รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายของหอยทากบกและชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น บริเวณพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Diversity and Endemic Speceis of Land Snail in the Area of Plant Genetic Conservation Project under the Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรศักดิ์ สุจริต
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การศึกษาและสำรวจหอยทากบกในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ โดยเฉพาะในพื้นที่อนุรักษ์หมู่เกาะแสมสาร ชลบรี พื้นที่เขาเขียว ชลบุรี และ พื้นที่เขาวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรี ได้พบหอยทากบกทั้งหมด 13 วงศ์ จำนวน 39 ชนิด ทั้งนี้มีหอยที่จัดได้ว่าหายากเนื่องจากมีการแพร่กระจายที่จำกัดมาก และเป็น endanger species ของประเทศไทย 4 ชนิดคือหอยในสกุลของหอยนกขมิ้น *Amphidromus schomburgki Amphidromus inversus Amphidromus semitesselatus* และ *Amphidromus glaucolarynx* และมีหอยนักล่าวงศ์ Streptaxidae ที่มีแนวโน้มจะเป็นชนิดใหม่ที่พบบนพื้นที่เขาวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรีอีก 2 สปีชีส์ การศึกษากายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ของหอยทั้งสองพบว่า ส่วนของ male genitalia ในหอยทั้งสองมีลักษณะที่แตกต่าง นอกจากนี้ยังพบหอยนกขมิ้นน้อย *Amphidromus glaucolarynx albicans* ซึ่งมีรายงานครั้งแรกเมื่อปี 1902 ที่จังหวัดกาญจนบุรี ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยอาศัยลำดับเบสที่อยู่บนไมโตคอนเดรีย 16S rDNA พบว่ามีความสัมพันธ์แบบวิวัฒนาการบรรพบุรุษเดียว (*Amphidromus* clade, *Syndromus* clade and *A. glaucolarynx* clade) ในหอยทั้งสกุลนี้และในสกุลย่อย *Amphidromus* ในขณะที่ผลความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการของหอยในสกุลย่อย *Syndromus* ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบวิวัฒนาการขนาน โดยมี *A. glaucolarynx* แยกออกมาบริเวณฐานของแผนภูมิ และสมควรที่ต้องแยกออกไว้ในสกุลย่อยที่แตกต่าง นอกจากนี้ผลการศึกษาทางสัณฐานวิทยา อวัยวะสืบพันธุ์ และแผ่นฟันยังสนับสนุนความแตกต่างนี้ โดยที่หอยต้นไม้ชนิด *A. glaucolarynx* ควรแยกออกาจากหอยในสกุลย่อย *Syndromus s.s.* อย่างอิสระ

คำสำคัญ: หอยทากบก การวิภาคศาสตร์ เกาะแสมสาร

Abstract

This land snails survey were conducted under the Plant Genetic Conservation Project under the Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. The area of Samaesan islands, Khao Kiew, Chonburi and Khao Wang Kamen, Saiyok, Kanchanaburi were survey for the land snails. These three main collecting sites show high diversity of the landsnails included 13 families and 39 species. Among these *Amphidromus inversus*, *A. semitessellatus*, *A. schomburgil* and *A. glaucolarynx* are supposed to be the endanger species. The two carnivorous streptaxids snails from Kanchanaburi are supposed to be undescribed species. There shell morphology is almost similar, but they differ mainly based on the malr genital organ. In addition, the most vanishing subspecies Amphidromus glaucolarynx was rediscoveded from Kanchanaburi since it was described in 1902. The phylogentic result from mitochondrial DNA, 16S RNA gene sequences showed the monophyletic of the genus including three monophyletic groups (*Amphidromus* clade, *Syndromus* clade and *A. glaucolarynx* clade). Most species in the nominotypical subgenus revealed a monophyletic. While the majority species of the subgenus *Syndromus* s.l. were recovered as non-monophyletic, and *A. glaucolarynx* formed a distinct clade. The apparent paraphyly of *Syndromus* s.l. clade indicates that *A. glaucolarynx* should be recognized as

Keywords: land snail, anatomy, Samaesarn Islands

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	3
วิธีดำเนินการศึกษา	3
ผลการศึกษา	7
สรุปและวิจารณ์ผล	15
เอกสารอ้างอิง	17
ภาคผนวก	19
ประวัตินักวิจัยและคณะ	36

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่าง *A. glaucolarynx* ที่เก็บได้และใช้ในการศึกษาครั้งนี้ 10

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	เปลือกหอยนักล่าเปลือกเบี้ยวทั้งสองสปีชีส์ที่พบในพื้นที่เขาวังเขมร ไทรโยค กาญจนบุรี.....	8
ภาพที่ 2	อวัยวะสืบพันธุของหอยนักล่าเปลือกเบี้ยวทั้งสองสปีชีส์ที่พบในพื้นที่เขาวังเขมร ทองผาภูมิ กาญจนบุรี.....	9
ภาพที่ 3	แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง *Amphidromus glaucolarynx* จำนวน 11 ประชากร ด้วยวิธี maximum parsimony ตัวเลขแสดง bootstrap probability 100 replicated. Outgroup 1=*Amphidromus (Amphidromus) perversus*; Outgroup 2=*Amphidromus (Syndromus) contrarius*; Outgroup 3=*Camaena illustris*.....	14

ความหลากหลายของหอยทากบกและชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น บริเวณพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Diversity and Endemic Speceis of Land Snail in the Area of Plant Genetic Conservation Project under the Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

จิรศักดิ์ สุจริต
Chirasak Sutcharit

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

"หอย" เป็นสิ่งมีชีวิตที่อุบัติขึ้นมาบนโลกตั้งแต่มหายุคแคมเบรียน มีบทบาทจำเพาะหลังจากผ่านกระบวนการคัดเลือกทางธรรมชาติ หอยมีวิวัฒนาการที่ทำให้มีความหลากหลายของสปีชีส์มากเป็นที่สองรองจากสัตว์ขาข้อ (arthropods) และมีหน้าที่เชิงนิเวศอย่างหลากหลาย ซึ่งในที่สุดมีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อย่างผสมกลมกลืนตามยุคสมัยของโลกที่ผ่านมาแล้วหลายร้อยล้านปี การประมาณจำนวนสปีชีส์ของหอยทั้งโลกน่าจะมีถึง 150,000 ถึง 200,000 สปีชีส์ อย่างไรก็ตามมีเงื่อนไขหลายอย่างที่ทำให้การประมาณจำนวนสปีชีส์ยังไปไม่ถึงความเป็นจริงด้วยสาเหตุต่างๆ ได้แก่การมีสปีชีส์ซ่อนเร้น (cryptic species) ที่ยังไม่มีการวิเคราะห์ได้อย่างทั่วถึง แม้จะมีเทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้สารชีวโมเลกุล

ปัจจุบันความหลากหลายทางชีวภาพนับเป็นเรื่องที่ทุกคนให้ความสนใจ โดยเฉพาะภาวะคุกคามต่อความหลากหลายทางชีวภาพ อันเป็นผลสืบเนื่องมากจากสถานการณ์โลกร้อนในปัจจุบัน การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพนั้นมีหลายส่วน ส่วนที่มีความสำคัญมากอันหนึ่งเกี่ยวข้องกับความหลากสปีชีส์ของสิ่งมีชีวิต ในประเทศที่พัฒนาแล้วองค์ความรู้ด้านความหลากสปีชีส์ของสิ่งมีชีวิตนี้มีก้าวหน้าไปมาก ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยในการวางแผนหรือนโยบายการใช้และการจัดการทรัพยากรความหลากหลายที่มีอยู่ให้ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพและยั่งยืน สำหรับประเทศไทยความรู้พื้นฐานในสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่างๆ มีอยู่น้อยมากและจำกัด ซึ่งขัดแย้งกับตำแหน่งที่ตั้งทางภูมิศาสตร์กลับบ่งชี้ว่าประเทศไทยซึ่งเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์และพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตต่างๆ อย่างมากมาย

การขดวนของหอยฝาเดียวมีทั้งแบบเวียนซ้าย (sinistral) หรือเวียนขวา (dextral) นั้นควบคุมด้วยยีนเพียงตำแหน่งเดียว (Murray and Clarke, 1976; Ueshima and Asami, 2003; Davision et al. 2005) โดยในประชากรหนึ่งๆ จะแสดงการเวียนของเปลือกเพียงแบบเดียว ยกเว้นบางครั้งในบางประชากรอาจพบได้ทั้งสองแบบ สาเหตุที่หอยฝาเดียวมักแสดงการเวียนของเปลือกเพียงแบบเดียวนั้นเนื่องจากพวกที่เปลือกมีการเวียนที่แตกต่างมักจะมีความถี่น้อยในประชากรและจะถูกคัดเลือกออกไปเพราะหาคู่ผสมพันธุ์ได้ยาก (Johnson, 1982, 1987) แม้ว่าในบางครั้งสามารถพบรูปแบบการเวียนของเปลือกได้ทั้งสองแบบในพื้นที่เดียวกัน แต่ก็มักจะไม่มี gene flow ระหว่างกันซึ่งทำให้เกิดการแบ่งแยกทางการสืบพันธุ์ (Johnson, 1982,

1987; Johnson et al. 1993) และเป็นที่รู้กันโดยทั่วไปว่าหอยที่มีเปลือกเวียนต่างกันมักจะแยกกันเป็นคนละชนิด อย่างไรก็ตามในบรรดาหอยทากบกในโลกมีรายงานอยู่ 11 สกุลที่พบลักษณะการเวียนทั้งสองแบบ (dimorphic coiling) (Asami, 1993) แต่ส่วนใหญ่มักจะเป็นคนละชนิดกัน จะมีแต่เพียงหอยต้นไม้สกุล *Amphidromus* เท่านั้นที่พบตัวเวียนซ้ายและเวียนขวานั้นไม่แบ่งแยกเป็นคนละชนิดกัน

ประเทศไทยซึ่งตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นแบบศูนย์สูตร ซึ่งเป็นบริเวณที่มีปัจจัยทางกายภาพเอื้อต่อความหลากหลายของพรรณสัตว์ซึ่งรวมถึงหอยทากบกกลุ่มต่างๆ ในบรรดาหอยทากบกที่พบในประเทศไทยพบมีทั้งที่อาศัยอยู่บนพื้นและบนต้นไม้ โดยหอยต้นไม้สกุล *Amphidromus* มีการแพร่กระจายในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยมีรายงานอยู่ประมาณ 12 ชนิด (Sutcharit, 2005; Sutcharit and Panha, in press) หอยในสกุลนี้มักแสดงลักษณะที่หลากหลายของสีสันและการเวียนของเปลือกอันน่าตื่นเต้น และมีศักยภาพที่จะใช้ในการศึกษากลไกทางวิวัฒนาการในรูปแบบต่างๆ และจากการศึกษาด้วยเทคนิคโปรตีนในเบื้องต้นพบว่าหอยเวียนซ้ายและเวียนขวาสามารถผสมพันธุ์กันและเกิด gene flow ระหว่างกันได้ (Clarke et al. 1969; Johnson et al. 1993) ซึ่งการเวียนต่างกันของเปลือกอาจไม่ได้เป็นข้อจำกัดในการแบ่งแยกชนิดของหอยในสกุลนี้ นอกจากนี้ *A. glaucolarynx* ยังแสดงความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการที่ไม่สอดคล้องกับการจัดจำแนกแบบเดิมและยังมีความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สามารถแยกออกมาเป็นอีกสกุลย่อยหนึ่งได้

การเวียนที่แตกต่างกันของเปลือกหอยมีความสำคัญและทำให้เกิด speciation ในหอยทากบกได้ (Gittenberger, 1988; Ueshima and Asami, 2003; Davision et al. 2005) เนื่องจากการเวียนซ้ายหรือเวียนขวาไม่ได้ปรากฏที่เปลือกเพียงอย่างเดียวแต่ยังส่งผลให้อวัยวะภายในต่างๆ วางตัวในทิศทางกลับซ้ายขวากันด้วย ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้จะส่งผลให้หอยที่มีเปลือกขดวนต่างกันไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพราะช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์อยู่คนละด้านกัน (Vermeij, 1975; Asami et al. 1998; Ueshima and Asami, 2003) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าหอยที่เปลือกทรงยาวเรียวมักจะพบการผสมพันธุ์ข้ามกันระหว่างตัวที่มีเปลือกเวียนซ้ายและเวียนขวา (interchiral mating) ได้บ่อยกว่าพวกที่มีเปลือกทรงแบน (Asami et al. 1998) ด้วยเหตุนี้จึงอาจส่งผลให้ลักษณะ dimorphism นี้ปรากฏและคงอยู่ได้ในหอยสกุล *Amphidromus* นี้ อย่างไรก็ตามแต่การเฝ้าติดตามการผสมพันธุ์ของหอยในธรรมชาติเป็นไปได้ยากอีกทั้งหอยชนิดนี้มีวงจรชีวิตยาวประมาณ 3-4 ปี ดังนั้นวิธีการตรวจสอบสมมติฐานเรื่องการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างประชากรเวียนซ้ายกับเวียนขวาสามารถใช้การวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางโปรตีนและดีเอ็นเอเครื่องหมาย ที่ผ่านมาการศึกษาการกระจายตัวของประชากรที่มีเปลือกเวียนทั้งสองแบบของ *A. inversus* พบว่ามีการกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันไม่แบ่งแยกกันแม้ว่าจะศึกษาในประชากรที่มีขนาดเล็ก (Goodacre and Wade, 2001; Schilthuizen et al. 2005) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานิเวศวิทยาประชากรดังกล่าว ยังไม่สามารถบ่งชี้ถึงการแบ่งแยกในการสืบพันธุ์และโครงสร้างทางพันธุกรรมในระดับประชากรได้ นอกจากนี้การคงอยู่ของลักษณะเวียนซ้ายและเวียนขวาที่พบได้บ่อยในหอยต้นไม้สกุล Amphidromus นี้ยังไม่มีการศึกษาทางพันธุกรรมในระดับประชากร (population genetic)

การศึกษาครั้งนี้เลือก *A. glaucolarynx* มาใช้ในการศึกษาเนื่องจาก *A. glaucolarynx* เป็นหอยเพียงชนิดเดียวในกลุ่มของหอยเวียนซ้ายซึ่งมีอยู่ประมาณ 40 ชนิด และพบการเวียนของเปลือกทั้งซ้ายและขวา (Pilsbry, 1900; Laidlaw and Solem, 1961; Solem, 1965; Sutcharit, 2005) ซึ่งลักษณะการเวียนทั้งสองแบบนี้อาจปรากฏเพียงชั่วคราวโดยลักษณะเวียนขวาจะค่อยๆ หายไปจนในที่สุดเหลือเป็นหอยเวียนซ้ายที่เหมือนกับชนิดอื่นในสกุลย่อยเดียวกัน การศึกษาข้อมูลความถี่ของเปลือกเวียนซ้ายและเวียนขวาที่พบในแต่ละประชากรช่วยคาดการณ์แนวโน้มการเกิดวิวัฒนาการของ *A. glaucolarynx* ว่าจะเป็นไปในทิศทางใด ผู้วิจัยยังสนใจศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรม (genetic structure) และการแบ่งแยกทางการสืบพันธุ์ (reproductive isolation) ในประชากรที่มีทั้งเปลือกเวียนซ้ายและเวียนขวาโดยวิธี enzyme electrophoresis และ

microsatellite marker โดยเทคนิค allozyme สามารถตรวจสอบการส่งผ่านยีน ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรได้ดี และไม่มีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมมามีผล สำหรับเทคนิค microsatellite สามารถตรวจความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ที่พบเพียงเล็กน้อยได้ดี ศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรม (population genetic) และความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ของประชากรได้ดี และยังสามารถเปรียบเทียบระดับของความผันแปรทางพันธุกรรมภายในประชากรได้ดีอีกด้วย หากว่า *A. glaucolarynx* สามารถแสดงพฤติกรรมการผสมข้ามกัน (interchiral mating) ได้ฉะนั้นหอยเวียนซ้ายและเวียนขวาคาดว่าจะมี gene pool ร่วมกัน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาความหลากหลายของหอยทากบก และชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น บริเวณพื้นที่ของ อพ.สธ. (เช่น หมู่เกาะแสมสาร เขื่อนวชิราลงกรณ์ อำเภอทองผาภูมิ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว และพื้นที่อื่นๆ)

วิธีดำเนินการวิจัย

พื้นที่ศึกษา

พื้นที่ป่าธรรมชาติบนแผ่นดินใหญ่และบริเวณหมู่เกาะต่างๆ จำนวน 11 เกาะ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ที่อยู่ภายใต้การดูแลของกองทัพเรือ และพื้นที่อนุรักษ์ สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ได้มุ่งเน้นที่พื้นที่หมู่เกาะแสมสาร ในเขตอำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ซึ่งพื้นที่หมู่เกาะแสมสารนี้เป็นที่ในการกำกับดูแลของฐานทัพเรือสัตหีบ ประกอบไปด้วยเกาะน้อยใหญ่มากมายกว่า 20 เกาะ ซึ่งการสำรวจหอยทากบกนี้ได้สำรวจเกาะขนาดใหญ่ทั้งสิ้น 11 เกาะ เนื่องจากเป็นเกาะที่มีพื้นที่ป่าไม้ที่ค่อนข้างสมบูรณ์ มีถิ่นที่อยู่อาศัยเหมาะสมสำหรับหอยทากบก และยังไม่ถูกบุกรุกมาเป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งอนุรักษ์พันธุกรรมของหอยทากบกกลุ่มต่างๆ ได้เป็นอย่างดี

ใช้วิธีการเก็บตัวอย่างแบบ hand-picking โดยเก็บหอยขนาดใหญ่ๆ และขนาดเล็ก รวมทั้งหอยไม่มีเปลือกที่พบบนพื้น บนต้นไม้ ซากพืชที่กองทับถมและขอนไม้ผุ เปลือกหอยที่เก็บได้จะนำมาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง ตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ ใส่หมายเลขให้ถูกต้องแล้วเก็บตัวอย่างเข้าไว้ในพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หอยที่มีชีวิตหลังจากตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ในขั้นต้น แล้วจะนำมาเข้ากระบวนการทำให้เหยียด (relaxation) 12-18 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างนั้นไปเก็บรักษาไว้ใน 70 % และ 95 % เอธิลแอลกอฮอล์ เพื่อเก็บไว้ใช้ในการศึกษาทาง กายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ และ DNA ต่อไป

แผนการปฏิบัติงาน

1. การเก็บตัวอย่างหอยทากบก ตามถิ่นที่อยู่อาศัยหลักของหอยทากบกจากพื้นที่ของ อพ.สธ. ในหมู่เกาะแสมสาร ชลบรี พื้นที่เขาเขียว ชลบุรี และ เขาวังวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรี ที่มีลักษณะของป่าและเปรียบเทียบความหลากหลาย เนื่องจากประเภทและชนิดของป่าไม้ และระดับความสูงของพื้นที่ มีผลต่อชนิดพันธุ์ของหอยทากบกทั้งสิ้น
2. พื้นที่หมู่เกาะแสมสาร ชลบรี ได้ทำการสำรวจพื้นที่ทั้งสิ้น 11 เกาะได้แก่ เกาะแรด เกาะแสมสาร เกาะจวง เกาะจาน เกาะไผ่ เกาะเหลื่อม เกาะริ้น เกาะกลึงบาดาล เกาะมารวิชัย เกาะพระนอน และ เกาะ

คราม (ตามรายงานโครงการฯ ในปี 2555) พื้นที่เขาเขียว ชลบุรี และ พื้นที่เขาวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรี

3. การจัดจำแนกสปีชีส์ใช้การเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างต้นแบบ (type specimen) เป็นหลัก แบ่งตัวอย่างที่เก็บได้ไว้เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐาน โดยเก็ยไว้ในแอลกอฮอล์ 70 % และเก็บตัวอย่างส่วนหนึ่งแบบแช่แข็งที่ -80 องศา เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรมของหอยทากบกในประเทศและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
4. จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายของหอยทากบกในพื้นที่หมู่เกาะแสมสาร ชลบรี พื้นที่เขาเขียว ชลบุรี และ ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรี โดยจัดเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างต้นแบบไว้ในพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อให้นักวิทยาศาสตร์สามารถเข้าถึงและมาศึกษาได้ในภายหลัง
5. นำข้อมูลจากการเก็บตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดมาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการจัดทำเป็นฐานข้อมูลมาตรฐานและจัดทำฐานข้อมูล DNA Barcoding ของหอยทากบกของไทย โดยยึดแนวมาตราฐาน IUCN (World Conservation Union) เพื่อใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรหอยให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ประเทศอย่างยั่งยืน

การจำแนกสปีชีส์

การจัดจำแนกสปีชีส์ใช้การเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างต้นแบบ (type specimen) เป็นหลัก แบ่งตัวอย่างที่เก็บได้ไว้เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐาน โดยเก็บไว้ในแอลกอฮอล์ 70 % และเก็บตัวอย่างส่วนหนึ่งแบบแช่แข็งที่ -80 องศา เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรมของหอยทากบกในประเทศและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

1. นำตัวอย่างหอยที่ได้มาจำแนกสปีชีส์ในขั้นต้นกับเอกสารอ้างอิงหลัก ซึ่งเป็นการศึกษาจากตัวอย่างในประเทศไทยเป็นส่วนใหญ่ และจากการศึกษาในพื้นที่ข้างเคียงเช่น ประเทศพม่า ลาว กัมพูชา และมาเลซีย (Godwin-Austen, 1882-1914; Dall, 1897; Möllendorff, 1901, 1902; Gude, 1903; Blanford & Godwin-Austen, 1908; Solem, 1966; Panha, 1996, 1997; Sutcharit & Panha, 2008)
2. ยืนยันการจำแนกสปีชีส์กับตัวอย่างต้นแบบ (type specimens) ที่อยู่ในพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาที่เป็นสถานที่หลักในเก็บรักษาตัวอย่างต้นแบบของหอยทากบกในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น

   AMNH, American Museum of Natural History, New York
   BMNH, The Natural History Museum, London
   MNHN, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris
   NMNH, National Museum of Natural History, Smithsonian Institute, Washington D.C
   NMW, National Museum of Well, Cardiff
   NSMT, National Science Museum and Technology, Tokyo
   RBINS, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels
   RMBR, Raffles Museum of Biodiversity Research, Singapore

SMF, Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt, a.m.
UMZC, University Museum of Zoology Cambridge, Cambridge
ZMA: Zoological Museum of Amsterdam, The Netherland
ZMB, Zoological Museum of Berlin, Berlin
ZMUC, Museum of Zoology, University of Copenhagen, Denmark

การศึกษากายวิภาคศาสตร์

1. ถ่ายภาพหอยขณะมีชีวิตและบันทึกข้อมูลภายนอกเช่น ลวดลาย สีสันบนตัวหอย แผ่นเท้า และลักษณะของปากด้านหน้า เพื่อใช้ในการบรรยายลักษณะและเปรียบเทียบความแตกต่างและความผันแปรระหว่างประชากร
2. นำตัวอย่างที่ได้มาเก็บรักษาด้วย 70% แอลกอฮอล์เพื่อใช้ศึกษากายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ และตัวอย่างอีกส่วนจะเก็บรักษาไว้ที่ -80 °C เพื่อใช้ในการศึกษา DNA และ allozyme ต่อไป
3. ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ สัณฐานวิทยาของถุงเก็บสเปิร์ม และส่วนของเนื้อเยื่อสร้างเปลือก ของหอยแต่ละประชากรที่พบ
4. นำตัวอ่อนของหอยมาศึกษาสัณฐานวิทยาของลวดลายบนเปลือกแรก (protoconch) และลวดลายบนผิวเปลือก ด้วยกล้อง SEM (Scanning Electron Microscope) ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะสึกกร่อนไประหว่างการเจริญเติบโตของหอย
5. สกัดแผ่นฟันด้วย NaOH เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยา สูตรฟัน และความผันแปรของซี่ฟันในหอยแต่แหล่งที่พบด้วยกล้อง SEM (Scanning Electron Microscope) และนำมาหาความแตกต่างและความผันแปรในหอยแต่ละประชากร
6. วาดภาพอวัยวะสืบพันธุ์ ถุงเก็บสเปิร์ม และอวัยวะสำคัญต่างๆ เช่น ส่วนลำตัว ส่วนหัว เหงือก เท้า และเนื้อเยื่อปกคลุมลำตัว เพื่อประกอบคำบรรยายลักษณะเปรียบความแตกต่างระหว่างหอยแต่ละสปีชีส์

การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

1. สกัดสารพันธุกรรมดีเอ็น จากเนื้อเยื่อส่วนเท้า (foot tissue) ของตัวอย่างโดยใช้ DNA extraction kit หรือ phenol-chloroform extraction Doyle and Doyle (1987) และตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธี Gel electrophoresis
2. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอประเภทไมโตคอนเดรีย (mitochondrial DNA) เพื่อเพิ่มจำนวนปริมาณของสายดีเอ็นเอเป้าหมาย
3. 3 ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา (PCR product) โดย Gel electrophoresis และนำ PCR product ที่มีศักยภาพของแต่ละตัวอย่างไปทำให้บริสุทธิ์สูงขึ้นโดยใช้ PCR Purification kit และทำการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอ (DNA sequencing) โดยวิธี Automated DNA sequencing
4. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Clustal W (Thomson et al., 1994) และแปรผลหาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum parsimony (MP), Neighbor-joining (NJ) และ Maximum likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA (Kumar et al., 2008) และ PAUP version 4.10 (Swofford, 2002) นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic Diversity) ของหอยภายในสปีชีส์เดียวกันด้วย โดยจะทำการวิเคราะห์ทั้งภายในประชากรเดียวกันและ

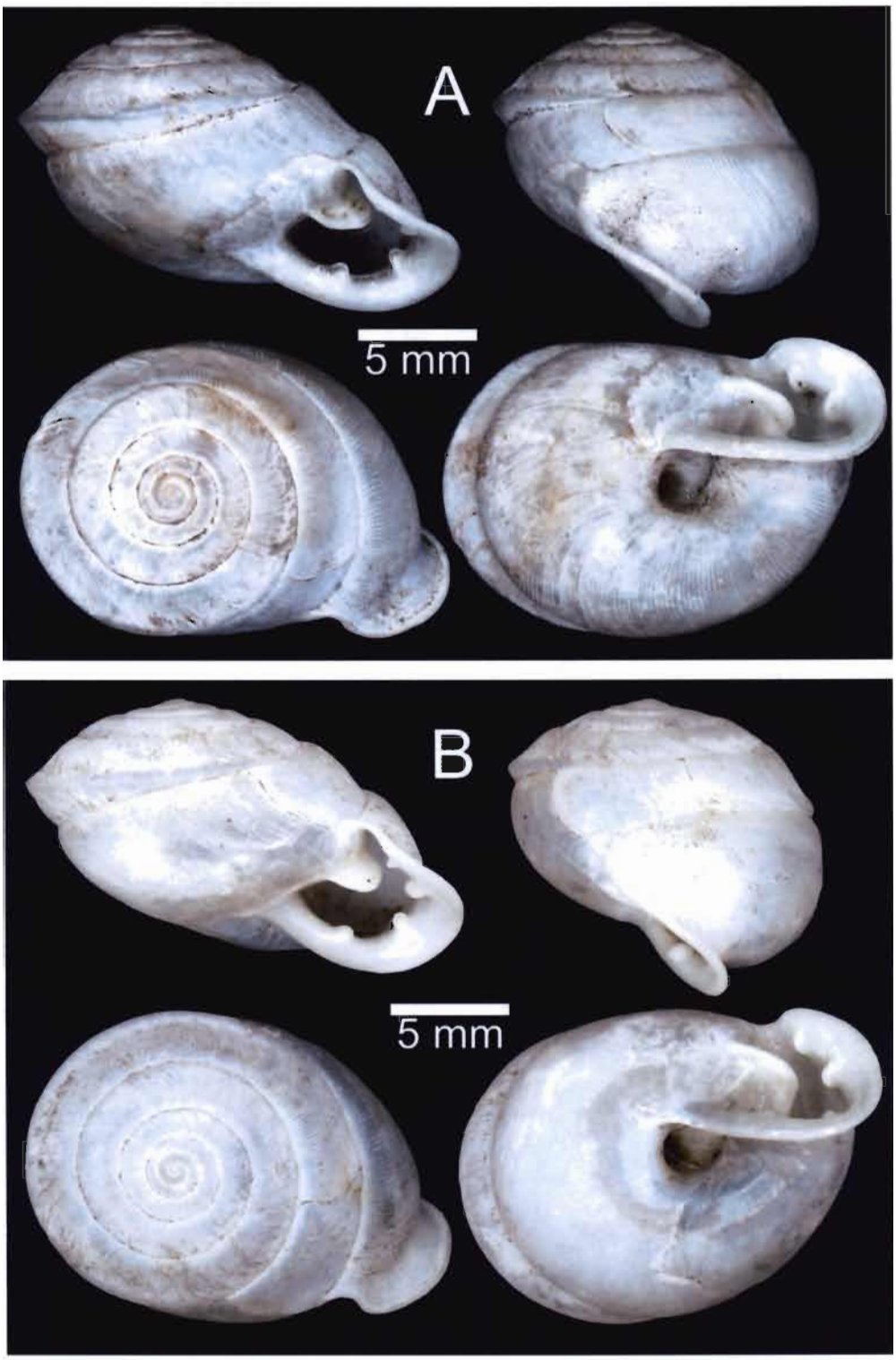
ระหว่างประชากร โดยจะคำนวณหา mtDNA haplotypes (h), haplotype diversity (hd) (Nei, 1987), nucleotide diversity (π) (Tajima, 1983), total number of mutations (m) and mean number of pairwise nucleotide differences (k) โดยใช้โปรแกรม DnaSp version 4.50.3 (Rozas et al., 2003).

ผลการศึกษา

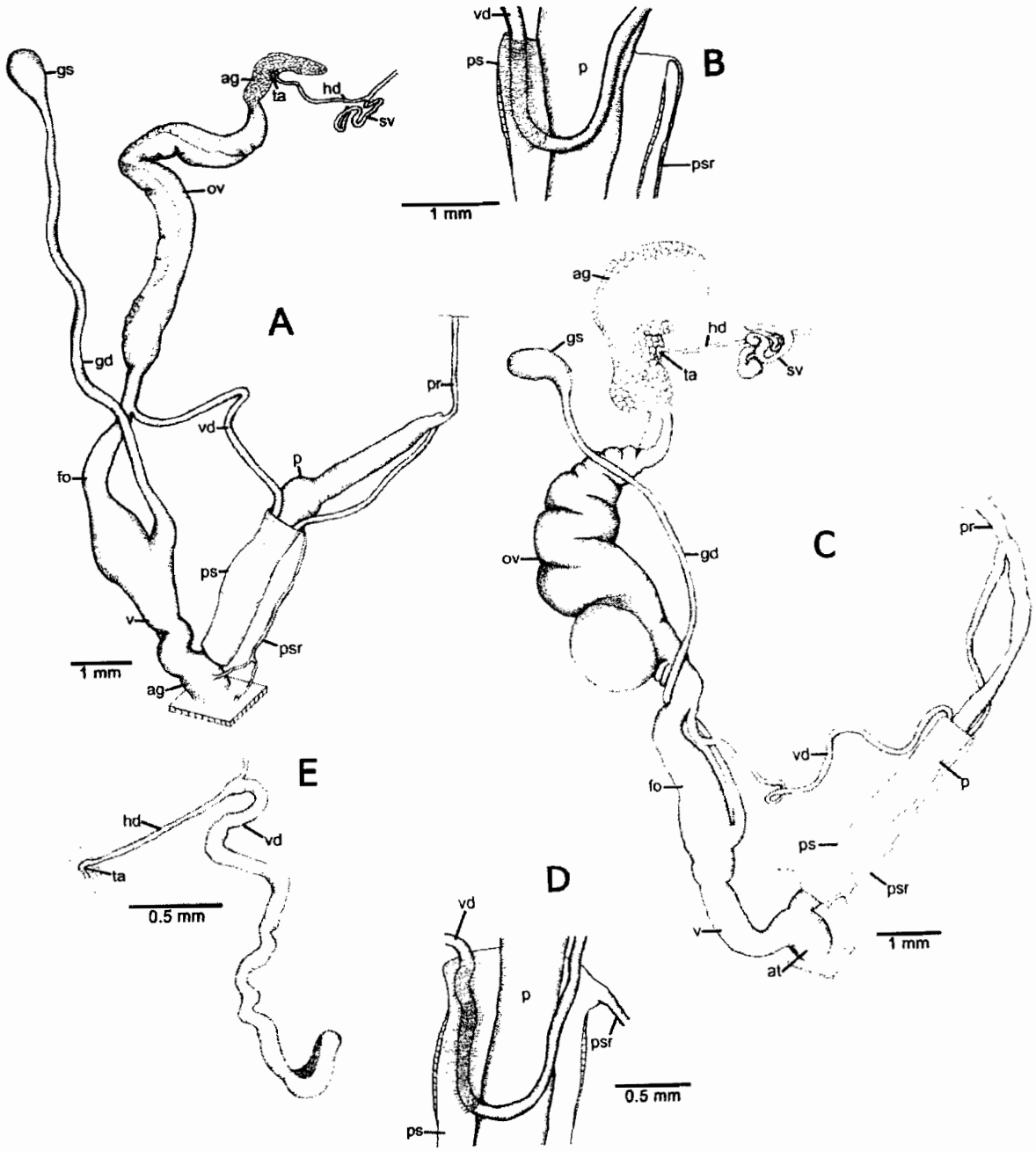
มากว่าร้อยละ 90 ของหอยทากบกเป็นพวกที่กินพืชและเศษซากใบไม้เป็นอาหาร ส่วนที่เหลือเป็นพวกนักล่าซึ่งมักกินหอยด้วยกันเองหรือไส้เดือนฝอยเป็นอาหาร ในจำนวนนี้ที่พบได้บ่อย คือหอยในวงศ์หอยนักล่า หรือหอยเปลือกเบี้ยว (Streptaxidae Gray 1837) ลักษณะสำคัญของหอยวงศ์นี้คือ เปลือกมีขนาดเล็ก กว้างประมาณ 5-10 มิลลิเมตร มีสีขาวขุ่น เปลือกมีตั้งแต่รูปทรงยาวเรียวคล้ายเมล็ดข้าว จนถึงรูปทรงแบนเบี้ยว (eccentric shape) ลำตัวมีสีสันสดใสตั้งแต่สีเหลืองอ่อนจนถึงสีแดงเข้ม หอยในวงศ์นี้มีความหลากชนิดค่อนข้างมาก มีการแพร่กระจายพบได้แทบทุกทวีปทั่วโลกซึ่งปัจจุบันมีรายงานอยู่ประมาณ 96 สกุล ที่ผ่านมาในอดีตของหอยนักล่าที่พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ทั้งหมด จะถูกจัดไว้ในสกุล *Streptaxis* Gray 1837 แต่ต่อมาเมื่อมีการเก็บตัวอย่างและมีการศึกษาเปรียบเทียบโดยใช้ลักษณะของรูปทรง รูปร่างของเปลือกและฟันบนเปลือก ทำให้รูปแบบการจัดจำแนกหอยนักล่ามีความถูกต้องและพัฒนามากขึ้น โดยเป็นหอยนักล่าที่พบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีประมาณ 16 สกุล ซึ่งประเทศไทยมีรายงานอยู่ 8 สกุล คือ *Diaphera*, *Discartemon*, *Haplontychius*, *Odontartemon*, *Oophana*, *Perrottetia*, *Sinoennea* และ *Stremmatopsis* ซึ่งปัจจุบันความรู้ทางอนุกรมวิธานของหอยนักล่าในประเทศไทยนั้นกระจัดกระจายอยู่ในการศึกษาของชาวต่างชาติเช่น ทำให้กลุ่มของหอยนักล่านี้ได้รับการศึกษาน้อยนอกจากนี้ด้วยข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษา ดังนี้ *D. collingei* (Sykes, 1902), *D. discus* (Pfeiffer, 1851), *D. numus* (Laidlaw, 1929), *D. klongensis* Panha, 1997, *D. platymorphus* Jutting, 1955, *D. plussensis* (Morgan, 1885), *D. roebeleni* (Moellendorff, 1894) และ *D. sykesi* (Collinge, 1902)

การศึกษาเกี่ยวกับความหลากสปีชีส์ของหอยในประเทศไทยโดยคนไทยนั้น มีประวัติค่อนข้างสั้นเพียง 50-60 ปี โดยได้รวบรวมรายชื่อของสัตว์จำพวกหอยไว้ในปี ค.ศ. 1938 หรือ พ.ศ. 2481 (Suvathi, 1938) แต่เนื่องจากเป็นงานในระยะแรกๆ ไม่ได้มีการเก็บตัวอย่างไว้เป็นหลักฐาน จึงยังให้การศึกษาในระยะแรกมีข้อสงสัยอยู่มาก ต่อมากลุ่มของหอยน้ำจืดในประเทศไทยได้รับการศึกษาโดยชาวเยอรมัน (Brandt, 1974) โดยได้รวบรวมตัวอย่างหอยน้ำจืดทั้งหอยฝาเดียวและหอยสองฝาไว้มากกว่า 500 สปีชีส์ หลังจากนั้นการศึกษาเกี่ยวกับความหลากสปีชีส์ของสัตว์จำพวกหอยทากบกจึงได้เริ่มต้นขึ้น (Panha, 1996; Panha and Burch, 2005) ซึ่งได้รวบรวมตัวอย่างหอยทากบกและรวบรวมรายชื่อไว้มากกว่า 200 สปีชีส์ สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับหอยทะเลกระจัดกระจายอยู่พอสมควรเช่น Habe (1964) และ Abbott (1998) เป็นต้น หากเป็นการศึกษาโดยชาวต่างชาติแล้ว ส่วนมากจะเป็นผลงานของนักสัตววิทยาชาวตะวันตกเช่น อังกฤษ เนเธอร์แลนด์ เบลเยี่ยม ฝรั่งเศส เยอรมัน และสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะประเทศเพื่อนบ้านที่มีพื้นที่ต่อกับประเทศไทย และตกเป็นอาณานิคมของชาติตะวันตกต่างๆ ได้ศึกษาตัวอย่างจากพวกมิชชันนารีและพ่อค้าเดินเรือรวมทั้งทหาร ที่เดินทางเข้ามาในประเทศไทย จึงทำให้หอยจากดินแดนสยาม เริ่มเป็นที่รู้จักและเกิดเป็นองค์ความรู้เรื่องของสปีชีส์

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาบงชี้ว่าหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง *Amphidromus glaucolarynx* มีสัณฐานวิทยาระบบสืบพันธุ์ทั้งภายนอก (ขนาดและรูปร่าง) และภายใน โดยเฉพาะส่วนปลายของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ที่มีขนาดสั้นกว่าในหอยนกขมิ้นสกุลย่อย *Amphidromus* แต่ยาวกว่าของหอยนกขมิ้นน้อยในสกุลย่อย *Syndromus* ลวดลายภายในระบบสืบพันธุ์ยังมีรูปแบบเฉพาะซึ่งไม่พบในหอยทั้งสองสกุลย่อยข้างต้น การจัดเรียงตัวของซี่ฟันบนแผ่นฟันและรูปร่างของฟันยังมีเอกลักษณ์เฉพาะและแตกต่างจากหอยนกขมิ้นในสกุลย่อยอื่นเช่นกัน นอกจากนี้ลักษณะการพบทั้งเปลือกที่เวียนซ้ายและเวียนขวาในประชากรเดียวกัน แม้ว่าจะมีบางประชากรที่พบการขดวนของเปลือกเพียงแบบเดียว ยังเป็นลักษณะเด่นที่แตกต่างจากหอยนกขมิ้นน้อยใน



ภาพที่ 1 เปลือกหอยนักล่าเปลือกเบี้ยวทั้งสองสปีชีส์ที่พบในพื้นที่เขาวังเขมร ไทรโยค กาญจนบุรี



ภาพที่ 2 อวัยวะสืบพันธุของหอยนักล่าเปลือกเบี้ยวทั้งสองสปีชีส์ที่พบในพื้นที่เขาวังเขมร ไทรโยค กาญจนบุรี

สกุลย่อย *Syndromus* ซึ่งทุกชนิดที่พบเปลือกจะเวียนซ้ายเพียงแบบเดียว ประกอบกับเปลือกที่บาง มีขนาดเล็กสูงประมาณ 2.5-3 ซม. จึงแตกต่างจากหอยนกขมิ้นในสกุลย่อย *Amphidromus* เปลือกหนา มีขนาดใหญ่สูงประมาณ 4-7 ซม. ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาที่เป็นเอกลักษณ์ดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถจำแนกหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วงออกเป็นสกุลย่อยใหม่ นอกจากนี้ข้อมูลจากความสัมพันธ์สายวิวัฒนาการยังสนับสนุนความเป็นเอกลักษณ์ดังกล่าว

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่าง *A. glaucolarynx* ที่เก็บได้และใช้ในการศึกษาครั้งนี้

CUMZ	Species	Locality	Dextral	Sinistral	Specimens
2238	A. garynx	Huay Kok, Kaeng Kra Jarn, Petchaburi		1	shell
2239	A. glaucolarynx	Tam Vore, Mae Sod, Tak	1		shell
2240	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	2	10	shell
2241	A. glaucolarynx	Kaeng Kracharn National Park, Petchaburi	3	3	shell
2242	A. glaucolarynx	Pala-u Waterfall, Petchaburi		1	shell
2243	A. glaucolarynx	Lod Cave, Paye District, Maehongsorn	2		shell
2244	A. glaucolarynx	Erawan Waterfall, Kanchanaburi	1	1	shell
2245	A. glaucolarynx	Erawan Waterfall, Kanchanaburi	2	4	shell
2246	A. glaucolarynx	Prakayang Cave, Kra Buri, Ranong	2		shell
2247	A. glaucolarynx	Pa Charoen Wterfall, Tak	1		shell
2248	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	14	12	shell
2249	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	5	8	shell
2250	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	1	1	shell
2251	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	16	8	shell
2252	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	10	8	shell
2253	A. glaucolarynx	Erawan Waterfall, Kanchanaburi		1	shell
2254	A. glaucolarynx	Thee Lor Zoo Waterfall, Umpang, Tak	1	3	shell
2255	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	2	2	shell
2256	A. glaucolarynx	Sai Yok Noi Waterfall, Sai yok, Kanchanaburi		1	shell
2257	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	1	3	shell
2258	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	17	17	shell
2259	A. glaucolarynx	Ban Krang, Kaeng Kra Jarn National Park, Petchaburi	6	4	shell

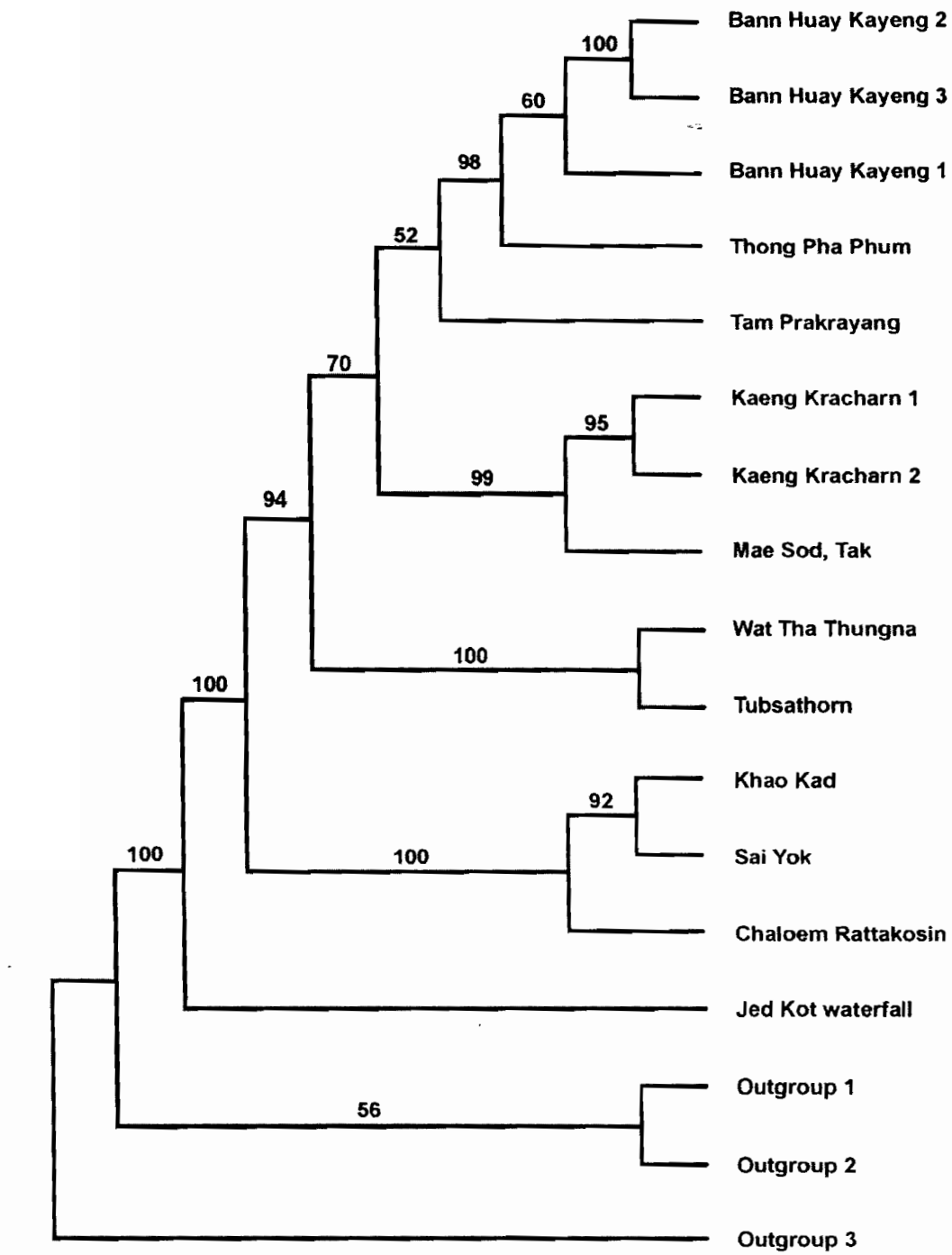
2260	A. glaucolarynx	Prakayang Cave, Kra Buri, Ranong	18		shell
2261	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	2	3	shell
2262	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	4	2	shell
2263	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	5	1	shell
2264	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	6	4	shell
2265	A. glaucolarynx	Nam Naou National Park, Petchaboon		3	shell
2266	A. glaucolarynx	Kaeng Kracharn National Park, Petchaburi	1	2	shell
2267	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	2	2	shell
2268	A. glaucolarynx	Kanchanaburi	4	4	shell
2269	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	7	7	shell
2270	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	10	10	shell
2272	A. glaucolarynx	Kanchanaburi		1	shell
2319	A. glaucolarynx	Ban Hui Hin Fon, Mae Sod, Tak	1	2	frozen
2328	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi		1	frozen
2395	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	2	14	shell
2396	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	1		shell
2398	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi		6	shell
2399	A. glaucolarynx	Tam Sing Nang Non, Umphang, Tak		1	shell
2453	A. glaucolarynx	Ban Krang, Kaeng Kra Jarn National Park, Petchaburi	4	3	wet
2460	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi		24	wet
2463	A. glaucolarynx	Huy Kayang, Thong Pha Phum,	8	6	wet

		Kanchanaburi			
2467	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	4		wet
2469	A. glaucolarynx	Kaeng Kracharn National Park, Petchaburi	2		wet
2476	A. glaucolarynx	Pong Pu Ron, Thong Phapoom, Kanchanaburi	5	8	wet
2482	A. glaucolarynx	Prakayang Cave, Kra Buri, Ranong	1		wet
2485	A. glaucolarynx	Hyu Ya, Tak	1	1	wet
2497	A. glaucolarynx	Khao Wang Kamen, Thongphaphum, Kanchanaburi	1	5	wet
2498	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	1	4	wet
2499	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	7	8	wet
2500	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	20	29	wet
2502	A. glaucolarynx	Prakayang Cave, Kra Buri, Ranong	4		wet
2503	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	3	1	wet
2504	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	13	19	wet
2505	A. glaucolarynx	Chong Khao Kad, Thong Phaphum, Kanchanaburi	2		wet
2506	A. glaucolarynx	Kaeng Kracharn National Park, Petchaburi	1		wet
2507	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi		4	wet
2508	A. glaucolarynx	Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi	4	2	wet
2509	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	2	4	wet
2510	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	3	3	wet
2511	A. glaucolarynx	Tubsathorn, Kanchanaburi	20	24	shell

การศึกษาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการ

ประชากรสิ่งมีชีวิตที่อยู่อาศัยในแหล่งที่อยู่อาศัยที่ถูกแบ่งแยกหรือถูกตัดขาดจากถิ่นที่อยู่อาศัยใกล้เคียง (Isolated habitat) เป็นเวลานาน มักจะมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากประชากรอื่นๆ ไม่มีการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมระหว่างประชากร และมีกลไกทางธรรมชาติผลักดันให้เกิดสปีชีส์ใหม่ในที่สุด การที่ประชากรของสิ่งมีชีวิตถูกแบ่งแยกจากประชากรอื่นๆ อาจทำให้มีความหลากหลายสูงขึ้นเนื่องจากสามารถใช้ถิ่นอาศัยได้หลายรูปแบบมากขึ้น และมีปริมาณแหล่งที่อยู่อาศัยเพิ่มขึ้น (Woodruff and Solem, 1990) หรือประชากรดังกล่าวอาจประสบกับสภาวะเสื่อมโทรมของความหลากหลายทางพันธุกรรม เนื่องจากประชากรมีขนาดเล็ก มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำและการผสมพันธุ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิต ความเป็นอยู่ ความสามารถในการอพยพเคลื่อนย้าย รูปแบบการผสมพันธุ์ พฤติกรรม ช่วงชีวิต ความถี่ในการออกลูกหลาน จำนวนลูกหลาน และรูปแบบการแบ่งแยกของแหล่งที่อยู่อาศัย จากการศึกษาในหอยทากบกหลายสปีชีส์พบหลักฐานการเกิดความหลากหลายของลักษณะต่างๆ เช่น รูปร่างของเปลือก รูปแบบของแถบสีบนเปลือก หรือลักษณะทางโมเลกุลอื่น ๆ ในหอยทากที่มีถิ่นอาศัยที่แตกต่างกัน (Chiba, 1999) อย่างไรก็ดีผลกระทบของการสูญเสียถิ่นที่อยู่อาศัยไปอย่างรวดเร็ว อาจส่งผลกระทบให้ประชากรหอยทากบกเหล่านี้สูญพันธุ์ไปได้

สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยอาศัยลำดับเบสของยีน 16S rRNA นั้น โดยในการศึกษาได้ใช้ตัวอย่างหอยนกขมิ้นน้อยทั้งหมด 11 ประชากร จำนวน 35 ตัวอย่าง และใช้ outgroup ซึ่งเป็นสมาชิกในทั้งสองสกุลย่อยชนิดและสกุลอื่นในวงศ์เดียวกันทั้งหมด 3 ชนิด ทำการสกัดดีเอ็นเอทำ PCR และศึกษาลำดับเบสบนยีน 16S rRNA ซึ่งได้ความยาวของสายดีเอ็นเอประมาณ 780-800 เบส หลังจากนั้นจะนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม PAUP ผลการวิเคราะห์พบว่าหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วงมีความสัมพันธ์เป็นแบบวิวัฒนาการเชิงเดี่ยว (monophyletic) และแตกต่างจากหอยต้นไม้ในทั้งสองสกุลย่อย ความสัมพันธ์ที่ได้ชี้ว่าประชากรที่น้ำตกเจ็ดคตเป็น basal clade และประชากรในจังหวัดกาญจนบุรีแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มแรกประชากรที่น้ำตกไทรโยคน้อย สถานีช่องเขาขาดและอุทยานแห่งชาติเฉลิมรัตนโกสินทร์ กลุ่มต่อมาเป็นประชากรที่วัดท่าทุ่งนาฤธาราม และทับสาธร อำเภอไทรโยค และกลุ่มสุดท้ายเป็นประชากรที่บ้านห้วยเขย่งและอุทยานแห่งชาติทองผาภูมิ โดยที่มีประชาการที่อำเภอแม่สอด จังหวัดตากมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับประชากรที่อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน นอกจากนี้ประชากรที่จังหวัดระนอง ยังมีความใกล้ชิดกับประชากรในจังหวัดกาญจนบุรีกลุ่มที่สาม เมื่อพิจารณาถึงการเกิดวิวัฒนาการของการเวียนของเปลือก มีความเป็นไปได้ว่าลักษณะเปลือกเวียนซ้าย (ประชากรน้ำตกเจ็ดคตพบเฉพาะเปลือกเวียนซ้ายเท่านั้น) อาจจะเป็นลักษณะบรรพบุรุษของหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง ในขณะที่ลักษณะเปลือกเวียนขวาอาจจะวิวัฒนาการขึ้นมาภายหลัง ดังจะเห็นได้จากประชากรที่จังหวัดระนอง (พบเฉพาะเปลือกเวียนขวาเท่านั้น) แต่ลำดับขั้นของการเกิดวิวัฒนาการของการเวียนของเปลือกในระดับสกุล นั้นยังไม่ชัดเจนจำเป็นจะต้องเพิ่มชนิดของหอยทั้งสองสกุลย่อยในการวิเคราะห์ให้มากขึ้น



ภาพที่ 3 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง *Amphidromus glaucolarynx* จำนวน 11 ประชากร ด้วยวิธี maximum parsimony ตัวเลขแสดง bootstrap probability 100 replicated. Outgroup 1=*Amphidromus (Amphidromus) perversus*; Outgroup 2=*Amphidromus (Syndromus) contrarius*; Outgroup 3=*Camaena illustris*

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาในขั้นต้นของลักษณะสัณฐานภายนอกของเปลือก พบความหลากหลายระหว่างหอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* ในหมู่เกาะแสมสารและประชากรที่อยู่บนแผ่นดินใหญ่ เช่นในพื้นที่ป่าเขาเขียวและป่าไทรโยค รวมทั้งในส่วนต่างๆ ของประเทศ ที่มีทั้งรูปทรงของเปลือกรวมทั้งสีสันบนเปลือกที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าหอยทั้งสองประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมและมีปัจจัยทั้งทางกายภาพชีวภาพมาก ทำให้ประชากรบนเกาะมีลักษณะที่แตกต่างจากประชากรบนแผ่นดินใหญ่

จากการศึกษากายวิภาคอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยในวงศ์ Ariophantidae จำนวน 2 สกุลพบว่าหอยในแต่ละสกุลจะมีโครงสร้างของระบบสืบพันธุ์ส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ที่แตกต่างกันโดยสกุล *Sarika* มีส่วนของ penial appendix ตรง และมี penial retractor muscle อยู่ตรงปลาย ในสกุล *Cryptozona* มีส่วนของ epiphallus และ epiphallic caecum ยาว

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของแผ่นฟันหรือ radula ของหอยทากบกบางชนิดในเบื้องต้นพบว่าแผ่นฟันของหอยพวกหอยทากบกมีปอดหรือ pulmonate เป็นแผ่นขนาดใหญ่ มีฟันจำนวนมากในแต่ละแถว ไม่มีรูปแบบของฟันที่แน่นอน ซึ่งแตกต่างจากแผ่นฟันพวกหอยทากบกที่มีฝาปิดเปลือกหรือ prosobranch และสามารถจำแนกแผ่นฟัน ตามลักษณะการกินอาหารของหอยได้เป็น 2 กลุ่ม คือพวกหอยนักล่า Carnivorous type เป็นหอยผู้ล่าจะมีฟันที่มีความจำเพาะเช่นสกุล *Atopos* และ *Discartemon* ที่มีแผ่นฟันที่เป็นสายยาว ฟันมีรูปร่างคล้ายใบหอกที่เอื้อต่อการเป็นผู้ล่าในการฉีกและตัดเนื้อของเหยื่อได้ง่ายและลักษณะของฟันที่แตกต่างกันบนแผ่นฟันยังทำหน้าที่แตกต่างกันเช่น ฟันตรงกลางอาจช่วยในการแทงและยึดเหยื่อ ฟันด้านข้างอาจช่วยในการเฉือนหรือฉีกเนื้อของเหยื่อ และอีกกลุ่มเป็นพวกกินพืชหรือ Herbivorous type ได้แก่ พวกหอยที่กินพืช มักมีจำนวนฟันที่ไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับหอยแต่ละชนิด นอกจากนี้พวกหอยที่มีถิ่นอาศัยแบบเดียวกันกินอาหารคล้ายคลึงกันลักษณะของฟันก็จะคล้ายคลึงกันไปด้วย ฟันของหอยในวงศ์ Ariophantinae เช่นหอยทากสยามสกุล *Cryptozona* มีฟันที่คล้ายคลึงกับหอยขัดเปลือกธรรมดาสกุล *Sarika* ที่ฟันกลางและฟันข้างจำนวนมาก และจากการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทากสยาม *Cryptozona siamensis* ที่เกาะไผ่ พบว่าหอยสามารถกินหอยพวกเดียวกันเองในตัวที่อ่อนแอหรือบาดเจ็บได้ ซึ่งก็สอดคล้องกับลักษณะของฟันริมที่มีลักษณะคล้ายใบหอก สำหรับหอยต้นไม้สกุล *Amphidromus* มีแผ่นฟันที่เด่นมีความเฉพาะตัวของพวกหอยที่อาศัยอยู่บนต้นไม้ซึ่งแตกต่างจากหอยในสกุลอื่นอย่างชัดเจนคือ ฟันจะมีลักษณะเป็นแบบช้อนหรือใบพายที่เรียกว่า spatulate shape และมักกินพวก microfloral บนต้นไม้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากประเภทของอาหารที่กินแตกต่างออกไปโดยอาหารอาจมีความอ่อนนุ่มฟันจึงไม่แหลมคมมากก็สามารถตัดอาหารได้ และการที่ฟันมีลักษณะคล้ายช้อนหรือใบพายอาจช่วยทำให้ตัดอาหารได้ครั้งละมากๆ

ลักษณะสัณฐานและอนุกรมวิธานของกลุ่มหอยต้นไม้

รูปแบบการเวียนของเปลือกหอยฝาเดียวในประชากรหนึ่งๆ มักจะแสดงการเวียนของเปลือกเพียงแบบเดียว [เวียนซ้าย (sinistral) หรือเวียนขวา (dextral)] เนื่องจากหอยที่มีเปลือกเวียนต่างจากพวกมักจะไม่สามารถผสมพันธุ์ข้ามกันได้ และมักจะถูกแยกให้เป็นชนิดที่ต่างกัน โดยกระบวนการทางวิวัฒนาการในที่สุด โดยที่การเวียนของเปลือกที่แตกต่างกันส่งผลให้อวัยวะภายในต่างๆ รวมทั้งอวัยวะสืบพันธุ์วางตัวในทิศทางตรงข้ามกัน อย่างไรก็ตามมีเพียงหอยต้นไม้สกุล *Amphidromus* เท่านั้นที่สามารถพบทั้งตัวเวียนซ้ายและเวียนขวาในประชากรเดียวกัน ด้วยลักษณะของเปลือกที่เป็นทรงยาวเรียว จึงมักพบการผสมพันธุ์ข้ามกันระหว่างตัวที่มีเปลือกเวียนต่างกันได้บ่อยกว่าหอยที่มีเปลือกทรงแบน ด้วยเหตุนี้จึงอาจทำให้ทั้งตัวเวียนซ้ายและเวียนขวา

ปรากฏและคงอยู่ร่วมกันในประชากรได้ แต่ก็ยังไม่มีการพิสูจน์ที่แน่ชัดว่าหอยที่มีเปลือกเวียนต่างกันจะมีการแลกเปลี่ยนพันธุกรรมกันได้จริง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำวิธีการ DNA มาใช้ในการตรวจสอบการแบ่งแยกการสืบพันธุ์ของประชากรหอยที่พบทั้งแบบเวียนซ้ายและเวียนขวา จากการศึกษาของ Johnson et al 1987 และ 1993 พบว่าหอยที่เปลือกเวียนซ้ายและเวียนขวาไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม แสดงให้เห็นว่าทั้งหอยเวียนซ้ายและเวียนขวาสามารถผสมพันธุ์และแลกเปลี่ยนพันธุกรรมกันได้อย่างอิสระ โดยที่การเวียนของเปลือกไม่เป็นอุปสรรคในการแบ่งแยกทางการสืบพันธุ์แต่อย่างใด แต่ความแตกต่างที่พบจะเป็นในระดับระหว่างประชากร โดยประชากรหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง (*Amphidromus glaucolarynx*) ที่น้ำตกเจ็ดคต จังหวัดสระบุรี มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากประชากรที่จังหวัดกาญจนบุรีและจังหวัดตากอย่างสิ้นเชิง สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยใช้ mtDNA 16S rRNA gene ในการบ่งชี้ว่าลักษณะใด (เวียนซ้าย หรือเวียนขวา) เป็นลักษณะบรรพบุรุษ จากผลการวิเคราะห์ในขั้นต้นมีแนวโน้มว่าประชากรที่น้ำตกเจ็ดคต ซึ่งมีเปลือกเป็นแบบเวียนซ้ายเพียงแบบเดียวอาจเป็นลักษณะบรรพบุรุษของหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง โดยที่มีลักษณะเวียนขวาเกิดมาภายหลัง ดังสังเกตุได้จากประชากรที่จังหวัดระนอง ซึ่งพบเพียงการเวียนขวาเพียงแบบเดียว แต่ก็ยังไม่ที่แน่ชัดว่าในระดับสกุลแล้ว ลักษณะเวียนซ้ายยังคงเป็นลักษณะของบรรพบุรุษหรือไม่ ซึ่งต้องรอการวิเคราะห์เพิ่มเติม นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างจากหลายพื้นที่ ทำให้พบความผันแปรของลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกทั้งลวดลาย ขนาดและรูปทรงของเปลือก และนอกจากนี้ระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะลวดลายภายในของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ แผ่นฟัน และการจัดเรียงตัวของซี่ฟันและรูปร่างของฟัน มีความแตกต่างจากหอยนกขมิ้นใน 2 สกุลย่อย (*Amphidromus* และ *Syndromus*) ที่มีการค้นพบมาแล้ว และความแตกต่างดังกล่าวนี้มีเหตุผลเพียงพอในการที่จะแยกหอยนกขมิ้นน้อยปากสีม่วง *Amphidromus glaucolarynx* เป็นสกุลย่อยใหม่ออกจากหอยนกขมิ้นทั้งสองสกุลย่อยดังกล่าวได้อย่างชัดเจน อีกทั้งข้อมูลความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในเบื้องต้นของ mtDNA 16S rRNA gene ของ Sutcharit, Asami & Panha (2007) สนับสนุนความแตกต่างดังกล่าว อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ในระดับสกุลย่อยยังไม่ชัดเจน

การศึกษาและสำรวจหอยทากบกในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ใน 3 บริเวณได้แก่ หมู่เกาะแสมสาร ชลบรี พื้นที่เขาเขียว ชลบุรี และ พื้นที่เขาวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรี พบหอยทากบกที่สามารถจำแนกสปีชีส์ได้ 13 วงศ์ จำนวน 39 ชนิด ทั้งนี้มีหอยที่จัดได้ว่าหายากเนื่องจากมีการแพร่กระจายที่จำกัดมาก และเป็น endanger species ของประเทศไทย 4 ชนิดคือ หอยในสกุลของหอยนกขมิ้น *Amphidromus schomburgki Amphidromus inversus Amphidromus semitesselatus* และ *Amphidromus glaucolarynx* และมีหอยนักล่าวงศ์ Streptaxidae ที่มีแนวโน้มจะเป็นชนิดใหม่ที่พบบนพื้นที่เขาวังเขมร-ช่องเขาขาด ไทรโยค กาญจนบุรีอีก 2 สปีชีส์ การศึกษากายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ของหอยทั้งสองพบว่า ส่วนของ male genitalia ในหอยทั้งสงมีลักษณะที่แตกต่างกัน และการศึกษาสัณฐานวิทยาของ radula ไม่พบความแตกต่าง นอกจากนี้ยังพบหอยนกขมิ้นน้อย *Amphidromus glaucolarynx albicans* ซึ่งมีรายงานครั้งแรกเมื่อปี 1902 ที่จังหวัดกาญจนบุรี และหลังจากนั้นก็ไม่เคยมีรายงานอีกเลยจนประทั่งการศึกษาในกครั้งนี้ ซึ่งเป็นประเด็นทางอนุกรมวิธานที่สำคัญที่จะรายงานการค้นพบอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

จิรศักดิ์ สุจริต และสมศักดิ์ ปัญหา. 2551. หอยทากบกในอุทยานแห่งชาติเขานัน. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. โรงพิมพ์กรุงเทพจำกัด กรุงเทพฯ. 112 หน้า.

Asami, T. 1993. Genetic variation and evolution of coiling chirality in snails. Forma. 8: 263-276.

Asami, T., Cowie, R.H. and Ohbayashi, K. 1998. Evolution of mirror images by sexually asymmetric mating behavior in hermaphroditic snails. American Naturalist. 152: 225-236.

Clarke, B. and Murray, J. 1969. Ecological genetics and speciation in land snails of the genus *Partula*. Biological Journal of the Linnean Society. 1: 31-42.

Clayton, J.W. and Tretiak, D.N. 1972. Amine citrate buffer for pH control in starch gel electrophoresis. Journal of Fishery Research Board in Canada. 29: 1169-1172.

Davision A. 1999. Isolation and characterization of long compound microsatellite repeat loci in the land snail Cepaea nemoralis (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata). Molecular Ecology. 8: 1760-1761

Davision, A., Chiba, S. and Kawata, M. 2004. Characterization of 17 microsatellite loci in the Japanese land snail genera Mandarina, Anohelix and Euhadra (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). Molecular Ecology Notes. 4: 423-425.

Davision, A., Chiba, S., Barton, N.H. and Clarke, B. 2005. Speciation and gene flow between snails of opposite Chirality. Plos Biology. 3: 1559-1571.

Gittenberger, E. 1988. Sympatric speciation in snails; a largely neglected model. Evolution. 42: 826-828.

Goodacre, S.L. and Wade, C.M. 2001. Patterns of genetic variation in Pacific island land snails: the distribution of cytochrome *b* lineages among Society Island *Partula*. Biological Journal of the Linnean Society. 73, 131-138.

Hill, D.M.; Moritz, C. and Mable, B.K. 1996. *Molecular Systematic*. Sianauer Associated Inc. Massachusetts, USA. 655 pp.

Johnson, M.S. 1982. Polymorphism for direction of coil in *Partula suturalis*: behavioural isolation and positive frequency dependent selection. Heredity. 49: 145-151.

Johnson, M.S. 1987. Adaptation and rules of form: Chirality and shape in *Partula suturalis*. Evolution. 41: 672-675.

Johnson, M.S., Murray, J. and Clarke, B. 1993. The ecological genetics and adaptive radiation of *Partula* on Moorea. Oxford Survey on Evolutionary Biology. 9: 167-238.

Laidlaw, F.F. and Solem, A. 1961. The land snail genus *Amphidromus*, A synoptic catalogue. Fieldiana Zoology. 41: 507-677.

Murray, J. and Clarke, B. 1976. Supergenes in polymorphic land snails II. *Partula suturalis*. Heredity 37: 271-282.

Pilsbry, H.A. 1900. Manual of Conchology. (Series II), 13, 253 pp.

Raymond, M. and Rousset, F. 1995. Genepop (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Heredity. 86: 285-288.

Schilthuizen, M., Scott, B.J., Cabanban, A.S. and Craze, P.G. 2005. Population structure and coil dimorphism in a tropical land snail. Heredity. 95: 216-220.

Solem, A. 1965. Land snail of the genus *Amphidromus* from Thailand (Mollusca: Pulmonata: Camaenidae). Proceeding of the United Stage National Museum. 117: 615-627.

Sutcharit, C. and Panha, S. 2006. Taxonomic review of the tree snails *Amphidromus* Albers, 1850 (Pulmonata: Camaenidae) in Thailand: I. Subgenus *Amphidromus*. Journal of Molluscan Studies. 72. 1-30.

Swofford, D.L. and Selander, R.B. 1989. BIOSIS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics (release 1.7). Champaign, IL, Illinois Natural History Survey.

Ueshima, R. and Asami, T. 2003. Single-gene speciation by left-right reversal. Nature. 425: 679.

Vermeij, G.J. 1975. Evolution and distribution of left-handed and planispiral coiling in snails. Nature. 254: 419-420.

Wilmer, J.W.; Hughes, J.M.; Ma, J. and Wilcox, C. 2005. Characterization of microsatellite loci in the endemic mound spring snail Fonscohlea accepta and cross species amplification in four other hydrobiid snails. Molecular Ecology Notes. 5: 205-207.

ภาคผนวก

New Subgenus and New Species of *Amphidromus* Albers, 1850 from Thailand (Pulmonata: Camaenidae)

INTRODUCTION

Many species of the tree snail genus *Amphidromus* Albers, 1850 have attractive shells exhibiting of especially diverse colour patterns and the polymorphic shell coiling (Schilthuizen & Davision, 2005; Schilthuizen et al. 2005, 2007; Sutcharit, 2006; Suitcharit & Panha, 2006b; Sutcharit et al., 2007). Most recent documents dealt with the systematic shown the well define characteristic of species in each subgenera (Sutcharit et al. 2007). Several workers (Pilsbry, 1900; Zilch, 1953; Laidlaw & Solem, 1961) have approved that the subgeneric classification of *Amphidromus* is satisfactory in almost species, but some of the species are still inadequate due to the low abundant and little information known. Previous conclusions on molecular phylogeny by Sutcharit et al. (2007) provided a new insight on the systematic knowledge of *Amphidromus* s. str.

Traditionally, a small and thin amphidromid shells were assigned to the subgenus *Syndromus* Pilsbry, 1900. However, it has been known or at least suspected that *Amphidromus (Syndromus)* s. l. is not monophyletic, which a number of species were assigned into uncertainty subgeneric classification (syndromus-like taxa) (see Laidlaw & Solem, 1961). Although, doubts having been expressed concerning the monophyly of the uncertain classified subgeneric species due to detailed studies on genital anatomy of them are still lacking. Though there have been contradicted, attempts to classify the subgeneric position within *Amphidromus*.

Most recent studies place *A. glaucolarynx* into syndromus-like taxa (Laidlaw & Solem, 1961). However, mitochondrial phylogeny of *Amphidromus* indicates a rather distant relationship, independent evolution of *A. glaucolarynx* to any other named subgenera and agrees on the monophyly of the lineages at the subgeneric level (Sutcharit et al. 2007). These species processes characters that allow the animals to be classified in the new subgenus closed to both subgenera. It was clear that of the shell variation revealed that there was one more addition species. As these two species, *A. glaucolarynx* (Dohrn, 1861) and this new species are most closely related. The description of the new subgenus offers new systematic insight, because it shows characteristics of the ancestor of the genus. Therefore, we proposed to classify the two species into a new subgenus. *Amphidromus (Periallodromus)* n. subgen. is sister taxa to both subgenera and this sister taxa relationship is strongly supported by conchological, anatomical and genetic data. This paper, we introduce and describes in morphological and anatomical detail of the new subgenus. The new

subgenus is comprised of one new species and one other species, which all newly described anatomy and radula.

MATERIALS AND METHODS

Specimens were collected from throughout Thailand as follow the previous records and included several additional localities. The living snails were drowned in water and fixed in 70% for anatomical purposes. The radula was examined using scanning electron microscope as follow Sutcharit and Panha (2006). Dissections were carrying out under binocular microscope. The number of whorls was estimated to the nearest eight of the whorl. Intact adult shells were measured for whorl number, shell height (h), major diameters or shell width (d) using digital vernier calipers (Mitutoyo, CD-6 CS). Shell height/shell width ratios (h/d ratio) were calculated as a measure of shape to reduce the dominating effects of overall size (Pilsbry, 1939; Kerney & Cameron, 1979).

We use the term "proximal" for the region, which closest to the genital orifice and "distal" for the region, which furthest away from genital orifice. The following abbreviations are used and as defined by Bishop (1977); Solem (1983) Sutcharit and Panha (2006b): ag, albumin gland; ap, appendix; at, atrium; e, epiphallus; ep, epiphallic pilaster; evd, fl, flagellum; fo, free oviduct; gd, gametolytic duct; gs, gametolytic sac; hd, hermaphroditic duct; hg, hermaphroditic gland; ov, oviduct; p, penis; pp, penial pilaster; pr, penial retractor muscle; pv, penial verge; pvo, penial verge opening; ta, talon; v, vagina; vd, vas deferens; vp, vaginal pilaster. The direction of shell coiling for the material examined is indicated by: D, dextral and S, sinistral

Institutional abbreviation: Registration numbers all refer to collections of the Chulalongkorn University, Museum of Zoology, Bangkok, Thailand (CUMZ), unless otherwise stated.
BMNH, The Natural History Museum, London;
MNHN, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris;
SMF, Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt, a.m.;
RBINS, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels;
RMNH, Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, Leiden;
UMZC, University Museum of Zoology Cambridge, Cambridge;
ZMB, Zoological Museum of Berlin, Berlin;
ZMUC, Zoological Museum, University of Copenhagen, Copenhagen.

SYSTEMATIC ACCOUNT

Genus *Amphidromus* Albers, 1850

Subgenus *Amphidromus* Albers, 1850

Type species: *Helix perversus* Linnaeus, 1758; by subsequent designation of Martens in Albers, 1860: 184.

The genitalia and radula morphology of *A. (A.) perversus* see Solem (1983: figs 8-13, 20, 21), and Sutcharit & Panha (2006b: figs 5, 6).

Subgenus *Syndromus* Pilsbry, 1900

Type species: *Helix contraria* Müller, 1774; by subsequent designation of Zilch, 1960: 623.

The genital anatomy and radula morphology of *A. (S.) contrarius* are examined herein (Figs 1A, B; 3A-C), and Wiegmann (1898: pl. 15, figs 12-17).

Subgenus *Periallodromus* n. subgen.

Type species: *Bulimus glaucolarynx* Dohrn, 1861

Etymology: The new subgeneric name is come from a combination of "*periallo*" (Greek) meaning "ancestor" and "*dromos*" (Greek) meaning "running". It is refer to the ancestor of it type species compared to other species in the genus *Amphidromus*.

Diagnosis: Shell thin, relatively small, conic or elongate conic, shell usually dimorphism or either dextral or sinistral. Apex acute with dark purplish or black spot. Genitalia amphidromus type with long epiphallic caecum (flagellum and appendix), appendix always presence; proximally of vaginal swollen with pouch. Radula with elongate and tricuspid central tooth and basal plate large.

External features: Living animals have a very long head-foot, undivided sole, brownish to light brown, and covered with light grayish reticulated skin. Mantle edge is blackish and mottle gray respectively. Foot broad and grayish with a light brownish margin. Eye tentacles dark brown at base and becoming lighter with black eye spots on the tips. Head, mouth and lower tentacles dark brown to blackish (Fig. 1M, N).

Remark: Comparing the genitalia and radula morphology of the new subgenus among nine species of the nominotypical subgenus (see Collinge, 1901, 1902; Bishop, 1977; Solem, 1983;

Lehmann & Maassen, 2004; Sutcharit & Panha, 2006a, b), and 8 species of the subgenus *Syndromus* (Wiegmann, 1898, 1899; Haniel, 1921; Rensch, 1934; Minato, 1979; Solem, 1983; Sutcharit, 2006). A new subgenus, *Periallodromus* can be characterized by longer flagellum, appendix present and peculiar radula (longer than it width, and the lateral teeth with tricuspid cusp) morphology; while the subgenus *Syndromus* have short flagellum and appendix absent, and the nominotypical subgenus have longer flagellum and larger shell.

Key to subgenera of *Amphidromus*

1a. Shell small, thin and height usually less than 35 mm.....2

1b. Shell large, solid, usually uniformly yellowish or greenish, height usually greater than 35 mm and h/d ratio less than 1.85; epiphallus and flagellum long; appendix usually present. ..... *Amphidromus*

2a. Epiphallus and flagellum short; appendix absent; radula with bicuspid lateral teeth h/d ratio greater than 1.85 ..... *Syndromus*

2b. Epiphallus and flagellum slightly long; appendix short; radula with tricuspid lateral teeth. h/d ratio less than 1.85 ..... *Periallodromus* n. subgen.

Amphidromus (Periallodromus) glaucolarynx (Dohrn, 1861)

(Figure 1A-J, M; 2C, D; 3D-F; Table 1)

Bulimus glaucolarynx Dohrn, 1861: 207, pl. 26, fig. 7. Type locality: In regno Siam.

Bulimus schomburgki var. *fasciata* Martens, 1867: 80, pl. 21, figs la, 1b. Type locality: Petshaburi.

Amphidromus peerieri Rocherrune, 1882: 71. Type locality: Forést de Prek-Scholl, au sud de Cratate Cambodge. Laidlaw & Solem, 1961: 524-525, fig. 17.

Amphidromus glaucolarynx var. *fasciata*-Fulton, 1896: 90, pl. 7, fig. 3. Pilsbry, 1900: 181, pl. 60, figs 46-48.

Amphidromus glaucolarynx-Fulton, 1896: 90. Pilsbry, 1900: 180-182. Blandford, 1903: 278-279. Hass, 1952: 24. Zilch, 1953: 132. Laidlaw & Solem, 1961: 524, 525. Solem, 1965: 618, pl. 2, fig. 1.

Amphidromus glaucolarynx albicans Möllendorff, 1902: 157. Type locality: Siam. Zilch, 1953: 132, pl. 22, figs 2, 3. Laidlaw & Solem, 1961: 524, 525. Solem, 1965: 525, 598.

Amphidromus glaucolarynx var. *perrieri*-Pilsbry, 1900: 181-182.

Amphidromus glaucolarynx fasciata-Laidlaw & Solem, 1961: 524, 525, fig. 17.

Material examined: Lectotype of "*glaucolarynx*" BMNH 19601454 (Fig. 1A), and paralectotype BMNH 19601455 (2D, 1S; Fig. 1B). The figured specimen in Martens (1867, pl. 21, fig. 1a) is designated here as the lectotype of "*fasciatus*" ZMB 97685 (Fig. 1C). Holotype of "*perrieri*" MNHN (Fig. 1D). Specimen in Möllendorff collection having similar shell morphology to the original description is designated here as the lectotype of "*albican*" SMF 28259.1 (Fig. 1E), and paralectotype SMF 28259.2 (1D, 1S). Chieng Kong, LAOS: SMF 28260 (1D). Siam: RBINS Dautzenberg coll. (1D, 1S), BMNH MacAndrew coll. (3D, 2S), SMF 28261 (1D), ZMB Paetel coll. (1D, 1S), RMNH Frühstorfer coll. (1S). Pitsunaloke, Lampun, Siam: BMNH Blanford coll. (6D, 2S). Pitsunaloke, Siam: RBINS Dautzenberg coll. (1S). Near Um Pang, Siam: BMNH 1924.5.26.4 (1S). Kanburi, Siam: RBINS Dautzenberg ex. Frühstofer coll. (2D, 2S), BMNH 1902.9.17.13-14 (2D), BMNH 1910.12.30.23-25 (2D 1S). Near Ban Kao, Thailand: ZMUC Johnsen coll. 3013 (2D). Petschaburi, Siam: ZMB 6392 (3D, 7S). Tam Tab Tao, Chaiprakarn, Chiengmai: 4689; Tam Lod National Park, Maehongsorn: 2243;Chao Por Pratupha, Ngao, Lampang: 4683;Tam Pha Bing, Wangsapung, Loei: 4518;Phu Luang Wildlife Sanctuary, Loei: 4686;Tam Pha Mak-hor, Wangsapung, Loei: 4523; Nam Nao National Park, Phetchaboon: 2265, 4517;Phu Wieng, Khonkaen: 4015;Wat Po Thikun, Maesod, Tak: 4690;Phra Wor, Maesod, Tak: 2239, 4692;Tam Singha Nang-non, Umpang, Tak: 2399; Tee Lor Zoo Waterfall, Umpang, Tak: 4694, 4695, 2254;Tam Ta-ko-bi, Umpang, Tak: 4693;Taksinmaharat National Park, Maesod, Tak: 4619;Pa Charoen National Park, Pobphra, Tak: 2247;Huy Hin Fon Village, Maesod, Tak: 2319; Wat Thepsathaporn, Banpotpisai, Nakhonsawan: 4697;Jedkot Waterfall, Muaklek, Saraburi: 4908, 4026, 4031;Erawan National Park, Kanchanaburi: 2244, 2253;Kanchanaburi: 2272, 4902, 2571;Saiyok Noi Waterfall, Kanchanaburi: 4684, 2532;Khao Dong Kamen, Saiyok, Kanchanaburi: 2267;Charoem Rattanakosin National Park, Kanchanaburi: 3506, 4901, 4062;Tam Sukho, Sangkhraburi, Kanchanaburi: 4696;Pong Pu Ron, Thong Phaphum National Park, Kanchanaburi: 4077, 4261, 2262, 2264, 2263, 2540;Pala-u Waterfall, Phetchaburi: 4079, 3501, 4078, 2242, 4522, 2652; Ban Krang Camp, Kaeng Kracharn National Park, Phetchaburi: 4515, 4685, 4501, 4516, 4513, 4514, 2241, 4501, 2259, 2238, 2266, 4909, 4521, 4520, 4524, 4525; Tam Na Kwang, Cha-am, Phetchaburi: 4688; Khao Nang Panthurat, Cha-am, Phetchaburi: 4912; Tam Rong, Bann-lad, Phetchaburi: 4910; Kuiburi National Park, Prachuapkhirikhan: 4262, 4512, 4009; Tam Khiriwong, Bangsaphan, Prachuapkhirikhan: 4088, 4519; Tam Phra Krayang, Kraburi, Ranong: 4006, 2260, 2537, 2246, 4687, 4029, 4047, 4911; Tam Khao Kriap, Langsuan, Chumporn: 4699; Suratthani: 4905; Tam Lord, Khao Nan National Park, Nakhonsrithammarat: 4084;

Shell: Shell elongate conic, rather thin, usually dimorphic coiling, and umbilicus rimate. Apex acute with blackish or dark purplish, one to two following whorls with tinted pink. Whorl little convex; last whorl rounded; suture wide and shallow. Subsutural band narrow with greenish colour, and usually paler to disappear on upper whorl. Shell colour with brown or

dark brown blotch or streaks, and sometime interrupted in middle with whitish band. Umbilical area whitish and with greenish inside umbilicus. Aperture ovate to little elongate; lip thicken, expanded, and with purplish colour. Parietal callus thick or thin and purplish colour; columella straight and with purplish (Figs. A-J).

Genitalia: Atrium (at) short (n=10). Penis (p) long slender with cylindrical shaped. Eiphallus (e) smaller than penis and as long as penis length; flagellum (fl) short and with short appendix (ap). Vas deferens (vd) narrow tube extending from free oviduct (fo) and connected to end of epiphallus. Penial retractor muscle (pr) relatively long, thick and inserts near distal end of penis (Fig. 2C).

Internal wall of the penis with corrugated into a series of thickened and swollen penial pilasters (pp), which form a fringe around the fleshy penial verge. Penial verge (pv) small, truncate and with irregular surface (Fig. 2D).

Vagina (v) with cylindrical, longer than penis, and series of held in position with series of thin muscles originating from foot floor. Proximal end enlarged and perform vaginal pouch (vpo). Gametolytic duct (gd) long and slender, and distally connected to swollen gametolytic sac (gs). Oviduct (ov) and albumen gland (ag) enlarged, hermaphroditic gland (hg) contracted, and convoluted hermaphroditic duct (hd) connected at tip of talon (ta) (Fig. 2C).

Internally, proximal to genital orifice, vaginal pouch perform irregular and enlarged pilaster, which line transverse compare to vaginal pilaster. Vagina wall possesses longitudinal vaginal pilasters (vp). Proximally with slightly smooth and continuous ridges, and distally pilasters interrupted by transverse divisions (Fig. 2D).

Radula: Radula teeth arranged in anteriorly wide pointed V-shaped rows, each row contains about 136 (67-1-68) teeth. Central tooth monocuspid and narrowly spatulate shaped. Inner lateral teeth tricuspid; endocone and ectocone very small with pointed cusp; mesocone large, spatulate shaped and with truncate cusp (Fig. 3B). Lateral and marginal teeth undivided; outer most teeth (near radula edge) with tricuspid in structure, endocone and ectocone cusps usually split into two or more pointed cusps, and mesocone large with curved cusp (Fig. 3C, D).

Distribution: *Amphidromus (P.) glaucolarynx* was primary recorded from Thailand, with some museum specimens labeled in Laos and Cambodia boundary. The previous recorded of this species were from Thailand: Lampang, Lumpun, Kampaengpet, Pistsunaloke, Pak Chong of Nakornratchasrima, Srakeo and Phetchaburi; Cambodia: Perk Scholl (Fulton, 1896; Pilsbry, 1900; Haas, 1952; Laidlaw & Solem, 1961; Solem, 1965). The recent study, however, this species tended to have chiefly wider distributed than previous records, which ranged from

Tak, Kampengpet and Kanchanaburi Provinces in the western Thailand; Phetchaburi, Prachuapkhirikhan, Ranong and Suratthani Provinces in the southern peninsular Thailand.

Remark: Large set of specimens from entire there distribution range, and type specimens of the nominal species group names, which has been associated with *A. glaucolarynx* were critically examined. Three nominal species group names: "*fasciatus* Martens, 1867", "*perrieri* Rocherrune, 1882" and "*albicans* Möllendorff, 1902" had been considered to be the subspecies or infra-subspecies of *A. glaucolarynx* (Fulton, 1896; Pilsbry, 1900; Laidlaw & Solem, 1961). The type specimens of those three nominal group names are almost identical to the typical *A. glaucolarynx*, only little differences as shell size and colour pattern are observed. This differences still in the variation range of *A. glaucolarynx*, which we synonymies those three nominal species-group names to *A. glaucolarynx*.

There were 15 populations of the species were explore throughout Thailand. Normally, this species perform dimorphic shell coiling, however, only 2 populations from Jed Kot Waterfall, Saraburi (370 specimens) (Fig. 1I) and Tam Prakayang, Ranong (400 specimens) (Fig. 1J) tended to have strongly bias with dextral and sinistral shell respectively. However, there shell morphology and colour patterns show indifferences from the typical *A. glaucolarynx*.

Amphidromus (Periallodromus) spirularis n. sp.
(Figures 1K, L, N; 2E, F; 3G-I; Table 1)

Type material: Holotype (CUMZ xxxx); type locality: Wat Thathungna Rittharam, Saiyok, Kanchanaburi Province. Paratype: CUMZ xxxx; BMNH xxxx; SMF xxxx.

Other material: Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi: 2240, 2248, 2252, 2258, 2257, 2249, 2270, 2255, 2398, 2250, 2251, 2396, 2269, 2618, 4097; Sai Yok Yai N.P., Kanchanaburi: 4698; Saiyok: 4700, 2256; Erawan waterfall, Kanchanaburi: 2245; Kanchanaburi: 4906, 4904; Wat Thathungna Rittharam, Saiyok, Kanchanaburi: 4903;

Etymology: The specific epithet comes from a Latin world "*spirula*" meaning spiral. It is referring to the prominent brownish spiral band on the last whorl of this species.

Diagnosis: *Amphidromus (P.) spirularis* n. sp. differs from *A. (P.) glaucolarynx* by having ovate last whorl, pale yellowish green subsutural band and with unique continuously brownish spiral bands on last whorl. The genitalia with slightly large

In addition, this new species differs from *A. mouhoti* (Pfeiffer, 1861) in shell, genitalia and radular morphology. The latter species tended to have greenish radial streaks and conic shell, genitalia with long epiphallus and flagellum, and radular with unicuspid central tooth and bicuspid lateral teeth (Panha unpub. data).

Shell: Shell slightly small, dimorphic coiling, oblong-conic, rather thin, umbilicus wide. Apex acute without black spot, suture shallow and wide, whorls slightly flatten and smooth, and last whorl angular at periphery. Ground colour is yellowish. Last whorls covered with closer oblique green radial streaks and the greenish pattern usually faded on spire. Subsutural band is absent or some time with dark green. Aperture is ovate to elliptical shaped, columella perpendicular and straight. Parietal callus thin, lip white, peristome widely expanded and little reflected.

Genitalia: The atrium (at) is long (n=10). The penis (p) is short with swelling at penial verge base. The distinguish characters are the long eiphallus (e), flagellum (fl) and a long narrow appendix (ap) present. The vas deferens (vd) is a narrow tube, extending from the free oviduct (fo) to epiphallus. The penial retractor muscle (pr) is relatively long and inserts near the distal end of penis (Fig. A). External morphology of female genitalia and internal sculpture of penis vagina, and epiphallus closely resemble to those of nominotypical subspecies (Fig. 2E, F).

Radula: Each row contains about 132 (66-1-65) teeth. Central, lateral and latero-marginal teeth similar to those of *A. glaucolarynx* (Fig. 3G-I).

Distribution: This new species is known from many localities in Kanchanaburi province western Thailand.

Remark: This new species is mainly differed from A. (P.) glaucolarynx having much smaller shell, last whorl large and ovate, and colour pattern with spiral band instead of blotch band as in the *A. glaucolarynx*.

The snail in this subgenus and the subgenus *Syndromus* (Panha, personal observation) having similar strategy on laying eggs in the hole. While, the nominotypical subgenus such as *A. (A.) atricallosus* and *A. (A.) palaceus* lay there eggs in the nest, which the snail can build the nest by glued two leaves to make a nest (Palavicini, 1921; Sutcharit & Panha, 2006b). Two cases of laying snail were observed after the heavy rain. Snail lays eggs by inserted the anterior body in the hole of the tree or loose bark (Fig. 1N). Eggs are globular, whitish, with soft and flexible shells, 2-3 mm in diameter and glued to each other in the socket of nest site with mucus. The number of eggs in the cult is about 20-30 eggs,

although the nominotypical subgenus produced eggs 100-230 eggs in single cult, however, the cults size is proportionated to snail size.

CONCLUSION

Systematic affinity of *Amphidromus (Periallodromus)* n. subgen.

The genus *Amphidromus* was proved to be monophyletic, which consisted of three major distinct lineages. Two of them are clearly corresponded with the traditional subgeneric division: the nominotypical subgenus and the subgenus *Syndromus* (see Sutcharit et al., 2007). The last one fall into an independent clade that included only *A. glaucolarynx* s. l., which now recognized here as independent subgenus *Periallodromus*. The mtDNA 16S rRNA gene phylogeny by Sutcharit et al. (2007) and recent anatomical data showed that the subgenus *Periallodromus* is derived from the most common ancestors of the genus *Amphidromus*, and could not placed in neither nominotypical nor the subgenus *Syndromus*.

The systematic position of the subgenus *Periallodromus* within the genus *Amphidromus* is possibly the most basal to those other two clades. Traditionally *Amphidromus (P.) glaucolarynx*, type species of this new subgenus, have been associated to the subgenus *Syndromus* s. l., because of the similarity of there shell morphology (Pilsbry, 1900; Laidlaw & Solem, 1961). However, the shell morphology and the genital characteristics were applied to distinguish between the subgenus *Syndromus* s. l. and the nominotypical subgenus as well. In contrast, the nominotypical subgenus has larger and thick shell, varix usually present, and genitalia with long epiphallic caecum (Pilsbry, 1900; Laidlaw & Solem, 1961; Sutcharit & Panha, 2006b). In consideration to the subgeneric relationship, the elongate conic and variegated shell colour pattern, arboreal habitat, spatulate shaped of radula, and chirally dimorphism could be common characters among those three subgenera of the genus *Amphidromus*. The gouge shape with wide central teeth of radula and much interval of the lateral teeth in the subgenera *Amphidromus* and *Syndromus* may support their having a close relationship. The medium length of epiphallic caecum, long gouge radula shape, and much closer of lateral teeth are possibly the distinctive characters of the subgenus *Periallodromus*. The large shell size, monochrome colour, long flagellum, thick shell, varix usually present and the parietal callus usually thickened are probably the unique characters of the subgenus *Amphidromus*. With the anatomy of the type species of the subgenus *Syndromus* examined here, the difference of the subgenus *Syndromus* from the subgenus *Periallodromus* are the secondary derivation of sinistral shell coiling, with short flagellum, and missing appendix. These support the distinct subgeneric position of the *Periallodromus* from other two subgenera, *Amphidromus* and *Syndromus*. The characters of shell coiling, genitalia and radula structure are considered as apomorphies supporting a

distinct lineage of the subgenus *Periallodromus*. Shell coiling of the subgenus *Periallodromus* show the coexisted of left- and right-handed individual in every population, a feature not found in the subgenus *Syndromus*. The fixed with left-handed shell coiling, and the very short terminal part of male organ (epiphallic caecum) seem to be there apomorphy.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the staff of Plieu National Park, Khao Ang Rue Nai and Khlong Sang Wildlife Sanctuary, the Plant Genetic Conservation Project initiated by Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhon and the Navy Special Warfare Unit of The Royal Thai Navy for providing us with considerable help and encouragement that made our fieldwork possible. We are also indebted to P. Greenhall and R. Hershler (NMNH, Washington D.C.), R. Bieler, J. Slapcinsky and J. Gerber (FMNH, Chicago), F. Naggs (NHMUK, London), and R. Janssen (SMF, Frankfurt) for kindly permitting to study type specimens; P. K. L. Ng (NUS, Singapore) for kindly arranging our survey in Singapore. We are especially grateful to T. Asami, N. Kitana and P. Tongkerd for providing important literature and valuable comments on our work.

REFERENCES

ALBERS, J.C. 1850. *Die Heliceen, nach Natürlicher Verwandtschaft Systematisch Geordnet*. Berlin, von T.C.F. Verlag. 262 pp.

ALBERS, J.C. 1860. *Die Heliceen, nach Natürlicher Verwandtschaft Systematisch Geordnet*. E. von Martens (Ed.). Leipzig. 359 pp.

BISHOP, M.J. 1977. Anatomical notes on some Javanese *Amphidromus* (Pulmonata: Camaenidae). *Journal of Conchology*, 29: 199–205.

COLLINGE, W.F. 1901. Notes on the anatomy of *Amphidromus palaceus*, Mouss. *Journal of Malacology*, 8: 50–52.

COLLINGE, W.F. 1902. On the non-operculate land and freshwater molluscs collected by members of the "Skeat Expedition" in the Malay Peninsula, 1899-1900. *Journal of Malacology*, 9: 71–95.

COLLINGE, W.F. 1903. Report on the non-operculated land Mollusca. *Fascic Malayensis Zoology*, 2: 205–218.

DOHRN, H. 1861. Descriptions of new shells from the collection of H. Cuming, Esq. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1861: 205–207.

FULTON, H. 1896. A list of the species of *Amphidromus* Albers, with critical notes and descriptions of some hitherto undescribed species and varieties. *Annual and Magazine of Natural History*, 17: 66–94.

HAAS, F. 1952. Some non-marine mollusks from northwest and southwest Siam. *Society Natural History Bulletin of Siam*, 15: 21–25.

HANIEL, C.B. 1921. Variationstudie an timoresischen Amphidromusarten. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs und Vererbungslehre*, 25: 1–88.

KERNEY, M.P. & Cameron, R.A.D. 1979. A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe. Collins, London, 288 pp.

LAIDLAW, F.F. & Solem, A. 1961. The land snail genus *Amphidromus*: A synoptic catalogue. *Fieldiana: Zoology*, 41: 507–677.

LEHMANN, H. & Maassen, W.J.M. 2004. A new species of *Amphidromus* from Laos (Gastropoda, Pulmonata, Camaenidae). *Basteria*, 68: 17–20.

MARTENS, E. von, 1867. *Die Preussusche Expedition nach Ost-Asien*. Verlag der Königlichen Geheimen Ober-Hofbuchdruckerei. 477 pp.

MINATO, H. 1979. Notes on *Amphidromus* (Camaenidae) from Komodo Island, Indonesia. *Kyushu-no-Kai*, 13: 15–17.

MÖLLENDORFF, O. VON. 1902. Binnenmollusken aus hinterindien. *Nachrichtenbatt der Deutschen Malakozoologischen Gesellschaft*, 34: 153–162.

PFEIFFER, L. 1860-1866. *Novitates Conchologicae, Mollusca Extramarina*. Beschreibung und Abbildung neuer oder kritischer Land- und Süsswasser-Mollusken, (Mit Einschluss der Auriculaceen). 2: pp. 139–303. pls. 37–72. Cassel (Th. Fischer).

PFEIFFER, L. 1861. Description of new land shells in the collection of Mr. H. Cuming Esq. *Proceeding of the Zoological Society of London*, 1861: 190–196.

PILSBRY, H.A. 1900. *Manual of Conchology,* Ser. 2. Vol. 13. The Academy of Natural Science of Philadelphia, Philadelphia.

PILSBRY, H.A., 1939. Land Mollusca of the North America (North of Mexico), Monograph No. 3., Vol. 1, part 1. The Academy of Natural Science of Philadelphia.

RENSCH, B. 1934. Zur kenntnis der land-und Süßwassermollusken Sumatra. *Archiv für Molluskenkunde*, 66: 313–339.

RICHARDSON, L. 1985. Camaenidae: Catalogue of species. *Tryonia*, 12: 1–479.

ROCHERRUNE, A. T. 1882. Documents sur la faune Malacologique de la Cochinchine et du Cambodge. *Bulletin de la Société Philomathique de Paris*, 6: 35–74.

SCHILTHUIZEN, M. & DAVISON, A. 2005. The convoluted evolution of snail chirality. *Naturwissenschaften*, 92: 504–515.

SCHILTHUIZEN, M., CRAZE, P.G., CABANBAN, A.S., DAVISION, A., STONE, J., GITTENBERGER, E. & SCOTT, B.J. 2007. Sexual selection maintains whole-body chiral dimorphism in snails. *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 1941–1949.

SCHILTHUIZEN, M., SCOTT, B.J., CABANBAN, A.S. & CRAZE, P.G. 2005. Population structure and coil dimorphism in a tropical land snail. *Heredity*, 95: 216–220.

SOLEM, A. 1965. Land snails of the genus *Amphidromus* from Thailand (Mollusca: Pulmonata: Camaenidae). *Proceeding of the United States National Museum*, 117: 615–627.

SOLEM, A. 1966. Some non-marine mollusks from Thailand, with notes on classification of the Helicarionidae. *Sapolia Zoologica Musei Hauniensis*, 24: 1–110.

SOLEM, A. 1983. First record of *Amphidromus* from Australia with anatomical note on several species (Mollusca: Pulmonata: Camaenidae). *Record of the Australian Museum*, 35: 153–166.

SUTCHARIT, C. 2006. Taxonomic revision and phylogenetic analysis of the tree snail genus *Amphidromus* Albers, and implication for biogeography of Thai species. Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Chulalongkorn University. 169 pp.

SUTCHARIT, C. & PANHA, S. 2006a. A new subspecies of *Amphidromus (A.) inversus* (Müller, 1774) from Peninsular Malaysia. *Journal of Conchology*, 39: 79–83.

SUTCHARIT, C. & PANHA, S. 2006b. Taxonomic review of the tree snail *Amphidromus* Albers, 1850 (Pulmonata: Camaenidae) in Thailand and adjacent areas: Subgenus *Amphidromus*. *Journal of Molluscan Studies*, 72: 1–30.

SUTCHARIT, C., ASAMI, T. & PANHA, S. 2007. Evolution of whole-body enantiomorphy in the tree snail genus *Amphidromus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 661–672.

WIEGMANN, F. 1898. Landmollusken (Stylommatophoren). Zootomischer Teil. *Abhl. Sencken. Naturf. Gesellschaft*. 24: 289–557, pls. 21–31.

WIEGMANN, F. 1900. Binnen-mollusken aus Westchina und Centralasien. *Extrait de l'Annuaire du Musée Zoologique de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Pétersbourg*, 1900: 1–186, pls. 1–4.

ZILCH, A. 1953. Die typen und typoide des Natur-Museums Senckenberg 10: Mollusca, Pleurodontidae (I). *Archiv für Molluskenkunde*, 82: 131–140.

ZILCH, A. 1960. Gastropoda, Euthyneura. In: *Handbuch der Paläozoologie* (O.H. Schindewolf, ed.), 6: 601–834. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

Table 1. Comparative characters among those three subgenera of the genus *Amphidromus*, and it type species are indicated in parentheses. Superscript numbers indicate the sources of information: [1][Jacobi (1898), Collinge (1901, 1902, 1903), Lehmann & Maassen (2004), and Sutcharit & Panha (2006a, b)]; [2][Wiegmann (1894, 1899), Sarasin & Sarasin (1899), Haniel (1921), Rensch (1934), and Minato (1979)]; [3][Pilsbry (1900), Laidlaw & Solem (1961), Bishop (1977), and Solem (1983)]; [4]Sutcharit (2006).

Characters	*Amphidromus* [1, 3, 4] (*Helix perverfa* Linnaeus, 1758)	*Syndromus* [2, 3, 4] (*Helix contraria* Müller, 1774)	*Periallodromus* [4] (*Bulimus glaucolarynx* Dohrn, 1862)
Shell shape and colour	elongate conic, h/d ratio less than 1.85; usually monochrome colour, varix usually present	elongate conic, h/d ratio grater than 1.85; usually variegated colour and pattern, varix absent	elongate conic to ovate, h/d ratio less than 1.85, variegated colour and pattern, varix absent
Shell size and thickness	medium to large (height 35-75 mm); thicken	small to medium (height 20-40 mm); thin and fragile	small (height 20-30 mm); thin and fragile
Shell coiling	usually dimorphic coiling	sinistral coiling	usually dimorphic coiling
Genitalia	very long epiphallic flagellum	very short epiphallic flagellum	intermediate length of epiphallic flagellum
Radula teeth shaped	central tooth broad, inner lateral teeth bicuspid	central tooth broad, inner lateral teeth bicuspid	central tooth narrow, inner lateral teeth tricuspid
Lateral and marginal teeth	wide gap in lateral and marginal teeth	wide gap in lateral and marginal teeth	teeth closed in lateral and marginal teeth

Table 2. Shell size variation in *A. (P.) glaucolarynx* and *A. (P.) taeniochlorus* n. sp. Catalogue numbers of specimens are indicated in parentheses.

Species, Locality and CUMZ nos.	Number of adult shell examined	Ranges, Mean ± SD in mm			Whorl Ranges
		Shell Height	Shell Width	h/d Ratio	
A. (P.) glaucolarynx					
Jedkot Waterfall, Saraburi (4031, 4908)	87	24.46-30.66 27.65±1.34	14.41-17.72 15.57±0.61	1.54-1.94 1.78±0.08	6¼-7
Tam Rong, Phetchaburi (4910)	20	25.62-36.39 31.73±2.52	15.64-19.91 17.71±1.15	1.6-1.96 1.79±0.09	6¾-7¼
Kaeng Kracharn N. P., Phetchaburi (2241, 2259, 2266, 4501, 4513, 4514, 4515, 4516, 4521, 4524, 4685, 4909,)	225	23.24-33.35 28.16±2.27	13.49-18.82 15.92±1.03	1.34-1.91 1.77±0.07	6¼-7
Tam Phra Krayang, Ranong 4911, 4029	72	21.13-28.64 24.80±1.63	13.56-15.90 14.69±0.56	1.49-1.88 1.69±0.08	6 ¼ -7
Tam Na Kwang, Phetchaburi (4688)	12	25.57-38.56 33.33±3.72	16.17-20.67 18.18±1.38	1.58-1.96 1.83±0.12	6¾-7¼
Pong Pu-Ron, Kanchanaburi (2261, 2263, 2264, 2328, 2540, 4077, 4261)	36	20.90-28.68 24.75 ±1.86	12.48-16.14 14.45±0.91	1.58-1.90 1.71±0.07	6¼-7
A. (P.) spirularis n. sp.					
Sai Yok Yai Waterfall, Kanchanaburi (2256, 4698, 4700)	13	17.14-22.77 19.86±1.63	11.50-14.29 12.49±0.79	1.43-1.72 1.59±0.10	5¾-6¾
Hin Tok Station, Chong Khao Kad, Sai Yok, Kanchanaburi (2230, 2239, 2240, 2248, 2249, 2252, 2255, 2258, 2257, 2270, 2398, 4906, 4907)	158	18.26-25.49 21.24±1.31	11.35-15.01 13.26±0.65	1.40-1.77 1.60±0.07	5¾-7

Figure 1. A-J. Shell of *Amphidromus (Periallodromus) glaucolarynx*: (**A**) lectotype BMNH 19601454, (**B**) paralectotype BMNH 19601455, (**C**) lectotype of "*fasciatus*" ZMB 97657, (**D**) holotype of "*perrieri*" MNHN, (**E**) lectotype of "*albicans*" SMF 28259, (**F**) specimen from Mae Sod, Tak (CUMZ xxxx), (**G**) specimen from Thong Phaphum, Kanchanaburi (CUMZ), **(H)** specimen from Kaeng Kracharn, Phetchaburi (CUMZ xxxx), (**I**) specimen from Jed Kot waterfall, Saraburi (CUMZ xxxx), and (**J**) specimen from Tam Prakrayang, Ranong (CUMZ xxxx). Shell of *Amphidromus (Periallodromus) spirularis* n. sp.: (**K**) holotype CUMZ xxxx, and (**L**) paratype CUMZ xxxx. **M.** An intrachiral copulation of *Amphidromus (Periallodromus) glaucolarynx* (shell height ~25 mm) from Kaeng Kracharn, Phetchaburi (August, 2004). **N.** Eggs, and eggs laying behavior of *Amphidromus (Periallodromus) spirularia* n. sp. (shell height ~20 mm) from Kanchanaburi (October, 2007). Snail used the loose bark of the tree trunk to rearing their eggs, which blue arrow indicates head of snail and red arrow indicate the eggs.

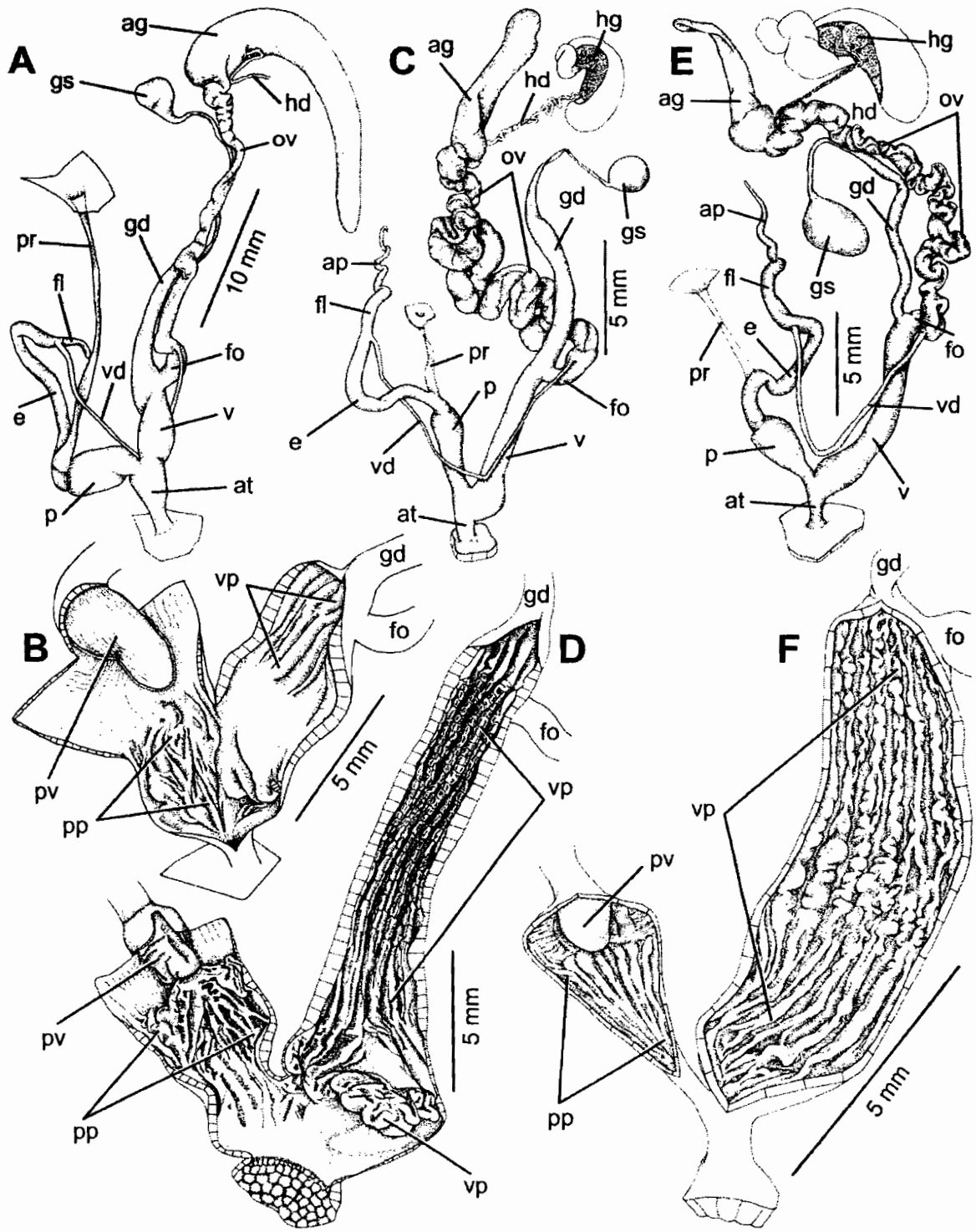


Figure 2. Reproductive system. **A, B.** *Amphidromus (S.) contrarius* from Niki Niki, Central Timor. **C, D.** *Amphidromus (P.) glaucolarynx* from Kaeng Kracharn National Park, Phetchaburi (CUMZ xxxx). **E, F.** *Amphidromus (P.) spirularis* n. sp. (paratype CUMZ xxxx). **(A, C, E)** whole genital system; **(B, D, F)** interior structure of atrium, penis, and vagina chamber.

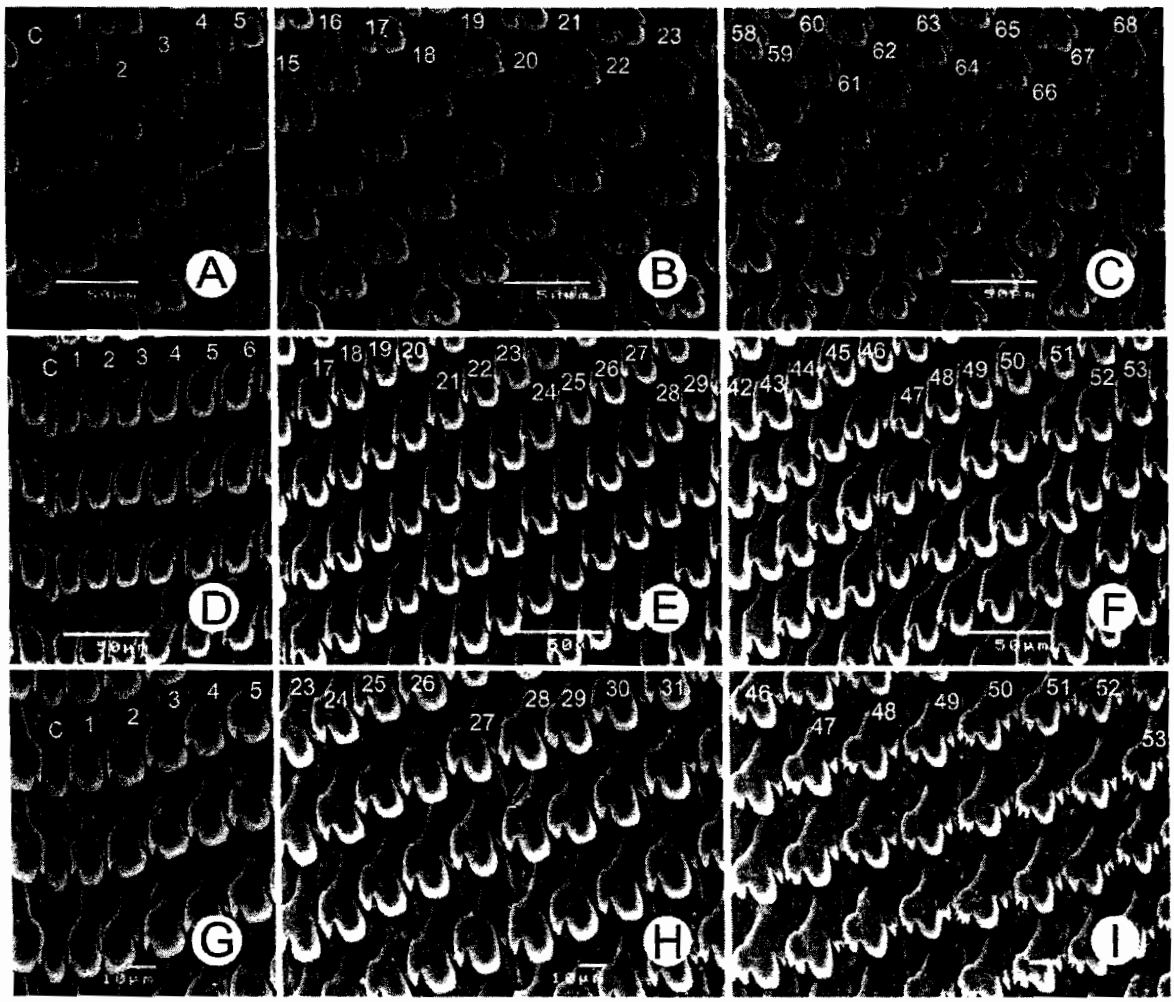


Figure 3. SEM images of the radula. **A-C.** *Amphidromus (S.) contrarius* from Niki Niki, Central Timor. **D-F.** *Amphidromus (P.) glaucolarynx* from Kaeng Kracharn N.P., Phetchaburi (CUMZ xxxx). **G-I.** *Amphidromus (P.) spirulus* n. sp., paratype CUMZ xxxx. (**A, D, G**) central tooth with the first to the fifth lateral teeth; (**B, E**) lateral teeth; (**C, F, I**) outermost marginal teeth; (**H**) lateral teeth with the tricuspid marginal teeth transition. Numbers indicated order of lateral and marginal teeth. Central tooth indicated by 'C'.

ประวัติคณะวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ไทย) ดร. จิรศักดิ์ สุจริต
(อังกฤษ) Dr. Chirasak Sutcharit

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3140500154540

3. ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สถานที่ติดต่อ หน่วยปฏิบัติการวิจัยชิสเทมาติคส์ของสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
โทรศัพท์ 02-218-5273 โทรศัพท์มือถือ 081-1945210
โทรสาร 02-218-5273 E-mail: jirasak4@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

2538-2541	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2542-2547	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (นิเวศวิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

อนุกรมวิธานและชิสเทมาติคส์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่ม Molluscs

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

2549-2551	Biodiversity Research and Training Program (BRT R149024)
2549-2552	Darwin Initiative Project (2006-2009)
2549-2551	Research Scholar, The Thailand Research Fund (MRG4980201)
2552-2554	Biodiversity Research and Training Program (BRT R252108)
2552-2554	Faculty of Science, Chulalongkorn University (A1B1-7)
2553-2556	National Research University (Office of the Higher Education Commission)
2554-2555	Faculty of Science, Chulalongkorn University (SP2-RES-06)

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

(2008-2012)

1. Chanabun, R., **Sutcharit, C.**, Tongkerd, P., Tan, S-H,A. and Panha, S. 2012. Three new species of semi-aquatic freshwater earthworms of the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889

from Malaysia (Clitellata: Oligochaeta: Almidae). Zootaxa. 3458: 120–132. **[Impact Factor 2010: 0.904]**

2. Chanabun, R., Bantaowong, U., **Sutcharit, C.,** Tongkerd, P., James, S.W. and Panha, S. 2012. A new species of semi-aquatic freshwater earthworm of the genus *Glyphidrilus* horst, 1889 from the Mekong River (Oligochaeta: Almidae). The Raffles Bulletin of Zoology. 60: 265-277. **[Impact Factor 2010: 1.456]**
3. **Sutcharit, C.,** Tongkerd, P., Tan, S-H,A. and Panha, S. 2012. Taxonomic revision of *Dyakia janus* from peninsular Malaysia (Pulmonata: Dyakiidae), with notes on other sinistrally coiled helicarionoids. The Raffles Bulletin of Zoology. 60: 279-287. **[Impact Factor 2010: 1.456]**
4. Muadsub, S., **Sutcharit, C.,** Pimvichai, P., Enghoff, H., Edgecombe, G.D. and Panha, S. 2012. Revision of the rare centipede genus *Sterropristes* Attems, 1934, with description of a new species from Thailand (Chilopoda: Scolopendromorpha: Scolopendridae). Zootzxa. 3484: 35–52. **[Impact Factor 2010: 0.904]**
5. Prasankok, P., Tongkerd, P., **Sutcharit, C.** and Panha, S. 2011. Genetic divergence in the snorkel snail, *Rhiostoma housei*, a species complex in Thailand (Caenogastropoda: Cyclophoridae). Biochemical Systematics and Ecology. 39: 834-840. **[Impact Factor 2010: 1.110]**
6. **Sutcharit, C.** and Panha, S. 2011. Neotype designation and re-description of the vanishing tree snail, *Amphidromus (Amphidromus) mundus* (Pfeiffer, 1853) (Pulmonata: Camaenidae). The Raffles Bulletin of Zoology. 59(2): 139–143. **[Impact Factor 2010: 1.456]**
7. Chanabun, R., Bantaowong, U., **Sutcharit, C.,** Tongkerd, P., Inkavilay, K., James, S.W. and Panha, S. 2011. A new species of semi-aquatic freshwater earthworm of the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889 from Laos (Oligochaeta: Almidae). Tropical Natural History 11(2): 213-222.
8. Bantaowong, U., Chanabun, R., Tongkerd, P., **Sutcharit, C.,** James, S. W. and Panha, S. 2011. New earthworm species of the genus *Amynthas* Kinberg, 1867 from Thailand (Clitellata, Oligochaeta, Megascolecidae). ZooKeys, 90: 35-62. **[Impact Factor 2010: 0.514]**
9. Bantaowong, U., Chanabun, R., Tongkerd, P., **Sutcharit, C.,** James, S. W. and Panha, S. 2011. A new species of the terrestrial earthworm of the genus *Metaphire* Sim & Easton, 1972 from Thailand with redescription of some species. Tropical Natural History, 11(1): 55-69.
10. Nakadera, Y., **Sutcharit, C.,** Ubukata, T., Utsuno, H., Panha, S. and Asami, T. 2010. Enantiomorphs differ in shape in opposite direction between populations. Journal of Evolutionary Biology, 23: 2377-2384. **[Impact Factor 2010: 3.656]**

11. **Sutcharit, C.**, Naggs, F. and Panha, S. 2010. A first record of the family Cerastidae, with a description of a new species (Pulmonata: Orthurethra: Cerastidae). The Raffles Bulletin of Zoology, 58(2): 251-258. [**Impact Factor 2010: 1.456**]
12. **Sutcharit, C.**, Naggs, F., Wade, C.M., Fontanilla, I. and Panha, S. 2010. The new family Diapheridae, a new species of *Diaphera* Albers from Thailand and the position of the Diapheridae within a molecular phylogeny of the Streptaxoidea (Pulmonata: Stylommatophora). Zoological Journal of the Linnean Society, 160: 1-16. [**Impact Factor 2010: 2.319**]
13. **Sutcharit, C.** and Panha, S. 2010. Taxonomic re-evaluation of *Chloritis bifoveata* (Benson 1856) and *C. diplochone* Mollendorff 1898 (Pulmonata : Camaenidae). Journal of Conchology, 40(3): 277-285. [**Impact Factor 2010: 0.135**]
14. Norhanis, M.R., Tan, S.H., Zufigar, Y., Panha, **S., Sutcharit**, C. and Tongkerd, P. 2010. An annotated checklist of micro-landsnails from limestone areas in Langakawi Islands, Kedah, Peninsular Malaysia. Malayan Nature Journal. 62: 307-313.
15. Panha, S. and **Sutcharit, C.** and Ngoc Can, D. 2010. An anatomical note on *Moellendorffia eastlakeana* (Mollendorff, 1882) a camaenid land snail from Vietnam (Gastropoda: Pulmonata: Camaenidae). The Nautilus, 124(1): 20-24. [**Impact Factor 2010: 0.481**]
16. Kongim, B., **Sutcharit, C.**, Tongkerd, P., Tan, A.S.H., Quynh, N.X., Naggs, F. and Panha, S. 2010. Karyotype variation in the genus *Pollicaria* (Prosobranchia: Pupinidae). Zoological Studies, 49(1): 125-131. [**Impact Factor 2010: 1.046**]
17. Kongim, B., **Sutcharit, C.**, Tongkerd, P. and Panha, S. 2009. Karyotype differentiation within the elephant snail, *Pollicaria mouhoti* (Pfeiffer, 1862) (Caenogastropoda: Pupinidae). The Natural History Journal of Chulalongkorn University, 9(2): 201-208.
18. Prasankok, P., **Sutcharit, C.**, Tongkerd, P. and Panha, S. 2009. Biochemical assessment of the taxonomic diversity of the operculate land snail, *Cyclophorus fulguratus* (Gastropoda: Cyclophoridae), from Thailand. Biochemical Systematics and Ecology, 36: 900-906. [**Impact Factor 2010: 1.110**]
19. **Sutcharit, C.** and Panha, S. 2008. Taxonomic re-evaluation of the two land snails, *Sarika diadema* (Dall, 1897) and *Sarika asamurai* (Panha, 1997) (Pulmonata: Ariophantidae). The Raffles Bulletin of Zoology, 56(1): 95-100. [**Impact Factor 2010: 1.456**]
20. Prezant, R.S., **Sutcharit, C.**, Chalermwat, K., Kakhai, N., Duangdee, T. and Dumrongrojwattana, P. 2008. Population ecology of *Laternula anatina* (Bivalvia: Anomalodesmata: Laternulidae) in the mangrove mud flat of Kung Krabaen Bay, Chanthaburi, Thailand with comparative notes on *L.* c.f. *corrugata*. The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement no. 18: 57-73. [**Impact Factor 2010: 1.456**]

งานวิจัยที่กำลังดำเนินการอยู่ในปัจจุบัน

1. **โครงการวิจัยเรื่อง** "การพัฒนาไส้เดือนสายพันธุ์ไทยสกุล Amynthas และ Metaphire เพื่อกำจัดขยะ ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ และน้ำหมักชีวภาพ"
   แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
   สถานภาพโครงการ : ได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 95%

2. **โครงการวิจัยเรื่อง** "ความหลากหลายของหอยทากบก และชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น บริเวณพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี"
   แหล่งทุน: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   สถานภาพโครงการ : ได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 90%