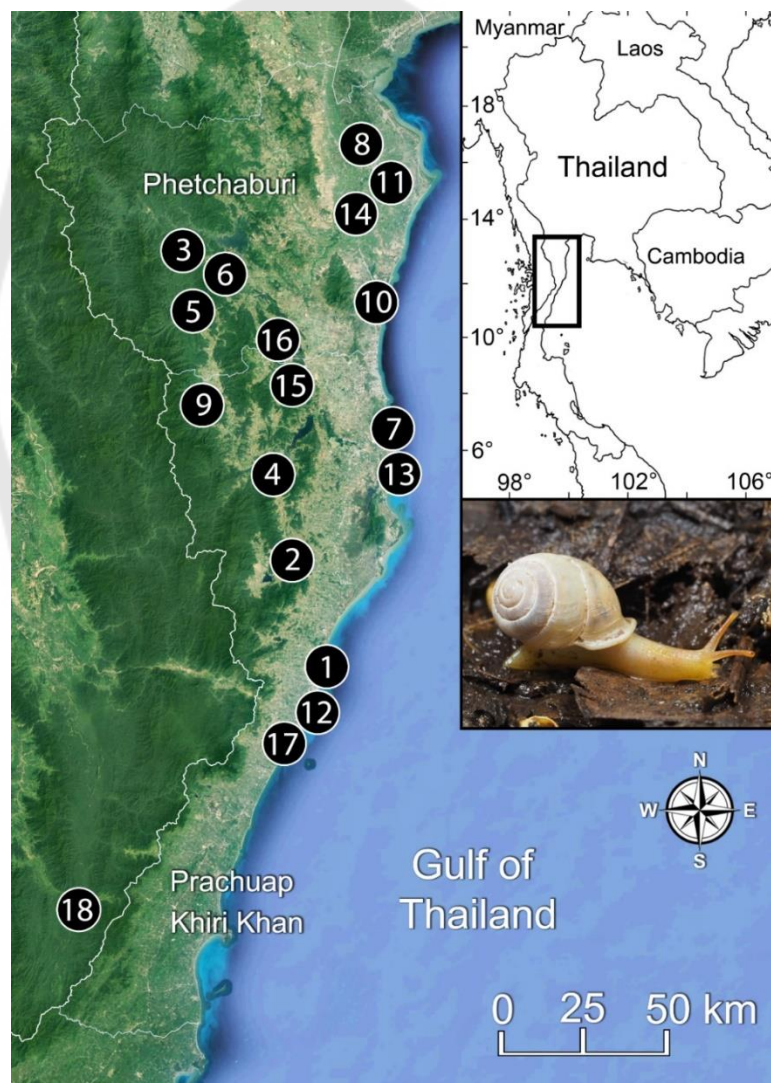
นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาทำการ alignment ในโปรแกรม MEGA-X (Kumar et al., 2018) ด้วยคำสั่ง MUSCLE ทำการ trim ข้อมูลที่ไม่สอดคล้องกันด้วยผู้วิจัย ทดสอบ incongruence length difference (ILD) เพื่อทดสอบความสม่ำเสมอของทั้งสองยีนด้วยโปรแกรม PAUP v. 4.0 b10 (Swofford, 2002) หลังจากนั้นนำข้อมูลของทั้งสองเบส (COI และ 16S rRNA) มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI) เลือกรูปแบบการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution model) ที่เหมาะสมที่สุดโดยใช้โปรแกรม KAKUSAN 4 (Tanabe, 2011) วิเคราะห์ Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม RAxML v 8.0 (Stamatakis, 2014) โดยใช้รูปแบบ Akaike information criterion (AIC) ในการวิเคราะห์โดยกำหนดค่า bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ สำหรับแต่ละกิ่งในแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ วิเคราะห์ Bayesian inferences (BI) ด้วยโปรแกรม MrBayes v3.2 (Ronquist et al., 2012) โดยใช้รูปแบบ Bayesian information criterion (BIC) ในการวิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ MCMC (Markov Chain Monte Carlo) โดยทำการรันโปรแกรมทั้งหมด 3 ล้านรุ่น สุ่มทุก ๆ 100 รุ่น โดย 25% แรกถูกตัดออกเป็น burn-in period โดยสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากตัวอย่างช่วงอายุที่เหลือ โดยดูกิ่งที่มีความน่าเชื่อถือจากค่า bootstrap percentage (BP) ที่มากกว่า 70% และ/ หรือ posterior probability (PP) มากกว่า 0.95

บทที่ 4

ผลการศึกษา

1. การกระจายตัวของหอยนักล่า *Oophana mouhoti*

จากการศึกษาโดยการเก็บรวบรวมตัวอย่างตัวเป็นและเปลือกของหอยนักล่าชนิดนี้ที่พบในอดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่ามีใน 18 พื้นที่ ในจังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และประเทศพม่า รวมไปถึงขนาดความกว้างของเปลือก ความสูงของเปลือก อัตราส่วนความกว้างต่อความสูง และจำนวนวงเปลือก แสดงในตาราง 3 และภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 8 พื้นที่การกระจายตัวของหอยนักล่า *Oophana mouhoti*

ตาราง 3 พื้นที่การกระจายตัว จำนวน ขนาดของเปลือก และจำนวนวงเปลือก

สถานที่เก็บตัวอย่าง และ เลขรหัสของตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในหน่วยมิลลิเมตร			จำนวน วง เปลือก
		ความสูงของ เปลือก	ความกว้าง ของเปลือก	อัตราส่วนความสูงต่อ ความกว้าง	
1. อ่าวมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (CUMZ 3767)	26	9.8–13.3 11.48 $\pm$ 1.02	8.8–13.4 10.68 $\pm$ 1.39	0.96–1.27 1.08 $\pm$ 0.10	6½
2. บ้านยางชุม อำเภอแก่ง กระจาน จังหวัดเพชรบุรี (SWUMZ 1025)	4	11.3–12.6 11.86 $\pm$ 0.57	10.1–10.9 10.56 $\pm$ 0.33	1.04–1.19 1.12 $\pm$ 0.07	6½
3. บ้านกร่าง อำเภอแก่ง กระจาน จังหวัดเพชรบุรี (SWUMZ 1026)	2	11.2–11.9 11.54 $\pm$ 0.54	9.3–10.9 10.11 $\pm$ 1.12	1.02–1.28 1.15 $\pm$ 0.18	6½
4. อำเภอกุยบุรี จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ (CUMZ 8006)	34	10.1–13.4 11.97 $\pm$ 0.70	8.79–11.2 10.18 $\pm$ 0.50	1.02–1.44 1.18 $\pm$ 0.10	6½
5. ถ้าเขาหัวช้าง อำเภอแก่ง กระจาน จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 3741)	4	9.8–12.5 11.26 $\pm$ 1.17	9.4–10.3 9.90 $\pm$ 0.40	0.99–1.21 1.14 $\pm$ 0.10	6½
6. อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 3688, 3723, 6132)	19	9.9–12.72 11.47 $\pm$ 0.63	9.2–11.6 10.58 $\pm$ 0.60	0.85–1.26 1.09 $\pm$ 0.09	6½

ตาราง 3 (ต่อ)

สถานที่เก็บตัวอย่าง และเลขรหัสของตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในหน่วยมิลลิเมตร			จำนวนวงเปลือก
		ความสูงของเปลือก	ความกว้างของเปลือก	อัตราส่วนความสูงต่อความกว้าง	
7. เขากะโหลก อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (CUMZ 6139, 3698, 6143, SWUMZ 1018)	84	9.77-11.48 10.74 $\pm$ 0.44	6.96-8.00 7.51 $\pm$ 0.27	1.36-1.51 1.43 $\pm$ 0.04	6½
8. เขาวัง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 3755)	9	9.2-13.1 11.51 $\pm$ 1.25	8.8-12.3 10.21 $\pm$ 10.07	0.96-1.21 1.13 $\pm$ 0.13	6½
9. น้ำตกป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 3684, 3768)	19	10.0-11.7 11.12 $\pm$ 0.49	9.0-11.2 9.92 $\pm$ 0.64	0.95-1.24 1.12 $\pm$ 0.07	6½
10. เขานางพันธุรัต อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 3745, 6133)	16	10.5-13.1 11.69 $\pm$ 0.77	9.9-12.6 11.38 $\pm$ 0.72	0.92-1.23 1.03 $\pm$ 0.10	6½
11. ถ้ำเขาวงศ์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (CUMZ 6135, 6137)	132	9.4-11.7 10.43 $\pm$ 0.64	8.9-10.3 9.41 $\pm$ 0.51	1.00-1.23 1.11 $\pm$ 0.07	6½
12. เขาล้อมหมวก อำเภอมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (CUMZ 4229, SWUMZ 1019)	19	11.6-12.8 12.13 $\pm$ 0.55	10.7-12.6 11.70 $\pm$ 0.61	0.96-1.06 1.04 $\pm$ 0.40	6½

ตาราง 3 (ต่อ)

สถานที่เก็บตัวอย่าง และเลขรหัส ของตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในหน่วยมิลลิเมตร			จำนวน วง เปลือก
		ความสูงของ เปลือก	ความกว้าง ของเปลือก	อัตราส่วนความสูงต่อ ความกว้าง	
13. บ้านหนองบัว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1017)	6	11.1–12.8 11.87 $\pm$ 0.63	7.2–8.6 7.96 $\pm$ 0.48	1.40–1.58 1.49 $\pm$ 0.06	6½
14. วัดเขากระจุย อำเภอท่าช้าง จังหวัดเพชรบุรี (SWUMZ 1027)	13	8.7–11.4 10.19 $\pm$ 0.87	8.8–11.0 9.82 $\pm$ 0.78	0.89–1.16 1.04 $\pm$ 0.09	6½
15. ถ้ำดาว อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1015)	8	12.7–14.6 13.54 $\pm$ 0.62	8.8–9.8 9.16 $\pm$ 0.38	1.45–1.50 1.48 $\pm$ 0.02	6½
16. ถ้ำไก่อหล่ง อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1016)	7	11.9–13.4 12.87 $\pm$ 0.56	8.5–9.5 9.00 $\pm$ 0.30	1.39–1.47 1.43 $\pm$ 0.04	6½
17. โรงพยาบาลกองบิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1020)	3	12.0–13.2 12.69 $\pm$ 0.66	9.0–9.2 9.15 $\pm$ 0.10	1.30–1.46 1.39 $\pm$ 0.08	6½
18. Phra (Buddha) Cave, Tanintharyi, Myanmar (CUMZ 13005)	1	11.2	10	0.6	6½

2. ชีสเทมาติกส์ของหอยนักล้า *Oophana mouhoti*

Family Streptaxidae Gray, 1860

Genus *Oophana* Ancey, 1884

Oophana Ancey, 1884: 508. Tryon 1885: 58. Richardson 1988: 233. Schileyko 2000: 796. Clements 2006: 125.

Odontartemon (Oophana) – Kobelt 1906: 91, 101. Thiele 1931: 730. van Benthem Jutting 1954: 95. Zilch 1960: 562.

Type species. *Ennea bulbulus* Morelet, 1862 by subsequent designation by Kobelt (1906: 101).

Diagnosis เปลือกโปร่งแสงไปจนถึงโปร่งใส รูปทรงหลากหลายตั้งแต่ทรงรี (ovate) ไปจนถึงทรงเอียง (sub-heliciform) วงเปลือกของสุดท้ายเบียดออกมาจากเปลือกวงสุดท้าย ปากเปลือกมีลักษณะเป็นทรงวงรีเอียง ไปจนถึงทรงจัตุรัส พื้นเปลือกมีได้หลายตำแหน่ง ได้แก่ พื้นพาไรทาล์ พื้นพาลาทาล์ พื้นเบซัล และพื้นคอลัมเมลา อวัยวะสืบพันธุ์มีเนื้อเยื่อหุ้มบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial sheath) ปกคลุมประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penis) และมี hook ที่บริเวณผนังด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial hook)

Remarks สกุล *Oophana* นี้ มีลักษณะรูปทรงของเปลือกคล้ายคลึงกับ สกุล *Haploptychius* แต่สามารถแบ่งออกจากกันได้โดยดูลักษณะของพื้นเปลือก ซึ่ง *Oophana* จะมีพื้นเปลือกจำนวนมากกว่า ในขณะที่สกุล *Haploptychius* จะพบเพียงพื้นพาไรทาล์เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับสกุล *Indoartemon* จะพบว่ามีลักษณะยอดสไปรัที่เหมือนกัน แต่สกุล *Indoartemon* จะพบเพียงพื้นเปลือกพาไรทาล์ และ พื้นพาลาทาล์อย่างละหนึ่งพื้นเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับสกุล *Discartemon* และ *Perrottetia* พบว่ามีลักษณะรูปทรงเปลือกที่ต่างกัน โดยสกุล *Discartemon* มีรูปทรงเปลือกที่แบน (flattened) ไปจนถึงทรงกลมโดม (globose-heliciform) การขยายของวงเปลือกเป็นแบบปกติ (regular) ไปจนถึงขยายแบบฉับพลัน (expand) โดยเปลือกวงสุดท้ายไม่เอียงไปจากวงอื่น สกุล *Perrottetia* รูปทรงเป็นกึ่งเอียง (sub-heliciform) ไปจนถึงทรงยอดเปลือกยุบ (depressed) และมีร่องแนวนอน (longitudinal furrow) บริเวณด้านหลังปากเปลือก เมื่อเปรียบเทียบกับสกุล

Carinartemis ที่มีลักษณะเป็นสัน (keel) บริเวณวงเปลือกของสุดท้าย (penultimate whorl) และมีฟันพาไรท์เพียงหนึ่งฟัน

โดยทั่วไปแล้ว สกุล *Oophana* มีความหลากหลายของรูปทรงเปลือก และจำนวนฟันเปลือก โดยอาจจะมีฟัน upper palatal หรือฟัน supracolumellar ปรากฏในบางชนิด เมื่อดูความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ *Oophana* ในประเทศไทยจะพบว่าถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะรูปทรงของเปลือก และลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ที่แตกต่างกัน

Oophana mouhoti (Pfeiffer, 1863)

Streptaxis mouhoti Pfeiffer, 1863 [1862]: 273. Type locality: Siam [Thailand]. Martens 1867: 84, pl. 22, fig. 22. Pfeiffer 1868: 446. Nevill 1878: 4. Tryon 1885: 80, pl. 15, fig. 46. Bourguignat 1889: 133. Gude, 1903: 225. Panha, 1996: 33.

Streptaxis johswichi Martens, 1864: 528. Type locality: Siam, bei Petchaburi [Petchaburi Province, Thailand]. Richardson, 1988: 236

Gonaxis mouhoti—Bourguignat 1889: 133.

Odontartemon (Oophana) mouhoti—Kobelt, 1906: 104, 105, pl. 55, fig. 23.

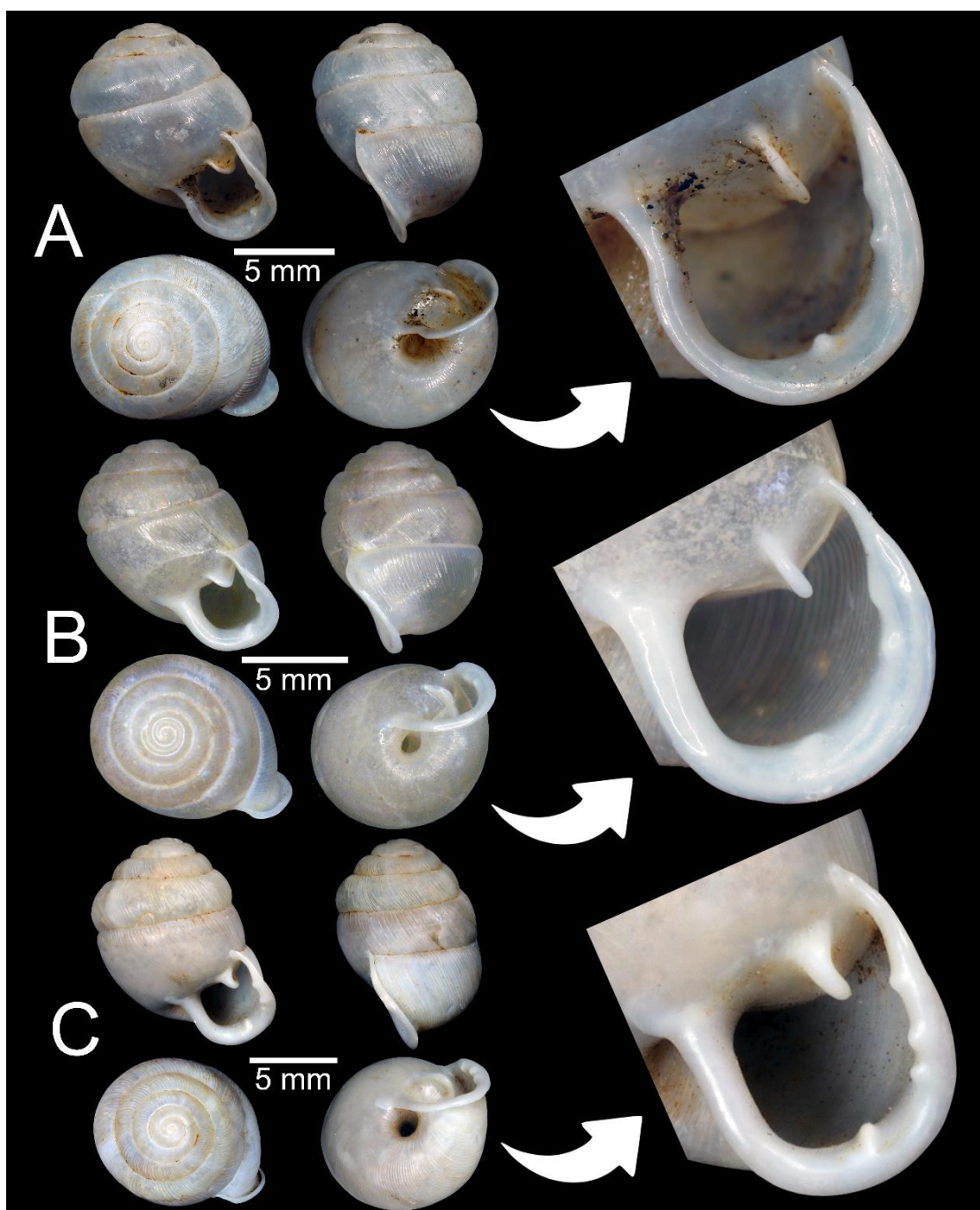
Oophana mouhoti—Bentham Jutting, 1955: 96. Richardson, 1988: 235, 236. Hemmen & Hemmen, 2001: 43. Sutcharit et al., 2018: 197, 198. Siriboon et al., 2020: figs 3-33, 3-35. Man et al., 2022: 54–56, fig. 7a, b.

ตัวอย่างที่ศึกษา : syntype ที่เป็นไปได้ NHMUK ex. Cuming collection (3 เปลือก; ภาพประกอบ 9 A) จาก “Camboja” (กัมพูชา)

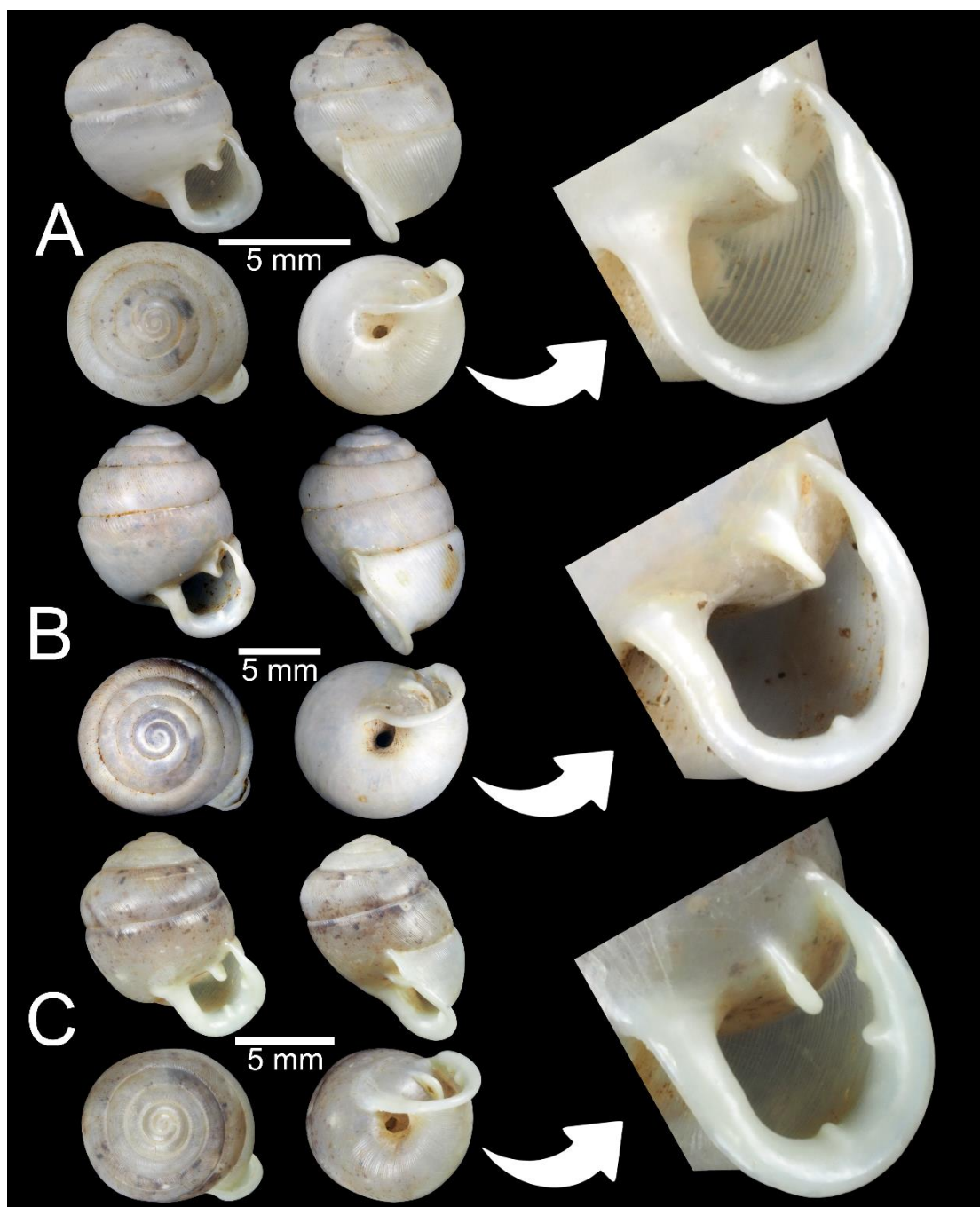
ตัวอย่างอื่นที่ศึกษา : จากประเทศเมียนมาร์, ถ้ำพระ (Buddha Cave), เขต Tanintharyi, พม่า : CUMZ 13005 (1 เปลือก). ประเทศไทย, “Siam”: NHMUK ตัวอย่างของ Cuming (2 เปลือก) ระบุชื่อเป็น ‘johswichi’ จังหวัดเพชรบุรี, ถ้ำเขารังค์ อำเภอบ้านลาด (13°01'31.3"N, 99°55'01.9"E): CUMZ 6135 (15 ตัวอย่าง; ภาพประกอบ 9 B), CUMZ 6137 (117 เปลือก; ภาพประกอบ 9 B), ถ้ำเขาหัวช้าง อำเภอแก่งกระจาน (12°42'25.0"N, 99°31'36.9"E): CUMZ 3741 (4 เปลือก). อำเภอแก่งกระจาน (12°53'28.9"N, 99°38'10.9"E): CUMZ 3688 (2 เปลือก; ภาพประกอบ 9 C), 3723 (12 เปลือก), CUMZ 6123 (5 เปลือก). เขานางพันธุรัต อำเภอชะอำ (12°50'21.8"N, 99°57'10.4"E): CUMZ 3745 (3 เปลือก), 6133 (13 เปลือก). เขาวัง อำเภอเมือง (13°06'24.7"N, 99°56'18.2"E): CUMZ 3755 (9 เปลือก). บ้านยางชุม อำเภอแก่งกระจาน

(12°46'20.9"N, 99°40'31.6"E): SWUMZ 1025 (4 เปลือก). บ้านกว้าง อำเภอแก่งกระจาน (12°47'55.7"N, 99°27'15.0"E): SWUMZ 1026 (2 เปลือก). วัดเขากระฉิว อำเภอท่ายาง (12°57'41.7"N, 99°54'48.6"E): SWUMZ 1027 (13 เปลือก). จังหวัดประจวบคีรีขันธ์, เขาล้อมหมวก อำเภอเมือง (11°47'07.3"N, 99°48'50.5"E): CUMZ 4229 (10 เปลือก; ภาพประกอบ 10 C), SWUMZ 1019 (9 เปลือก). อำเภอชะอำ อำเภอเมือง (11°45'53.0"N, 99°48'03.6"E): CUMZ 3767 (26 เปลือก). น้ำตกป่าละอู อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (12°32'17.4"N, 99°27'48.7"E): CUMZ 3684 (14 เปลือก), 3768 (5 เปลือก). เขากะโหลก อำเภอปราณบุรี (12°20'21.6"N, 99°59'54.8"E): CUMZ 6139 (34 เปลือก; ภาพประกอบ 10 A), CUMZ 3698 (4 ตัว), 6143 (16 เปลือก), SWUMZ 1018 (30 เปลือก). อำเภอกุยบุรี (12°16'09.2"N, 99°56'27.2"E): CUMZ 8006 (34 เปลือก; ภาพประกอบ 10 B). ถ้ำดาว อำเภอหัวหิน (12°35'28.1"N, 99°43'44.5"E): SWUMZ 1015 (8 เปลือก). ถ้ำไก่อู อำเภอหัวหิน (12°36'47.5"N, 99°42'37.0"E): SWUMZ 1016 (3 เปลือก). บ้านหนองบัว อำเภอปราณบุรี (12°21'10.5"N, 99°59'10.8"E): SWUMZ 1017 (6 เปลือก). โรงพยาบาลกองบิน อำเภอชะอำ อำเภอเมือง (11°45'51.4"N, 99°47'50.6"E): SWUMZ 1020 (3 เปลือก).

Oophana mouhoti ลักษณะของเปลือกเป็นทรงกระบอก เปลือกขนาดกลางสีขาวนวล ผิวเปลือกเป็นริ้วตามแนวรัศมี สะดือเปลือกเป็นเป็นรูลึก ส่วนบนของเปลือกมีการขดวนปกติ เปลือกวงรองสุดท้ายโค้งมน เปลือกวงสุดท้ายบิดไปจากแกนกลางลำตัวเล็กน้อย อาจทำให้ขอบของเปลือกวงรองสุดท้ายและวงสุดท้ายอยู่ในระดับเดียวกันหรืออาจจะยื่นออกมาเล็กน้อย ปากเปลือกเป็นทวารและบานออก มีฟันเปลือกพาไรท์ที่ใหญ่และเห็นได้ชัด 1 ฟัน และมีฟันขนาดเล็กในตำแหน่งฟันพาไรท์ และฟันเบซัล บางชนิดพบฟันคอแลมเมลลาปรากฏเพิ่มเติม (ภาพประกอบ 9-10) ลำตัวหอยมีสีเหลืองสดไล่จนถึงเหลืองเข้ม ผิวหนังมีลายคล้ายตาข่าย อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้สั้นกว่าเพศเมีย มีส่วนของเนื้อเยื่อ ลักษณะเป็นปลอกห่อหุ้มไว้ ส่วนของท่อนำสเปิร์มสอดผ่านมาในปลอกหุ้ม โดยมีเนื้อเยื่อบาง ๆ มายึดเกาะระหว่างท่อนำสเปิร์มและปลอกหุ้มไว้ ส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียยาว และมีที่เก็บสเปิร์มเป็นท่อเล็กยาว ผนังด้านในของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีลักษณะเป็นรอยย่นหรือรอยพับ มีหนามสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กที่มีฐานกว้าง ผนังด้านในของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียมีการพับเป็นแนวตั้งขนาน มีการแพร่กระจายในประเทศไทยและเมียนมาร์ โดยพบอาศัยอยู่ในแนวเขาหินปูนที่จังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์



ภาพประกอบ 9 ตัวอย่างเปลือกของ *Oophana mouhoti* A) syntype จากประเทศ
พม่า ที่ถูกเก็บอยู่ในพิพิธภัณฑ์ NHUMK B) CUMZ 6137 เปลือกจากถ้ำรงค์ อำเภอ
บ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี C) CUMZ 3688 เปลือกจากอำเภอแก่งกระจาน จังหวัด
เพชรบุรี



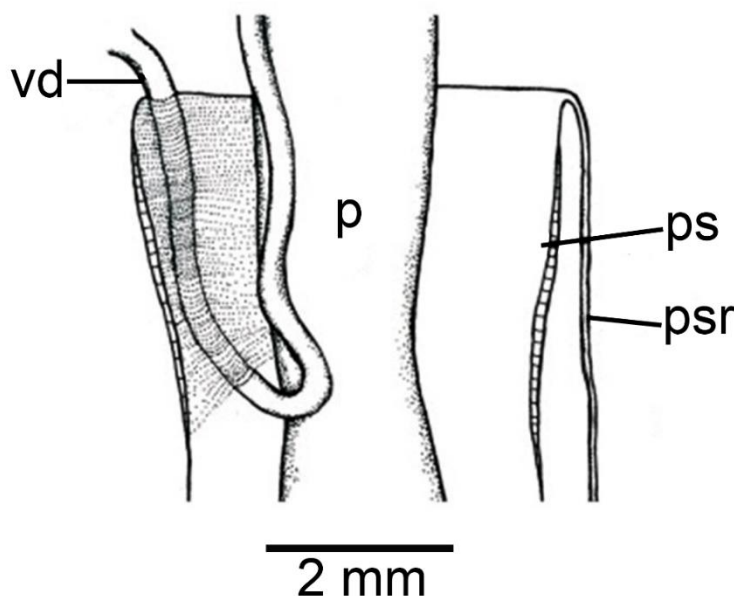
ภาพประกอบ 10 ตัวอย่างเปลือกของ *Oophana mouhoti* A) CUMZ 6139 เปลือกจาก
เขากะโหลก อำเภอบราญบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ B) CUMZ 8006 เปลือกจาก
อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ C) CUMZ 4229 เปลือกจากเขาล้อมหมวก อำเภอ
มะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

Diagnosis. *Oophana mouhoti* เมื่อเปรียบเทียบกับ *O. strangulatus* โดยดูจากวงเปลือกทรงสุดท้าย (penultimate whorl) *O. mouhoti* มีการขยายออกมา และวงเปลือกสุดท้ายจะเอียงไปจากแกนกลาง และมีการแผ่ของปากเปลือกไปด้านหลังมากกว่า *O. strangulatus* ในขณะที่พื้นเปลือกจะไม่พบพื้นคอลัมเมลา และมีพื้นพาลาทัลด และพื้นเบซัล ที่เล็กกว่า ในบางเปลือกก็ไม่ปรากฏ เมื่อดูอวัยวะสืบพันธุ์จะพบว่า *O. mouhoti* จะมีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้สั้นกว่าประมาณครึ่งหนึ่งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และมีอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียสั้นประมาณหนึ่งในสี่ของความยาวอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ในขณะที่ *O. strangulatus* จะมีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ยาวสองในสามของความยาวอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และมีอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียยาวหนึ่งในสามของความยาวอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ *Haploptychius heliakosus* (Man & Panha, 2022) จากประเทศเมียนมาร์ โดยปากเปลือกของ *O. mouhoti* จะเป็นทรงวงรี และมีพื้นเปลือกพาไรทัลดหนึ่งพื้น พื้นพาลาทัลดหนึ่งถึงสามพื้น และพื้นเบซัลหนึ่งพื้น อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่บาง มี hook อยู่ที่ผนังด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะเป็นทรงกรวย มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียยาว ในขณะที่ *H. heliakosus* มีลักษณะปากเปลือกเป็นทรงสี่เหลี่ยม ไม่มีพื้นพาลาทัลด อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่หนา มี hook อยู่ที่ผนังด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เป็นทรงสี่เหลี่ยมคางหมู และมีอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียสั้น เมื่อนำไปเทียบกับ *H. pellucens* (Pfeiffer, 1863) จากประเทศลาวพบว่า *H. pellucens* มีการเบี้ยวของวงเปลือกสุดท้ายมากกว่า และมีพื้นเปลือกแค่พื้นพาไรทัลดเพียงหนึ่งพื้นเท่านั้น อีกทั้งส่วนปลายของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้สั้นและบวม ท่อนาสเปิร์มสอดเข้าไปหนึ่งในสามของความยาวเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ hook ภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้อยู่บริเวณโคนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

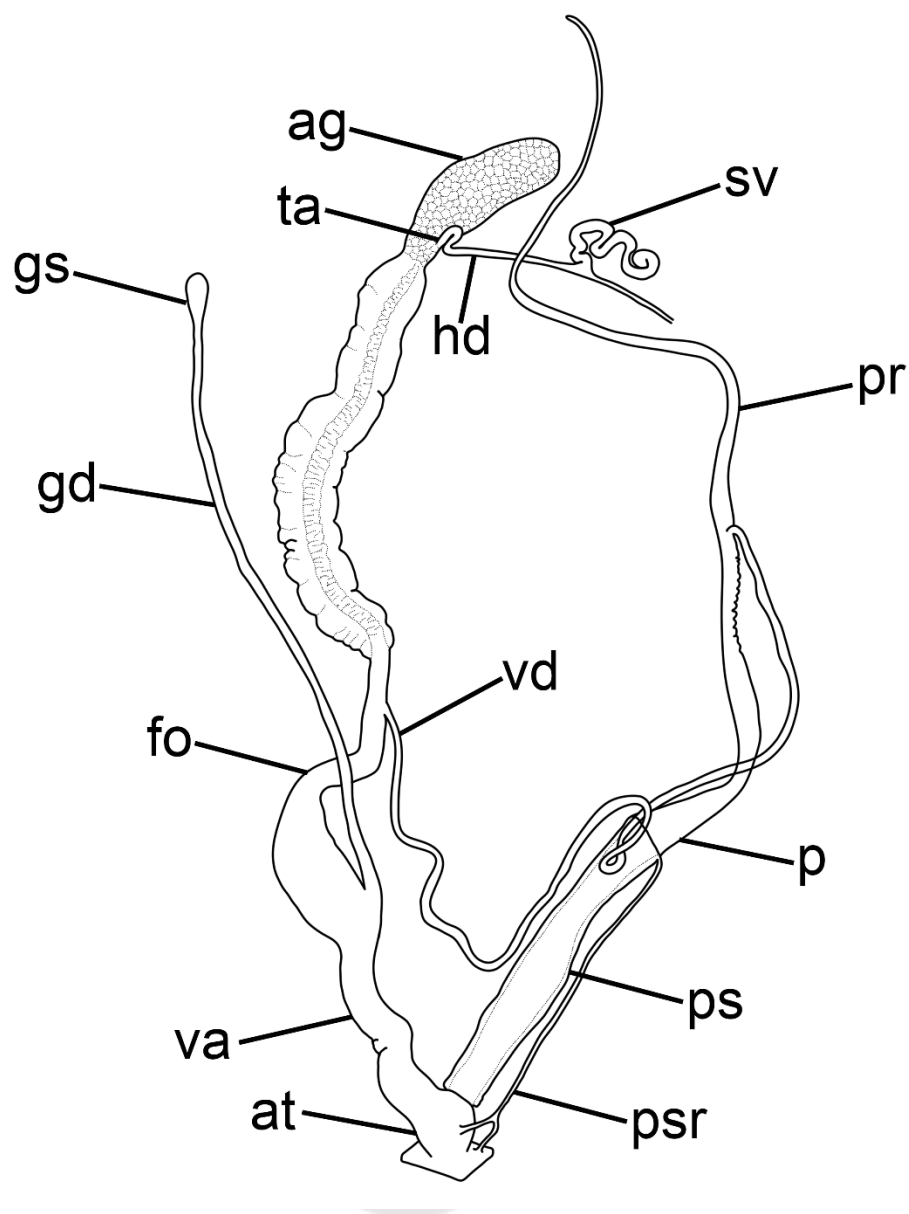
Description เปลือกเป็นทรงกระบอกเอียง (oblique-cylindrical) สีเปลือกเป็นสีขาวโปร่งแสง วงเปลือกหกครึ่งถึงเจ็ดวง สไปร์เป็นทรงกรวยที่มีร่องระหว่างวงเปลือกแยกออกจากกันอย่างชัดเจน เปลือกเอมบริโอที่พื้นผิวเรียบมีสองวงครึ่ง วงต่อ ๆ มาค่อย ๆ ขยายแบบปกติ (regularly coiled) ผิวเปลือกมัน โดยมีร่องแนวขวางตลอดทั้งวงเปลือก วงเปลือกทรงสุดท้ายมีลักษณะโค้งนูน (round shell periphery) เปลือกวงสุดท้ายมีการบิดไปจากแกนกลาง ปากเปลือกเป็นทรงกลม ปากเปลือกไม่แยกออกมาจากวงเปลือกชัดเจน (peristome discontinuous) ปากเปลือกหนา แผ่ออกมาทางด้านหลังปากเปลือกเล็กน้อย พื้นเปลือกจะประกอบไปด้วยพื้นพาไรทัลดหนึ่งพื้นที่ชัดเจน พื้น

พาลาทัสหนึ่งถึงสามพัน (บางครั้งจะเล็กจนมองได้ยาก) และพันเบซัลหนึ่งพัน (บางเปลือกไม่ปรากฏ) สะดือเปลือกเปิดและมีลักษณะเล็ก

Genital organs. จุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย (atrium; at) สั้นป้อม อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penis; p) ยาวเรียว และเล็กลงบริเวณส่วนปลาย เนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial sheath; ps) บาง และปกคลุมประมาณครึ่งหนึ่งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ กล้ามเนื้อยึดเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial sheath retractor muscle; psr) มีจุดกำเนิดที่รูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์โดยแนบไปกับจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย โดยมีเนื้อเยื่อบาง ๆ เชื่อมไว้ด้วยกัน และสอดเข้าบริเวณส่วนปลายของเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ท่อนำส่งสเปิร์ม (vas deferens; vd) ผ่านหนึ่งส่วนหกของเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ก่อนจะเชื่อมเข้ากับปลายอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ กล้ามเนื้อยึดเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีลักษณะบาง ยาว และยื่นเข้าไประหว่างอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้กับท่อนำส่งสเปิร์ม ผนังด้านในของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะเป็นรอยย่นและมีขนาดเล็ก ผนังด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มี hook สีนํ้าตาลเข้มกระจายอยู่ (ภาพประกอบ 11-21)

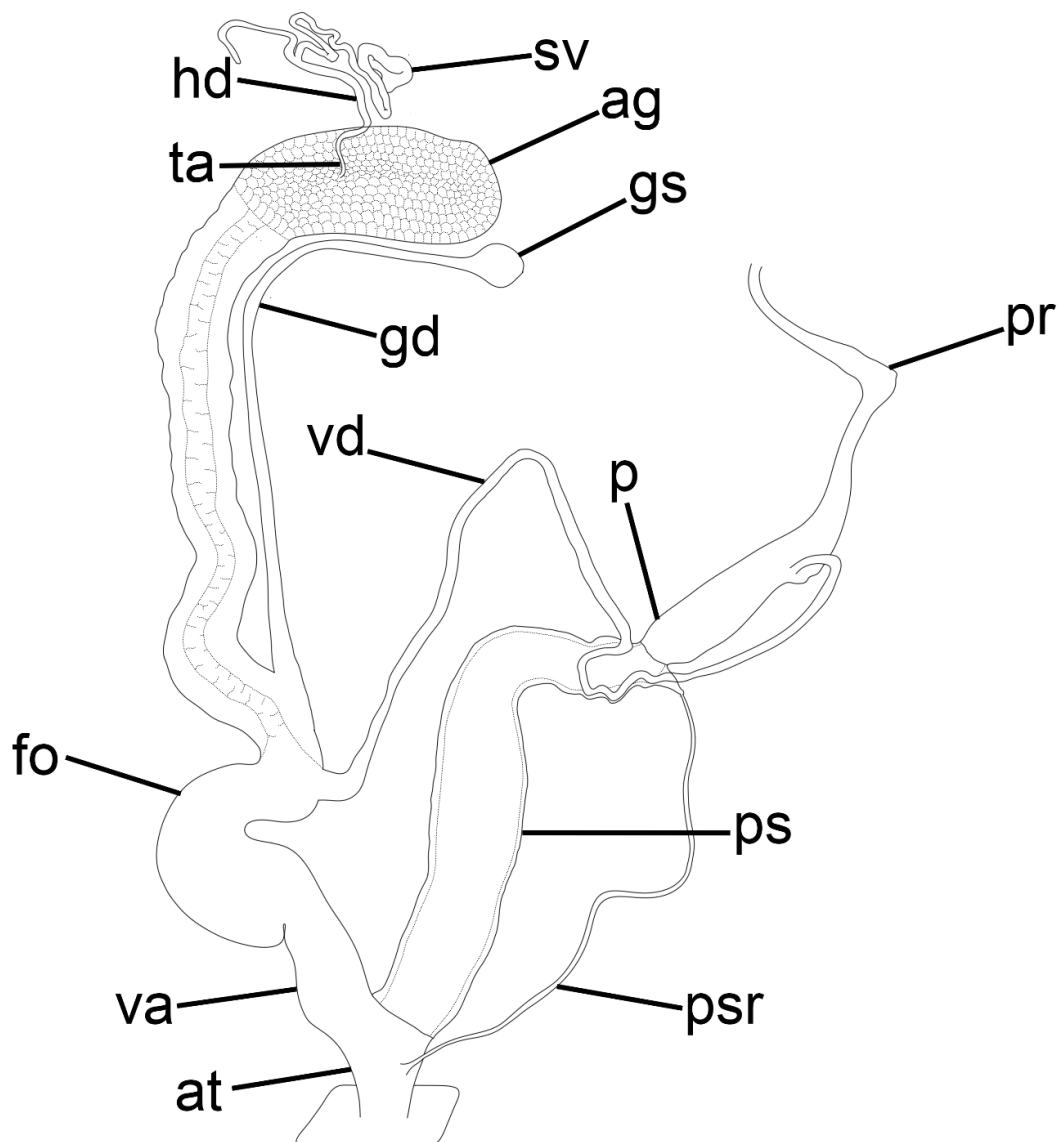


ภาพประกอบ 11 การแทรกของท่อนำส่งสเปิร์มในเนื้อเยื่อหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้
p; penis, ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle, vd; vas
deferens



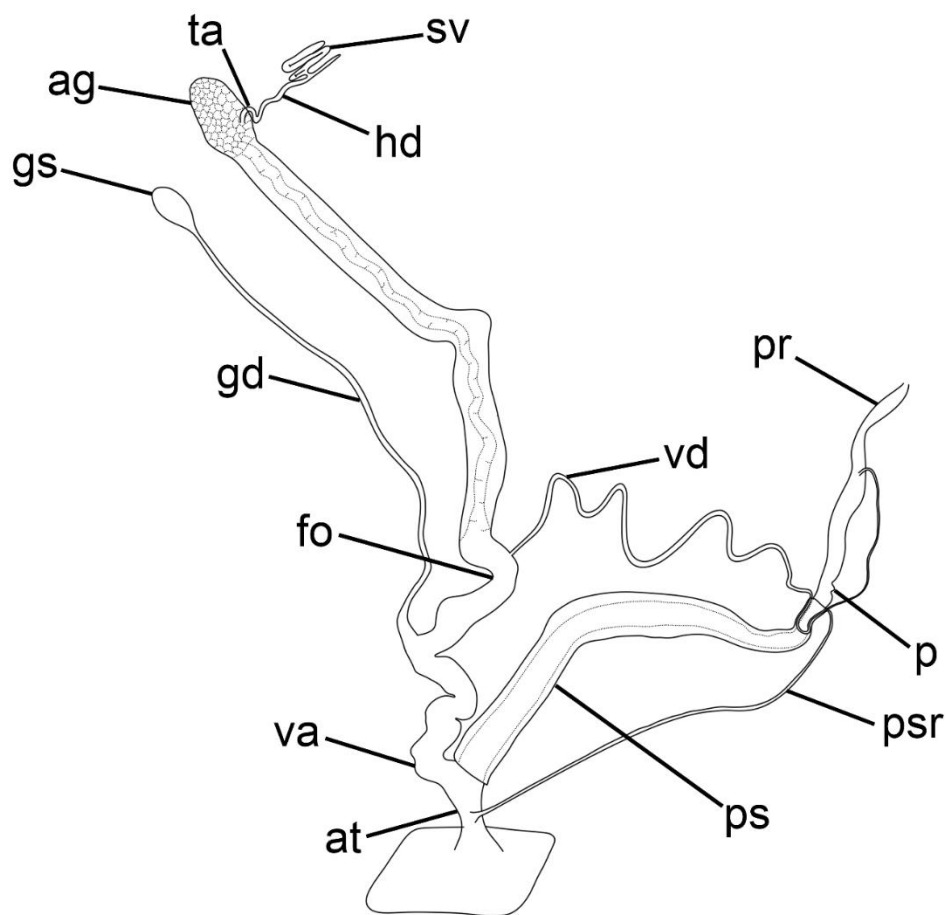
ภาพประกอบ 12 อวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 6135) จากถ้ำเขารงค์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี

ag; albumin gland, at; atrium, fo; free oviduct, gd; gametolytic duct, gs; gametolytic sac, hd; hermaphroditic duct, p; penis, pr; penial retractor muscle, ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle. sv; seminal vesicle, ta; talon, va; vagina, vd; vas deferens



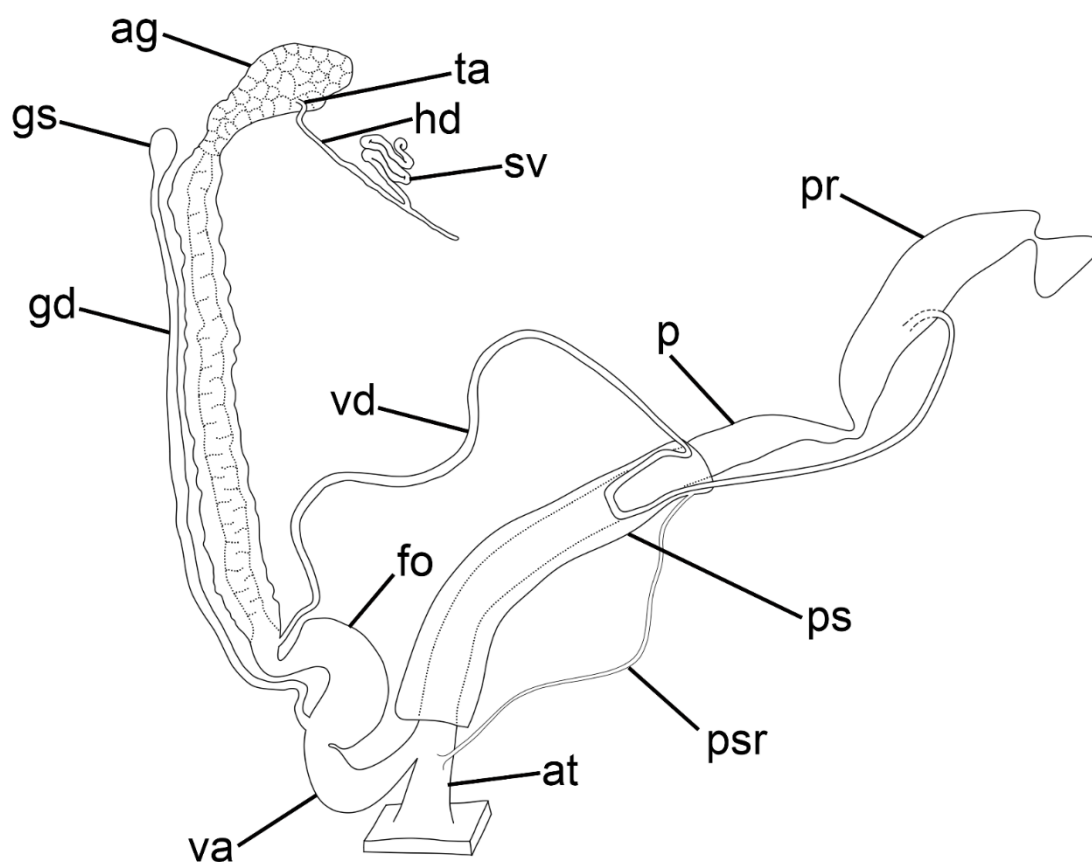
ภาพประกอบ 13 อวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3684) จากน้ำตก
ป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี

ag; albumin gland, at; atrium, fo; free oviduct, gd; gametolytic duct, gs;
gametolytic sac, hd; hermaphroditic duct, p; penis, pr; penial retractor muscle,
ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle. sv; seminal vesicle, ta;
talon, va; vagina, vd; vas deferens



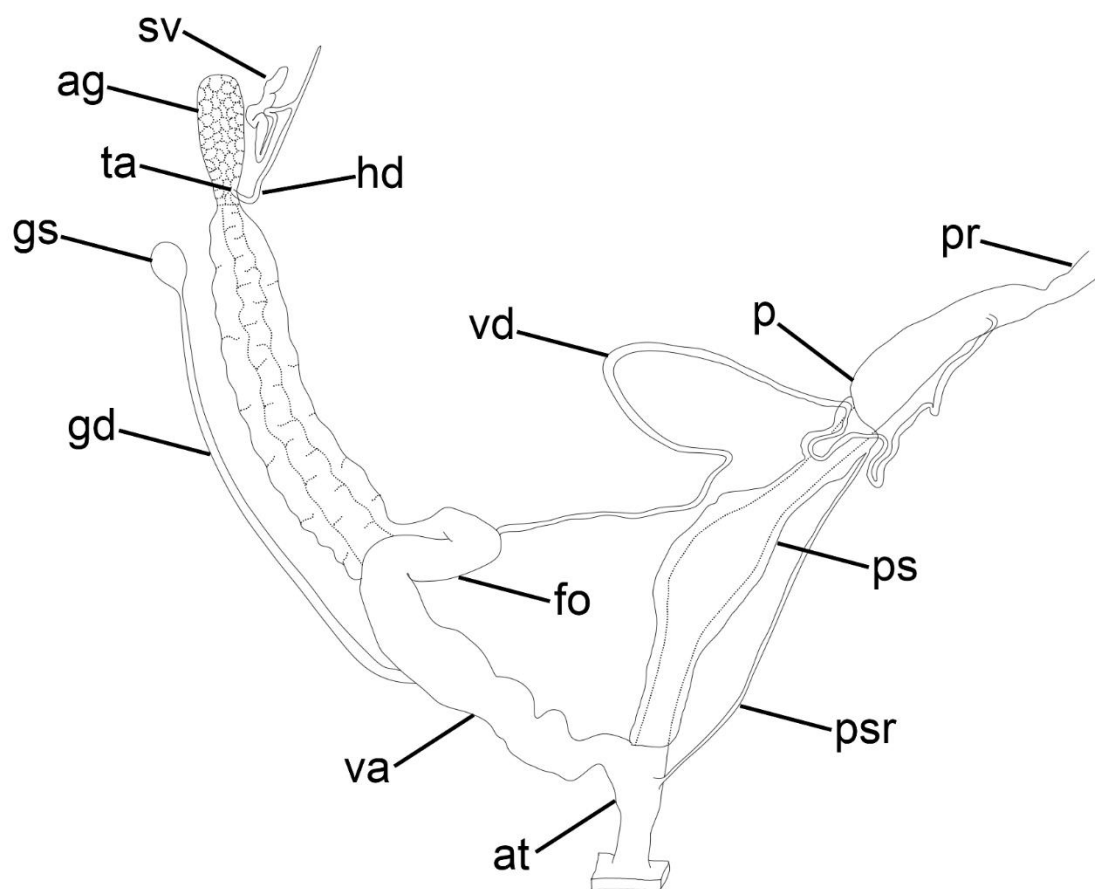
ภาพประกอบ 14 อวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 6139) จากเขากะโหลก อำเภอบางบาล จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ag; albumin gland, at; atrium, fo; free oviduct, gd; gametolytic duct, gs; gametolytic sac, hd; hermaphroditic duct, p; penis, pr; penial retractor muscle, ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle. sv; seminal vesicle, ta; talon, va; vagina, vd; vas deferens



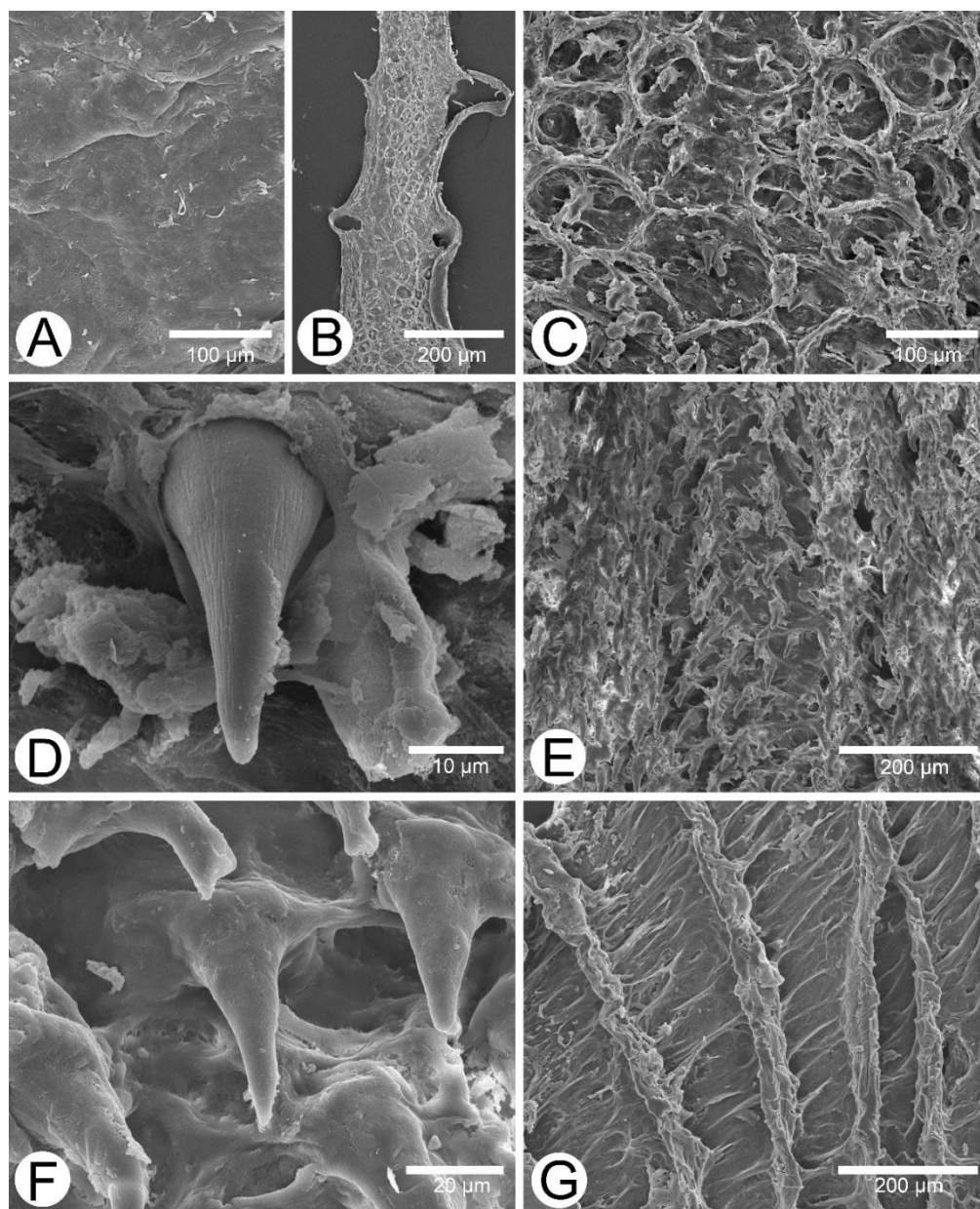
ภาพประกอบ 15 อวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 8006) จากอำเภอ
กุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ag; albumin gland, at; atrium, fo; free oviduct, gd; gametolytic duct, gs;
gametolytic sac, hd; hermaphroditic duct, p; penis, pr; penial retractor muscle,
ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle. sv; seminal vesicle, ta;
talon, va; vagina, vd; vas deferens

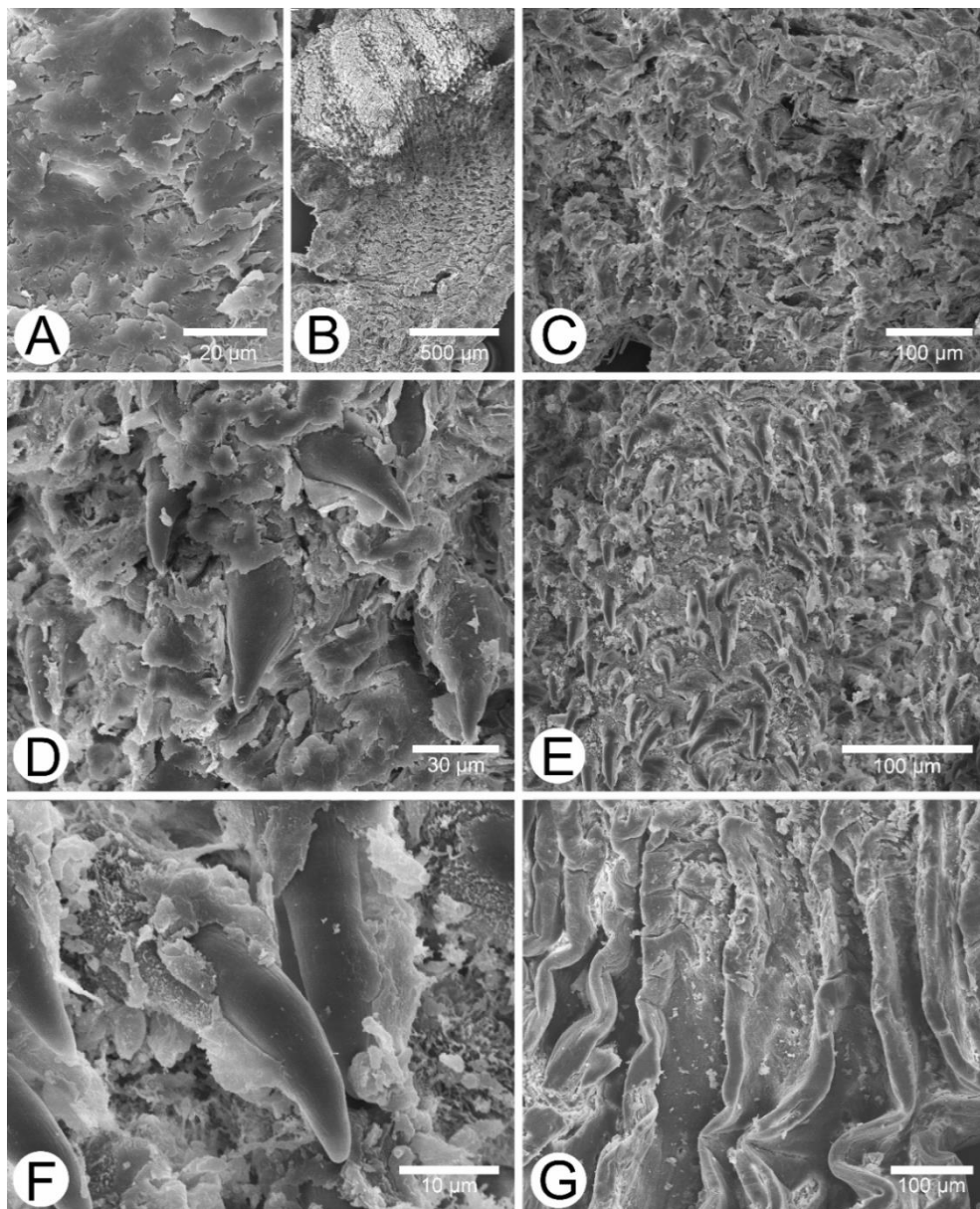


ภาพประกอบ 16 อวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3767) จากอำเภอ
มะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

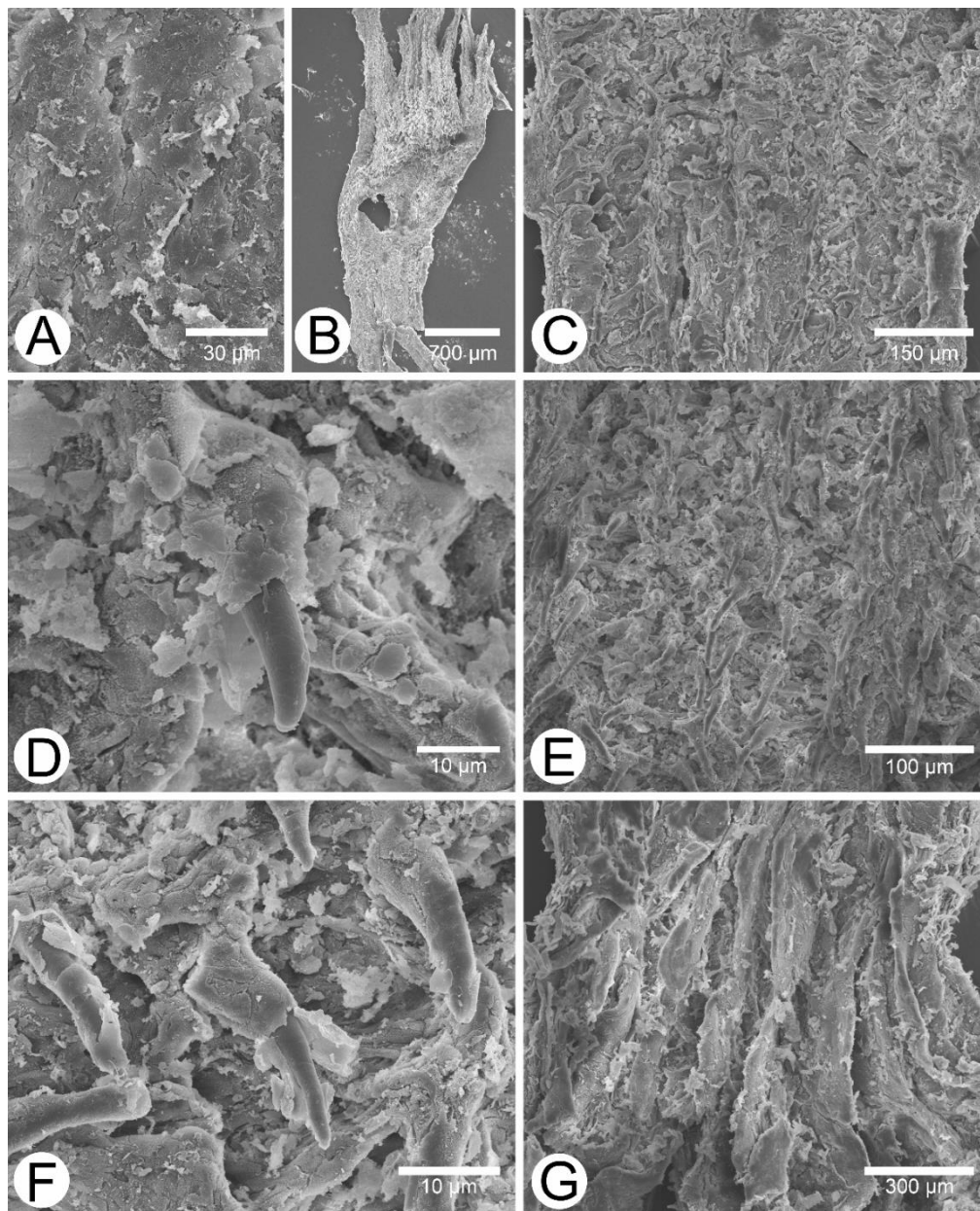
ag; albumin gland, at; atrium, fo; free oviduct, gd; gametolytic duct, gs;
gametolytic sac, hd; hermaphroditic duct, p; penis, pr; penial retractor muscle,
ps; penial sheath, psr; penial sheath retractor muscle. sv; seminal vesicle, ta;
talon, va; vagina, vd; vas deferens



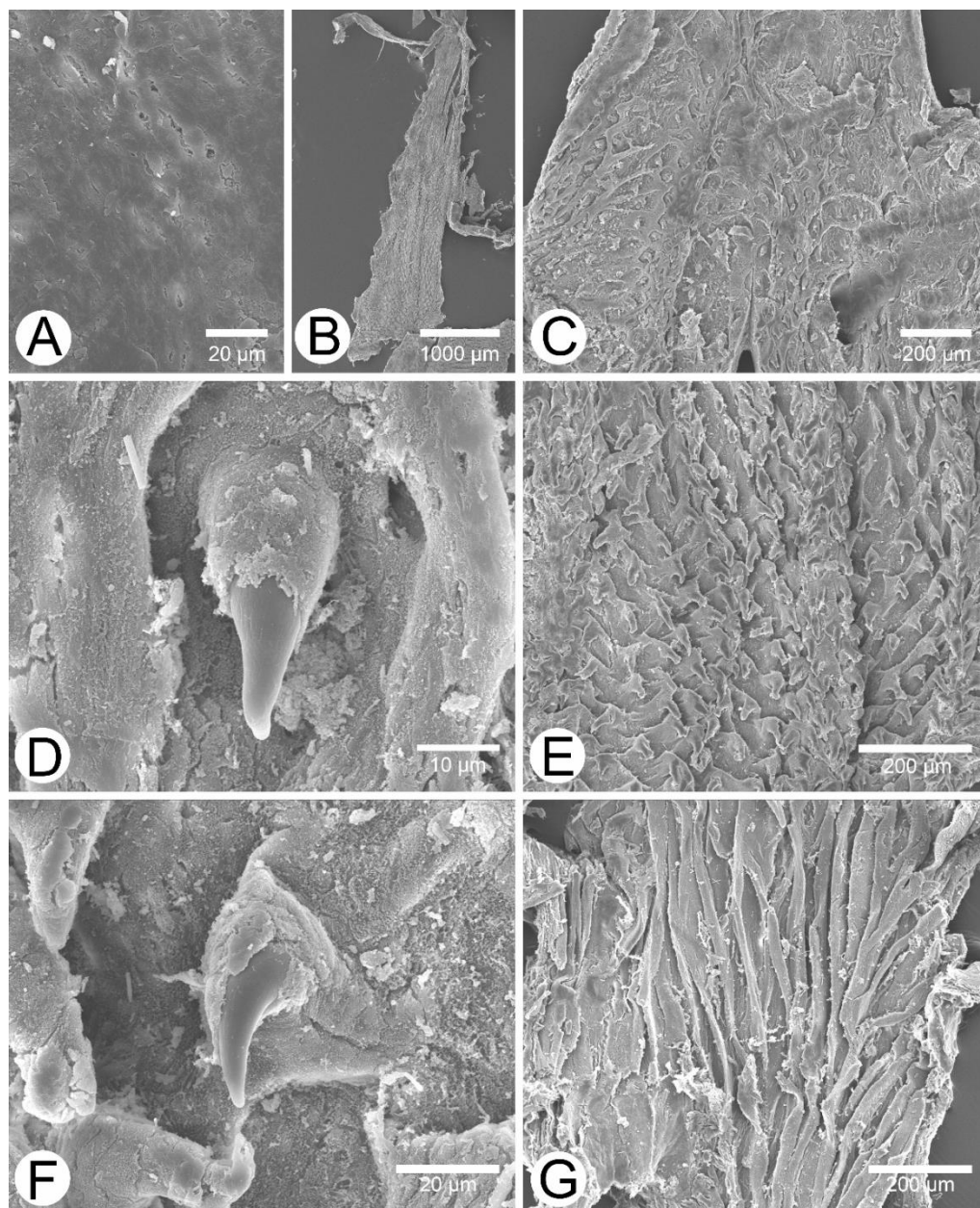
ภาพประกอบ 17 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 6135) จากถ้ำเขารงค์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนกลางด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย



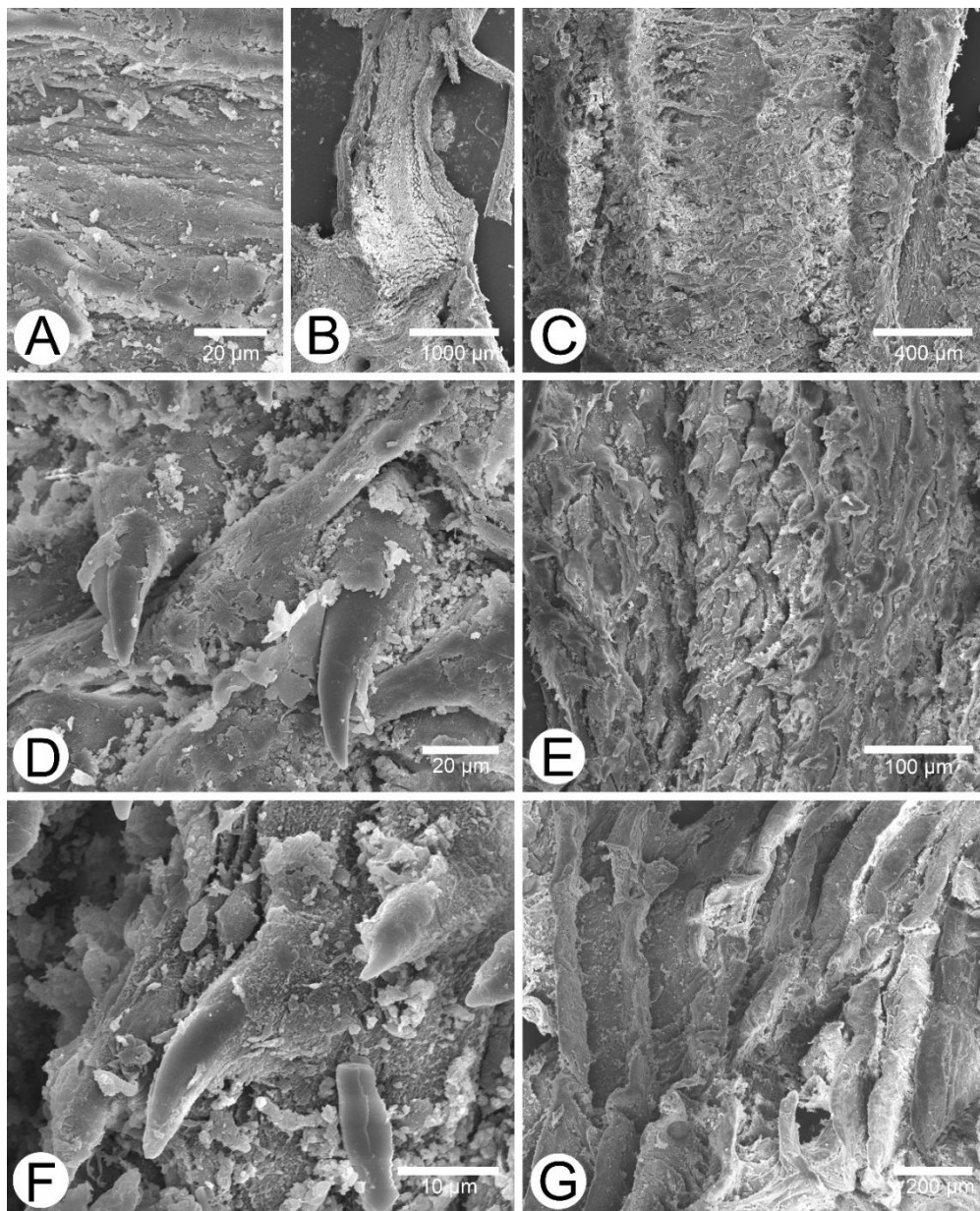
ภาพประกอบ 18 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3684) จากน้ำตกป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนกลางด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย



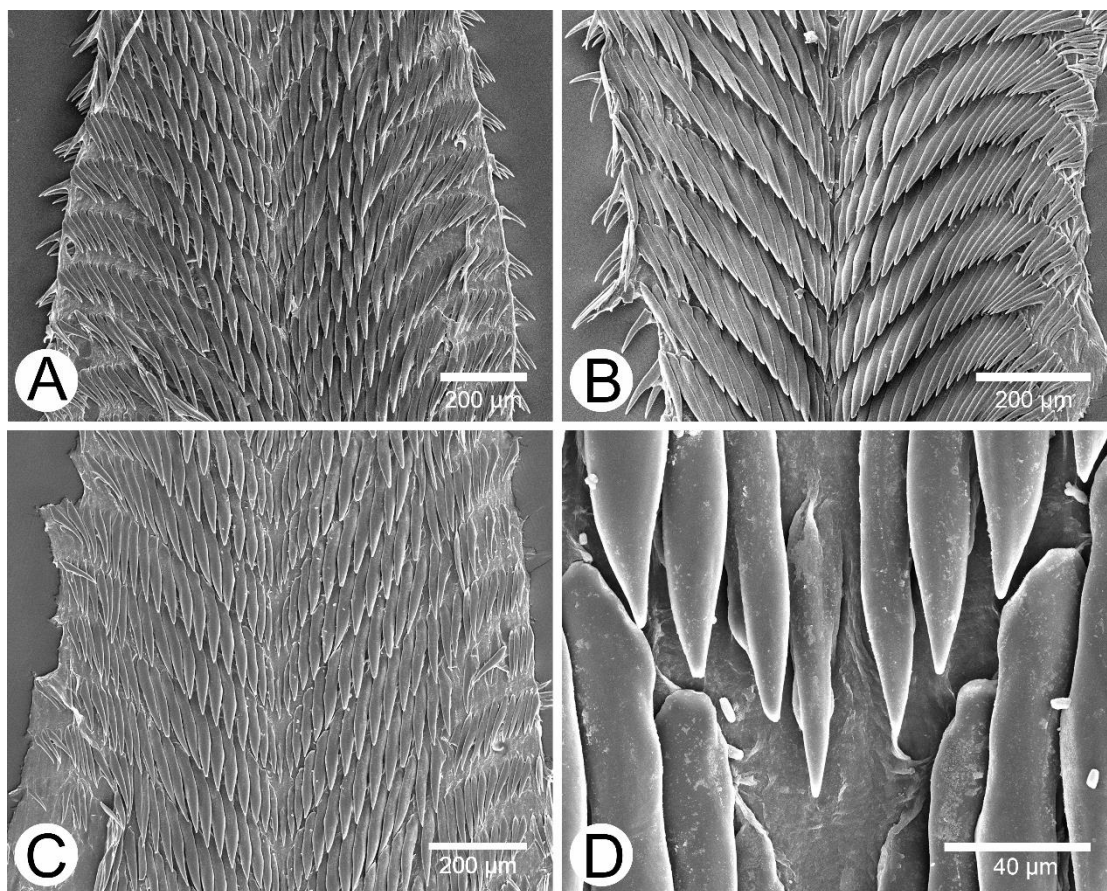
ภาพประกอบ 19 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 6139) จากเขากะโหลก อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนกลางด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย



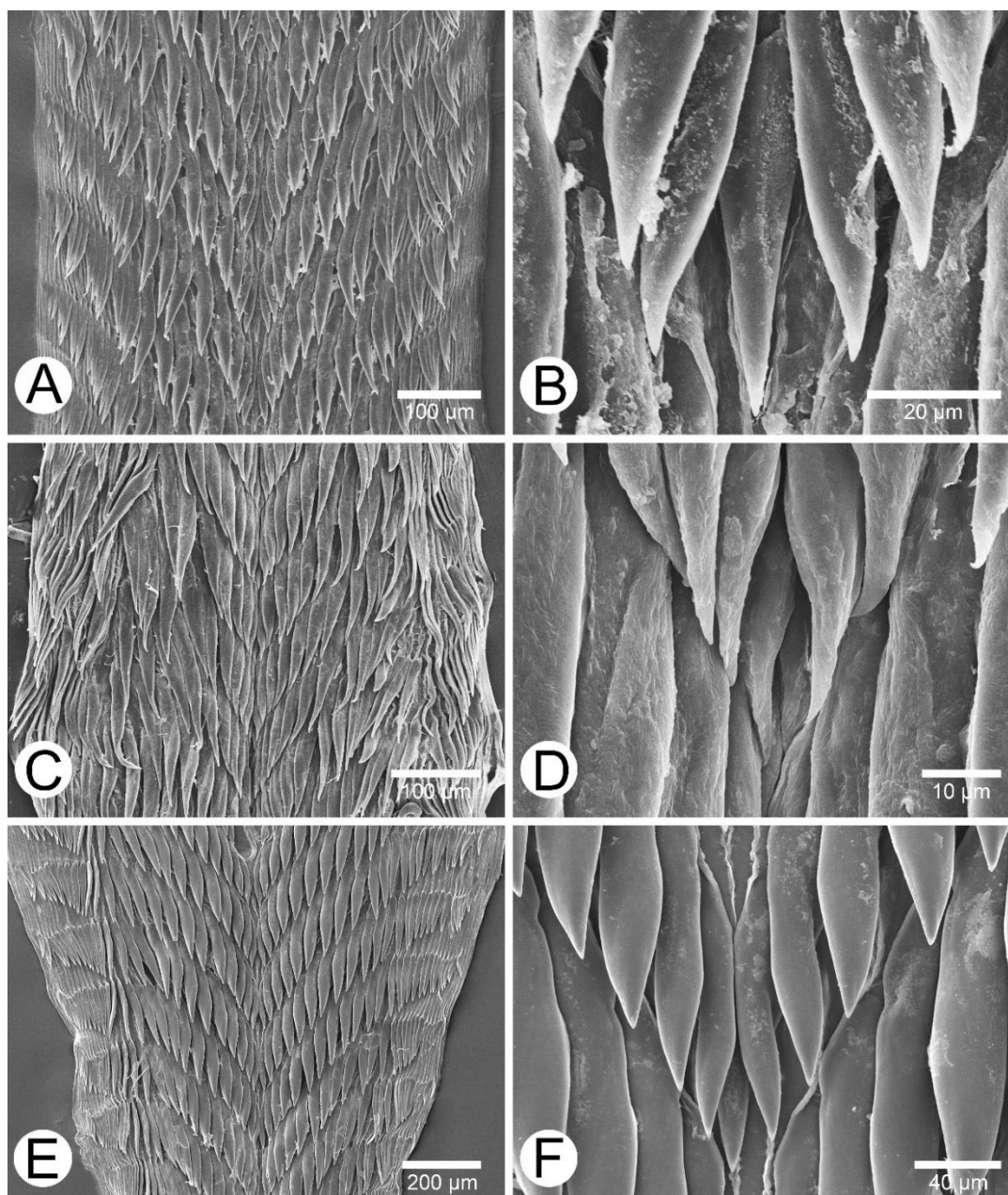
ภาพประกอบ 20 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 8006) จากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนล่างด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย



ภาพประกอบ 21 ภาพ SEM ของอวัยวะสืบพันธุ์ของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3767) จากอำเภอมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (A) ผิวของจุดเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะเพศผู้และอวัยวะเพศเมีย (B) ภาพรวมของ hook ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (C-D) การจัดเรียงของ hook ส่วนกลางด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (E-F) การจัดเรียงของ hook ส่วนบนด้านในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (G) รูปแบบการพับของผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย



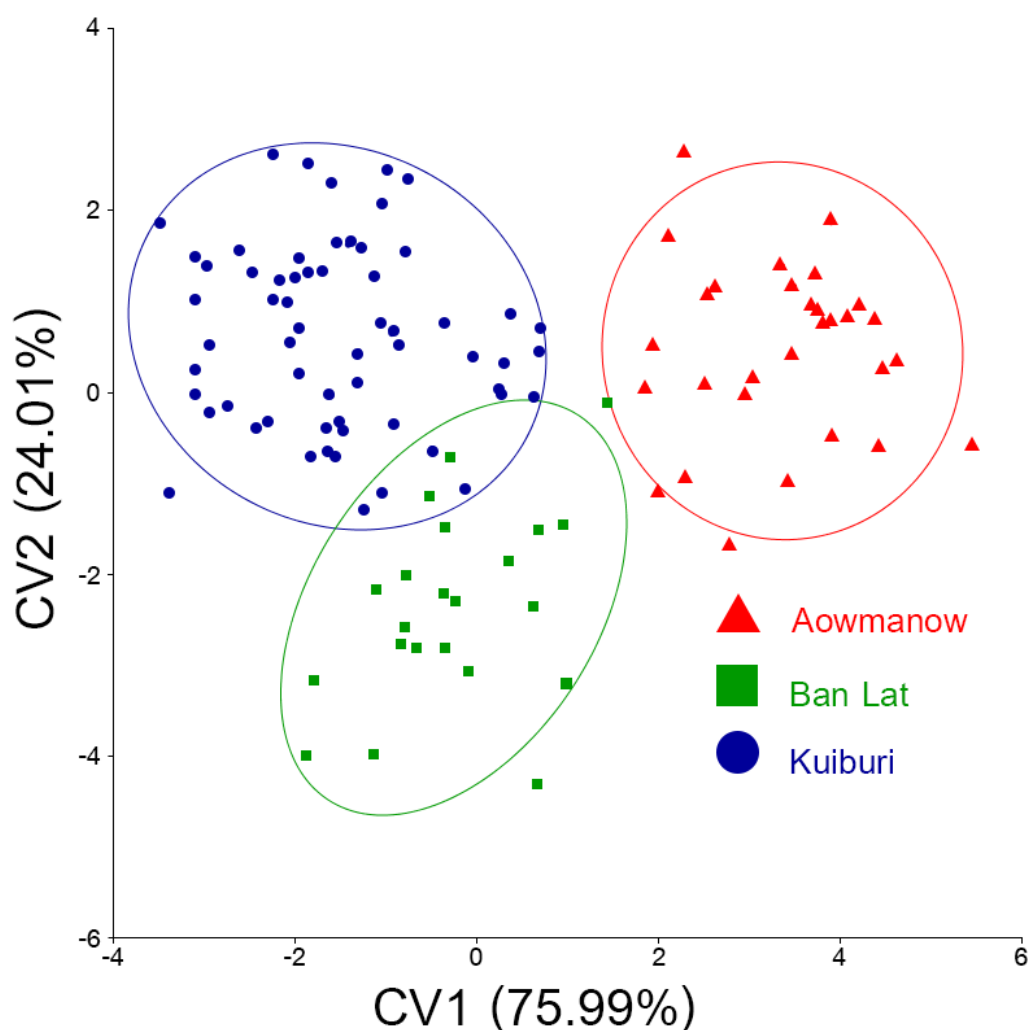
ภาพประกอบ 22 ภาพของแผ่นฟันจาก SEM (A-B) แผ่นฟันของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 6135) จากถ้ำเขารงค์ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (C-D) แผ่นฟันของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3684) จากน้ำตกป่าละอู อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี



ภาพประกอบ 23 ภาพของแผ่นพื้นจาก SEM (A-B) แผ่นพื้นของ *Oophana mouhoti* จาก CUMZ 6139 จากเขากะโหลก อำเภอบราญบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (C-D) แผ่นพื้นของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 8006) จากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (E-F) แผ่นพื้นของ *Oophana mouhoti* (CUMZ 3767) จากอำวมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

3. การวิเคราะห์ห้มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตของหอยน้ก่ล่า *Oophana mouhoti*

ผลการวิเคราะห์ห้มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตด้วยโปรแกรม MorphoJ พบว่าค่า CV ที่ระบุความแปรปรวนทั้งหมดอยู่ที่ 100% โดย CV1 เป็น 75.99% ของความแปรปรวนทั้งหมด และ CV2 อธิบาย 24.01% ของความแปรปรวนทั้งหมดแสดงผลในภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 ผล CVA (Canonical Variate Analysis) ของเปลือก *Oophana mouhoti* ที่ใช้ในการศึกษา โดยสัญลักษณ์สามเหลี่ยมสีแดง แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่บริเวณอ่าวมะนาว จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สีเหลี่ยมสีเขียว แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่บริเวณอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี วงกลมสีน้ำเงิน แทนกลุ่มเปลือกจากพื้นที่อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

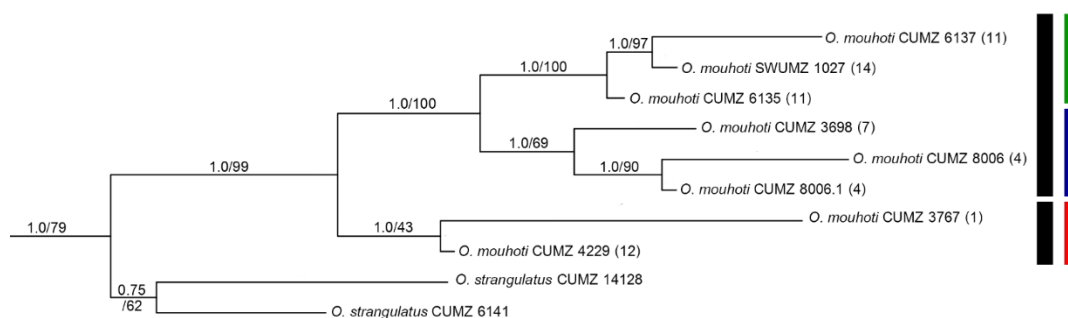
การวิเคราะห์ความแปรปรวนภายในกลุ่มด้วยวิธี CVA โดยภาพรวมพบการแยกกันของตัวอย่างจากทั้ง 3 กลุ่ม โดยมีค่า mahalanobis distance ระหว่างเคลดบ้านลาดและอำมะนาว ระหว่างกุยบุรีและอำมะนาว และระหว่างกุยบุรีกับบ้านลาดอยู่ที่ 4.5856 4.8956 และ 3.2510 ตามลำดับ (ตาราง 4) อย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} < 0.0001$)

ตาราง 4 ค่า mahalanobis distance ระหว่าง 3 เคลด

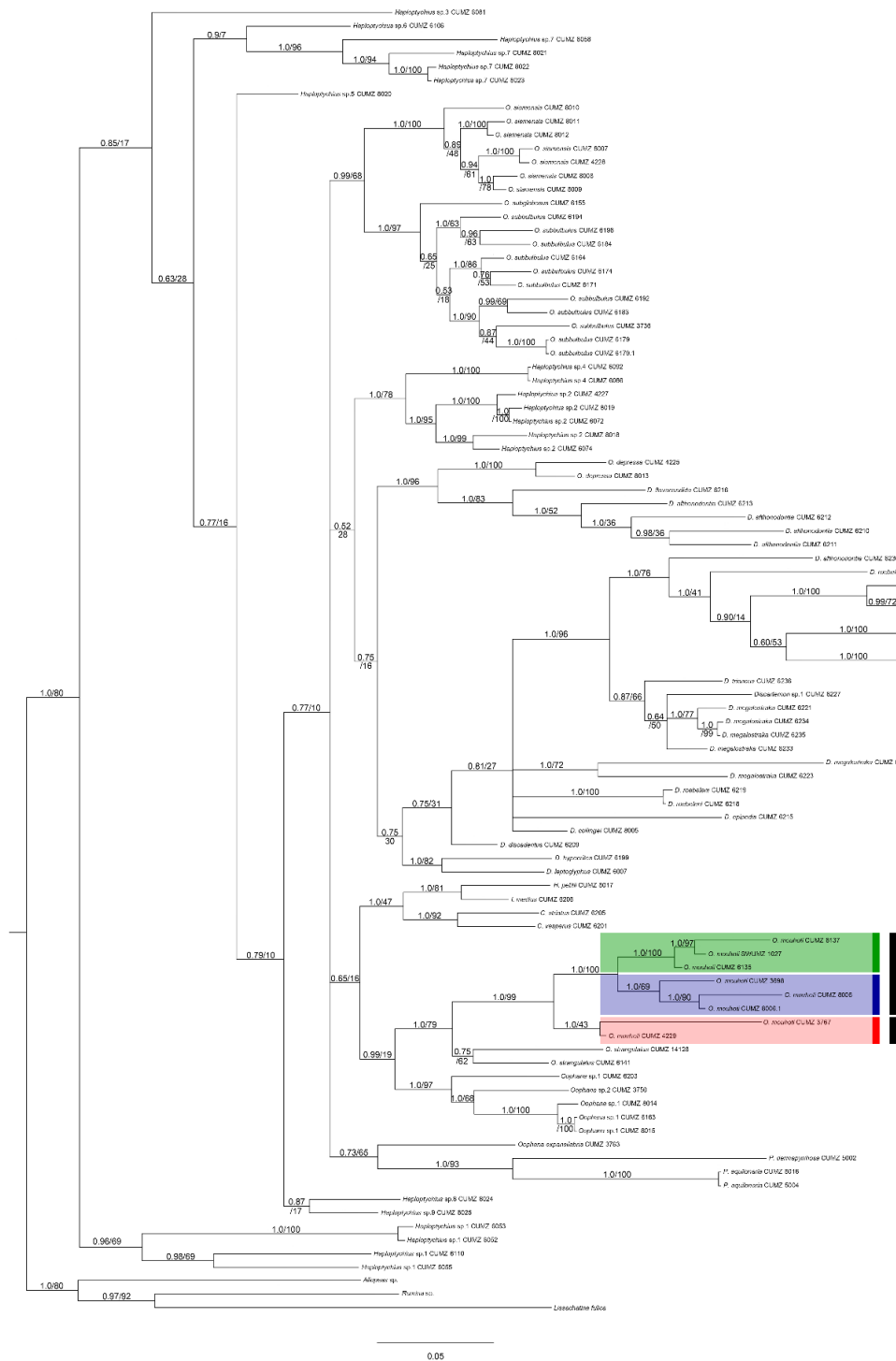
CLADE	อำมะนาว	บ้านลาด
บ้านลาด	4.5856 ($P < 0.0001$)	
กุยบุรี	4.8956 ($P < 0.0001$)	3.2510 ($P < 0.0001$)

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ *Oophana mouhoti*

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม RAxML และ MRBayes โดยแสดงค่า bootstrap และ posterior probability กำกับในแต่ละกิ่ง และนำข้อมูลจาก ICBN database มาประกอบในการวิเคราะห์ ดังแสดงผลในภาพประกอบ 25-26



ภาพประกอบ 25 แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของหอยนักล่า *O. mouhoti* ที่ใช้ในการศึกษาโดยใช้วิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI)



ภาพประกอบ 26 แสดงผลความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของหอยนักล่าในวงศ์ Streptaxidae ที่ใช้ในการศึกษาโดยใช้วิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI)

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษานี้ ได้มีการศึกษาด้านต่าง ๆ ได้แก่ การศึกษาสัณฐานวิทยา การศึกษากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์และแผ่นพัน และการศึกษาทางอนุชีววิทยา และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ในการทำให้ซิสเทมาติกส์ของหอยนักล้า *O. mouhoti* โดยมีข้อมูลดังนี้

หอยนักล่าชนิดนี้มีการกระจายตัวอยู่บริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย ตั้งแต่จังหวัดเพชรบุรีถึงจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตั้งแต่ละติจูดที่ 10-13° โดยมีการพบเพิ่มเติมในประเทศพม่าที่ทางใต้ของจังหวัด Tanintharyi

จากการพิจารณาสัณฐานของเปลือกโดยภาพรวม พบว่าลักษณะเปลือกเป็นรูปกระบอกที่มีเปลือกวงสุดท้ายปิดไปจากแนวแกนกลางเล็กน้อย (oblique-cylindrical) ยกเว้นตัวอย่างจากอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี (ภาพประกอบ 9 B) ที่เปลือกวงสุดท้ายเอียงไปจากแกนกลางมากกว่าตัวอย่างจากพื้นที่อื่น และตัวอย่างจากอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ภาพประกอบ 10 B) มีรูปทรงเปลือกเป็นทรงกระบอกและมีความเอียงที่น้อยมากจนคล้ายคลึงกับ *O. strangulatus* แต่ไม่มีฟันเปลือกคอดล้มเหลลา และฟันเปลือกพาลาทัลมีขนาดเล็กจนแทบจะไม่ปรากฏ จึงยังถูกจัดให้เป็น *O. mouhoti* อยู่เช่นเดิม

ในส่วนของฟันเปลือก หอยนักล่าชนิดนี้มีฟันเปลือกพาลาทัลที่มีขนาดใหญ่และสังเกตเห็นได้ชัด 1 ฟัน และมีฟันขนาดเล็กในตำแหน่งฟันพาลาทัล และฟันเบซัล โดยฟันเปลือกที่มีความหลากหลายของจำนวนมากที่สุดคือฟันพาลาทัล โดยพบได้ตั้งแต่ 1 ฟันหรือเล็กจนสังเกตได้ยาก (ภาพประกอบ 10 A-B) พบ 2 ฟัน (ภาพประกอบ 9 A-B และภาพประกอบ 10 C) จนถึง 3 ฟัน (ภาพประกอบ 9 C) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษานี้ได้พิจารณาว่า จำนวนหรือตำแหน่งของฟันเปลือกที่หลากหลาย ถือเป็นความแปรผัน (variation) ของหอยนักล่าชนิดนี้

จากการพิจารณากายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ พบว่ามีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากหอยนักล่าชนิดอื่นคือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ยาวกว่าเพศเมีย บริเวณของ free oviduct จะมีการโค้งงอเป็น C shape และ hook ด้านในผนังอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (penial hook) มีการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยบริเวณผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ด้านบน (upper penial hook) จะมีลักษณะเล็กและเรียวยาว และมีการเรียงตัวด้านในผนังที่หนาแน่น ในขณะที่บริเวณผนังภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ด้านล่าง (lower penial hook) จะมีลักษณะบวมสั้นและมีการกระจายตัวที่ห่างกว่า อีกทั้งผนังของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย พบตัวเป็นแบบขนานในแนวตั้ง

จากการพิจารณาลักษณะทางกายวิภาคของแผ่นฟันพบว่าในแต่ละแถวประกอบไปด้วยฟัน 49-55 ซี่ โดยมีสูตรฟัน (24-27)-1-(24-27) โดยฟันกึ่งกลางมีขนาดเล็กเรียว ฟันข้าง ค่อย ๆ มีขนาดเล็กลงจากฟันกึ่งกลาง โดยฟันที่อยู่บริเวณขอบของแผ่นฟันมีขนาดเล็กและสั้นกว่าฟันที่อยู่ด้านขิดกึ่งกลาง (ภาพประกอบ 22-23)

จากการศึกษาทางอนุชีววิทยาด้วยวิธี Maximum likelihood (ML) และ Bayesian Inferences (BI) ในครั้งนี้ และนำข้อมูลที่ได้ไปเทียบกับข้อมูลของหอยสกุลอื่นในวงศ์ Streptaxidae ใน NCBI database พบว่าหอยนักล่าชนิดนี้มีการแยกออกมาจากหอยนักล่าสกุลอื่นในวงศ์เดียวกันอย่างชัดเจน สอดคล้องกับการศึกษาของ Siriboon et. al, 2020 โดยแบ่งออกเป็น 3 เคลดตามการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ ได้แก่ เคลดที่ 1 เคลดของอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี เคลดที่ 2 เคลดของอำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเคลดที่ 3 เคลดของอำวมะนาว อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

จากการศึกษาวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตด้วยวิธี CVA โดยทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างตามเคลดที่ได้จากการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าผลของมอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต สอดคล้องกับผลของการศึกษาแผนผังความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยแบ่งออกเป็นสามกลุ่มตามพื้นที่การกระจายตัว ได้แก่ กลุ่มอำเภอบ้านลาด กลุ่มอำเภอกุยบุรี และกลุ่มอำวมะนาว ตามลำดับ โดยมีค่าสถิติแสดงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการที่ทำการศึกษาเดียวกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าการวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิตสามารถใช้ประกอบการศึกษาซิสเทมาติกส์ของหอยนักล่าที่มีความแปรผันของรูปร่างเปลือกได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยพื้นที่การกระจายตัวนี้ส่งผลต่อความแปรผันของรูปร่างเปลือกอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.0001$) ซึ่งหากพิจารณาจากปัจจัยทางภูมิศาสตร์เบื้องต้นของทั้งสามกลุ่ม จะเห็นได้ว่าถูกแบ่งออกเป็นเทือกเขาต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น เทือกเขาฝั่งเพชรบุรีตะวันออก เทือกเขาตะนาวศรี และเทือกเขาสามร้อยยอดตามลำดับ ซึ่งแนวเทือกเขาในแต่ละที่อาจจะมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นระดับความสูง ปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม ส่งผลให้เกิดความแปรผันของเปลือกที่แตกต่างกันได้

โดยสรุปการศึกษาซิสเทมาติกส์ของหอยนักล่าสามารถด้วยวิธีวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกส์เชิงเรขาคณิต กายวิภาคของระบบสืบพันธุ์ และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเป็นเครื่องมือที่ช่วยในวิธีการระบุชนิดและจัดจำแนกได้อย่างชัดเจนและสอดคล้องกับการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ขณะที่ศึกษาลักษณะแผ่นฟันของตัวอย่างจาก 3 พื้นที่ พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน ดังนั้นวิธีดังกล่าวอาจจะไม่เหมาะสมสำหรับการจำแนกในระดับกลุ่ม

ประชากรของหอยนักล้าจากทั้ง 3 พื้นที่ นอกจากนี้ยังพบว่าหอยนักล้า *O. mouhoti* มีความแตกต่างจากหอยนักล้าชนิดอื่นในสกุลเดียวกัน แต่มีลักษณะพื้นฐานของเปลือกคล้ายคลึงกับ *O. strangulatus* ที่มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน จึงมีความเป็นไปได้ว่าทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยกระดับเป็นหอยนักล้าสกุลใหม่ได้ในอนาคต



บรรณานุกรม

- Albarrán-Mélzer, N. C., Ruiz, L. J. R., Benítez, H. A., & Lagos, M. E. (2020). Can temperature shift morphological changes of invasive species? A morphometric approach on the shells of two tropical freshwater snail species. *Hydrobiologia*, 847(1), 151-160.
- Berry, A. (1963). The anatomy of two Malayan limestone hill Streptaxidae, *Sinoennea kanchingensis* Tomlin and *Oophana diaphanopepla* Van Benthams Jutting, with special reference to the genital system. *Journal of Molluscan Studies*, 35(4), 139-150.
- Blanford, W. T., & Godwin-Austen, H. H. (1908). *Mollusca: Testacellidae and Zonitidae* (Vol. 22). Taylor & Francis.
- Boonmachai, T., & Nantararat, N. (2020). The Effects of Different Habitats and Morphological Variability on *Cryptozonia siamensis* (Pfeiffer, 1856) in Chiang Mai Province. *Chiang Mai University Journal of Natural Science*, 19(4), 846-864.
- Clements, R. (2006). *Oophana tiomanensis* a new streptaxid (Gastropoda: Pulmonata: Streptaxidae) from Pulau Tioman, Peninsular Malaysia. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 54(1), 125-127.
- Freeland, J., Kirk, H., & Petersen, S. (2005). Molecular markers in ecology. *Molecular Ecology*. (Ed. H. Kirk.) pp, 31-62.
- Hyman, I. T., & Köhler, F. (2019). Phylogeny and systematic revision of the helicarionid semislugs of eastern Queensland (Stylommatophora, Helicarionidae). *Contributions to Zoology*, 88(4), 351-451.
- Inkhavilay, K., Siriboon, T., Sutcharit, C., Rowson, B., & Panha, S. (2016). The first revision of the carnivorous land snail family Streptaxidae in Laos, with description of three new species (Pulmonata, Stylommatophora, Streptaxidae). *ZooKeys*(589), 23.
- Jeratthitikul, E., Phuangphong, S., Sutcharit, C., Prasankok, P., Kongim, B., & Panha, S. (2019). Integrative taxonomy reveals phenotypic plasticity in the freshwater mussel *Contradens contradens* (Bivalvia: Unionidae) in Thailand, with a description of a

- new species. *Systematics and Biodiversity*, 17(2), 134-147.
- Jutting, W. V. B. (1954). The Malayan Streptaxidae of the genera Discartemon and Oophana. *Bulletin of the Raffles Museum*, 25, 71-106.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics *Molecular Ecology resources*, 11(2), 353-357.
- Köhler, F., & Burghardt, I. (2016). Cryptic diversity in a widespread land snail: revision of the genus *Xanthomelon* Martens, 1860 from the Australian Monsoon Tropics (Pulmonata, Camaenidae). *Zoologica Scripta*, 45(2), 127-144.
- Kumar, S., Stetcher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- Miller, J. P. (2016). Geometric morphometric analysis of the shell of *Cerion mumia* (Pulmonata: Cerionidae) and related species. *Folia Malacologica*, 24(4).
- Miranda, M. J. (2020). Anatomy and shell shape variability in a land snail *Bostryx torallyi* (Stylommatophora: Bulimulidae). *Revista de Biología Tropical*, 68(1), 218-229.
- Möllerndorff, O. v. (1894). On a collection of land-shells from the Samui Islands, Gulf of Siam. *Proceedings of the Zoological Society of London*,
- Möllerndorff, O. v. (1902). Binnenmollusken aus hinterindien. *Nachrichtsblatt der Deutschen Malakozoologischen Gesellschaft*, 34, 135-162.
- Nantarat, N., Wade, C. M., Jeratthitikul, E., Sutcharit, C., & Panha, S. (2014). Molecular evidence for cryptic speciation in the *Cyclophorus fulguratus* (Pfeiffer, 1854) species complex (Caenogastropoda: Cyclophoridae) with description of new species. *PLoS One*, 9(10), e109785.
- Pfeiffer, L. (1859). *Monographia heliceorum viventium: sistens descriptiones systematicas et criticas omnium hujus familiae generum et specierum hodie cognitarum* (Vol. 4). FA Brockhaus.
- Pfeiffer, L. (1861). Description of forty-seven new species of land-shells, from the collection of H. Cuming, Esq. . *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1861, 20-29.

- Pfeiffer, L. (1862). c. Description of thirty-six new land shells, from the collection of H. Cuming, Esq. Proceedings of the Zoological Society of London: 268-278.
- Richardson, C. L. (1988). Streptaxacea: Catalog of species Part I Streptaxidae. *Tryonia*, 16, 1-326.
- Rohlf, F. J. (2005). *TpsDig version 2.05*. In State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J. (2018). *TpsUtil (Version 1.76)*. In State University of New York at Stony Brook.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Li, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). "MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space." *Systematic biology*, 61(3), 539-542.
- Rosenberg, G. (2014). A new critical estimate of named species-level diversity of the recent Mollusca. *American Malacological Bulletin*, 32(2), 308-322.
- Rowson, B., Tattersfield, P., & Symondson, W. O. (2011). Phylogeny and biogeography of tropical carnivorous land-snails (Pulmonata: Streptaxoidea) with particular reference to East Africa and the Indian Ocean. *Zoologica Scripta*, 40(1), 85-98.
- Schileyko, A. (2000). Treatise on Recent terrestrial pulmonate molluscs, Part 5: Clausiliidae. *Ruthenica*, 2, 565-729.
- Siriboon, T., Naggs, F., Wade, C. M., Jeratthitikul, E., Tongkerd, P., Jirapatrasilp, P., Panha, S., & Sutcharit, C. (2020). Phylogenetic relationships of the carnivorous terrestrial snail family Streptaxidae (Stylommatophora: Achatinina) in Thailand and surrounding areas of Southeast Asia. *Systematics and Biodiversity*, 18(7), 720-738.
- Siriboon, T., Sutcharit, C., Naggs, F., & Panha, S. (2013). Three new species of the carnivorous snail genus Perrottetia Kobelt, 1905 from Thailand (Pulmonata, Streptaxidae). *ZooKeys*(287), 41.
- Siriboon, T., Sutcharit, C., Naggs, F., Rowson, B., & Panha, S. (2014a). Revision of the carnivorous snail genus Discartemon Pfeiffer, 1856, with description of twelve new species (Pulmonata, Streptaxidae). *ZooKeys*(401), 45.
- Siriboon, T., Sutcharit, C., Naggs, F., Rowson, B., & Panha, S. (2014b). Revision of the carnivorous snail genus Indoartemon Forcart, 1946 and a new genus Carinartemis

- from Thailand (Pulmonata: Streptaxidae). *Raffles Bulletin of Zoology*, 62.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313.
- Sullivan, J., & Joyce, P. (2005). Model selection in phylogenetics. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36, 445-466.
- Sutcharit, C., Naggs, F., Wade, C. M., Fontanilla, I., & Panha, S. (2010). The new family Diapheridae, a new species of Diaphera Albers from Thailand, and the position of the Diapheridae within a molecular phylogeny of the Streptaxoidea (Pulmonata: Stylommatophora). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 160(1), 1-16.
- Swofford, D. L. (2002). *PAUP: phylogenetic analysis using parsimony*. In (Version 4.0 b10)
- Tanabe, A. S. (2011). Kakusan4 and Aminosan: two programs for comparing nonpartitioned, proportional and separate models for combined molecular phylogenetic analyses of multilocus sequence data. *Molecular Ecology resources*, 11(5), 914-921.
- Uit de Weerd, D. R., & Gittenberger, E. (2013). Phylogeny of the land snail family Clausiliidae (Gastropoda: Pulmonata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67(1), 201-216.
- Xu, Q., Liu, R., & Liu, Y. (2009). Genetic population structure of the swimming crab, *Portunus trituberculatus* in the East China Sea based on mtDNA 16S rRNA sequences. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 371(2), 121-129.
- กรมทรัพยากรธรณี. (2551a). การจำแนกเขตเพื่อการจัดการด้านธรณีวิทยาและทรัพยากรธรณี จังหวัดเพชรบุรี. แอดวานซ์ วิชั่น เซอร์วิส จำกัด.
- กรมทรัพยากรธรณี. (2551b). การจำแนกเขตเพื่อการจัดการด้านธรณีวิทยาและทรัพยากรธรณี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. แอดวานซ์ วิชั่น เซอร์วิส จำกัด.
- จิรศักดิ์ สุจริต, ปิโยรส ทองเกิด, & สมศักดิ์ ปัญญา. (2561). หอยทากบก : ทรัพยากรชีวภาพที่ทรงคุณค่าแห่งราชอาณาจักรไทย = *Land snails : the invaluable bio-resources for the kingdom of Thailand* (พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). บริษัท ซีโน พับลิชชิ่ง แอนด์ แพคเกจจิ้ง จำกัด.
- จิรศักดิ์ สุจริต, & สมศักดิ์ ปัญญา. (2551). หอยทากบกในอุทยานแห่งชาติเขานัน (พิมพ์ครั้งที่ 1.. ed.). กรุงเทพฯ : โครงการพัฒนาความรู้และศึกษานโยบาย การจัดการทรัพยากรชีวภาพ

ในประเทศไทย โครงการ BRT.

จุฑามาศ ศุภพันธ์, & วีระ เกียรติทรัพย์มี. (2016). โครงสร้าง พันธุ ศาสตร์ ประชากร ของ หอย ชัก
ตีน (*Strombus canarium*) ตาม แนว ชายฝั่ง ทะเล อันดามัน. วารสาร วิทยาศาสตร์ บุรพา,
21(3), 138-150.

ฐิติกา กิจพิพิธ, & ภูวดล ธนะเกียรติไกร. (2013). การ ตรวจ พิสูจน์ ดีเอ็นเอ เพื่อ ระบุ ชนิด ของ สัตว์
ป่า ใน งาน นิติวิทยาศาสตร์. วารสาร วิชาการ พระจอมเกล้า พระนครเหนือ, 23(3), 727-
740.

พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชาวัฒนา, สิทธิชัย ชุณหะวัณ, กัญฐิกา ตุ่นเจริญ, จิรัชยา ดับประดิษฐ์, เพชราพร
บรรยงค์, & ศิริบุญ, ธ. (2562). ความหลากหลายชนิดของหอยทากบกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์.
การประชุมวิชาการ “ทรัพยากรธรรมชาติ สารสนเทศภูมิศาสตร์ และสิ่งแวดล้อม ครั้งที่ 4”,
410-418.

พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์. (2011). ดีเอ็นเอ บาร์ โค้ด เพื่อ การ ระบุ ชนิด ของ สิ่ง มี ชีวิต กรณี ศึกษา: จีน
Cytochrome c Oxidase I (COI) ใน สัตว์; DNA Barcode for Identification of Living
Species: Case Studies of Cytochrome c Oxidase I (COI) in Animals. *Rajabhat
Maha Sarakham University Journal*, 5(2), 205-210.

พรพิมล เจียรนัยปรีเปรม. (2557). มอร์โฟเมตริกส์ในงานด้านสัตววิทยา: พื้นฐานของมอร์โฟเมต
ริกส์ Morphometrics in Zoology: Basic of Morphometrics. วารสารวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 42(3), 485-498.

อัจฉริยา รังษิรุจิ. (2555). วิวัฒนาการ : จากทฤษฎีสู่การประยุกต์ (พิมพ์ครั้งที่ 1.. ed.). กรุงเทพฯ :
ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ประวัติผู้เขียน

