อนุกรมวิธานและซิสเต็มมาติกส์ของหอยสกุล *Cyclophorus* Montfort, 1810 ในประเทศไทย

นางสาวบังอร กองอิ้ม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-2377-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I25197745

TAXONOMY AND SYSTEMATICS OF OPERCULATE LAND SNAILS GENUS *Cyclophorus* Montfort, 1810 IN THAILAND

Miss Bangon Kongim

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Biological Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-14-2377-2

481936

Thesis Title	TAXONOMY AND SYSTEMATICS OF OPERCULATE LAND SNAILS GENUS *Cyclophorus* Montfort, 1810 IN THAILAND
By	Miss Bangon Kongim
Field of Study	Biological Science
Thesis Advisor	Associate Professor Somsak Panha, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctoral Degree

.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

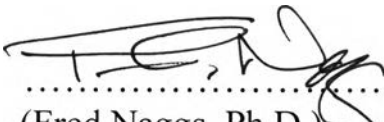
THESIS COMMITTEE

.....Chairman
(Assistant Professor Kumthorn Thirakhupt, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Associate Professor Somsak Panha, Ph.D.)

.....Member
(Professor Visut Baimai, Ph.D.)

.....Member
(Associate Professor Warawut Chulalaksananukul, Ph.D.)



.....Member
(Fred Naggs, Ph.D.)

.....Member
(Chirasak Sutcharit, Ph.D.)

บังอร กองอิ้ม: อนุกรมวิธานและซิสเต็มมาติกส์ของหอยสกุล *Cyclophorus* Montfort, 1810 ในประเทศไทย (TAXONOMY AND SYSTEMATICS OF OPERCULATE LAND SNAILS GENUS *Cyclophorus* Montfort, 1810 IN THAILAND) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สมศักดิ์ ปัญหา. จำนวน 117 หน้า. ISBN 974-14-2377-2

หอยหอมหรือหอยภูเขาสกุล *Cyclophorus* เป็นสัตว์โบราณวงศ์ Cyclophoridae พบหลักฐานที่ยุโรปว่ามีอายุราว ยุคมีโซโซอิค มีฝาปิดเปลือกและเพศแยก พบการแพร่กระจายในเอเชียใต้ไปจนถึงฝั่งตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิก ปัจจุบันถือว่าข้อมูลทางอนุกรมวิธานของหอยหอมมีการปรับปรุงน้อยมาก มีผลงานวิจัยที่พิมพ์ขึ้นมานานแล้วจำนวนหนึ่งแต่ข้อมูลยังสับสน

การศึกษาอนุกรมวิธาน และความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการของหอยหอม *Cyclophorus* ในหลายบริเวณของไทย ได้ทำการศึกษาตัวอย่างต้นแบบ วิเคราะห์ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาโดยศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของเปลือก แรดูลาหรือฟัน กายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ และคาริโอไทป์ ข้อมูลที่ได้นำมาสร้างรูปวิธานและสายวิวัฒนาการแบบต้นไม้ ทำให้สามารถจำแนกหอยได้เป็น 13 สปีชีส์ ดังนี้ *C. aurantiacus*, *C. cantori*, *C. courbeti*, *C. diplochilus*, *C. fulguratus*, *C. malayanus*, *C. orthostylus*, *C. saturnus*, *C. semisulcatus*, *C. speciosus*, *C. subfloridus*, *C. volvulus* และ *Cyclophorus* sp. ลักษณะเปลือกที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกระดับชนิดได้แก่ รูปร่าง ขนาด สี และลวดลายบนเปลือก โดยเฉพาะรูปร่างและสีของปากเปลือกเป็นลักษณะสำคัญในการระบุชนิด นอกจากนี้รูปร่างของเซมินอลเวสเดิลในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ เซมินอลรีเซ็ปเทเคิล และ เบอร์ซาร์โคพูลิทริคในเพศเมียมีลักษณะแตกต่างกันในหอยแต่ละชนิด แรดูลามีจำนวนเจ็ดแถวมีสูตรคงที่เป็น 2+1+1+1+2 รูปร่างส่วนใหญ่คล้ายกัน มีความผันแปรเล็กน้อยใน *C. orthostylus* และ *C. malayanus* โดยมีขนาดซี่ฟันกลางใหญ่กว่าหอยชนิดอื่น การวิเคราะห์มอร์โฟเมตริกของเปลือก 5 ค่า ได้แก่ SH/SW, SP/SW, AH/SW, AW/SW และ MI/SW ด้วยสถิติ ANOVA Duncan's Multiple Range Test พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ของลักษณะสัณฐานวิทยาของหอยทั้ง 15 ชนิด ไฟโลจีนีของลักษณะสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับการศึกษาคาริโอไทป์ในเรื่องของการจำแนกสปีชีส์

ผลการศึกษาคาริโอไทป์ของหอยหอมจำนวน 10 สปีชีส์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน (n = 14, 2n = 28, N.F. = 56) แต่มีรูปแบบคาริโอไทป์แตกต่างกัน โดยคาริโอไทป์ของ *C. volvulus* ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมตาเซนทริค (m) เท่านั้น มีสูตรคาริโอไทป์เป็น 14m ส่วนหอยหอมสปีชีส์อื่นมีคาริโอไทป์ที่ประกอบด้วยโครโมโซมสองชนิด คือ เมตาเซนทริค และ ซับเมตาเซนทริค (sm) จำนวนแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ หอยหอมขนาดใหญ่ *C. aurantiacus* และ *C. malayanus* มีสูตรคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ 7m + 7sm ความผันแปรของคาริโอไทป์พบใน *C. fulguratus* โดยหอยหอมจากภาคกลางแสดง 12m + 2sm ส่วนหอยหอมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยแสดง 13m + 1sm และหอยหอมจากภาคเหนือมีเมตาเซนทริคจำนวนมากกว่าสปีชีส์ที่พบทางภาคใต้ นอกจากนี้ได้รายงานระบบโครโมโซมเพศเป็นครั้งแรกของหอยหอม *C. fulguratus* จากภูเวียง จ. ขอนแก่น *C. malayanus* จากสระมรกต จ. กระบี่ และ *C. volvulus* จากน้ำตกวังก้านเหลือง จ. ลพบุรี เป็น ZZ-ZW และอภิปรายเกี่ยวกับอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการของหอยสกุลนี้ด้วย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2548 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

##4573821523 MAJOR : Biological Science
KEY WORDS: Operculate land snail/ *Cyclophorus*/ Cyclophoridae/ Taxonomy/ Systematics/ Karyotype/ Shell morphometric/ Phylogeny

BANGON KONGIM: (TAXONOMY AND SYSTEMATICS OF OPERCULATE LAND SNAILS GENUS *Cyclophorus* Montfort, 1810 IN THAILAND.
THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. Dr. SOMSAK PANHA, 117 pp.
ISBN 974-14-2377-2

The Cyclophoridae are dioecious terrestrial prosobranch land snails with a long fossil record extending to the European Mesozoic. However, modern cyclophorids as exemplified by the most species rich genus, C*yclophorus,* range from South Asia to the Western Pacific region. Up to now no modern revisions of *Cyclophorus* have been carried out and existing knowledge is restricted to nineteenth century publications that were based solely on shells.

In my thesis presented here, I examine the taxonomy and systematics of *Cyclophorus* based on field surveys conducted throughout Thailand. In addition to shell morphology, genital and radula morphology were examined and cytological investigations were carried out to critically review species concepts. Morphological characters were used to construct a dichotomous key and a phylogenetic tree. Eventually thirteen species were identified as follows *C. aurantiacus*, *C. cantori*, *C. courbeti*, *C. diplochilus*, *C. fulguratus*, *C. malayanus*, *C. orthostylus*, *C. saturnus*, *C. semisulcatus*, *C. speciosus*, *C. subfloridus*, *C. volvulus* and *Cyclophorus* sp.

Shell shape, size, coloration, and especially aperture characters are very significant for species identification. Moreover, male seminal vesicle, female seminal receptacle and bursa copulatrix showed species discrimination. Most have the very constant radula formula of 2+1+1+1+2 with shape similarity but rather perform little variation of central tooth in *C. orthostylus* and *C. malayanus*.

Shell morphometric analysis of five characters, SH/SW, SP/SW, AH/SW, AW/SW and MI/SW using ANOVA Duncan's Multiple Range Test showed clearly significant difference ($p \leq 0.05$) among 15 species. The morphological phylogeny is quite congruent with karyotypic analysis for species identification.

Karyotypes of ten species of *Cyclophorus* have been examined from Thailand. Haploid and diploid chromosome numbers were invariant (n = 14, 2n = 28, FN = 56), but the karyotypes varied along a continuum with 14 metacentric chromosomes in *C. volvulus* while the remaining species contain unique representatives of every summed combination of metacentric and submetacentric types from 13m + 1sm to 6m + 8sm. The two larger species *C. aurantiacus* and *C. malayanus* exhibit the same karyotypes of 7m + 7sm. Karyotypes among populations of *C. fulguratus* showed variation between the central (12m + 2sm) and northeastern regions (13m + 1sm) of Thailand. Among the species with unique karyotypes, northern species possess a higher metacentric number relative to southern species. The ZZ-ZW sex determining chromosomes were firstly reported in *C. fulguratus* from Phuwiang, *C. malayanus* from Sramorakot and *C. volvulus* from Wang Kanlueang. Taxonomic and evolutionary implications of the present findings are also discussed.

Field of Study Biological Science Student's signature .....

Academic year 2005 Advisor's signature .....

Acknowledgements

I am extremely grateful to my advisor, Associate Professor Dr. Somsak Panha for his continual advice, support and help me throughout my studies, particularly for his kind selecting me as a TRF RGJ fellow. I would like to thank my other committee members Assistant Professor Dr. Kumthorn Thirakhupt, Professor Dr. Visut Baimai, Associate Professor Dr. Warawut Chulalaksananukul, Dr. Fred Naggs and Dr. Chirasak Sutcharit for their consistent interest in my research.

I have been fortunate to have invaluable contributions from many people, while comparing type specimens in international museums. Firstly, Dr. Fred Naggs (Department of Zoology, Natural History Museum, London, United Kingdom), Dr. Ronald Janssen (Forchungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt), Miss Lour (Raffle Museum of Singapore), Dr. Hiroshi Saito (International Museum of Tokyo, Japan) for their kindly facilitate to study the type specimen. Throughout my study, I have spent a great time with the following persons like Mrs. Chanidaporn and Mr. Sakborworn Tumpeesuwan, Dr. Piyorose Thongkerd, Ms. Pongpan Prasarnkok and Mr. Wachira Srikoom who I am grateful for their friendship and wonderful field collecting.

This project was funded by the Thailand Research Fund (TRF) Royal Golden Jubilee Ph. D. program in support of Ph. D. candidate Ms. Bangon Kongim under the supervision of Dr. Somsak Panha. Additional funding was provided by TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant BRT T-147021 and TRF-CNRS Project (BRT 245005) a joint program of Thailand Research Fund and French CNRS. I am indebted to the grant of the University Development Committee (UDC) of the Ministry of State University under the requirement of Mahasarakham University.

Many thanks to my teachers, my friends, and all members of Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, for their help, encouragement, and collaboration.

Finally, I express my final gratitude to my family for their support. I would have never been able to finish this work without their help, encouragement and endless patience.

Table of Contents

		Page
Thai Abstract		iv
English Abstract		v
Acknowledgements		vi
Table of Contents		vii
List of Tables		viii
List of Figures		ix
Abbreviation		xiii
Chapter I	Introduction	1
Chapter II	Literature Review	4
Chapter III	Materials and Methods	6
Chapter IV	Taxonomic Review of the land operculate Snail Genus *Cyclophorus* Montfort, 1810 in Thailand	13
Chapter V	Morphometric and phylogenetic analysis of Thai *Cyclophorus* on shell morphology	59
Chapter VI	Karyotypes of operculate land snails of the genus *Cyclophorus* (Prosobranchia: Cyclophoridae) in Thailand	64
Chapter VII	Conclusion	77
References		80
Appendices		85
Appendix I		86
Appendix II		111
Biography		117

List of Tables

Table		Page
3.1	Phylogenetic characters and character states for 15 *Cyclophorus* and outgroup *Leptopoma perlucidum* (Cyclophoridae)	11
3.2	Character state matrix for phylogenetic analysis of 15 species of *Cyclophorus*, with *Leptopoma perlucidum* as outgroup. The definition of characters of characters and states. '-' cannot be coded (structure does not exist). ' ?' unknown (structure not available)	10
4.1	Measurement shell characters for each *Cyclophorus*. Catalogue numbers of specimens are indicated in parentheses	54
5.1	Result of Duncan's multiple range test (show mean values, superscript number mean group number, colourful mean unique group)	59
6.1	The diploid (2n) and fundamental number (FN) in the known karyotypes of species of cyclophorid snails	74
6.2	Species, Localities, karyotype formula, sex and number of species used in the present study (N)	75

List of Figures

Figure		Page
1.1	Distribution of *Cyclophorus* in sub-tropical and tropical Asia	3
3.1	*Cyclophorus* shell terminology and its measurement: **(A)** shell height, spire height, aperture height and aperture width **(B, C)** major and minor diameter and **(D)** whorls count	9
4.1	Terminology of shell characteristics: **(A)** Shell spire depressed with very strong peripheral keel, (B) Shell spire turbinate without peripheral keel, **(C)** angle around umbilicus, **(D)** around umbilicus without angle, **(E)** banded around umbilicus.	19
4.2	Terminology of Aperture characteristics **(A)** without expanded and reflected, **(B)** without expanded and reflected, **(C)** less expanded and reflected, **(D)** thicken continuous without reflected, **(E)** strong expanded and reflected, **(F)** strong expand and reflected with double layers, **(G)** strong expanded and reflected, **(H)** apertural view; strong expanded and reflected	20
4.3	Shells in three views; apertural, apical and umbilical views of *Cyclophorus* **(A)** *C. volvulus* (Lopburi, 825), **(B)** *C. aurantiacus* (Petchaburi, 800), **(C)** *C. semisulcatus* (Narathiwat, 1342), **(D)** *C. speciosus* (Nakhon Nayok, 823), **(E)** *C. cantori* (Pang Nga, 802), **(F)** *C. fulguratus fulguratus* (Saraburi, 1403)	41
4.4	Shells in three views; apertural, apical and umbilical views of *Cyclophorus* **(A)** *C. fulguratus fulguratus* (Uthaithani, 810), **(B)** *C. fulguratus* ssp.1 (Sakon Nakhon, 1087), **(C)** *C. malayanus* (Krabi, 819), **(D)** *C. saturnus saturnus* (Chiang Rai, 1123), **(E)** *C. saturnus* ssp.1 (Chanthaburi, 1211), **(F)** *C. courbeti* (Chiang Mai, 805), **(G)** *C. subfloridus* (Pitsanulok, 824)	42
4.5	Shells in three views; apertural, apical and umbilical views	

of *Cyclophorus* **(A)** *C. diplochilus* (Suratthani, 826), **(B)** *C. orthostylus* (Sakon Nakhon, 1238), **(C)** *Cyclophorus* sp. (Petchaburi, 1048), **(D)** *Cyclophorus* sp.1 (Narathiwat, 1029) 43

4.6 Radula under scanning electron microscope (SEM) of *Cyclophorus* **(A)** *C. volvulus* (Lopburi, 825), **(B)** *C. aurantiacus* (Petchaburi, 800), **(C)** *C. speciosus* (Nakhon Nayok, 823), **(D)** *C. cantori* (Pang Nga, 802), **(E)** *C. fulguratus fulguratus* (Uthaithani, 810), **(F)** *C. fulguratus* ssp.1 (Sakon Nakhon 841) 44

4.7 Radula under scanning electron microscope (SEM) of *Cyclophorus* **(A)** *C. malayanus* (Krabi, 819), **(B)** *C. saturnus saturnus* (Chiang Rai, 870), **(C)** *C. saturnus* ssp.1 (Chanthaburi, 822), **(D)** *C. courbeti* (Chiang Mai, 805), **(E)** *C. subfloridus* (Pitsanulok, 824), **(F)** *C. diplochilus* (Suratthani, 826) 45

4.8 Radula under scanning electron microscope (SEM) of *Cyclophorus* **(A)** *C. orthostylus* (Sakon Nakhon, 831), **(B)** *Cyclophorus* sp. (Petchaburi, 834) 46

4.9 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. volvulus* (Lopburi, 825), **(B)** female *C. volvulus* (Lopburi, 825), **(C)** male *C. aurantiacus* (Petchaburi, 800), **(D)** female *C. aurantiacus* (Petchaburi, 800) 47

4.10 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. speciosus* (Nakhon Nayok, 823), **(B)** female *C. specious* (Nakhon Nayok, 823), **(C)** male *C. cantori* (Pang Nga, 802), **(D)** female *C. cantori* (Pang Nga, 802) ... 48

4.11 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. fulguratus fulguratus* (Uthaithani, 810), **(B)** female *C. fulguratus fulguratus* (Uthaithani, 810), **(C)** male *C. fulguratus* ssp.1 (Sakon Nakhon, 813), **(D)** female *C. fulguratus* ssp.1 (Sakon Nakhon, 813) 49

4.12 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male

C. malayanus (Krabi, 819), **(B)** female *C. malayanus* (Krabi, 819), **(C)** male *C. courbeti* (Chiang Mai, 805), **(D)** female *C. courbeti* (Chiang Mai, 805) 50

4.13 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. saturnus saturnus* (Chiang Rai, 806), **(B)** female *C. saturnus saturnus* (Chiang Rai, 806), **(C)** male *C. saturnus* ssp.1 (Chanthaburi, 822), **(D)** female *C. saturnus* ssp.1 (Chanthaburi, 822) 51

4.14 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. subfloridus* (Pitsanulok, 824), **(B)** female *C. subfloridus* (Pitsanulok, 824), **(C)** male *C. diplochilus* (Suratthani, 826), **(D)** female *C. diplochilus* (Suratthani, 826) 52

4.15 Genital system of male and female *Cyclophorus* **(A)** male *C. orthostylus* (Sakon Nakhon, 1238), **(B)** female *C. orthostylus* (Sakon Nakhon, 1238), **(C)** male *Cyclophorus* sp. (Petchaburi, 1048), **(D)** female *Cycophorus* sp. (Petchaburi, 1048) 53

4.16 Distribution of *Cyclophorus volvulus*, *C. aurantiacus*, *C. semisalcatus*, *C. speciosus*, *C. cantori*, *C. fulguratus fulguratus*, *C. fulguratus* ssp.1, *C. malayanus*, *C. saturnus saturnus*, *C. Saturenus* ssp.1, *C. courbeti*, *C. subfloridus*, *C. diplochilus*, *C. orthostylus*, and *Cyclophorus* sp. 56

4.17 Shell type specimen **(A)** *Cyclophorus aurantiacus* (SMF34783) paratype, Tavoy, Burma. **(B)** *C. semisalcatus* (SMF 34728/2) syntype, Malaka. **(C)** *C. cantori* (NHM) syntype, Penang, Malaysia. **(D)** *C. diplochilus* (NHM) holotype, Samui, Siam. **(E)** *C. fulguratus* (NHM) paratype, Pegu, Burma. **(F)** *C. malayanus* (SMF 34943) Penang, Malaysia. **(G)** *C. saturnus* (SMF 34945) paratype, Siam. **(H)** *C. subfloridus* (NHM) paratype, Tonkin, Vietnam. **(I)** *C. orthostylus* (SMF 34718) lectotype, Annam 57

5.1 Canonical plane of Discriminant bearing on shell parameters (SP/SW, SP/SW, AH/SW, AW/SW and MI/SW). All individuals are represented different of

variance (mean in each species represent by circle) 61

5.2 Phylogenetic hypothesis for *Cyclophorus* with *Leptopoma perlucida* as outgroup base on shell, radula and reproductive characters 63

6.1 A map of Thailand showing the collecting localities of *Cyclophorus* for karyotype analysis 69

6.2 Shell specimens of, **(A)** *Cyclophorus aurantiacus*, **(B)** *C. cantori*, **(C)** *C. courbeti*, **(D)** *C. diplochilus*, **(E)** *C. fulguratus*, **(F)** *C. malayanus*, **(G)** *C. saturnus*, **(H)** *C. speciosus*, **(I)** *C. subfloridus*, **(J)** *C. volvulus* 71

6.3 Mitotic chromosome of, **(A)** *Cyclophorus aurantiacus* (male, CUMZ 800), **(B)** *C. cantori* (male, CUMZ 804), **(C)** *C. courbeti* (male, CUMZ 805), **(D)** *C. diplochilus* (male, CUMZ 826), **(E)** *C. fulguratus* (male, CUMZ 809), **(F)** *C. fulguratus* (male, CUMZ 813), **(G)** *C. fulguratus* (male, CUMZ 815), **(H)** *C. fulguratus* (female, CUMZ 815), **(I)** *C. malayanus* (male, CUMZ 819), **(J)** *C. malayanus* (female, CUMZ 819), **(K)** *C. saturnus* (male, CUMZ 822), **(L)** *C. speciosus* (male, CUMZ 823), **(M)** *C. subfloridus* (male, CUMZ 824), **(N)** *C. volvulus* (male, CUMZ 825), **(O)** *C. volvulus* (female, CUMZ 825) 72

6.4 Karyotype of ten *Cyclophorus* species as indicated in Figure 3, showing submetacentric (sm) and metacentric (not labelled). The chromosome markers are indicated by satellite chromosome (arrow head) and secondary constriction (arrow). ZZ and ZW represent sex chromosome of male and female, respectively. Karyotypic variation within *C. fulguratus* found between two populations of central region (C) and northeastern region (NE) 73

Abbreviations of Museum, radula and genitalia terminology

Abbreviations	Terminology
Museums	
NHM	The Natural History Museum, London
SMF	Senckenberg Museum, Frankfurt
Radula	
c	Central tooth
l	Lateral teeth
im	Inner marginal teeth
om	Outer marginal teeth
Genital organs	
Male go	Genital opening
pg	Prostate gland
v	Seminal vesicle
vd	Vas deferens
Female	
ag	Albumin gland
bc	Bursa copulatrix
go	Genital opening
ov	Oviduct
sr	Seminal receptacle