

การศึกษาความหลากหลายชนิดพันธุ์และการกระจายพันธุ์ ของหอยน้ำจืด *Paludomus* spp. บริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อย

นักสรร โน้ตศิริ, ดวงเดือน ไกรลาศ และ เตือนตา เจนจรัตน์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม 73000

Abstract: Studies on the Species Diversity and Distribution of the Freshwater Snail Genus *Paludomus* in the Kwae Noi River Watershed
Napatsorn Notesiri, Duangduen Krailas and Tuenta Janecharat
Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University, Muang, Nakornpathom 73000

Freshwater snails of the genus *Paludomus* were collected by counts per unit of time at ten different locations of water sources in the Kwae Noi river watershed, Kanchanaburi province. In addition, the physico-chemical characteristics of streams and water quality were examined. The snail specimens were studied in various aspects, namely, shell morphology, radula morphology, anatomy, isoenzyme electrophoresis and trematode infection. Most snails showed similar shell and radula morphology, except for snails of Toa Dum stream, which were markedly different from the others in that they showed eroded apices, shallow sutures, and wide columellae, exhibited significant differences in size index. In addition, central tooth width ($P < 0.05$) and number, shape, and size of radulae were noticeably different from the others. Anatomical study of snails showed that there were two reproductive systems, closed and open pallial oviducts. Pigment on the tentacles of snails from Toa Dum were different from the others in that they showed pigment around the eye and no pigment strip on the tentacles. Isoenzymes were analysed by polyacrylamide gel electrophoresis. Banding patterns in four enzymes, esterase, leucine aminopeptidase, lactase dehydrogenase and malate dehydrogenase, have shown that the snails from Tao Dum are different from the others ($D = 0.191$). Trematode infections, occurred in snails with four types of cercariae being found. They were *Parapleurolophocercous* cercaria, *Cotylomicrocercous* cercaria, *Strigea* cercaria and *Vigulate* cercaria.

Key words: Gastropoda, *Paludomus*, snail, morphology, anatomy, isoenzyme, cercariae

บทนำ

ลุ่มแม่น้ำแควน้อยเป็นลุ่มแม่น้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์ในเขตผืนป่าตะวันตกและมีความสำคัญต่อกิจกรรมการท่องเที่ยว นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งต้นน้ำของผืนป่าตะวันตกซึ่งถือเป็นป่าฝนเขตร้อน (Rainforest) ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ ถือได้ว่าเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญอย่างยิ่งของประเทศ ดังนั้นในการสำรวจชนิดพันธุ์ของหอยน้ำจืดในบริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อยนี้จึงถือเป็นองค์ความรู้ที่มีประโยชน์ต่อผืนป่าตะวันตกและชุมชนในเขตที่ใช้ประโยชน์จากแม่น้ำสายนี้

การศึกษาหอยน้ำจืด *Paludomus* spp. ในประเทศไทยในอดีตพบว่ามีเพียงข้อมูลจากการรายงานเกี่ยวกับชนิดของหอยน้ำจืดในประเทศไทย (Brandt, 1974) เท่านั้น โดยได้จัดจำแนกหอยสกุล *Paludomus* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและฟันหอย ออกเป็น 2 ชนิด คือ *Paludomus petrosus* มีแหล่งกระจายตามลำห้วยบริเวณเทือกเขาในจังหวัดชุมพร ระนอง นครศรีธรรมราช พัทลุง และ *Paludomus siamensis* มีแหล่งกระจายอยู่ในจังหวัดแพร่ ลำปาง พะเยา โกลก เลย และกาญจนบุรี นอกจากนี้ยังพบว่าหอยสกุลนี้เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ *Paragonimus westermani* ที่ก่อโรคในสัตว์ ต่อมาจากการศึกษาความหลากหลายของหอยน้ำจืดในเขตพื้นที่ป่าเต่าดำ อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี (ดวงเดือน และคณะ, 2544) พบหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ในแหล่งสำรวจ แต่จากการรายงานยังไม่ได้สรุปว่าเป็นชนิดใดเนื่องจากพบว่าลักษณะรูปร่างของเปลือกมีความคล้ายคลึงกับ *Paludomus petrosus* ในขณะที่

แรดดูลา มีลักษณะของพังกกลาง (rachis) คล้ายคลึงกับ *Paludomus siamensis* ผู้วิจัยจึงให้ข้อเสนอแนะในการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดพันธุ์ของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus*

ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นงานวิจัยที่ช่วยให้เกิดองค์ความรู้ในด้านของความหลากหลายของชนิด (species diversity) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) และเข้าใจถึงองค์ประกอบด้านกายภาพของถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยสกุลนี้ อีกทั้งยังมีการตรวจสอบด้านปรสิตที่มีความสัมพันธ์กับหอยน้ำจืดชนิดนี้ โดยสามารถที่จะขยายผลการสำรวจไปสู่การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพด้านต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการรวบรวมความรู้ต่อไปในอนาคต

วิธีการ

1. พื้นที่ศึกษา ทำการศึกษาในแหล่งน้ำของลุ่มแม่น้ำแควน้อย 10 พื้นที่ คือ น้ำตกไทรโยคน้อย (น้ำตกเขาพัง), น้ำตกไทรโยคใหญ่ (น้ำตกเขาโจน), ห้วยเต่าดำ, น้ำตกผาตาด, ลำธารข้างน้ำพุร้อนหินดาด (น้ำพุร้อนญ่ม้ง), น้ำพุห้วยเขย่ง, ลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเตี๋ย, น้ำตกเกริงกระเวีย, น้ำตกไคช่องถ่อง และน้ำตกตะเคียนทอง (ภาพที่ 1)

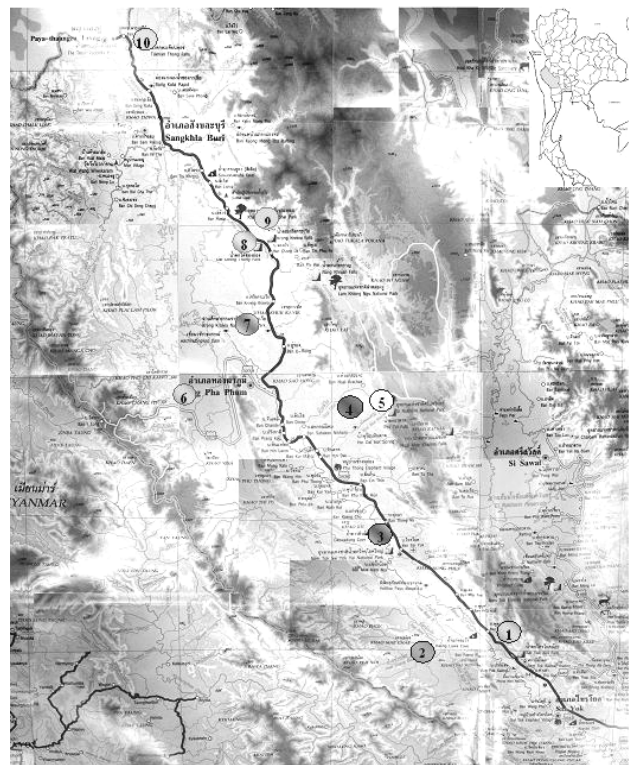
2. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของแหล่งน้ำด้วยอุปกรณ์ภาคสนาม โดยวัดค่าพีเอช, ความลึก, อุณหภูมิอากาศ, อุณหภูมิหน้า, ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ, ค่าการนำไฟฟ้า, ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ

3. การเก็บตัวอย่าง สุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* โดยวิธี counts per unit of time ใช้ผู้เก็บตัวอย่าง 5 คน เดินเก็บตัวอย่างด้วยมือในทิศทางทวนน้ำเป็นเวลา 10 นาที ตัวอย่างที่ได้นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อการศึกษาต่อไป

4. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ หอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ที่เก็บตัวอย่างได้นำมาตรวจหาเชื้อปรสิตในขณะที่หอยยังมีชีวิตอยู่ด้วยวิธี shedding ทำการตรวจสอบชนิดโดยใช้หนังสือของ Yamaguti (1975), Malex และ Cheng (1974) และ Schell (1962) การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปรียบเทียบตามการรายงานของ Brandt (1974) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (LM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM), ศึกษาลักษณะทางกายวิภาค และศึกษารูปแบบทางพันธุกรรมของหอยด้วยวิธี electrophoresis โดยทำการศึกษาทั้งสิ้น 6 เอนไซม์

บันทึกภาพ พร้อมกับวาดรูปสัณฐานวิทยา, ลักษณะทางกายวิภาค และปรสิตในหอยด้วยอุปกรณ์ที่ใช้ในการวาดภาพ (camera lucida)

5. การวิเคราะห์ข้อมูล เปรียบเทียบข้อมูลด้วยการทดสอบทางสถิติวิเคราะห์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย One-Way ANOVA หาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) จากข้อมูลจีโนไทป์ของหอย สร้างผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี unweighted-pair-group method (UPGMA) และโปรแกรม Phylogenetic Using Parsimong (PAUP)



ภาพที่ 1. แผนที่บริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อย แสดงพื้นที่จุดสำรวจ (1) น้ำตกไทรโยคน้อย (2) น้ำตกไทรโยคใหญ่ (3) ห้วยเต่าดำ (4) น้ำตกผาตาด (5) ลำธารข้างน้ำพุร้อนหินดาด (6) น้ำพุห้วยเขย่ง (7) ลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเตี๋ย (8) น้ำตกเกริงกระเวีย (9) น้ำตกไคช่องถ่อง และ (10) น้ำตกตะเคียนทอง

ผลการวิจัย

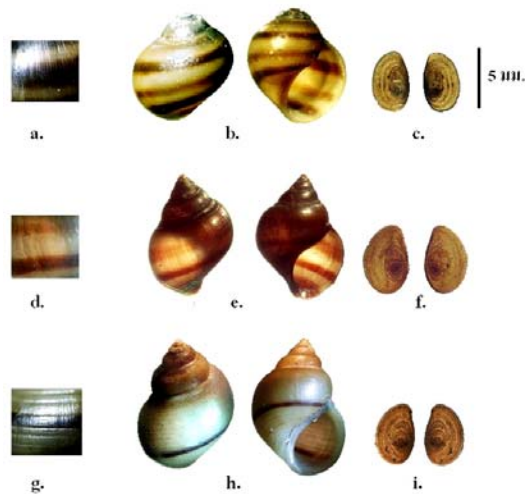
1. สภาพแวดล้อม คุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของน้ำในพื้นที่สำรวจ

สภาพแวดล้อมบริเวณพื้นที่สำรวจเป็นน้ำตกหรือลำธารที่มีต้นไม้ขึ้นปกคลุม เช่น ตะไคร้ เฟิร์น ต้นมะเดื่อ ต้นสัก และไผ่ ท้องน้ำเป็นทราย มีก้อนหินขนาดเล็ก หรือเป็นตะกอนดิน น้ำใสสะอาดมีการไหลของน้ำตลอด กระแสน้ำไหลปานกลางถึงไหลแรง

การตรวจวัดคุณภาพน้ำในแหล่งสำรวจทั้ง 10 พื้นที่ที่มีความใกล้เคียงกัน โดยอุณหภูมิอากาศ (24-28 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิน้ำ (22-26 องศาเซลเซียส) ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (7.50-8.97) จากแหล่งน้ำทั้ง 10 พื้นที่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าการไหลของกระแสน้ำปานกลางถึงแรง (11.18-23.36) ยกเว้นห้วยเต่าดำ น้ำตกไทรโยคน้อย และลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเดื่อ (0.5, 3.64 และ 4.38 ตามลำดับ) ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ มีค่าค่อนข้างสูงอยู่ในช่วง 7.34-8.62 mg/l ยกเว้นลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาดมีค่าต่ำกว่าพื้นที่อื่น 4.60 mg/l แต่ยังเป็นช่วงที่สิ่งมีชีวิตสามารถอยู่ได้ ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) มีค่าสูง (289-730 $\mu\text{mhos/cm}$) ยกเว้นห้วยเต่าดำมีค่าต่ำ (20 $\mu\text{mhos/cm}$) ปริมาณฟอสเฟตในน้ำของห้วยเต่าดำมีค่า 0.1 mg/l ซึ่งอยู่ในช่วงเหมาะสม แต่ปริมาณฟอสเฟตในน้ำจากแหล่งพื้นที่อื่นมีค่าสูง โดยเฉพาะลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาด (46.4 mg/l) แสดงว่าแหล่งน้ำมีการเจริญเติบโตของวัชพืชในน้ำมากและรวดเร็ว นอกจากนี้พบว่าค่าการนำไฟฟ้า การไหลของกระแสน้ำ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณฟอสเฟต ไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนหอยที่พบ ($P>0.05$)

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือก

จากการศึกษาลักษณะของเปลือกหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* จากจุดสำรวจทั้ง 10 พื้นที่ พบว่าเปลือกหอยมีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม ขนาดเล็ก การวนของเปลือกเป็นแบบวนขวา มีแถบสีพาดตามขวางของเปลือกหอย ฝาปิดปากเปลือกเป็นแบบคอนเซนทริกมีสไปรัลนิวเคลียส เมื่อพิจารณาลักษณะปลายยอด รูปร่าง และลายบนเปลือกหอย เปรียบเทียบกับ Brandt (1974) พบว่าหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ที่เก็บตัวอย่างจากห้วยเต่าดำมีลักษณะเปลือกค่อนข้างกลม (size index = 87.10) ปลายยอดตัด คล้ายคลึงกับ *P. petrosus* หอยที่เก็บตัวอย่างจากน้ำตกผาตาด น้ำพุห้วยเขย่ง น้ำตกไคช่องถ่อง น้ำตกเกริงกระเวีย และน้ำตกตะเคียนทอง มีรูปร่างกลมรี สไปรัลสูง ผิวเปลือกมี spiral line คล้ายกับ *P. siamensis* ส่วนหอยจากน้ำตกไทรโยคน้อย น้ำตกไทรโยคใหญ่ ลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาด และลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเดื่อ มีรูปร่างกลมรี สไปรัลสูง คล้าย *P. siamensis* แต่ผิวเปลือกเรียบไม่มี spiral line เหมือน *P. petrosus* (ภาพที่ 2)



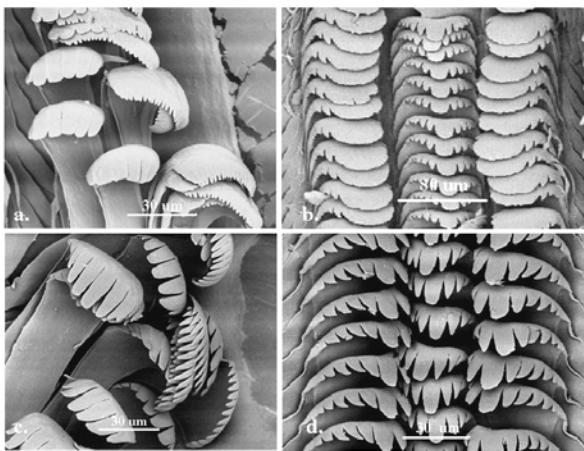
ภาพที่ 2. แสดงลักษณะผิวเปลือก รูปร่าง และแผ่นปิดปากเปลือกหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ทั้ง 3 กลุ่ม: a-c) เปลือกหอยจากห้วยเต่าดำ, d-f) บ้านท่ามะเดื่อ และ g-i) เปลือกหอยจากน้ำตกผาตาด

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพินหอย (แรดูลา)

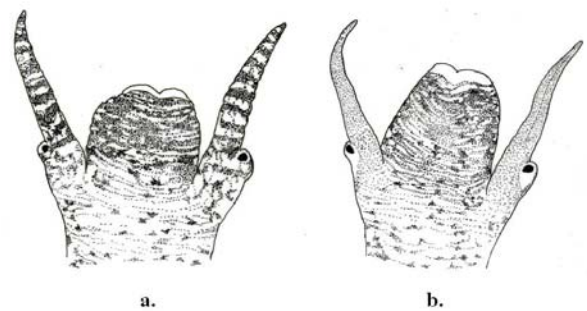
พบว่าพินของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* จากจุดสำรวจทั้ง 10 พื้นที่ มีลักษณะพินเป็นแบบที่นีโอกลอสซา (Taenioglossa) มีสูตรพินเป็นแบบ 2:1:1:1:2 เหมือนกัน แตกต่างกันที่ความกว้างและจำนวนหยักของพินหอย พินของหอยที่เก็บตัวอย่างจากห้วยเต่าดำมีจำนวนหยักพินกลางเป็น 5-1-5 พินข้าง 5-1-5 พินริมหยาบมี 7 หยัก และพินริมละเอียดมี 24 หยัก คล้ายกับพินหอย *P. petrosus* และพบว่าพินกลางมีรอยหยักตรงกลางปานและใหญ่กว่าหอยที่เก็บจากพื้นที่อื่น (ภาพที่ 3)

4. ลักษณะทางกายวิภาค

ลักษณะของโครงสร้างลำตัวภายนอกและภายในของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* จากจุดสำรวจทั้ง 10 พื้นที่ส่วนใหญ่มีลักษณะเหมือนกัน คือ ส่วนหัวมีลักษณะอ้วนสั้นเรียกสเนาท์ ด้านหลังปากมีเทนเทเคิล 1 คู่ ที่บริเวณโคนเทนเทเคิลพบตา 1 คู่ มีรงควัตถุสีเขียวเหลืองกระจายสม่ำเสมอ และมีรงควัตถุเมลานินปกคลุมที่ส่วนหัวและเทนเทเคิล ทำให้มีลักษณะเป็นข้อปล้อง ยกเว้นหอยจากห้วยเต่าดำที่เทนเทเคิลไม่เป็นข้อปล้องและบริเวณรอบตามีรงควัตถุสีเหลืองครีมกระจายอยู่โดยรอบ (ภาพที่ 4) ระบบทางเดินอาหารเริ่มจากส่วนปาก ภายในมีขากรรไกรและแรดูลา ส่วนที่บรรจุแรดูลาเรียกว่าบักคัสแมส บักคัสแมสต่ออยู่กับหลอดอาหารมีลักษณะเป็นท่อยาว ด้านข้างมีต่อมน้ำลาย 1 คู่ ส่วนท้ายต่อกับกระเพาะอาหาร กระเพาะอาหารแบ่งเป็น 2 ส่วนชัดเจนและมีถุงสไตล์ซึ่งภายในบรรจุคริสทาลินสไตล์ยื่นออกมาจากกระเพาะส่วนท้าย ระบบลำเลียงประกอบด้วยหัวใจซึ่งมี 2 ห้องอยู่ในช่องรอบหัวใจใกล้กับเหงือก และอยู่ระหว่างไตกับตับ พบต่อมออสเฟรเดียมและต่อมไฮโปแบรงเคียลอยู่ใกล้กับเหงือก

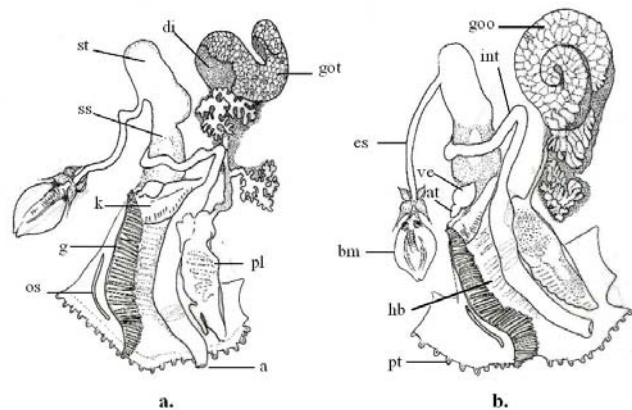


ภาพที่ 3. แสดงลักษณะพื้น (แรดูลา) a. พื้นริมของหอยจากห้วยเต่าดำ b. พื้นกลางและพื้นข้างของหอยห้วยเต่าดำ c. พื้นริมของหอยลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเดื่อ d. พื้นกลางและพื้นข้างของหอยลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเดื่อ



ภาพที่ 4. แสดงการกระจายตัวของรงควัตถุบริเวณส่วนหัวของหอยสกุล *Paludomus* a. ส่วนหัวของหอยจากจุดสำรวจ 9 พื้นที่ b. ส่วนหัวของหอยห้วยเต่าดำ

ระบบสืบพันธุ์ในหอยเพศผู้และเพศเมียมีทั้งแบบระบบปิดและระบบเปิด คือท่อนาสเปิร์มหรือท่อนำไข่ จะเป็นระบบปิด ส่วนท่อสืบพันธุ์พลเลียดเป็นระบบเปิดเนื่องจากมีลักษณะเป็นท่อที่พับรอยแยกตามความยาวของแมนเทิล ทำให้ท่อพลเลียดประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ด้าน ท่อพลเลียดของหอยเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าหอยเพศผู้ ในหอยเพศผู้ไม่พบเพนนิสแต่พบท่อนาสเปิร์มยื่นออกมาจากท่อสืบพันธุ์พลเลียดแทน (ภาพที่ 5) สเปิร์มของหอยสกุล *Paludomus* ที่พบมี 2 ชนิดคือ สเปิร์มขนาดเล็กหัวสั้นมีหางยาว 1 หาง และสเปิร์มขนาดใหญ่หัวเป็นรูปกระสวยมีหางยาว 6 หาง



ภาพที่ 5. ระบบลำเลียงและอวัยวะภายในของหอยสกุล *Paludomus* a. หอยเพศผู้ b. หอยเพศเมีย (a- ทวารหนัก, at- หัวใจส่วนบน, bm- บักคัสแมส, di- ตับ, es- หลอดอาหาร, g- เหงือก, got- เทสทิส, goo- ริงไข่, hb- ต่อมไฮโปแบรงเคียล, int- ลำไส้, k- ไต, os- ต่อมออสเฟรเดียม, pl- ท่อสืบพันธุ์พลเลียด, pt- ท่อนาสเปิร์ม, ss- ถุงสไตล์, st- กระเพาะอาหาร และ ve- หัวใจส่วนล่าง)

5. รูปแบบทางพันธุกรรม

จากจำนวนยีนที่ศึกษาทั้งสิ้น 12 ตำแหน่ง เมื่อพิจารณาค่าความถี่ยีน (ตารางที่ 1) มียีนที่แสดงความแตกต่างของหย่อน้ำจืดสกุล *Paludomus* 6 ตำแหน่ง ได้แก่ *Lap-2*, *Ldh-1*, *Mdh*, *Est-3*, *Est-4* และ *Eat-5* โดย *Lap-2*, *Ldh-1* และ *Mdh* ปรากฏที่อัลลีลต่างกัน ยีน *Est-3*, *Est-4* และ *Est-5* มียีนอยู่ในสภาวะหลากหลายรูปแบบ

ค่าแสดงความหลากหลายภายในประชากร (ตารางที่ 2) ได้แก่จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง มีค่าตั้งแต่ 1.00-1.25 โดยมีค่าไม่แตกต่างอย่างชัดเจน เปอร์เซ็นต์โลไซท์ที่มีความหลากหลาย (polymorphic loci) มีค่าระหว่าง 0.083-0.250 ค่าเฮเทอโรไซโกตจากการแจงนับ (observed heterozygosity, H_o) มีค่าสูงโดยมีค่าระหว่าง 0.038-0.125 ค่าเฮเทอโรไซโกตทางทฤษฎี (expected heterozygosity, H_e) ของตัวอย่างที่มีค่าต่ำกว่าค่า observed ทำให้ค่า F_{is} มีค่าเป็นลบ ยกเว้นตัวอย่างจากห้วยเต่าดำที่มีค่า H_e มากกว่า H_o

ตารางที่ 1. แสดงค่าความถี่อัลลีล (Allele frequencies) ของหย่อน้ำจืดสกุล *Paludomus* (n= จำนวนตัวอย่าง และ h= ค่าเฮเทอโรไซโกตต่อยีน 1 ตำแหน่ง)

ยีน	จุดสำรวจ										
	น้ำตก ไทรโยคน้อย	น้ำตก ไทรโยคใหญ่	ห้วย เต่าดำ	ลำธารข้างน้ำ พุร้อนหินดาด	น้ำตก ผาดาด	น้ำพุ ห้วยเขย่ง	ลำธารบ้าน ท่ามะเดื่อ	น้ำตก เกริงกระเวีย	น้ำตก ไตช่องถ้อง	น้ำตก ตะเคียนทอง	น้ำตก
<i>Aldox</i> .32 n h	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0
<i>Xdh</i> .43 n h	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0
<i>Mdh</i> .90 .82 .70 n h	0.00 1.000 0.00 30 0.0	0.00 1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 0.00 25 0.0	0.00 0.00 1.000 30 0.0	0.00 0.00 1.000 30 0.0	0.00 1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 0.00 30 0.0	1.000 0.00 0.00 30 0.0	1.000 0.00 0.00 30 0.0	1.000 0.00 0.00 25 0.0	1.000 0.00 0.00 25 0.0
<i>Est-1</i> .96 n h	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0
<i>Est-2</i> .68 n h	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0	1.000 35 0.0	1.000 35 0.0	1.000 30 0.0
<i>Est-3</i> .63 .54 n h	0.071 0.929 35 0.132	0.083 0.914 30 0.158	0.500 0.500 30 0.500	1.000 0.00 30 0.0	0.500 0.500 35 0.500	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 35 0.0	1.000 0.667 30 0.444	0.333 0.857 35 0.245	0.143 0.833 30 0.278	0.167 0.833 30 0.278
<i>Est-4</i> .49 .46 .44 n h	0.571 0.429 0.00 35 0.490	0.583 0.417 0.00 30 0.486	0.666 0.0 0.334 30 0.445	Null 30 -	0.500 0.500 0.00 35 0.500	0.333 0.167 0.500 30 0.611	0.417 0.083 0.500 35 0.569	0.833 0.167 0.00 30 0.278	0.643 0.357 0.00 35 0.459	0.583 0.417 0.00 30 0.486	0.583 0.417 0.00 30 0.486
<i>Est-5</i> .42 .35 n h	0.929 0.071 35 0.132	0.917 0.083 30 0.152	0.167 0.833 30 0.278	0.500 0.500 30 0.500	0.500 0.500 35 0.500	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.417 35 0.0	1.000 0.583 30 0.486	0.583 0.917 35 0.152	0.917 0.083 35 0.152	0.833 0.167 30 0.278
<i>Lap-1</i> .64 n h	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0
<i>Lap-2</i> .43 .38 n h	0.00 1.000 30 0.0	0.00 1.000 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	0.00 1.000 30 0.0	0.00 1.000 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0
<i>Ldh-1</i> .92 .85 n h	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	0.00 1.000 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0	1.000 0.00 30 0.0
<i>Ldh-2</i> .41 n h	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0	1.000 30 0.0

การทดสอบความแตกต่างยีนระหว่างหย่อน้ำจืด *Paludomus* ทั้ง 10 พื้นที่ แสดงว่ายีนทุกคู่แตกต่างกันที่ยีนอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง ระยะห่างทางพันธุกรรม (ตารางที่ 3) มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.000399 ซึ่งเป็นค่าระหว่างหย่อน้ำจืดไทรโยคน้อยและน้ำตกไทรโยคใหญ่ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.439390 ซึ่งเป็นค่าระหว่างหย่อน้ำจืด

จากห้วยเต่าดำและน้ำตกไทรโยคน้อย จากผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (UPGMA dendrogram ภาพที่ 6) แสดงว่า หอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ที่ทำการศึกษานี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ซึ่งแตกต่างกันด้วยค่าระยะห่างทางพันธุกรรม 0.194073 โดยหอยที่เก็บตัวอย่างจากห้วยเต่าดำแยกจากพื้นที่อื่นอย่างชัดเจน

ตารางที่ 2. แสดงค่าจำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง, เปอร์เซนต์สัดส่วนยีนในสภาวะหลากหลายรูปแบบ, ค่าเฮตเทอโรไซโกติคทั้งค่าจริง (H_0) และค่าตามทฤษฎี (H_e) และค่าสัมประสิทธิ์ (F_{ist}) ของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus*

จุดสำรวจ	จำนวนอัลลีลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง	เปอร์เซนต์สัดส่วนยีนในสภาวะหลากหลายรูปแบบ	ค่าเฮตเทอโรไซโกต		ค่า F_{ist}
			ค่าจริง (H_0)	ค่าทางทฤษฎี (H_e)	
น้ำตกไทรโยคน้อย	1.250	0.250	0.095	0.063	-0.508
น้ำตกไทรโยคใหญ่	1.250	0.250	0.097	0.066	-0.469
ห้วยเต่าดำ	1.250	0.250	0.083	0.102	0.186
ลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาด	1.000	0.083	0.083	0.042	-0.976
น้ำตกผาดาด	1.250	0.250	0.250	0.125	-1.000
น้ำพุห้วยเขย่ง	1.167	0.083	0.083	0.051	-0.627
ลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเดื่อ	1.167	0.250	0.083	0.047	-0.766
น้ำตกเกริงกระเวีย	1.250	0.083	0.153	0.101	-0.515
น้ำตกไคช่องถ่อง	1.250	0.083	0.095	0.071	-0.338
น้ำตกตะเคียนทอง	1.250	0.250	0.125	0.087	-0.437
ค่าเฉลี่ย	1.208	0.183	0.115	0.076	-0.582

ตารางที่ 3. แสดงค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (I), ด้านบน และค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D), ด้านล่าง ของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus*

จุดสำรวจ	น้ำตกไทรโยคน้อย	น้ำตกไทรโยคใหญ่	ห้วยเต่าดำ	ลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาด	น้ำตกผาดาด	น้ำพุห้วยเขย่ง	ลำธารบ้านท่ามะเดื่อ	น้ำตกเกริงกระเวีย	น้ำตกไคช่องถ่อง	น้ำตกตะเคียนทอง
น้ำตกไทรโยคน้อย	-	0.999959	0.644431	0.788739	0.874229	0.906736	0.817923	0.886110	0.909745	0.908328
น้ำตกไทรโยคใหญ่	0.000399	-	0.646966	0.791336	0.875744	0.908626	0.819823	0.887785	0.90988	0.908559
ห้วยเต่าดำ	0.439390	0.435461	-	0.651046	0.689351	0.636883	0.730851	0.788151	0.713749	0.755154
ลำธารหินดาด	0.237330	0.234033	0.418480	-	0.952381	0.868741	0.867144	0.829804	0.799022	0.808019
น้ำตกผาดาด	0.134413	0.132681	0.372005	0.048791	-	0.845879	0.844324	0.892466	0.878248	0.885680
น้ำพุห้วยเขย่ง	0.097904	0.095811	0.451169	0.140710	0.167379	-	0.911739	0.831792	0.828524	0.829273
ลำธารป่าท่ามะเดื่อ	0.200987	0.198667	0.313546	0.142550	0.169219	0.092401	-	0.925357	0.917732	0.918347
น้ำตกเกริงกระเวีย	0.120914	0.119026	0.238066	0.186566	0.113767	0.184173	0.077597	-	0.983373	0.986000
น้ำตกไคช่องถ่อง	0.094519	0.094443	0.296052	0.224369	0.129827	0.188110	0.085850	0.016767	-	0.999019
น้ำตกตะเคียนทอง	0.096149	0.095898	0.285665	0.213170	0.121399	0.187206	0.085180	0.014099	0.000981	-

6. การติดเชื้อปรสิต

ผลการติดเชื้อปรสิตของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* จากจุดสำรวจ 10 พื้นที่ พบการติดเชื้อปรสิตใน 8 พื้นที่ (ยกเว้นน้ำตกเกริงกระเวีย และน้ำตกไคช่องถ่อง ไม่พบการติดเชื้อปรสิต) ตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียที่พบมี 4 กลุ่ม (ภาพที่ 7) คือ *Parapleurolophocercus cercaria* และ *Strigea cercaria* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในนก *Cotylomicrocercus cercaria* เป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในปลาหน้าจืดขนาดเล็ก และ *Virgulate cercaria* เป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในสัตว์มีกระดูกสันหลังพวกสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

บทสรุป

จากการรายงานของนักวิทยาศาสตร์ในอดีต (Brandt, 1974) โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* 2 ชนิดในประเทศไทย ได้แก่ *P. petrosus* และ *P. siamensis* ในจังหวัดกาญจนบุรีพบเพียง *P. siamensis* เท่านั้น ในการศึกษานี้ลักษณะทางสัณฐานวิทยายังคงเป็นลักษณะหลักที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิด

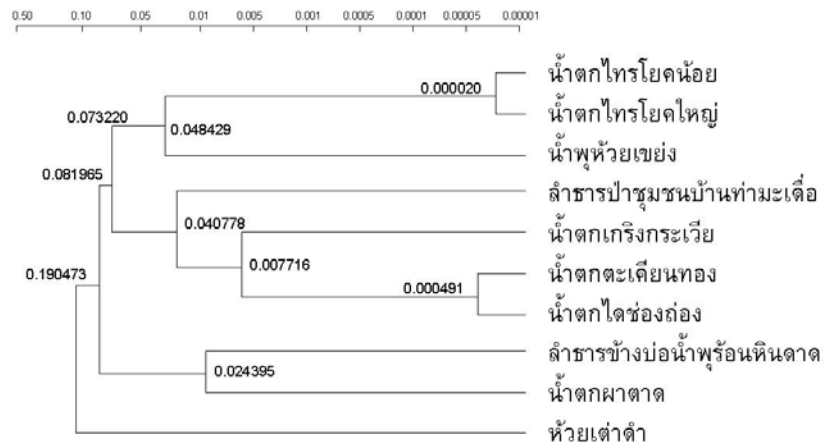
ซึ่งพบว่าไม่เพียงพอในการจำแนก ยังต้องมีข้อมูลด้านอื่น ๆ มาช่วยในการจัดจำแนกเช่น ลักษณะทางกายวิภาค รูปแบบทางพันธุกรรม ซึ่งได้ทำการศึกษาลแล้วในครั้งนี้

จากการศึกษาหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* บริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อย จังหวัดกาญจนบุรี 10 พื้นที่ พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคคล้ายคลึงกัน ยกเว้นตัวอย่างหอยจากห้วยเต่าดำที่แตกต่างจากพื้นที่อื่นอย่างชัดเจน

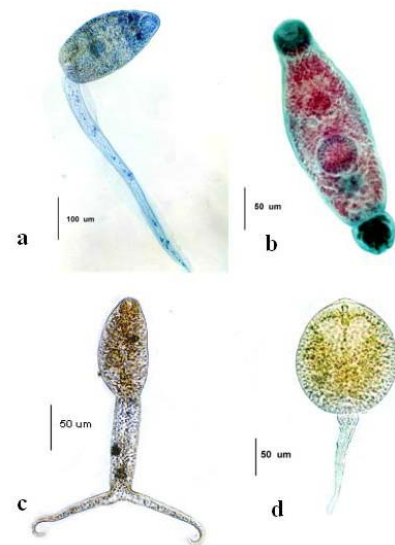
ใน หอย น้ำ จืด ส กุล *Paludomus* ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิดมีค่าสูง ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีของหอยสกุลนี้ (H_0 มีค่า 0.115 และ H_e มีค่า 0.075) มีค่าใกล้เคียงกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกซึ่งมีค่า 0.100 และ 0.079 ตามลำดับ (Nevo, 1978 อ้างตาม อุทัยรัตน์, 2543) ส่วนใหญ่ในทุกพื้นที่พบว่าค่า $H_0 > H_e$ แสดงว่าหอยที่เป็นเฮตเทอโรไซโกตมีอยู่จำนวนมากกว่าที่ควรจะเป็น อาจเกิดจากการที่ไฮไมโซโกตมีอัตราการรอดต่ำกว่าเฮตเทอโรไซโกต ปรากฏการณ์เช่นนี้พบได้บ่อยในหอยทะเล (อุทัยรัตน์, 2543) จากการศึกษาพบว่าหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* มีค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีสูง แสดงว่ายังคงมีประชากรขนาดใหญ่

จากแผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแสดงว่าสามารถแบ่งหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับชนิดย่อย (มีค่า $D \geq 0.1$) โดยหอยที่เก็บตัวอย่างจากห้วยเต่าดำแยกจากพื้นที่อื่นอย่างชัดเจน หอยที่เก็บตัวอย่างจากอีก 9 พื้นที่ ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรกลุ่มนี้มีค่าสูง ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มประชากรย่อยในระดับเกือบเป็นชนิดย่อย (มีค่า D ใกล้เคียง 0.1) กลุ่มที่หนึ่งหอยจากลำธารข้างบ่อน้ำพุร้อนหินดาดและน้ำตกผาตาด กลุ่มที่สองหอยจากลำธารป่าชุมชนบ้านท่ามะเตือ น้ำตกเกริงกระเวีย น้ำตกไคช่องถ่อง และน้ำตกตะเคียนทอง กลุ่มสุดท้ายได้แก่ หอยจากน้ำตกไทรโยคน้อย น้ำตกไทรโยคใหญ่ และน้ำพุห้วยเขย่ง โดยที่หอยจากน้ำตกไทรโยคน้อยกับน้ำตกไทรโยคใหญ่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากที่สุด

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* ทั้ง 10 พื้นที่ข้างต้นสอดคล้องกับความสัมพันธ์ที่ศึกษาโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา ลักษณะกายวิภาค และรูปแบบเอนไซม์ของหอยทั้ง 10 พื้นที่ ที่แตกต่างกัน 20 ลักษณะ จัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม PAUP (ภาพที่ 8) ซึ่งพบว่าหอยที่เก็บตัวอย่างจากห้วยเต่าดำมีความแตกต่างจากแหล่งพื้นที่อื่นอย่างชัดเจน



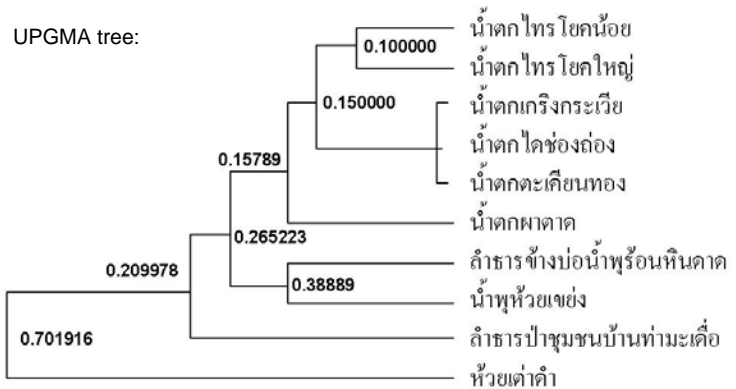
ภาพที่ 6. แผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus*



ภาพที่ 7. ชนิดตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียที่พบในหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus*, a) *Parapleurolophocercus cercaria*, b) *Strigea cercaria*, c) *Cotylomicrocercus cercaria*, d) *Virgulate cercaria*

จากการศึกษาพบเชื้อปรสิตระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดสกุลนี้ 4 กลุ่ม คือ Parapleurolophocercus cercaria, Strigea cercaria, Cotylomicrocercus cercaria และ Virgulate cercaria ซึ่งเป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในนก และปลาน้ำจืดขนาดเล็ก

การค้นพบหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* จากห้วยเต่าดำเป็นสิ่งที่น่าสนใจ แม้ในขณะนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นชนิดใหม่หรือไม่ แต่พบว่าเป็นชนิดเดียวที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับพื้นที่อื่นๆ ชัดเจน แสดงว่าหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* บริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อย จังหวัดกาญจนบุรี น่าจะมีความหลากหลายทางชนิดพันธุ์มากกว่า 1 ชนิด นอกจากนั้นในทางนิเวศวิทยาหอยน้ำจืดเป็นสิ่งมีชีวิตหนึ่งในระบบสายโซ่อาหาร ดังนั้นผลการศึกษาดังกล่าวจึงเชื่อปรสิตในหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเฝ้าระวังโรคในสัตว์เพื่อช่วยในการอนุรักษ์สิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศได้



ภาพที่ 8. แผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยน้ำจืดสกุล *Paludomus* (คำนวณจากลักษณะสัณฐานวิทยา กายวิภาค และไอโซเอนไซม์)

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_145038 และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

เอกสารอ้างอิง

ดวงเดือน ไกรลาศ และคณะ. 2544. การศึกษาความหลากหลายของหอยน้ำจืดในเขตพื้นที่ป่าเต่าดำ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2543. พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

Brandt, R.A.M. 1974. The non-marine aquatic Mollusca of Thailand. *Arch Moll.* 105: 1-423.

Malax, E.A. and T.C. Cheng. 1974. Medical and economic malacology. Academic Press, New York.

Schell, S.C. 1962. Parasitology laboratory manual. John Wiley and sons, New York.

Yamaguti, S. 1975. A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates. Keigaken Publishing Co., Tokyo.