



ซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* Habe, 1964 ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว

SYSTEMATICS OF FRESHWATER SNAILS *FILOPALUDINA* HABE, 1964 IN RIVER
BASIN, SA KAEO PROVINCE

พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2565

ซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* Habe, 1964 ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

SYSTEMATICS OF FRESHWATER SNAILS *FILOPALUDINA* HABE, 1964 IN RIVER
BASIN, SA KAEO PROVINCE



PONGPISIT RUNGRUANGDEJWATTANA

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

ซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* Habe, 1964 ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว

ของ

พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชาวัฒนา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.ธนิต ศิริบุญ)

ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิรศักดิ์ สุจริต)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพามาภรณ์ แสงงาม)

ชื่อเรื่อง	ซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> Habe, 1964 ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว
ผู้วิจัย	พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ธนิต ศิริบุญ

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้ได้ทำการตอบคำถามทางด้านซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* Habe, 1964 จากการศึกษาโดยนักสังขละวิทยาและนักธรรมชาติวิทยาในอดีตนั้น ใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกในการจัดจำแนกและระบุชนิด หอยในสกุลนี้พบความแปรผันของเปลือกค่อนข้างมาก จึงส่งผลให้การระบุสปีชีส์เป็นไปได้ยาก โดยความรู้และฐานข้อมูลในด้านอนุกรมวิธานและความหลากหลายของหอยขมในประเทศไทยยังมีข้อมูลที่อยู่อย่างจำกัด โดยเฉพาะในจังหวัดสระแก้วที่มีลุ่มน้ำที่สำคัญ 2 สาย และ 7 ลุ่มน้ำย่อย อันเป็นแหล่งน้ำที่มีความสำคัญในด้านทรัพยากรทางธรรมชาติ ในปัจจุบันลุ่มน้ำดังกล่าวได้ประสบปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อการลดลงของประชากรและความหลากหลายทางชีวภาพของหอยน้ำจืด งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากยีนไมโทคอนเดรีย ได้แก่ *COI* และ *16s rRNA* โดยทำการเก็บตัวอย่างหอยขมสกุล *Filopaludina* 4 สปีชีส์ จากลุ่มแม่น้ำในจังหวัดสระแก้ว และนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาสร้างแผนภูมิทางวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inference (BI) จากผลการศึกษาพบว่าสายวิวัฒนาการของหอยขมเป็นรูปแบบโมโนไฟเลติก สามารถแบ่งสายวิวัฒนาการย่อยได้เป็น 8 เคลด โดยหอยขม *Filopaludina sumatrensis speciosa* และ *F. polygramma* มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นแบบโมโนไฟเลติก และสอดคล้องกับการจัดจำแนกโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกและภูมิศาสตร์ของลุ่มน้ำ ส่วนหอยขม *F. javanica* และ *F. martensi martensi* มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบพาราไฟเลติกและโพลีไฟเลติก ประกอบด้วย *F. javanica* จำนวน 4 เคลด และ *F. martensi martensi* จำนวน 4 เคลด จากการจัดจำแนกนี้พบว่าไม่สอดคล้องกับการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและภูมิศาสตร์ลุ่มน้ำ การศึกษาในครั้งนี้เป็นการแสดงถึงสมมติฐานทางวิวัฒนาการ ซึ่งช่วยให้เราทราบถึงความสัมพันธ์ทางชีวภูมิศาสตร์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในจังหวัดสระแก้วได้ดียิ่งขึ้น

คำสำคัญ : หอยน้ำจืดฝาเดียว, ความแปรผันของฟีโนไทป์, ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ, หอยขมสกุล *Filopaludina*

Title	SYSTEMATICS OF FRESHWATER SNAILS <i>FILOPALUDINA</i> HABE, 1964 IN RIVER BASIN, SA KAEO PROVINCE
Author	PONGPISIT RUNGRUANGDEJWATTANA
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2022
Thesis Advisor	Dr. Thanit Siriboon

This thesis addresses the systematic of pond snails of the genus *Filopaludina* Habe, 1964. In the past, the classification is only based on shell morphology and could lead to misunderstanding of species identification due to phenotypic variation in shell. These days, knowledge, a database of taxonomy and diversity of this snail in Thailand are still limited. Particularly, in Sa Kaeo province, there are two main river basins and seven sub-river basins where are plenty of biodiversity. However, these river basins are affected by many environmental problems that threaten freshwater gastropods diversity. The phylogenetic relationship reconstructed from *COI* and *16s rRNA* mitochondrial DNA genes of four species of *Filopaludina* with Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) methods revealed monophyletic group of eight *Filopaludina* supported clades. Both *Filopaludina sumatrensis speciosa* and *F. polygramma* are monophyletic for each other, congruent with the morphological classification and geographic distribution in the area of river basins. In case of *F. javanica* and *F. martensi martensi*, the species have both paraphyletic and polyphyletic relationships, with four monophyletic clades of *F. javanica* and *F. martensi martensi*. The phylogenetic relationship was considered inconsistent with the morphological classification and geographic distribution in the river basin. This study has revealed evolutionary hypotheses that provide insight of the biogeographic relationship of *Filopaludina* in Sa Kaeo province.

Keyword : *Filopaludina*, Freshwater snail, Phenotypic plasticity, Phylogeny

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้ สามารถสำเร็จเสร็จสมบูรณ์ลงไปได้ด้วยดีจากความอนุเคราะห์ คำแนะที่เป็นประโยชน์ รวมทั้งการสนับสนุนโดย อาจารย์ ดร.ธนิศ ศิริบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ปรินุญยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.จิรศักดิ์ สุจริต ประธานกรรมการสอบปากเปล่าปรินุญยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชมาภรณ์ แสงงาม กรรมการสอบปากเปล่าปรินุญยานิพนธ์ รวมทั้งกรรมการสอบเค้าโครงปรินุญยานิพนธ์ทุกท่าน ประกอบด้วย รศ.ดร.ศิวพร ลงยันต์ รศ. ดร.สุภาพนา ชลธนานา รถ และผศ.ดร.นลินา ประไพรัชสิทธิ์ ซึ่งได้อุทิศเวลาในการให้ข้อเสนอแนะ รวมทั้งให้ปรึกษาแนวทางในการปรับปรุงข้อมูลเนื้อหาในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องตามหลักวิชาการและมีข้อมูลที่ครบถ้วน จึงขอขอบพระคุณคณะกรรมการทุกท่านมา ณ ที่นี้ ที่ทำให้ขั้นตอนการสอบดำเนินไปได้ด้วยดี นอกจากนี้ขอขอบพระคุณบุคลากรภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่มีส่วนช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือในการวิจัย สถานที่ในการทำปฏิบัติการ เพื่อน ๆ นิสิตในระดับปริญญาโททั้งภายในหลักสูตรเดียวกันและต่างหลักสูตร ที่ช่วยให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย รวมทั้งเพื่อน ๆ และรุ่นน้องสมาชิกประจำห้องปฏิบัติการ 19 – 1105 ที่ช่วยเป็นเรี่ยวแรงในการออกปฏิบัติการภาคสนามในขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง หากไม่มีบุคคลทุกท่านที่กล่าวข้างต้นนี้ อาจทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ดำเนินไปอย่างล่าช้าและไม่สามารถบรรลุเป้าหมายที่คาดหวังไว้ได้ และข้าพเจ้าคาดหวังอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสร้างคุณูปการต่อวงการวิทยาศาสตร์และเป็นแรงบันดาลใจในการศึกษาทางด้านชีววิทยาในภายภาคหน้าสืบไป

พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
ขอบเขตการศึกษา.....	4
สมมติฐาน.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
1. หอยขม (pond snail, river snail)	5
2. อนุกรมวิธานของหอยขม	6
วงศ์ Viviparidae.....	6
วงศ์ย่อย Bellamyninae.....	7
สกุล <i>Filopaludina</i>	7
สกุลย่อย <i>Filopaludina</i>	7
สกุลย่อย <i>Siamopaludina</i>	8
3. สันฐานวิทยาของเปลือกหอยขม	8

4. โครงสร้างของหอยขม	16
4.1 โครงสร้างภายนอก.....	16
4.2 โครงสร้างภายใน	17
5. การศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> ในประเทศไทย.....	26
6. การศึกษาซิสเทมาติกส์	28
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	35
1. อุปกรณ์และสารเคมี	35
1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	35
1.2. สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยทางอนุชีววิทยา	35
2. วิธีดำเนินการทดลอง	36
2.1 จริยธรรมการในการใช้สัตว์ทดลอง.....	36
2.2 การเก็บตัวอย่างและข้อมูลภาคสนาม	36
2.3 การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและกายวิภาคของหอยขม.....	37
2.4 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)	39
2.5 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR)	40
2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล phylogenetic tree.....	42
บทที่ 4 ผลการวิจัย	35
4.1 ข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างหอยขม	35
4.2 ซิสเทมาติกส์ของหอยขม	51
4.3 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม.....	68
4.4 ผลการทดสอบโมเดลทางวิวัฒนาการ.....	69
4.5 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ.....	69

4.6 ผลการวิเคราะห์ขอบเขตของสปีชีส์.....	71
4.7 การประเมินการแบ่งแยกทางวิวัฒนาการระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ.....	76
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	76
บรรณานุกรม	82
ประวัติผู้เขียน.....	94



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ข้อมูลไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน <i>COI</i> และ <i>16S rRNA</i> ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยีน.....	41
ตาราง 2 องค์ประกอบและปริมาณที่ใช้ในการทำ PCR product 1 ปฏิบัติ.....	41
ตาราง 3 จำนวนสปีชีส์ ชับสปีชีส์ของหอยขม รหัสลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่าง ชื่อสถานที่เก็บตัวอย่าง และพิกัด GPS	40
ตาราง 4 ค่าทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยขม	43
ตาราง 5 ขนาดของผลิตภัณฑ์, % G+C content, ตำแหน่งที่ไม่มีความหลากหลาย (invariable sites), ตำแหน่งที่มีความหลากหลาย (variable sites) และตำแหน่งที่ให้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (parsimony informative).....	68
ตาราง 6 ค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรม (p – distance) ของยีน <i>16S rRNA/ COI</i> ระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเคลด.....	76

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของปลีอกหอยฝาเดียว.....	12
ภาพประกอบ 2 การจำแนกปลีอกหอยที่มีขนาดต่าง ๆ กัน.....	12
ภาพประกอบ 3 แสดงการขดวนของปลีอกหอยทรงกรวย a. ขนซ้าย (sinistral) b. ขนขวา (dextral).....	13
ภาพประกอบ 4 แสดงทิศทางและตำแหน่งของปลีอกหอยทรงกรวย	13
ภาพประกอบ 5 รูปร่างของปลีอกหอยชนิดต่าง ๆ.....	14
ภาพประกอบ 6 ขนาดมุมสไปร์ของปลีอกหอย.....	14
ภาพประกอบ 7 ลักษณะแผ่นปิดปากปลีอก (operculum).....	15
ภาพประกอบ 8 ลักษณะลวดลายบนปลีอกหอยฝาเดียว	15
ภาพประกอบ 9 โครงสร้างชั้นของปลีอกหอย.....	16
ภาพประกอบ 10 ลักษณะอวัยวะภายในของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i>	17
ภาพประกอบ 11 ภาพตัดตามยาวบริเวณส่วนหัวของหอย.....	19
ภาพประกอบ 12 ส่วนประกอบของแรดูลา (radula).....	19
ภาพประกอบ 13 ลักษณะแผ่นพื้นของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae จากกล้องจุลทรรศน์ SEM	20
ภาพประกอบ 14 การบิดตัวของอวัยวะภายในของหอย	21
ภาพประกอบ 15 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae	23
ภาพประกอบ 16 ระบบสืบพันธุ์เพศเมียของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae.....	23
ภาพประกอบ 17 ตัวอ่อนระยะโทรโคฟอร์ (trochophore larva) (A) และระยะเวลลิงเจอร์ (veliger larva) (B,C).....	24
ภาพประกอบ 18 การบิดตัวของเส้นประสาทเมื่อเกิด torsion.....	25

ภาพประกอบ 19 ไมโทคอนเดรียลจีโนม (mitochondrial genome).....	33
ภาพประกอบ 20 สถานที่เก็บตัวอย่างในลุ่มแม่น้ำต่าง ๆ ภายในจังหวัดสระแก้ว.....	37
ภาพประกอบ 21 ลักษณะของเปลือกแสดงความกว้าง (shell width: SW) และความสูงของเปลือก (shell height: SH) ของหอยขม	38
ภาพประกอบ 22 แผนที่การเก็บตัวอย่างหอยขม <i>Filopaludina</i> สีแดงสปีชีส์หอยขม	35
ภาพประกอบ 23 พื้นที่เก็บตัวอย่างบางส่วน; A = คลองลำสะโตน, B = คลองพระปรง, C = อ่างเก็บน้ำห้วยยาง, D = คลองกะวัดคลองใหญ่, E = อ่างเก็บน้ำท่ากระบาก, F = สะพานตำบลหนองแขว, G = ฝายคลองกุดตะนาวใหญ่, H = สะพานคลองพระสทิง	36
ภาพประกอบ 24 เปลือกของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> ; A = <i>Filopaludina javanica continentalis</i> (รหัสตัวอย่าง SMF 219253), B – F = <i>Filopaludina javanica javanica</i> (B = รหัสตัวอย่าง SMF 219255, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1028, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1029, E = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1031, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1034).....	37
ภาพประกอบ 25 เปลือกของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> ; A - F = <i>Filopaludina martensi martensi</i> (A = รหัสตัวอย่าง SMF 219259 , B = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1035, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1038, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1037, E = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1041, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1049).....	38
ภาพประกอบ 26 เปลือกของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> ; A - D = <i>Filopaludina polygramma</i> (A = รหัสตัวอย่าง SMF 219244, B = รหัสตัวอย่าง SMF 219245, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1050, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1053), E – F = <i>Filopaludina sumatrensis speciosa</i> (E = รหัสตัวอย่าง SMF 219244, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1059).....	39
ภาพประกอบ 27 ลักษณะฝาปิดเปลือก (operculum) ของหอยขมแต่ละสปีชีส์ (ซ้าย = ด้านนอก, ขวา = ด้านใน); A = <i>F. javanica</i> , B = <i>F. martensi martensi</i> , C = <i>F. polygramma</i> , D = <i>F. sumatrensis speciosa</i>	61
ภาพประกอบ 28 ลักษณะของโพรโทคอนขี้ในระยะตัวอ่อนของหอยขมสกุล <i>Filopaludina</i> ; A-B = <i>F. j. javanica</i> , C - D = <i>F. m. martensi</i> , E – F = <i>F. polygramma</i> , G-H = <i>F. sumatrensis speciosa</i> (scale bar = 100 µm (B, D, F, H), 200 µm (G) และ 500 µm (A, C, E) (BA = Band; CH = Chaetae; T = Thread; ST = Striae).....	62

ภาพประกอบ 29 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. javanica* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (BP = Brood pouch; CM = Columella muscle; DG = Digestive gland; E = Eye; F = Foot; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis) 63

ภาพประกอบ 30 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. m. martensi* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (AG = Albumin gland; BP = Brood pouch; CM = Columella muscle; CT = Ctenidium; DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; K = Kidney; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis) 64

ภาพประกอบ 31 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. polygramma* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (AG = Albumin gland; BP = Brood pouch; CM = Columella muscle DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; O = Operculum; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis) 65

ภาพประกอบ 32 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. s. speciosa* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (BP = Brood pouch; CM = Columella muscle DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; O = Operculum; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis) 66

ภาพประกอบ 33 ลักษณะโครงสร้างส่วนหัวของหอยขมแต่ละสปีชีส์ (ซ้าย = เพศเมีย, ขวา = เพศผู้); A – B = *F. javanica*, C – D = *F. martensi martensi*, E – F = *F. polygramma*, G – H = *F. sumatrensis speciosa*. (E = Eye; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle, P = Proboscis, R = Right tentacle) 67

ภาพประกอบ 34 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน 16S rRNA + COI สีแสดงถึงสปีชีส์ของหอยขม ตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap) และแถบดำด้านข้างแสดงจำนวนสปีชีส์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี PTP และ GMYC..... 72

ภาพประกอบ 35 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของ
หอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน *16S rRNA* +
COI สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเคลด ตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน
(posterior probability/ML bootstrap) และแถบดำด้านข้างแสดงจำนวนสปีชีส์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี
PTP และ GMYC..... 73

ภาพประกอบ 36 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์
ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน *16S rRNA* สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ
แต่ละเคลดตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap) 74

ภาพประกอบ 37 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์
ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน *COI* สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละ
เคลดตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap)..... 75

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

หอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae Gray, 1847 เป็นหอยน้ำจืดที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก ยกเว้นทวีปอเมริกาใต้ แอนตาร์กติกา นิวซีแลนด์ และเกาะมาดากัสการ์ มีการจัดจำแนกในระดับสกุลทั้งสิ้น 31 สกุล และในระดับสปีชีส์ 125 - 150 สปีชีส์ (Brown, 1994; Prashad, 1928; Strong et al., 2008) ขณะเดียวกันในประเทศไทยมีการรายงานการพบหอยในวงศ์นี้ทั้งสิ้น 8 สกุล ได้แก่ สกุล *Anulotaia* Brandt, 1968; *Cipangopaludina* Hannibal, 1912; *Eyriesia* P. Fischer, 1885; *Filopaludina* Habe, 1964; *Idiopoma* Pilsbry, 1901; *Mekongia* Crosse & Fischer, 1876; *Sinotaia* Haas, 1939 และ *Trochotaia* Brandt, 1974 โดยเฉพาะหอยสกุล *Filopaludina* หรือหอยขม (pond snail/ river snail) จัดเป็นหอยฝาเดียวน้ำจืดที่ได้รับความนิยมนำมาเป็นโมเดลสำหรับการศึกษาทางอนุกรมวิธาน เนื่องจากหอยขมมีขอบเขตการกระจายตัวกว้างครอบคลุมพื้นที่แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และอาจพบกระจายตัวไปถึงบริเวณจีนตอนใต้ (Bouchet et al., 2005; Brandt, 1974; Strong et al., 2008) ในทางการแพทย์ หอยขมจัดเป็นพาหะกึ่งกลางของพยาธิหลายชนิดที่ก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ (Chontanarith & Wongsawad, 2013; Ng et al., 2020; Sri-Aroon et al., 2005; ศิริพร บุตรนิล, 2557) ขณะเดียวกันทั้ง ในประเทศไทยมีการนำหอยขมหลายชนิดมาบริโภค เป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนที่สำคัญให้กับคนในท้องถิ่น (อรภา นาคจินดา et al., 2548) เนื่องจากหอยขมเป็นหอยน้ำจืดที่มีสามารถในการทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังมีอัตราในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว จัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปในประเทศไทย โดยเฉพาะหอยขมในสกุล *Filopaludina* เป็นที่นิยมในการค้าขาย ส่งออก แปรรูปเนื้อสด นำมาประกอบอาหารตามประเทศต่าง ๆ ในทวีปเอเชีย (Köhler et al., 2012) ภาคเกษตรกรรมหอยขมมีการรายงานว่าสามารถนำมาเป็นอาหารให้กับปลุสสัตว์ได้ (Brandt, 1974; จินดา เทียมเมธ, 2503) นอกจากนี้มีการรายงานว่าเปลือกของหอยขมมีสรรพคุณทางยาตามตำรับเครื่องยาสมุนไพรไทย ช่วยบรรเทาอาการของโรคในระบบทางเดินอาหาร ระบบขับถ่ายปัสสาวะ และช่วยบำรุงกระดูก (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2545) การจัดจำแนกและระบุสปีชีส์ของหอยขมโดยทั่วไปมักจะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกเป็นหลัก ได้แก่ รูปทรงเปลือก ลวดลาย สีเปลือก หรือการมีสันนูนของเปลือก โดยอาจต้องใช้ลักษณะโครงสร้างอื่นนำมาพิจารณาร่วมด้วย เช่น ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ โครงสร้างของระบบสืบพันธุ์ โพรโทคอนโซลในระยะตัวอ่อน ฯลฯ แต่เนื่องด้วยการจัดจำแนกหอยขมในระดับสปีชีส์โดยใช้

ลักษณะเปลือกมีความยาก อีกทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกมีข้อจำกัดในการจำแนกสปีชีส์ของหอย ในระยะตัวอ่อน (Upatham, 1983) ประกอบกับหอยขมยั้มนั้นเป็นหอยน้ำจืดที่พบความแปรผันของสัณฐานวิทยาของเปลือกมากเป็นชนิดหนึ่ง โดยลักษณะดังกล่าวสามารถพบได้ในหอยน้ำจืดหลายชนิด (Sengupta et al., 2009) อาจทำให้เกิดการจัดจำแนกและระบุสปีชีส์ที่ผิดพลาดโดยอาจพบสปีชีส์ซ้อนเร้น (cryptic species) ที่มีความแตกต่างของลักษณะทางพันธุกรรม แต่ถูกจัดจำแนกให้เป็นสปีชีส์เดียวกันเนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยายากที่เหมือนกัน ในขณะที่หอยบางชนิดมีการแสดงออกของความแปรผันของฟีโนไทป์ (phenotypic plasticity) ซึ่งได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศทำให้เกิดความแตกต่างด้านลักษณะสัณฐานวิทยาในหอยชนิดเดียวกันที่อยู่พื้นที่ต่างกัน (Andrade & Solferini, 2005; Liu et al., 2003; Pfenninger et al., 2003) ปัจจุบันเทคนิคทางอณูชีววิทยา จึงเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่ช่วยในจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตในระดับสปีชีส์ (Cross et al., 2006; Lopata et al., 2002) โดยเลือกศึกษาจากลำดับนิวคลีโอไทด์ มีข้อดีคือดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะ ซึ่งได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่น้อยมากและยังสามารถใช้ความแตกต่างของข้อมูลรหัสพันธุกรรมนำมาคำนวณเปรียบเทียบได้ ขณะที่ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยามักจะพบรูปแบบความแปรผันของฟีโนไทป์ อันมีผลมาจากปัจจัยแวดล้อมซึ่งใช้ในการประเมินความแตกต่างได้ยากกว่า และเทคนิคดังกล่าวยังสามารถแก้ปัญหาในการจำแนกชนิดหอยน้ำจืดในช่วงก่อนวัยเจริญพันธุ์ได้ (Caterino & Tishechkin, 2006; Pegg et al., 2006) การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นเครื่องมือหนึ่งที่สามารถช่วยในศึกษาชีสเทมาติกส์ของหอยขมได้เป็นอย่างดี โดยยีนที่นิยมใช้ในงานวิจัยทางด้านอณูชีววิทยาในปัจจุบัน ได้แก่ ยีน *16S ribosomal RNA* และ *Cytochrome C Oxidase Subunit 1 (COI)* ซึ่งเป็นยีนที่ได้มาจากไมโทคอนเดรียลจีโนม (mitochondrial DNA/ mt DNA) มีความแปรผันทางพันธุกรรม และไม่เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของยีน จึงมีความเหมาะสมสำหรับการจำแนกสิ่งมีชีวิตในระดับสปีชีส์ได้ดี เป็นที่นิยมใช้ในการศึกษารูปแบบการกระจายตัวทางพันธุศาสตร์และพันธุกรรมประชากร นอกจากนี้ยังสามารถใช้ยีนจากนิวเคลียส เช่น ยีน *28S ribosomal RNA* ในการศึกษาได้ด้วยเช่นกัน (ผ่องพรรณ ประสารก, 2562)

จังหวัดสระแก้ว ตั้งอยู่บริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย มีความอุดมสมบูรณ์ทางด้านทรัพยากรธรรมชาติและความหลากหลายทางชีวภาพมากเป็นแห่งหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากในหลายพื้นที่ของจังหวัดเป็นเขตพื้นที่รักษพันธุ์สัตว์ป่า เขตพื้นที่ป่าสงวนเพื่อการอนุรักษ์ รวมทั้งเขตพื้นที่ลุ่มน้ำ ซึ่งประกอบด้วย 2 ลุ่มน้ำที่สำคัญ ได้แก่ ลุ่มน้ำปราจีนบุรีและลุ่มน้ำโดนเลสาบ โดยลุ่มน้ำปราจีนบุรีซึ่งเป็นลำน้ำสาขาของแม่น้ำบางปะกง แบ่งเป็นลุ่มน้ำย่อย 2 สาขาใน

จังหวัดสระแก้ว ได้แก่ กลุ่มน้ำคลองพระปรัง ไหลผ่านไปยังตอนเหนือของอำเภอเมืองสระแก้วไปสู่อ่างเก็บน้ำพระปรัง และกลุ่มน้ำคลองพระสทิง ไหลผ่านอำเภอวังน้ำเย็น ลงไปยังตอนใต้ของจังหวัดสระแก้ว ไปสู่อ่างเก็บน้ำคลองพระสทิง ในส่วนของกลุ่มน้ำโตนเลสาบตั้งอยู่ทางด้านทิศตะวันออกของประเทศไทย มีพรมแดนติดกับประเทศกัมพูชา เป็นต้นกำเนิดของลำน้ำต่างๆ หลายสายสามารถแบ่งเป็นลุ่มน้ำย่อย 5 สายในจังหวัดสระแก้ว ได้แก่ ลุ่มน้ำห้วยลำสะโตน ลุ่มน้ำห้วยตะเคียน ลุ่มน้ำห้วยนางาม ลุ่มน้ำห้วยพรมโหด และกลุ่มน้ำคลองน้ำใส นอกจากนี้ยังมีแหล่งเก็บน้ำและลำน้ำสายอื่น ๆ กระจายอยู่ทั่วทั้งจังหวัด มีพื้นที่ลุ่มน้ำรวมประมาณ 6,596 ตารางกิโลเมตร (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน, 2562) ซึ่งเป็นระบบนิเวศที่สำคัญอันเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำจำนวนมาก ปัจจุบันประชากรสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติโดยเฉพาะหอยน้ำจืดมีจำนวนและความหลากหลายทางชีวภาพที่ลดลงเนื่องจากปัญหาด้านการจัดสรรพื้นที่ซึ่งทำให้แม่น้ำแต่ละสายแยกขาดจากกัน ภัยแล้ง การเปลี่ยนแปลงที่อยู่อาศัย การสร้างเขื่อน มลพิษทางน้ำและอากาศ การใช้สารเคมี และการนำเข้าชนิดพันธุ์ต่างถิ่น ที่เรียกว่าชนิดพันธุ์รุกราน (invasive species) หรือสปีชีส์ต่างถิ่น (alien species) เช่น หอยเชอรี่ ปลาซักเกอร์ ซึ่งมีความสามารถในการแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วและคุกคามชนิดพันธุ์ของหอยน้ำจืดท้องถิ่น ทำให้เกิดการลดลงของจำนวนของหอยน้ำจืดได้อย่างมีนัยสำคัญ (Hayes et al., 2008; Lv et al., 2013) เนื่องด้วยความรู้และฐานข้อมูลในเรื่องซิสเทมาติกส์และอนุกรมวิธานของหอยขมในประเทศไทยยังมีการศึกษาน้อยและมีข้อมูลที่จำกัด โดยเฉพาะในจังหวัดสระแก้วที่พบปัญหาต่าง ๆ ด้านแหล่งน้ำซึ่งส่งผลกระทบต่อจำนวนประชากรและความหลากหลายของหอยขมดังที่กล่าวข้างต้น จึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติม การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ทราบถึงข้อมูลความหลากหลายของสปีชีส์ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ รวมถึงการกระจายตัวของหอยขมในจังหวัดสระแก้ว เป็นองค์ความรู้ที่สำคัญเพื่อนำใช้ในการจัดการและการอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ รวมทั้งการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรของหอยน้ำจืดในจังหวัดสระแก้วอย่างยั่งยืน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายของสปีชีส์และการกระจายตัวของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว
2. เพื่อศึกษาซิสเทมาติกส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว จากฐานฐานวิทยา และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

ขอบเขตการศึกษา

สุ่มเก็บตัวอย่างหอยขมด้วยวิธี hand picking ตามแนวลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้ว ตรวจสอบสปีชีส์ของตัวอย่างหอยขม วัดค่าทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ ทำการรักษาสภาพตัวอย่างเพื่อใช้ในศึกษาทางอนุชีววิทยา วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมในกลุ่มน้ำต่าง ๆ ของจังหวัดสระแก้ว

สมมติฐาน

การใช้ข้อมูลสัณฐานวิทยาคงจะเป็นเครื่องมือที่สามารถนำมาช่วยในการจัดจำแนกและระบุสปีชีส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในกลุ่มน้ำต่าง ๆ ของจังหวัดสระแก้วได้ชัดเจน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ได้ข้อมูลความหลากหลายของสปีชีส์ การกระจายตัวและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมในจังหวัดสระแก้ว ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลที่สำคัญสำหรับการจัดการทรัพยากรธรรมชาติของจังหวัดสระแก้วในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. หอยขม (pond snail, river snail)

หอยขม เป็นหอยน้ำจืดฝาเดียว มีชื่อเรียกท้องถิ่นที่หลากหลาย ได้แก่ หอยจูป หอยจับ หอยขมลาย หอยลาย หอยทราย หอยหวาย นอกจากนี้ยังมีชื่อเฉพาะตามแหล่งที่อยู่อาศัย เช่น หอยขมขวา *Filopaludina javanica* (von dem Busch, 1844) และหอยขมแมกก *Filopaludina maekoki* (Brandt, 1968) (Nabhitabhata, 2009) เป็นหอยขนาดกลาง มีเปลือกเกลียวกลมยอแหลม สามารถดำรงชีวิตได้ในระบบนิเวศน้ำจืดที่หลากหลาย เช่น แม่น้ำ คลอง ลำธาร ห้วย คู หนอง บึง น้ำตก ทะเลสาบ รวมถึงพื้นที่ชุ่มน้ำ ที่มีพื้นดินหรือโคลนตม ที่ระดับน้ำตั้งแต่ 10 เซนติเมตร – 2 เมตร มักพบอยู่นิ่งหรือเคลื่อนที่ช้า ๆ หากินในเวลากลางคืน มีถิ่นอาศัยเฉพาะในแต่ละชนิด เช่น ชอบเกาะอยู่ตามตลิ่ง ก้อนหิน กิ่งไม้ ตอไม้ และพืชน้ำ มีความสามารถในการเอาตัวรอดจากความแห้งแล้ง โดยอาศัยการฝังตัวอยู่ใต้โคลน หรืออาศัยเมือกปิดรอบฝาปิดเปลือก เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ ส่วนใหญ่ออกลูกเป็นไข่ที่ฟักภายในร่างกายของเพศเมีย (ovoviviparity) ลักษณะดังกล่าวจึงถูกนำมาตั้งเป็นชื่อวงศ์ Viviparidae Gray, 1847 หรือวงศ์หอยขม ในทางการแพทย์และสาธารณสุข หอยขมเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิหลายชนิดที่ก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ ได้แก่ พยาธิตัวกลม (nematode) เช่น *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) ซึ่งก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Chang et al., 1968) และพยาธิใบไม้ (trematode) เช่น พยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดกลาง ได้แก่ *Echinostoma malayanum* Lane, 1915, *E. revolutum* (Froelich, 1802), *E. ilocanum* (Garrison, 1908) และ *Episthmium caninum* (Verma, 1935) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ในลำไส้ในคน (Echinostomiasis) ในกรณีที่มีการทำมาบริโภคขณะที่ปรุงไม่สุก (Chontanarith & Wongsawad, 2013; Noikong & Wongsawad, 2014; Sri-Aroon et al., 2005; ศิริพร บุตรนิล, 2557) ในทางนิเวศวิทยาหอยขม มีรูปแบบการดำรงชีวิตโดยการกินพืช สาหร่าย รวมทั้งเศษซากอินทรีย์เป็นอาหาร จัดเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศน้ำจืด สามารถควบคุมปริมาณมวลชีวภาพของผู้ผลิตในแหล่งน้ำไม่ให้มีจำนวนมากเกินไปจนเกิดภาวะที่ปริมาณพืชน้ำและสาหร่ายมีจำนวนมากกว่ำปกติ (algal bloom) ซึ่งอาจนำไปสู่ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) (Johnson et al., 2009) หอยขมมีรูปแบบการกรองกินอาหารผ่านน้ำ (filter feeder) และมีการเคลื่อนที่ช้า ไม่มีการอพยพย้ายถิ่น จึงสามารถใช้ในการบ่งบอกการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำได้ เนื่องจากโลหะหนัก เช่นปรอท (Hg) ทำให้เกิดการเสียสภาพ

ของโปรตีนในบริเวณเนื้อเยื่อเท้า เหงือก และระบบย่อยอาหารของหอย ตะกั่ว (Pb) และแคดเมียม (Cd) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและสูญหายของลำดับคลีโอไทด์ที่มีความสำคัญ (genetic erosion) หรือทองแดง (Cu) ส่งผลต่อพัฒนาการของเอ็มบริโอ (Neeratanaphan et al., 2014; Palasun & Intanai, 2015; Piyatiratitivorakul & Boonchamoi, 2008) หอยขมนั้นยังสามารถทำหน้าที่ในการควบคุมจำนวนของสิ่งมีชีวิตอื่น (biological control) โดยมีรายงานศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างหอยขม *Filopaludina martensi martensi* และหอยขมจิ๋ว *Bithynia siamensis goniomphalos* โดยหอยขมจิ๋วเป็นพาหะของพยาธิใบไม้ในตับ *Opisthorchis viverrini* จากการวิจัยพบว่าหอยขม *F. m. martensi* มีการปล่อยสารเคมีออกมาทางเมือกในระหว่างการคืบคลาน (mucus trail) และการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย ซึ่งมีผลในการขัดขวางการเจริญเติบโตของหอยขมจิ๋ว (Wang et al., 2020) นอกจากนี้มีการรายงานว่าหอยน้ำจืดวงศ์ Viviparidae มีความสามารถในการทนต่อปริมาณความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำได้ที่ระดับปานกลาง โดยปริมาณสารอินทรีย์ในระดับที่สูงมากเกินไปจะส่งผลทำให้หอยไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ ดังนั้นหอยขมจึงจัดเป็นสัตว์หน้าดินที่มีความสำคัญในการเป็นดัชนีวัดคุณภาพของระบบนิเวศน้ำจืดได้ (Brown, 1994; Gautam et al., 2015; Jakubik, 2012)

2. อนุกรมวิธานของหอยขม

หอยขม มีการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานดังนี้ (Bouchet et al., 2005)

Phylum Mollusca Cuvier, 1795

Class Gastropoda Cuvier, 1795

Subclass Caenogastropoda Cox, 1960

Infraclass Prosobranchia Edwards, 1848

Order Architaenioglossa Haller, 1890

Superfamily Viviparoidea Gray, 1847

Family Viviparidae Gray, 1874

Subfamily Bellamyinae Rohrbach, 1937

Genus *Filopaludina* Habe, 1964

วงศ์ Viviparidae

Viviparidae Gray, 1874 หรือวงศ์หอยขม มีสกุลต้นแบบ (type genus) คือ *Viviparus* Monfort, 1810 โดยมีการจัดจำแนกเป็นวงศ์ย่อย (subfamilies) ทั้งหมด 3 วงศ์ย่อย ได้แก่

Viviparinae Gray, 1847 Bellamyinae Rohrbach, 1937 และ Lioplacinae Gill, 1863 (Bouchet et al., 2005; Van Bocxlaer & Strong, 2016) มีลักษณะโดยทั่วไปเป็นหอยน้ำจืดฝาเดียวที่มีการแยกเพศ ออกลูกเป็นไข่ภายในตัว (ovoviviparous) และมีความแตกต่างระหว่างเพศ (sexual dimorphism) การจัดจำแนกอนุกรมวิธานของหอยในวงศ์นี้ใช้ลักษณะวิทยาของเปลือกเป็นหลัก

วงศ์ย่อย Bellamyninae

Bellamyinae Rohrbach, 1937 เป็นวงศ์ย่อยของหอยฝาเดียวน้ำจืดที่พบในประเทศไทย มีสกุลต้นแบบ (type genus) คือสกุล *Bellamyia* Jousseaume, 1886 และประกอบไปด้วยสกุลต่างๆ อีก 16 สกุล ดังนี้ 1) *Augulyagra* Rao, 1931; 2) *Anularya* Zhang & Chen, 2015; 3) *Anulotaia* Brandt, 1968; 4) *Cipangopaludina* Hannibal, 1912; 5) *Eyriesia* P. Fischer, 1885; 6) *Filopaludina* Habe, 1964; 7) *Idiopoma* Pilsbry, 1901; 8) *Larina* A. Adams, 1855; 9) *Margaya* G. Nevill, 1877; 10) *Mekongia* Crosse & Fischer, 1876; 11) *Neothauma* E. A. Smith, 1880; 12) *Notopala* Cotton, 1935; 13) *Sinotaia* Haas, 1939; 14) *Taia* Annadale, 1918; 15) *Torotaia* Haas, 1939 และ 16) *Trochotaia* Brandt, 1974

สกุล *Filopaludina*

Filopaludina Habe, 1964 มีชนิดต้นแบบ (type species) คือ *Filopaludina bengalensis* (Larmark, 1822) หอยกลุ่มนี้มีเปลือกขนาดกลางไปถึงใหญ่ เปลือกหนา, แข็ง เปลือกมีสีเขียว ซึ่งอาจพบลายแถบสีน้ำตาลตามเกลียวของเปลือก บางชนิดอาจมีเปลือกสีน้ำตาลหรือดำ ผิวด้านในเป็นมัน ยกเว้นบริเวณที่เป็นรอยเกาะของกล้ามเนื้อ มีการกระจายตัวในแถบเอเชียใต้ เอเชียตะวันออก และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถจำแนกเป็น 2 สกุลย่อย (subgenera) ประกอบด้วยสกุลย่อย *Filopaludina* Habe, 1964 และ *Siamopaludina* Brandt, 1968

สกุลย่อย *Filopaludina*

Filopaludina (*Filopaludina*) Habe, 1964 มีเปลือกขนาดเล็กมีความบาง มีสีเขียว และพบลายแถบสีน้ำตาลกระจายอยู่บริเวณเปลือกครึ่งบน (upper whorl) มีฝาปิดเปลือกบาง ผิวด้านในของเปลือกเรียบ มีการกระจายตัวในเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จากการศึกษาทางอนุกรมวิธานโดย Brandt (1974) พบ 4 สปีชีส์ และ 2 ซับสปีชีส์ ประกอบด้วย

1) *Filopaludina* (*Filopaludina*) *filosa* (Reeve, 1863)

2) *Filopaludina* (*Filopaludina*) *sumatrensis* (Dunker, 1852)

Filopaludina (Filopaludina) sumatrensis speciosa (Deshayes, 1876)

Filopaludina (Filopaludina) sumatrensis peninsularis Brandt, 1974

3) *Filopaludina (Filopaludina) polygramma* (E. von Martens, 1860)

4) *Filopaludina (Filopaludina) doliaris* (Gould, 1844)

สกุลย่อย *Siamopaludina*

Filopaludina (Siamopaludina) Brant, 1968 มีเปลือกที่หนากว่าและสีเปลือกที่เข้มกว่า หอยขมสกุลย่อย *Filopaludina (Filopaludina)* ที่เปลือกพบรอยสันนูนยื่นออกมา อาจพบหรือไม่พบลายแถบบริเวณวงเปลือก มีการกระจายตัวในประเทศพม่า เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เกาะชวา เกาะสุมาตรา ฟิลิปปินส์ ประเทศจีนตอนใต้ และไต้หวัน จัดเป็นหอยขมที่แพร่หลายอย่างมากในประเทศไทย จากการศึกษาทางอนุกรมวิธานโดย Brandt (1974) พบ 3 สปีชีส์ และ 5 ซับสปีชีส์ ประกอบด้วย

1) *Filopaludina (Siamopaludina) javanica* (von dem Busch, 1844)

Filopaludina (Siamopaludina) javanica continentalis (Brandt, 1974)

Filopaludina (Siamopaludina) javanica javanica (von dem Busch, 1844)

2) *Filopaludina (Siamopaludina) martensi* (Frauenfeld, 1865) (type species)

Filopaludina (Siamopaludina) martensi cambodjensis (Mabille & Le Mesle, 1866)

Filopaludina (Siamopaludina) martensi martensi (Frauenfeld, 1865)

Filopaludina (Siamopaludina) martensi munensis (Brandt, 1974)

3) *Filopaludina (Siamopaludina) maekoki* (Brandt, 1968)

3. สันฐานวิทยาของเปลือกหอยขม

ลักษณะสันฐานวิทยาของเปลือกหอยสามารถนำมาใช้จัดจำแนกหอยฝาเดียวได้ในระดับวงศ์ (family) สกุล (genus) และสปีชีส์ (species) โดยใช้ลักษณะต่าง ๆ ของเปลือก ได้แก่ ขนาดรูปร่างของเปลือก รวมทั้งส่วนประกอบของเปลือก ได้แก่ ลักษณะของเวิร์ล (whorl) การพบหรือไม่พบสะดือหอย ที่เรียกว่าอัมบิลิคัส (umbilicus) ลักษณะของแกนเปลือกหรือคอลัมเมลลา (columella) ลักษณะของขอบปากเปลือก (lip) ลักษณะของปากเปลือก (aperture) การเปิดของช่องด้านขวา (dextral) หรือด้านซ้าย (sinistral) การมีหรือไม่มีฝาปิดเปลือก (operculum) (Brandt, 1974; สุชาติ อุปลัมภ์ et al., 2538) ลักษณะทั่วไปของเปลือกขมจะเป็นทรงกรวย (conic) ยอด

แหลม ภายในเปลือกกลาง มีตัวหอยบรรจุอยู่ ส่วนหัวและแผ่นเท้า (head-foot) อยู่ภายในเปลือกวงสุดท้าย เปลือกจึงเป็นโครงสร้างที่ช่วยให้หอยหดเข้าไปหลบในเปลือกเพื่อป้องกันอันตรายจากภายนอกได้ โดยส่วนประกอบต่าง ๆ ของเปลือก ประกอบด้วย (ภาพประกอบ 1)

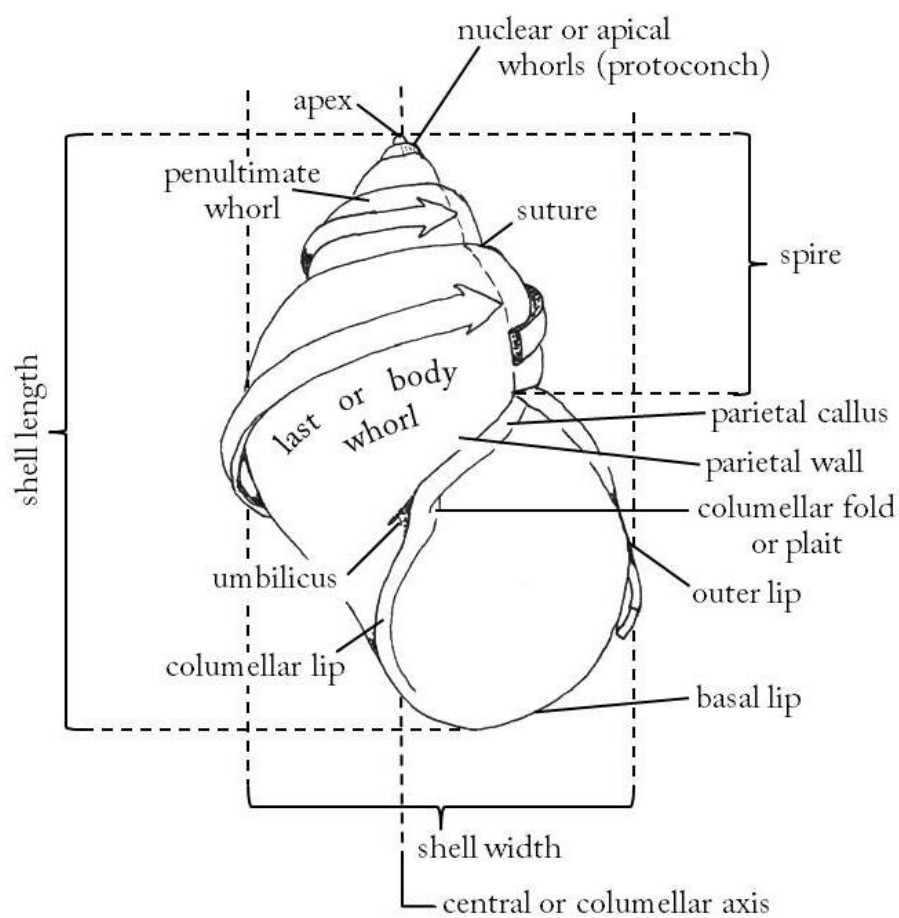
1. ส่วนยอดเปลือก (apex) ลักษณะแหลม มีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนของเปลือกทั้งหมด ในหอยบางสปีชีส์อาจพบการฝังร่อนของโครงสร้างนี้
2. เปลือกมีการขดวนเป็นชั้น ๆ แต่ละชั้นเรียกว่า วงเปลือก (whorl)
3. วงที่สร้างก่อนเป็นส่วนแรกตั้งแต่ยังอยู่ในระยะตัวอ่อน เรียกว่านิวเคลียร์เวิร์ล (nuclear whorl) หรือเอพิคัลเวิร์ล (apical whorl) หรือโพรโทคอนช์ (protoconch) มีลวดลายแตกต่างกันตามแต่ละสปีชีส์
4. ส่วนเปลือกชั้นถัดลงมาจะสร้างขึ้นมาภายหลังการเจริญเติบโตของหอย เรียกว่า เทเลคอนช์ (teleconch)
5. วงรองสุดท้าย (penultimate whorl) เป็นวงเปลือกชั้นรองสุดท้ายและมักเป็นที่อยู่ของตัวหอยขณะที่ขดตัว
6. แนวแกนของเปลือก อยู่ตรงส่วนกลางของการขดวนเปลือก เป็นโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายแท่ง เรียกว่า คอลูเมลลา (columella) โดยคอลูเมลลา อาจพบว่ามีรอยพับ (columella fold) บริเวณปากเปลือก
7. บริเวณตอนปลายของคอลูเมลลา บริเวณใกล้ปากเปลือกอาจพบรู เรียกว่า สะดือเปลือก หรืออัมบิลิคัส (umbilicus)
8. ส่วนบนตั้งแต่ปลายยอดสุด จนถึงวงเปลือกของสุดท้าย เรียกว่า สไปร์ (spire/ spire whorl) มีจำนวนวงประมาณ 3 - 4 วง
9. วงสุดท้ายของเปลือกเรียกว่า บอดี้เวิร์ล (body whorl) อยู่ล่างสุด มีขนาดใหญ่และกว้างกว่าวงอื่น
10. รอยต่อของแต่ละเวิร์ลเรียกว่า ซูเชอร์ (suture)
11. ปากเปลือก (aperture) เป็นช่องเปิดให้หอยสามารถใช้เท้าเคลื้อที่ออกมาหรือหดเข้าไปในเปลือก มีความกว้างและรูปร่างที่แตกต่างกันระหว่างสปีชีส์
12. บริเวณใกล้ปากเปลือกมีขอบปากเปลือก ประกอบด้วยแต่ละด้าน โดยมีชื่อเรียกต่าง ๆ ได้แก่ ขอบปากเปลือกที่ติดกับบริเวณสุดท้ายของบอดี้เวิร์ลเรียกว่า ขอบปากเปลือกด้านนอก (outer lip/ peristome) ขอบปากเปลือกที่บริเวณฐานของเปลือกเรียกว่าขอบปากเปลือกส่วนฐาน (basal lip) และขอบปากเปลือกบริเวณส่วนที่เหลืออยู่ในแนวแกนของเปลือกเรียกว่าขอบปาก

เปลือกด้านใน (inner lip) ประกอบด้วย ขอบปากเปลือกคอกลมเมลลา (columellar lip/ columella fold) และขอบปากเปลือกพาไรเอทัล (parietal lip)

13. ฝาปิดเปลือก (operculum) เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการปิดส่วนของปากเปลือก มีลักษณะเป็นแผ่น ส่วนมากเป็นสารพวกไคติน (chitin) ช่วยปกป้องตัวหอยให้ลดการสูญเสียน้ำ

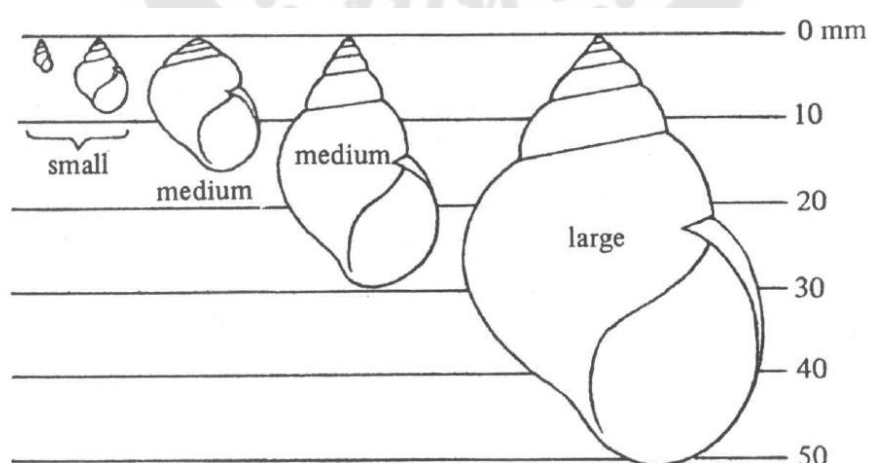
เปลือกของหอยหอยจัดเป็นเปลือกขนาดกลาง (ขนาดประมาณ 10 – 30 มิลลิเมตร) ไปจนถึงขนาดใหญ่ (ขนาดมากกว่า 30 มิลลิเมตร) (มุสตี ศรีอรุณ, 2547) (ภาพประกอบ 2) การขดวนของเปลือกหอยหอย สืบเนื่องได้จากการหงายส่วนปากเปลือกหอยขึ้น ให้ส่วนยอดชี้ไปทางทิศตรงข้ามกับผู้สังเกต หงายส่วนปากเปลือกขึ้น แท่งคอลูเมลลาตั้งฉากกับผู้สังเกต จะพบว่าปากเปลือกหอยหันไปขวา แนวการขดวนของเปลือกเป็นเกลียวเวียนขวาตามเข็มนาฬิกา (dextral) (ภาพประกอบ 3) ตำแหน่งและทิศทางของเปลือกหอย พิจารณาเปลือกทรงกรวย โดยให้ยอดเปลือกหันออกจากตัวผู้สังเกต แนวคอลูเมลลาตั้งฉากกับผู้สังเกต (ส่วนยอดเปลือกจะเป็นส่วนท้ายสุด ส่วนปากเปลือกเป็นส่วนหน้าสุด) กำหนดให้เปลือกหอยด้านที่อยู่ซ้ายมือ (ของผู้สังเกต) เป็นเปลือกด้านซ้าย ด้านขวามือเป็นเปลือกด้านขวา เปลือกด้านที่มีปากเปลือกเป็นด้านล่าง ด้านตรงข้ามเป็นเปลือกด้านบน (ภาพประกอบ 4) รูปร่างเปลือกหอยหอยโดยทั่วไปมีเปลือกเป็นทรงกรวยรูปไข่ (ovately conic) ยอดแหลมขดเป็นวง หรืออาจพบรูปทรงอื่น ๆ ได้แก่ ทรงกรวยกลม (globosely conic) หรือรูปทรงค่อนข้างกลมป้อม (sub-globose) ซึ่งรูปทรงของเปลือกหอยจะพิจารณาจากมุมสไปร์ (spire angle) ซึ่งเป็นมุมยอดเปลือก (ภาพประกอบ 5, 6) ลักษณะของซูเชอร์และสไปร์เวอร์ลนั้นสามารถนำมาใช้ในการจำแนกสปีชีส์หอยหอยได้ เช่น สไปร์เวอร์ลโค้ง (convex) สไปร์เวอร์ลยกมุมเป็นสัน (carina, keel) สไปร์เวอร์ลมี carina ยกมุมสูงใกล้แนวซูเชอร์ เรียกส่วนเปลือกบริเวณนั้นว่า shoulder หรือการมีร่องระหว่างวงลึก (indented suture) อัมบิลิคัสเป็นรอยบุ๋มรอบคอลูเมลลา เกิดมาจากการขดวนของเวอร์ล โดยเปลือกหอยมีเปลือกทั้งแบบที่มีอัมบิลิคัส เรียกว่า เพอร์ฟอเรต (perforate) หรืออัมบิลิเคต (umbilicate) และแบบที่ไม่มีอัมบิลิคัส เรียกว่าอิมเพอร์ฟอเรต (imperforate) หรืออนอนอัมบิลิเคต (non-umbilicate) ลักษณะของแผ่นปากเปลือกหรือโอเพอร์คิวลัม ใช้ในการจำแนกได้เช่นกัน อาจเป็นรูปรีหรือกลม (ประกอบด้วยสาร conchiolin) ด้านในแผ่นปิดเปลือกอาจเป็นมันเงา หรือพบความหนา-บางแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ (ประกอบด้วยสารหินปูน) โดยในหอยหอยจะมีลายด้านนอก operculum รูปแบบคอนเซนตริก (concentric) ลักษณะเป็นวงเดี่ยวซ้อนกันเป็นชั้น ๆ แสดงการเจริญเติบโต และยังมีความแตกต่างของรอยกล้ำเนื้อยึดฝาปิดเปลือกที่สามารถนำมาพิจารณาร่วมด้วย (ภาพประกอบ 7) นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบต่าง ได้แก่ ผิวเปลือกซึ่งมีลวดลายแตกต่างกันไป เส้นและแนว ต่าง ๆ ของเปลือกหอย เช่น transvers

หรือ growth line เป็นเส้นที่อยู่ในแนวระนาบเดียวกับคอหลุมเมลา, spiral line เป็นเส้นในแนวนอน ระนาบเดียวกับแนวขดวน รวมทั้งลักษณะพื้นผิวของเปลือก เช่น สันนูน ตุ่ม รอยย่น รอยปุ่ม หนาม สีเปลือกที่แตกต่างกัน รวมทั้งลวดลายบนเปลือก มีลักษณะเป็นแถบ (band) (ภาพประกอบ 8) ซึ่งสามารถใช้ในการจำแนกหอยขมในระดับสปีชีส์ได้ (Annandale, 1924; Tian et al., 2013; สุชาติ อุปถัมภ์ et al., 2538) โครงสร้างเปลือกหอยส่วนใหญ่ประกอบด้วยหินปูน (calcium carbonate) อะราโกไนต์ (aragonite) หรือแคลไซต์ (calcite) อาจพบอะราโกไนต์และแคลไซต์ปะปนกัน ในกลุ่มหอยบก จะพบสารจำพวกแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) ผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนต จะแทรกอยู่ในสารประกอบควิโนนแทนด์โปรตีน (quinone-tanned protein) เรียกคอนไคโอลินหรือคอนคิน (conchiolin, conchin) สารประกอบนี้มีประมาณ 1 ใน 3 ของน้ำหนักเปลือก และอาจพบสารเคมีประเภทซิลิกา (silica) อะลูมินา (alumina) และออกไซด์ (oxide) ของเหล็กปนในเปลือกหอยเล็กน้อยได้ โดยทั่วไปเปลือกหอยฝาเดียวแบ่งออกได้เป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นผิวนอก (periostracum) เป็นชั้นที่อยู่ภายนอกสุด มีสารอินทรีย์จำพวกโปรตีนคอนไคโอลิน (conchiolin) เป็นองค์ประกอบ เป็นส่วนใหญ่ เป็นชั้นที่บางและหลุดได้ง่าย เป็นมันเงาเหมือนไขสัตว์ มีความหนาบางแตกต่างกันในหอยแต่ละกลุ่ม ทำหน้าที่ป้องกันสารเคมีหรือปฏิกิริยาเคมีจากสภาพแวดล้อม อาจพบหนามหรือขนปกคลุมชั้นนี้ได้ ในหอยบางชนิด ชั้นกลาง (prismatic) อยู่ชั้นกลางของเปลือก มีความหนาและแข็งที่สุด ส่วนใหญ่ประกอบด้วยผลึกของสารประกอบแคลเซียม ในรูปแคลไซต์ (calcite) หรืออะราโกไนต์ (aragonite) พบอยู่ตามแนวขอบแมนเทิล อาจพบแร่ธาตุอื่น ๆ ปะปนอยู่ด้วย และชั้นในสุด เรียกว่าชั้นมุก (nacreous) ประกอบด้วยผลึกของสารประกอบแคลเซียม บางและใส เป็นส่วนที่ถูกสร้างจากแมนเทิล มีความเงาคล้ายมุก และมีความเปราะบางมาก (ภาพประกอบ 9) (Commission, 2006)



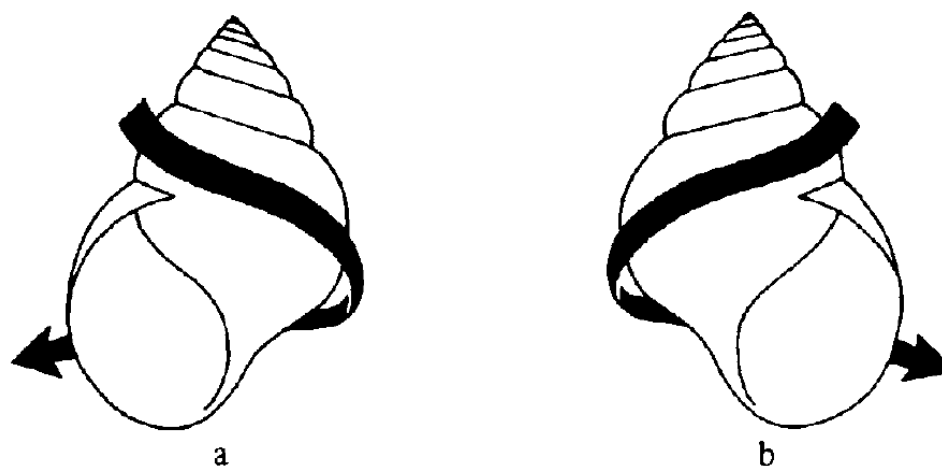
ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของเปลือกหอยฝาเดียว

ที่มา: (Burch, 1982)



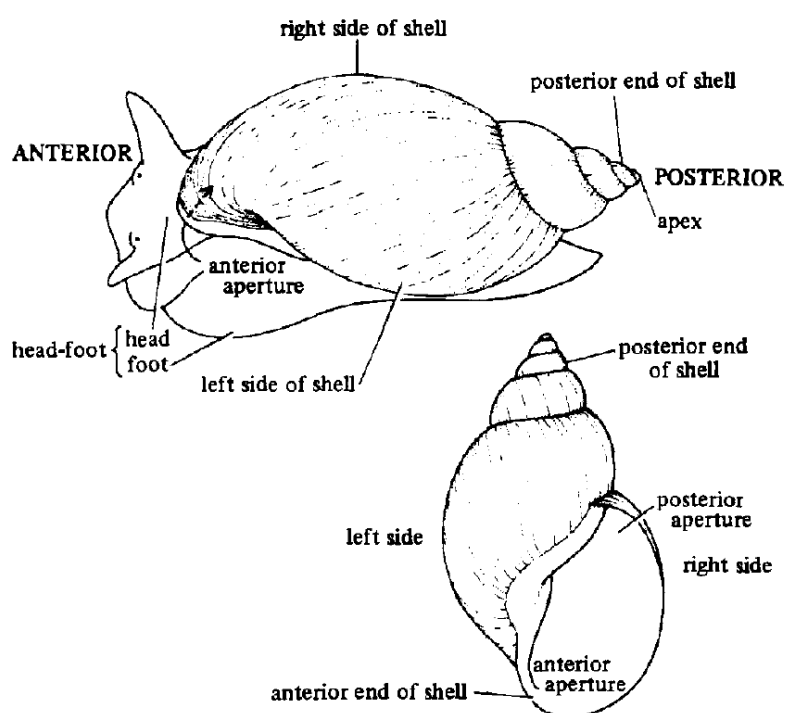
ภาพประกอบ 2 การจำแนกเปลือกหอยที่มีขนาดต่าง ๆ กัน

ที่มา: (Burch, 1982)



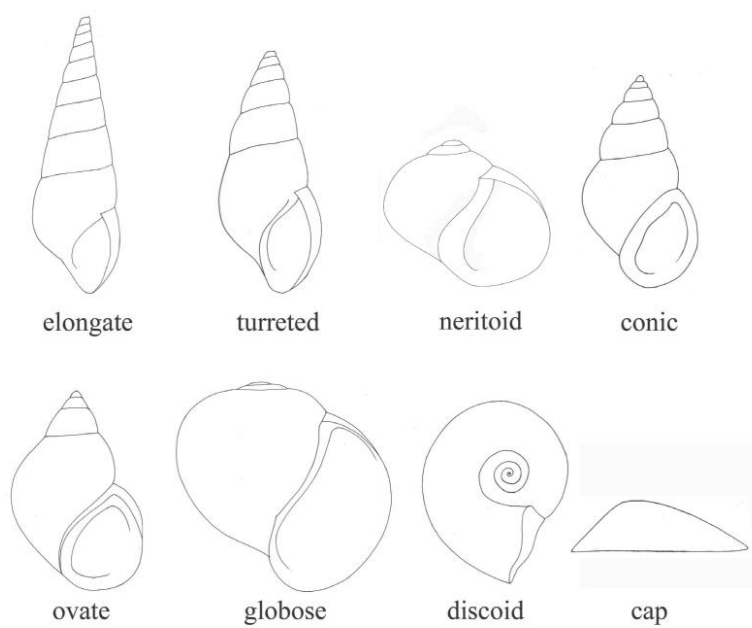
ภาพประกอบ 3 แสดงการขดวนของเปลือกหอยทรงกรวย a. วนซ้าย (sinistral) b. วนขวา (dextral)

ที่มา: (Burch & Tottenham, 1989)



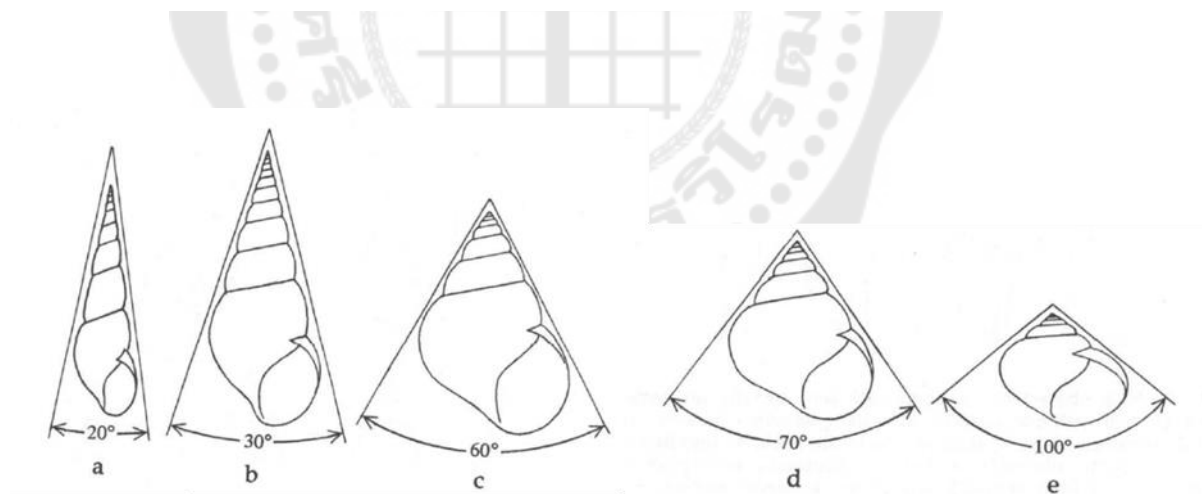
ภาพประกอบ 4 แสดงทิศทางและตำแหน่งของเปลือกหอยทรงกรวย

ที่มา: (Burch & Tottenham, 1989)



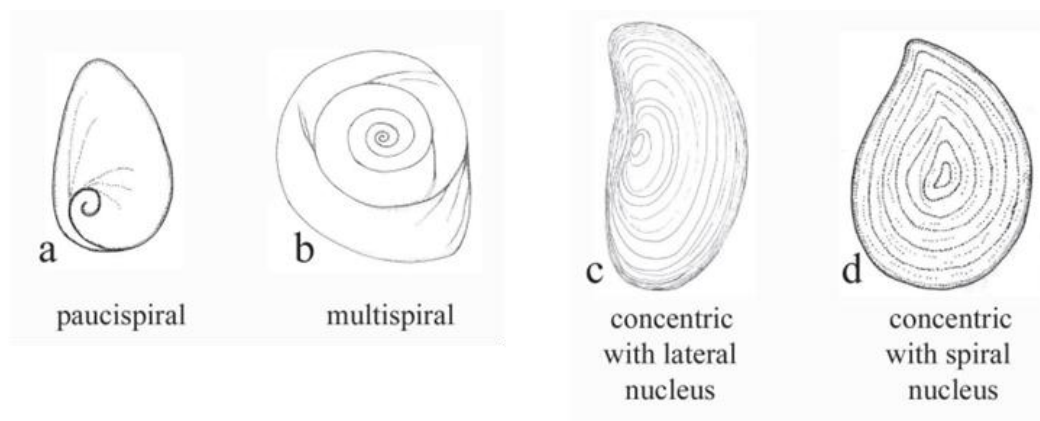
ภาพประกอบ 5 รูปร่างของเปลือกหอยชนิดต่าง ๆ

ที่มา: (Commission, 2006)



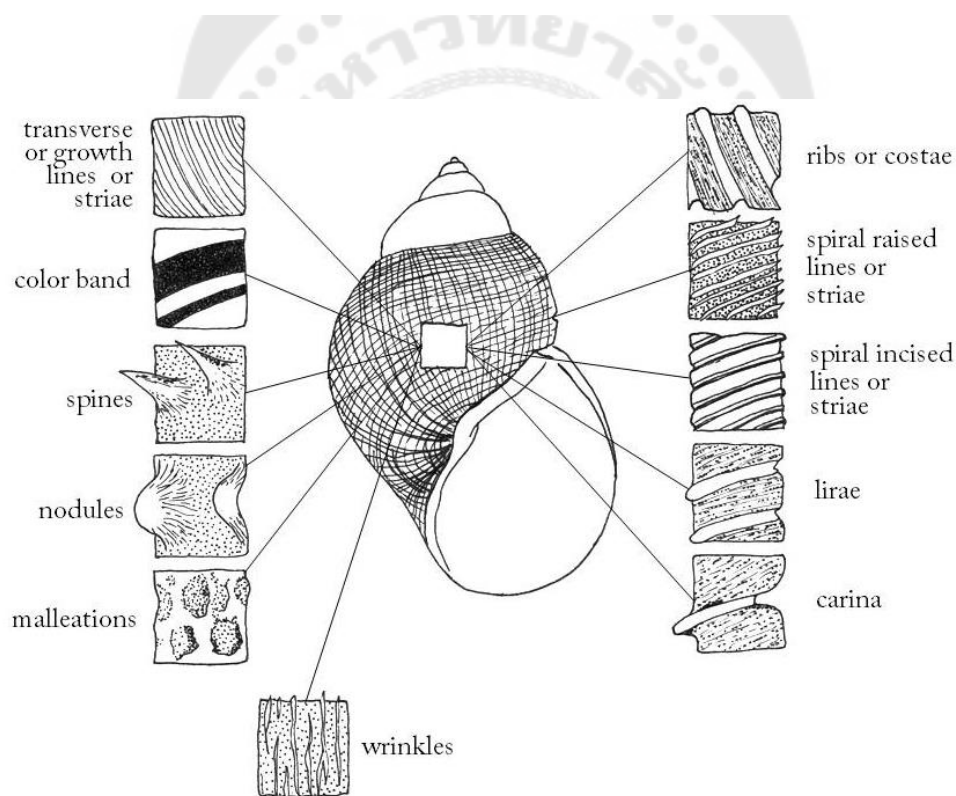
ภาพประกอบ 6 ขนาดมุมสไปร์ซของเปลือกหอย

ที่มา: (Burch & Tottenham, 1989)



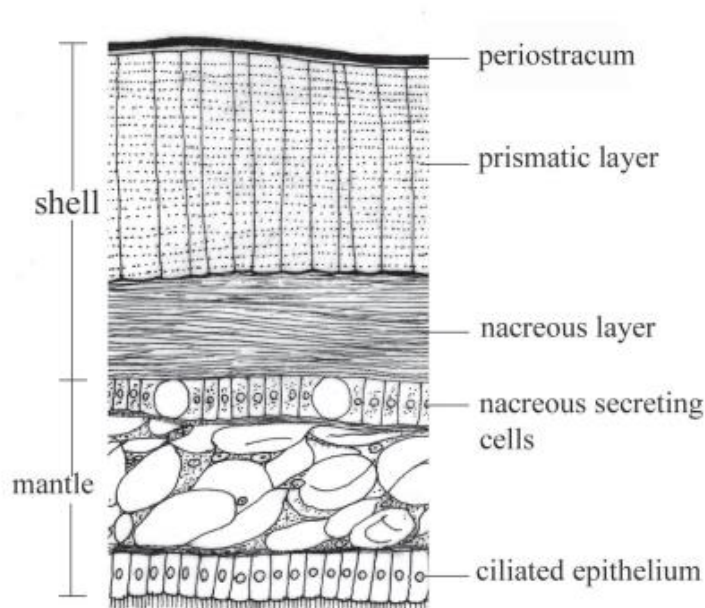
ภาพประกอบ 7 ลักษณะแผ่นปิดปากเปลือก (operculum)

ที่มา: (Commission, 2006)



ภาพประกอบ 8 ลักษณะลวดลายบนเปลือกหอยฝาเดียว

ที่มา: (Burch, 1982)



ภาพประกอบ 9 โครงสร้างชั้นของเปลือกหอย

ที่มา: (Commission, 2006)

4. โครงสร้างของหอยขม

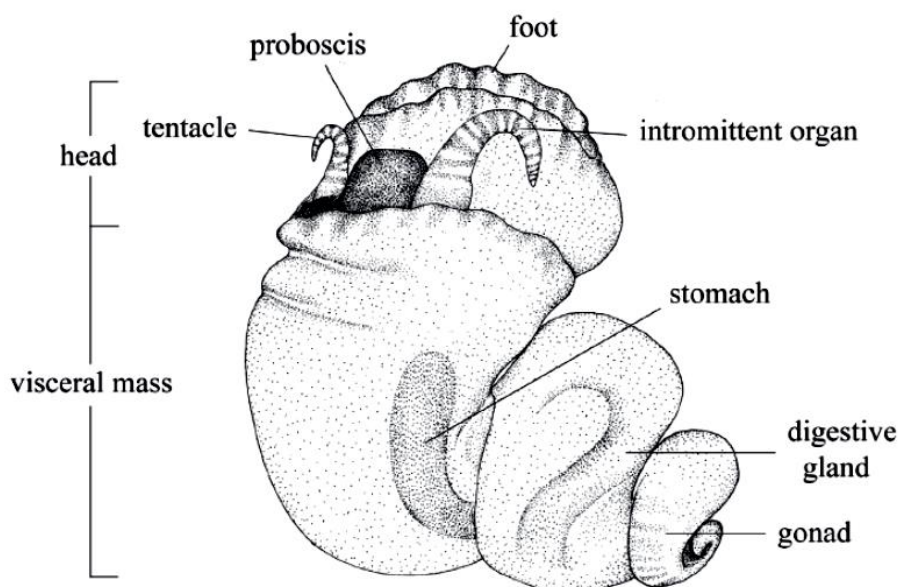
4.1 โครงสร้างภายนอก

โครงสร้างโดยทั่วไปของหอยฝาเดียว แบ่งออกได้เป็นหลายส่วน ได้แก่ ส่วนหัว เท้า ส่วนแมนเทิล (Brusca & Brusca, 2002; Hickman et al., 2008; Morton, 1979; Pechenik, 2015; สุข ข ติ อุปถัมภ์ et al., 2538) ในขณะที่หอยกำลังเคลื่อนที่โดยใช้คืบคลาน จะสังเกตส่วนที่ยื่นออกมาจากเปลือกได้ คือ ส่วนหัว เท้า เทนทาเคิล ตา และไซฟอน (ภาพประกอบ 10)

4.1.1 ส่วนหัว (head) อยู่บริเวณส่วนหน้าของตัวหอย ประกอบด้วยปากอยู่ด้านหน้าสุด ด้านหลังของปากพบหนวด (tentacle) 1 คู่ สามารถยืดหดได้ มีขนาดสั้นและแหลม ในหอยวงศ์ Viviparidae พบว่าเทนทาเคิลด้านขวาจะมีขนาดใหญ่กว่าด้านซ้าย เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เป็น อวัยวะสืบพันธุ์ (copulatory organ) ที่เรียกว่าเพนิส (penis) ติดกับโคนหรือปลายเทนทาเคิลมีตา ลักษณะเป็นก้อนสีดำตั้งอยู่บริเวณก้านตาทั้ง 2 ข้าง ปากมีโครงสร้างเป็นท่อกลวงหรือวง (siphon/proboscis) อยู่ตรงกลางระหว่างหนวด สามารถยืดยาวออกมาได้

4.1.2 ส่วนคอ อยู่ต่อจากส่วนหัว และส่วนหลังเทนทาเคิล

4.1.3 ส่วนเท้า (foot) อยู่ติดส่วนหัวไปทางด้านหลัง ด้านบนของเท้าติดด้านข้างของลำตัว เป็นกล้ามเนื้อที่มีความแข็งแรงโดยจะยึดติดกับฝาปิดเปลือก (operculum) กล้ามเนื้อเท้ามีลักษณะเป็นแผ่นแบนเรียบ, กว้าง มีคลื่นที่ในลักษณะเป็นคลื่น (undulation) โดยหอยขมจะมีการหลั่งสารเมือกออกมาระหว่างการเคลื่อนที่ (Lee et al., 2008) ส่วนเนื้อสีดำ-เทา พบจุดสีเหลืองหรือส้มเป็นจำนวนมาก



ภาพประกอบ 10 ลักษณะอวัยวะภายในของหอยขมสกุล *Filopaludina*

ที่มา: (Commission, 2006)

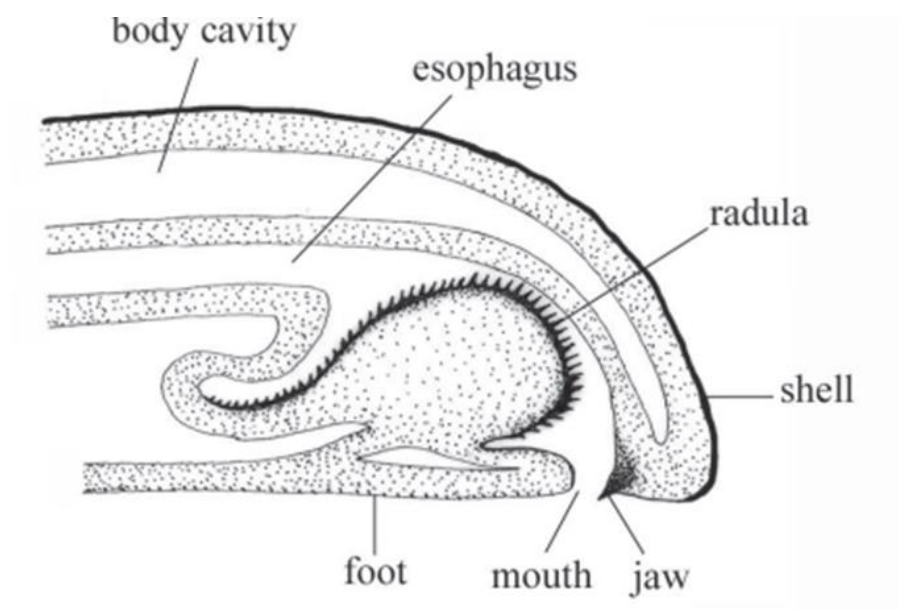
4.2 โครงสร้างภายใน

4.2.1 แมนเทิล (mantle) มีลักษณะเป็นแผ่นคลุมบริเวณหัวและคอ ถ้ายกแผ่นแมนเทิลขึ้นจะพบช่องแมนเทิล (mantle cavity) เป็นช่องระหว่างแมนเทิลกับตัวหอย จะพบส่วนปลายของระบบสืบพันธุ์ ระบบทางเดินอาหาร

4.2.2 ส่วนก้อนอวัยวะ (visceral mass) เป็นส่วนที่ประกอบไปด้วยอวัยวะภายในที่ขดตัวรวมเป็นก้อนเป็นเกลียวไปตามรูปทรงของเปลือก ประกอบไปด้วย ต่อมน้ำลาย หัวใจ เหงือก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ ทวารหนัก ตับ ไต ระบบสืบพันธุ์ ซึ่งมีแผ่นเนื้อแมนเทิล (mantle) ใ้ห่อหุ้มอวัยวะภายใน

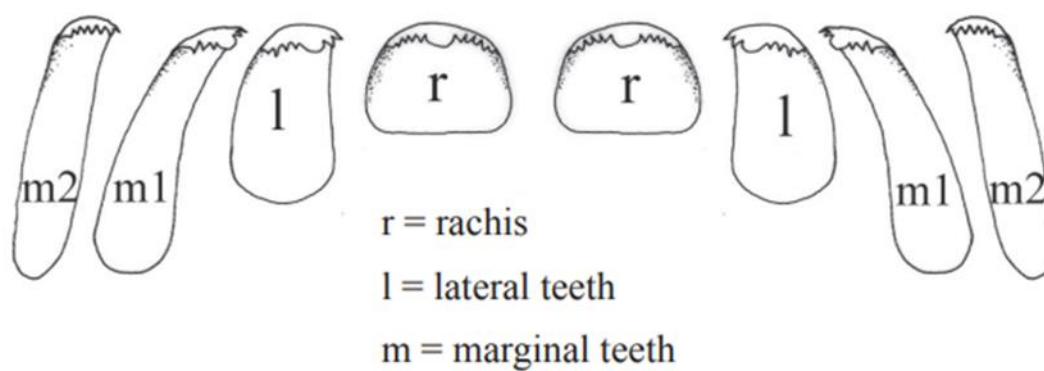
4.2.3 ระบบทางเดินอาหาร (digestive system)

ระบบย่อยอาหารของหอยขม มีลักษณะโดยทั่วไปที่คล้ายคลึงกันกับหอยฝาเดียวน้ำจืด วงศ์ Viviparidae (Gray, 1874) ชนิดอื่น มีแผงฟัน (radula) เจริญดี (ภาพประกอบ 11 – 13) มีลักษณะแข็ง แรดูลามีรูปร่างแตกต่างกัน โดยจะมีการเรียงตัวของซี่ฟันลักษณะเป็นแถบยาว ประกอบด้วยสารไคติน (chitin) เรียงแถวตามแนวขวาง บางชนิดมีฟันกลาง (median, central, rachidian teeth) แต่ละข้างของฟันกลาง มีฟันข้าง (lateral teeth) และฟันริม (marginal teeth) มีการกำหนดสูตรฟันหอย เช่น 2:1:1:1:2 = marginal 2: lateral 1: central 1: lateral 1: marginal 2 (การกำหนดเลขในสูตรฟัน 0 = ไม่มี, ∞ = มีจำนวนมากจนไม่สามารถนับได้) โดยปกติหอยจะใช้ฟันในการขูดกิน (grazing) ชั้นแบคทีเรียบนก้อนหิน สาหร่าย ไดอะตอม แต่ในสภาวะที่ขาดออกซิเจน หอยจะลอยตัวขึ้นมาหาอาหารที่ลอยมากับน้ำ โดยอาศัยโครงสร้างของซี่เหงือก (ctenidia) ที่แบนและเรียวยาว มีซิเลีย (cilia) และมีโครงสร้างที่เรียกว่า endostyle สามารถสร้างสารเมือกช่วยในการดักจับรวมทั้งซากอินทรีย์ขนาดใหญ่ (fine particulate organic matter; FPOM) ในน้ำเป็นอาหาร (Jakubik, 2012; Plinski et al., 1978; Strong et al., 2008) การย่อยอาหารของหอยมีการย่อยทั้งหมดหรือบางส่วนภายนอกเซลล์ มีเอนไซม์ซึ่งสร้างจากต่อมน้ำลาย ถุงอาหาร (esophageal pouch) หรือตับ มีกระเพาะอาหารเป็นอวัยวะสำหรับการย่อยภายนอกเซลล์ หอยแกลสโทรพอดจะมีการบิดตัวในระยะเอบริโอ เป็นมุม 180° เรียกว่า torsion (ภาพประกอบ 14) ผลของการบิดตัวจะทำให้กระเพาะอาหารบิดตัวเป็นมุม 180° ด้วย ทำให้ส่วนปลายของหลอดอาหารซึ่งติดกับกระเพาะอาหารบิดไปอยู่ด้านท้ายของตัวหอย (ในหอยบางกลุ่มที่มีวิวัฒนาการสูงขึ้นจะมีการบิดกลับ เรียกว่า detorsion ทำให้รูเปิดของหลอดอาหารสู่กระเพาะอาหาร เคลื่อนมาอยู่บริเวณส่วนหน้าของตัวหอย)



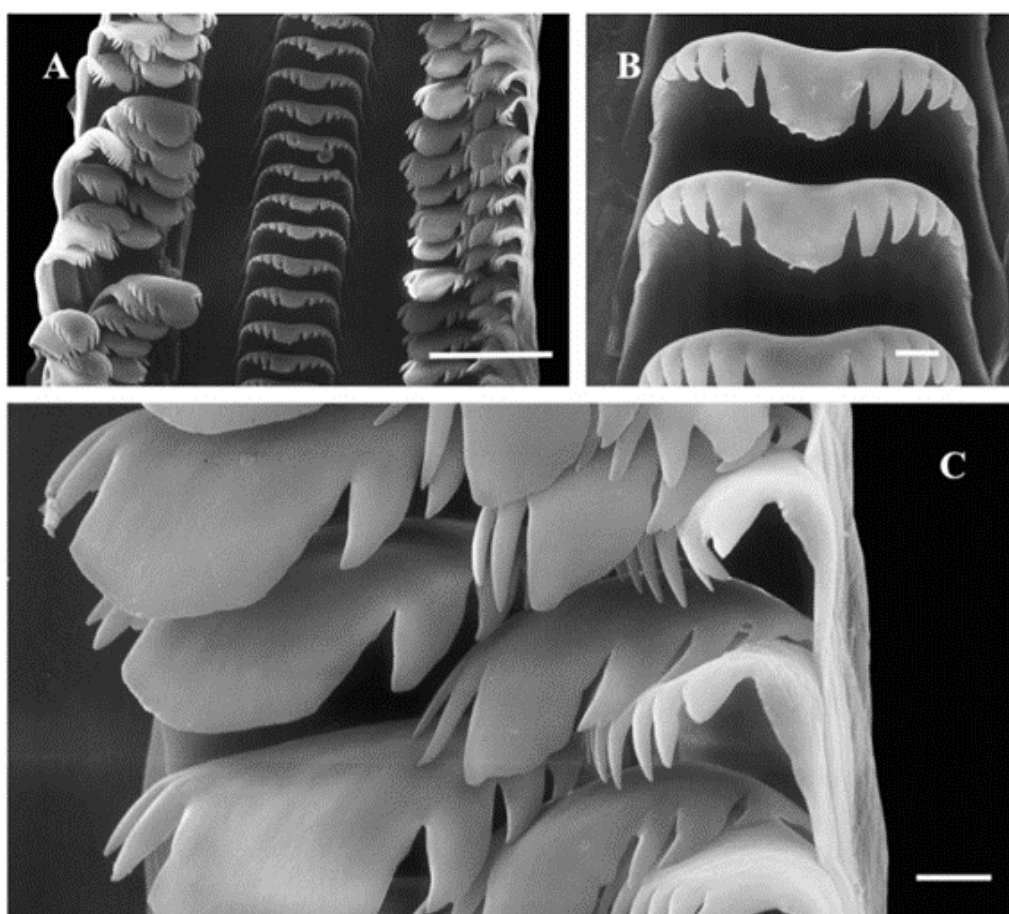
ภาพประกอบ 11 ภาพตัดตามยาวบริเวณส่วนหัวของหอย

ที่มา: (Commission, 2006)



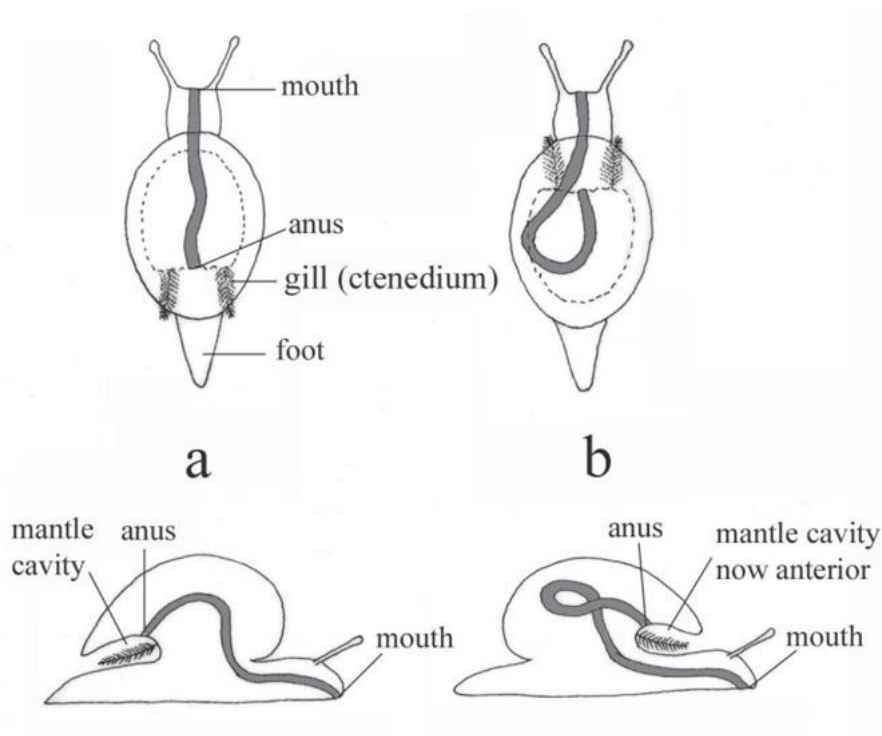
ภาพประกอบ 12 ส่วนประกอบของแรดูลา (radula)

ที่มา: (Commission, 2006)



ภาพประกอบ 13 ลักษณะแผ่นฟันของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae จากกล้องจุลทรรศน์ SEM

ที่มา: (Cuezzo & Ovando, 2012)



ภาพประกอบ 14 การบิดตัวของอวัยวะภายในของหอย

ที่มา: (Commission, 2006)

4.2.4 ระบบไหลเวียนเลือด

หอยฝาเดียวมีระบบเลือดเป็นระบบแบบเปิด (open circulatory system) ประกอบด้วย หัวใจ (1 ventricle และ 1 – 2 auricle) และหลอดเลือด เลือดของหอยฝาเดียว ไม่มีสีหรือมีสีน้ำเงินของสาร hemocyanin บางชนิดมีสีแดงของสาร hemoglobin รังควัตถุนี้อยู่ใน plasma ของเลือด

4.2.5 ระบบแลกเปลี่ยนแก๊ส

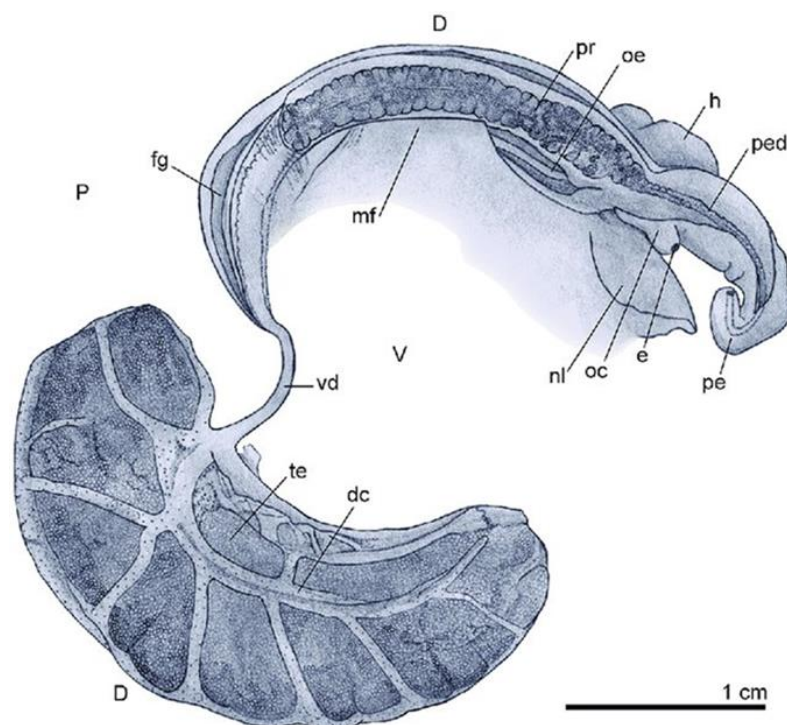
อวัยวะในการแลกเปลี่ยนแก๊สคือ เหงือก (อยู่ในช่องของแมนเทิล) ออกซิเจนจากน้ำแพร่เข้าไปในเหงือก คาร์บอนไดออกไซด์จะแพร่ออกจากผนังเหงือกปนกับกระแสน้ำออกจากตัวหอยทางไซฟอนน้ำออก บริเวณเหงือกพบโครงสร้างที่ชื่อว่า osphradium เป็นต่อมที่ทดสอบสารเคมีในน้ำก่อนที่จะผ่านเข้าสู่เหงือก เหงือกมีการจัดเรียงตัวแบบ เรียงด้านเดียว (monopectinate) และเรียงสองด้าน (bipectinate)

4.2.6 ระบบขับถ่าย

อวัยวะที่ใช้ในการกำจัดของเสียคือ ไต ซึ่งตั้งอยู่ทางช่องด้านหน้าของอวัยวะภายใน ไตจะติดต่อกับช่องรอบหัวใจทางท่อ renopericardial canal และติดต่อกับแมนเทิลทางท่อ ureter ไตมีสีน้ำตาลแดง หรือน้ำตาลเข้ม ลักษณะคล้ายถุง ผนังเป็นลอน ของเสียในไตถูกกำจัดสู่เส้นเลือดที่ไหลผ่านไตและส่งไปยังเหงือก หรือช่องแมนเทิล ในหอยฝาเดียวมีไต 1 – 2 อัน กลไกการขับถ่ายอาศัยการกรองน้ำและเกลือแร่ผ่านช่อง coelom น้ำและเกลือแร่จะถูกดูดซึมกลับและขับออกทางไต โดยจะขับออกมาในรูปของแอมโมเนีย ขณะที่หอยบกจะขับออกมาในรูปของกรดยูริก (uric acid) เพื่อลดการสูญเสียน้ำ นอกจากนี้ตับของหอยฝาเดียวยังทำหน้าที่ในการขับถ่ายได้ด้วย โดยจะพบเซลล์ซีครีทอรี (secretory cell) ทำให้ของเสียจากตับขับออกทางกระเพาะอาหารและลำไส้

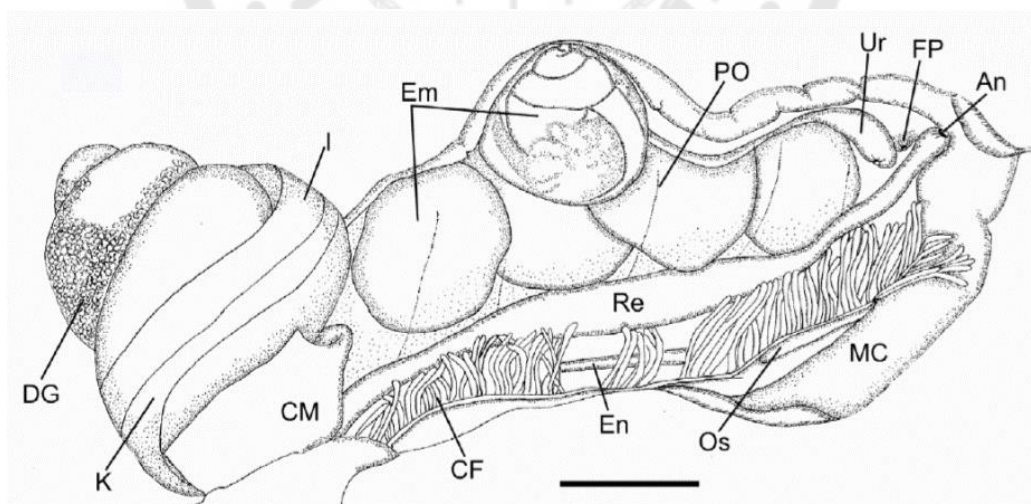
4.2.7 ระบบสืบพันธุ์

ระบบสืบพันธุ์ของหอยขมมีการแยกเพศ (dioecious) และมีการปฏิสนธิภายใน (internal fertilization) อวัยวะสืบพันธุ์จะฝังอยู่ในตับ มีท่อเชื่อมกับไตข้างขวา ในหอยเพศผู้เทณฑาคีลข้างขวา (right tentacle) จะมีขนาดใหญ่และหนากว่าเทณฑาคีลข้างซ้าย ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เป็นอวัยวะสืบพันธุ์ (copulatory organ) ที่เรียกว่าเพนิส (penis) บริเวณด้านหลังเทณฑาคีลสามารถพบส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ท่อสืบพันธุ์ ท่อนำสเปิร์ม (เปลี่ยนแปลงมาจากไต, renal vas-deferens) ท่อนำสเปิร์มแพลเลียล (pallial vas deferens) (ภาพประกอบ 15) หอยเพศเมียมีต่อมสร้างไข่ (albumin gland) พัฒนามาจากท่อนำไข่บริเวณแมนเทิล ทำหน้าที่สร้างวุ้นหรือแคปซูล (jelly gland, capsule gland) ส่งมาตามท่อนำไข่ (oviduct) มีการดูแลตัวอ่อน (brood care) โดยออกลูกเป็นไข่และเจริญเป็นตัวในตัวเพศเมีย (ovoviviparity) และมีถุงฟักตัวอ่อน (pallial brood pouch) อยู่ภายใน (Rohrbach, 1937; Vail, 1978) (ภาพประกอบ 16) การเจริญเติบโตของตัวอ่อนหอย มีการแบ่งเซลล์ของตัวอ่อนแบบหมุนวน (spiral cleavage) ซึ่งเป็นรูปแบบของกลุ่ม โพรโทสโตม (protostomes) โดยเริ่มมีการพัฒนาของเอมบริโอเป็นตัวอ่อนระยะแรกเรียกว่า ไทรโคฟอร (trochophore larva) และพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนที่สามารถว่ายน้ำเป็นอิสระเรียกว่า เวลิจเจอร์ (veliger larva) (ภาพประกอบ 17) (Brusca & Brusca, 2002) ลูกหอยขมที่มีการพัฒนาสมบูรณ์แล้วจะฟักตัวและว่ายน้ำออกมาหากินอย่างอิสระต่อไป โดยมีรูปร่างเหมือนตัวเต็มวัยแต่มีขนาดเล็กกว่า หลังจากนั้นจะใช้เวลาราว 3 เดือน – 1 ปี ในการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยส่วนใหญ่จะมีอายุขัยประมาณ 3 – 11 ปี (Fretter & Graham, 1962; Heller, 1990; Stańczykowska et al., 2011)



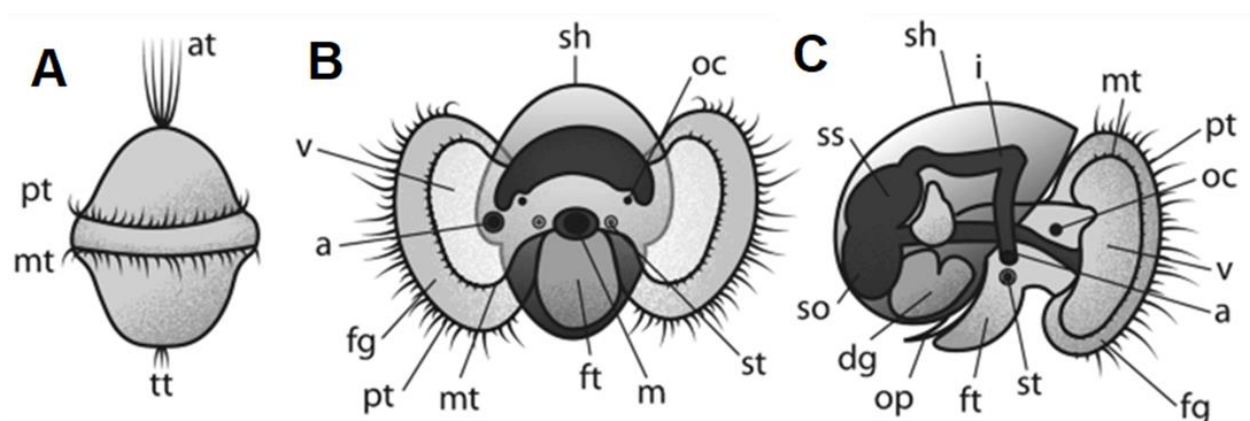
ภาพประกอบ 15 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae

ที่มา: (Van Bocxlaer & Strong, 2016)



ภาพประกอบ 16 ระบบสืบพันธุ์เพศเมียของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae

ที่มา: (Cuezzo & Ovando, 2012)



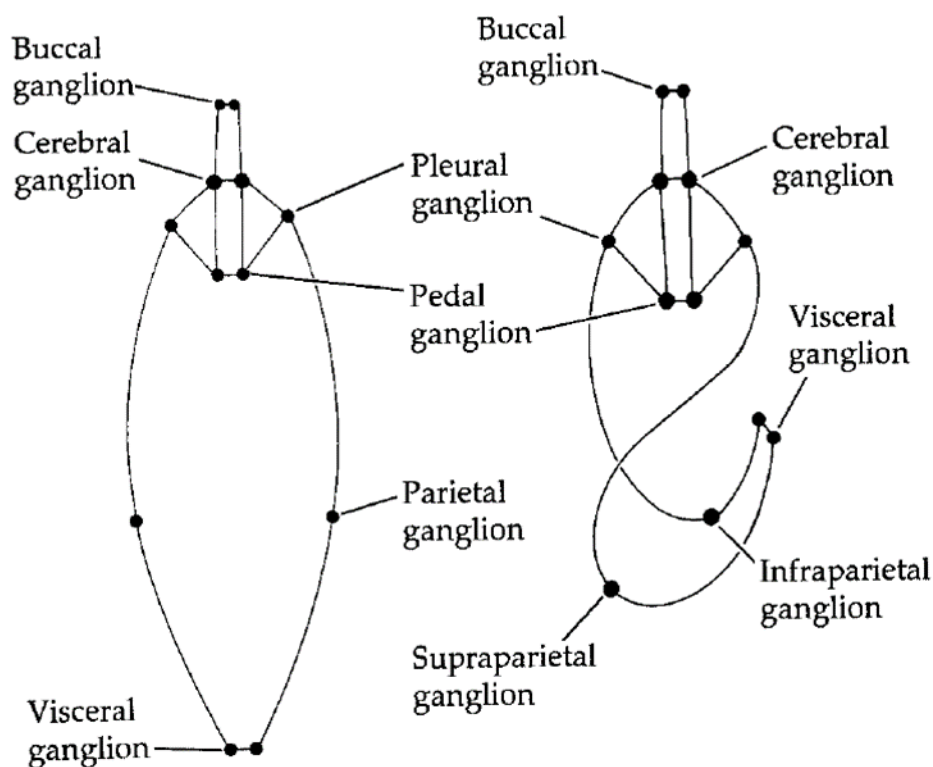
ภาพประกอบ 17 ตัวอ่อนระยะโทรโคฟอร์ (trochophore larva) (A) และระยะเวลิจเจอร์ (veliger larva) (B,C)

ที่มา: (Lesoway & Henry, 2019)

4.2.8 ระบบประสาทและอวัยวะรับสัมผัส

หอยฝาเดียวมีระบบประสาทที่ประกอบด้วยปมประสาท ดังนี้

1. Buccal ganglion คูแฉกกล้ามเนื้อของแตรคูลาและอวัยวะข้างเคียง
 2. Cerebral ganglion ควบคุมการทำงานของตา เทนทาเคิล และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการได้ยิน
 3. Pleural ganglion เป็นเส้นประสาทที่ออกไปสู่แมนเทิล กล้ามเนื้อคออคูเมลลา ไชฟอน และอื่น ๆ
 4. Pedal ganglion อยู่ที่เท้า ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเท้า
 5. Visceral ganglion (abdominal ganglion) คูแฉกอวัยวะภายใน
 6. Parietal ganglion (intestinal ganglion) ปมประสาทนี้เป็นต้นกำเนิดของ pallial nerve อยู่รอบแมนเทิล ควบคุมการทำงานของเหงือก ออสเฟรเดียม กล้ามเนื้อคออคูเมลลา และผนังช่องแมนเทิล
- หอยกลุ่มที่มีการบิดตัวเป็นมุม 180° มีการบิดของอวัยวะภายใน ทำให้เส้นประสาทบิดตัวไปด้วย (มีลักษณะเป็นเลข 8) เกิดการวางตัวของเส้นประสาทแบบต่าง ๆ (ภาพประกอบ 19)



ภาพประกอบ 18 การบิดตัวของเส้นประสาทเมื่อเกิด torsion

ที่มา: (Brusca & Brusca, 2002)

อวัยวะรับสัมผัสในหอยฝาเดียว ได้แก่ ตา, เทนทาเคิล (tentacle), ออสเฟรเดียม (osphradium) และสตาโทซิสต์ (statocyst) ในกลุ่มที่ตาไม่ซับซ้อนจะประกอบไปด้วย ส่วนที่รับแสง (photoreceptor) และเรตินา (retina) ในกลุ่มที่ตามีความซับซ้อนขึ้นจะประกอบด้วยเรตินาและเลนส์ (lens) เทนทาเคิลเป็นอวัยวะรับสัมผัสที่ติดอยู่กับตา อาจพบส่วนที่เกี่ยวข้องกับการได้กลิ่นหรือสารเคมี เรียกว่า rhinophore สตาโทซิสต์มี 1 คู่ อยู่ติดกับเท้า เป็นอวัยวะที่มีบทบาทในการรักษาสสมดุลการทรงตัวของหอย ออสเฟรเดียม ทำงานสัมพันธ์กับเหงือก ตำแหน่งอยู่ใกล้เหงือกบริเวณแมนเทิล ทำหน้าที่ตรวจจอบตะกอนน้ำและสารเคมีก่อนนำน้ำเข้าสู่เหงือก (พบว่าหอยที่มีเหงือก 1 คู่ จะมีออสเฟรเดียม 1 คู่, หอยที่มีเหงือก 1 อัน จะมีออสเฟรเดียม 1 อัน)

5. การศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในประเทศไทย

การศึกษาความหลากหลายของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae Gray, 1874 ในประเทศไทย รวมทั้งประเทศข้างเคียงและประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน มีการศึกษาค้นคว้าข้อมูล ระบุชนิดและจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานโดยนักสังขวิทยาหลายท่านซึ่งมีการรายงานสปีชีส์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* Habe, 1964 ทั้งหมด 6 สปีชีส์ 7 ชับ สปีชีส์ ได้แก่ *Filopaludina sumatrensis speciosa*, *F. sumatrensis polygramma*, *F. sumatrensis peninsularis*, *F. sumatrensis doliaris*, *F. filosa*, *F. javanica javanica*, *F. javanica continenalis*, *F. martensi martensi*, *F. martensi cambodjensis*, *F. martensi munensis* และ *F. maekoki* (Brandt, 1974; Haas, 1952; Habe, 1964; Martens, 1860; Morelet, 1865; Nabhitabhata, 2009; Pfeiffer, 1862)

การศึกษาความหลากหลายชนิดของหอยขมสกุล *Filopaludina* ในจังหวัดสระแก้ว เคยมีการศึกษาในบริเวณพื้นที่ชุ่มน้ำ ฝายและนาข้าว ในอำเภอดงน้ำเย็น รวมทั้งแหล่งน้ำในอำเภอดงนาคร โดยรายงานไว้ทั้งหมด 3 สปีชีส์ และ 4 ชับสปีชีส์ ได้แก่ *F. sumatrensis polygramma*, *F. sumatrensis speciosa*, *F. martensi martensi*, *F. martensi cambodjensis* และ *F. filosa* โดยพบหอยขมเกาะอยู่ตามขอนไม้และพืชใต้น้ำ (ประทีน บุญงาม, จิราพร ศรียารัน, ศรารัตน์ ทานะมัย และ พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา, 2553; รัชนีวรรณ อินมะดัน, ศรารัตน์ ทานะมัย และ พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา, 2554) ขณะเดียวกันจังหวัดปราจีนบุรี ซึ่งมีลุ่มน้ำปราจีนบุรีอันเป็นต้นน้ำที่สำคัญที่ไหลมายังจังหวัดสระแก้ว มีการศึกษาพบความหลากหลายชนิดของหอยขมสกุล *Filopaludina* ทั้งหมด 3 สปีชีส์ และ 3 ชับสปีชีส์ ได้แก่ *F. sumatrensis polygramma*, *F. sumatrensis speciosa*, *F. martensi martensi* และ *F. filosa* (จุฑามาศ จิวาลักษณ์, มณฑิรา เปี่ยมทิพย์มณฑล และ อรภา นาคจินดา, 2550; พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา, 2558; สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย, 2555) ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถพบได้ใน จังหวัดสระแก้ว นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบหอยในสกุล *Filopaludina* มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับความลึก กล่าวคือความลึกที่เพิ่มขึ้นจะพบปริมาณหอยได้ลดลง ขณะที่การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินทรีย์วัตถุกับปริมาณหอย พบว่าปริมาณหอยขมสกุล *Filopaludina* มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณอินทรีย์วัตถุ ดังนั้นหากปริมาณอินทรีย์วัตถุในแหล่งน้ำมากขึ้นจะพบปริมาณหอยขมสกุล *Filopaludina* ลดลง (สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย, 2555) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาด้านความหลากหลายชนิดของหอยขมสกุล *Filopaludina* เพิ่มเติมในพื้นที่ลุ่มน้ำต่าง ๆ ของประเทศไทย ได้แก่ พื้นที่ลุ่มแม่น้ำชีตอนบน จังหวัดชัยภูมิ พบทั้งหมด 2 สปีชีส์ ได้แก่ *F. sumatrensis* และ *F. martensi* (สาวิกา กัลปพฤกษ์, สิทธิ

กุหลาบทอง และราชิต เพ็งสีแสง, 2559) บริเวณแม่น้ำแควใหญ่ตอนล่าง จังหวัดกาญจนบุรี พบทั้งหมด 2 สปีชีส์ ได้แก่ *F. sumatrensis* และ *F. doliaris* (สิทธิ กุหลาบทอง, 2555) บริเวณลุ่มแม่น้ำเชิญ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบทั้งหมด 2 สปีชีส์ 4 ซับสปีชีส์ ได้แก่ *F. martensi martensi*, *F. martensi cambodjensis*, *F. sumatrensis polygramma* และ *F. sumatrensis speciosa* โดยหอยขม *F. martensi martensi* มีความชุกชุมมากที่สุด (Nahok et al., 2017) และในบริเวณแม่น้ำป่าสัก จังหวัดพระนครศรีอยุธยา พบทั้งหมด 2 สปีชีส์ 3 ซับสปีชีส์ ได้แก่ *F. martensi martensi*, *F. martensi cambodjensis*, *F. sumatrensis polygramma* (ณัฐกิตติ์ ไต่อ่อน, 2561)

ขณะเดียวกันประเทศกัมพูชาซึ่งมีพรมแดนติดกับทางด้านทิศตะวันออกของจังหวัดสระแก้ว เป็นที่ตั้งของทะเลสาบเขมร หรือโตนเลสาบ (Tonlé Sap) จัดเป็นแหล่งน้ำขนาดใหญ่ที่สำคัญ โดยมีจุดเชื่อมต่อกับลุ่มแม่น้ำโตนเลสาบซึ่งเป็นลุ่มน้ำของจังหวัดสระแก้ว พบหอยน้ำจืดวงศ์ Viviparidae ทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *F. martensi cambodjensis*, *Idiopoma umbilicata*, *M. rattei* และ *T. trochoides* โดยทั้งหมดเป็นชนิดพันธุ์ที่สามารถพบได้ในแหล่งน้ำของประเทศไทย (Ng et al., 2020)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในหอยขมสกุล *Filopaludina* ซึ่งใช้วิธีการจัดจำแนกด้วยการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสของแป้ง เป็นการศึกษาเอนไซม์ 11 ชนิด ด้วยวิธีการทางชีวเคมี โดยวิเคราะห์จากการแสดงออกของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ แปลค่าออกมาในเชิงปริมาณ โดยสามารถที่จะคำนวณหาความถี่ยีนได้ (gene frequency) จากวิธีการคำนวณหาค่าดัชนีความห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ประกอบกับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเปลือก ซึ่งใช้หลักการวิเคราะห์ทางมอर्फเมตริกส์ (morphometric analysis) จากลักษณะต่าง ๆ ของเปลือก ด้วยสถิติวิธี discriminant analysis ผลการคำนวณหาค่าดัชนีความห่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างหอยขมที่มีการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ และซับสปีชีส์ มีค่าอยู่ในช่วง 0.136 - 0.655 ซึ่งสนับสนุนในการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ได้ และผลการศึกษาในสกุลย่อย (subgenus) *Siamopaludina* และ *Filopaludina* มีค่าอยู่ในช่วง 0.180 - 0.374 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความใกล้ชิดกันระหว่างภายใน และระหว่างกลุ่มของหอยขมแต่ละสกุลย่อย โดยทั้งสองสกุลย่อย ควรจัดเป็นสกุลเดียวกัน คือ *Filopaludina* และการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม และความแตกต่างทางด้านสัณฐานวิทยาของเปลือกนั้นสามารถจัดจำแนกหอยขมสกุล *Filopaludina* ได้ 10 สปีชีส์ ได้แก่ *F. doliaris*, *F. filosa*, *F. peninsularis*, *F.*

polygramma, *F. speciosa*, *F. maekoki*, *F. continentalis*, *F. cambodjensis*, *F. martensi* และ *F. munensis* (ไพรัช ทาบสีแพร, 2541)

6. การศึกษาซิสเทมาติกส์

จากการศึกษาทางอนุกรมวิธานของหอยน้ำจืดฝาเดียว ซึ่งใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงเท่านั้น มักจะพบปัญหาที่เกิดขึ้นในการจำแนกหอยที่เป็นสปีชีส์ซ้อนเร้น (cryptic species) ซึ่งมีลักษณะของเปลือกหอยที่มีรูปร่างคล้ายกัน แต่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ในปัจจุบันพบการเกิดในลักษณะนี้จากการศึกษาสิ่งมีชีวิตสปีชีส์หนึ่งๆ ที่พบได้ในหลายพื้นที่ และมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม โดยมีสาเหตุมาจากแรงกดดันจากธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ที่ได้เปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ (genotype) ไปจากเดิมผ่านกระบวนการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม หรือการคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection) แต่การเปลี่ยนแปลงในระดับยีนยังไม่เพียงพอให้สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือมีฟีโนไทป์ (phenotype) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อเวลาผ่านไปจนเกิดการสะสมความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมจนทำให้ลักษณะของฟีโนไทป์มีความแตกต่างไปจากเดิม นำไปสู่การแยกระหว่างกันสปีชีส์ขึ้นมา ดังนั้นการนำข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตมาประกอบเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างและความคล้ายคลึงระหว่างสิ่งมีชีวิต จะช่วยเพิ่มแม่นยำในการระบุและจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานได้มากยิ่งขึ้น ศาสตร์ที่นำมาประยุกต์ใช้นี้เรียกว่า ระบบวิทยาหรือซิสเทมาติกส์ (systematics) ซึ่งจะใช้การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการหรือไฟโลจีนี (phylogeny) ระหว่างสิ่งมีชีวิต โดยมีข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบ ได้แก่ ลักษณะทางกายวิภาค (anatomy), สรีรวิทยา (physiology), คัพภวิทยา (embryology), ชีวภูมิศาสตร์ (biogeography) หรือชีวโมเลกุล (molecular biology) โดยหลักการในการศึกษานั้นต้องแสดงให้เห็นว่าการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตในแต่ละรูปแบบนั้นสอดคล้องกับความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ เนื่องด้วยกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มักจะถูกจัดในกลุ่มเดียวกันนั้นจะมีลักษณะหลาย ๆ ลักษณะที่คล้ายคลึงกันเป็นจำนวนมาก เป็นผลมาจากการที่สิ่งมีชีวิตกลุ่มดังกล่าวมีบรรพบุรุษร่วม (common ancestor) กันที่จุดหนึ่ง และเกิดการสืบเผ่าพันธุ์เป็นลูกหลานที่หลากหลาย ซึ่งแตกแขนงออกเป็นสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นกิ่งก้านสาขาจำนวนมากโดยสามารถแสดงเป็นแผนภาพต้นไม้แห่งวิวัฒนาการ (evolutionary tree หรือ phylogenetic tree) ซึ่งการจัดจำแนกทางวิวัฒนาการ (evolution classification) ของสิ่งมีชีวิตสามารถแสดงถึงความเป็นเครือญาติหรือพงศาวลี (genealogy) ในสิ่งมีชีวิตแต่ละกลุ่มได้ การศึกษาความสัมพันธ์เชิงไฟโลเจติกส์ (phylogenetic relationship) โดยทั่วไปนั้นนักชีววิทยามักจะ

มองไปที่การเพิ่มของจำนวนสปีชีส์มากขึ้นจากการแตกสายออกเป็นสายใหม่หลายสปีชีส์ โดยจะมองเป็นกระจุกหรือเคลด (clade) ของสปีชีส์ ซึ่งเรียกวิวัฒนาการรูปแบบนี้ว่า การแตกกิ่งแบบไฟโลเจเนติกส์ (phylogenetic branching) หรือเคลโดเจเนซิส (cladogenesis) โดยมีแนวทางในการจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตไปตามรูปแบบวิวัฒนาการ ซึ่งวิลลี เฮนนิก (Willi Hennig) นักกีฏวิทยาชาวเยอรมันเป็นผู้ริเริ่มและเรียกการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยวิธีนี้ว่า แคลดิสติกส์ (cladistics) หรือระบบวิทยาไฟโลเจเนติกส์ (phylogenetic systematics) โดยกำหนดให้ลำดับขั้นตอนทางวิวัฒนาการเกิดขึ้นในลักษณะที่สิ่งมีชีวิตบนกิ่งหนึ่ง มีวิวัฒนาการแตกออกเป็น 2 กิ่ง หรือเรียกว่าแท็กซาพี่น้อง (sister taxa) นักแคลดิสติกส์จะศึกษาลักษณะของสิ่งมีชีวิตเพื่อแยกแยะระหว่างลักษณะดั้งเดิม (primitive character) ของบรรพบุรุษออกจากลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป (derived character) ของรุ่นลูกหลาน แล้วนำเอาลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปนี้มาใช้ในการสร้างไฟโลเจนีขึ้น โดยอาศัยการมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปร่วมกัน (shared derived character) หรือซินแนปมอร์ฟี (synapomorphy) นำมาทำการคำนวณด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์แบบต่าง ๆ (เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์, 2555; อัจฉริยา รังษิรุจิ, 2555) เพื่อสร้างเป็นแผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree reconstruction) ได้แก่

1. เนเบอร์ จอยนิง (Neighbor-joining หรือ NJ) มีหลักการคือ ทำการคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) และสร้างตารางแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม (distance matrix) จากนั้นจึงสร้างแผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการโดยวิเคราะห์ผลจากตารางดังกล่าว ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของคู่สิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด ตามด้วยสิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมมากขึ้นตามลำดับ วิธีนี้เป็นวิธีที่การศึกษาทางไฟโลเจนีได้รับความนิยม เนื่องจากให้ผลของแผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการที่เร็ว โดยมากเป็นแผนภาพที่ไม่มีการตรึงราก (unrooted tree) คู่ของสิ่งมีชีวิตที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกันมากที่สุด (มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด) จะถูกนำมาเชื่อมโยงกัน เรียกว่า “neighbor” หรือ “เพื่อนบ้าน”

2. แมกซ์ลิคูด (Maximum Likelihood หรือ ML) มีหลักการคือ ทำการคำนวณวิเคราะห์ความน่าจะเป็น (probability/ likelihood) ของชุดข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์สำหรับดีเอ็นเอหรือลำดับกรดอะมิโนสำหรับโปรตีน ที่แสดงสถานะของลักษณะที่ปรากฏ โดยสมมติให้ข้อมูลชุดนี้เกิดการวิวัฒนาการภายใต้แบบจำลองทางวิวัฒนาการที่กำหนด วิธีนี้จะได้แผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการที่มีความน่าจะเป็นสูงสุด ซึ่งจัดเป็นแผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการที่ดีที่สุดและจะถูกเลือกให้เป็นสมมติฐานที่เกี่ยวกับวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษา

3. การอนุมานแบบเบย์ (Bayesian inferences) มีหลักการซึ่งใช้ทฤษฎีของเบย์ (Bayes' Theorem) มาประเมินความไม่แน่นอน (uncertainty) สำหรับการคำนวณความน่าจะเป็นในการเกิดรูปแบบทางวิวัฒนาการต่าง ๆ ซึ่งใช้ค่าความน่าจะเป็นภายหลัง (posterior probability) เพื่อวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเกิดเหตุการณ์ต่าง ๆ โดยคำนวณในแต่ละกิ่งของต้นไม้ทางวิวัฒนาการโดยใช้ Markov Chain Monte Carlo (MCMC) สำหรับการประเมินค่าความน่าจะเป็นภายหลัง และความไม่แน่นอนของพารามิเตอร์

นอกจากนี้ในการสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการจำเป็นต้องผ่านการทดสอบความเชื่อมั่นของด้วยกระบวนการทางสถิติ ได้แก่ การวิเคราะห์บูทสตรอป (bootstrap analysis) ซึ่งมีหลักการคือ หากความเกี่ยวข้องระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสองลำดับมีความเกี่ยวข้องกันมาก การเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงบางตำแหน่งโดยไม่จำเพาะเจาะจงอาจไม่ส่งผลต่อความเกี่ยวข้องนี้ แต่ในกรณีถ้าทั้งสองลำดับมีความเกี่ยวข้องกันน้อยมาก การเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์จะมีผลอย่างมาก ในการวิเคราะห์เริ่มจากการสุ่มเลือกลักษณะนิวคลีโอไทด์แล้วนำกลับเข้าที่เดิม (sampling with replacement) เลือกจำนวนลักษณะนิวคลีโอไทด์ที่กำหนด เพื่อสร้างข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ชุดใหม่ที่มีจำนวนสปีชีส์และจำนวนลักษณะเท่ากับข้อมูลชุดเดิม จากนั้นนำข้อมูลชุดใหม่มาสร้างแผนภาพต้นไม้ไฟโลเจเนติกส์สำหรับแต่ละตัวอย่างย่อย เช่น สร้างแผนภาพต้นไม้ 1,000 แผนภาพ และสรุปผลโดยการสร้างแผนภาพต้นไม้ไฟโลเจเนติกส์ที่สอดคล้อง ซึ่งประกอบด้วยการจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่เหมือนกันมากกว่า 50% ของแผนภาพต้นไม้ไฟโลเจเนติกส์ทั้งหมด (majority-rule consensus tree) โดยค่าสนับสนุนความเชื่อมั่นของบูทสตรอป (bootstrap support/ bootstrap value) จะแสดงอยู่ในรูปเปอร์เซ็นต์ เช่น การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด 100 ชุด พบว่าการจัดกลุ่มของสปีชีส์ A และ B ในคลดเดียวกัน 100 ครั้ง หมายถึงความสัมพันธ์นี้ค่าสนับสนุนความเชื่อมั่นของบูทสตรอปเป็น 100% ขณะเดียวกันการจัดกลุ่มระหว่างสปีชีส์ C และ D ในคลดเดียวกันพบ 75 ครั้ง แสดงถึงค่าสนับสนุนความเชื่อมั่นของบูทสตรอปเป็น 75% (อัจฉริยารังษิรุจิ, 2555)

เนื่องด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตมีการแยกสายจากบรรพบุรุษ ผ่านการกลาย โดยจะส่งผลในระดับโมเลกุลให้เกิดการแทนที่เบส (base substitution) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ในแผนภาพต้นไม้ทางวิวัฒนาการ ซึ่งจะแสดงในรูปแบบจำลองทางวิวัฒนาการ (evolutionary model) โดยในแต่ละแบบจำลองจะมีความแตกต่างของพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น ความถี่เบส (base frequency) แต่ละชนิด และอัตราส่วนในการแทนที่เบสแบบทรานซิชันต่อทรานเวอร์ชัน (transition/transversion) โดยแบบจำลองแบ่งเป็น 5 รูปแบบ ได้แก่ Jukes and Cantor (JC69), Kimura 2

parameter (K2 P), Felsenstein (F81), Hasegawa et al. (HKY85) และ Generalised time reversible (GTR) โดยสามารถเรียงลำดับแบบจำลองวิวัฒนาการที่มีความซับซ้อนจากน้อยไปมาก ได้ดังนี้ $JC < K2P (=F81) < HKY85 < GTR$ (อัจฉริยา รังษิรุจิ, 2555)

สำหรับในงานวิจัยนี้การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ จำเป็นต้องมีข้อมูลรหัสทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เรียกว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ซึ่งเป็นสิ่งที่ใช้ในการบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด สามารถพบได้บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือที่ออร์แกเนลล์อื่น ๆ ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย (mitochondria DNA) และคลอโรพลาสต์ (chloroplast DNA) สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอได้ เนื่องจากสามารถพบความแปรผัน (variation) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในสายดีเอ็นเอได้ เรียกว่าการเกิดพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552) ในการศึกษาชิ้นนี้ทำได้โดยการวิเคราะห์ลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยตรง (character-based approach) โดยทำการเลือกยีนที่เหมาะสมในแต่ละงานวิจัย โดยในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* จะเลือกใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียหรือไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA หรือ mtDNA) โดยมีข้อดีคือสามารถสกัดจากเซลล์ได้โดยง่าย และมีอัตราในการเกิดวิวัฒนาการระดับโมเลกุล (rate of molecular evolution) ที่เร็วมากเพียงพอต่อการนำมาแยกแยะความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตที่เพิ่งจะวิวัฒนาการแยกจากกันโดยไม่นานได้ (เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์, 2555) ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในสัตว์จะมีลักษณะเป็นวงกลม (circular DNA) โดยทั่วไปมีความยาวนิวคลีโอไทด์อยู่ที่ 15,000 – 17,000 คู่เบส สามารถถอดรหัสได้ทั้งหมด 37 ยีน ซึ่งประกอบไปด้วยยีนที่สามารถถอดรหัสเป็นโปรตีนหน่วยย่อยที่เป็นเอนไซม์เชิงซ้อน (complex enzyme) จำนวน 13 ยีน ยีนที่ถอดรหัสเป็น transfer RNA (tRNA) จำนวน 22 ยีน และยีนที่ถอดรหัสเป็น ribosomal RNA (rRNA) จำนวน 2 ยีน (ภาพประกอบ 20) นอกจากนี้ยังมีบริเวณที่ไม่ถอดรหัสใดเลย แต่เป็นบริเวณที่มีความสำคัญ เรียกส่วนนี้ว่า displacement loop (D-loop) หรือ control region มีความยาวประมาณ 1.1 กิโลเบส (สุทัศน์ ดวงจิตร, 2554) เป็นบริเวณที่มีการเรียงตัวไม่ซับซ้อน ไม่มีส่วนที่เป็น intron ซึ่งบริเวณนี้มีความสำคัญคือเป็นจุดเริ่มต้นในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA replication) และการถอดรหัส (transcription) โดยบริเวณนี้จะไม่ถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน จึงมีอัตราในการกลาย (mutation rate) สูงกว่าบริเวณอื่นในดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรีย โดยมีอัตราในการแทนที่เบส (nucleotide substitution) สูงกว่ายีนในนิวเคลียส (nuclear DNA) 10 – 20 เท่า ยีนในไมโทคอนเดรียมีคุณสมบัติในการถ่ายทอดจากแม่สู่ลูก (maternal inheritance) ซึ่งไม่เกิดการ recombination ของโครโมโซม ซึ่งพบว่าลักษณะของไมโทคอนเดรียลดี

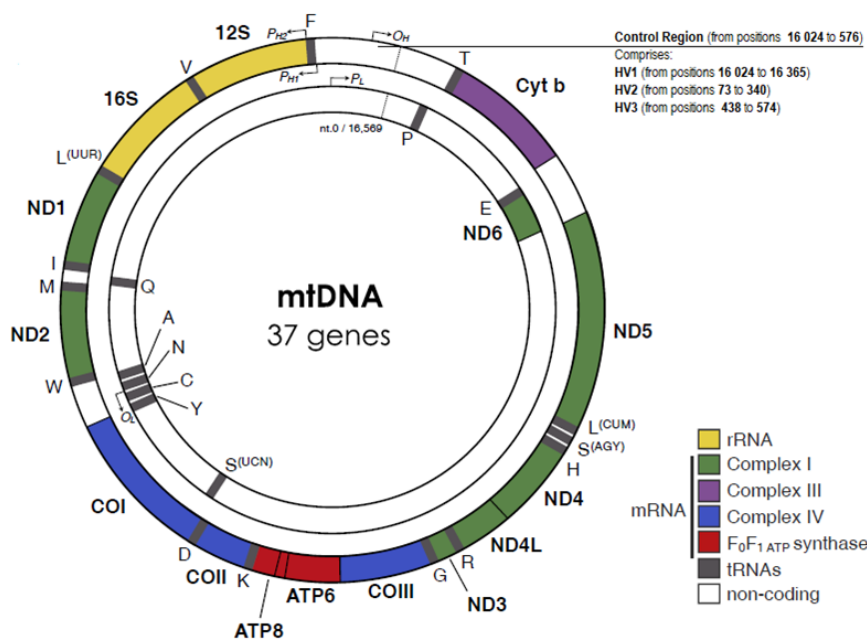
เอ็นเอในลูกจะคล้ายกับแม่ ขณะเดียวกันยีนในนิวเคลียสจะมีการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมที่เกิดจากฝั่งพ่อและแม่มายังลูก และยังเกิดการ recombination ของยีนขณะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) ดังนั้นจึงมีการนำไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ภายในกลุ่มประชากร เพื่อใช้ในการสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอยังมีอัตราการจำลองตัวเองช้าต่อเซลล์สูง ซึ่งพบได้เกือบทุกเซลล์ จึงทำให้สามารถตรวจพบและสกัดเจอได้ง่ายกว่ายีนที่พบในนิวเคลียส โดยทั่วไปพบได้มากในเซลล์ที่มีการใช้พลังงานสูง จึงจำเป็นต้องมีไมโทคอนเดรียจำนวนมาก เช่น เซลล์ตับ เซลล์สืบพันธุ์ เซลล์กล้ามเนื้อ ฯลฯ (ฐิติกา กิจพิพิธ และภาวดี ธนะเกียรติไกร, 2556; วรกมล แนนอดร, 2553) สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตจะต้องมีการเลือกบริเวณของยีนที่นำมาศึกษาซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้ (พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ และอรุณรัตน์ ธีวราช, 2554)

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนนั้นจำเป็นที่จะต้องมีความแปรผันมากพอที่จะทำให้แยกสิ่งมีชีวิตในระดับสปีชีส์ออกจากกันได้ แต่ต้องมีความแตกต่างกันภายในสปีชีส์เดียวกันในระดับที่ต่ำมากหรือไม่มีเลย

2. เป็นยีนที่มีบริเวณอนุรักษ์ (conserve region) มีพื้นที่สำหรับการจับของไพรเมอร์ที่เป็น universal primer สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าวด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR)

3. มีขนาดที่เหมาะสมประมาณ 500 – 800 คู่เบส

ยีนที่นิยมใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยฝาเดียวน้ำจืด ได้แก่ ยีน *Cytochrome c oxidase subunit I (COI)* มีข้อดีคือมีขนาดสั้นประมาณ 650 คู่เบส สามารถเพิ่มปริมาณด้วย universal primer ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังสามารถใช้ในการจำแนกความแตกต่างในสัตว์ที่มีสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้เคียงกันได้ และอีกยีนที่นิยมใช้คือยีน *16S rRNA* เป็นยีนที่มีความสำคัญในการถอดรหัสเพื่อสังเคราะห์ไรโบโซมหน่วยใหญ่ (large sub unit; LSU) สามารถใช้ในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตในระดับสปีชีส์เดียวกันได้ โดยในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการผู้วิจัยมักใช้ทั้งยีน *COI* และ *16S rRNA* ในการวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อสนับสนุนความน่าจะเป็นของแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการให้ได้มากที่สุด (Folmer et al., 1994; Frezal & Leblois, 2008; Palumbi et al., 1991; Zhang & Hewitt, 1997)



ภาพประกอบ 19 ไมโทคอนเดรียลจีโนม (mitochondrial genome)

ที่มา : (Amorim et al., 2019)

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยฝาเดียวน้ำจืดวงศ์ Viviparidae (Gray, 1874) จากทั่วโลก พบว่ามีข้อมูลทาง taxon ของหอยในกลุ่มนี้ที่ค่อนข้างจำกัด ทำให้การศึกษาที่ผ่านมาไม่สนับสนุนในการจัดเป็นกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบโมโนไฟลี (monophyletic group) ระหว่างวงศ์ย่อย Viviparinae (Gray, 1847) และ Bellamyinae (Rohrbach, 1937) ได้ (Du et al., 2013; Hirano et al., 2015; Sengupta et al., 2009; Van Bocxlaer & Strong, 2016; Wang et al., 2017)

ขณะเดียวกันในประเทศไทยมีการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยในวงศ์ Viviparidae ในสกุล *Mekongia* Crosse & Fischer, 1876 หรือหอยทราย โดยทำการศึกษาจากความแปรผันของ alloenzyme ในหอยทรายสปีชีส์ต่าง ๆ ได้แก่ *Mekongia pongensis* Brandt, 1968; *M. sphaericula* (Deshayes, 1876); *M. lamarcki* (Deshayes, 1876) และ *M. swainsoni* (I. Lea, 1856) ผลการศึกษาจากการสร้างแผนภาพไฟโลเจเนติกส์พบว่าพันธุกรรมในหอยทราย *M. sphaericula* *extensa* Brandt, 1974 และ *M. sphaericula* *sphaericula* (Deshayes, 1876) มีความแตกต่างกันจนเกิดกลไกในการแยกทางการสืบพันธุ์ระหว่างชนิด และเมื่อทำการวิเคราะห์จากความแตกต่างของอัลลีลในทั้งสองกลุ่มประชากร รวมทั้งลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่อยู่อาศัยที่

แตกต่างกันระหว่าง *M. sphaericula extensa* และ *M. sphaericula sphaericula* ยังเป็นหลักฐานที่สนับสนุนในการแยกหอยทรายทั้ง 2 กลุ่มประชากรในระดับสปีชีส์ (Prasankok et al., 2009) ในลำดับถัดมา มีการศึกษาซิสเทมาติกส์และชีวภูมิศาสตร์ของหอยทรายสกุล *Mekongia* โดยใช้วิธีการสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood และ Bayesian Inference อาศัยยีนจากไมโทคอนเดรีย ได้แก่ 16S *rRNA* และ *COI* รวมทั้งยีน 28S *rRNA* ซึ่งเป็นยีนจากนิวเคลียสในการวิเคราะห์ผล โดยศึกษาจากหอยทรายในประเทศไทย และประเทศข้างเคียง รวมทั้งหมด 5 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า หอยทรายสกุล *Mekongia* แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบโมโนไฟลี (monophyletic group) โดยภายในความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเดี่ยวนี้สามารถแยกออกเป็น 6 ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย ที่มีความสอดคล้องกับลักษณะทางภูมิศาสตร์ของแม่น้ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (ผ่องพรรณ ประสารก, 2562)

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในหอยขมสกุล *Filopaludina* มีงานวิจัยที่ทำการศึกษหอยขมจากกลุ่มแม่น้ำโขง บริเวณภาคอีสานตอนบนของประเทศไทย โดยอาศัยยีนจากไมโทคอนเดรียคือ *COI* ในการสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการ จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเปลือกพบหอยขมทั้งหมด 2 สปีชีส์ 2 ซับสปีชีส์ ได้แก่ *Filopaludina martensi martensi*, *F. martensi cambodjensis* และ *F. sumatrensis polygramma* เมื่อทำการวิเคราะห์จากระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ของหอยขมทั้งหมดที่ได้จากการศึกษา พบว่ามี *F. martensi martensi* 1 ตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดเลยมีความแตกต่างของระยะห่างทางพันธุกรรมกับ *F. martensi martensi* จากแหล่งอื่น ซึ่งอาจมีผลมาจากลักษณะทางภูมิศาสตร์ของจังหวัดเลยที่เป็นที่ราบสูง ทำให้สายแหล่งน้ำถูกแบ่งแยกจากกันเป็นอุปสรรคทำให้การถ่ายเทยีน (gene flow) ระหว่างกลุ่มประชากรไม่เกิดขึ้น และเมื่อทำการวิเคราะห์แผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการพบว่าหอยขมที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีความสัมพันธ์แบบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบโมโนไฟลี (monophyletic group) (Krairut et al., 2020) โดยในปัจจุบันพบว่าการศึกษาทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยฝาเดียวน้ำจืดในวงศ์ Viviparidae หรือหอยขมนั้นยังมีการศึกษาที่ค่อนข้างจำกัด จึงจำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าวิจัยเพิ่มเติมในอนาคต

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- 1.1 อุปกรณ์ตัดเนื้อเยื่อ ประกอบด้วย กรรไกร มีด เข็มเย็บ ปากคีบ ถาดผ่าตัดอุปกรณ์
- 1.2 หลอดเก็บตัวอย่าง microcentrifuge tube ขนาด 0.2 และ 1.5 ml
- 1.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 1.4 กล้องดิจิทัล Olympus OM-D E-M10 Mark III (Olympus, Tokyo, Japan)
- 1.5 กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ Olympus SZX16
- 1.6 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด JEOL JSM-IT300 (Scanning electron microscope: SEM)
- 1.7 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- 1.8 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (thermal cycler machine)
- 1.9 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 1.10 เครื่องผสมเขย่า (vortex mixer)
- 1.11 เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียดชนิด 2 ตำแหน่ง
- 1.12 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (heat box)
- 1.13 ตู้ทำความเย็น -20 °C
- 1.14 ชุดอุปกรณ์อิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis)
- 1.15 ปิเปตต์อัตโนมัติ (micro pipette)
- 1.16 เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรมชนิดละเอียด (Nanodrop)
- 1.17 อุปกรณ์อื่น ๆ เช่น ถุงมือ ฟู่กัน ถุงพลาสติก ถุงชีป กระดาษเลเบล กระบอกตวง ข้อนตักสาร pipette tip ดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ สวิง พลั่ว ฯลฯ

1.2. สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยทางอณูชีววิทยา

- 2.1 ชุดสกัด DNA (GF-1 tissue DNA extraction, Vivantis company)
- 2.2 Taq DNA polymerase
- 2.3 Universal primer
- 2.4 deoxyribonucleotide triphosphate (dNTPs)
- 2.5 buffer A
- 2.6 SYBR safe

- 2.7 agarose gel
- 2.8 DNA ladder
- 2.9 Loading dye
- 2.10 Tris-Acetate-EDTA (TAE) buffer, pH 8.0
- 2.11 magnesium chloride ($MgCl_2$)
- 2.12 absolute ethanol
- 2.13 deionized H_2O
- 2.14 water for molecular biology

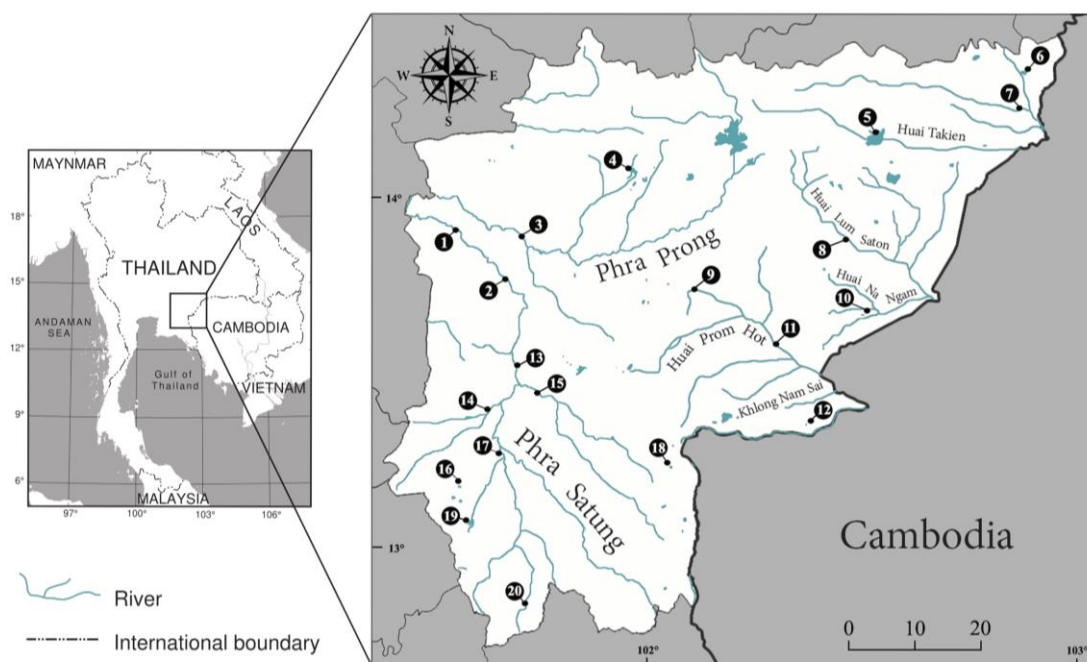
2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 จริยธรรมการในการใช้สัตว์ทดลอง

ทำการขออนุญาตในการใช้สัตว์ทดลองสำหรับงานทางวิทยาศาสตร์ รวมทั้งการปฏิบัติที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ทดลอง โดยจะต้องมีการขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองเพื่อรับรองว่าผู้วิจัยมีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองถูกต้องตามหลักของจริยธรรม

2.2 การเก็บตัวอย่างและข้อมูลภาคสนาม

ทำการเก็บตัวอย่างเปลือกและตัวเป็นของหอยขมด้วยมือ (hand picking) และสวิง (scooping) ใช้วิธีเก็บแบบตามสะดวก (convenience sampling) จากแหล่งน้ำต่าง ๆ ที่ความลึกไม่เกิน 1.5 เมตร ในบริเวณแนวลุ่มน้ำของจังหวัดสระแก้ว ซึ่งจะพิจารณาจากการแตกสายของแม่น้ำประกอบในการเลือกพื้นที่ด้วย ได้แก่ ลุ่มน้ำพระปรง (สถานีที่ 3 – 4) ลุ่มน้ำพระสทิง (สถานีที่ 1, 2, 13 – 20) และลุ่มน้ำโดนเลสาบ (สถานีที่ 5 – 12) (ภาพประกอบ 20) โดยอ้างอิงจากแผนที่แหล่งน้ำในจังหวัดสระแก้ว (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน, 2562) ในแต่ละครั้งจะทำการเก็บข้อมูล บันทึกรายละเอียดของลักษณะของสถานที่เก็บตัวอย่างเพื่อทราบขอบเขตการแพร่กระจายของหอยขมในแต่ละปีชีส์ รวมไปถึงข้อมูลถิ่นที่อยู่อาศัยย่อยของหอยขมในแต่ละชนิด (ชื่อสถานีเก็บตัวอย่าง; สถานีที่ 1 = สะพานพระสทิง, สถานีที่ 2 = สะพานคลองพระสทิง, สถานีที่ 3 = คลองห้วยใหญ่, สถานีที่ 4 = อ่างเก็บน้ำท่ากระบาก, สถานีที่ 5 = อ่างเก็บน้ำห้วยยาง, สถานีที่ 6 = อ่างเก็บน้ำคลองส้มป่อย, สถานีที่ 7 = คลองลำสะโดน, สถานีที่ 8 = สะพานตำบลหนองแวง, 9 = คลองมะหุด, สถานีที่ 10 = อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา, สถานีที่ 11 = สะพานบ้านใหม่-หนองเทา, สถานีที่ 12 = หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส, สถานีที่ 13 = คลองวังจิก, สถานีที่ 14 = ฝายคลองกุดตะนาวใหญ่, สถานีที่ 15 = คลองตาหลัง, สถานีที่ 16 = คลองกุดตะนาวใหญ่, สถานีที่ 17 = อ่างเก็บน้ำคลองหว่า, สถานีที่ 18 = แพรกกะหมู 2, สถานีที่ 19 = คลองกะวัดคลองใหญ่)



ภาพประกอบ 20 สถานีเก็บตัวอย่างในกลุ่มแม่น้ำต่าง ๆ ภายในจังหวัดสระแก้ว

ที่มา: ดัดแปลงจาก (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน, 2562)

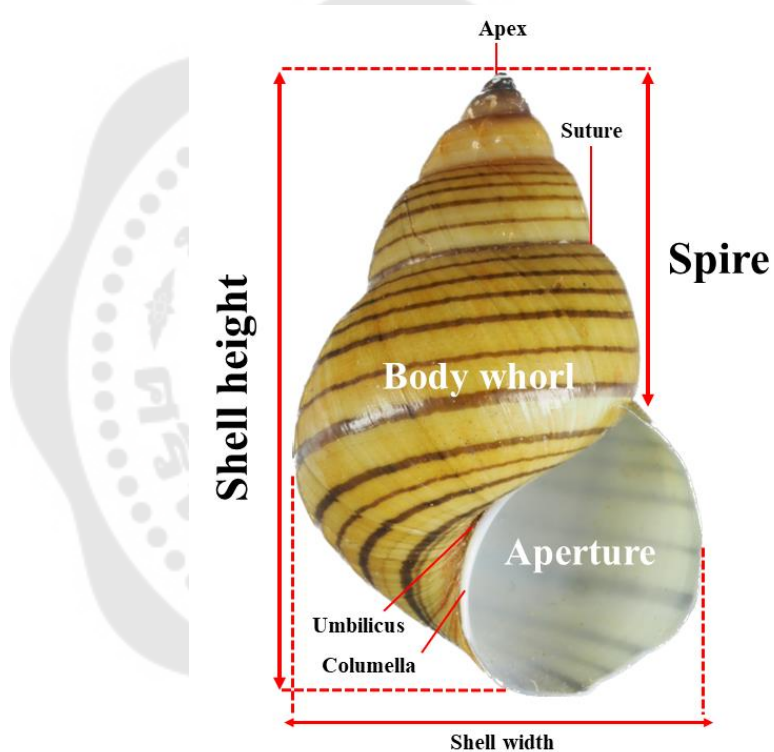
2.3 การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและกายวิภาคของหอยขม

ทำความสะอาดตัวอย่างเปลือกโดยใช้แปรงขนอ่อนขัดคราบโคลนหรือตะไคร่น้ำที่เกาะบนเปลือกออก ล้างเปลือกให้สะอาดและตากให้แห้ง จากนั้นนำมาวัดค่าทางสัณฐานวิทยาของเปลือก ได้แก่ ความกว้าง (shell width: SW) (วัดในระนาบที่ตั้งฉากกับแนวคอหอยเมลลา) โดยวัดจากระยะที่กว้างที่สุดของเปลือก และความสูงของเปลือก (shell height: SH) (วัดในระนาบที่ขนานกับคอหอยเมลลา) ซึ่งวัดจากระยะของยอดเปลือกถึงฐานขอบเปลือก (ความสูงของสไปร์และความสูงของปากเปลือกรวมกัน) (ภาพประกอบ 21) ด้วยดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ และนับจำนวนเวิร์ล โดยสังเกตการขดวนของแต่ละเวิร์ลจากจุดเริ่มต้น ที่เอพิคัลเวิร์ล (apical whorl) นับการขดวนเป็น 1 เวิร์ล เมื่อเวิร์ลหมุนมาตรงกับจุดเอพิคัล ในกรณีที่การขดวนไม่ครบจำนวนรอบ ให้นับระยะจำนวนเวิร์ลเป็นเศษส่วน จากนั้นนำตัวอย่างเปลือกหอยขมมาถ่ายภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบผลคล้าย, สันนูนและสีเปลือก ด้วยกล้องดิจิทัล สำหรับตัวอย่างที่ได้เก็บมานั้นจะทำการลงทะเบียนตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และนำข้อมูลที่ได้มาจัดทำเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายชนิดของหอยขม ทำการจัดจำแนกและ

ระบุชนิดหอยนม โดยอาศัยลักษณะต่าง ๆ เช่น รูปทรง ขนาด ปากเปลือก สะดือหอย และลวดลายบนเปลือก ฯลฯ ตามวิธีการจัดจำแนกของ Brandt (1974) เปรียบเทียบตัวอย่างเปลือกหอยนมกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimens) โดยวิธีการนำไปเทียบกับตัวอย่างที่อยู่ในพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยาที่เป็นสถานที่หลักในการเก็บรักษาตัวอย่าง เช่น Frankfurt natural history museum โดยทำการระบุรหัสของตัวอย่าง ดังนี้

SMF Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt am Main, Germany

SWUMZ Srinakharinwirot University Museum of Zoology, Bangkok, Thailand



ภาพประกอบ 21 ลักษณะของเปลือกแสดงความกว้าง (shell width: SW) และความสูงของเปลือก (shell height: SH) ของหอยนม

ที่มา: ภาพโดย พงศ์พิศิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา

ในส่วนของการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของหอยนม เริ่มต้นด้วยการนำส่วนของลำตัวหอยนมออกมาจากเปลือกอย่างระมัดระวัง โดยไม่ให้โครงสร้างของอวัยวะภายในเกิดการฉีกขาดเสียหาย

ทำการรักษาสภาพเนื้อเยื่อโดยการดองในเอทานอล 70% ทำการแยกเพศของหอยขมโดยสังเกตจากโครงสร้างสืบพันธุ์ นำหอยขมทั้งเพศผู้และเพศเมียในแต่ละชนิดที่ทำการรักษาสภาพมาถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ Olympus SZX16 สำหรับเปลือกของตัวอ่อน จะทำการศึกษาเปรียบเทียบบริเวณส่วนยอดเปลือกหรือโปรโตคอนช์ (protoconch) ของตัวอ่อนแต่ละชนิด โดยการนำตัวอ่อนมาทำการย่อยเนื้อเยื่อด้วย protease K และบ่มโดยเครื่องบ่มที่อุณหภูมิ 65 °C จนเนื้อเยื่อย่อยสลายทั้งหมด ทำการรักษาสภาพใน เอทานอล 70% จากนั้นนำตัวอย่างที่แห้งแล้วมาติดบนแท่นตัวอย่าง (stub) โดยใช้ carbon paint ทาบนแท่งติดตัวอย่าง และทำการฉาบตัวอย่างด้วยทองคำ จากนั้นนำไปถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด JEOL JSM-IT300 ณ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

นำตัวอย่างหอยขมที่รักษาสภาพในอุณหภูมิ -20 °C มาทำการละลายน้ำแข็ง (defrost) ใช้กรรไกรตัดตัวอย่างจากเนื้อเยื่อส่วนเท้า (foot tissue) ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง โดยใช้ชุดสกัด GF-1 tissue DNA extraction (Vivantis company) ทำการย่อยสลายเนื้อเยื่อใน microcentrifuge tube ด้วยการเติม Buffer TL ปริมาณ 250 µl จากนั้นตามด้วย Proteinase K ปริมาณ 20 µl นำไปผสมด้วยเครื่อง Vortex จนเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นเติม Lysis Enhancer ปริมาณ 12 µl นำไปบ่มที่เครื่องบ่ม (heat box) ที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมงจนกว่าเนื้อเยื่อจะถูกย่อยสลายไป เมื่อครบเวลาบ่ม ทำการเติม Buffer TB จำนวน 560 µl ลงใน microcentrifuge tube ที่มีตัวอย่างที่ทำการบ่มแล้ว ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex และบ่มต่อใน heat box ที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 10 นาที เติม Absolute Ethanol จำนวน 200 µl ผสมด้วยเครื่อง Vortex ทำการย้ายสารจากขั้นตอนที่ผ่านมา ลงใน collection tube ชนิด 650 µl นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง microcentrifuge ที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ที่สารละลายที่ตกไปด้านล่างของ tube ทำซ้ำอีกครั้งจนกว่าสารตัวอย่างจะหมด จากนั้นล้าง column ด้วย Wash Buffer ที่ทำการผสมด้วยเอทานอลแล้ว จำนวน 650 µl นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง microcentrifuge ที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำขั้นตอนเดิมอีก 1 ครั้ง ลำดับถัดมานำ tube ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง microcentrifuge ที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที ใส่ column ใน microcentrifuge tube ที่จะใช้ในการเก็บดีเอ็นเอตัวอย่าง เติม Elution buffer ที่บ่มที่อุณหภูมิ 65 °C จำนวน 200 µl ใส่ที่ column โดยตรง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง

ด้วยเครื่อง microcentrifuge ที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที เก็บตัวอย่างสารพันธุกรรมที่สกัดแล้วไว้ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 °C

2.5 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR)

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างด้วย Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ primer LCO1490 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3') และ HCO2198 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3') สำหรับยีน *COI* (Folmer et al., 1994) และใช้ primer 16Sar (5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3') และ 16Sbr (5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3') สำหรับยีน *16S rRNA* (Palumbi et al., 1991) ดังตาราง 1 และผสมองค์ประกอบของปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 50 µl ดังตาราง 2 ทำปฏิกิริยาด้วยเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (thermal cycler machine) โดยกำหนดให้รอบในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 36 รอบ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ *COI* เริ่ม denature ที่ 94°C เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 48°C เป็นเวลา 40 วินาที และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที 15 วินาที จากนั้นตั้งค่า final extension ที่ 72°C เป็นเวลา 5 นาที

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ *16S rRNA* เริ่ม denature ที่ 94°C เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 52°C เป็นเวลา 40 วินาที และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที 15 วินาที หลังจากนั้นตั้งค่า final extension ที่ 72°C เป็นเวลา 5 นาที

ทำการตรวจสอบผลที่ได้จากปฏิกิริยา (PCR Product) โดยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ 0.8% agarose gel ผสมกับ 1X TAE buffer และ SYBR SAFE gel stain และนำ PCR product ไปทำการตรวจสอบปริมาณและคุณภาพผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรมชนิดละเอียด (Nanodrop) นำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปทำให้บริสุทธิ์ (DNA purifying) และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ด้วยเครื่อง Applied Biosystems automatic sequencer (ABI 3730XL) บริษัท Macrogen, Inc. (Korea)

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

Gene	Primer Name	Primer Sequence	References
<i>COI</i>	LCO1490	GGTCAACAA ATC ATA AAG ATA TTG G	(Folmer et al., 1994)
<i>COI</i>	HCO2198	TAACTTCAGGGTGAC CA AAA AAT CA	(Folmer et al., 1994)
<i>16S rRNA</i>	16Sar	CGCCTGTTTAAC AAAAACAT	(Palumbi et al., 1991)
<i>16S rRNA</i>	16S-brH	CCGGTCTGAACT CAGATCACGT	(Palumbi et al., 1991)

ตาราง 2 องค์ประกอบและปริมาณที่ใช้ในการทำ PCR product 1 ปฏิบัติ

Components	Volume (μl)
buffer A	5
1.5 mM MgCl ₂	1.5
100 μM dNTP mix	0.5
0.2 μM F-primer	1
0.2 μM R-primer	1
Taq polymerase	0.5
DNA template	1
Type I water	39.5

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล phylogenetic tree

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของหอยขมจากจังหวัดสระแก้วทั้งยีน 16S *rRNA* และ *COI* ที่ได้จากการวิจัยไปเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GenBank เพื่อความถูกต้อง รวมทั้งนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* สปีชีส์ต่าง ๆ จากจังหวัดอื่นในประเทศไทย (กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ขอนแก่น สงขลา พัทลุง) เข้ามาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย จากนั้นทำการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ในโปรแกรม MEGA-X ด้วยคำสั่ง MUSCLE (Tamura et al., 2013) ทำการ trim alignment ข้อมูลที่ไม่เกี่ยวข้องในงานวิจัย และทำการเปรียบเทียบยีน (concatenated genes) ระหว่างยีน 16S *rRNA* และ *COI* แสดงขนาดของเบส ตำแหน่งของเบส และ % GC ด้วยโปรแกรม DnaSP v 5.10 (Librado & Rozas, 2009) ทดสอบโมเดลทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม jmodelTest 2.1.10 โดยแบ่งข้อมูลเป็น 3 ชุด ได้แก่ 1. 16S *rRNA* 2. *COI* และ 3. 16S *rRNA* + *COI* (Darriba et al., 2012) ทำการแปรผลเพื่อสร้างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม RAxML v8.2.12 (Stamatakis, 2014) โดยทำการเตรียมไฟล์ .phy กำหนดโมเดลทางวิวัฒนาการเป็น GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap กำหนดค่า ML bootstrap จำนวน 1,000 ครั้ง และวิธี Bayesian Inference (BI) ด้วยโปรแกรม MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012) โดยทำการเตรียมไฟล์ .nexus ใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนดค่า Number of Generations (Ngen) = 5,000,000 Number of Runs (nrns) = 2 Number of Chains to Run (nchains) = 4 Temperature parameter (temp) = 0.200 samplefreq = 1000 โดยวิเคราะห์ทุกชุดข้อมูลจากทั้ง 2 วิธีใน CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010) เปรียบเทียบ topology ที่ได้จาก 2 วิธี ในการวิเคราะห์ข้อมูลใช้หอยน้ำจืดในวงศ์ Viviparidae สกุลต่าง ๆ ได้แก่ *Angulyagra*, *Anularya*, *Cipangopaludina*, *Margarya*, *Mekongia* และ *Sinotaia* เป็นกลุ่มนอก (out group) วิเคราะห์ขอบเขตสปีชีส์ (species delimitation) ด้วยวิธี GMYC (Generalize Mixed Yule Coalescence) และ PTP (Poisson tree processes) ในโปรแกรม BEAUti v1.10.4 ใน BEAST v.1.10.4 ตรวจสอบค่า ESS (Estimated Sample Size) ด้วยโปรแกรม Tracer.v1.7.2 หากมีค่า ESS น้อยกว่า 1,000 ให้ทำการ run ในโปรแกรม BEAST v.1.10.4 เพิ่ม ทำการรวม tree ด้วยโปรแกรม LogCombiner v1.10.4 สร้าง tree ด้วยโปรแกรม TreeAnnotator v1.10.4 (Drummond & Rambaut, 2007) บนเว็บไซต์ <http://species.h-its.org> สำหรับการวิเคราะห์ความต่างทางวิวัฒนาการระหว่างกลุ่มประชากรหอยขม สามารถวิเคราะห์ได้จากระยะห่างทางพันธุกรรม

(genetic distance) โดยคำนวณจากค่า uncorrected p-distances ของยีน *16S rRNA* และ *COI* ด้วยโปรแกรม MEGA X

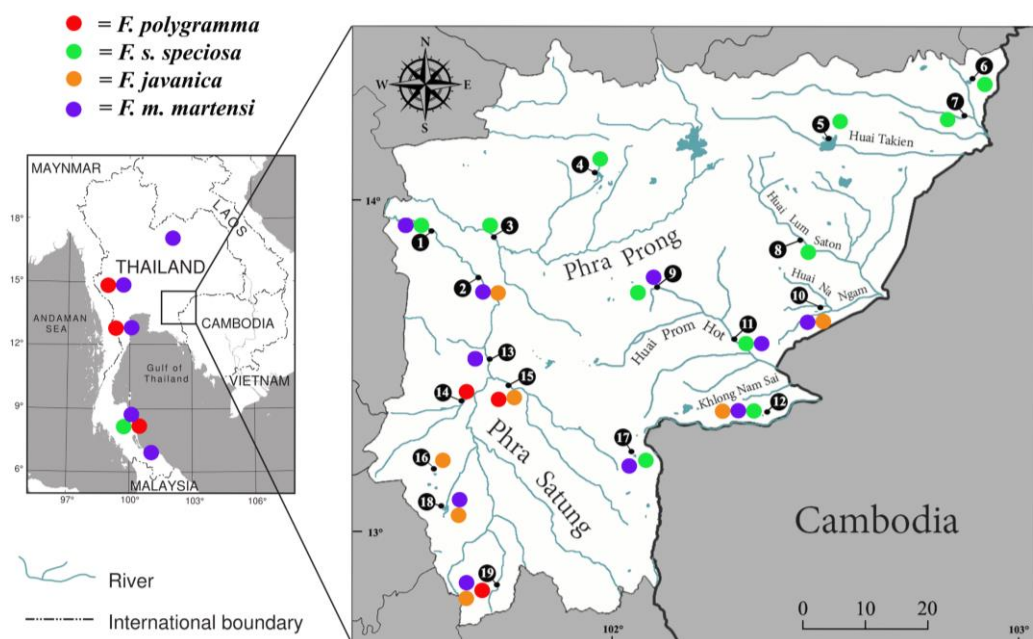


บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างหอยขม

จากการสำรวจพบหอยขมสกุล *Filopaludina* ทั้งหมด 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Filopaludina polygramma*, *Filopaludina sumatrensis speciosa*, *Filopaludina javanica javanica* และ *Filopaludina martensi martensi* โดยแสดงรูปแบบที่การเก็บตัวอย่างหอยขมแต่ละสปีชีส์ และภาพพื้นที่เก็บตัวอย่างบางส่วนดังภาพประกอบ 22 และ 23 ตามลำดับ รวมทั้งเปลือกหอยขมที่ทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำในจังหวัดสระแก้ว เปรียบเทียบกับเปลือกต้นแบบจากพิพิธภัณฑ์ประวัติศาสตร์ธรรมชาติแฟรงก์เฟิร์ต SMF (Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt am Main) ดังภาพประกอบ 24 – 26 และข้อมูลต่าง ๆ ของหอยขมดังตาราง 3 – 4



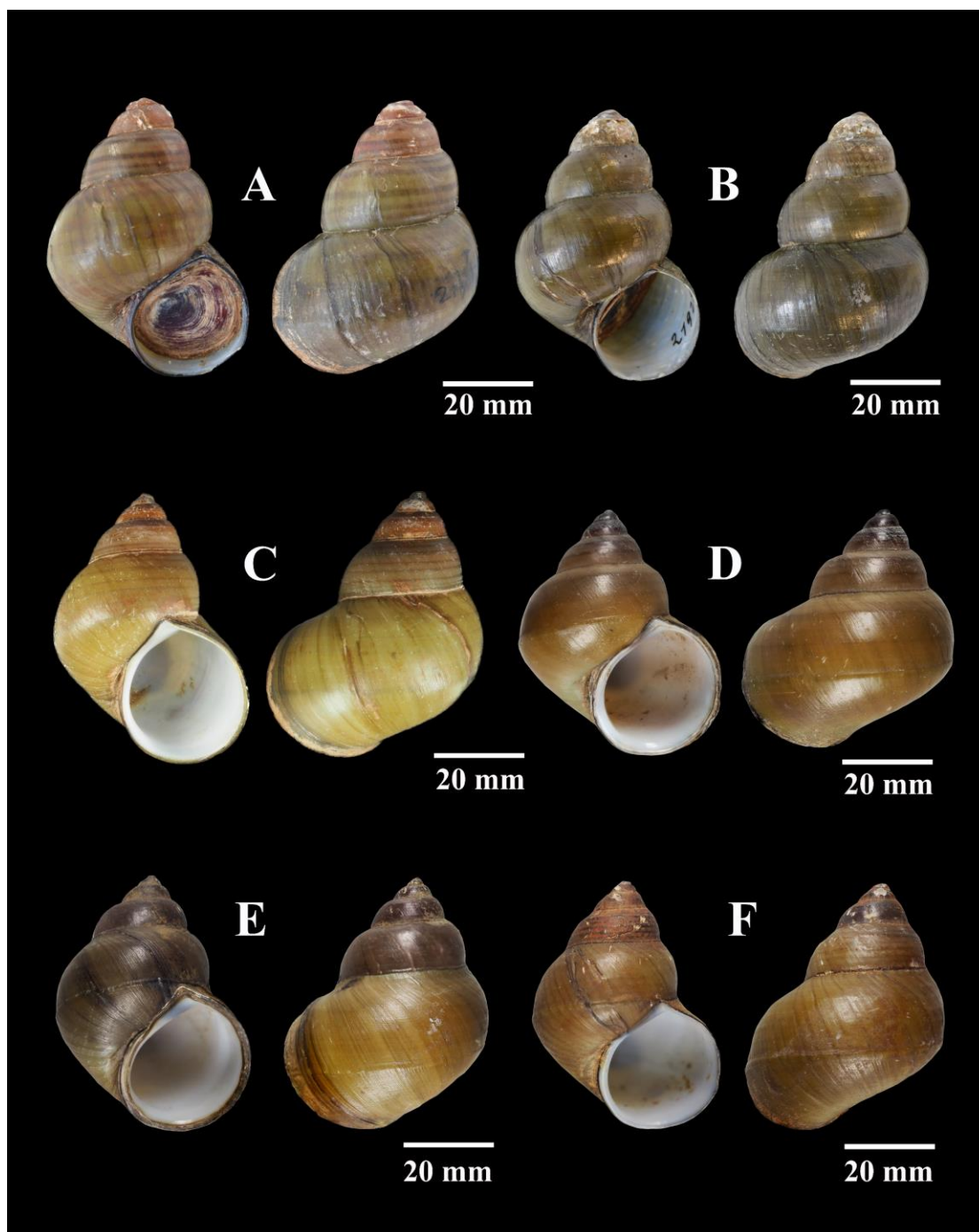
ภาพประกอบ 22 แผนที่การเก็บตัวอย่างหอยขม *Filopaludina* สีแสดงสปีชีส์หอยขม

ที่มา: ดัดแปลงจาก (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน, 2562)

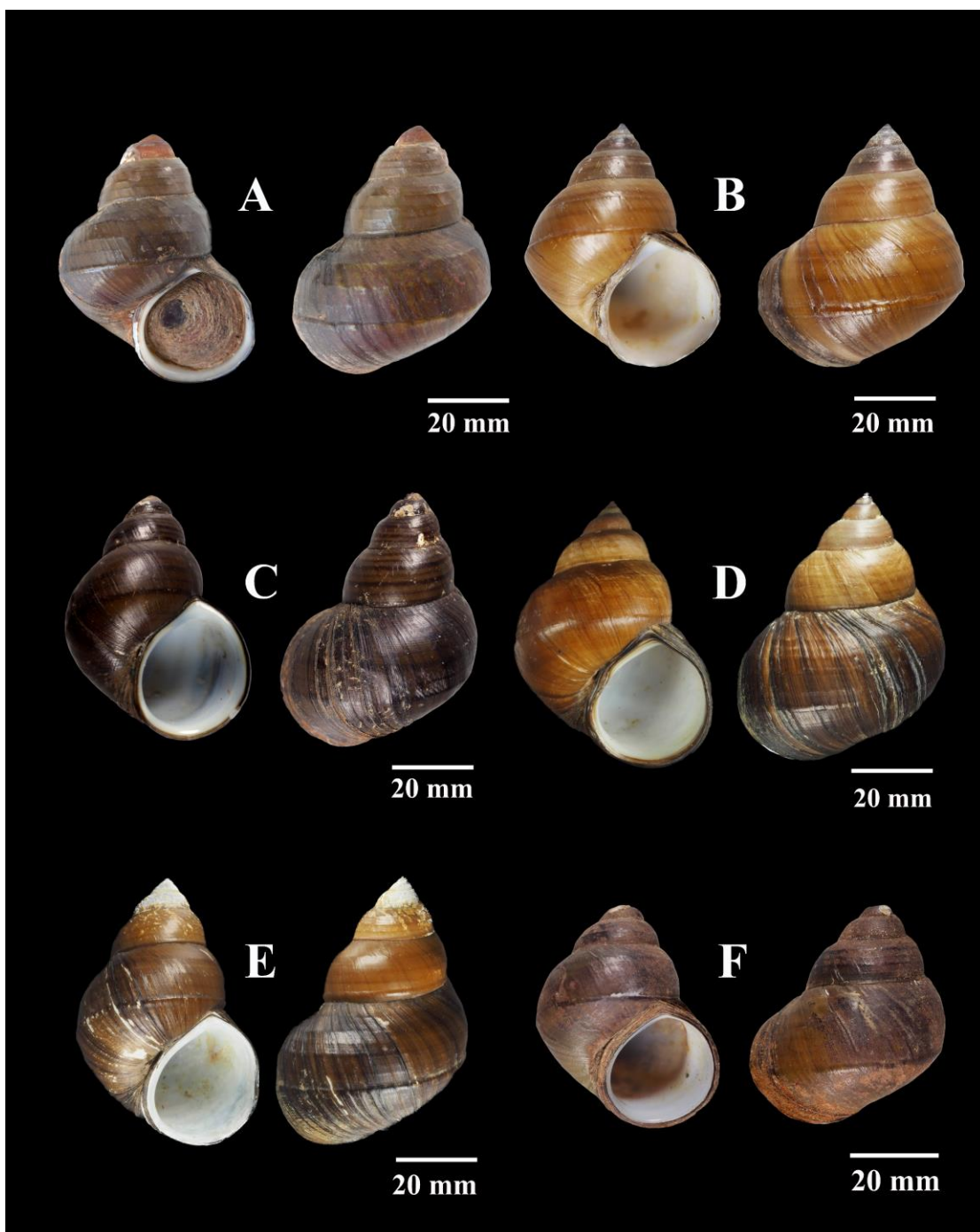


ภาพประกอบ 23 พื้นที่เก็บตัวอย่างบางส่วน; A = คลองลำสะโดน, B = คลองพระปรง, C = อ่างเก็บน้ำห้วยยาง, D = คลองกะวัดคลองใหญ่, E = อ่างเก็บน้ำท่ากระบาก, F = สะพานตำบลหนองแวง, G = ฝายคลองกุดตะนาวใหญ่, H = สะพานคลองพระสทิง

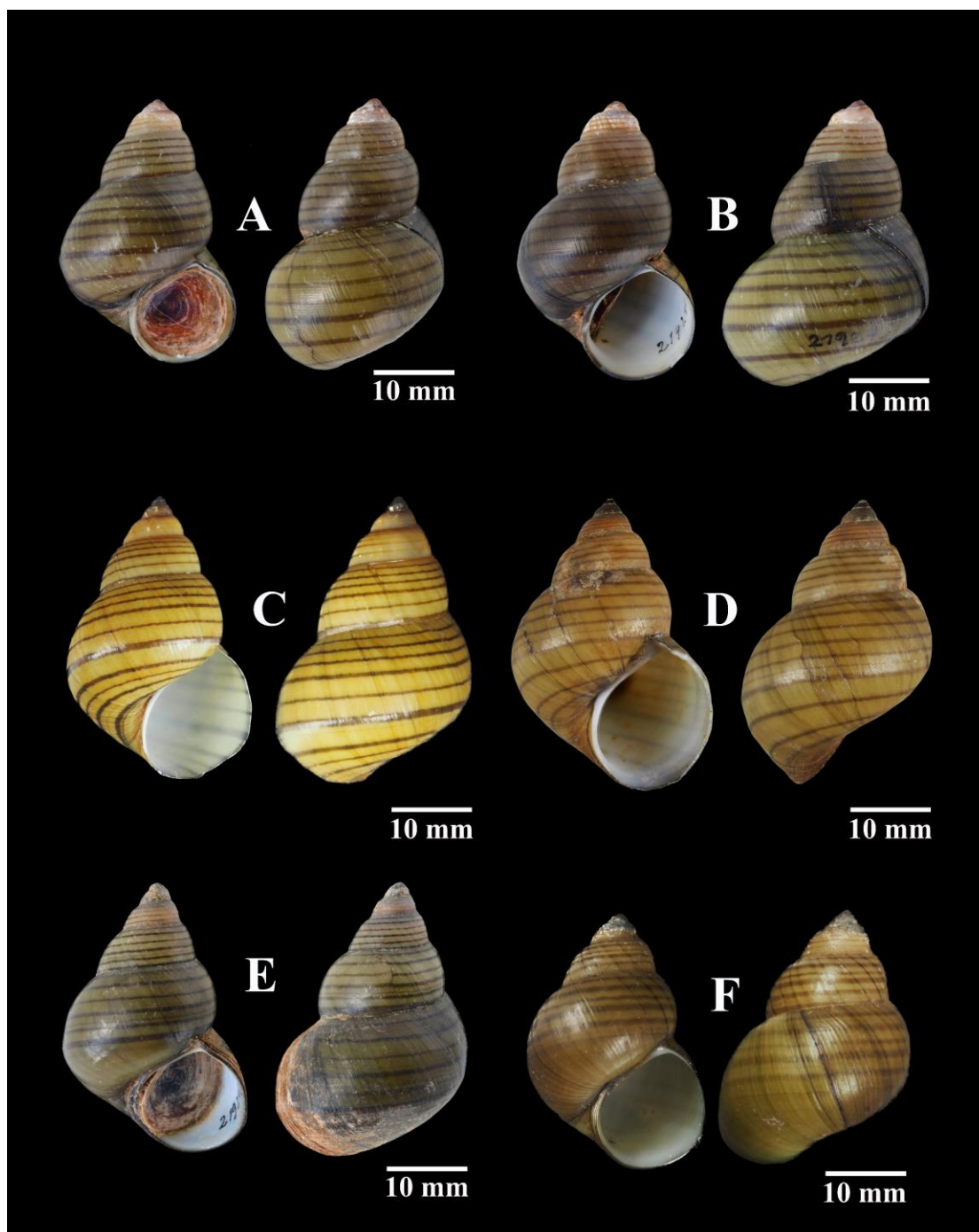
ที่มา: ภาพโดย พงศ์พิสิษฐ์ รุ่งเรืองเดชวัฒนา



ภาพประกอบ 24 เปลือกของหอยขมสกุล *Filopaludina*; A = *Filopaludina javanica continentalis* (รหัสตัวอย่าง SMF 219253), B – F = *Filopaludina javanica javanica* (B = รหัสตัวอย่าง SMF 219255, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1028, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1029, E = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1031, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1034)



ภาพประกอบ 25 เปลือกของหอยขมสกุล *Filopaludina*; A - F = *Filopaludina martensi martensi* (A = รหัสตัวอย่าง SMF 219259 , B = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1035, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1038, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1037, E = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1041, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1049)



ภาพประกอบ 26 เปลือกของหอยขมสกุล *Filopaludina*; A - D = *Filopaludina polygramma* (A = รหัสตัวอย่าง SMF 219244, B = รหัสตัวอย่าง SMF 219245, C = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1050, D = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1053), E – F = *Filopaludina sumatrensis speciosa* (E = รหัสตัวอย่าง SMF 219244, F = รหัสตัวอย่าง SWUMZ 1059)

ตาราง 3 จำนวนสปีชีส์ ชั้นสปีชีส์ของหอยขม รหัสลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่าง ชื่อสถานที่เก็บตัวอย่าง และพิกัด GPS

สปีชีส์	ชั้นสปีชีส์	รหัสตัวอย่าง	ชื่อสถานที่ตัวอย่าง	พิกัด GPS
<i>F. javanica</i>	javanica	FJ51ST	สะพานคลองพระสีทิ้ง อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°48'34.3"N 102°03'15.7"E
		FJ92ND	อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา อ.โคกสูง จ.สระแก้ว	13°45'55.1"N 102°39'26.5"E
		FJK2ND	หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13°34'39.8"N 102°32'37.2"E
		FJ13RD	คลองกุดตะนาวใหญ่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว	13.469716°N 101.977545°E
		FJ23RD	แพรกกระหมู 2 อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว	13.428478°N 102.009009°E
		FJ43RD	คลองกะวัดคลองใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว	13.298708°N 102.081403°E
		FJTL3RD	คลองตาหลัง อ. วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว	13°31'38.3"N 102°04'26.4"E
<i>F. martensi</i>	<i>martensi</i>	FM31ST	สะพานพระสีทิ้ง อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°52'50.7"N 101°58'56.1"E
		FM51ST	สะพานคลองพระสีทิ้ง อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°48'34.3"N 102°03'15.7"E
		FM92ND	อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา อ.โคกสูง จ.สระแก้ว	13°45'55.1"N 102°39'26.5"E
		FMN2ND	สะพานบ้านใหม่-หนองเทา อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13.705989°N 102.481630°E
		FMK2ND	หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13°34'39.8"N 102°32'37.2"E
		FMW2ND	อ่างเก็บน้ำคลองหว่า อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13.510583°N 102.323103°E
		FM23RD	แพรกกระหมู 2 อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว	13.428478°N 102.009009°E

ตาราง 3 (ต่อ)

สปีชีส์	ซัปสปีชีส์	รหัสตัวอย่าง	ชื่อสถานที่ตัวอย่าง	พิกัด GPS
<i>F. martensi</i>	<i>martensi</i>	FM43RD	คลองกะวัดคลองใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว	13.298708°N 102.081403°E
		FMMH3RD	คลองมะหุด อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว	13.796918°N 102.337402°E
		FMHP3RD	คลองวังจิก อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว	13.624100°N 102.116533°E
		FMKB	โฮมพุเตย อ.เทรียศ จ.กาญจนบุรี	14°19'40.0"N 98°58'06.0"E
		FMPK	วัดห้วยมงคล อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์	12°33'05.1"N 99°49'27.9"E
		FMSK	วัดวารีปานิเมศ ทะเลสาบสงขลา อ.ระโนด จ.สงขลา	7°47'49.9"N 100°15'52.4"E
		FMPT	ทะเลน้อย อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	7°46'48.9"N 100°07'23.5"E
		FMKK	มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น	16°28'04.8"N 102°49'51.6"E
<i>F. polygramma</i>		FP43RD	คลองกะวัดคลองใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว	13.298708°N 102.081403°E
		FPTL3RD	คลองตาหลัง อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว	13°31'38.3"N 102°04'26.4"E
		FPF3RD	ฝายคลองกุดตะนาวใหญ่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว	13°32'02.2"N 102°03'00.8"E
		FPKB	โฮมพุเตย อ.เทรียศ จ.กาญจนบุรี	14°19'40.0"N 98°58'06.0"E
		FPPK	วัดห้วยมงคล อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์	12°33'05.1"N 99°49'27.9"E
		FPPT	ทะเลน้อย อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	7°46'48.9"N 100°07'23.5"E

ตาราง 3 (ต่อ)

สปีชีส์	ชับสปีชีส์	รหัสตัวอย่าง	ชื่อสถานที่ตัวอย่าง	พิกัด GPS
<i>F. sumatrensis</i>	<i>speciosa</i>	FS31ST	สะพานพระสิทธิ์ อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°52'50.7"N 101°58'56.1"E
		FS61ST	คลองห้วยใหญ่ อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°51'47.7"N 102°05'17.9"E
		FS81ST	อ่างเก็บน้ำท่ากระบาก อ.เมือง จ.สระแก้ว	13°58'16.5"N 102°15'50.2"E
		FS22ND	อ่างเก็บน้ำห้วยยาง อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว	14°00'47.8"N 102°38'39.2"E
		FS42ND	คลองลำสะโตน อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว	14°03'05.2"N 102°53'07.9"E
		FS52ND	อ่างเก็บน้ำคลองส้มป่อย อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว	14°07'17.8"N 102°51'59.9"E
		FSK2ND	หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13°34'39.8"N 102°32'37.2"E
		FSN2ND	สะพานบ้านใหม่-หนองเทา อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13.705989°N 102.481630°E
		FSW2ND	อ่างเก็บน้ำคลองห้วย อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	13.510583°N 102.323103°E
		FSNW2ND	สะพานตำบลหนองแวง อ.โคกสูง จ.สระแก้ว	13°50'48.1"N 102°38'15.3"E
		FSMH3RD	คลองมะหุด อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว	13.796918°N 102.337402°E
		FSPT	ทะเลน้อย อ. ควนขนุน จ.พัทลุง	7°46'48.9"N 100°07'23.5"E

ตาราง 4 ค่าทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยขม

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วง เปลือก
		ความสูงของ เปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina javanica javanica</i>					
สะพานคลองพระ สทิง อ.เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1028)	10	24.3-39.2 31.2 $\pm$ 4.73	18.2-26.48 22.1 $\pm$ 2.77	1.33-1.48 1.41 $\pm$ 0.05	5-6
อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา อ.โคกสูง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1029)	19	24.1-30.1 25.9 $\pm$ 1.54	18.4-21.9 19.8 $\pm$ 1.01	1.24-1.51 1.31 $\pm$ 0.07	5-6
หนองน้ำ ตำบล คลองน้ำใส อ.อรัญ ประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1030)	11	19.3-31.4 26.9 $\pm$ 3.64	15.2-23.5 20.1 $\pm$ 2.48	1.27-1.35 1.34 $\pm$ 0.03	5½ - 6
คลองตาหลัง อ.วังน้ำ เย็น จ.สระแก้ว (SWUMZ 1031)	9	18.6-36.7 28.5 $\pm$ 5.86	15.1-25.5 21.1 $\pm$ 3.69	1.22-1.41 1.35 $\pm$ 0.05	5-6
คลองกุดตะนาวใหญ่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว (SWUMZ 1032)	2	25.9-31.2 28.5 $\pm$ 3.78	21.4-22.7 22.1 $\pm$ 0.95	1.21-1.37 1.29 $\pm$ 0.12	5-6
แพรกกระหมู 2 อ.วัง สมบูรณ์ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1033)	1	21.3	16.2	1.46	5

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วง เปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina javanica javanica</i>					
คลองกะวัดคลอง ใหญ่ อ.วัง สมบูรณ์ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1034)	7	19.0-24.8 22.0 $\pm$ 1.99	15.0-19.5 17.2 $\pm$ 1.77	1.24-1.37 1.28 $\pm$ 0.05	5-5½
<i>Filopaludina martensi martensi</i>					
สะพานพระสทิง อ.เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1035)	1	29.8	23.52	1.27	6
สะพานคลองพระ สทิง อ.เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1036)	16	18.8-39.0 28.7 $\pm$ 5.03	15.0-27.7 21.6 $\pm$ 3.22	1.25-1.41 1.33 $\pm$ 0.05	5-6
คลองมะหุด อ. วัฒนานคร จ. สระแก้ว (SWUMZ 1037)	15	21.8-31.4 27.4 $\pm$ 2.89	16.7-23.1 20.4 $\pm$ 2.43	1.21-1.40 1.35 $\pm$ 0.12	5
อ่างเก็บน้ำบ้าน ศิลา อ.โคกสูง จ. สระแก้ว (SWUMZ 1038)	7	29.1-35.2 32.5 $\pm$ 2.56	20.0-25.5 23.0 $\pm$ 1.87	1.29-1.50 1.41 $\pm$ 0.08	5

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วงเปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของ เปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina martensi martensi</i>					
สะพานบ้านใหม่ อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1039)	1	35	25.2	1.39	5
หนองน้ำ ตำบล คลองน้ำใส อ.อรัญ ประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1040)	5	30.0-39.6 34.0 $\pm$ 4.18	22.0-28.6 24.8 $\pm$ 2.91	1.35-1.37 1.37 $\pm$ 0.01	5-6
อ่างเก็บน้ำคลอง หว่า อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1041)	9	28.5-40.7 35.8 $\pm$ 3.65	19.6-28.8 24.9 $\pm$ 2.52	1.39-1.52 1.44 $\pm$ 0.05	5-6
แพรงกะหลู 2 อ.วัง สมบูรณ์ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1042)	3	31.1-37.6 34.0 $\pm$ 3.29	22.8-28.3 24.7 $\pm$ 3.14	1.33-1.45 1.38 $\pm$ 0.06	6
คลองกะวัดคลอง ใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1043)	13	23.7-39.4 30.5 $\pm$ 4.06	18.7-28.0 23.7 $\pm$ 3.22	0.98-1.41 1.29 $\pm$ 0.11	5

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วงเปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina martensi martensi</i>					
คลองวังจิก อ.วัง น้ำเย็น จ.สระแก้ว (SWUMZ 1044)	3	27.6-36.1 32.0 $\pm$ 4.27	19.7-24.7 22.6 $\pm$ 2.61	1.38-1.46 1.41 $\pm$ 0.04	5
โฮมพุเตย อ.ไทร โยค จ.กาญจนบุรี (SWUMZ 1045)	18	24.5-34.4 23.0 $\pm$ 4.36	18.5-24.0 21.4 $\pm$ 1.90	1.28-1.43 1.38 $\pm$ 0.04	5-6
วัดห้วยมงคล อ. หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1046)	15	26.3-44.2 38.2 $\pm$ 4.41	25.4-34.5 28.9 $\pm$ 2.24	0.76-1.51 1.33 $\pm$ 0.17	5-6
วัดวารีป่าโมกข์ ทะเลสาบสงขลา อ.ระโนด จ.สงขลา (SWUMZ 1047)	11	16.6-30.5 23.0 $\pm$ 4.36	13.2-23.0 17.1 $\pm$ 2.78	1.18-1.44 1.34 $\pm$ 0.10	5-6
ทะเลน้อย อ. ควน ขนุน จ.พัทลุง (SWUMZ 1048)	1	23.5	20.2	1.18	5

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วงเปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูงของ เปลือก/ ความกว้างของเปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina polygramma</i>					
คลองกะวัดคลอง ใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1049)	6	20.3-27.6 23.6 $\pm$ 3.05	13.5-17.8 15.6 $\pm$ 1.59	1.44-1.57 1.50 $\pm$ 0.05	5½ - 6
ฝายคลองกีด ตะนาวใหญ่ อ.วัง น้ำเย็น จ.สระแก้ว (SWUMZ 1050)	4	25.1-28.8 26.9 $\pm$ 1.52	16.6-18.9 17.7 $\pm$ 1.03	1.46-1.59 1.52 $\pm$ 0.05	5-6
คลองตาหลัง อ.วัง น้ำเย็น จ.สระแก้ว (SWUMZ 1051)	2	18.7-24.8 21.8 $\pm$ 4.31	12.5-15.7 14.1 $\pm$ 2.29	1.50-1.58 1.54 $\pm$ 0.06	6
โฮมพุเตย อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี (SWUMZ 1052)	11	18.2-28.5 23.9 $\pm$ 3.01	12.3-17.7 15.9 $\pm$ 1.79	1.36-1.52 1.50 $\pm$ 0.07	5-6
วัดห้วยมงคล อ. ห้วย หิน จ. ประจวบคีรีขันธ์ (SWUMZ 1053)	1	20.0	31.3	0.64	5
ทะเลน้อย อ. ควน ขนุน จ.พัทลุง (SWUMZ 1054)	3	20.4-23.6 21.8 $\pm$ 1.64	13.6-17.8 15.5 $\pm$ 2.25	1.33-1.50 1.44 $\pm$ 0.10	5

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วงเปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina sumatrensis speciosa</i>					
คลองห้วยใหญ่ อ.เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1055)	1	29.0	20.5	1.42	6
คลองพระสึง อ. เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1056)	2	20.1-23.3 21.7 $\pm$ 2.23	14.3-16.2 15.3 $\pm$ 1.35	1.41-1.43 1.42 $\pm$ 0.02	6
อ่างเก็บน้ำท่า กระบาก อ.เมือง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1057)	27	14.6-32.0 26.3 $\pm$ 4.58	11.3-21.9 18.2 $\pm$ 2.65	1.31-1.55 1.44 $\pm$ 0.08	5 – 6
อ่างเก็บน้ำห้วยยาง อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว (SWUMZ 1058)	9	12.4-27.6 18.3 $\pm$ 4.92	9.7-19.0 13.5 $\pm$ 3.10	1.28-1.48 1.35 $\pm$ 0.08	5-6
คลองลำสะโดน อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว (SWUMZ 1059)	3	19.7-29.6 23.4 $\pm$ 5.41	13.1-14.1 16.2 $\pm$ 4.50	1.39-1.51 1.46 $\pm$ 0.06	5-6

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอยขม และสถานที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวน วงเปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของ เปลือก (H/W ratio)	
Filopaludina sumatrensis speciosa					
อ่างเก็บน้ำคลอง ส้มป่อย อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว (SWUMZ 1060)	16	17.8-25.0 20.4±2.30	12.4-17.1 14.4±1.55	1.32-1.59 1.42±0.06	5½ - 6
สะพานตำบล หนองแขว อ.โคกสูง จ.สระแก้ว (SWUMZ 1061)	10	11.2-24.8 18.1±4.31	8.4-19.8 13.1±3.36	1.26-1.50 1.39±0.07	5-6
สะพานบ้านใหม่ อ. อรัญประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1062)	1	17.0	12.0	1.41	5
หนองน้ำตำบล คลองน้ำใส อ.อรัญ ประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1063)	24	17.5-27.7 22.2±2.76	12.7-18.6 15.1±1.59	1.38-1.57 1.5±0.05	6
อ่างเก็บน้ำคลอง ห้วย อ.อรัญ ประเทศ จ.สระแก้ว (SWUMZ 1064)	15	17.2-24.0 21.6±1.88	12.5-16.5 15.1±1.22	1.37-1.51 1.43±0.06	5-6

ตาราง 4 (ต่อ)

สปีชีส์ของหอย ชมและสถานที่ เก็บตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ขนาด, ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มม.)			จำนวนวง เปลือก
		ความสูงของเปลือก (Shell Height: SH)	ความกว้างของเปลือก (Shell Width: SW)	สัดส่วนความสูง ของเปลือก/ ความกว้างของเปลือก (H/W ratio)	
<i>Filopaludina sumatrensis speciosa</i>					
คลองมะหุด	107	14.2- 28.8	10.6-20.2	1.32-1.54	5 - 6
อ.วัฒนานคร		18.1 $\pm$ 3.52	12.8 $\pm$ 2.01	1.41 $\pm$ 0.06	
จ.สระแก้ว (SWUMZ 1065)					
ทะเลน้อย	1	20.1	13.9	1.45	5
อ. ควนขนุน					
จ.พัทลุง (SWUMZ 1066)					

4.2 ชีสเทมาติกส์ของหอยขม

Class Gastropoda

Subclass Caenogastropoda Cox, 1960

Informal Group Architaenioglossa Haller, 1890

Superfamily Viviparoidea Gray, 1847

Family Viviparidae Gray, 1874

Subfamily Bellamyinae Rohrbach, 1937

Genus *Filopaludina* Habe, 19641

Type species. *Filopaludina bengalensis* (Larmark, 1822)

ลักษณะเปลือก เปลือกมีขนาดเล็กถึงใหญ่ มีรูปร่างหลายทรง ได้แก่ ทรงกรวยรูปไข่ (ovately conic), ทรงกรวยกลม (globosely conic) หรือรูปทรงค่อนข้างกลมป้อม (sub-globose) เปลือกแข็ง หนา สีเปลือกเป็นสีเขียว ไปจนถึงสีน้ำตาลหรือสีดำ พบแถบลายสีน้ำตาลปรากฏบนเปลือก

Filopaludina javanica javanica (von dem Busch, 1844)

ภาพประกอบ 24, 27A, 28A – B, 29, 33 A – B

Paludina javanica Morlet, 1889: J. de Conch., 37: 150 (Srakeo). [non-VON DEM BUSCH]

Paludina javanica, Fischer & Dautzenberg, 1904: Miss. Pavie, 3:423 (Conchinchina). [non-VON DEM BUSCH]

รหัสตัวอย่างที่ทำการศึกษา. จังหวัดสระแก้ว: SWUMZ 1028 (ภาพประกอบ 24F) (ตัวเป็น 4 ตัว + เปลือกหอย 6): สะพานคลองพระสทิง อ. เมือง (13°48'34.3"N, 102°03'15.7"E). SWUMZ 1029 (ตัวเป็น 8 ตัว + เปลือกหอย 11 เปลือก): อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา อ. โคกสูง (13°45'55.1"N, 102°39'26.5"E). SWUMZ 1030 (ตัวเป็น 10 ตัว + เปลือกหอย 1 เปลือก): หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ. ราษฎร์ประเทศ (13°34'39.8"N, 102°32'37.2"E). SWUMZ 1031 (ตัวเป็น 9 ตัว): คลองตาหลัง อ.วังน้ำเย็น (13°31'38.3"N, 102°04'26.4"E). SWUMZ 1032 (ตัวเป็น 2 ตัว): คลองกัณฑ์ตะนาวใหญ่ อ.วังน้ำเย็น (13.469716°N 101.977545°E). SWUMZ 1033 (ตัวเป็น 1 ตัว): แพรกกระหมู 2 อ.วังสมบูรณ์ (13.428478°N, 102.009009°E). SWUMZ 1034 (ตัวเป็น 4 ตัว + เปลือกหอย 3 เปลือก): คลองกะวัดคลองใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ (13.298708°N, 102.081403°E).

การกระจายตัว ภาคใต้ ภาคกลางและภาคตะวันออก บางพื้นที่ของภาคกลางตอนบน เช่น จังหวัดชลบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา พบได้บางครั้งบริเวณลาวตอนใต้ กัมพูชา และเวียดนามตอนใต้

มาเลเซีย เกาะชวา สุมาตรา และหลายพื้นที่ของอินโดนีเซีย จากการศึกษาครั้งนี้ในจังหวัดสระแก้ว พบการกระจายตัวบริเวณลุ่มน้ำพระสึง ลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส และลุ่มน้ำย่อยห้วยนางาม

แหล่งที่อยู่อาศัย พบบริเวณอ่างเก็บน้ำ ทั้งในบริเวณที่น้ำนิ่งและน้ำไหล มักจะเกาะตามกิ่งไม้หรือพืชน้ำ

ความแตกต่างของเปลือก หอยขม *F. j. javanica* มีเปลือกขนาดใหญ่กว่า มีสีเปลือกเป็นสีเขียวอมน้ำตาล ลายแถบจางกว่าหอยขมสกุลย่อย *Filopaludina* (ภาพประกอบ 26) ซึ่งมีเปลือกขนาดเล็กกว่า เปลือกสีเหลืองเขียว และมีแถบสีเข้มชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับหอยขม *F. m. martensi* พบความแตกต่างของลักษณะเปลือก โดยหอยขม *F. j. javanica* มีเปลือกขนาดเล็กกว่า เปลือกมีความบางกว่า มีสีเขียวมะกอก - น้ำตาล พบแถบสีจาง ๆ ที่บริเวณวงอื่น ๆ เหนือบอดี้เวิร์ล ที่บอดี้เวิร์ลไม่พบสันนูนตามยาว (spiral ridge) และสะดือเปลือกของ *F. javanica* มักจะพบว่ามี การเปิด ขณะที่ *F. m. martensi* มีเปลือกขนาดใหญ่กว่า เปลือกหนา มีสีเปลือกเข้มกว่า อาจพบ แถบสีจางกว่าหรืออาจไม่พบเลย บอดี้เวิร์ลพบสันนูนตามยาวปรากฏชัดเจน นอกจากนี้สะดือ เปลือกโดยมากมักจะปิดเกือบสนิท (ภาพประกอบ 25) ฝาปิดเปลือกของ *F. j. javanica* มีขนาดเล็กกว่า *F. m. martensi* มีลักษณะแผ่นปิดเปลือกคล้ายกับสกุลย่อย *Filopaludina* แต่แผ่นปิดเปลือก ด้านในไม่เป็นมันเงา และเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างจากแหล่งน้ำในจังหวัดสระแก้ว และตัวอย่างจาก SMF พบว่า *F. j. javanica* จาก SMF มีวงสุดท้ายของเปลือกที่มีความโค้งและป่องมากกว่า มีรูอัมบิลิคัลกว้าง สีเปลือกเข้มกว่า และลวดลายจางกว่าตัวอย่างที่พบในลุ่มน้ำจังหวัดสระแก้ว (ภาพประกอบ 24B) ขณะที่ *F. j. continentalis* จาก SMF จะพบแถบสีเข้มชัดกว่า (ภาพประกอบ 24A)

ลักษณะเปลือก เปลือกขนาดกลาง ทรงกรวยกลม (globosely conic) แต่ลวดโค้ง ร่องระหว่างวงลึก เปลือกแข็งแต่ไม่หนา สีเขียวมะกอก - น้ำตาล ยอดเปลือกมีสีม่วงแดง พบแถบสี น้ำตาลบนวงอื่น ๆ เหนือวงสุดท้ายอย่างน้อย 4 แถบ แถบสีจาง ไม่ชัดเจน พบทั้งเปลือกที่มีการยก ตัวของวงเปลือก (ภาพประกอบ 24C) และเปลือกที่มีบอดี้เวิร์ลค่อนข้างกลมมน (ภาพประกอบ 24D – E) ไม่พบสันนูนตามยาว (spiral ridge) บนเปลือกอาจพบสันนูนตามขวาง (obtuse carina) พบสะดือเปลือก ช่องเปิดเป็นรูปทรงไข่ ปากเปลือกบางเรียบ แผ่นปิดเปลือกเป็นรูปไข่ (almond-shape) หนา สีน้ำตาล ลวดลายแบบคอนเซนทริก (concentric operculum) ด้านในแผ่นปิดเปลือก ไม่เป็นมันเงา รอยกล้ำมเนื้อยึดแผ่นปิดเปลือก (muscle scar) ไม่เรียบ (ภาพประกอบ 27A) โพรโทคอนชี่โปร่ง มีสีน้ำตาล เปลือกมีการยกมุมเป็นสัน พบขน (chaetae) เกาะติดที่บริเวณเทเลคอนชี่ พบลวดลายแบบสไตรต์อี (striae) เรียงตัวตามยาวรอบวงเปลือก จำนวนของแถบสไตรต์อีเพิ่มขึ้น

ตามขนาดของวงเปลือก ร่องระหว่างลวดลายแบบสไตรต์ที่พบลวดลายแบบเทรต (Thread) เรียงตามขวางกับวงเปลือก (ภาพประกอบ 28A – B)

ลักษณะตัวเป็น ลำตัวหอยมีสีเทาอ่อน ส่วนหัวอยู่บริเวณด้านหน้าของลำตัว มีหนวดยื่นยาวออกมา 2 ข้าง พบตาอยู่บริเวณโคนหนวดทั้งคู่ ส่วนปากยื่นยาวออกมาเป็นท่อทรงกระบอก เรียกว่าโพรบอสซิสหรือเสนาห์ (proboscis/ snout) มีสีดำ ทำขนาดใหญ่เป็นกล้ำมเนื้อหนา พบจุดสีส้มแดงจำนวนมาก สีของอวัยวะภายในมีสีอ่อนกว่า ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) อยู่ที่ด้านปลายของลำตัว มีสีเข้ม เพศผู้มีโครงสร้างของหนวดด้านขวาหนาและยาวกว่าเมื่อเทียบกับเพศเมีย อันทะมีสีน้ำตาล เพศเมียมีถุงพักตัวอ่อน ภายในถุงพักตัวอ่อนของเพศเมียที่เจริญพันธุ์มีตัวอ่อนประมาณ 3 – 6 ตัวเต็มความจุของถุงพักตัวอ่อน (ภาพประกอบ 29, 33 A – B)

Filopaludina (Siamopaludina) martensi martensi (Frauenfeld, 1865)

ภาพประกอบ 25, 27B, 28 C – D, 30, 33 C – D

Paludina cingulata Martens, 1860: Proc. Zool. Soc. London, 28: 13 [non MATHERON, 1856] (Siam).

Paludina ingallsiana Reeve, 1863: Conch. Icon., 14: pl.7 fig. 39a, b [non-LEA, 1856] (“Japan”)

Paludina ingallsiana Martens, 1865: Malak. Bl., 12: 145 [non-LEA] (Bangkok, Phetchaburi)

Paludina martensi Frauenfeld 1865: Verh. zool. bot. Ges. Wien, 14: 588 [n. nom.] (Siam).

Paludina ingallsiana Frauenfeld, 1865: Verh. zool. bot. Ges. Wien, 14: 617 [non-LEA] (Japan)

Paludina frauenfeldi Morelet, 1869: J. de Conch., 17: 195 (Bangkok, Phetchaburi)

Paludina chalanguensis Morelet, 1889: J. de Conch., 37: 149 [partim] (Ayuthia)

Vivipara ingallsiana Kobelt, 1908: Conch. Cab., 1, 21a: 201, pl. 41 fig. 3-6, 11-12 [non-LEA, 1856] (Siam)

Vivipara martensiana Kobelt, 1908: Conch. Cab., 1, 21a: 203, pl. 41 fig. 7-8 (Siam).

Vivipara martensiana var. *costellata* Kobelt, 1908: Conch. Cab., 1, 21a: 204, pl. 41 fig. 9-10 (Salang).

Vivipara doliaris [partim, non-GOULD, 1844] and *V. martensi* Suvatti, 1950: Fauna Thailand: 53 (Thailand: many localities).

Bellamyia ingallsiana Haas, 1952: Nat. Hist. Bull. Siam Soc., 15(1) :25 [non-LEA, 1856] (Maenam Ping; Maenam Chao Praya).

Sinotia ingallsiana Ito et al., 1962: Jap. J. med. Sci. Biol., 15 (1): 25 [non-LEA, 1856] (Bangkok).

Sinotia ingallsiana Habe, 1964: Nature & Life Southeast Asia, 3: 45, pl. 1 fig. 12 [non-LEA, 1856] (Bangkok).

Sinotia ingallsiana abnormalis Habe, 1964: Nature & Life Southeast Asia, 3: 46, pl. 1 fig. 20-21 (Bangkok).

Bellamyia (Bellamyia) ingallsiana Solem, 1966: Spolia zool. Mus. Haun., 24: 13 [non-LEA, 1856] (Bangkok).

รหัสตัวอย่างที่ทำการศึกษา.จังหวัดสระแก้ว: SWUMZ 1035 (ตัวเป็น 1 ตัว): สะพานพระสทิง อ. เมือง (13°52'50.7"N, 101°58'56.1"E). SWUMZ 1036 (ตัวเป็น 3 ตัว + เปลือกหอย 13 เปลือก): สะพานคลองพระสทิง อ.เมือง (13°48'34.3"N, 102°03'15.7"E). SWUMZ 1037 (ตัวเป็น 9 ตัว + เปลือกหอย 6 เปลือก): คลองมะหุด อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว (13.796918"N, 102.337402"E). SWUMZ 1038 (ตัวเป็น 2 ตัว + เปลือกหอย 5 เปลือก): อ่างเก็บน้ำบ้านศิลา อ.โคกสูง (13°45'55.1"N, 102°39'26.5"E). SWUMZ 1039 (ตัวเป็น 1 ตัว): สะพานบ้านใหม่-หนองเทา อ.อรัญประเทศ (13.705989"N, 102.481630"E). SWUMZ 1040 (ตัวเป็น 2 ตัว + เปลือกหอย 3 เปลือก): หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ. อรัญประเทศ (13°34'39.8"N, 102°32'37.2"E). SWUMZ 1041 (ตัวเป็น 2 ตัว + เปลือกหอย 7 เปลือก): อ่างเก็บน้ำคลองหว่า อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว (13.510583"N 102.323103"E). SWUMZ 1042 (ตัวเป็น 1 ตัว + เปลือกหอย 2 เปลือก): แพรกกะหมู 2 อ.วังสมบูรณ์ (13.428478"N, 102.009009"E). SWUMZ 1043 (ตัวเป็น 9 ตัว + เปลือกหอย 4 เปลือก): คลองกะวัดคลองใหญ่ อ.วังสมบูรณ์ (13.298708"N, 102.081403"E). SWUMZ 1044 (ตัวเป็น 1 ตัว + เปลือกหอย 2 เปลือก): คลองวังจิก อ.วัฒนานคร (13.624100"N, 102.116533"E).

จังหวัดกาญจนบุรี: SWUMZ 1045 (ตัวเป็น 18 ตัว): โสมพุเตย อ.ไทรโยค (14°19'40.0"N, 98°58'06.0"E).

จังหวัดประจวบคีรีขันธ์: SWUMZ 1046 (ตัวเป็น 15 ตัว): วัดห้วยมงคล อ. หัวหิน (12°33'05.1"N 99°49'27.9"E).

จังหวัดสงขลา: SWUMZ 1047 (ตัวเป็น 11 ตัว): วัดวารีปาโมกข์

ทะเลสาบสงขลา อ.ระโนด (7°47'49.9"N, 100°15'52.4"E). **จังหวัดพัทลุง:** SWUMZ 1048 (ตัวเป็น 1 ตัว): ทะเลน้อย อ. ควนขนุน (7°46'48.9"N, 100°07'23.5"E).

การกระจายตัว ทั่วทุกภาคของประเทศไทย จากการศึกษาครั้งนี้ในจังหวัดสระแก้ว พบการกระจายตัวบริเวณลุ่มน้ำพระสทิง ลุ่มน้ำย่อยห้วยพรหมโหด ลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส และลุ่มน้ำย่อยห้วยนางาม

แหล่งที่อยู่อาศัย พบได้ในทั่วไปตามระบบนิเวศแหล่งน้ำที่หลากหลาย เช่น แม่น้ำ คลอง บ่อ ทะเลสาบ หรือบริเวณที่น้ำไหลแรง เช่น น้ำตก อาจพบว่าฝังตัวอยู่ใต้ตะกอนใต้น้ำหรือเกาะตามกิ่งไม้หรือพืชน้ำ

ความแตกต่างของเปลือก เมื่อเปรียบเทียบกับหอยขมสกุลย่อย *Filopaludina* (ภาพประกอบ 26) หอยขม *F. m. martensi* จะมีเปลือกขนาดใหญ่กว่า สีเปลือกเป็นสีเขียวมะกอก ไปจนถึงสีน้ำตาล-ดำตามการเจริญเติบโตของหอย แล็บสีจางหรือแทบไม่ปรากฏ ขณะที่หอยขมสกุลย่อย *Filopaludina* จะมีเปลือกขนาดเล็กกว่า สีเหลืองเขียว แล็บสีเข้มชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับภายในสกุลย่อย *Siamopaludina* พบว่า *F. m. martensi* มีเปลือกขนาดใหญ่กว่า เปลือกหนา มีสีเปลือกเข้มกว่า อาจพบแล็บสีจางกว่าหรืออาจไม่พบเลย ที่บอดี้เวิร์ลพบสันนูนตามยาวปรากฏชัดเจน สะดือเปลือกมักจะปิดเกือบสนิท ขณะที่ *F. javanica* มีเปลือกขนาดเล็กกว่า เปลือกมีความบางกว่า มีสีเขียวมะกอก – น้ำตาล พบแล็บสีจาง ๆ ที่บริเวณวงอื่น ๆ เหนือวงสุดท้าย แต่เด่นชัดกว่า ที่บอดี้เวิร์ลไม่พบสันนูนตามแนวยาว (spiral ridge) และสะดือเปลือกของ *F. javanica* มักจะพบว่ามีารเปิด (ภาพประกอบ 24) และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะเปลือก *F. m. martensi* จากแหล่งน้ำในจังหวัดสระแก้วตัวอย่างจากแหล่งน้ำจังหวัดอื่น ๆ และตัวอย่างจาก SMF โดยตัวอย่าง SMF 219259 มีรูปทรงเปลือกที่ป้อมกว่า และมีบอดี้เวิร์ลที่ป่องออกมากกว่า ขณะที่ตัวอย่างเปลือกจากลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้วและตัวอย่างจากแหล่งน้ำในจังหวัดอื่น ๆ พบลักษณะความแปรผันของรูปทรงเปลือก ได้แก่ ความสูงของสไปร์ ความป่องบอดี้เวิร์ล สีเปลือก (ภาพประกอบ 25)

ลักษณะเปลือก เปลือกขนาดใหญ่ ทรงกรวยกลม (globosely conic) แต่จะวงโค้ง ร่องระหว่างวงลึก เปลือกแข็ง หนา สีเขียวม่น้ำตาล และมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำเมื่ออายุมากขึ้น พบแล็บสีน้ำตาลบนวงอื่น ๆ เหนือบอดี้เวิร์ลอย่างน้อย 4 แล็บ แล็บสีจางไม่ชัดเจน โพรโทคอนซ์มักสึกกร่อน มีการยกตัวของวงเปลือกเป็นสัน บอดี้มีขนาดใหญ่ พบสันนูนตามแนวยาว (spiral ridge) ยื่นออกมาเด่นชัด โดยจะวนรอบเปลือกขนานไปกับร่องระหว่างวง ขอบเปลือกหนา มีสีขาว (milky-white callus) ปากเปลือกหนาและกว้าง สะดือเปลือกปิด แผ่นปิดเปลือกหนากว้าง สีน้ำตาล มีชั้นหนา ๆ ซ้อนกันหลายชั้น ลวดลายแบบคอนเซนทริก (concentric operculum) รอย

กล้ามเนื้อยึดแผ่นปิดเปลือก (muscle scar) กว้าง ไม่เรียบ บริเวณรอบ ๆ มีสีเหลืองทอง (ภาพประกอบ 27B) โพรโทคอนซ์โปรง มีสีน้ำตาล เปลือกมีการยกมุมเป็นสัน พบขน (chaetae) จำนวนมากเกาะติดที่บริเวณวงเปลือก ลวดลายแบบสไตรต์ (striae) เรียงตัวตามยาวรอบวงเปลือก และมีการยกตัวนูนสูงกว่า *F. javanica* จำนวนของแถบสไตรต์เพิ่มขึ้นตามขนาดของวงเปลือก ร่องระหว่างลวดลายแบบสไตรต์ที่พบลวดลายแบบเทรต (Thread) เรียงตามขวางกับวงเปลือก (ภาพประกอบ 28C – D)

ลักษณะตัวเป็น ลำตัวหอยมีสีเทาอ่อน ส่วนหัวอยู่ด้านหน้าของลำตัว มีหนวดหรือเทนท์ เคลื่อนยาวออกมา 2 ข้าง ตาอยู่บริเวณโคนหนวดทั้งคู่ ส่วนปากยื่นยาวออกมาเป็นท่อทรงกระบอก เรียกว่าโพรบอสซิสหรือเสนาท์ (proboscis/ snout) มีสีดำ ทั่วขนาดใหญ่เป็นกล้ามเนื้อหนา พบจุดสีส้มและลวดลายแบบร่างแหจำนวนมาก สีของอวัยวะภายในมีสีอ่อนกว่า ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) อยู่ที่บริเวณด้านปลายของลำตัว มีสีเข้ม เพศผู้มีโครงสร้างของเทนท์เคลื่อนด้านขวาหน้าและยาวกว่าเมื่อเทียบกับเพศเมีย อังทะมีสีน้ำตาลแดง เพศเมียมีต่อมสร้างไขอยู่ถัดลงมาจากต่อมย่อยอาหารและอยู่ติดกับบริเวณด้านปลายของถุงพักตัวอ่อน ภายในถุงพักตัวอ่อนของเพศเมียที่เจริญพันธุ์มีตัวอ่อนขนาดใหญ่ ประมาณ 6 – 10 ตัว เต็มความจุของถุงพักตัวอ่อน (ภาพประกอบ 30, 33 C – D)

Filopaludina polygramma (E. von Martens, 1860)

ภาพประกอบ 26A – D, 27C, 28E – F, 31, 33 E – F

Paludina polygramma Martens, 1860: Proc. Zool. Soc. London, 28: 13 (Siam).

Paludina lineolata Reeve, 1863: Conch. Icon., 14; pl. 9 fig. 50 [non FREUENFELD, 1862 = *sumatrensis* DUNKER] (Siam).

Paludina sumatrensis Morelet, 1869: J. de Conch., 17: 199 [partim, non-DUNKER] (Cochinchina).

Vivipara lineolata Kobelt, 1907: Conch. Cab., 1, 21a: 144. pl. 28 fig. 12-13 [non-REEVE] (Siam)

Vivipara bengalensis [partim] and *V. doliaris* [partim] Suvatti 1950: Fauna Thailand: 52 (Thailand, many localities).

Viviparus filiosus Ito et al., 1962: Jap. Med. Sci. Biol., 15: 250, fig. 2 [partim, non-REEVE] (Nontaburi).

Sinotaia (Filopaludina) bengalensis (sic!) *filosa* Habe, 1964: Nature Life Southeast Asia, 3: 48, pl. 1 fig. 13-14 [non-REEVE] (Bangkok).

รหัสตัวอย่างที่ทำการศึกษา.จังหวัดสระแก้ว: SWUMZ 1049 (ตัวเป็น 4 ตัว + เปลือกหอย 2 เปลือก): คลองกะวัดคลองใหญ่ อ. วังสมบูรณ์ (13.298708"N, 102.081403"E). SWUMZ 1050 (ตัวเป็น 3 ตัว + เปลือกหอย 1 เปลือก): ฝ่ายคลองกัตตะนาวใหญ่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว (13°32'02.2"N, 102°03'00.8"E). SWUMZ 1051 (ตัวเป็น 2 ตัว): คลองตาหลัง อ.วังน้ำเย็น (13°31'38.3"N, 102°04'26.4"E). **จังหวัดกาญจนบุรี:** SWUMZ 1052 (ตัวเป็น 11 ตัว): โสมพุเตย อ.ไทรโยค (14°19'40.0"N, 98°58'06.0"E). **จังหวัดประจวบคีรีขันธ์:** SWUMZ 1053 (ตัวเป็น 1 ตัว): วัดห้วยมงคล อ. หัวหิน (12°33'05.1"N, 99°49'27.9"E). **จังหวัดพัทลุง:** SWUMZ 1054 (ตัวเป็น 3 ตัว): ทะเลน้อย อ. ควนขนุน (7°46'48.9"N, 100°07'23.5"E).

การกระจายตัว ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย จังหวัดกาญจนบุรี ลพบุรี อุบลราชธานี นครปฐม ชัยนาท นครศรีธรรมราช สุโขทัย พิษณุโลก กาฬสินธุ์ หนองคาย อุดรธานี ขอนแก่น และพังงา ในบางครั้งพบบริเวณตอนใต้ของประเทศเมียนมาร์ และเมืองย่างกุ้ง จากการศึกษาครั้งนี้ในจังหวัดสระแก้ว พบการกระจายตัวบริเวณลุ่มน้ำพระสทั้ง

แหล่งที่อยู่อาศัย พบบริเวณอ่างเก็บน้ำ คลอง ลำน้ำ ทั้งในบริเวณที่น้ำนิ่งและน้ำไหล มักจะเกาะตามกิ่งไม้หรือวัชพืชใต้น้ำ

ความแตกต่างของเปลือก หอยขม *F. polygramma* มีเปลือกขนาดเล็กกว่า สีเหลืองเขียว พบแถบสีเข้มชัดเจน เปลือกเรียบกลมมน ไม่มีการยกมุมของเปลือกหรือสัน ต่างกับสกุลย่อย *Siamopaludina* ที่มีเปลือกขนาดใหญ่กว่า มีสีเปลือกเป็นสีเขียวมะกอก ไปจนถึงสีน้ำตาล-ดำตามการเจริญเติบโตของหอย แถบสีจางหรือแทบไม่ปรากฏ มีการยกมุมของเปลือก และมีสันนูนตามยาวเด่นชัด (ภาพประกอบ 24 – 25) เมื่อเปรียบเทียบภายในสกุลย่อย *Filopaludina* พบว่าในลักษณะแถบสีสามารถใช้แยกความแตกต่างได้ โดย *F. polygramma* จะพบแถบสีชัดเจนที่บริเวณครึ่งวงล่างประมาณ 4 – 5 แถบ *F.* ขณะที่ *F. sumatrensis speciosa* จะพบแถบสีแค่บริเวณครึ่งวงบนของเปลือกเท่านั้น นอกจากนี้เปลือกของ *F. polygramma* ค่อนข้างเรียวยาวและมีขนาดใหญ่กว่า *F. sumatrensis speciosa* แผ่นปิดเปลือกด้านในมีความมันวาวเหมือนกับ *F. sumatrensis speciosa* แต่มีรูปร่างที่เรียวกว่า (ภาพประกอบ 26E – F) และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง *F. polygramma* จากลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้ว ตัวอย่างจากแหล่งน้ำจังหวัดอื่น ๆ และตัวอย่างจาก SMF พบว่ามีลักษณะเปลือกที่คล้ายคลึงกัน แต่ตัวอย่างจาก SMF มีสีเปลือกที่เข้มกว่า และวงเปลือกแต่ละวงมีความโค้งมนกว่า สำหรับตัวอย่างจากแหล่งน้ำจาก

จังหวัดอื่น ๆ พบว่ามีบอดีเวิร์ลใหญ่และป่องออกมากกว่าตัวอย่างจากลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้ว (ภาพประกอบ 26A – D)

ลักษณะเปลือก เปลือกขนาดกลาง ทรงกรวยรูปไข่ (conoidal ovate) หนาปานกลาง เปลือกเรียบ ยอดเปลือกยกสูง แต่ละวงค่อนข้างโค้ง มีร่องระหว่างวงลึก ผิวเปลือกเรียบเป็นมันเงา สีเหลืองเขียว มีแถบสีวนรอบเปลือกสีดำหรือน้ำตาลเข้ม พบอย่างน้อย 4 แถบในวงอื่น ๆ และพบแถบในบอดีเวิร์ลประมาณ 2 – 3 แถบจากบริเวณครึ่งล่างของวงเปลือกจนถึงส่วนฐานของวงสุดท้าย เปลือกไม่มีการยักตัว บอดีเวิร์ลกลมมน ไม่พบสันนูน ขอบปากเปลือกบางและคม ฝาปิดเปลือกแบนบาง ค่อนข้างใส สีน้ำตาลแดง มีลวดลายแบบคอนเซนทริก ด้านในแผ่นปิดเปลือกเป็นมันเงา รอยกล้ำเนื้อยึดฝา (muscle scar) แคม ไม่เรียบ (ภาพประกอบ 27C) โพรโทคอนซีปรง มีสีน้ำตาล เปลือกมีการยกมุมเป็นสัน พบขน (chaetae) เกาะติดที่บริเวณวงเปลือกข้างเล็กน้อย พบแถบสีน้ำตาลดำ (spiral band) จำนวน 6 แถบ ระหว่างแถบลายสีพบลวดลายแบบเทรต (Thread) เรียงตามขวางกับวงเปลือก (ภาพประกอบ 28E – F)

ลักษณะตัวเป็น ลำตัวหอยมีสีเทาอ่อน ส่วนหัวอยู่ด้านหน้าของลำตัว มีหนวดยื่นยาวออกมา 2 ข้าง ตาอยู่บริเวณโคนหนวดทั้งคู่ ส่วนปากยื่นยาวออกมาเป็นท่อทรงกระบอกเรียกว่าโพรบอสซิสหรือเสนาท์ (proboscis/ snout) มีสีดำ เท้าขนาดใหญ่เป็นกล้ามเนื้อหนา พบจุดสีส้มจำนวนมาก สีของอวัยวะภายในมีสีอ่อนกว่า ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) อยู่ที่ด้านปลายของลำตัว มีสีเข้ม เพศผู้มีโครงสร้างของเททาเคลด้านขวาหนาและยาวกว่าเมื่อเทียบกับเพศเมีย อวัยวะมีน้ำตาต เพศเมียมีต่อมสร้างไข่อยู่ถัดลงมาจากต่อมย่อยอาหารและอยู่ติดกับบริเวณด้านปลายของถุงพักตัวอ่อน ภายในถุงพักตัวอ่อนของเพศเมียที่เจริญพันธุ์มีตัวอ่อนขนาดเล็กประมาณ 10 – 15 ตัว เต็มความจุของถุงพักตัวอ่อน (ภาพประกอบ 31, 33 E – F)

Filopaludina sumatrensis speciosa (Deshayes, 1876)

ภาพประกอบ 26, 27D, 28 E – F, 32, 33 E – F

Paludina speciosa Deshayes, 1876: DESHAYES & JULLIEN, Nouv. Arch. Mus. Paris, 10: 142, pl.6 fig. 17-18 (Cambodia: Peam Chelang).

Paludina sumatrensis Morlet, 1869: J. de Conch., 17: 199 [partim, non-DUNKER] (l'Indo-Chine).

Paludina bengalensis Morlet, 1889: J. de Conch., 37: 150 [non-LAMARCK] (Cambodia; Thailand).

Vivipara doliaris Suvatti, 1950: Fauna Thailand: 52 [partim, non-GOULD] (Laem Sing).

Viviparus filiosus Ito et al., 1962: Jap. J. med. Sci. Biol., 15: 250, fig. 2 [partim, non-REEVE] (Mahasarakam).

รหัสตัวอย่างที่ทำการศึกษา.จังหวัดสระแก้ว: SWUMZ 1055 (ตัวเป็น 1 ตัว): คลองห้วยใหญ่ อ.เมือง (13°51'47.7"N, 102°05'17.9"E). SWUMZ 1056 (ตัวเป็น 2 ตัว): คลองพระสทิง อ. เมือง (13°52'50.7"N, 101°58'56.1"E). SWUMZ 1057 (ตัวเป็น 2 ตัว + เปลือกหอย 25 เปลือก): อ่างเก็บน้ำท่ากระบาก อ.เมือง (13°58'16.5"N, 102°15'50.2"E). SWUMZ 1058 (ตัวเป็น 6 ตัว + เปลือกหอย 3 เปลือก): อ่างเก็บน้ำห้วยยาง อ.ตาพระยา (14°00'47.8"N, 102°38'39.2"E). SWUMZ 1059 (ตัวเป็น 1 ตัว + เปลือกหอย 2 เปลือก): คลองลำสะโตน อ.ตาพระยา (14°03'05.2"N, 102°53'07.9"E). SWUMZ 1060 (ตัวเป็น 12 ตัว + เปลือกหอย 4 เปลือก): อ่างเก็บน้ำคลองส้มป่อย อ.ตาพระยา จ.สระแก้ว (14°07'17.8"N, 102°51'59.9"E). SWUMZ 1061 (ตัวเป็น 6 ตัว + เปลือกหอย 4 เปลือก): สะพานตำบลหนองแวง อ.โคกสูง (13°50'48.1"N, 102°38'15.3"E). SWUMZ 1062 (ตัวเป็น 1 ตัว). สะพานบ้านใหม่-หนองเทา อ.อรัญประเทศ (13°70'59.89"N, 102°48'16.30"E). SWUMZ 1063 (ตัวเป็น 1 ตัว + เปลือกหอย 23): หนองน้ำตำบลคลองน้ำใส อ.อรัญประเทศ (13°34'39.8"N, 102°32'37.2"E). SWUMZ 1064 (ตัวเป็น 2 ตัว + เปลือกหอย 13 เปลือก): อ่างเก็บน้ำคลองหว่า อ.อรัญประเทศ (13.510583°N, 102.323103°E). SWUMZ 1065 (ตัวเป็น 100 ตัว + เปลือกหอย 7 เปลือก): คลองมะหุด อ.วัฒนานคร (13.796918°N, 102.337402°E). **จังหวัดพัทลุง:** SWUMZ 1066 (ตัวเป็น 1 ตัว): ทะเลน้อย อ.ควนขนุน (7°46'48.9"N, 100°07'23.5"E).

การกระจายตัว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย จังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ หนองคาย อุดรธานี อุบลราชธานี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด นครพนม สกลนคร สุรินทร์ ศรีสะเกษ พิจิตร โขงเจียม ชัยนาท อุดรธานี จันทบุรี ปราจีนบุรี นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ยะลา ปัตตานีและพังงา รวมทั้งพบในบริเวณตอนกลางและตอนใต้ของประเทศลาว กัมพูชา เวียดนามตอนใต้ จากการศึกษาครั้งนี้ในจังหวัดสระแก้ว พบการกระจายตัวบริเวณตอนต้นลุ่มน้ำพระสทิง ลุ่มน้ำย่อยห้วยพรหมโหด ลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส ลุ่มน้ำย่อยห้วยลำสะโตน และลุ่มน้ำห้วยตะเคียน

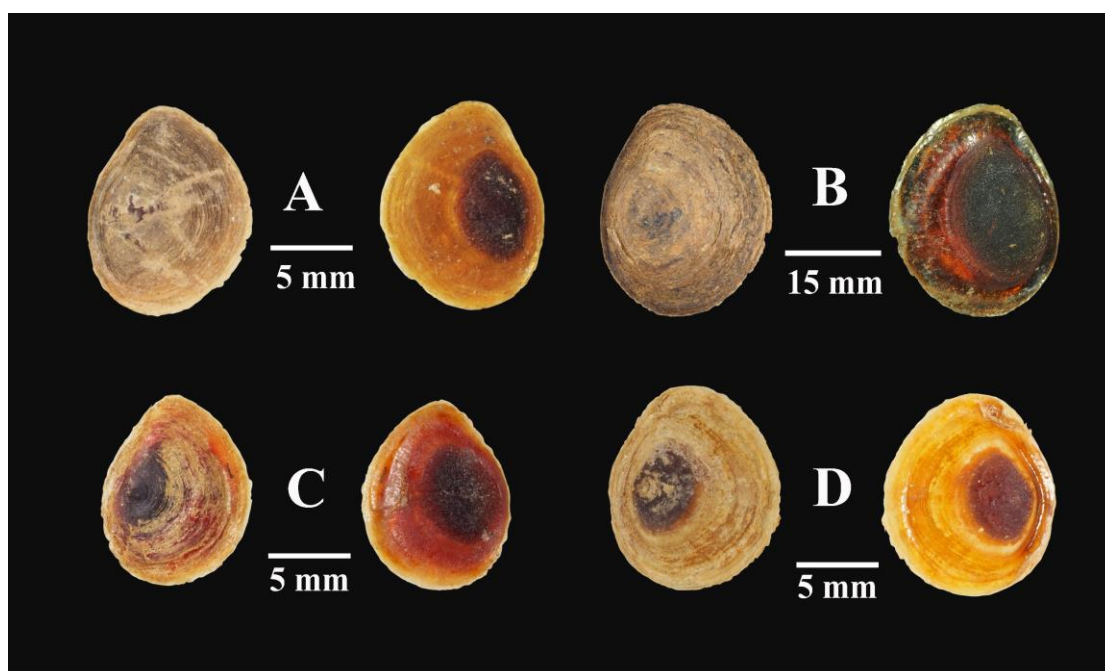
แหล่งที่อยู่อาศัย พบบริเวณอ่างเก็บน้ำ คลอง ลำน้ำ ทั้งในบริเวณที่น้ำนิ่งและน้ำไหล มักจะเกาะตามกิ่งไม้หรือวัชพืชใต้น้ำ พบในพื้นที่ที่มีตะกอนใต้น้ำเป็นดินเหนียวปนกรวดทราย

ความแตกต่างของเปลือก หอยขม *F. s. speciosa* มีเปลือกขนาดเล็กกว่า สีเหลืองเขียว แถบสีเข้มชัดเจน เปลือกเรียบกลมมน ไม่มีการยกมุมของเปลือกหรือสันนูน ต่างกับหอยขมสกุลย่อย *Siamopaludina* ที่มีเปลือกขนาดใหญ่กว่า มีสีเปลือกเป็นสีเขียวมะกอก ไปจนถึงสีน้ำตาล-ดำ ตามการเจริญเติบโตของหอย แถบสีจางหรือแทบไม่ปรากฏ มีการยกมุมของเปลือก และมีสันนูนตามยาวเด่นชัดเจน (ภาพประกอบ 24 – 25) เมื่อเปรียบเทียบกับภายในสกุลย่อย *Filopaludina* พบว่าลักษณะลายแถบสามารถใช้แยกความแตกต่างได้ ใน *F. sumatrensis speciosa* จะพบลายแถบแค่บริเวณครึ่งวงบนของเปลือกเท่านั้น แต่ใน *F. polygramma* จะพบลายแถบชัดเจนที่บริเวณครึ่งวงล่างประมาณ 4 – 5 แถบ นอกจากนี้เปลือกของ *F. sumatrensis speciosa* ค่อนข้างป้อมและมีขนาดเล็กกว่า *F. polygramma* (ภาพประกอบ 26A-D) แผ่นปิดเปลือกด้านในมีความมันวาวเหมือนกับ *F. polygramma* แต่มีรูปร่างที่กลมกว่า (ภาพประกอบ 27D) และเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่าง *F. s. speciosa* จากแหล่งน้ำในจังหวัดสระแก้ว และตัวอย่างจาก SMF พบว่าตัวอย่าง *F. s. speciosa* จาก SMF มีรูปแบบของแถบสีที่มีความคล้ายคลึงกันกับตัวอย่างจากจังหวัดสระแก้ว แต่ตัวอย่างจาก SMF มีสีเปลือกที่เข้มกว่า และมีปลายยอดที่เรียวกว่าตัวอย่างจากจังหวัดสระแก้ว (ภาพประกอบ 26E – F)

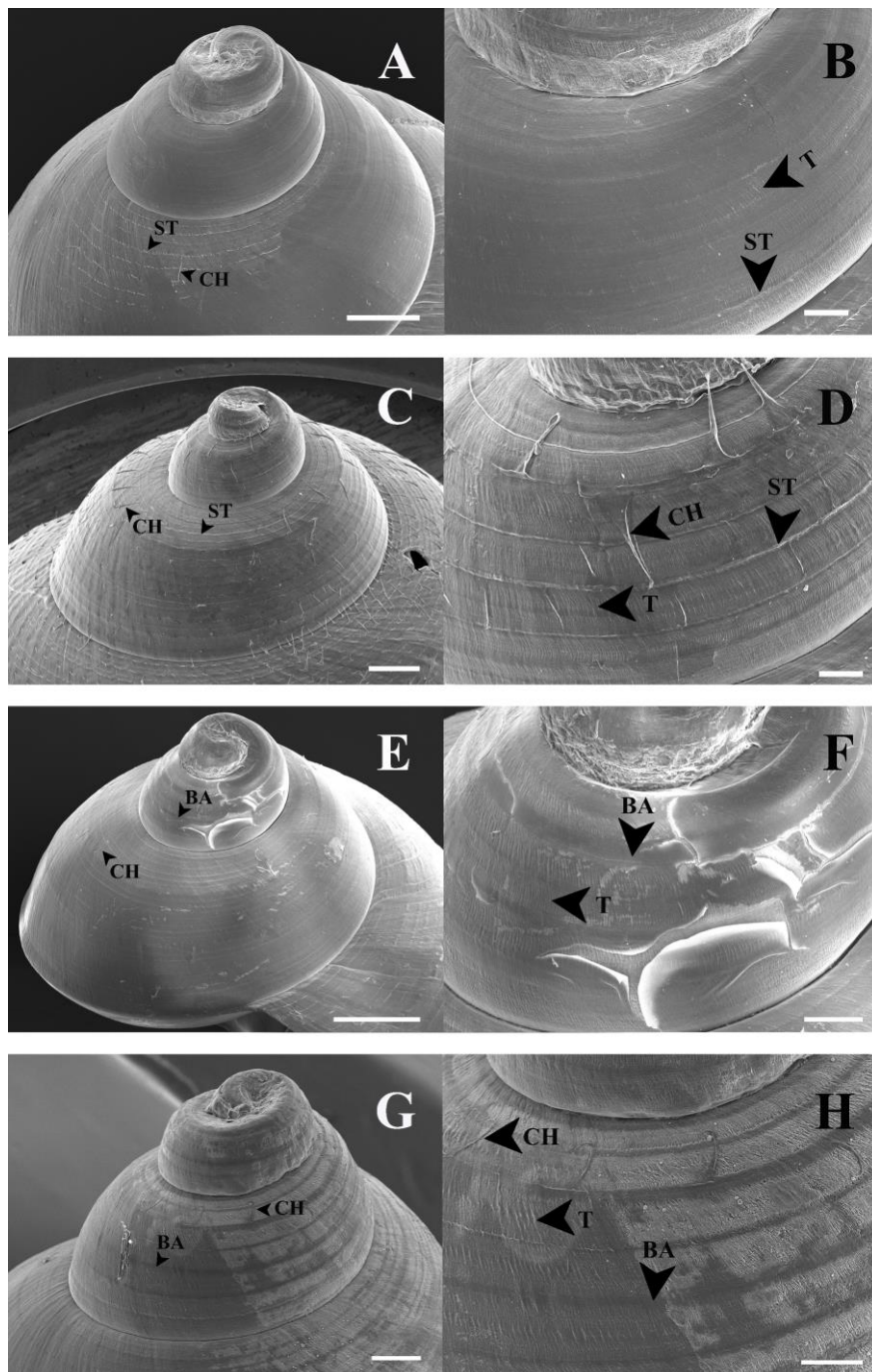
ลักษณะเปลือก มีเปลือกขนาดกลาง ทรงกรวยรูปไข่ (conoidal ovate) หนาปานกลาง ยอดเปลือกยกสูง แต่ละวงค่อนข้างโค้ง มีร่องระหว่างวงลึก ผิวเปลือกเรียบเป็นมันเงา ลักษณะคล้ายกับ *F. polygramma* ปลายยอดมักมีการสึกกร่อน พบแถบลายสีน้ำตาล-ดำชัดเจนเฉพาะครึ่งวงบนของเปลือกเท่านั้น ขอบปากเปลือกบางและคม บอติเวิร์ลกลมมน ไม่พบสันนูน แผ่นปิดเปลือกแบนบาง ค่อนข้างใส สีน้ำตาล-เหลือง มีลวดลายแบบคอนเซนทริก (concentric operculum) ด้านในแผ่นปิดเปลือกเป็นมันเงา รอยกล้ำมเนื้อยึดแผ่นปิดเปลือก (muscle scar) แคบ ไม่เรียบ (ภาพประกอบ 27D) โพรโทคอนท์โปร่ง มีสีน้ำตาล เปลือกมีการยกมุมเป็นสัน พบขน (chaetae) เกาะติดที่บริเวณวงเปลือกบ้างเล็กน้อย พบแถบสีน้ำตาล-ดำ (spiral band) จำนวน 6 แถบ ระหว่างแถบลายสีพบลวดลายแบบเทรต (Thread) เรียงตามขวางกับวงเปลือก (ภาพประกอบ 28G – H)

ลักษณะตัวเป็น ลำตัวหอยมีสีเทาอ่อน ส่วนหัวอยู่ด้านหน้าของลำตัว มีหนวดยื่นยาวออกมา 2 ข้าง ตาอยู่บริเวณโคนหนวดทั้งคู่ ส่วนปากยื่นยาวออกมาเป็นท่อทรงกระบอกเรียกว่าโพรบอสซิสหรือเสนาห์ (proboscis/ snout) มีสีดำ ทั่วขนาดใหญ่เป็นกล้ำมเนื้อหนา พบจุดสีส้มจำนวนมาก สีของอวัยวะภายในมีสีอ่อนกว่า ต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) อยู่ที่ด้านปลายของลำตัว มีสีเข้ม เพศผู้มีโครงสร้างของเทนท์เคลด้านขวาหนาและยาวกว่าเมื่อเทียบกับเพศเมีย อัณฑะมีสีน้ำตาลแดง เพศเมียมีต่อมสร้างไข่อยู่ถัดลงมาจากต่อมย่อยอาหารและอยู่ติดกับบริเวณด้านปลายของถุง

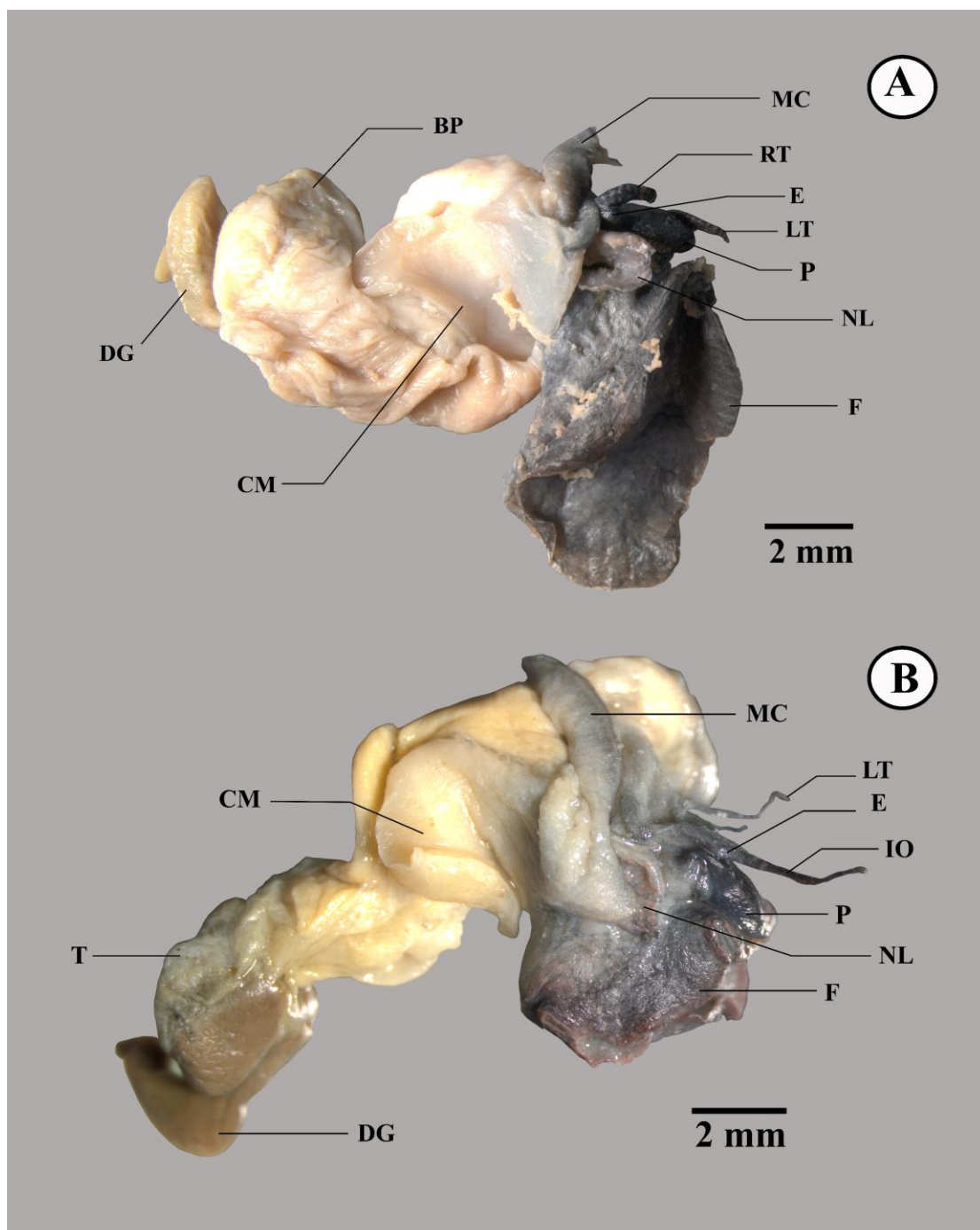
พักตัวอ่อน ภายในถุงพักตัวอ่อนของเพศเมียที่เจริญพันธุ์มีตัวอ่อนขนาดเล็ก ประมาณ 7 – 8 ตัว
เต็มความจุของถุงพักตัวอ่อน (ภาพประกอบ 32, 33 G – H)



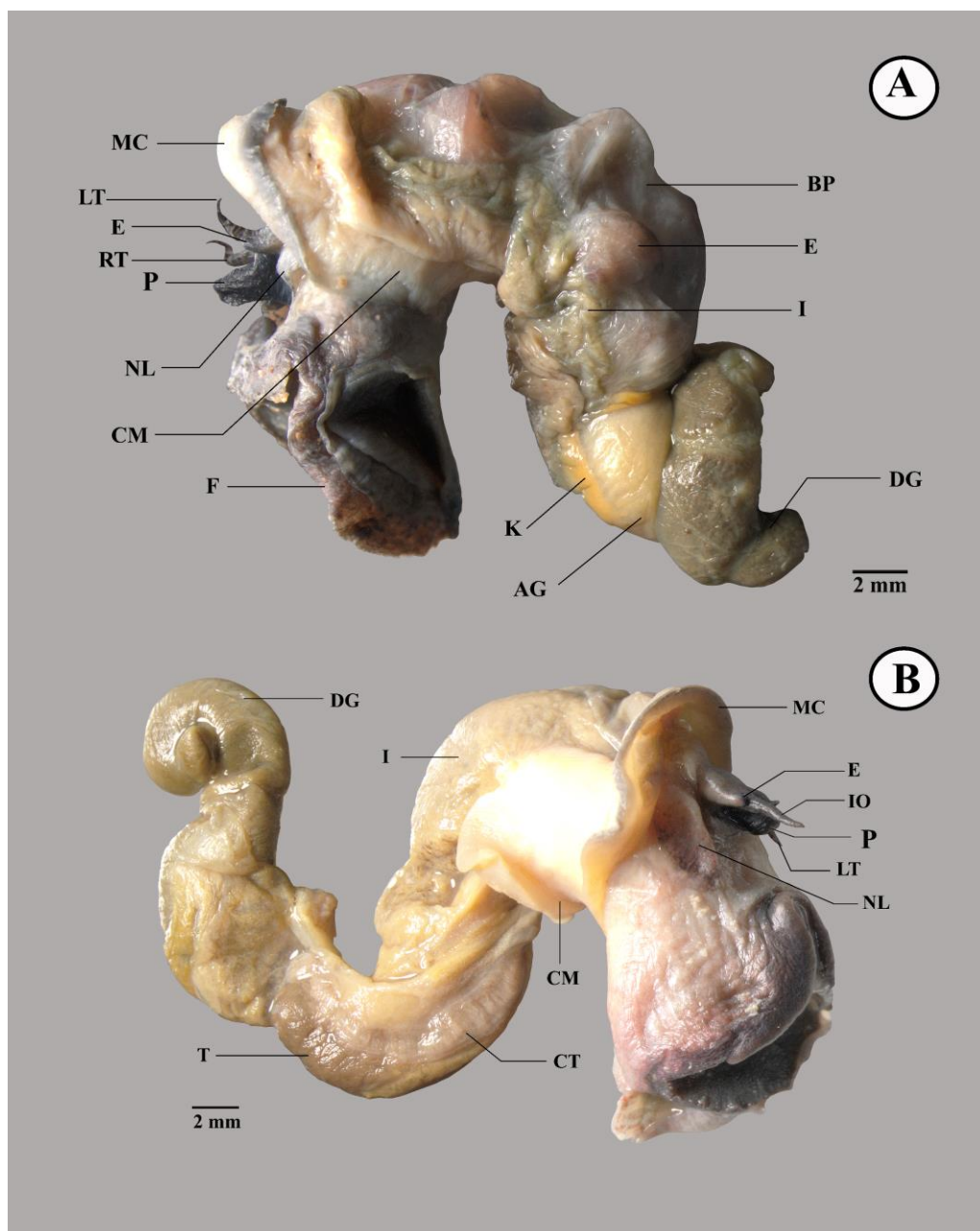
ภาพประกอบ 27 ลักษณะฝาปิดเปลือก (operculum) ของหอยขมแต่ละสปีชีส์ (ซ้าย = ด้านนอก, ขวา = ด้านใน); A = *F. javanica*, B = *F. martensi martensi*, C = *F. polygramma*, D = *F. sumatrensis speciosa*



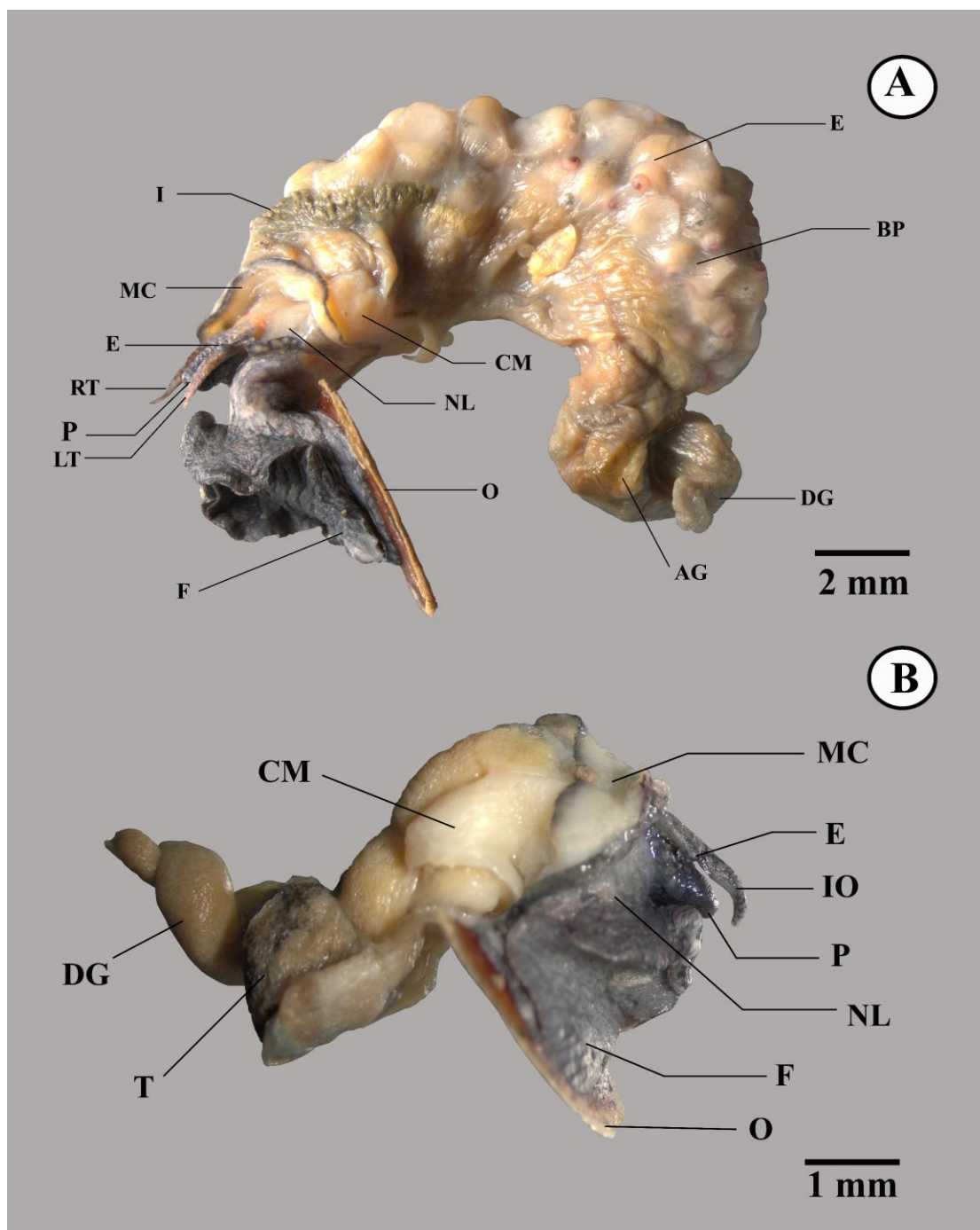
ภาพประกอบ 28 ลักษณะของโพรโทคอนทรีในระยะตัวอ่อนของหอยขมสกุล
Filopaludina; A-B = *F. j. javanica*, C - D = *F. m. martensi*, E – F = *F.*
polygramma, G-H = *F. sumatrensis speciosa* (scale bar = 100 μ m (B, D, F, H),
 200 μ m (G) และ 500 μ m (A, C, E) (BA = Band; CH = Chaetae; T = Thread; ST
 = Striae)



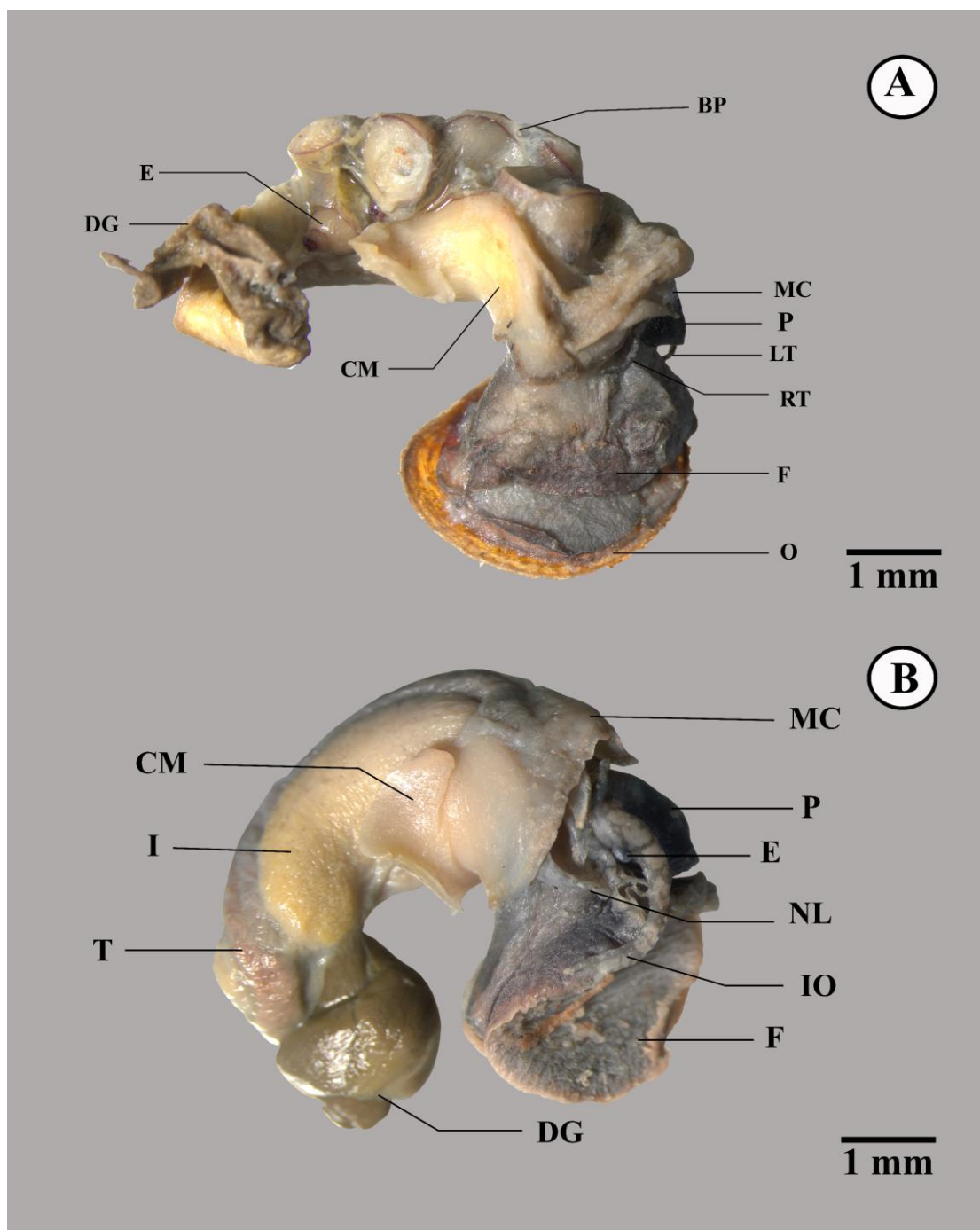
ภาพประกอบ 29 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. javanica* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (BP = Brood pouch; CM = Columella muscle; DG = Digestive gland; E = Eye; F = Foot; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis)



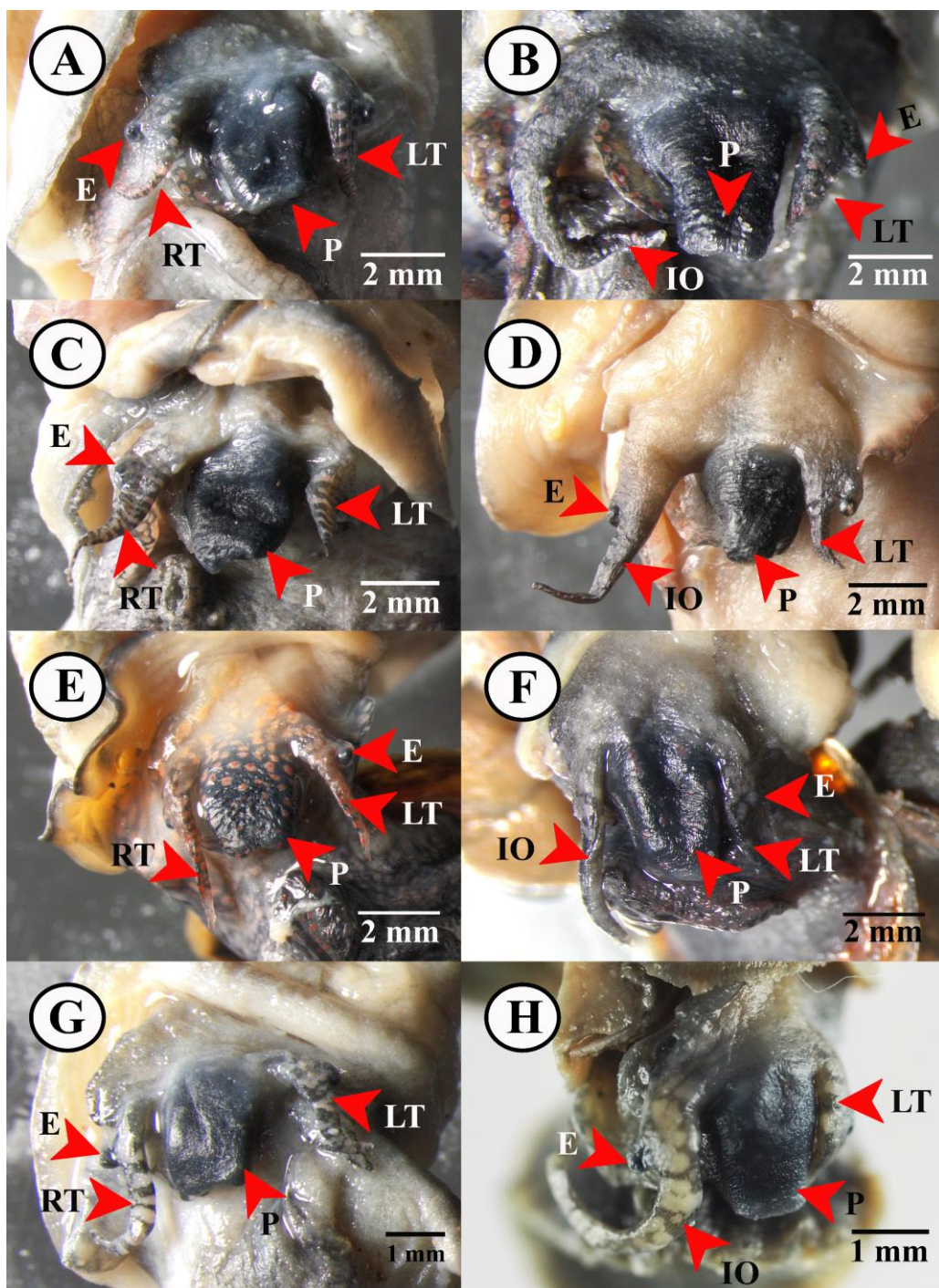
ภาพประกอบ 30 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. m. martensi* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (AG = Albumin gland; BP = Brood pouch; CM = Columella muscle; CT = Ctenidium; DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; K = Kidney; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis)



ภาพประกอบ 31 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. polygramma* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (AG = Albumin gland; BP = Brood pouch; CM = Columella muscle DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; O = Operculum; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis)



ภาพประกอบ 32 ลักษณะของโครงสร้างภายในของหอยขม *F. s. speciosa* เพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) (BP = Brood pouch; CM = Columella muscle DG = Digestive gland; E = Eye; EM = Embryo; F = Foot; I = Intestine; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle; MC = Mantle collar; NL = Nuchal lobe; O = Operculum; P = Proboscis; RT = Right tentacle; T = Testis)



ภาพประกอบ 33 ลักษณะโครงสร้างส่วนหัวของหอยขมแต่ละสปีชีส์ (ซ้าย = เพศเมีย, ขวา = เพศผู้); A – B = *F. javanica*, C – D = *F. martensi martensi*, E – F = *F. polygramma*, G – H = *F. sumatrensis speciosa*. (E = Eye; IO = Intromittent organ; LT = Left tentacle, P = Proboscis, R = Right tentacle)

4.3 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหอยขมสกุล *Filopaludina* จำนวนทั้งหมด 39 ตัวอย่าง ที่ได้จากการเก็บรวบรวมตามลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้ว และแหล่งน้ำจากจังหวัดอื่น ๆ ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส สามารถแสดงผลได้ดังนี้

ยีน *16S rRNA* วิเคราะห์ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาด 398 คู่เบส มี 31.5% G+C content โดยแบ่งเป็นเบสในตำแหน่งที่ไม่มีความหลากหลาย (invariable sites) 321 คู่เบส ตำแหน่งที่มีความหลากหลาย (variable sites) 77 คู่เบส (19.4%) และตำแหน่งที่ให้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (parsimony informative) มี 74 คู่เบส (18.6%)

ยีน *COI* วิเคราะห์ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาด 589 คู่เบส มี 35.3 % G+C content โดยแบ่งเป็นเบสในตำแหน่งที่ไม่มีความหลากหลาย (invariable sites) 441 คู่เบส ตำแหน่งที่มีความหลากหลาย (variable sites) 148 คู่เบส (25.1%) และตำแหน่งที่ให้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (parsimony informative) มี 132 คู่เบส (22.4 %)

ยีน *16S + COI* วิเคราะห์ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาด 987 คู่เบส มี 33.7 % G+C content โดยแบ่งเป็นเบสในตำแหน่งที่ไม่มีความหลากหลาย (invariable sites) 763 คู่เบส ตำแหน่งที่มีความหลากหลาย (variable sites) 224 คู่เบส (22.7%) และตำแหน่งที่ให้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (parsimony informative) มี 204 คู่เบส (20.7%)

ตาราง 5 ขนาดของผลิตภัณฑ์, % G+C content, ตำแหน่งที่ไม่มีความหลากหลาย (invariable sites), ตำแหน่งที่มีความหลากหลาย (variable sites) และตำแหน่งที่ให้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (parsimony informative)

ชุดข้อมูล	DNA Product size (bp)	% G+C content	Invariable sites (bp)	Variable sites (bp)	Parsimony informative (bp)
ยีน <i>16S rRNA</i>	398	31.5	321	77	74
ยีน <i>COI</i>	589	35.3	441	148	132
ยีน <i>16S + COI</i>	987	33.7	763	224	204

4.4 ผลการทดสอบโมเดลทางวิวัฒนาการ

โมเดลทางวิวัฒนาการที่ได้จากชุดข้อมูลมีดังนี้

1. 16S *rRNA* คือ TIM3 + I + G
2. *COI* คือ TIM3 + I + G
3. *COI* + 16S *rRNA* คือ GTR + I + G

4.5 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

จากการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมสำหรับการสร้างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี ML และ BI สามารถสร้างรูปแบบแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ทั้งหมด 3 ชุดข้อมูล ได้แก่ 16S *rRNA*, *COI* และ 16S *rRNA* + *COI* ดังภาพประกอบ 34 – 37 พบว่ามีรูปแบบของความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่สอดคล้องกัน โดยที่รูปแบบแผนความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของชุดข้อมูล 16S *rRNA* + *COI* มีค่าสนับสนุน (Bayesian posterior probability และ ML bootstrap) สูงที่สุด โดยสีแดงถึงสีเขียวหอยขม (ภาพประกอบ 34)

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ทำการวิเคราะห์จากชุดข้อมูล 16S *rRNA* + *COI* ของหอยขมสกุล *Filopaludina* แสดงรูปแบบวิวัฒนาการสายเดี่ยว (monophyletic group) มีค่าสนับสนุนของ Bayesian posterior probability และ ML bootstrap (BPP/ML) เป็น 1/97 โดยแยกความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ได้แก่ เป็น 2 เคลด คือ

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด I-II (0.74/-) และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างเคลด III-VIII (1/-) ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเคลด I-II สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย คือ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด I (1/99) และ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด II (1/98) ต่อมาเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเคลด III-VIII สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย คือ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด III (1/79) และ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด IV-VIII (0.83/-) โดย เคลด IV-VIII นี้สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย ประกอบด้วย ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด IV (1/51) และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VI-VIII (0.9/-) ซึ่งเคลด V-VIII สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย คือ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด V (1/-) และ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VI-VIII (1/88) ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VI-VIII สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย คือ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VI (0.99/69) และ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VII-VIII (0.94/56) ความสัมพันธ์ทาง

วิวัฒนาการเคลด VII-VII สามารถแบ่งเป็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการย่อย คือ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VII (1/91) และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VIII (0.95/63) ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในแต่ละเคลดย่อย โดยองค์ประกอบแต่ละเคลดดังนี้ (ภาพประกอบ 35)

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด I (สีม่วง) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. m. martensi* จากบริเวณตอนต้นของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง รวมทั้งตัวอย่างจากแหล่งน้ำในจังหวัดขอนแก่น ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด II (สีเขียว) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* ในพื้นที่อาศัยเดียวกัน บริเวณตอนต้นของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง และตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. m. martensi* จากบริเวณลุ่มน้ำโตนเลสาบ ลุ่มน้ำย่อยห้วยนางาม

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด III (สีน้ำเงิน) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. m. martensi* จากบริเวณลุ่มน้ำโตนเลสาบ ลุ่มน้ำย่อยห้วยพรหมโหดและคลองน้ำใส และตอนกลางไปจนถึงตอนปลายของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง รวมทั้งตัวอย่างหอยขมจากแหล่งน้ำในจังหวัดกาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลา และพัทลุง และตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. javanica* จากลุ่มน้ำโตนเลสาบ ลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส และบริเวณตอนปลายของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด IV (สีเหลือง) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* จากพื้นที่อาศัยเดียวกันบริเวณตอนปลายของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด V (สีฟ้า) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. javanica* จากบริเวณแขนงสายแม่น้ำที่แยกไปทางทิศตะวันออกจากบริเวณตอนกลางของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VI (สีส้ม) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. polygramma* จากบริเวณตอนกลางและตอนปลายของกลุ่มน้ำคลองพระสทิง

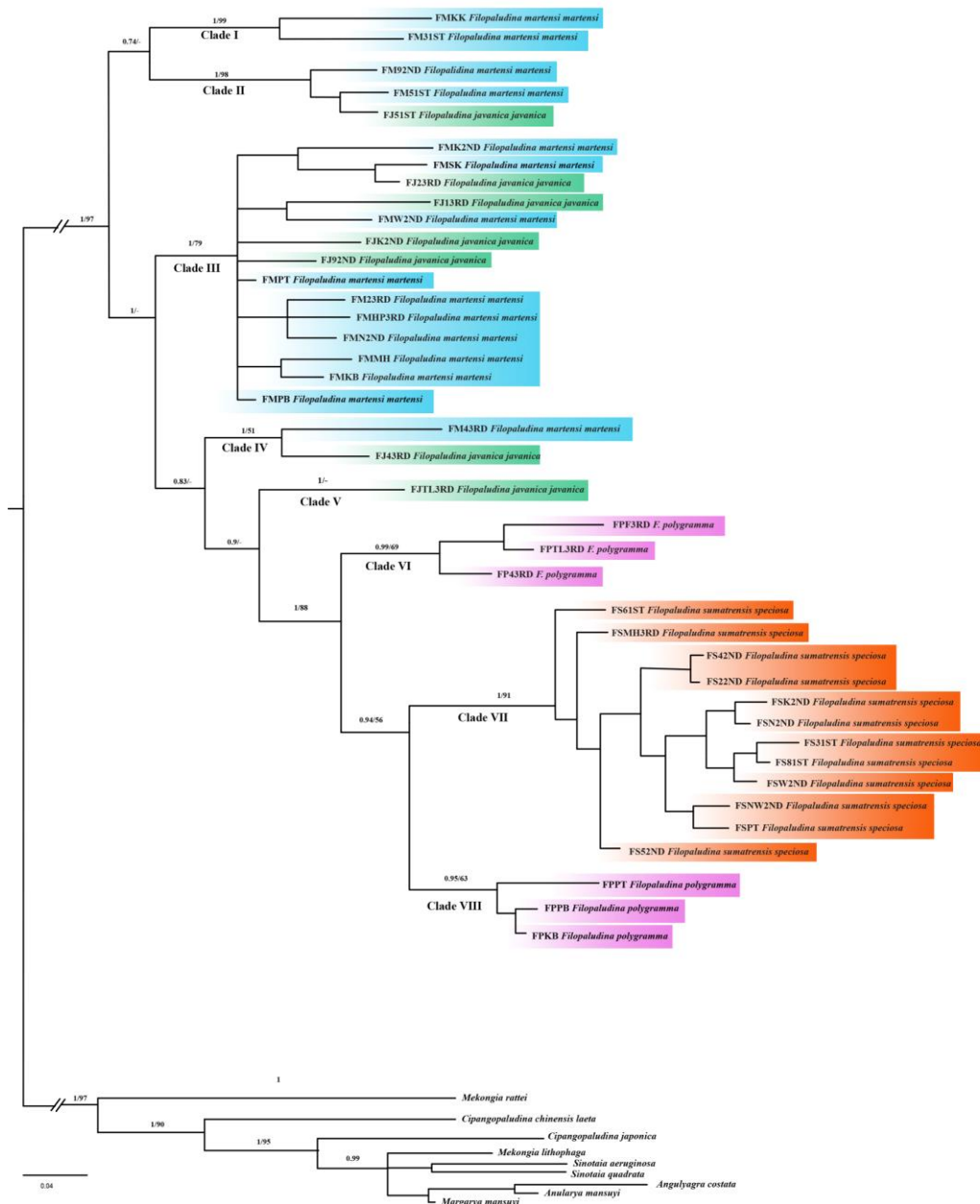
ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VII (สีแดง) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. s. speciosa* จากบริเวณลุ่มน้ำคลองพระสทิง ลุ่มน้ำพระปรัง และลุ่มน้ำโตนเลสาบ รวมทั้งตัวอย่างหอยขมของหอยขม *F. s. speciosa* จากแหล่งน้ำในจังหวัดพัทลุง

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเคลด VIII (สีชมพู) ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมของ *F. polygramma* จากแหล่งน้ำในจังหวัดพัทลุง ประจวบคีรีขันธ์ และกาญจนบุรี

4.6 ผลการวิเคราะห์ขอบเขตของสปีชีส์

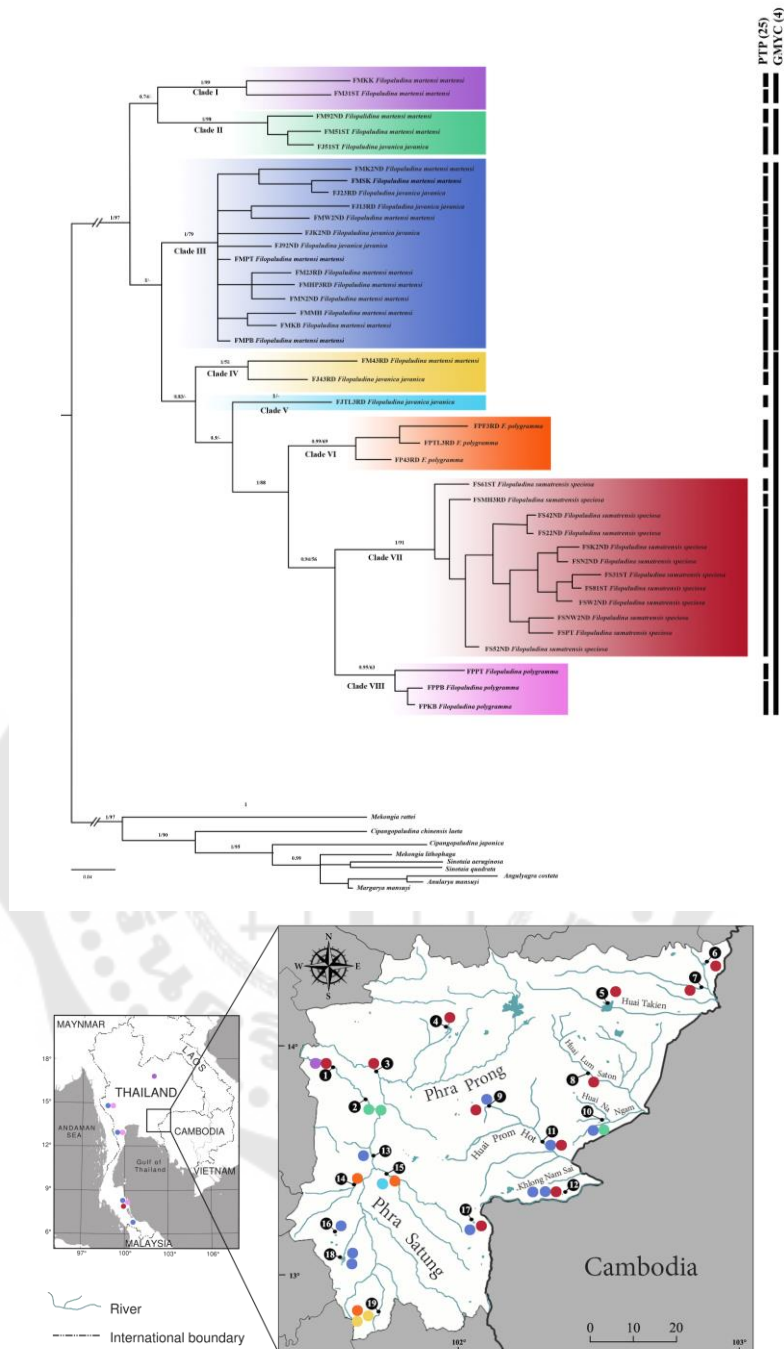
จากการวิเคราะห์ขอบเขตของสปีชีส์หอยขมสกุล *Filopaludina* จากการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ พบหอยขมสกุล *Filopaludina* ทั้งหมด 4 สปีชีส์ ได้แก่ *F. polygramma*, *F. sumatrensis speciosa*, *F. javanica javanica*, *F. martensi martensi* โดยการวิเคราะห์ขอบเขตสปีชีส์ด้วยวิธี PTP สามารถแบ่งจำนวนสปีชีส์ของหอยขมได้ถึง 25 สปีชีส์ ขณะเดียวกันวิธี GMYC สามารถแบ่งจำนวนสปีชีส์ของหอยขมได้ทั้งหมด 4 สปีชีส์ (ภาพประกอบ 34, 35)



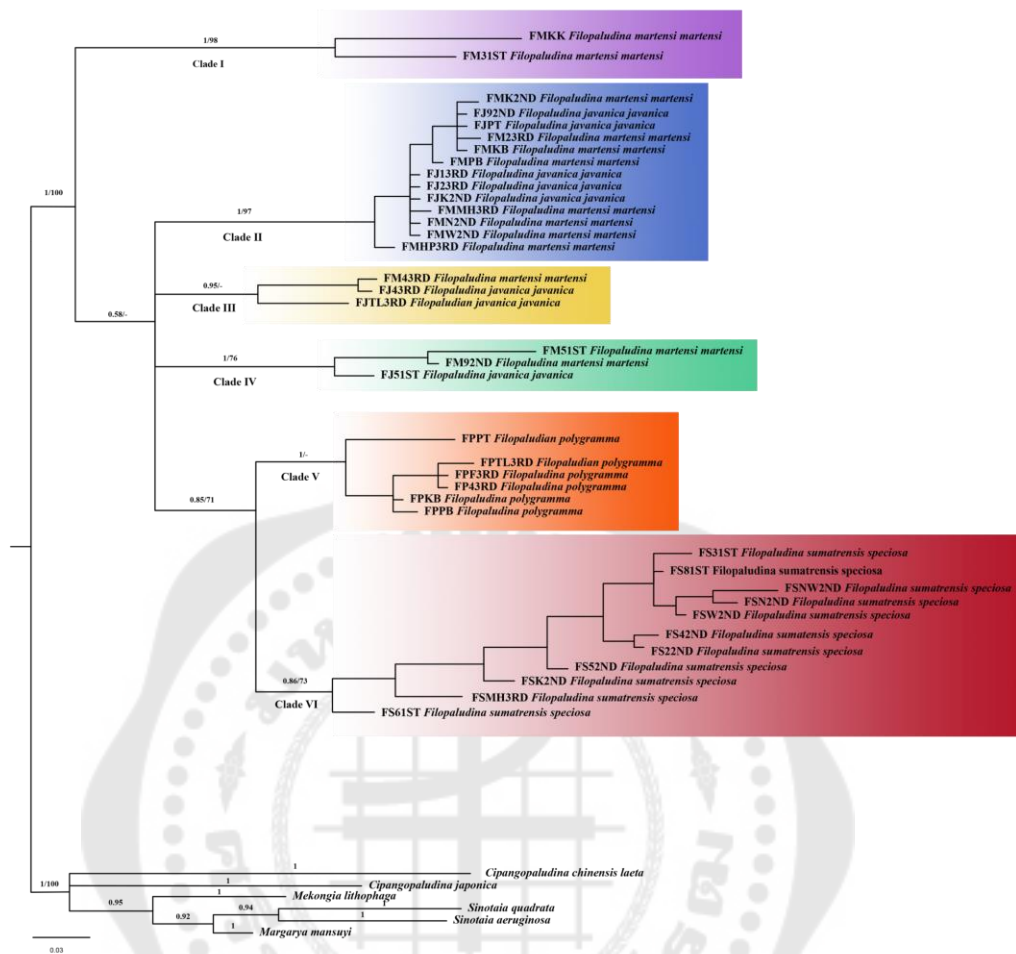


ภาพประกอบ 34 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน 16S *rRNA* + *COI* สีแสดงถึงสปีชีส์ของหอยขม ตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap) และแถบดำด้านข้างแสดงจำนวนสปีชีส์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี PTP และ

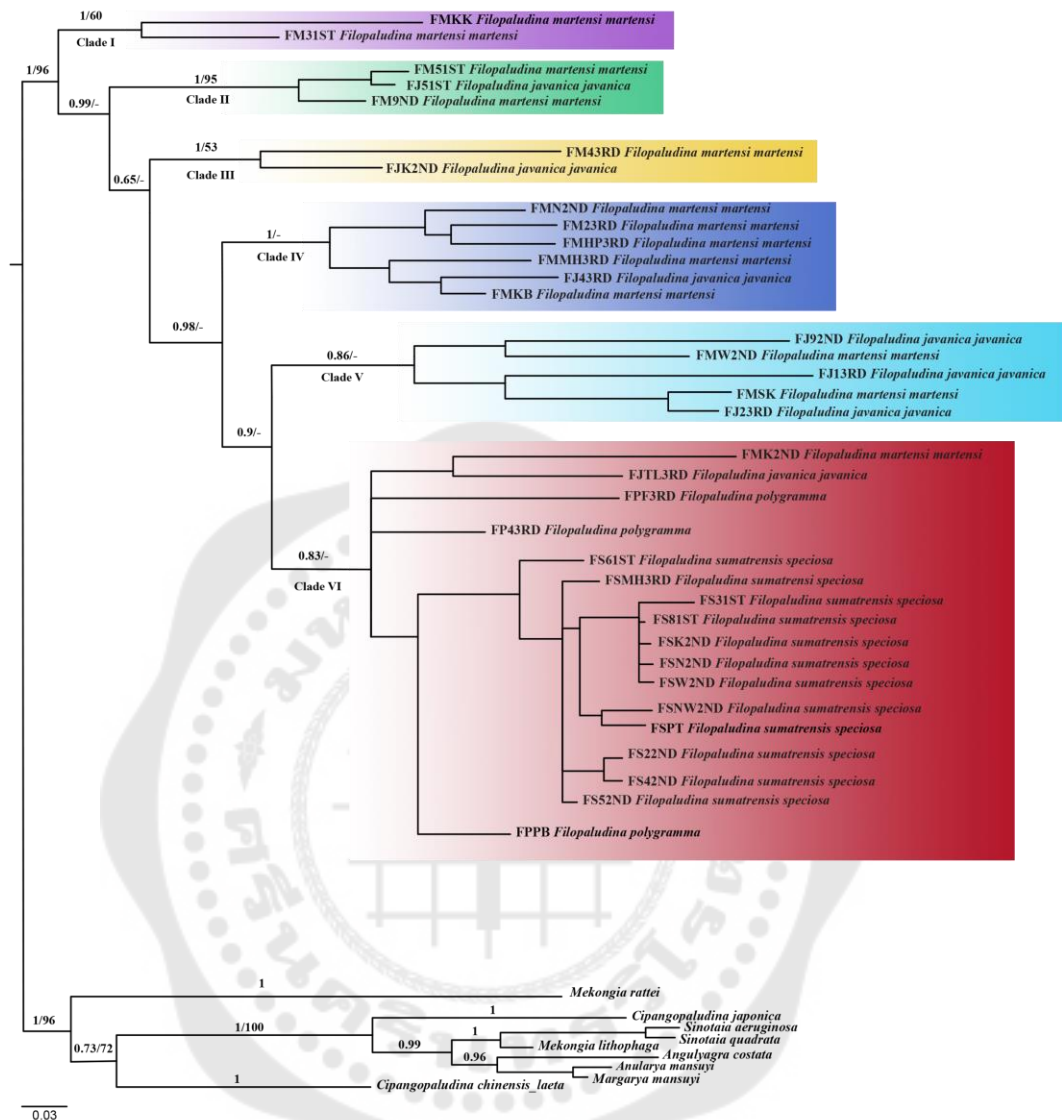
GMYC



ภาพประกอบ 35 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน 16S *rRNA* + *COI* สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเคลด ตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap) และแถบดำด้านล่างแสดงจำนวนสปีชีส์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี PTP และ GMYC



ภาพประกอบ 36 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน 16S rRNA สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเคลดตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap)



ภาพประกอบ 37 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมสกุล *Filopaludina* วิเคราะห์ด้วยวิธี BI และ ML โดยอาศัยข้อมูลจากยีน COI สีแสดงถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเคลดตัวเลขตรงจุดแยกแสดงค่าสนับสนุน (posterior probability/ML bootstrap)

4.7 การประเมินการแบ่งแยกทางวิวัฒนาการระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

เมื่อทำการคำนวณค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรม (uncorrected p-distance) ในความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเซลล์ จากความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการทั้ง 8 เซลล์ ได้ผลดังนี้

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการทั้ง 8 เซลล์เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยยีน *16S rRNA* พบว่ามีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมภายในความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการต่ำ ($I = 0.00$, $II = 0.00$, $III = 0.00$, $IV = 0.00$, $V = 0.03$, $VI = 0.02$, $VII = 0.00$, $VIII = 0.03$) และมีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ต่ำเช่นกัน (ค่าระหว่าง 0.017 – 0.12)

ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการทั้ง 8 เซลล์เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยยีน *COI* พบว่ามีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมภายในความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการต่ำ ($I = 0.12$, $II = 0.11$, $III = 0.12$, $IV = 0.00$, $V = 0.03$, $VI = 0.00$, $VII = 0.08$, $VIII = 0.02$) และมีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ต่ำเช่นกัน (ค่าระหว่าง 0.06 - 0.14)

ตาราง 6 ค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรม (p – distance) ของยีน *16S rRNA/ COI* ระหว่างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแต่ละเซลล์

เซลล์	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I	-							
II	0.10/0.13	-						
III	0.12/0.13	0.07/0.11	-					
IV	0.11/0.12	0.08/0.10	0.03/0.12	-				
V	0.11/0.13	0.09/0.12	0.08/0.11	0.08/0.12	-			
VI	0.12/0.11	0.08/0.11	0.07/0.11	0.07/0.07	0.09/0.10	-		
VII	0.12/0.14	0.07/0.12	0.06/0.11	0.06/0.10	0.08/0.11	0.02/0.07	-	
VIII	0.11/0.12	0.10/0.12	0.09/0.13	0.08/0.09	0.10/0.12	0.06/0.06	0.06/0.08	-

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การระบุสปีชีส์หอยขมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกตามวิธีของ Brandt (1974) และลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ สามารถจำแนกสปีชีส์ของหอยขมลาย *F. polygramma* และ *F. s. speciosa* ได้ โดยใช้ลักษณะการมีลวดลายบริเวณเปลือก รูปทรงและความเรียวยาวของเปลือก และจำนวนเอ็มบริโอในถุงฟักตัวอ่อน ขณะที่การจำแนกเปลือกระหว่าง *F. m. martensi* กับ *F. javanica* ยังมีความคลุมเครือ โดย *F. m. martensi* พบสันนูนเกิดขึ้นในวงสุดท้ายของเปลือก ไม่มีสะดือเปลือก และสีของเปลือกเข้มกว่า *F. javanica* จากการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของเปลือก พบความแปรผัน เช่น ความเข้มของลวดลาย ขนาดของเปลือก ความหนาของเปลือก ความเข้มของสีเปลือก ซึ่งความแปรผันของเปลือกดังกล่าวสามารถพบได้ในกลุ่มหอยน้ำจืดในสกุลอื่น ๆ เช่น *Littoraria* Griffith & Pidgeon, 1834, *Ancylus* O. F. Müller, 1773 (Andrade & Solferini, 2005; Hornbach et al., 2010; Liu et al., 2003; Pfenninger et al., 2003; Sousa da Mata et al., 2019) ในด้านกายวิภาคศาสตร์พบโครงสร้างของหนวดด้านขวา สามารถนำมาใช้ในการแยกเพศของหอยในสกุล *Filopaludina* ได้ ซึ่งพบว่าในหอยเพศผู้ พบหนวดที่มีความหนาและยาวกว่าเพศเมียอย่างชัดเจน เนื่องจากโครงสร้างของหนวดมีการเชื่อมต่อกับโครงสร้างสืบพันธุ์ของเพศผู้ที่เรียกว่า copulatory organ นอกจากนี้ยังพบก้อนอัณฑะ (testis) มีสีน้ำตาลหรือแดงเข้มอยู่ในบริเวณด้านท้ายของลำตัว ในเพศเมียจะพบถุงฟักตัวอ่อนมีลักษณะเป็นเยื่อบางใส ที่บรรจุตัวอ่อนอยู่ภายใน ดังเช่นการรายงานที่พบในหอยสกุลอื่น ๆ ของหอยในวงศ์ Viviparidae เช่น *Sinotaia*, *Cipangopaludina* และ *Rivularia* (Cuezzo & Ovando, 2012; Van Bocxlaer & Strong, 2016; Van Bocxlaer et al., 2018)

จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยขมทั้ง 4 สปีชีส์ ได้แก่ *F. javanica*, *F. m. martensi*, *F. polygramma* และ *F. s. speciosa* พบว่าสามารถแบ่งเคลดได้เป็น 8 เคลด แบบ monophyly โดยพบเคลด VI และ VIII ที่มีการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในสปีชีส์เดียวกัน คือ *F. polygramma* และเคลด VII คือ *F. s. speciosa* มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นแบบโมโนไฟเลติก ซึ่งสนับสนุนโดยค่าทางสถิติ และสอดคล้องกับการจัดจำแนกโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือก และภูมิศาสตร์ของกลุ่มน้ำ ขณะที่เคลด I – IV ประกอบด้วย *F. javanica* และ *F. m. martensi* กระจายตัวในแต่ละเคลด และเคลด V พบสปีชีส์เดียวคือ *F. javanica* ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ไม่สอดคล้องกับลักษณะทางภูมิศาสตร์ของกลุ่มน้ำ

ในขณะที่ผลการวิเคราะห์การกำหนดขอบเขตสปีชีส์โดยวิธี PTP ค่อนข้างเป็นวิธีที่ประเมินจำนวนสปีชีส์ที่สูงมากเกินไป (25 สปีชีส์) ขณะเดียวกันการกำหนดขอบเขตของสปีชีส์ด้วยวิธี GMYC (4 สปีชีส์) มีการประเมินจำนวนสปีชีส์ไว้ใกล้เคียงกับการสร้างแผนภูมิต้นไม้ด้วยวิธี BI และ ML มากกว่าวิธี PTP สำหรับการประเมินสปีชีส์ที่สูงเกินไปนี้สามารถเกิดขึ้นได้ ซึ่งพบได้ในหลายงานวิจัย โดยมีสาเหตุมาจากการแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับสปีชีส์และระหว่างสปีชีส์ที่สูง (Lang et al., 2015; Talavera et al., 2013; Zhang et al., 2013; ผ่องพรรณ ประสารกก, 2562)

จากการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยขมสกุล *Filopaludina* พบว่ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่ต่ำ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาระยะห่างทางพันธุกรรมของหอยขมสกุล *Filopaludina* บริเวณลุ่มแม่น้ำโขง ซึ่งประกอบด้วย *F. m. martensi*, *F. m. cambodjensis* และ *F. polygramma* (Krairut et al., 2020) ดังนั้นการเพิ่มเติมข้อมูลความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการอาจทำได้โดยการศึกษาและเก็บตัวอย่างหอยขมจากแหล่งน้ำในจังหวัดอื่น ๆ ของประเทศไทย และประเทศข้างเคียง เช่น กัมพูชา ลาว และพม่า

เมื่อทำการวิเคราะห์รายละเอียดในความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแต่ละเคลดจะพบว่าเคลด VI – VIII ประกอบด้วยหอยขมในสกุลย่อย *Filopaludina* ได้แก่ *F. polygramma* และ *F. s. speciosa* โดยหอยขม *F. polygramma* มีการแบ่งความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็น 2 เคลดแยกกัน คือ เคลด VI และเคลด VIII โดยเคลด VI พบการกระจายตัวของหอยขมได้เฉพาะบริเวณลุ่มน้ำคลองพระสทิง โดยพบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างตัวอย่างจากคลองพระสทิง และคลองตาหลังใกล้ชิดกันมากกว่า ตัวอย่างที่ได้จากคลองกะวัดคลองใหญ่ที่อยู่ในบริเวณตอนปลายของคลองพระสทิง และเคลด VIII ที่เก็บตัวอย่างมาจากจังหวัดอื่น ๆ ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี และพัทลุง โดยพบว่าตัวอย่างที่พบในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และกาญจนบุรี มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดมากกว่าตัวอย่างจากจังหวัดพัทลุง เนื่องด้วยตัวอย่างที่ได้มาจากจังหวัดกาญจนบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ตั้งอยู่บริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย โดยอยู่ในลุ่มน้ำที่ใกล้เคียงกัน คือ ลุ่มน้ำแม่กลองและลุ่มน้ำเพชรบุรี ขณะที่ตัวอย่างที่พบจากจังหวัดพัทลุงพบอยู่ในลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา (สำนักงานทรัพยากรน้ำแห่งชาติ, 2565) ตัวอย่างหอยขม *F. polygramma* จากเคลด VI และ VIII อาจมีระยะห่างทางพันธุกรรมและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบพาราไฟลี (ภาพประกอบ 22 และ 35) หอยขม *F. s. speciosa* ในเคลด VII มีการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นแบบโมโนไฟลี ประกอบด้วยตัวอย่างหอยขมที่พบบริเวณลุ่มน้ำโตนเลสาบเป็นส่วนใหญ่ โดยมีตัวอย่างหอยขมที่

พบบริเวณลุ่มน้ำพระสทิง ลุ่มน้ำพระปรังและจังหวัดพัทลุงพบอยู่ภายในเคลด เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในเคลดดังกล่าวจะพบความสัมพันธ์กับการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของหอยขมกับของลุ่มน้ำดังต่อไปนี้ (ภาพประกอบ 22 และ 35)

ตัวอย่างหอยขมที่พบบริเวณตอนต้นของลุ่มน้ำพระสทิง มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับตัวอย่างหอยขมจากบริเวณตอนต้นของลุ่มน้ำพระปรัง โดยทั้ง 2 ตัวอย่างดังกล่าวมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดมากกว่าตัวอย่างที่พบในคลองห้วยใหญ่ บริเวณตอนปลายของลุ่มน้ำพระปรัง นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดจากตัวอย่างที่พบบริเวณลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส และลุ่มน้ำย่อยห้วยพรหมโหด โดยทั้ง 2 ลุ่มน้ำย่อยเป็นลุ่มน้ำสายย่อยที่มาจากลุ่มน้ำโดนเลสาบและเป็นสายแม่น้ำที่อยู่ติดกัน อีกหนึ่งความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกันพบได้ในตัวอย่างจากห้วยยางและห้วยสะโดน ซึ่งอยู่ในบริเวณลุ่มน้ำย่อยห้วยตะเคียน

หอยขม *F. polygramma* และ *F. s. speciosa* สามารถใช้การจัดจำแนกจากลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือก โดยมีข้อมูลความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการช่วยในการสนับสนุน นอกจากนี้รูปแบบการจัดกลุ่มของเคลดต่าง ๆ พบว่าความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ ดังการรายงานความหลากหลายที่เคยศึกษามาก่อนของหอย *F. polygramma* และ *F. s. speciosa* ที่พบบริเวณลุ่มน้ำคลองพระสทิง จังหวัดสระแก้ว (ประทีน บุญงาม et al., 2553; รัชนิวรรณ อินมะดัน et al., 2554) ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการพบการกระจายตัวเพิ่มเติมของ *F. s. speciosa* ที่พบในบริเวณลุ่มน้ำคลองพระปรังและลุ่มน้ำโดนเลสาบ

หอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* พบว่ามีการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ปะปนกันหลายเคลดและไม่สอดคล้องกับภูมิศาสตร์ของแหล่งน้ำ โดยแบ่งเป็นเคลดดังนี้ (ภาพประกอบ 22 และ 35)

เคลด IV พบ 2 ตัวอย่างหอยขม ประกอบด้วย *F. m. martensi* และ *F. javanica* โดยพบในพื้นที่อาศัยเดียวกันคือ คลองกะวัดคลองใหญ่ อยู่บริเวณตอนปลายของลุ่มน้ำคลองพระสทิง ในเคลด V พบหอยขม *F. javanica* เพียง 1 ตัวอย่าง บริเวณคลองตาหลัง ของลุ่มน้ำพระสทิง ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในเคลด III พบเป็นแบบมีเป็นโพลีไฟลี โดยส่วนใหญ่ พบหอยขม *F. m. martensi* จากบริเวณตอนกลางไปจนถึงบริเวณตอนปลายของลุ่มน้ำคลองพระสทิง และพบในลุ่มน้ำย่อยห้วยพรหมโหด คลองน้ำใส และห้วยนางาม โดยทั้ง 3 ลุ่มน้ำย่อย เป็นลุ่มน้ำที่พบอยู่ในลุ่มน้ำโดนเลสาบ ซึ่งในเคลดดังกล่าวมีตัวอย่างหอยขมที่พบในจังหวัดอื่น ๆ ของประเทศไทย คือ จังหวัดกาญจนบุรี, ประจวบคีรีขันธ์, พัทลุง และสงขลา นอกจากนี้ในเคลดดังกล่าวยังพบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกันของหอยขม *F. javanica* และ *F. m. martensi* ที่มาจาก

แหล่งน้ำลุ่มพระปรงด้าย ในเขต II พบหอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* ในบริเวณตอนต้นของลุ่มน้ำพระสทิง ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากกว่า *F. m. martensi* ที่พบอยู่ในบริเวณลุ่มน้ำย่อยห้วยนางาม ในความสัมพันธ์เขต I พบหอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* จากแหล่งน้ำในมหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น และจากบริเวณตอนต้นของลุ่มน้ำคลองพระสทิง

การศึกษาในครั้งนี้แสดงถึงความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ ดังการรายงานความหลากหลายที่เคยศึกษามาก่อนของหอย *F. m. martensi* ที่พบบริเวณลุ่มน้ำคลองพระสทิง และลุ่มน้ำโดนเลสาบ จังหวัดสระแก้ว (ประทีน บุญงาม et al., 2553; รัชนิวรรณ อินมะดัน et al., 2554) สำหรับการจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยขม *F. javanica* และ *F. m. martensi* มีความยากในการจำแนกและมีความคลุมเครือค่อนข้างมาก ดังนั้นข้อมูลความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจึงมีความสำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการระบุปีชีส์ของหอยขมดังกล่าวได้ ในงานวิจัยนี้พบตัวอย่างของหอยขม *F. m. martensi* และ *F. javanica* ในเขตเดียวกัน ซึ่งไม่สอดคล้องกับการกระจายตัวและลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกที่มีการบรรยายโดย Brandt (1974) ด้วยลักษณะเปลือกที่มีความคลุมเครือนี้เอง อาจมีความเป็นไปได้จากการเกิดความแปรผันของฟีโนไทป์ (phenotypic plasticity) ซึ่งเป็นกลไกที่เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเปลือก จากการศึกษาในอดีตที่พบลักษณะความแปรผันของเปลือกซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้ในหอยน้ำจืดได้ทั่วไป โดยปัจจัยที่อาจก่อให้เกิดความแปรผันของฟีโนไทป์ ได้แก่ ลักษณะแหล่งที่อยู่อาศัย ลักษณะทางอุทกวิทยาของแหล่งน้ำ แรงกดดันจากผู้ล่า ปริมาณแสงที่ส่องถึง อุณหภูมิของน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณธาตุและสารประกอบในน้ำ การทำลายแหล่งที่อยู่อาศัย หรือการแบ่งแยกทางภูมิศาสตร์ (geographic barrier) (Ahlgren et al., 2013; Brönmark et al., 2011; Dillion et al., 2013; Graf, 1998; Hombach et al., 2010; Inoue et al., 2013; Ortmann, 1920; Trussell, 1996) ก่อให้เกิดลักษณะของเปลือกที่มีความแปรผัน เช่น ลวดลาย สีเปลือก สันนูน ซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับแหล่งที่อยู่อาศัยที่มีความแตกต่างกัน (Sil et al., 2021)

สำหรับตัวอย่างหอยขมในเขต I - IV ที่มีการระบุปีชีส์เป็น *F. javanica* และ *F. m. martensi* โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือก แต่จากข้อมูลความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่พบการแยกออกมาเป็นเขตต่าง ๆ อาจมาจากสาเหตุการเกิดสปีชีส์ซ้อนเร้น (cryptic species) เนื่องจากตัวอย่างที่ศึกษาใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกที่คล้ายคลึงกัน จึงทำให้มีความแม่นยำในการจำแนกและระบุชนิดลดลง แต่ตัวอย่างดังกล่าวมีข้อมูลทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน ดังการ

รายงานที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสปีชีส์ขึ้นในในหอยน้ำจืดในสกุลต่าง ๆ เช่น *Mekongia* Crosse & Fischer, 1876 *Littoridina* Souleyet, 1852 (Collado, Aguayo, et al., 2019; Collado, Vidal, et al., 2019; Patel et al., 2014; Prasankok et al., 2009)

หอยขม *F. m. martensi* เป็นหอยน้ำจืดที่มีความแปรผันของเปลือกที่สูงมาก เนื่องจากการพบการกระจายตัวทั่วประเทศไทย รวมถึงประเทศข้างเคียง มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับระบบนิเวศแหล่งน้ำจืดที่หลากหลาย เจริญเติบโตได้รวดเร็ว ขยายพันธุ์ได้เร็ว มีขนาดใหญ่มากกว่าสปีชีส์อื่น ๆ ในสกุลเดียวกัน และยังเป็นหอยที่มีการนำมาบริโภคโดยทั่วไป มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงเป็นที่นิยมในการเพาะเลี้ยงทั่วประเทศ โดยมีการเพาะเลี้ยงในที่ปิด เช่น บ่อซีเมนต์ บ่อดิน หรือเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ เช่น เลี้ยงกระชังบริเวณริมแม่น้ำ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่หอยขมในกระชังอาจจะหลุดออกจากแหล่งเพาะเลี้ยงเดิม และมีโอกาสกระจายตัวปะปนไปกับแหล่งน้ำในธรรมชาติ (Kappes & Haase, 2012) นอกจากนี้จังหวัดสระแก้วยังมีรายงานถึงปัญหาด้านอุทกภัยในช่วงฤดูน้ำหลาก โดยมีพื้นที่เสี่ยงภัยน้ำท่วมในพื้นที่ลุ่มน้ำปราจีนบุรี บริเวณตอนต้นถึงตอนกลางของกลุ่มน้ำคลองพระสทิงและกลุ่มน้ำพระปรัง และบริเวณลุ่มน้ำย่อยคลองน้ำใส ในลุ่มน้ำโดนเลสาบ (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน, 2562) จึงอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ตัวหอยถูกพัดพาไปจากแหล่งที่อยู่อาศัยเดิม และทำให้เกิดการถ่ายเทยีน (gene flow) ระหว่างลุ่มแม่น้ำในจังหวัดสระแก้ว รวมไปถึงปัจจัยที่อาจเกิดมาจากกิจกรรมของมนุษย์โดยตรง เช่น การขนส่งสัตว์น้ำ พืชน้ำหรือผลผลิตทางการเกษตร รวมไปถึงค่านิยมในการทำบุญปล่อยสัตว์น้ำโดยเฉพาะหอยขมด้วยปัจจัยเหล่านี้จึงอาจส่งผลให้อัตราการถ่ายเทยีนของหอยขมมีมากกว่าหอยน้ำจืดในสกุลอื่น ๆ เช่น หอยทรายสกุล *Mekongia* (ผ่องพรรณ ประสารก 2562)

ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจัดจำแนกและระบุสปีชีส์ของหอยขมอาจจะต้องทำการทบทวนอนุกรมวิธานของหอยขมในสกุล *Filopaludina* จากลุ่มน้ำทั่วประเทศไทย และลุ่มน้ำบริเวณประเทศข้างเคียง ได้แก่ เมียนมาร์ กัมพูชา ลาว มาเลเซีย โดยเฉพาะการศึกษาทางด้านอนุชีววิทยา อาจจะต้องต้องใช้ ยีนที่มีความจำเพาะในการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์เพิ่มเติมจากยีน *16S rRNA* และ *COI* เพื่อช่วยสนับสนุนแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ให้มีประสิทธิภาพในการจำแนกทราบถึงความสัมพันธ์ของหอยในสกุล *Filopaludina* ได้มากขึ้น

เนื่องจากจังหวัดสระแก้วตั้งอยู่ลึกเข้าไปในแผ่นดิน จึงมีอากาศร้อนมากกว่าจังหวัดอื่นที่อยู่ตามชายฝั่งทะเลในฤดูร้อน ในส่วนของลุ่มน้ำย่อยห้วยตะเคียน ห้วยลำสะโดน และห้วยนางาม ซึ่งครอบคลุมอยู่ในอำเภอดาพระยาจัดเป็นพื้นที่เสี่ยงภัยแล้งสูง (สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน 2562) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าบริเวณดังกล่าวมีการกระจายตัวของ *F. s. speciosa* และยังมี

พื้นที่ใกล้กับบริเวณอุทยานแห่งชาติปางสีดา ซึ่งหากผลกระทบจากความแห้งแล้งเข้าขั้นวิกฤตอาจทำให้แหล่งน้ำแห้งขอด และอาจนำไปสู่การลดลงของจำนวนประชากรของหอยขมในบริเวณดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบปัญหาน้ำท่วม น้ำเสียจากชุมชนและมลพิษทางน้ำและอากาศ การทำลายระบบนิเวศ และการจับหอยขมเพื่อการบริโภคมากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อความหลากหลายของประชากรของหอยขมได้ ดังนั้นการศึกษาทางด้านชีสเทมาติกส์ ชีววิทยา และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของหอยขมในบริเวณลุ่มน้ำในจังหวัดสระแก้ว จะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการนำไปใช้เพื่อจัดการทรัพยากรทางชีวภาพ และการอนุรักษ์ระบบนิเวศแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยขมในประเทศไทยอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต



บรรณานุกรม

- Ahlgren, J., Yang, X., Hansson, L. A., & Brönmark, C. (2013). Camouflaged or tanned: plasticity in freshwater snail pigmentation. *Biol Lett*, 9(5), 20130464.
- Amorim, A., Fernandes, T., & Taveira, N. (2019). Mitochondrial DNA in human identification: a review. *PeerJ*, 7.
- Andrade, S., & Solferini, V. (2005). Transfer experiment suggests environmental effects on the radula of *Littoraria flava* (Gastropoda: Littorinidae). *Journal of Molluscan Studies*, 72(1), 111-116.
- Annandale, N. (1924). The Evolution of the Shell-Sculpture in Fresh-Water Snails of the Family Viviparidae. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 96, 60-76.
- Bouchet, P., Jean-Pierre, R., Fryda, J., Hausdorf, B., Ponder, W., Valdes, A., & Warén, A. (2005). Classification and Nomenclator of Gastropod Families. *Malacologia*, 47, 1-368.
- Brandt, R. A. M. (1974). The non-marine aquatic Mollusca of Thailand. *Archiv für Molluskenkunde*, 105, 1-423.
- Brönmark, C., Lakowitz, T., & Hollander, J. (2011). Predator-Induced Morphological Plasticity Across Local Populations of a Freshwater Snail. *PLoS One*, 6, e21773.
- Brown, D. S. (1994). *Freshwater Snails of Africa and Their Medical Importance* (2 ed.). Tayler & Francis.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2002). *Invertebrates*. Sinauer Associates Incorporated.
- Burch, J. B. (1982). Freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of North America. *Walkerana*, 1(4), 216-364.
- Burch, J. B., & Tottenham, J. L. (1989). North American Freshwater Snails: Sprcies list, ranges and illustrations. *Walkerana*, 1(3), 81 - 21.
- Caterino, M. S., & Tishechkin, A. K. (2006). DNA identification and morphological description of the first confirmed larvae of Hetaeriinae (Coleoptera: Histeridae). *Systematic Entomology*, 31(3), 405-418.

- Chang, P. K., Cross, J. H., & Chen, S. S. (1968). Aquatic snails as intermediate hosts for *Angiostrongylus cantonensis* on Taiwan. *Journal of Parasitology*, 54(1), 182-183.
- Chontanarith, T., & Wongsawat, C. (2013). Epidemiology of cercarial stage of trematodes in freshwater snails from Chiang Mai province, Thailand. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedical*, 3(3), 237-243.
- Collado, G. A., Aguayo, K. P., Cazzaniga, N. J., Gregoric, D. E. G., Lucía, M. D., & Haase, M. (2019). Systematic evaluation of cryptic freshwater snails from central Chile, including the enigmatic *Littoridina santiagensis* (Gastropoda, Truncatelloidea). *European Journal of Taxonomy*.
- Collado, G. A., Vidal, M. A., Aguayo, K. P., Méndez, M. A., Valladares, M. A., Cabrera, F. J., Pastenes, L., Gutiérrez Gregoric, D. E., & Puillandre, N. (2019). Morphological and molecular analysis of cryptic native and invasive freshwater snails in Chile. *Scientific Reports*, 9(1), 7846.
- Commission, M. R. (2006). Identification of Freshwater Invertebrates of Mekong River and Its Tributaries.
- Cross, I., Rebordinos, L., & Díaz-Ferguson, E. (2006). Species Identification of *Crassostrea* and *Ostrea* Oysters by Polymerase Chain Reaction Amplification of the 5S rRNA Gene. *Journal of AOAC International*, 89, 144-148.
- Cuezzo, M. G., & Ovando, X. (2012). Discovery of an established population of a non-native species of Viviparidae (Caenogastropoda) in Argentina. *Molluscan Research*, 32, 121-131.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*, 9(8), 772.
- Dillion, R. T., Jacquemin, S., & Pyron, M. (2013). Cryptic phenotypic plasticity in populations of the freshwater prosobranch snail, *Pleurocera canaliculata*. *Hydrobiologia*, 709.
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 214.
- Du, L., Yang, J., Rintelen, T. v., Chen, X., & Aldridge, D. (2013). Molecular phylogenetic

- evidence that the Chinese viviparid genus *Margarya* (Gastropoda: Viviparidae) is polyphyletic. *Chinese Science Bulletin*, 58(18), 2154-2162.
- Folmer, O., Black, M., Wr, H., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3, 294-299.
- Fretter, V., & Graham, A. (1962). *British prosobranch molluscs. Their functional anatomy and ecology*. London: Ray Society.
- Frezal, L., & Leblois, R. (2008). Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8, 727 - 736.
- Gautam, B., Maskey, R., Sapkota, R., & Dangol, D. (2015). Aquatic Macro-invertebrates as Bio-indicators: An Approach for Wetland Water Quality Assessment of Rampur Ghol, Chitwan, Nepal. *Journal of Institute of Science and Technology*, 19, 58.
- Graf, D. (1998). Freshwater pearly mussels: pigtoes and Ortmann's Law. *American Conchologist*, 26(2), 20-21.
- Haas, F. (1952). Some non-marine mollusks from Northwest and Southwest Siam. *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 15, 19-25.
- Habe, T. (1964). Freshwater molluscan fauna of Thailand. *Nature and Life in Southeast Asia*, 3, 45-66.
- Hayes, K., Joshi, R., Thiengo, S., & Cowie, R. (2008). Out of South America: Multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14, 701-712.
- Heller, J. (1990). Longevity in molluscs. *Malacologia*, 31(2), 259-295.
- Hickman, C. P., Ober, W. C., & Garrison, C. W. (2008). *Integrated Principles of Zoology*. McGraw-Hill.
- Hirano, T., Saito, T., & Chiba, S. (2015). Phylogeny of freshwater viviparid snails in Japan. *Journal of Molluscan Studies*, 81(4), 435-441.
- Hornbach, D., Kurth, V., & Hove, M. (2010). Variation in Freshwater Mussel Shell Sculpture and Shape Along a River Gradient. *American Midland Naturalist - AMER MIDLAND NATURALIST*, 164, 22-36.
- Inoue, K., Hayes, D. M., Harris, J. L., & Christian, A. D. (2013). Phylogenetic and

- morphometric analyses reveal ecophenotypic plasticity in freshwater mussels *Obovaria jacksoniana* and *Villosa arkansasensis* (Bivalvia: Unionidae). *Ecol Evol*, 3(8), 2670-2683.
- Jakubik, B. (2012). Life strategies of Viviparidae (Gastropoda: Caenogastropoda: Architaenioglossa) in various aquatic habitats: *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) and *V. contectus* (Millet, 1813). *Folia Malacologica*, 20, 145-179.
- Johnson, P. T. J., Olden, J. D., Solomon, C. T., & Vander Zanden, M. J. (2009). Interactions among invaders: community and ecosystem effects of multiple invasive species in an experimental aquatic system. *Oecologia*, 159(1), 161-170.
- Kappes, H., & Haase, P. (2012). Slow, but steady: dispersal of freshwater molluscs. *Aquatic Sciences*, 74(1), 1-14.
- Köhler, F., Seddon, M., Bogan, A., Do, V., Sri-Aroon, P., & Allen, D. (2012). Chapter 4. The status and distribution of freshwater molluscs in the Indo-Burma region. In (pp. 67-88).
- Krairut, P., Thawnon-ngiw, B., & Kongim, B. (2020). Genetic diversity of genus *Filopaludina* in the upper northeastern Mekong Basin of Thailand revealed by mitochondrial DNA sequences. *Interdisciplinary Research Review*, 15, 39-43.
- Lang, A. S., Bocksberger, G., & Stech, M. (2015). Phylogeny and species delimitations in European *Dicranum* (Dicranaceae, Bryophyta) inferred from nuclear and plastid DNA. *Molecular phylogenetics and evolution*, 92, 217-225.
- Lee, S., Bush, J. W. M., Hosoi, A. E., & Lauga, E. (2008). Crawling beneath the free surface: Water snail locomotion. *Physics of Fluids*, 20(8).
- Lesoway, M., & Henry, J. (2019). Twisted Shells, Spiral Cells, and Asymmetries: Evo-Devo Lessons Learned from Gastropods. In (pp. 1-18).
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Liu, H.-P., Hershler, R., & Clift, K. (2003). Mitochondrial DNA sequences reveal extensive cryptic diversity within a western American springsnail. *Molecular Ecology*, 12(10), 2771-2782.

- Lopata, A. L., Luijck, T., Fenemore, B., Sweijd, N. A., & Cook, P. A. (2002). Development of a monoclonal antibody detection assay for species-specific identification of abalone. *Marine Biotechnology*, 4(5), 454-462.
- Lv, S., Zhang, Y., Liu, H.-X., Hu, L., Liu, Q., Wei, F.-R., Guo, Y.-H., Steinmann, P., Hu, W., Zhou, X.-N., & Utzinger, J. (2013). Phylogenetic evidence for multiple and secondary introductions of invasive snails: Pomacea species in the People's Republic of China. *Diversity and Distributions*, 19(2), 147-156.
- Martens, E. v. (1860). On the Mollusca of Siam. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 28, 6-18.
- Miller, M., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. 2010 *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 1-8.
- Morelet, A. (1865). Rectifications et additions à la faune malacologique de l'Indo-Chine. *Journal de Conchyliologie*, 13, 19-23.
- Morton, J. E. (1979). *Molluscs*. Hutchinson & Co. (Publishers) Ltd.
- Nabhitabhata, J. (2009). *Check list of Mollusca Fauna in Thailand*. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning.
- Nahok, B., Tumpeesuwan, C., Srifa, A., & Tumpeesuwan, S. (2017). Freshwater Molluscan Assemblages in Upper Part of Choen River Basin, Northeastern Thailand. *Tropical Natural History*, 17(1), 11-24.
- Neeratanaphan, L., Sudmoon, R., & Chaveerach, A. (2014). Genetic erosion in the freshwater snail *Filopaludina martensi* is affected by lead and cadmium. *Applied Ecology and Environmental Research*, 12(4), 991-1001.
- Ng, T. H., Jeratthitikul, E., Sutjarit, J., Chhuoy, S., Pin, K., Pholyotha, A., Siriwut, W., Srisonchai, R., Hogan, Z., & Ngor, P. B. (2020). Annotated checklist of freshwater molluscs from the largest freshwater lake in Southeast Asia. *ZooKeys*, 958, 107-141.
- Noikong, W., & Wongsawad, C. (2014). Epidemiology and molecular genotyping of echinostome metacercariae in *Filopaludina* snails in Lamphun Province, Thailand.

Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 7(1), 26-29.

Ortmann, A. E. (1920). Correlation of Shape and Station in Fresh-Water Mussels (Naiades).

Proceedings of the American Philosophical Society, 59(4), 269-312.

Palasun, S., & Intanai, I. (2015). Effect of copper on hatching, egg development and metabolism of freshwater pond snail *Filopaludina martensi*. Proc the 6th Hatyai Nat. Int Conference, Thailand,

Palumbi, S. R., Martin, A. P., Romano, S. L., McMillan, W. O., Stice, L., & Grabowski, G. (1991). *The simple fool's guide to PCR*. Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, University of Hawaii.

Patel, S., Schell, T., Eifert, C., Feldmeyer, B., & Pfenninger, M. (2014). Characterising a Hybrid Zone between a Cryptic Species Pair of Freshwater Snails. *Molecular Ecology*, 24.

Pechenik, J. A. (2015). *Biology of the Invertebrates*. McGraw-Hill Education.

Pegg, G., Sinclair, W., Briskey, L., & Aspden, W. (2006). MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef, Australia. *Scientia Marina*, 70, 7-12.

Pfeiffer, L. (1862). Diagnoses de neuf especes Nouvelles provenant de Siam. *Journal de Conchyliologie*, 10, 39-46.

Pfenninger, M., Staubach, S., Albrecht, C., Streit, B., & Schwenk, K. (2003). Ecological and morphological differentiation among cryptic evolutionary lineages in freshwater limpets of the nominal form-group *Ancylus fluviatilis* (O.F. Müller, 1774). *Molecular Ecology*, 12(10), 2731-2745.

Piyatiratitivorakul, P., & Boonchamoi, P. (2008). Comparative toxicity of mercury and cadmium to the juvenile freshwater snail, *Filopaludina martensi martensi*. *Sci Asia*, 34, 367-370.

Plinski, M., Lawacz, W., Stanczykowska, A., & Magnin, E. (1978). Etude quantitative et qualitative de la nourriture des *Viviparus malleatus* (Reeve) (Gastropoda, Prosobranchia) dans deux de la région de Montréal. *Canadian Journal of Zoology*, 56, 272-279.

Prasankok, P., Srikoom, W., & Panha, S. (2009). Genetic variation amongst viviparid snails

- in the genus *Mekongia* (Prosobranchia: Viviparidae) in Thailand. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(4), 452-458.
- Prashad, B. (1928). Recent and fossil Viviparidae. A study in distribution, evolution and palaeogeography. *Memoirs of the Indian Museum*, 8(4), 153-253.
- Rohrbach, F. (1937). On the comparative anatomy of Oriental Viviparidae. *Records of the Indian Museum*, 27, 129-135.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, 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.
- Sengupta, M. E., Kristensen, T. K., Madsen, H., & Jørgensen, A. (2009). Molecular phylogenetic investigations of the Viviparidae (Gastropoda: Caenogastropoda) in the lakes of the Rift Valley area of Africa. *Molecular phylogenetics and evolution*, 52(3), 797-805.
- Sil, M., Roy, A., Palden, T., Bhat, P., Karanth, K., & N A, A. (2021). *Cryptic speciation in freshwaters: are speciation in lentic species shaped by paleohydrological events?*
- Sousa da Mata, L., Tagliaro, C. H., Simeone, D., & Beasley, C. R. (2019). Shell shape variation in Amazonian freshwater mussels (Unionida: Hyriidae: Hyriini). *Journal of Molluscan Studies*, 85(2), 212-223.
- Sri-Aroon, P., Butraporn, P., Limsomboon, J., Kerdpuech, Y., Kaewpoolsri, M., & Kiatsiri, S. (2005). Freshwater mollusks of medical importance in Kalasin Province, northeast Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 36(3), 653-657.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313.
- Stańczykowska, A., Magnin, E., & Dumouchel, A. (2011). Etude de trois populations de *Viviparus malleatus* (Reeve) (Gastropoda, Prosobranchia) de la région de Montréal. I. Croissance, fécondité, biomasse et production annuelle. *Canadian Journal of Zoology*, 49, 1431-1441.
- Strong, E. E., Gargominy, O., Ponder, W. F., & Bouchet, P. (2008). Global diversity of

- gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1), 149-166.
- Talavera, G., Dinca, V. E., & Vila, R. (2013). Factors affecting species delimitations with the GMYC model: Insights from a butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution*, 4.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 30(12), 2725-2729.
- Tian, Y., Fürsich, F., & Schneider, S. (2013). Giant Viviparidae (Gastropoda: Architaenioglossa) from the Early Oligocene of the Nanning Basin (Guangxi, SE China). *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie - Abhandlungen*, 267, 75-87.
- Trussell, G. (1996). Phenotypic Plasticity in an Intertidal Snail: The Role of a Common Crab Predator. *Evolution*, 50.
- Upatham, E. S., Sornmani, S., Kitikoon, V., Lohachit, C. and Bruch, JB. (1983). Identification key for fresh-brackish water snails of Thailand. *Malacological Review*, 16, 107-132.
- Vail, V. A. (1978). Seasonal reproductive patterns in 3 viviparid gastropods. *Malacologia*, 17, 7-98.
- Van Bocxlaer, B., & Strong, E. (2016). Anatomy, functional morphology, evolutionary ecology and systematics of the invasive gastropod *Cipangopaludina japonica* (Viviparidae: Bellamyinae). *Contributions to zoology Bijdragen tot de dierkunde*, 85, 235-263.
- Van Bocxlaer, B., Strong, E., Richter, R., Stelbrink, B., & Rintelen, T. (2018). Anatomical and genetic data reveal that *Rivularia* Heude, 1890 belongs to Viviparinae (Gastropoda: Viviparidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 182, 1-23.
- Wang, J. G., Zhang, D., Jakovlić, I., & Wang, W. M. (2017). Sequencing of the complete mitochondrial genomes of eight freshwater snail species exposes pervasive paraphyly within the Viviparidae family (Caenogastropoda). *PLoS One*, 12(7), e0181699.
- Wang, Y. C., Liew, T. Z., Namsanor, J., & Sithithaworn, P. (2020). Assessing the role of

- Filopaludina martensi martensi as a biocontrol agent of Bithynia siamensis goniomphalos, the first intermediate host of Opisthorchis viverrini. *Parasitol Res*, 119(10), 3415-3431.
- Zhang, D. X., & Hewitt, G. M. (1997). Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. *Insect Molecular Biology*, 6(2), 143-150.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876.
- เฉษฐา เด่นดวงบริพันธ์. (2555). วิวัฒนาการ (*Evolution*). สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ. (2545). หอยเป็นยา: ตามตำรับยาแพทย์แผนไทย. โครงการพัฒนาตำรากองทุนสนับสนุนกิจกรรม มูลนิธิแพทย์แผนไทยพัฒนา.
- ไพรัช ทาบสีแพร. (2541). การศึกษาความสัมพันธ์ในการจัดหมวดหมู่ของหอยสกุล *Filopaludina* โดยการเปรียบเทียบ รูปร่างของเปลือก ลักษณะทางกายวิภาค และการตรวจสอบเอ็นไซม์ โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส มหาวิทยาลัยมหิดล]. กรุงเทพฯ.
- จินดา เพียมเมธ. (2503). หอยที่ใช้เป็นอาหารในกรุงเทพฯ. พระนคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ฐิติกา กิจพิพิธ, & ภูวดล ธนะเกียรติไกร. (2556). การตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อระบุชนิดของสัตว์ป่าในงานนิติวิทยาศาสตร์. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 23(3), 727 - 740.
- ณัฐกิตติ์ โตอ่อน. (2561). ความหลากหลายและการกระจายของหอยน้ำจืดในแม่น้ำป่าสัก จังหวัดพระนครศรีอยุธยา วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 26(4), 604 - 618.
- ประทีน บุญงาม, จิราพร ศรียารัน, ศรารัตน์ ทานะมัย, & พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา. (2553). การศึกษาเบื้องต้นความหลากหลายของหอยทากบก และหอยน้ำจืดในจังหวัดสระแก้ว. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- ผ่องพรรณ ประสารก. (2562). ซีสเต็มแมติกและชีวภูมิศาสตร์ของหอยทราย *Mekongia Crosse & Fischer*, 1876 ในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์, & อรุณรัตน์ นวีราช. (2554). ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต กรณีศึกษา : จีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ในสัตว์. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม, 5(2), 205 - 210.
- รัชนีวรรณ อินมะดัน, ศรารัตน์ ทานะมัย, & พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา. (2554). ชนิดและแหล่งอาศัย

ของหอยในจังหวัดสระแก้ว.

วรกมล เน่นอดร. (2553). ความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 ในการ
ถ่ายทอดพันธุกรรมฝ่ายแม่. *Veridian E-Journal SU* 4(1).

ศิริพร บุตรนิล. (2557). ความหลากหลายชนิดพันธุ์และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ของหอยฝาเดียวและ
หอยสองฝาบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน มหาวิทยาลัยศิลปากร]. นครปฐม.

สาวิกา กัลปพฤกษ์, สิทธิ กุลลาบทอง, & ราเชิด เพ็งสีแสง. (2559). ความหลากหลายชนิดพันธุ์ของ
หอยน้ำจืดที่พบในพื้นที่ลุ่มน้ำชีตอนบน จังหวัดชัยภูมิ. *Veridian E-journal Science and
Technology Silpakorn University*, 3(1), 758-763.

สำนักงานทรัพยากรน้ำแห่งชาติ. (2565). 22 ลุ่มน้ำในประเทศไทย และพระราชกฤษฎีกากำหนดลุ่ม
น้ำ พ.ศ. 2564. (19 เมษายน 2566).

สำนักบริหารโครงการกรมชลประทาน. (2562). โครงการจัดทำแผนแม่บทการพัฒนาลุ่มน้ำระดับ
จังหวัด จังหวัดสระแก้ว.

สิทธิ กุลลาบทอง. (2555). ความหลากหลายชนิดพันธุ์ของหอยน้ำจืดบริเวณแม่น้ำแควใหญ่ตอนล่าง
จังหวัดกาญจนบุรี. *Veridian E-journal Science and Technology Silpakorn University*,
5(1), 27-34.

สุชาติ ผึ้งฉิมพลี, & ประสิทธิ์ นิยมไทย. (2555). ความหลากหลาย ปริมาณและการแพร่กระจายของ
หอยน้ำจืดในแม่น้ำบางปะกงและแม่น้ำปราจีนบุรี. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรม
ประมง.

สุชาติ อุปถัมภ์, มาลียา เครือตาชู, เยาวลักษณ์ จิตราวมวงศ์, & ศิริวรรณ จันทเทมีย์. (2538). สังข
วิทยา. โรงพิมพ์ศักดิ์โสภาคการพิมพ์.

สุทัศน์ ดวงจิตร. (2554). ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์.
วารสารนิติเวชศาสตร์, 4(1), 53 - 65.

สุรินทร์ ปิยะโชติณกุล. (2552). เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. ภาควิชาพันธุ
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรภา นาคจินดา, มณฑิรา เปี่ยมทิพย์มโนส, จุฑามาศ จิวลักษณ์, วิสาชา ปุณยกนก, & จินตนา ไธ
นะโกคา. (2548). การใช้ประโยชน์จากหอยน้ำจืดในประเทศไทย. สถาบันวิจัยและพัฒนา
ทรัพยากรประมงน้ำจืด

อัฉริยา รังษิรุจิ. (2555). วิวัฒนาการ: จากทฤษฎีสู่การประยุกต์. เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น.



ประวัติผู้เขียน

